

932760

**AKUT LÖSEMİ TANILI OLGULARDA KROMOZOM
VE
KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ (KKD) ANALİZİ.**

Musaffe TUNA

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Genetik Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Mustafa SOLAK

Şubat 1992

Anadolu Üniversitesi
Merkez Kütüphane

KABUL VE ONAY SAYFASI

Musaffe TUNA'nın YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırladığı " Akut lösemi tanılı olgularda kromozom ve kardeş kromatid değişimi (KKD) analizi " başlıklı bu çalışma, jurimizce lisans üstü Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir. 23.03.1992

Üye: Prof. Dr. Nurettin BAŞARAN (imza)

Üye: Prof. Dr. Ayşe BAŞARAN (imza)

Üye: Yrd. Doç. Dr. Mustafa SOLAK (imza)

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 31.3.1992 gün ve 178/445 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ASLI GİBİDİR

31 1992

(imza)
Prof. Dr. Nurettin BAŞARAN
Enstitü Müdürü

İsmail YILMAZ
Enstitü Sekreteri

ÖZET

Akut lösemili olgularda kromozom düzeyinde meydana gelen düzensizlikler ile bu olgularda kardeş kromatid değişim düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada 14 akut lösemili ve biri Hodgkin's hastalığı olan toplam 15 olgu ile toplam 15 sağlıklı kişide periferik kan kültürü yöntemi ile kromozom ve kardeş kromatid değişim düzeylerine ilişkin analiz yapıldı.

Araştırma ve kontrol grubunda kromozom analizi için GTG bantlama tekniği uygulandı. Ayrıca araştırma ve kontrol grubu bireylerinde KKD analizi için FPG tekniği uygulandı.

İncelenen akut lösemili olgulardan

i) ANLL - M2 tipinde olanların ilkinde [46, XY, del (3) (q25)] karyotipi , ikincisinde ise [46, XY, del (2) (q12q14)] saptanırken, üçüncüsünde ise. [46, XY, -7, mar / 46, XY, inv (16) (p;q)] karyotipi belirlendi.

ii) Yine ANLL - M3 tipinde olan üç olgudan ilkinde normal karyotip [46,XX], ikircisinde [44, XY, -14, -19, t (7;8) (q22;p11) ve üçüncüsünde ise translokasyon tipi düzensizlik [43, XY, -19, t (13q22q), t (21q22q)] saptandı.

iii) Araştırma grubundaki olgulardan iki tanesi ANLL - M4 tipinde olup ilkinde translokasyon [46, XX, +19, t (15;22) (q26;q11) / 46, XX, +19, -22, min] gözlenirken ikinci olguda inversiyon tipi düzensizlik [46,XX,inv(3)(p11;q22)/47,XX,+del (22) (q11)] gözlendi.

iv) Yine araştırma grubunu oluşturan olgulardan dört tanesi ANLL - M5 tipinde idi. Bu olgulardan ilkinde 13. kromozomun uzun kolunda artış saptandı [46, XY,13q+] saptandı. Bu grubun diğer üç olgusundan ilki M5a tipinde olup 20. kromozom monozomisi [45, XY, -20] gözlenirken geri kalan iki tanesi M5b tipinde olup ilkinde [47,XX,+21] ve ikincisinde ise translokasyon tipi düzensizlik belirlendi [45, XY, -19,t (10;14) (q23;q23)].

v) Araştırmamızda yer alan son üç olgudan biri alt tipi belirlenemiyen ANLL tipinde, bir tanesi ALL - L2 ve sonuncusu da Hodgkin's hastalığı tanılı idi. Bunlardan ilkinde 17. kromozom monozomisi ve marker kromozom [46, XY, -17, mar., min.], ikincisinde normal karyotip [46, XX] ve sonuncusunda da translokasyon tipi

düzensizlik [46, XY, t (8;19) (q24;q13)] saptandı.

Yine araştırma grubu olgularında kemoterapi öncesi ve kemoterapi sonrası dönemde kromatid tipi kırık, asentrik kromozom ve kromozom tipi kırık düzensizliği yönünden değerlendirme yapıldı. Sonuçta her üç düzensizlik yönünden araştırma grubunda kontrol grubuna göre artış olduğu belirlendi ($p < 0.001^{***}$) Yine araştırma grubu olgularında tedavi sonrası dönemde tedavi öncesi dönemine göre aynı düzensizlikler açısından önemli düzeyde artış olduğu belirlendi ($p < 0.01^{**}$).Diğer taraftan incelenen KKD düzeylerinin değerlendirilmesi sonucunda araştırma grubu olgularında kemoterapi öncesi ortalama KKD değeri 12.07 ± 0.15 ve kemoterapi sonrası 14.04 ± 0.32 iken, kontrol grubunda aynı değer ise 7.87 ± 0.60 olarak saptandı. Araştırma grubu olguları ile kontrol grubu olguları arasında ve yine araştırma grubu olgularında kemoterapi öncesi ve kemoterapi sonrası dönem arasında KKD düzeyleri incelendi. Sonuçta araştırma grubu olgularında kontrol grubuna göre; ve yine araştırma grubunda kemoterapi sonrası dönemde kemoterapi öncesine göre KKD düzeylerinde önemli derecede artış ($p < 0.001^{***}$) belirlendi.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada :

- i) Akut lösemi tanılı olgularda literatürde yer alan düzensizliklerin dışında farklı bazı kromozom düzensizliklerinin de bulunabileceği,
- ii) Bu olgularda KKD düzeylerinin sağlıklı kişilere oranla yüksek olduğu,
- iii) Yine bu olgularda KKD düzeylerinin kemoterapi sonrası dönemde kemoterapi öncesi döneme göre artış gösterdiği, bunun sonucu olarak kemoterapide kullanılan antikanserojen ilaçların KKD düzeylerini önemli düzeyde arttırdığı kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler : Kromozom anomalileri, Akut lösemiler, Kardeş kromatid değişimi (KKD), Periferik kan.

SUMMARY

Chromosome and Sister Chromatid Exchange Analyses in Acute Leukemia Cases

This study was undertaken to evaluate the irregularities of the chromosome level and the sister chromatid exchange level in the acute leukemia cases. The study was based on 15 cases, 14 cases of acute leukemia and one of Hodgkin's disease, and 15 healthy individuals the analysis related with chromosome and SCE level were carried out by peripheral blood culture technique. For the chromosome analysis of the experimental and control groups GTG banding technique and for the sister chromatid exchange analysis of these groups FPG technique was applied.

The results obtained from the acute leukemia cases are as follows :

i) Of ANLL - M2 type acute leukemia cases [46,XY,del(3)(q25)] karyotype was observed in the first one and in the second one [46,XY,del(2)(q12q14)] ,and in the third one [46,XY,-7,+mar / 46,XY,inv (16)(p;q)] karyotype was observed.

ii) Of three cases with ANLL - M3 type, the first one had normal karyotype [46,XX], the second one had [44,XY,-14,-19,t(7;8)(q22;q11)] and the third one had irregularity of translocation type [43,XY,-19,t (13q22q),t (21q22q)].

iii) Two of the experimental group were ANLL - M4 type. In the first one of these [46,XX, +19, t (15;22)(q26;q11) / 46,XX, +19, -22] translocation was observed, and in the second one [46,XX, inv (3) (p11;q22) / 47,XX, +del (22)(q11)] inversion was observed.

iv) Four of the experimental group were ANLL - M5 type. In the first one of these cases an increase in the long arm of the 13th chromosome [46,XY,13q+] was observed. In the first one of the remaining three was in M5a type, 20th chromosome monozomy [45, XY, -20] was observed. The remaining two were M5b type. In the first of these [47, XX, +21], and in the second one [45, XY, -19, t (10;14) (q23;q23)] translocation type of irregularity was observed.

v) Of the three cases, one was ANLL type, its subtype could not be identified,

the other one was ALL - L2 type and the last one was Hodgkin's disease. In the first of this group, the 17th chromosome monozomy and marker chromosome [46,XY, -17,+ mar, min] was observed, in the second one normal karyotype and in the last one translocation type of irregularity was observed.

In the experimental group, 3 types of irregularities were evaluated before chemotherapy and after chemotherapy: broken chromatid type, acentric chromosome and broken chromosome type. According to the evaluation, an increase was observed in 3 types of irregularities in the experimental group compared with the control group ($p < 0.001^{***}$). With the experimental group, after chemotherapy studies in patients the same irregularities showed an increase compared with the before chemotherapy studies in these patients. There was a significant change between the two ($p < 0.01^{**}$). The evaluation of SCE levels showed that SCE values for the experimental group before chemotherapy was 12.07 ± 0.15 and after chemotherapy it was 14.04 ± 0.32 whereas the value for the control group was 7.87 ± 0.60 . There was a significant change between the levels of SCE of the experimental group and the control groups. There was also a significant change between SCE levels of the experimental group before and after chemotherapy studies ($p < 0.001^{***}$).

