

11216  
1  
2ej.



# Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

1978 - 1981

ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN PACIENTES LEUCEMICOS  
ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO.

## Tesis de Post-grado

Curso de Especialización en  
GENETICA HUMANA

DRA. GLADYS SANCHEZ AGUILAR

Hospital de Pediatría  
I.M.S.S.

México, D. F.

1983



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

INTRODUCCION.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
HIPOTESIS.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	10
DISCUSION.....	14
RESUMEN.....	20

## INTRODUCCION

La leucemia es una enfermedad maligna que se caracteriza por una proliferación neoplásica incontrolada de células precursoras de leucocitos y linfocitos en sangre, médula ósea y tejido reticuloendotelial.

Las leucemias y los linfomas constituyen el 40% de las enfermedades malignas en la infancia.

Los primeros informes sobre este padecimiento datan de 1839 a 1845, cuando Donné hizo las primeras observaciones al microscopio y Craigie, Bennett y Virchow la describieron como entidad clínica ( 1 ).

El papel que juegan los cambios cromosómicos en la transformación de una célula normal a célula cancerígena ha sido objeto de investigación y controversia por más de 60 años, así Haveri ( 2 ) consigna en su teoría del origen del cáncer que las células tumorales contienen un complemento cromosómico alterado y Tyzzer en 1916 ( 3 ) formuló el concepto de la mutación somática como una causa del cáncer, posteriormente se ha demostrado que en algunos tumo-

res de origen viral el genoma del tumor interacciona con el genoma de las células huésped, esto dió origen a la teoría monoclonal o sea que una sola célula sería capaz de producir una enfermedad maligna; así Atkin en 1970 ( 4 ) apoyando esta teoría, menciona que los cambios cromosómicos no son constantes en diferentes pacientes con el mismo padecimiento, pero sí son similares de célula a célula de un mismo tumor.

Nowell y Hungerford en 1960 ( 5 ) encuentran alteraciones cromosómicas específicas en pacientes con leucemia y describen por primera vez el cromosoma Philadelphia ( Ph<sup>1</sup> ) en leucemia mielocítica crónica y en células hematopoyéticas precursoras de granulocitos, eritrocitos y plaquetas, no así en los linfocitos; Palkow en 1967 ( 6 ) demostró que las células con cromosoma Philadelphia mostraban solo una forma de glucosa-6-fosfato- deshidrogenasa aunque los fibroblastos de la misma paciente contenían 2 formas de la enzima, de esto se puede concluir que el cromosoma Philadelphia se origina de una sola célula.

Si embargo, hay algunos ejemplos en los cuales ambos alelos de la G-6PD eran activos en un tumor, pero esto no excluye que las células no cancerígenas hayan dado origen a este segundo tipo. De todas maneras, hay numerosos ejem-

plos en los cuales las neoplasias son de origen unicelular ( 7,8 ).

Las aneuploidias generalmente se asocian con cánceres humanos y aparecen intimamente relacionadas con la teoría de la mutación somática del cáncer( 9 ), ya que también se observan bajo la acción de agentes carcinogénicos de naturaleza química, física(radiaciones); o biológica(algunos virus)( 10,11 ); sin embargo, existe la duda, si la transformación maligna es primaria y la aneuploidia secundaria, o si la aneuploidia es primaria en relación a la malignidad, o si un agente común es causa de la aneuploidia y de la malignidad, ( 12 )· la teoría monoclonal sugiere la presencia primaria de la aneuploidia y esto se corrobora en las lesiones premalignas donde se ha demostrado la presencia temprana de aneuploidias( 13,14 ).

El organismo normalmente elimina las células aneuploides, y su presencia podría deberse a una deficiencia en el sistema inmunológico, o a la existencia de células mutantes no reconocidas por el sistema inmunológico.

