Arch. Toxikol. 31, 39–49 (1973)
© by Springer-Verlag 1973

128-56

128-56

Cytogenetische Untersuchungen bei chronischer Benzolexposition

H. Khan* und M. H. Khan

Zentrum der Inneren Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Abteilung für Hämatologie, Frankfurt a. M.

Eingegangen am 26. Januar 1973

Cytogenetic Studies Following Chronic Expo to Benzene

Abstract. Cytogenetic studies of routine culture of peripheral blood were carried out in 15 workers exposed to chronic benzene and 14 controls. Chromosome studies of direct bone marrow preparations were performed on 4 individuals and 2 controls. For each experimental subject or control 50 mitoses of karyotypic level were analyzed, while the number of bone marrow mitoses analyzed was modest. The aberrations were classified by chromatid type and chromosome type, the latter including: a) unstable changes, i.e. rings, dicentrics or fragments and b) stable monocentric anomalies, e.g. deletions, translocations and trisomies.

The workers were divided into two groups depending on the period of exposure to benzene. Group I included 7 men with 11 to 20 years' exposure. Group II consisted of 8 men with 2 to 5 years' exposure.

The percentage of chromatid type of aberrations in blood cells was 18.2 in group I, 15.0 in group II and 13.2 in controls. The unstable chromosome anomalies in group I (2.3‰) and group II (2.2‰) were significantly higher than in controls (0.3‰). The stable chromosome anomalies in group I (2.8‰) and group II (1.8‰) were also considerably higher than in controls (0.2‰). The chromosomal analysis of bone marrow cells showed similar changes. The relatively increased rate of aberrations in group I was attributed to a 58-year-old male with benzene myelopathy who had 30‰ chromatid type and 14‰ chromosome type of anomalies. A large number of his bone marrow metaphases exhibited blurred, sticky chromosomes with bridges of chromatin and fragments. The bone-marrow smears from the same specimens were hypoplastic with a slight increase in the number of myeloblasts and promyelocytes (4.5‰). The band and segmented neutrophilic cells lacked specific granules in most cells.

It is concluded that the chromosome damaging effect of benzene may be useful for the evaluation of benzene intoxication, providing that other agents known to produce chromosome aberrations are ruled out. Serial cytogenetic studies on subjects exposed to benzene may contribute to the solution of the problem related to preleukaemia, as the incidence of acute leukaemia in persons exposed to benzene is about 20 times higher than expected.

* Wesentliche Teile dieser Arbeit wurden von H. Khan als Dissertation der Medizinischen Fakultät der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt a. M. vorgelegt.

BEST AVAILABLE COPY

Key words: Cytogenetics — Human Chromosomes — Chromosome Aberrations — Benzene — Benzene Myelopathy.

Zusammenfassung. Es wurden 15 benzolexponierte Industriearbeiter und 14 Kontrollpersonen mittels des Routineblutkulturverfahrens untersucht. Untersuchungen im direkten Knochenmarkverfahren erfolgten bei 4 benzolexponierten Arbeitern sowie an 2 Kontrollpersonen. Die benzolexponierten Arbeiter wurden nach Dauer der Benzolexposition in 2 Gruppen eingeteilt. Die Gruppe I beinhaltet 7 Personen mit einer Expositionszeit zwischen 11 und 20 Jahren, die Gruppe II beinhaltet 8 Personen mit einer Expositionszeit zwischen 2 und 5 Jahren.

Die Aberrationen vom Chromatidtyp waren bei der Gruppe I mit 16,2 % und bei der Gruppe II mit 15,0 % (bzw. beide Gruppen 16,7 %) gegenüber denen der Kontrollpersonen mit 13,2 % erhöht. Die instabilen Chromosomenaberrationen zeigten bei der Gruppe I mit 2,3 % und bei der Gruppe II mit 2,2 % keine Unterschiede, dagegen waren sie gegenüber der Kontrollgruppe mit 0,2 % signifikant hoch. Die stabilen Chromosomenaberrationen lagen in der Gruppe I bei 2,8 %, in der Gruppe II bei 1,8 %. Sie lagen mit einem Durchschnitt von 2,3 % gegenüber den Kontrollen mit 0,2 % ebenfalls signifikant hoch. Die Gruppe I und II zeigen untereinander nur geringe Unterschiede. Von den 15 untersuchten Benzolarbeitern wies einer eine Benzolmyelopathie auf.