The results of this study indicate :

- i) In acute leukemia cases, the irregularities, other than the ones found in the studies carried out so far, could be observed.
- ii) SCE level in these cases is higher than the one found in healthy individuals.
- iii) SCE level of these cases increase after chemotherapy compared with before chemotherapy period. So, it is thought that anti cancerogen medicine used in chemotherapy caused an increase in SCE level.

Key words : Chromosome aberrations Acute leukemia, Sister Chromatid Exchange (SCE), Peripheral blood.

TEŞEKKÜR

Gerek yetişmemde, gerekse kazandığım deneyimlerde yakın ilgi ve büyük yardımlarını gördüğüm , kıymetli bilgilerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Nurettin BAŞARAN'a, bu çalışmanın gerçekleşmesinde bana yol gösteren , kıymetli bilgileri ile çalışmama katkıda bulunan değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Mustafa SOLAK'a , çalışmalarımı sürekli bir şekilde izleyen ve yol gösteren değerli hocam Ayşe BAŞARAN'a, hasta takibinde ve materyal alımında her türlü kolaylığı sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Sefer GEZER ve Hematoloji Bilim Dalı elemanlarına , istatistiksel değerlendirmelerde yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR ve Bilim Dalı elemanlarına, tezimin yazılmasında bana her türlü kolaylığı sağlayan Bilgi İşlem Merkezi elemanlarına, tüm mesai arkadaşlarımla manevi ve maddi yardımlarını esirgemeyen *aileme* teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	1
1.1. Giriş	1
1.2. Önceki Çalışmalar	3
1.2.1. Akut Lösemiler	3
1.2.2. Kromozom ve kromozom düzensizlikleri	5
1.2.2.a. Sayısal düzensizlikler	6
1.2.2.b. Yapısal düzensizlikler	6
1.2.3. Kanser Patogenezinde Kromozomların Rolü	7
1.2.3.a. Dış etkenlerle oluşan kromozom düzensizlikleri ve kanser	8
1.2.3.b. Doğumsal kromozom düzensizlikleri ve neoplaziler ...	9
1.2.3.c. Kromozomal kırık sendromları ve neoplaziler	9
1.2.3.d. Prelösemik ve prekanseröz durumlarda kromozom düzensizlikleri	10
1.2.3.e. Lösemi, lenfoma ve malign tümörlerde kromozom düzensizlikleri	10
1.2.4. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) ve Modeli	12
1.2.4.a. Kardeş kromatid değişikliğinin kromozomlara göre dağılımı	15
1.2.4.b. Kendiliğinden oluşan kardeş kromatid değişimi	15
1.2.4.c. Kimyasal fiziksel ve viral ajanlar ve kardeş kromatid değişimi	16
1.2.4.d. Kırık sendromları ve kardeş kromatid değişimi	17

İÇİNDEKİLER (devam)

1.2.4.e. Neoplastik hastalıklarda kardeş kromatid değişimi	18
1.2.4.f. Karsinogen, mutajen ve kardeş kromatid değişimi	18
2. GEREÇ VE YÖNTEM	20
2.1. Gereç	20
2.1.1. Araştırma ve kontrol grubu	20
2.1.1.a. Araştırma grubu	20
2.1.1.b. Kontrol grubu	20
2.1.2. Kromozom ve KKD analizi için kullanılan kültür ortamı	21
2.1.2.a. Kromozom ve kardeş kromatid analizi için.....	21
2.1.2.b. High resolution bantlama için	21
2.1.3. Kimyasal maddeler	21
2.1.4. Tampon ve solüsyonlar	22
2.1.4.a. Tamponlar	22
2.1.4.b. Solüsyonlar	23
2.1.5. Aygıtlar	25
2.2. YÖNTEM	26
2.2.1. Kromozom elde etme yöntemi	26
2.2.1.a. Standart periferik kan kültürü yöntemi	26
2.2.1.b. High resolution bantlama (HRB) yöntemi	27
2.2.1.c. Giemsa-Trypsin-Giemsa bantlama yöntemi	27
2.2.2. Kardeş kromatid değişimi (KKD) yöntemi.....	28
2.2.3. Değerlendirme	29
2.2.3.a. Kromozom düzensizliklerinin değerlendirilmesi	29
2.2.3.b. KKD içeren kromozomların değerlendirilmesi	30
2.2.4. İstatistiksel değerlendirme	30
2.2.5. Fotoğraf işlemleri	31
2.2.6. Akut lösemili olgulara Anadolu Üniversitesi	
Tıp Fakültesi Hematoloji kliniğinde uygulanan kemoterapi	31

İÇİNDEKİLER (devam)

3.BULGULAR	34
3.1. Kromozom Analizi Bulguları	34
3.2. KKD Analizi Bulguları	36
4. TARTIŞMA	58
5. SONUÇ	67
6. KAYNAKLAR DİZİNİ	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil: 1.1.	Hücre replikasyonu esnasında (M1, M2, M3) BrdU nun bağlanması 14
Şekil: 1.2.	Kardeş kromatid değişiminin olası mekanizması 14
Şekil: 2.1.	Birli, ikili, üçlü, dörtlü kardeş kromatid değişimi 30
Şekil: 3.1.	Araştırma grubu olguları ile kontrol grubu bireylerinde saptanan yapısal kromozom düzensizleri 43
Şekil: 3.2.	Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve sonrası ile kontrol grubu bireylerde saptanan KKD düzeylerinin aritmetik ortalamalarına göre dağılımı 50
Şekil: 3.3.	Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası ile kontrol grubu bireylerde kromozom çifti ve kromozom gruplarına göre beklenen ve gözlenen KKD düzeyleri 55
Şekil: 3.4.	Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası ile kontrol grubu bireylerde kromozom çifti ve kromozom gruplarına göre beklenen ve gözlenen KKD düzeyleri 56
Şekil: 3.5.	ANLL tanılı ve M2 formuna uyan üç olguda gözlenen düzensizlikler 80
Şekil: 3.6.	ANLL tanılı ve M3 formuna uyan üç olguda gözlenen düzensizlikler 83
Şekil: 3.7.	ANLL tanılı ve M4 formuna uyan iki olguda gözlenen düzensizlikler 85
Şekil: 3.8.	ANLL tanılı ve M5 formuna uyan dört olgudan ikisinde gözlenen düzensizlikler 89
Şekil: 3.9.	ANLL tanılı alt tipi belirlenemiyen olgu ile Hodgkin's hastalığı tanılı olgularda gözlenen düzensizlikler 91
Şekil: 3.10.	Araştırma grubu olgularında gözlenen KKD'ne ilişkin metafaz plağı örneği 93

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge:2.1 Akut lösemili olguların kemoterapi öncesi laboratuvar bulguları	32
Çizelge:2.2. Akut lösemili olguların kemoterapi sonrası laboratuvar bulguları	33
Çizelge:3.1. Akut lösemili olgularda yapılan kromozom analizi bulguları ...	40
Çizelge:3.2.a. Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve sonrası gözlenen kromozom düzensizleri	41
Çizelge:3.2.b. Araştırma ve kontrol grubu olgularında gözlenen yapısal kromozom düzensizleri	42
Çizelge:3.3. Araştırma grubu olguları tedavi öncesi KKD sıklığının kromozomlara göre dağılımı	44
Çizelge:3.4. Araştırma grubu olguları tedavi sonrası KKD sıklığının kromozomlara göre dağılımı	45
Çizelge:3.5 Kontrol grubu bireylerinde KKD sıklığının kromozomlara göre dağılımı	46
Çizelge:3.6. Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası KKD dağılımı	47
Çizelge:3.7. Kontrol grubu bireylerinde KKD dağılımı	48
Çizelge:3.8. Araştırma ve kontrol grubunda gözlenen ortalama KKD değerleri	49
Çizelge:3.9. Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi KKD'lerin kromozomlar arasında dağılımı	51
.Çizelge:3.10. Araştırma grubu olgularında tedavi sonrası KKD'lerin kromozomlar arasında dağılımı	51
Çizelge:3.11. Kontrol grubu bireylerde KKD'lerin kromozomlar arasında dağılımı	52
Çizelge:3.12 Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi kromozomlar arasında değişimlerin dağılımı	53

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge:3.13. Araştırma grubu olgularında tedavi sonrası kromozomlar arasında değişimlerin dağılımı	53
Çizelge:3.14. Kontrol grubu bireylerde kromozomlar arasında değişimlerin dağılımı	54
Çizelge:3.15. Kromozom ve kromozom gruplarına göre araştırma ve kontrol grubu olgularda KKD düzeylerinin dağılımı	54
Çizelge:3.16. Araştırma ve kontrol grubu olgularda cinsiyete göre ortalama KKD dağılımı	57

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler ve kısaltmalar

ALL

ANLL

AML-M1

AML-M2

APL-M3

AMMoL-M4

AMoL-M5

EL

KML

inv

i

t

p

q

.del

FAB

Hb

Htc

BK

 μ g

mg

nm

CALLA

TDT

Ph

PHA

UV

GTG

Açıklamalar

Akut lenfoblastik lösemi

Akut nonlenfoblastik lösemi

Akut myeloblastik lösemi (maturasyonsuz tip)

Akut myeloblastik lösemi (maturasyonlu tip)