En algunos estados aneuploides existe una mayor incidencia de leucemia; así en el síndrome de Down la frecuencia de leucemia aguda es 10-20 veces mayor que la población general(15); también existe aumento en la frecuencia de leucemia en la trisomía D, y el síndrome de Klinefelter(16);

Por otro lado, es notable la asociación familiar de problemas de no disyunción y leucemia, se han descrito familias

con pacientes de síndrome de Down que tienen hermanos o familiares con síndrome de Klinefelter u otras trisomías, y aumento en la frecuencia de leucemia tanto en los individuos citológicamente normales como en los anormales(17), esta asociación sugiere que en tales familias existe un mecanismo común responsable tanto de las aneuploidías como de la susceptibilidad a la leucemia. Hecht(18), sugiere que la asociación de alteraciones cromosómicas y leucemia no es al azar, e incluye los siguientes eventos mutacionales: rearrreglos cromosómicos estructurales que predisponen a la presencia de aneuploidías en sujetos sanos(familiares de pacientes citogenéticamente anormales), a tal grado que llegan a producir células susceptibles a leucemia. Se ha descrito una mayor frecuencia de enfermedades autoinmunes en parientes de pacientes con aneuploidías. Existen padecimientos autosómicos recesivos en los cuales se encuentra una frecuencia significativamente aumentada de alteraciones cromosómicas inespecíficas y en cuyo curso clínico frecuentemente aparecen complicaciones de tipo neoplásico, por lo que en estas entidades podría sospecharse que un virus o cualquier agente integrado al genoma de las células fuera el responsable de las alteraciones citogenéticas y de la transformación neoplásica. Un ejemplo, es la anemia de Fanconi cuyo cariotipo presenta rupturas cromosómicas, y con un mayor riesgo de leucemia tanto en heterocigotos como en monocigotos.

El estudio de las anomalías cromosómicas es de suma importancia por lo siguiente: 1. como ayuda en el diagnóstico; 2. para precisar el tipo de alteración de un cromosoma determinado, de tal manera que en un futuro podamos entender las modificaciones en la regulación de los genes que estén localizados en el sitio afectado, y 3. para el pronóstico, porque se ha observado que cuando existe un porcentaje elevado de alteraciones cromosómicas el pronóstico es más severo.

Con la técnica de bandas se ha hecho posible detectar con mayor precisión los rearrreglos estructurales cromosómicos y la evolución clonal, ya que, cuando los pacientes entran en remisión las células cromosómicamente anormales disminuyen o desaparecen, y cuando el paciente sufre una recaída las mismas alteraciones cromosómicas se presentan nuevamente(19), persistiendo las anomalías citogenéticas aún después del tratamiento con drogas potencialmente mutagénicas y radiaciones.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Es bien conocida la relación que existe entre genética y cáncer, particularmente entre alteraciones cromosómicas y neoplasias hematológicas; sin embargo, en leucemia no se ha establecido en forma precisa cuales son los cambios cromosómicos que ocurren antes de iniciar el tratamiento y cuales persisten después del mismo. Por otra parte no se han valorado parámetros cromosómicos útiles para un diagnóstico adecuado, y para predecir la evolución y respuesta al tratamiento, por lo que esto alienta a realizar estudios con la finalidad de buscar alteraciones cromosómicas ya sean estructurales o numéricas que permitan precisar el diagnóstico y el pronóstico de las leucemias que constituyen las neoplasias mas frecuentes en la edad pediátrica.

## HIPOTESIS.

1. Las alteraciones cromosómicas en células de médula ósea de pacientes pediátricos con leucemia son significativamente mayores antes del tratamiento que posterior al mismo.
2. El número y clase de anomalías cromosómicas es un parámetro útil para valorar el pronóstico del padecimiento.

## MATERIAL Y METODOS.

Se estudiaron 55 niños entre 3 y 14 años de edad atendidos por diagnóstico de leucemia en el Hospital de Pediatría del C.M.N.

En todos los pacientes se realizó estudio cromosómico directo de médula ósea, antes de iniciar el tratamiento y se usaron las técnicas de Tjio Whang(20,21), con las modificaciones de la División de Investigación en Genética Humana del Hospital de Pediatría.