Schlüsselwörter: Cytogenetik — Menschliche Chromosomen — Chromosomenaberrationen — Benzol — Benzolmyelopathie.

Neben den ionisierenden Strahlen gilt das Benzol als das am meisten bekannte leukomogene Agens. Die chronische Benzolexposition führt nicht immer zu einer Benzolintoxikation, tritt diese jedoch auf, sind die cytologischen Veränderungen vielseitig. Die schwere und fatale Form der Benzolintoxikation ist durch eine aplastische Anämie und Pancytopenie charakterisiert. Das Knochenmark kann hypoplastisch bis aplastisch oder sogar hyperplastisch sein. Erste hämatologische Symptome können sich nach wenigen Wochen, nach Jahren, oder nach einem expositionsfreien Intervall im Anschluß an einen Infekt manifestieren; sie sind durch Myelopathien und aplastische Anämien, die einem präleukämischen Zustand entsprechen können, gekennzeichnet. Da ein kausaler Zusammenhang zwischen chronischer Benzolexposition und Leukämie immer wieder diskutiert wird, erscheint es jedoch wichtig, dieses Problem vom cytogenetischen Standpunkt weiter zu untersuchen.

Methodik

Es wurden 15 Industriearbeiter und 14 Kontrollpersonen mittels des peripheren Blutkulturverfahrens, modifiziert nach Moorhead *et al.* (1960), untersucht. Die Kultur wurde 72 Std mit Zusatz von Phytohämagglutinin inkubiert, und während der letzten 3 Std wurde Demecolcin zugesetzt. Bei 4 Personen erfolgten zusätzlich Untersuchungen im Knochenmarkdirektverfahren. Es waren nur 2 Kontrollpersonen für das Knochenmarkdirektverfahren verfügbar. Die maximal erlaubte Arbeitsplatzkonzentration (MAK-Wert) war nicht genau zu ermitteln, da der Arbeitsplatz verschiedentlich gewechselt wurde. Die benzolexponierten Arbeiter sind

BEST AVAILABLE COPY

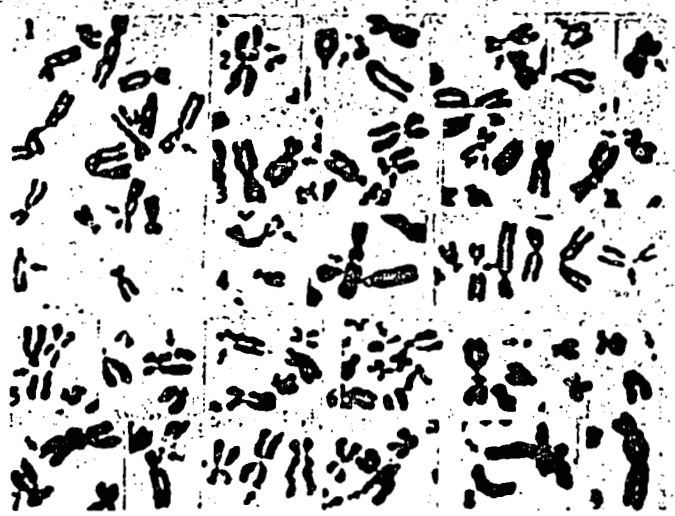

Abb. 1. Ausschnitte aus verschiedenen Mitosen benzolexponierter Arbeiter. Quadrant *1*: Pfeil in der Mitte zeigt Chromatidbruch, die übrigen 3 Pfeile bezeichnen Chromatidgaps. Reihe *2* und *3* Chromatidgaps. Reihe *4* Isochromatidgaps. Reihe *5* Chromatidbrüche. Reihe *6* azentrische Fragmente. Reihe *7* Erosionen. Quadrant *8* zeigt Kurzarmdeletion eines Chromosoms B. Quadrant *9* weist ein dizentrisches Chromosom auf

nach Dauer der Exposition in 2 Gruppen eingeteilt worden. Die Gruppe I beinhaltet 7 Personen mit einer Expositionszeit zwischen 11 und 20 Jahren (Durchschnitt 14 Jahre), die Gruppe II enthält 8 Personen mit Expositionszeit zwischen 2 und 5 Jahren (Durchschnitt 4 Jahre). Es wurden bei jedem Probanden 50 Mitosen analysiert. Bei den Kontrollpersonen wurden insgesamt 700 Mitosen analysiert. Das Durchschnittsalter lag bei den benzolexponierten Personen bei 41 Jahren, bei den Kontrollen bei 37 Jahren.