Akut Promyelocitik lösemi

Akut myelomonocyik lösemi

Akut monocitik lösemi

Acute Eritrolösemi

Kromik myeloid lösemi

İnversiyon

İzokromozom

Translokasyon

Kromozomun kısa kolu

Kromozomun uzun kolu

Delesyon (eksilme)

French-American-British

Hemoglobün

Hemotokrit

Beyaz küre

Mikrogram

Miligram

Nanometre

"Common akut lenfoblastik lösemi" antijeni

Terminal deoksiribonükleotid transferaz

Philadelphia kromozomu

Phitohemagglutinin

Ultraviyole ışını

Giemsa - typsin - giemsa bantlama

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

HRB	High resolution bantlama
FA	Fanconi anemisi
BS	Bloom sendromu
AT	Ataksi telenjiyektazi
ULKÇG	Uluslararası lösemilerde kromozom çalışması grubu
BrdU	5-bromo-2'-deoxyuridine
FPG	Fluorescence plus giemsa
DES	Diethylstilbestrol
MMC	Mytomycin C
MMS	Methyl methanesulfonate
MTX	Methotrexate
ActD	Actinomycin D
MPN	Melphalan
BUS	Busulfan
AD	Actinomycin=doxorubicin
C - ARA	Cytoarabinoside
KCL	Potasyum klorür
M	Molar
M1	Mitoz 1
M2	Mitoz 2
M3	Mitoz 3
G	Hücre bölünmesinde interfaz döneminin G evresi
S	Hücre bölünmesinde interfaz döneminin sentez evresi

GİRİŞ ve ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

1.1.Giriş

1956 yılında Tijo ve Levan tarafından insanda kromozom sayısının ($2n = 46$) belirlenmesiyle diğer bazı hastalıklarda olduğu gibi insan kanserlerinde de kromozom değişikliklerinin daha doğru bir şekilde incelenmesi sağlandı (6, 60). 1960 yılında Nowell ve Hungerford ilk olarak kronik miyeloid lösemiye özgü Philadelphia (Ph) kromozomunu ortaya koydu (76, 77). Bu çalışmaları izleyen yıllarda hemen her kanser türünde, kansere özgü bazı kromozom anomalilerinin saptanması üzerine kanserle kromozom anomalileri arasındaki ilişki daha sağlam bir temele oturtuldu (76, 77).

Fiziksel ve kimyasal ajanlar ile virusları içeren çevresel etkenlerin uzun zamandan beri karsinojenik olduğu bilinmekte (1, 27, 52) ve bu karsinojenlerin kromozomlarda anomaliler yaparak kanser oluşturabildikleri bildirilmektedir (27, 52, 76). Yine iyonize radyasyon hücrede öncül nükleotidlerin yapısını değiştirerek etki ettiği bildirilmektedir (64).

Son yıllarda kimyasalların mutajenik - karsinojenik ve klastojenik etkilerini belirlemek için moleküler sitogenetik yöntem olan kardeş kromatid değişimi (KKD) analiz yöntemi kullanılmaktadır. KKD analiz yöntemi, 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) varlığında homolog kromozom loküslerindeki DNA parçalarının karşılıklı değişimini göstermektedir. Ajanların hücrede DNA düzeyinde etkileşime girmesi sayıca KKD lerinin değişimine neden olmaktadır (64).

Kimyasal ve fiziksel etkenler, in vitro koşullarda hücrelerde kromozom yapılarının değişmesine, KKD, kromozom sayılarının değişimine ve kırıklara neden olmaktadır (4, 25, 54, 64). KKD analiz yöntemi ile çok zayıf karsinojenik etkileri olan veya karsinojen olduğu düşünülen maddelerin kromozom üzerindeki etkilerini belirlemede kullanılabilir (64).

Kanser hücrelerinde yapılan sitogenetik çalışmalarda kromozomal anomaliler saptanmıştır (2, 4, 18, 52, 85). Yine lösemilerde kromozomal anomalilerin

değerlendirilmesinin yanı sıra KKD analiz yöntemi ile KKD düzeyleri de saptanmaktadır. Diğer taraftan lösemi tanısı olguların tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemde KKD düzeylerinin değiştiği bilinmektedir (64).

Akut lösemili olgularda kimi kromozom düzensizliklerinin bulunduğu literatürde yer almakla birlikte bu çalışmada Eskişehir ve çevresinden Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalına başvuran ve akut lösemi tanısı konan olgularda

i) Hem kromozom düzensizliklerinin hem de kemoterapi öncesi ve kemoterapi sonrası dönemde KKD düzeylerinin belirlenmesi

ii) Bu yolla akut lösemide kemoterapide uygulanan antikanserojen ilaçların KKD düzeylerine etkilerinin saptanması ve literatürde aynı yönde verilen bulgularla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

1.2. Önceki Çalışmalar

1.2.1. Akut lösemiler

Lösemler terimi eski Yunanca leukos=beyaz ve haima=kan kelimelerinden gelmektedir (27). Lösemik bir vakadaki klinik bulguların oldukça yeterli bir şekilde tanımlanması ilk olarak Velpau tarafından 1827 yılında yapılmıştır. Lösemilerin kesin bir hastalık olarak tanımlanması, klinik ve mikroskopik incelemelerin kombine bir şekilde yapılmaya başlandığı 1839-1845 yıllarına rastlar. Lösemi, Dawaeshek'in tarifine göre "Büyük çoğunluğu aktif proliferasyon göstermeyen bir çok hücrenin akümüle olduğu bir hastalık" olarak tanımlanabilir (2).

Bir çok araştırmaların sonucunda saptanmış olan bazı kesin bulgulara göre (2) :

i) Lösemik hücrelerin hücre jenerasyon zamanı normal ya da normalden biraz uzundur.

ii) Blast halindeki hücrelerin çoğu bölünmeyen G_0 ,ya da çok uzun bir G_1 , fazında olan hücrelerdir.

iii) Lösemik hücrelerin intravasküler kompartımandaki kalış süreleri normalden uzundur

Lösemileri, semptom ve bulguların gelişme hızı ile tedavi edilmedikleri taktirdeki ömür sürelerine göre akut ve kronik olarak iki gruba ayırmak klasik bir sınıflandırmadır (2, 27). Akut lösemiler hematopoetik dokuların malign, progressif ve tedavi edilmedikleri taktirde genellikle altı ay içinde ölümlü sonuçlanan bir grup hastalıdır. Hastalık sitopatolojik olarak kemik iliğini ve çevre kanında iri, olgunlaşmamış, anormal hücrelerin bol miktarda bulunması ile karakterizedir. Bu anormal hücreler kemik iliğinin infiltre ederek diğer hücrelerin yerini alır, hatta kemik iliğinin normal yapısını tamamen bozabilirler. Hastaların %10'da lökosit sayısı normal iken, %80 - 90'da periferik yaymada blastlar görülebilir (2, 27, 52).

Epidemiyolojik ve prognostik faktörler ve çeşitli sitostatik ilaçlara alınan yanıtlardaki farklılık sebebiyle akut lösemiler iki ana gruba ayrılırlar : Akut lenfoblastik

(ALL) ve akut non - lenfoblastik (ANLL). Bu ana gruplarda da bazı alt gruplar vardır. Bu alt gruplar muhtemelen hemotopoetik öncülerin hangi aşamada lösemik hale geldiklerini yansıtmaktadır. Yararlı bir sınıflandırma French - American - British (FAB) çalışma grubunun yaptığı bir sınıflandırmadır. Nispeten basittir. Çünkü esas olarak rutin boyalarla boyanan preparatların incelenmesine ve birkaç sitoşimik reaksiyona dayanmaktadır. FAB sınıflandırması olguların en fazla % 80'de tekrarlanabilir sonuçlar vermektedir. Bunu düzeltmek için FAB çalışma grubu, sınıflandırmada bazı değişiklikler yapmıştır. Ancak bunlar da tam anlamıyla yeterli değildir. Sınıflandırma kriterleri arasına "common akut lenfoblastik lösemi" antijeni (CALLA) gibi yüzey belirleyicilerinin, terminal deoksiribonükleotid transferaz (TDT) gibi sitoplazma belirleyicilerinin ve kromozomların katılması, belki daha iyi bir sınıflandırma meydana getirecektir (4, 27, 52). FAB sınıflandırmasına göre akut lösemiler iki grupta incelenebilir, bunlar :

- i) Akut non - lenfoblastik lösemi (ANLL) ve
- ii) Akut lenfoblastik lösemi (ALL) dir.

i. Akut non - lenfoblastik lösemi (ANLL):Kendi içinde 7 tipi bulunmaktadır.

Bunları şöyle sıralayabiliriz :

-**M₁**: Akut myeloblastik maturasyonsuz tip lösemi (AML - M₁) dir. Hücrelerin tümü nongranüler blastlardan oluşmuştur. Fakat nadiren azurofilik granüller ve auer cisimcikleri görülebilir.