Se realizó un segundo cariotipo en 30 de los casos, mes y medio después de iniciado el tratamiento, en el que se emplearon los siguientes medicamentos: vincristina, prednisona, ametopterina, citosin-arabinósido, mercaptopurina, ciclofosfamida, busulfán, y adriamicina. El período de remisión se valoró con los siguientes parámetros clínicos y de laboratorio: desaparición de la fiebre, disminución de la visceromegalia y adenomegalia, y la normalización de las siguientes pruebas de laboratorio: hemoglobina, leucocitos totales y su cuenta diferencial, plaquetas, pruebas de funcionamiento hepático(bilirrubinas, transaminasas, proteínas, fosfatasa alcalina, retención de bromosulfaleína), urea, ácido úrico y creatinina, así como ausencia de infiltración a SNC valorado por estudio de líquido cefalorraquídeo y radiografía de cráneo.

En cada caso se realizó técnica de bandas G por el procedimiento de Sumner y cols(22), y se analizaron 20 metafases antes y después del tratamiento. las preparaciones se examinaron en un fotomicroscopio Zeiss Universal III, y se tomaron microfotografías de las alteraciones encontradas. Estas se identificaron según la nomenclatura de Paris(23), y las aberraciones inespecíficas se clasificaron de acuerdo con Savage(24). La valoración clínica de los pacientes se llevó a cabo antes de la toma del primero y segundo cariotipos, tomando en cuenta los parámetros clínicos y de laboratorio ya indicados para el período de remisión. Posteriormente se hizo una correlación clínico-citogenética en cada paciente. Se realizó análisis estadístico por la prueba de  $\chi^2$  para comparar nuestros resultados con los de otros estudios.

## RESULTADOS.

De los 55 niños con leucemia, 18 pacientes correspondieron a leucemia mieloblástica aguda, 27 a linfoblástica aguda, 5 a mielomonocítica, y 5 a mielocítica crónica.

Los pacientes con leucemia mieloblástica aguda, presentaron alteraciones cromosómicas estructurales variadas e inespecíficas como gaps, isogaps, fracturas o rompimientos y marcadores cromosómicos (Fig. 1, 2). Se encontraron también alteraciones numéricas: hiperdiploidías e hipodiploidías. Las alteraciones citogenéticas se observaron en el 50 % (límites entre 47 y 52 %) de las células examinadas de pacientes que evolucionaron satisfactoriamente, y en el 80 % (límites entre 78 y 84 %), de quienes durante las primeras seis semanas de iniciado el tratamiento fallecieron. En los ocho casos en que se efectuó un estudio cromosómico por segunda vez en el período de remisión hubo una disminución importante de las alteraciones, las cuales se encontraron únicamente en el 20 % (límites entre 17 y 22 %) de las células examinadas.

En los pacientes con leucemia linfoblástica aguda, cuya evolución fue favorable con el tratamiento se encontraron fragmentos cromosómicos en un 40 % (límites entre 36 y 41 %) de las células examinadas, y en los pacientes en que no se pudo realizar el segundo cariotipo por fallecimiento,

se apreció un 70 % (límites entre 68 y 74 %) de células con fragmentos cromosómicos y poliploidías. En los casos en que se efectuó un segundo cariotipo las anomalías descendieron al 10 % (límites entre 9 y 13 %) de las células estudiadas.

En la leucemia mielomonocítica, predominaron los gaps y las poliploidías, las cuales se observaron en un 65 % (límites entre 62 y 70 %) de las células examinadas en el primer cariotipo de los pacientes con buena evolución. Mientras que se observaron en el 90 % (límites entre 87 y 92 %) de las células de los pacientes que fallecieron antes del segundo cariotipo. En los tres pacientes que se pudo realizar cariotipo por segunda vez, se apreció únicamente el 20 % (límites entre 19 y 23 %) de células con persistencia de las anomalías cromosómicas.

En los cinco casos de leucemia mielocítica crónica, se observó el cromosoma Philadelphia como alteración predominante en el 70 % (límites entre 68 y 75 %) de las células examinadas en el primer cariotipo y en ocasiones otras alteraciones inespecíficas. Descendiendo a 20 % (límites entre 17 y 24 %) en las células del segundo cariotipo. En resumen, los hallazgos de las cuatro entidades son los siguientes: En leucemia mieloblástica aguda como alteraciones estructurales, gaps, isogaps, fracturas o rompimientos, y marcadores cromosómicos. Como alteraciones numéricas,

hiperdiploidías e hipodiploidías.