Die Aberrationen sind in Chromatid- und Chromosomentyp (Buckton *et al.*, 1962) eingeteilt. Gaps (G), Erosionen (E) und Brüche (B) wurden als Chromatidtyp bezeichnet. Eine Isochromatidaberration wurde als 2 Aberrationen angesehen. Die Chromosomenaberrationen wurden in instabile (Cu) und stabile (Cs) eingeteilt. Die Aberrationstypen sind in Abb. 1 dargelegt.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchungen des peripheren Blutes sind in Tabelle 1 und 2, die des Knochenmarkes in Tabelle 3 aufgezeichnet.

Die Aberrationen vom Chromatidtyp waren bei der Gruppe I mit 18,2% und bei der Gruppe II mit 15,0% (bzw. beide Gruppen 16,6%)

BEST AVAILABLE COPY

Tabelle 1a. Chromosomenaberrationen nach Benzolexposition in peripheren Blutkulturen

	Fall	Alter	Expositionszeit in Jahren	Zellzahl	Chromatidtyp G	Chromatidtyp E	Chromatidtyp B	Chromosomentyp[b] Cu	Chromosomentyp[b] Cs	Chromosomentyp[b] 4a
Gruppe I	1[a]	58	20	50	9	2	4 – (30%)	4	3 – (14%)	3
	2	46	19	50	6	2	2	—	1	—
	3	37	14	50	4	—	1	2	1	1
	4	39	13	50	3	2	3	1	1	2
	5	35	13	50	6		2	1	2	—
	6	31	11	50	3	1	—	—	—	—
	7	39	11	50	10	3	—	—	2	2
	$\bar{x}$	40	14	N = 350 (100%)	11,7%	3,1%	3,4%	2,3%	2,8%	2,3%
Gruppe II	8	59	5	50	7	4	—	—	1	—
	9	37	5	50	1	—	2	2	—	—
	10	36	5	50	2	4	1	2	1	4
	11	44	4	50	5	3	4	2	2	—
	12	44	3	50	5	5	2	—	—	—
	13	28	3	50	—	—	—	2	—	1
	14	36	3	50	5	2	2	1	2	—
	15	41	2	50	3	2	1	—	1	1
	$\bar{x}$	41	4	N = 400 (100%)	7,0%	5,0%	3,0%	2,2%	1,8%	1,5%

[a] Benzolmyelopathie. [b] Cu, Cs λ^2 = 10,98, $p < 0{,}001$.

BEST AVAILABLE COPY

Tabelle 1b. Chromosomenaberrationen bei Kontrollpersonen in der peripheren Blutkultur

Fall	Alter	Zellzahl	Chromatidtyp			Chromosomentyp 4 n		
			G	E	B	Cu	Cs	
1	60	50	6	1	1	—	—	—
2	58	50	8	—	—	1	—	—
3	43	50	2	1	2	—	—	2
3	41	50	5	—	1	—	—	1
5	37	50	—	2	—	—	1	3
6	36	50	5	2	1	—	—	—
7	35	50	4	—	3	—	—	1
8	34	50	7	—	2	1	1	—
9	32	50	4	7	—	—	—	1
10	31	50	1	—	2	—	—	—
11	31	50	3	—	1	1	—	3
12	30	50	4	2	—	—	—	—
13	26	50	2	5	1	—	—	2
14	24	50	5	1	3	—	—	1
$\bar{x}$	37	N = 700 (100%	8,0%	3,0%	2,2%	0,3%	0,2%	2,0%

gegenüber denen der Kontrollpersonen mit 13,2%, erhöht. Die instabilen Chromosomenaberrationen zeigten bei der Gruppe I mit 2,3% und bei der Gruppe II mit 2,2% keine Unterschiede. Dagegen waren sie gegenüber der Kontrollgruppe mit 0,9% signifikant hoch ($P < 0{,}001$). Der Anteil tetraploider Mitosen war bei Benzolexponierten und Kontrollpersonen insgesamt gleich groß.