-**M₂**: Akut myeloblastik, maturasyonlu tip lösemi (AML - M₂). Hücreler promyelosit ve daha ötesine değin maturasyon hali gösterirler. Kemik iliğindeki hücrelerin %50'den fazlası myeloblast ve promyelositlerden oluşmuştur.

-**M₃**: Hipergranüler promyelositik lösemi (APL -M₃). Hücrelerin büyük çoğunluğu aşırı derecede granüllü promyelositlerdir. Bu tip lösemide şiddetli koagülasyon problemleri ve kanamalar ortaya çıkar.

-**M₃ varyantı** : Kemik iliğinde promyelositik ; kanda atipik monositler mevcut.

-**M₄**: Akut myelomonositik lösemi (AMMoL - M₄). Kemik iliğindeki hücrelerin %20'den çoğunu promyelositler ve monositler, %20'den çoğunu da myeloblastlar ve promyelositler oluşturur.

- **M₄Eo**: Eosinofiller mevcuttur.

- M_5 : Akut monositik lösemi (AMoL - M_5)
- M_{5a} : Az differensiye tip. Monoblastik tip olarak bilinir.
- M_{5b} : Differensiye tiptir. Blastlarla birlikte olgun monositlerin görüldüğü tip olarak tanımlanır.

- M_6 : Akut eritrolösemi (EL). Kemik iliğindeki çekirdekli hücrelerin %50'sinden çoğu eritroidseriye ait patolojik hücrelerdir. Hücrelerin %30 kadarı da myeloblastik seriye ait. Bu lösemi tipi hemen daima akut granülositik lösemiye dönüşerek sonlanır.

- M_7 : Kemik iliğinde çekirdekli hücrelerin %30'dan fazlası megakaryoblast formundadır.

ii. Akut lenfoblastik lösemi (ALL): Lösemilerin bu grubu içinde üç değişik formu bulunmaktadır. Bunlar ;

- L_1 : Hücreler küçük ve uniformdur. Bunların %25'i T lenfosit, geri kalanı null hücrelerdir.

- L_2 : Hücreler biraz daha büyüktür ve uniformite azdır. Burada da hücrelerin % 25'i T lenfosit, geri kalanı null hücrelerdir.

- L_3 : Hücreler büyük ve homojendir. Bariz sitoplazmik vakuoller vardır. Mitotik indeks yüksektir. Hücrelerin büyük çoğunluğu B lenfositlerden oluşmuştur. Bu tipe Burkitt tipi de denmektedir (4, 27, 52).

Bütün lösemilerin yıllık görülme sıklığı 5 - 6 / 100.000'dir. Bunların yarısı akut, yarısı kronik lösemidir. Çeşitli akut ve kronik lösemilerin görülme sıklığı yaşa, ırka ve coğrafi konuma göre değişmektedir. Akut lenfoblastik lösemi 5 yaşın altındaki çocuklarda siktir ve daha çok erkek çocuklarda görülür. ANLL ise en sık 70 yaşta görülürler ve kadın - erkek dağılımı eşittir (27).

1.2.2. Kromozom ve kromozom düzensizlikleri

Sağlıklı insanlarda 46 olan ($2n = 46$) kromozomlar hem sayı hem yapı bakımından değişiklik gösterebilirler. Bu değişiklikleri şöyle sıralayabiliriz.:

1.2.2.a. Sayısal düzensizlikler

i) Öploidi ("euploidy") - kromozom sayısındaki artış ya da azalışların temel kromozom sayısı ($n = 23$) nin tam katları kadar olması durumudur. Hücre bölünmesi esnasında endomitoz ve endoredüplikasyon gibi hücre bölünmesi sırasındaki kusurlar nedeniyle triploidy ($3n = 69$), tetraploidy ($4n = 92$) ve diğer ploidler meydana gelebilir.

ii) Anöploidi ("aneuploidy") - Karyotipte temel kromozom sayısının katları kadar olmayan artma ya da eksilmelerdir. Kromozom ayrılamaması (nondisjunction) ve anafaz gecikmesi (anaphase lagging) sebebiyle oluşabilir.

- Monozomi ("monosomy") - Diploid kromozomdan bir kromozomun eksik olması durumudur ($2n - 1 = 45$).

- Trizomi ("trisomy") - İnsan kromozomlarından herhangi birinin iki (bir çift) yerine üç tane bulunmasıdır ($2n + 1 = 47$).

iii) Mozaisizm ("mozaicism") - Mitoz bölünmedeki kromozom ayrılamaması ya da kromozomların anafazda geri kalmasıdır. Soma hücrelerinde meydana gelen bu durum kişinin hücrelerinin değişik sayıda kromozom içermesine neden olur.

1.2.2.b. Yapısal düzensizlikler

i) Yer değiştirme ("translokasyon") - Bir kromozomdan kopan parçanın diğer bir kromozoma yerleşmesine denir.

ii) Eksilme ("deletion") - Bir kırılma sonucu kromozomun küçük bir parçasının kopması olayıdır.

iii) Artma ("duplication") - Homolog ya da homolog olmayan iki kromozomdan birinden çift darbe sonucu kopan bir parçanın diğer bir kromozoma kaynaşması durumudur.

iv.) Halka ("ring") kromozom - Bir kromozomun iki ucunda, iki darbe sonucu, iki kırılma olur ve bu iki kırık uç kaynaşırsa halka şeklinde bir kromozom ortaya çıkar.

v) İzokromozom ("Isochromosome") - Metafaz evresinde iğ ipliklerine tutunmuş olan sentromerlerin boylamasına bölünecekleri yerde enlemesine bölünmeleri sonucu ortaya çıkan ve ilgili kromozomun yalnızca kısa ya da uzun kolunu içeren median

kromozomlara denir.

vi) *Tersdönme* ("inversion") - Bir kromozoma iki darbenin gelmesi ve bunun sonucunda kopan parçanın kaybolmadan, yani delesyona uğramadan kendi eksenini çevresinde 180° dönerek yine eski yerine yapışmasına tersdönme (iversiyon) denir.

- Parasentrik inversion - setromerin dışında olan tersdönmelere verilen addır.
- Perisentrik inversion - sentromeri içeren ters dönmelelere denir.

1.2.3. Kanser patogeneğinde kromozomların rolü

1956 yılında Tİjo ve Levan tarafından insanda kromozomların gerçek sayılarının ($2n = 46$) bulunmasıyla diğer bazı hastalıklarda olduğu gibi insan kanserlerinde de kromozom değişikliklerinin daha doğru bir şekilde incelenmesi sağlandı (6,60). 1960 yılında Nowell ve Hungerford, ilk olarak kronik myeloid lösemiye özgü Philadelphia (Ph) kromozomunu ortaya koydular (76, 77). Bu çalışmaları izleyen yıllarda hemen her kanser türünde, kansere özgü bazı kromozom anomalilerinin saptanması üzerine kanserle kromozom anomalileri arasındaki ilişki daha sağlam bir temele oturtuldu (76, 77).

Levan'ın memeli hücrelerinde bir mitotik inhibitör olarak görev yapan kolşisini bulması üzerine kromozom analizi için daha uygun metafaz elde edilebildi. Hsu'nun 1954'de kromozomların hazırlanmasında hipotonik solüsyon kullanarak şişmiş sitoplazma içinde kromozomların birbirinden ayrılmasını sağlayarak daha kolay incelenmelerine olanak sağladı (60). Osgood ve Broke hücre kültüründe eritrositleri aglutine ederek saf lökosit kültürüne olanak veren fitohemaglutinini (PHA) önerdi. Hungerford ve arkadaşları (1959) ile Nowell (1960) tarafından PHA'nın in vitro lenfosit kültüründe lenfositlerin üremelerini stimüle ettiği ortaya kondu (6, 60, 76).

1970 - 1971 yıllarında kromozomların bantlama (GTG, Q, R gibi) yöntemleri geliştirildiğinde, her kromozomun kendine özgü açık ve koyu boya alan ve bant olarak adlandırılan bölgeler içerdiği gösterildi (4, 6, 60, 76, 83). Bantlama kromozom DNA segmentlerinin denaturasyon ve renaturasyonundan dolayı kromozom segmentlerinin açık ve koyu boyanmaları ile kromozomların tanınması esasına dayanmaktadır (6, 76). Kromozom bantlama tekniklerinin uygulanmaya başlamasıyla kromozomal hastalıkların sayısında belirgin bir artış saptandı (6, 60, 76). Analizlerin daha güvenilir olması amacıyla geliştirilen yöntemlerden biride Yunis ve arkadaşları tarafından ortaya atılan

High Resolution Bantlama (HRB) dır (77, 83, 85).

Bu bantlamadaki amaç, uzun kromozomlar elde ederek ve bunlardaki bant sayısını arttırarak mikro düzeydeki yapısal kromozom düzensizliklerini (translokasyon, delesyon, inversiyon gibi) belirleyebilmektir. Standart kültür ve bunu takiben yapılan GTG bantlamaları sonucu boyları kısa ve 300 - 500 bant içerebilen kromozomlar elde edilirken, HRB'de standart kültürden farklı yöntem uygulanarak uzun ve 900 - 1100 hatta 2000'e varan bant içeren kromozomlar elde edilebilmektedir (83,85).