En la leucemia linfoblástica aguda, como anomalías estructurales, fragmentos cromosómicos; y como alteraciones numéricas, poliploidías.

En la leucemia mielomonocítica, como alteraciones estructurales gaps, y fracturas o rompimientos; y como alteraciones numéricas, poliploidías.

En la leucemia mielocítica crónica, se observó el cromosoma Philadelphia y alteraciones cromosómicas inespecíficas.

Se encontró un mayor porcentaje de anomalías cromosómicas en el primer cariotipo, o sea, antes de efectuar el tratamiento y disminución en el segundo cariotipo; y en los casos de fallecimiento el porcentaje de alteraciones era mucho mayor que en los casos que remitieron con el tratamiento como se puede observar en la Tabla 1.

TABLA 1 ALTERACIONES CROMOSÓMICAS SEGUN EL DIAGNOSTICO Y LA RESPUESTA  
 AL TRATAMIENTO

DIAGNOSTICO	No CASOS	BUEN PRONOSTICO		DEFUNCIONES	
		No CASOS	PRIMER CARIOT.	SEGUNDO CARIOT.	PRIMER CARIOTIPO
LMA	18	8	8	8	10
LLA	27	23	23	23	4
LMM	5	3	3	3	2
LNC	5	5	5	0	0

\* Por ciento de células con anormalidades cromosómicas



## DISCUSION.

Las leucemias en la niñez se clasifican de acuerdo a las características morfológicas de las células leucémicas, y no de acuerdo a sus síntomas y tiempo de sobrevida. Se ha observado que en esta edad, la mas frecuente es la leucemia linfoblástica aguda, en el 80 % de los casos, la leucemia mieloblástica aguda en el 12 %, y la leucemia mielocítica crónica en el 3 a 5 %, y el resto lo conformarían la leucemia mielomonocítica, monocítica, eritroleucemia y variedades plasmocíticas.

La leucemia linfocítica crónica es muy rara en la niñez, aunque en ocasiones no es posible hacer una identificación adecuada del tipo de leucemia aguda, pero debe tratarse de precisar lo mas posible, ya que la respuesta a los quimioterápicos varía en cada tipo de leucemia.

Diversos estudios citogenéticos realizados en pacientes leucémicos demuestran que existen anomalías cromosómicas importantes y también sugieren algún tipo de alteración en cada clase de leucemia, pero hasta el momento no existe una unidad de criterio sobre las alteraciones que se podrían considerar específicas en cada leucemia, exceptuando el cromosoma Philadelphia en la leucemia mielocítica crónica, ya que algunos trabajos describen alteraciones estructurales de unos cromosomas como predominantes y otros refieren

cromosomas distintos mas frecuentemente afectados en el mismo tipo de leucemia.

Nowell y Hungerford en 1960( 5 ), describieron una alteración cromosómica especifica en la leucemia mielocítica crónica, que se caracteriza por un pequeño cromosoma del grupo G con pérdida de la mayor parte de sus brazos largos y al cual denominaron cromosoma Philadelphia, o  $Ph_1$  en honor de la ciudad donde fue descubierto. Posteriormente con el método de fluorescencia se observó que se trataba de una translocación del cromosoma 22 a los brazos largos del cromosoma 9(26). Estudios subsecuentes con el método de bandas identificaron el sitio de ruptura  $t(9;22)(q34;q11)$  como el mas frecuente. El mecanismo que implica la gran especificidad de esta translocación aún es un enigma.

Se ha descrito que el 85 % de las células de médula ósea de pacientes con este tipo de leucemia son cromosoma Philadelphia positivos( $Ph_1+$ ), y que los linfocitos de sangre periférica son normales; una observación interesante es que los pacientes  $Ph_1+$  tienen mayor sobrevida y mejor respuesta al tratamiento que aquellos pacientes cromosoma  $Ph_1$  negativos, en nuestro estudio encontramos que el 100 % de los pacientes con leucemia mielocítica crónica tenían el cromosoma Philadelphia.