Die stabilen Chromosomenaberrationen lagen in der Gruppe I bei 2,8%, in der Gruppe II bei 1,8%. Sie lagen mit einem Durchschnitt von 2,3% gegenüber den Kontrollen mit 0,2% ebenfalls signifikant hoch ($P < 0{,}001$). Die Gruppe I und II zeigen untereinander nur geringe Unterschiede, die leicht erhöhte Aberrationsrate bei der Gruppe I mit längerer Expositionszeit war durch Fall 1 (Benzolmyelopathie) bedingt.

Die Chromosomenaberrationen im direkten Knochenmarkverfahren bei 4 benzolexponierten Arbeitern waren gegenüber denen der 2 Kontrollpersonen aus der gleichen Fabrik deutlich erhöht. Sowohl der Chromatidtyp (18,5) als auch der Chromosomentyp (12,9%) der Aberrationen war gegenüber den Kontrollpersonen (Chromatidtyp 12,7%, Chromosomentyp 1,8%) stark erhöht. Allerdings war die Zahl der untersuchten Mitosen gering, so daß die Unterschiede mit Vorsicht zu bewerten sind. Der Mitosenindex war bei Fall 1 und 6 stark erniedrigt. Die verschiedenen Aberrationstypen sind in Abb. 1 dargelegt.

BEST AVAILABLE COPY

Tabelle 2. Chromosomenaberrationen bei benzolexponierten Arbeitern und Kontrollpersonen in der peripheren Blutkultur

	Alter	Expositionszeit in Jahren	Zellzahl	Chromatiltyp			Chromosomentyp		
				G	E	B	Cu	Cs	4a
Gruppe I und II	41	9	750	9,4 %	4,1 %	3,2 %	2,3 %	2,3 %	1,9 %
Kontrolle	37	—	700	8,0 %	3,0 %	2,2 %	0,3 %	0,2 %	2,0 %

Tabelle 3a. Chromosomenaberrationen bei 4 benzolexponierten Arbeitern und 2 Kontrollpersonen (3b) im direkten Knochenmarkverfahren

Fall	Alter	Expositionszeit in Jahren	Zellzahl	Chromatiltyp			Chromosomentyp			Bemerkungen
				G	E	B	Cu	Cs	4a	
1	58	20	7	—	—	1	4* + 1	1	—	Mitoseindex erniedrigt
6	31	11	13	2	3	—	—	—	—	Mitoseindex erniedrigt
10	36	5	25	1	1	1	—	—	—	unauffällig
11	44	4	25	1	1	2	1	2	2	vereinzelte Anaphasenstörung
		10	70	5,7 %	7,1 %	5,7 %	8,6 %	4,3 %	2,8 %	

Tabelle 3b

Fall	Alter	Expositionszeit in Jahren	Zellzahl	Chromatiltyp			Chromosomentyp			Bemerkungen
				G	E	B	Cu	Cs	4a	
	38	—	25	—	1	1	1	—	1	Kontrolle
	42	—	30	1	1	3	—	—	—	
		—	55	1,8 %	3,6 %	7,3 %	1,8 %	—	1,8 %	

* Azentrische Fragmente.

BEST AVAILABLE COPY

Von den 15 untersuchten Benzolarbeitern wies ein Fall eine Benzolmyelopathie (Fall 1) auf. Die Chromatidaberrationen in der peripheren Blutkultur lagen in diesem Fall bei 30%, die Chromosomenaberrationen bei 14% (Fall 1, Tabelle 1a).

Im direkten Knochenmarkverfahren fanden sich bei erniedrigtem Mitosenindex verklumpte Mitosen mit klebrigen und leicht verletzlichen Mitosen, die einer Karyotypenanalyse nicht zuließen.