Kanser ve lösemi patogenezinde kromozomların rolü şu şekilde özetlenebilir:

1.2.3.a. Dış etkenlerle oluşan kromozom düzensizlikleri ve kanser.

Fiziksel ve kimyasal ajanlar ile virusları içeren çevresel etkenlerin uzun zamandan beri karsinojenik olduğu bilinmektedir (1, 27, 52). Anılan bu karsinojenlerin kromozomlarda anomaliler yaparak kanser oluşturabildikleri bildirildi (27, 52, 76). Karsinojen maddelerle temasla kanserin oluşumu; karsinojenin dozuna, etki süresine, kişinin gen duyarlılığına bağlanmakta ve (6, 77) yaklaşık 3000 Å dalga uzunluğundaki UV ışınları özellikle beyazlarda deri kanserine sebep olduğu bildirilmektedir (1, 27, 54). Işın tedavisinde olduğu gibi çok yüksek dozda iyonize radyasyon, başta lösemiler olmak üzere çeşitli malignitelere sebep olduğu ifade edilirken (1, 27, 54) benzenin hemopoietik, lenfoid ve akciğer kanserine sebep olduğu vurgulanmaktadır (1, 54). Yine Afrika'nın bazı bölgelerinde ve Uzak Doğuda aflatoxin B₁ ve hepatit B virusunun ortak etkisi ile karaciğer kanserinin olduğu ileri sürülmüştür (1, 54). Radyasyon (UV, iyonize radyasyon) ve kimyasal maddeler (alkilleyici ve asilleyici ajanlar) insanlarda bilinen karsinojenlerden olup, kromozomlarda kırıklar, aralanmalar, asimetrik parçalanmalar, disentrik kromozomlar ve halka kromozomu gibi kromozomal anomalilere sebep olmaktadır (52,77). Ayrıca kromozomların yapı (delesyon, translokasyon, inversiyon, insersiyon gibi) ve sayılarında da (hipodiploidi ve hiperdiploidi) değişmelere neden olmaktadır (52, 76, 85).

Kimyasal karsinojenler ve radyasyon, hücrede öncül nükleotidlerin yapısını değiştirmektedir. Ayrıca DNA'da fosfodiester bağına kırarak ve S evresinde hatalı replikasyona neden olarak bu yolla mutasyonlara ve kromatid tipi kırıklara neden olmaktadır (77). Diğer taraftan kimyasal karsinojenler, hücre bölünmesi sırasında

kromozom davranışlarını etkilemektedir. Kromozom veya kromatidlerin yanlış birleşmelerinden dolayı anormal kromozom sayıları meydana gelmektedir. Hücrede kromozom sayılarında değişim, hiperdiploidi veya hipodiploidi şeklinde gözlenmektedir (42). Ayrıca verilen bu dış etkenlerden başka, folik asit ve B₁₂ vitamin eksikliklerinde de kromozomal kırıklar ve yapısal değişiklikler bildirilmiştir (11).

1.2.3.b. Doğumsal kromozom düzensizlikleri ve neoplaziler

Doğumsal kromozom anomalisi bulunan olgularda malignite oranı normal sağlıklı kişilere oranla yüksek olduğu bildirilmiştir (4, 18). Çocukluk dönemindeki Down sendromu olgularının % 30.2 si akut myeloblastik lösemiye, % 69.8 i akut lenfoblastik lösemiye, yeni doğan döneminde ise % 80 akut myeloblastik lösemiye ve %20 oranında da akut lenfoblastik lösemiye dönüş olduğu bildirilmiştir (18, 27, 76). Diğer bir değişle Down sendromlu olgularda akut lösemi gelişmesi, aynı yaştaki normal sağlıklı bireylere göre 16 - 30 kat daha fazla olmaktadır (13, 18, 50, 76).

Diğer taraftan meme kanseri riski Klinefelter sendromlu olgularda normal sağlıklı erkeklere göre 66 kat daha sık gözlenmektedir (18, 27, 76). Bu durum muhtemelen extra X kromozomuna bağlı hormonal düzensizlikten kaynaklanmaktadır. Klinefelter sendromlu gonodal ve extra gonodal germ hücre tümörlerinde ve ANLL gelişme eğiliminde artış olduğu bildirilmektedir (18, 76).

Turner sendromlu olgularda ise disgerminoma veya gonodoblastoma gelişme oranı % 15 - 30 dur (18, 76). Bu konuda önemli bir bulgu da ikizlerden birinde lösemi ortaya çıktığında, diğerinde de lösemi meydana gelme riskinin yüksek olmasıdır (27).

1.2.3.c. Kromozomal kırık sendromları ve neoplaziler

Kromozomal kırık sendromları olarak bilinen Fanconi anemisi (FA), Bloom sendromu (BS), Ataxi telanjektazi (AT) gibi bir grup otozomal ressesif geçiş gösteren hastalıklarda kromozomal kırıklar ile birlikte kanser gelişme oranı yüksek bulunmuştur (4, 27, 76). Bu hastalıklarda DNA tamir mekanizmasındaki bozuklukların kromozom kırıklarına yol açtığı anlaşılmaktadır (4, 42, 64).

İnsan geni kolayca kırılabilir bir yapıya sahip olup, iç veya dış birtakım ajanlarla bu kırılabilme özelliği kromozomlara yansıtılır. Kromozomal kırılma sendromlarında kromozom ve kromatidlerde aralanmalar (gaps), asentrik parçalanmalar, kromozom ve kromatidlerde kırıklar, halka (ring) kromozom , disentrik kromozom, triradial ve quadriradial konfigürasyonlar ve yapısal kromozom düzensizlikleri görülmektedir ve kardeş kromatid değişim sıklığı artmaktadır (4, 64, 76). Bu hastalıklardaki genetik bozukluğun kromozomal yapıdaki dengeyi bozarak kanserin gelişmesine yol açtığı ileri sürülmektedir. Mevcut hastalıklarda hücrelerin DNA onarım yeteneklerinin azalması söz konusu olup, DNA onarım mekanizmasının bozulması ile kanser arasında sıkı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (4, 77)

1.2.3.d. Prelösemik ve prekanseröz durumlarda kromozom düzensizlikleri

Prelösemik olarak tanınan aplastik anemi, sideroplastik anemi, refraktör anemi gibi hematolojik tabloların büyük bir çoğunluğu lösemi ile sonuçlanır .Kromozom anomalisi olanlarda lösemiye dönüş, normal kromozomal yapıya sahip olanlardan daha kısa zamanda ortaya çıkmaktadır (12).

1.2.3.e. Lösemi, lenfoma ve malign tümörlerde kromozom düzensizlikleri.

Sitogenetik çalışmaların ilerlemesi ile çoğu kanser ve lösemi türleri özel kromozom anomalileri ile tanınmaya başlandı. İlk özel kromozom anomalisi kronik miyeloid lösemide (KML) 1960 yılında Nowell ve Hungerford tarafından G grubu kromozomlarından birinin uzun kolunda belirlendi ve bu kromozom Philadelphia (Ph) kromozomu olarak adlandırıldı (4, 20, 52, 62, 76, 85). 1970 yılında bantlama tekniklerinin bulunması ile Casperson ve arkadaşları (1970) Ph kromozomunun 22. kromozomun uzun kolunda eksilme olduğunu belirlediler. Rowley (1973) de daha sonra diğer bir çok araştırmacının belirlediği gibi 22. kromozomun uzun kolundan eksilen parçanın 9. kromozomun uzun koluna yapıştığını , yani $t(9;22)(q34;q11)$ ile sonuçlandığını bildirdi. Resiprokal translokasyon sonucu, 9. kromozomun q kolunun 34. bandında lokalize olan *c - abl* onkogeni 22. kromozomun q kolunun 11. bandına lokalize olan *bcr* geni ile birleşerek *c - abl - bcr* füzyon formunu oluşturmaktadır. 9. kromozomda aktif olmayan *c -abl* onkogeni 22. kromozomda *bcr* onkogeni ile birleşerek aktif hale gelmektedir.(43, 52, 62, 84). KML'li olgularda $t(9;22)$ sıklığı laboratuvara

göre değişmektedir. Rowley (1978, 1980) ve Sandberg (1979)e göre oran % 85 dolayındadır. Bantlama tekniklerinin gelişmesi ile bu oran % 92 ye kadar çıkmaktadır KML'li olgularda Ph kromozomuna ilave ve/veya dışında farklı anomaliler veya Ph kromozomunun varyant tipleri de görülebilmektedir (4, 8, 32, 52).

Ph kromozomu KML'li olgularda olduğu gibi ALL'li olgularda da görülmektedir. ALL'li çocukların % 10'da ve yetişkin ALL'in % 25'de ve ANLL'li yetişkin olguların % 3' de t (9;22) görülmektedir (10, 20, 45, 68, 71, 85).

4. Uluslararası lösemilerde kromozom çalışması grubunun (4.ULKÇG) verilerine göre teşhis edildiğinde çalışılan ANLL'li olguların % 50'nde kromozom anomalileri görülmektedir. Yunis ve arkadaşlarının 99 olguluk çalışmalarında % 93'nde anormal karyotip bildirdiler(52). Bu oranlar laboratuvarlara göre değişmektedir.