Actualmente se han descrito, otras variantes exceptuando la translocación típica del cromosoma 9 al 22, así se ha

observado una translocación del cromosoma 22 a otro cromosoma que no sea el 9, y otros tipos de translocación involucrando tres o mas cromosomas diferentes. La sobrevivencia de pacientes con diferentes tipos de translocaciones parece ser similar a la de pacientes con la translocación usual  $t(9;22)(27)$ .

En la fase aguda de este padecimiento el 20 % parece retener la línea celular Philadelphia positivo sin cambios, mientras que otras anomalías cromosómicas se añaden a esta línea celular en 80 % de los pacientes (28,29), en la mayoría de los casos el cambio en el cariotipo precede a los signos clínicos por dos a cuatro meses en una crisis blástica, siendo signo de mal pronóstico las modificaciones en el cariotipo. Estos informes coinciden con nuestros resultados, ya que también se observó un descenso en las alteraciones cromosómicas, posterior al tratamiento.

En cuanto a la leucemia mieloblástica aguda el 50 % de pacientes presentaron cambios detectables en el cariotipo, aunque los cambios cromosómicos de estos pacientes pueden ser variables, los mas comunes en algunos estudios son: ganancia de un cromosoma 8 y pérdida de un cromosoma 7 (30), con un número modal de 45 a 47 cromosomas; la evolución mas frecuente en estos pacientes fue la ganancia de uno o mas cromosomas, siendo el cromosoma extra mas comúnmente encontrado el 8, y menos frecuente el 18, cabe hacer notar que

los cambios evolutivos particulares fueron similares en pacientes quienes inicialmente fueron normales y en aquéllos que inicialmente fueron anormales. En nuestro estudio en este tipo de leucemia se encontraron alteraciones cromosómicas inespecíficas, como gaps, isogaps, fracturas o rompimientos y marcadores cromosómicos, con un porcentaje muy alto de células con anomalías cromosómicas en pacientes que fallecieron en forma temprana antes de terminar el tratamiento, o sea, durante las seis primeras semanas después del diagnóstico.

En otros estudios de este mismo tipo de leucemia también se refieren rearrreglos estructurales, siendo el más común una translocación entre el C y G; entre el cromosoma 8 y 21  $t(8;21)(q22;q22)$  (31), esta translocación frecuentemente se asocia con pérdida de un cromosoma sexual (32). Este rearrreglo ocurre en el 8 % de los casos. Estos pacientes tienen una sobrevivida más larga que aquéllos con otras anomalías cromosómicas (33).

En leucemia promielocítica aguda en el 40 % de los casos se ha observado una translocación de los brazos largos del cromosoma 15 y 17,  $t(15;17)(q25;q22)$  (34).

En la leucemia aguda secundaria a otras enfermedades malignas y no malignas tratadas con quimioterapia como radioterapia o ambas, las alteraciones cromosómicas más frecuentes fueron: aneuploidía, pérdida del cromosoma 5, o delección de

los brazos largos; pérdida del cromosoma 7 o delección de sus brazos largos(35).

En la leucemia mieloblástica aguda el porcentaje de alteraciones cromosómicas es del 50 %, entre las mas frecuentes podemos mencionar: ganancia de un cromosoma 21, ganancia de un cromosoma 14, ganancia de un cromosoma 13, y pérdida de un cromosoma X; delección del cromosoma 6(6q11 a 6q25)-19).

En nuestro estudio en este tipo de leucemia se encontró predominio de fragmentos cromosómicos acompañándose de poliploidías, con un porcentaje alto de estas alteraciones en pacientes que fallecieron en forma temprana durante las seis semanas posteriores al diagnóstico, asimismo, se observó en pacientes que no remitieron en forma adecuada, el porcentaje de fragmentos fue mayor, en relación a los casos que respondieron satisfactoriamente al tratamiento.

No se encontró diferencia estadísticamente significativa, cuando se compararon nuestros resultados con los obtenidos en los estudios anteriormente mencionados.