Es waren nur 7 gut ausgebreitete Mitosen auffindbar, 4 dieser Mitosen zeigten ein acentrisches Fragment. Bei einer Mitose wurde Deletion eines kurzen Armes der Gruppe C beobachtet.

Die cytologischen Untersuchungen des Knochenmarkausstriches zeigte eine leichte Vermehrung der Myeloblasten und Promyelocyten auf 4,5%. Die Kontrolluntersuchungen des Knochenmarkausstriches 1 Jahr später wies ein stark hypoplastisches Mark auf, bei beiden Untersuchungen fiel Granulationsschwund bei einer [illegible]ten Zahl der reifen Zellen, insbesondere bei den stabkernigen und segmentkernigen Granulocyten, auf. Vereinzelte Knochenmarkzellen zeigten Cytoplasmavacuolen. Abnorme Mitosen mit Chromosomenabsprengungen, Brückenbildungen, Anaphasenstörungen und Chromatorhexis (Karyorrhexis) wurden beobachtet. Das periphere Blutbild war unauffällig.

Diskussion

Boveri (1914) stellte zur Frage der Entstehung maligner Tumoren die Hypothese auf, daß die Krebszellen infolge abnormer Mitosen einen abnormen Chromosomenbestand hätten, daß das eigentliche Wachstum der Geschwulst jedoch nur durch reguläre zweipolige Mitosen vor sich gehe, wobei der gleiche abnorme Chromosomenbestand von den Tochterzellen beibehalten wird. Als Folge der mitotischen Abnormitäten entstehen Zellen mit stets variierenden Chromosomenzahlen. Winge (1930) hat diese Heterogenität als Grundlage für die selektive Zellproliferation angesehen. Die Frage, ob die chromosomalen Aberrationen die Ursache der Neoplasie sind, oder ob sie nur ein Epiphänomen darstellen, wird immer wieder diskutiert. Letzthin hat Fialkow (1967) postuliert, daß die maligne Transformation, welche durch onkogene Viren, ionisierenden Strahlen und bestimmte Chemikalien entsteht, durch chromosomale Aberrationen vermittelt werden kann, wenn auch die chromosomalen Aberrationen per se nicht onkogen sind, so können sie doch durch irgendeinen Mechanismus die maligne Transformation durch Viren, Chemikalien oder Bestrahlung potenzieren. Spontane chromosomale Brüche kommen sehr häufig bei akuten Leukämien sowie auch bei anderen neoplastischen Erkrankungen vor. Bestimmte hereditäre Erkrankungen, wie z. B. das Bloom-Syndrom (Bloom, 1966; Rauh u. Soukup 1968; German,

BEST AVAILABLE COPY

1969), die Fanconi-Anämie [Schroeder, 1966 (1, 2)], die Ataxia teleangiektasia (Peterson *et al.*, 1964; Hecht *et al.*, 1966) und die A-Gamma-Globulinämie, wiesen in Zellkulturen vermehrte Chromosomenbrüche auf. Diese Krankheiten sind aber auch einem hohen Leukämierisiko unterworfen, so daß man geneigt ist, eine Beziehung zwischen chromosomaler Abnormität und Malignität anzunehmen. Vermehrte Chromosomenbrüche kommen auch bei perniziöser Anämie (Astaldi *et al.*, 1962; Klossoglou *et al.*, 1965; Khan u. Martin, 1968 (1)] vor. Bei dieser Erkrankung tritt das Magencarcinom dreimal häufiger auf, und damit ist diese zur Neoplasie prädisponiert.

Ionisierende Strahlen, verschiedene Chemikalien und bestimmte Viren, welche vermehrte chromosomale Brüche verursachen, gelten auch als Mutagene. Neben den ionisierenden Strahlen gilt das Benzol als das am meisten bekannte leukomogene Agens.

Die cytologischen und cytogenetischen Veränderungen nach Benzol und Radiation sind unspezifisch. Im Gegensatz zu den strahleninduzierten Leukämien, bei denen die chronisch myeloische Leukämie (CML) beinahe so häufig wie die akute Leukämie vorkommt, scheinen die selten beschriebenen Fälle von CML nach Benzolexposition reine Zufallsbefunde zu sein (Vigliani u. Saita, 1964).