Rowley 1973 yılında, AML - M₂ de 8. ve 21. kromozomlar arasında dengeli translokasyonu tanımladı (4, 10, 41, 43, 52, 81, 85). Laboratuvardan laboratuvara sıklık değişmekle birlikte Rowley ve Testa 249 olgunun % 10 kadarında t (8;21) belirlediler (52). t (8;21) gözlenen erkek olguların % 85'de Y kromozomu kaybı, kadınların % 73'de inaktif X kromozomu kaybı belirlendi. (52). ANLL - M₂ nin değişmez karakteristiği olan t (8;21) ANLL -M₄ tipinde de yaklaşık % 7 oranında, daha seyrek olarak da M₁ tipinde görülmektedir.(81).

Rowley ve arkadaşları yaptıkları bir diğer çalışmada ise Akut Promyelocitik lösemili (APL - M₃) olgularda t (15;17) tanımladılar (4, 10, 41, 43, 52, 85). 4.ULKÇG göre APL - M₃ 'lü olguların yaklaşık % 70 kadarında t (15;17) düzensizliği, % 25 kadarında normal karyotip, geri kalanında da diğer anomaliler belirlendi (52).

Akut myelomonocitik lösemili (AMMoL - M₄) olgularda en sıklıkla 16q delesyonu ve inv (16) gözlenmektedir. 16q delesyonu ve inv (16) sıklığı laboratuvara göre değişmektedir (4, 10, 41, 85).

Berger ve arkadaşları (1982) de akut monositik lösemide 11. kromozomun uzun kolunda yüksek frekansta değişiklik olduğunu belirlediler. Bu bulgu birçok araştırmacı tarafından da saptandı. 11q düzensizliği akut monocitik lösemide spesifik sitogenetik

anomali olarak düşünülmekte, bununla birlikte myelodisplastik sendromda, small lenfocytic cell lenfomada ve Ewing's sarcomada da gözlenmektedir (41, 52, 58, 85).

Akut lenfoblastik lösemide önceki çalışmalarda % 50 klonal anomali gözlenirken daha sonra William ve arkadaşları % 67, Kaneko ve arkadaşları % 70 anormal karyotip saptadılar. Akut lenfoblastik lösemnin L_1 ve L_2 tipinde $t(9;22)$ görülmektedir (45, 68, 71). Yine L_2 tipinde %8.3 oranında $t(4;11)$ de görülmektedir (9, 45, 43, 59). L_3 tipinde sıkça gözlenen $t(8;14)$ ayrıca Burkitt Lenfomada ve T - ALLde de görülmektedir (9, 33, 45, 43).

Çocuk ve yetişkinlerdeki akut lösemide kromozom anomali sıklığı değişmektedir. Berger ve arkadaşlarına göre 519 de novo ANLL'li olgudan oluşan bir seride, çocuklardaki kromozom anomali sıklığı % 67.5 iken yetişkinlerde bu oran % 50.4 dolayındadır. (10, 41).

Kromozom anomalileri hastalığın prognozu hakkında da önemli bilgiler vermektedir. Örneğin Philadelphia kromozomu pozitif olan KML'li olgularda prognoz Ph'kromozomu negatif olan KML'li olgulara göre daha iyi olmaktadır (2, 28, 52). Sandberg ve Sakurai, kemik iliğinde yalnızca anormal karyotip olan olguların yaşamı mozaik karyotipli (hem normal hem de anormal karyotipli) olan olgulardan daha kısa olduğunu bildirmişlerdir (41).

Foliküler mix, folliküler large cell lenfoma $t(14;18)$, small cell lymphocyt $t(11;14)$ neuroblastoma $del(1p)$, small cell akciğer kanseri $del(3p)$, retinoblastoma $del(13q)$, Willms tümörü $del(11p)$, seminoma $i(12p)$, servix kanseri $del(5p)$, over kanseri $t(6;14)$ ile karakterizedir (4, 18, 43, 51, 52, 85).

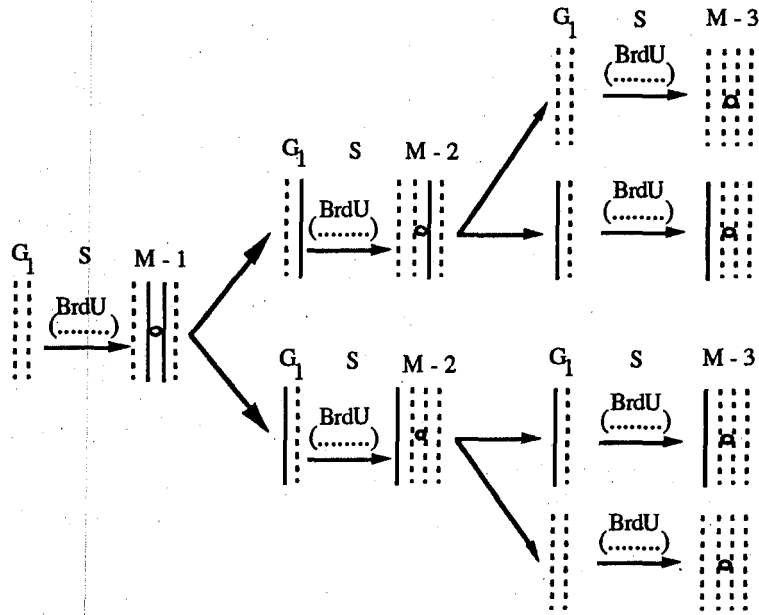
1.2.4 Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) ve modeli

Kardeş Kromatid Değişimi (Sister Chromatid Exchange = SCE) analiz yöntemi, ilk olarak 3H - timidin varlığında otoradyografik yöntemle kromozomlardaki kardeş kromatidlerin farklı boyandığını göstermek için kullanılmıştır (64).KKD, homolog kromozom lokuslarında DNA'nın replikasyon ürünlerindeki karşılıklı değişimleri göstermektedir. Son yıllarda otoradyografik çalışmanın yerine timin analogu olan

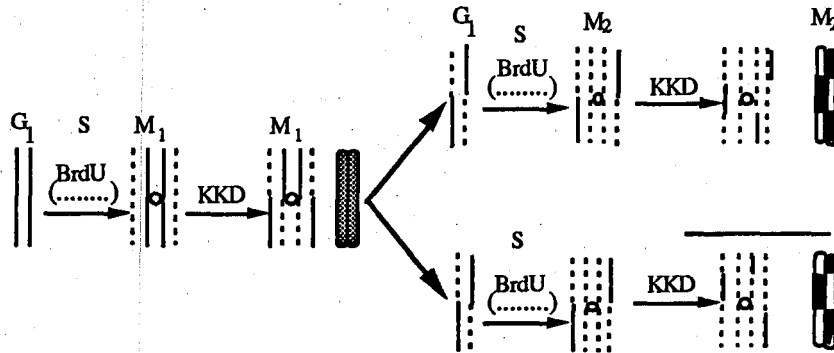
5 - Bromo - 2' - deoxyuridine (BrdU) veya 5 - Iodo - 2' - deoxyuridine kullanılması KKD sıklığına daha kolay ve çabuk değerlendirme olanağı vermektedir (64,73). Zakharov ve Egolina, Çin hamster hücrelerinde BrdU varlığında Fluorescence Plus Giemsa (FPG) boyama yöntemini kullanarak kardeş kromatidlerin farklı boyandıklarını gözlemişler ve bu görünüm için hücrelerin iki replikasyon zamanını geçirmesi gerektiğini belirtmişlerdir (şekil 1.1) (64). FPG boyama yönteminde, bu süre sonunda kromatiddeki DNA ipliklerinin her ikisinin BrdU içermesi açık renk boyanmasına neden olmaktadır (64, 65, 66, 73). Böylece KKD analizi tek kromozomun iki ayrı kromatidin farklı boyanması ile bize DNA daki bozukluğun daha büyük bir kısmını inceleme olanağı vermiştir (64). Metodun esası, DNA yapısındaki timin bazı analogu olan BrdU ihtiva eden kromozom bölgelerine bisbenzimidazola 33258 Hoechst bağlanmasında nötral pH da boya floresansının süpresyonuna dayanmaktadır (64).

KKD analizinin gerçek mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber DNA'nın sentez ve onarım işlevleri ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. KKD mekanizmasının tam olarak bilinmemesine karşılık olası mekanizma (şekil 1 2) de görülmektedir.

Şekil 1.1 ve şekil 1.2 in incelenmesinden anlaşılacağı gibi eğer hücreler bir DNA sentezi süresi boyunca BrdU olan ortamda tutulursa DNA nın semi - konservatif sentez mekanizmasına göre DNA zincirlerinden birine BrdU girer (birinci mitoz). Bu durumda KKD değerlendirilemez. Hücreler ikinci mitoz süresince de BrdU bulunan ortamda bulunduğu şekil 1.1 ve 1 2 deki ikinci mitoz olarak gösterilen (M₂) normal ve BrdU'lu DNA zincirleri yer almaktadır. Eğer homolog kromatidler arasında bir kromatid değişimi (KKD) meydana gelirse şekil 1.2 de görüldüğü gibi, kromozomlarda karşılıklı değişimler belirecektir (64, 73).