Podemos concluir que en todos los tipos de leucemia hubo una correlación del cariotipo con el pronóstico, y la evolución de cada paciente; los pacientes con pronóstico fatal a corto plazo presentaban alto porcentaje de células con alteraciones cromosómicas, ya sea de número o estructurales en todos los casos superiores al 50 %. Por otra parte, la persistencia de las alteraciones cromosómicas indicó una

mala respuesta al primer ciclo de tratamiento, lo cual se valoró por parámetros clínicos y citológicos.

Por las razones antes expuestas consideramos que es de gran importancia realizar estudios cromosómicos en pacientes con leucemia, ya que es una buena guía para valorar la evolución y la respuesta al tratamiento, así como para el pronóstico de estos pacientes.

Asimismo, sería conveniente realizar estudios longitudinales a largo plazo y ampliar la muestra de cada tipo de leucemia.

Desde el punto de vista génico, llama la atención que todos los casos fueron esporádicos en la muestra, con ausencia de consanguinidad. Tampoco hubo asociación con otras neoplasias ni con malformaciones congénitas.

## RESUMEN.

En el presente trabajo se estudiaron 55 paciente con diagnóstico de leucemia atendidos en el Hospital de Pediatría del C.M.N., 27 correspondieron a leucemia linfoblástica aguda, 18 a mieloblástica aguda, 5 a mielomonocítica, y 5 a mielocítica crónica. En todos los pacientes se realizó un primer cariotipo antes de iniciar el tratamiento y en 30 se realizó un segundo cariotipo después del primer ciclo de tratamiento, en los restantes no se pudo realizar el segundo cariotipo por defunción. Los cariotipos se realizaron mediante estudio directo de médula ósea, y se efectuaron técnicas de bandas G.

Se observó una relación importante entre el porcentaje de alteraciones cromosómicas, la evolución y el pronóstico en cada tipo de leucemia.

Los pacientes que fallecieron presentaron una frecuencia significativamente mayor de alteraciones que aquéllos que respondieron en forma adecuada al tratamiento.

Se discute la utilidad del estudio citogenético en médula ósea, para establecer el diagnóstico y para valorar en forma mas adecuada la evolución y el pronóstico en los pacientes afectados con esta clase de neoplasia.

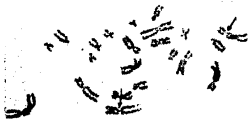
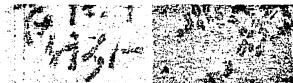


Fig: 1



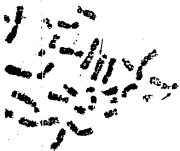


Fig: 2

**Fig. 1**

Se muestran metafases parciales que tienen alteraciones cromosómicas específicas como el cromosoma Philadelphia, e inespecíficas del tipo de gaps, isogaps e inestabilidad centromérica.

**Fig. 2**

Se muestran alteraciones estructurales especialmente del tipo de fracturas y un polimorfismo en los satélites de un cromosoma del grupo D.

## BIBLIOGRAFIA

1. Boogs, D.R. and Wintrobe M.M. The leukemias, En; Harrison's (Ed) Principles of Internal Medicine. Mc Graw - Hill Co. 1978 Pág. 1662.
2. Boveri, T. Zur Frage der Entstehung malignor Tumoren. Jena: Fischer, 1914.
3. Tyzzer, E.F. Tumor immunity. J. Cancer Res. 1: 125, 1916
4. Atkin, N.B. Cytogenetic studies on human tumors and pre-malignant lesions: The emergence of aneuploid cell lines and their relationship to the process of malignant transformation in man. Annual Symposium on Fundamental Cancer Research 1969, Genetic Concepts and neoplasia. Baltimore Williams & Wilkins. Pág. 36, 1970.
5. Nowell, P.C. and Hungerford , D.A.: A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia Science 132:1197, 1960.
6. Fialkow, P.J. Autoimmunity and chromosomal aberrations Am. J. Hum. Genet. 18: 93, 1966.
7. Fialkow, S.M. Gartler, and A. Yoshida. Clonal origin of chronic myelogenous leukemia in man. Proc. Nat Acad. Sci U.S.A. 58: 1468, 1967.
8. Smith, J.W. , D.E. Townsend, and R.S. Sparkes. Glucose-6-phosphate dehydrogenase polymorphism: a valuable tool to study tumor origen. Clin.Genet. 2: 160, 1971.