Nach Benzolexposition treten akute Leukämien, myeloische (Penati u. Vigliani, 1938; Erf u. Rhoads, 1939; de Gowin, 1963; Hartwich *et al.*, 1969) oder Erythroleukämien (Galavotti u. Troisi, 1950; Paterni *et al.*, 1954; Appuhn u. Goldeck, 1957; di Guglielmo u. Iannaccione, 1958; Forni u. Morro, 1969) häufig nach einer Latenzzeit auf. Die ersten cytologischen Veränderungen können durch Myelopathien oder aplastische Anämien, die einem präleukämischen Zustand entsprechen, gekennzeichnet sein.

Bei den benzolexponierten Arbeitern war sowohl die Zahl der Aberrationen vom Chromatidtyp als auch derer vom Chromosomentyp signifikant erhöht. Auffallend hoch lagen die Aberrationen vom Chromosomentyp, sowohl die vorausgegangenen Untersuchungen von Pollini *et al.* (1964), Court Brown *et al.* (1965, 1970) und Forni *et al.* (1966, 1971), daß die Aberrationsrate bei Benzolexponierten gegenüber der Norm höher liegen.

Die cytogenetischen Aberrationen der Gruppe I mit Exposition zwischen 11 und 20 Jahren zeigte gegenüber der Gruppe II mit kürzerer Expositionszeit zwischen 2 und 5 Jahren keine wesentlichen Unterschiede. Dies bestätigt die allgemein anerkannte Tatsache, daß die individuelle Disposition eine größere Rolle spielt, als die Expositionszeit. Forni *et al.* (1971) beobachteten eine schwere Benzolmyelopathie nach einer Expositionszeit von 2 bis 3 Jahren, während bei einer Person mit 22jähriger Expositionszeit keine Benzolmyelopathie nachweisbar war.

BEST AVAILABLE COPY

Eine spezifische Chromosomenanomalie, das sog. Philadelphia-(Ph 1)-Chromosom (Nowell u. Hungerford, 1960), ist nur bei chronischer myeloischer Leukämie bekannt. Es ist in sehr seltenen Fällen bei anderen myeloproliferativen Erkrankungen beschrieben [Lüers *et al.*, 1963; Kiossoglou *et al.*, 1965; Khan u. Martin, 1967, 1968 (2); Khan, 1972, 1973]. Das Ph 1-Chromosom bei der chronisch myeloischen Leukämie ist in den Knochenmarkszellen, dagegen nicht in den Lymphocyten des peripheren Blutes und in den Fibroblasten der Haut nachweisbar. In der Lymphocytenkultur wurden nach Bestrahlung (Goh, 1968) sowohl nach Benzolintoxikation (Forni *et al.*, 1971) in vereinzelten Zellen eine Ph 1-ähnliche Anomalie beobachtet. Das Auftreten des Ph 1-Chromosoms in den Lymphocyten des peripheren Blutes oder in den Fibroblasten der Haut ist für die Leukämiediagnose nicht relevant.

Die Lymphocytenpopulation ist morphologisch und immunbiologisch sehr heterogen. Durch PHA werden mindestens die kleinen Lymphocyten zu teilungsfähigen Lymphoblasten stimuliert. Diese Stimulation ist jedoch unspezifisch. Ein Lymphocyt mit chromosomalem Defekt braucht nicht immer zu teilungsfähigen Lymphoblasten stimuliert zu werden. Es ist deshalb schwer zu beurteilen, wie weit ein cytogenetisch aberranter Lymphocyt die gesamte somatische Mutation im Körper reflektiert. Die biologische Signifikanz eines Lymphocytenclone, sowie seine Relevanz für die Ätiologie der Neoplasie ist bisher nicht geklärt. Es wird allgemein angenommen, daß spontane Brüche in irgendeiner Weise mit der Neoplasie in Verbindung stehen. Die Rate der chromosomalen Aberration gilt als Parameter für die Toxizität des Benzols und ionisierenden Strahlen. Wenn in der Lymphocytenkultur die chromosomalen Aberrationen hoch liegen, sollte dies Anlaß zu weiterer systematischer Kontrolle und zu Knochenmarksuntersuchungen geben.