Şekil 1.1 Hücre replikasyonu esnasında (M_1, M_2, M_3) BrdU'nun bağlanması.



Şekil 1.2 Kardeş kromatid değişiminin olası mekanizması.

Kromozomlar iki replikasyon döneminde BrdU ile işleme sokulduklarında ve hemen sonra giemsa ile boyandıklarında iki kardeş kromatidin farklı olarak boyandığı gösterilmiştir. Replikasyonun iki siklusundan sonra, BrdU'nun kardeş kromatidlerinden birine sadece bir polinükleotid zincirde unifilar olarak, diğer kardeş kromatidde ise bifilar olarak yer aldığı görülmüştür. Unifilar olarak yer değiştirmiş kromatidlerin ise soluk boyandığı gösterilmiştir. Bu değişik boyanma, kromatidler içinde DNA zincirine bağlanan BrdU'nun miktarına ve bağlanma hızına bağlıdır (4, 64, 73). Bu özellikten dolayı KKD analizi aynı zamanda hücre gelişim kinetiğinin hızının değerlendirilmesinde

de kullanılan iyi bir test olduğu bildirilmiştir. Üçüncü mitoz bölünmede metafaz kromozomlarının 1/4 ü birinci bölünmedeki gibi koyu, diğerleri açık olacaktır (64, 65, 66).

1.2.4.a. Kardeş kromatid değişiminin kromozomlara göre dağılımı

Kromozomlarda KKD genellikle gelişigüzel dağılım göstermektedir. Dağılımın gelişigüzel olmasının nedeni bilinmemektedir. İnsan kromozomlarındaki KKD bölgeleri, Q bandı alan ve almayan kromozom bölgelerinin sınırında veya Q bandı almayan bölgelerde yer almaktadır (64). Rat Kangaroo ve Çin hamster kromozomlarında yapılan çalışmalarda KKD nin heterokromatin ve eukromatin bölgelerinin sınırında meydana geldiği gözlenmiştir (64). G bantlama yöntemi ile yapılan çalışmada KKD nin G bantlama bölgelerinde meydana geldiği saptanmıştır. Çin hamster ve rat kangaroo hücre kromozomları çalışmalarında, sentromer bölgede KKD oluşumunun yüksek olduğu gözlenmiştir. Aynı gözlemler fare ve insan kromozomlarının sentromer bölgelerinde de saptanmıştır (64)

KKD dağılımı kromozom gruplarında da farklılık göstermektedir. İnsanda 1, 2, 3 nolu ve B grubundaki kromozomlarda KKD dağılımı E, F ve G grubundaki kromozomlara göre daha fazla olmaktadır. Kromozomların uzunluğu ile KKD değerinin arttığı belirtilmektedir. Özellikle 1 nolu kromozomun sentromerik bölgesinin Adenin - Timin bazları yönünden zengin olması BrdU ile etkileşimi arttırmakta ve daha fazla KKD oluşumuna neden olmaktadır (64). En az KKD en kısa olan G grubu ve Y kromozomunda gözlenmektedir (64).

1.2.4.b. Kendiliğinden oluşan kardeş kromatid değişimi

İnsan hücre kromozomlarında kendiliğinden oluşan KKD nin olabileceğini ve BrdU konsantrasyonunun KKD değerini etkilediği bir çok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (64). İnsan lenfosit hücrelerinde yapılan çalışmalarda yüksek BrdU konsantrasyonunda KKD değerinin arttığı gözlenmiştir. Düşük BrdU konsantrasyonunda ise KKD değeri azalmaktadır. Hücrelerde 0.3 - 3 μ M konsantrasyondaki BrdU nun KKD değerini değiştirmediği, 10 μ M konsantrasyonda veya daha düşük konsantrasyonda BrdU

nun KKD değerini çok az değiştirdiği saptanmıştır (64).

1.2.4.c. Kimyasal, fiziksel ve viral ajanlar ve kardeş kromatid değişimi

Çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlerle kromozom DNA sında meydana gelen düzensizliklerin pek çoğu replikasyon esnasında onarılır ve kimilerinde meydana gelen onarım kusurları kromozom düzensizliklerinin ve/veya KKD lerinin oluşmasına ya da sayıca artmasına neden olmaktadır (4, 14, 25, 31, 54, 64).

KKD analizi ile çeşitli mutajen ve karsinojenlerle oluşan DNA bozukluğunun hem in vivo hem de in vitro çalışmalarla çok hassas bir şekilde gösterilebileceği belirtilmiştir (15, 26, 31, 47, 53, 64, 84). Ames testi ile mutajenite özelliği saptanamayan diethylstilbestrol (DES)'un insan fibroblast hücre kromozomlarında KKD değerini arttırdığı saptanmıştır. Kadınlarda adenokarsinomu arttırdığı belirtilen (DES) sentetik östrojen hormonunun insan fibroblast hücre kromozomlarında KKD değerini arttırdığı gözlenmiştir (27, 42, 64).

Yine in vitro koşullarda çeşitli test sistemlerinde ultraviyole (UV) ve görülebilen ışığın KKD ve kromozom düzensizliklerini arttırdığı saptanmıştır (27, 42, 54, 64). Bu tip uyarıcılarla oluşan KKD ve yapısal anomalilerin aynı ölçüde artış göstermedikleri kaydedilmiştir.

Diğer taraftan kimyasal ajanlar KKD'ni farklı etkilemektedir. Mytomycin C (MMC), nitrojen mustard ve chlorambucil gibi bifonksiyonel (iki fonksiyonlu = KKD ve kırık meydana getiren) alkilleyici ajanlar KKD'ni son derece arttırdığı halde, methyl methanesulfonate (MMS) gibi monofonksiyonel (tek fonksiyonlu = KKD meydana getiren) alkilleyici ajanlar KKD daha az etkili olmaktadır (64). Hücrede klastojen özellik gösteren ajanların meydana getirdiği KKD ve kromozom kırıklarını arttıran ajanlara ko - klastojen adı verilmektedir. İn vitro koşullarda mutajenlerin meydana getirdiği KKD'ni ve kromozom kırıklarını arttıran ajanlardan biri de kafeindir (42, 64).

Ghosh ve arkadaşları, lenfosit kültür ortamı ısısının 37°C den 40°C ye yükseltilmesinin kontrol grubunu oluşturan sağlıklı kişilerde, radyoterapi alan ve almayan cervix kanserli olgularda KKD değerini lenfosit kültür ortamınının 37°C gözlenen KKD

değerine göre arttırdığını belirtmişlerdir (31).

KKD ve kromozom kırıklarını artırıcı etkenlerin yalnızca çeşitli kimyasal ajanlar olmadığı günümüzde bilinmektedir (64). Virusların, hücre sistemlerinde kuvvetli klastojen (kromozom kırığı meydana getiren ajanlara klastojen adı verilmektedir) gibi davrandığı gözlenmektedir. Rauscher lösemi virusu ile fare embriyonal fibroblast hücre kütlelerinde yapılan çalışmada KKD değerini arttırdığı saptanmıştır (53, 64). İnsan diploid fibroblast hücre kültürlerinin "S evresinin" başlangıcında Herpes Simplex virusu ile karşılaşması sonucu KKD değerinde artma meydana geldiği gözlenmiştir (64) ve yine onkojenik virüslardan Rous Sarcoma virusunun, Simian Virus 40ın ve adenovirusun Çin hamsteri hücrelerinde KKD değerini arttırdığı saptanmıştır (53, 64).

1.2.4.d. Kırık Sendromları ve kardeş kromatid değişimi

KKD analiz yöntemi, DNA tamir mekanizması bozulmuş ve kromozom kırıkları içeren genetik hastalıkların moleküler sitogenetik açıdan incelenmesinde de önem kazanmaktadır (4, 39, 46, 53, 64).

. Fanconi anemisi ve Ataxia telangiectasia hastalığı içeren kişilerin lenfosit hücre kromozomlarında KKD değerinin normal sağlıklı kişilerden farklı olmadığı saptanmıştır. Fanconi anemisi olan kişilerin DNA tamir mekanizmasının bozuk olması nedeni ile, iki fonksiyonlu alkilleyici ajanlara maruz kaldığında hücre DNAsını etkilemektedir ve kromozom kırıklarını meydana getirmekte (64) iken Bloom sendromu (BS) olan kişilerin KKD değerleri, normal KKD değerine göre 10 - 14 kat daha fazla olmaktadır (53, 64). BS olan kişilerin lenfosit hücre kültürlerine etil methanesulfonate gibi tek fonksiyonlu alkilleyici ajanın eklenmesi sonucu doza bağlı olarak KKD değerinin arttığı gözlenmiştir (39, 64). Diğer taraftan Xeroderma pigmentosum (XP), replikasyon sonrası tamir mekanizması bozuk, otozomal resesif kalıtılan kalıtsal bir hastalıktır. XP hastalığı olan kişilerin KKD değeri ile sağlıklı kişilerin KKD değeri arasında bir fark saptanamamıştır (39, 64). XP hastalığı olan kişilerin hücrelerinin 254 nm dalga boyundaki UV ışığı ve 4 - nitroguinoline -1- oxide (4NQO) gibi alkilleyici ajanlarla karşılaşması sonucu KKD değerinin arttığı gözlenmiştir (4,39,64,65). DNA yapısında oluşan bozuklukların, DNA tamir mekanizması tarafından düzeltilmediği ve bu nedenle KKD değerinin arttığı ileri sürülmektedir (4,64).