9. Ohno, S. Genetic implication of karyological instability of malignant somatic cells *Physiol. Rev.* 51:496, 1971.
10. Shaw, M.W. Human chromosome damage by chemical agents *Ann. Rev. Med.* 21: 409, 1970.
11. Nichols, W.W. The role of viruses in the etiology of chromosomal abnormalities. *Ann. J. Hum. Genet.* 18:81, 1966.
12. German, J. Genes which increase chromosomal instability in somatic cells and predispose to cancer. *Progr. Med. Genet.* 8: 61, 1972.
13. Nowell, P.C. Marrow chromosome studies in preleukemia: Further correlation with clinical course. *Cancer* 28:513, 1971.
14. Nowell, P.C. Genetic changes in cancer: cause or effect *Hum. Path.* 2: 347, 1971.
15. Miller, R.W. Down's syndrome (mongolism), other congenital malformations and cancers among the sibs of leukemic children. *New Eng. J. Med.* 268:393, 1963.
16. Miller, R.W. Neoplasia and Down's syndrome *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 171: 637, 1970.
17. Fraumeni, J.F. Constitutional disorders of man predisposing to leukemia and lymphoma *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 32: 221, 1969.
18. Hecht, F., J.S. Bryant, D. Gruber, and P.L. Townes. The nonrandomness of chromosomal abnormalities. *Association*

- of trisomy 18 and Down's syndrome. *New Eng. J. Med.* 271: 1081, 1964.
19. Rowley, J.D. Chromosome abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1: 263, 1960
20. Whang-Peng, J., Banding in leukemia techniques and implications *J. Natl. Cancer Inst.* 58:3, 1977.
21. Tjio, J.H. and Whang, J. : Direct chromosome preparation of bone marrow cells. *Stain technol.* 37: 17, 1962.
22. Sumner, A.T., Evans, H.J. and Bucklands, R.A.: New technique for distinguishing between human chromosomes: *Nature New Biol.* 232: 31, 1971.
23. Paris conference, Standardization in human cytogenetics Birth defects: Original Article Series VIII, No 7. 46, 1971.
24. Savage, J.R.K. - Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J. Med Genet.* 13: 103, 1976.
25. Mayall, S.H. Carrano, A.V., Moore, D.H. II Rowley, J.D. Qualification by DNA based cytophotometry of the 9q+/22q-, chromosomal translocation associated with chronic myelogenous leukemia. *Cancer Res.* 37: 3590
27. Sonta, S. Sandberg, A.A. chromosomes and causation of human cancer and leukemia. XXIV. Unusual and complex Ph<sub>1</sub> translocations and their clinical significance. *Blood* 50:691, 1977.

28. Rowley, J.D. Chromosomes in leukemia and lymphoma. *Semin. Hematol.* 15:301, 1978.
29. Rowley, J.D. Ph<sub>1</sub> positive leukaemia including chronic myelogenous leukaemia. *Clin. Haematol.* 9:55, 1980.
30. Testa and Rowley J.D. Chromosomal banding patterns in patients with acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1: 239, 1980.
31. Rowley, J.D. Identification of a translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia. *Ann. Genet.* 16: 109, 1973.
32. Second Int. Workshop On chromosomes in leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* In press, 1980.
33. Sandberg, A.A. Chromosomes in human cancer and leukemia. New York; Elsevier North- Holland, 1979.
34. Rowley, J.D. Mapping of human chromosomal regions related to neoplasia. Evidence from chromosomes 1 and 17. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 5729, 1977.
35. Benedict, W.F., Lange, M., Greene, J., Derencsenyi, A., Alfi, O.S. Correlation Between prognosis and bone marrow chromosomal patterns in children with acute non-lymphocytic leukemia: Similarities and differences compared to adults. *Blood* 54: 818, 1979.