Das Studium der Präleukämie beim benzolexponierten Arbeiter ist von besonderem Interesse, da die Leukämierate beim benzolexponierten Arbeiter etwa 20mal häufiger ist als bei der normalen Bevölkerung (Vigliani u. Saita, 1964). Die Serienuntersuchungen eines neu entstandenen Clone beim benzolexponierten Arbeiter werden zur Beantwortung der Frage beitragen, ob dieser mit der Entstehung der Leukämie in Zusammenhang steht.

Die cytogenetischen Untersuchungen scheinen hiermit ein wertvolles diagnostisches Mittel zur Beurteilung der Benzolintoxikation, falls andere Agenzien, die ebenfalls chromosomale Veränderungen hervorrufen können, ausgeschlossen werden können.

Literatur

Appuhn, E., Goldeck, H.: Früh- und Spätschäden der Blutbildung durch Benzol und seine Homologen. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 15, 399 (1957)

BEST AVAILABLE COPY

Astaldi, G., Strozzi, E., Airo, R.: Ricerche citogenetiche nelle emopatie: Osservazioni sui cromosomi dell'anemia perniciosa non tratta. I. Alterazioni numeriche. Boll. Soc. Ital. Biol. sper. 38, 111 (1962)

Bloom, D.: The syndrome of congenital tel-angiectatic erythema and stunted growth. J. Pediat. 68, 103 (1966)

Boveri, Th.: Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Jena: Gustav Fischer 1914

Buckton, K. E., Jacobs, P. A., Court Brown, W. M., Doll, R.: A study of the chromosome damage persisting after x-ray therapy for ankylosing spodylitis. Lancet 1962 II, 676

Court Brown, W. M.: s. Tough, I. M., Court Brown, W. M., 1965; Tough *et al.*, 1970

Erf, L. A., Rhoads, C. P.: The hematological effects of benzene (benzol) poisoning. J. industr. Hyg. 21, 421 (1939)

Fialkow, P. J.: „Immunologic" Oncogenesis. Blood 30, 368 (1967)

Forni, A. M.: Chromosome changes due to chronic exposure to benzene. Proc. XV Int. Congr. Occupational Health II/1, Vienna, 437 (1966)

Forni, A. M., Capellini, A., Pacifico, E., Vigliani, E. C.: Chromosome changes and their evolution in subjects with past exposure to benzene. Arch. environm. Hlth 22, 285 (1971)

Forni, A. M., Morro, L.: Chromosome studies in a case of benzene-induced erythroleukaemia. Europ. J. Cancer 5, 459 (1969)

Galavotti, B., Troisi, I. M.: Erythroleukaemic myelosis in benzene poisoning. Brit. J. industr. Med. 7, 79 (1950)

German, J.: Bloom's syndrome. I. Genetical and clinical observations in the first twenty-seven patients. Amer. J. hum. Genet. 21, 196 (1969)

Goh, K. O.: Total-body irradiation and human chromosomes: Cytogenetic studies of the peripheral blood and bone marrow leukocytes seven years after total-body irradiation. Radiat. Res. 35, 155 (1968)

Gowin, R. L. de: Benzene exposure and aplastic anemia followed by leukemia 15 years later. J. Amer. med. Ass. 185, 748 (1963)

Guglielmo, G. di, Iannaccione, A.: Inhibition of mitosis and regressive changes of erythroblasts in acute erythropathy caused by occupational benzene poisoning. Acta haemat. (Basel) 19, 144 (1958)

Hartwich, G., Schwanitz, G., Becker, J.: Chromosomenaberrationen bei einer Benzol-Leukämie. Dtsch. med. Wschr. 94, 1228 (1969)

Hecht, F., Koler, R. D., Rigas, D. A., Dahnke, G. S., Gase, M. P., Tisdale, V., Miller, R. W.: Leukemia and lymphocytes in ataxia teleangiectasia. Lancet 1966 II, 1193

Khan, M. H.: Heteromorphic pair of metacentric chromosomes with fused arms and the Philadelphia chromosome in a case of acute myeloid leukemia. Acta haemat. (Basel) 48, 212 (1972)

Khan, M. H.: Acute myeloid leukemia with two Philadelphia chromosomes in forty-six stemline (Remarks on the karyotypic analysis and chemotherapy). Humangenetik 18, 55 (1973)

Khan, M. H., Martin, H.: Myeloblastenleukämie mit Philadelphia-Chromosom. Klin. Wschr. 16, 821 (1967)

Khan, M. H., Martin, H.: (1) Zytogenetische Untersuchungen bei Perniziöser Anämie. Blut 18, 129 (1968)

Khan, M. H., Martin, H.: (2) Multiple chromosomal aberrations in a case of malignant myelosklerosis. Acta haemat. (Basel) 39, 299 (1968)

BEST AVAILABLE COPY

Kiossoglou, K. A., Mitus, W. J., Dameshek, W.: Chromosomal aberrations in pernicious anemia. Study of three cases before and after therapy. Blood 24, 662 (1965)

Kiossoglou, K. A., Mitus, W. J., Dameshek, W.: Two Ph 1 chromosomes in acute granulocytic leukemia. Lancet 1965 I, 665

Lhers, Th., Struck, E., Albrecht, M.: Strukturanomalien der Chromosomen bei einer akuten Paramyeloblasten-Leukämie. Med. Welt 17, 948 (1963)

Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellmann, W. J., Battips, D. M., Hungerford, D. A.: Chromosome preparation of leukocytes cultured in human peripheral blood. Exp. Cell Res. 20, 613 (1960)

Nowell, P. C., Hungerford, D. A.: A minute chromosome in human granulocytic leukaemia. Science 132, 1497 (1960)

Paterni, T., Teodori, S., Dotta, F.: Emopatia benzenica: contribu[illegible] clinico (eritromielopatia aneritremica) e concetti generali. Policlinico (spez. prat.) 61, 905 (1954)

Penati, F., Vigiliani, E.: Sul problema della mielopathie aplastiche pseudoaplastiche e leucemiche da benzolo. Rass. Med. industr. 9, 345 (1938)

Peterson, R. D., Kelly, W. D., Good, R. A.: A[illegible] teleangiectasia: Its association with defective thymus, immunological deficiency disease and malignancy. Lancet 1964 I, 1189

Pollini, G., Colombi, R.: Il danno cromosomico midollare nell'anemia aplastica benzolica. Med. d. Lavoro 55, 241 (1964)

Pollini, G., Colombi, R.: Il danno cromosomico dei linfociti nell'emopatia benzenica. Med. d. Lavoro 55, 641 (1964)

Rauh, J. L., Soukup, S. W.: Bloom's syndrome. J. Dis. Child. 116, 409 (1968)

Schroeder, T. M.: (1) Cytogenetischer Befund und Ätiologie bei Fanconi Anämie. Humangenetik 2, 76 (1966)

Schroeder, T. M.: (2) Cytogenetische und cytologische Befunde bei enzymopenischen Panmyelopathien und Pancytopenien (familiäre Panmyelopathie Fanconi, Glutathionreduktasemangel-Anämie, megaloblastäre Vitamin-B 12-Folsäuremangel-Anämie). Humangenetik 2, 287 (1966)

Tough, I. M., Court Brown, W. M.: Chromosome aberrations and exposure to ambient benzene. Lancet 1965 I, 684

Tough, I. M., Smith, P. G., Court Brown, W. M., Harnden, D. G.: Chromosome studies on workers exposed to atmospheric benzene. The possible influence of age. Europ. J. Cancer 6, 49 (1970)

Vigliani, E. C., Saita, G.: Benzene and Leukemia. New Engl. J. Med. 271, 872 (1964)

Winge, Ö.: Zytologische Untersuchungen über die Natur maligner Tumoren II. Tierkarzinome bei Mäusen. Z. Zellforsch. 10, 683 (1930).

Professor Dr. Dr. med. M. H. Khan
Zentrum der Inneren Medizin
Abteilung für Hämatologie
Johann Wolfgang Goethe-Universität
D-6000 Frankfurt/Main
Theodor Stern-Kai 7
Bundesrepublik Deutschland

BEST AVAILABLE COPY