1.2.4.e. Neoplastik hastalıklarda kardeş kromatid değişimi

Kanseri oluşturan etkenlerin çok çeşitli olması nedeniyle, kanser hücrelerinde kromozom anomalilerinin değerlendirilmesi günümüzde ayrı bir önem kazanmaktadır (4). KKD analizi çeşitli kromozom düzensizlikleri içeren kanser hücrelerine de uygulanmakta olup yapılan çalışmalarda, ALL ve ANLL'de, KML'nin blast krizinde, malign lenfomada, metastatik meme kanserinde, akciğer kanseri ile cervix kanserinde KKD sıklığının arttığı bildirilmektedir (31, 39, 47, 64, 84).

Cervix ve over kanserli olgularda yapılan KKD analizinde KKD değerinin kontrollere göre önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür (25, 31, 46, 47, 84). Öte yandan akut non - lenfoblastik lösemili olgularda yapılan KKD analizinde de kemoterapi öncesi KKD değerinin kontrollere göre önemli derecede yüksek olduğu gözlenmiştir (39, 53, 64, 65).

Kurvink ve arkadaşlarınca lenfomalı 47 olguda KKD değerleri incelenmiş ve tedavi olmayan 13 malign lenfomalı olguda KKD değerinin, sağlıklı kişilere oranla önemli derecede yüksek olduğu gözlenirken radyoterapi alan 7 olguda aynı değişim düzeyi, tedavi almamış olgulara oranla daha düşük olarak saptanmıştır (15, 64).

Diğer taraftan Otter ve arkadaşlarının akut lenfoblastik lösemili olgularda yaptığı KKD analizi çalışmasında ise yeni teşhis edilen 16 olgunun KKD değeri sağlıklı kişilere göre yüksek olduğu gözlenirken yine bu çalışmaya göre radyoterapi sonrası KKD değerinin önemli düzeyde artmadığını, buna karşın kemoterapötik ajanların (sitostatik ilaçların) KKD genellikle arttırdığı belirtilmektedir (53, 64).

1.2.4.f. Karsinojen, mutajen ve kardeş kromatid değişimi

İnsanlarda sigara içiminin KKD arttırdığı saptanmıştır (26, 30, 47, 64). Epidemiyolojik çalışmalar sigara içme alışkanlığı olan kişilerde içmeyenlere göre akciğer kanseri gelişme riskinin 2.36 kez daha fazla olduğunu (30), dudak kanseri gelişme riskinin 3.4 kez arttığını belirtmektedir (27). Oral kontraseptif kullanan kadınlarda kullanmayanlara göre KKD değerinin % 75 arttığı saptanmıştır (47, 64).

Son yıllarda kanser tedavisinde kullanılan sitostatik ilaçların ikincil kanserden sorumlu olabileceği, özellikle akut lösemi (ALL, ANLL) gelişme riskini arttıracakları ileri sürülmektedir (14, 15, 25, 39, 46, 61, 65, 67, 69, 70). Small cell AC kanseri için alkilleyici ajanlarla kemoterapiden 3 - 4 yıl sonra % 14 - 25 oranında akut non - lenfositik lösemi gelişme riski saptanmıştır (69, 70). Kanser tedavisinde kullanılan methotrexate (MTX) (37) Mitomycin C (MMC) (46, 65, 69), Cyclophosphamid (CP) (16, 17, 44, 61, 67, 69, 80), Carboplatin (70, 79), Oncovin (67), Actinomycin D (Act.D) (64), Melphalan (MPN) (25, 61), Busulfan (BUS) (64), Doxorubicin (ADM) (67), Cytoarabinside (C - ARA) (64) , gibi ilaçların insat lenfosit hücre kromozomlarında KKD değerini ve kırıkları arttırdığı saptanmıştır (64).

MTX çok hızlı üreyen tümör hücrelerini etkilemekte ve sitotoksik özellik göstermektedir. MTX, folik asit redüktaz enzimi yardımı ile folik asitten tetrahidrofolik asite dönüşmesini engellemektedir. Çünkü MTX'in folik asit redüktaz enzimine bağlanma affinitesi folik asitten fazladır. Folik asit, DNA yapısında kullanılan timidinin sentezini sağlamaktadır (11). MTX, G₁ evresinde, DNA sentez öncesini bloke etmektedir. İnsan lenfosit hücre kromozomlarında DNA ile çapraz bağlanmalar meydana getiren ve kanser tedavisinde kullanılan MMC'nin KKD değerini arttırdığı gözlenmiştir. MMC, DNA'yı alkilemekte ve bir birini tamamlayan polinükleotid ile çapraz bağlanmalar meydana getirmektedir. DNA'da meydana gelen çapraz bağlanmalar, DNA tamir mekanizması tarafından uzaklaştırılmadığı için KKD değerini ve kromozom anomali sayısını arttırmaktadır (64). Kanser tedavisinde kullanılan antibiyotik aktinomycin D KKD düzeyini arttırmaktadır. Act D hücrede nükleer histon sentezini ve RNA sentezini durdurmaktadır (3).

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Araştırma ve kontrol grubu

2.1.1.a. Araştırma grubu

Bu çalışmada, Mart 1991 - Ekim 1991 tarihleri arasında Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı'na değişik nedenlerle başvuran ve ilgili klinikte akut nonlenfoblastik lösemi tanısı konan 13 olgu ile akut lenfoblastik lösemi tanısı konan 1 olgu ve yine Hodgkin's hastalığı tanısı konan 1 olgu olmak üzere toplam 15 olgu yer aldı.

Araştırmamızda hastaların seçimi yapılırken daha önce akut lösemi tedavisi görmemiş olmalarına özen gösterildi. İlk tanısı konan olgular seçildi. İkincil lösemi ve kronik lösemili olgular araştırmamıza dahil edilmedi. KKD ve kromozom analizi işlemleri kemoterapiden önce ve kemoterapiden 20 gün sonra yapıldı.

Olguların 5'i kadın, 10'u erkek olup, yaşları 17 - 66 yaş arasında değişiyordu. Ortalama yaş kadınlar için 45.80 + 8.91, erkekler için 43.60 + 4.68 yıl idi. Araştırma grubunu oluşturan akut lösemili olguların FAB (French - American - British) sistemine göre sınıflandırılması, yaş, cinsiyet, hemoglobin (Hb) değeri, hematokrit (Htc) değeri, beyaz küre (BK) sayısı, trombosit sayısı gibi bazı laboratuvar değerleri çizelge 2.1.ve 2.2.de verilmektedir.

2.1.1.b. Kontrol grubu

Kontrol grubumuzu hiç bir hastalığı olmayan, son birkaç ay içerisinde hiç bir ilaç kullanmayan (örneğin oral kontraseptifler gibi), kimyasal toksinlerle ilişkisinin olmadığına inanılan, kan verebilecek kadar sağlıklı olan 15 kişi oluşturmuştur. Bunların

7'si kadın, 8'i erkekti. Kontrol grubunun yaşları 17 - 66 yaş arasında ve yaş ortalaması kadınlar için $40.86 + 5.48$, erkekler için $43.88 + 4.15$ idi.

2.1.2 Kromozom veKKD analizinde kullanılan kültür ortamı

2.1.2.a. Kromozom ve kardeş kromatid değişimi (KKD) analizi için

RPMI 1640	(Gibco 041 - 01875M)
Kendi Serumu % 19	
Phytohemagglutinin M % 4.3	(Gibco 061 - 05760)
Penicilin - Streptomycin % 0.75	(Gibco 061 - 5140)

2.1.2.b. High Resolution Bantlama İçin

RPMI 1640	(Gibco 041 - 08175)
Kendi Serumu % 19	
Phytohemagglutinin M % 4.3	(Gibco 061 - 05760)
L - Glutamine % 0.75	(Sigma 7513)
Penicilin - Streptomycin % 1	(Gibco 061 - 5140)

2.1.3.Kimyasal maddeler

- Glaciel asetik asit	(Merck)
- Methanol	(Merck)
- Alkol	(Yerli)
- Giemsa - Lösing	(Merck)
- Xylol	(Merck)
- Heparin	(Liquemine, Roche)
- Kanada Balsamı	(Rhenohistol, Merck)
-Entellan	(Merck)
İmmersiyon Yağı	(Merck)

2.1.4. Tamponlar ve solüsyonlar

2.1.4.a. Tamponlar

i) Fosfat Tamponu (Buffer pH=6.8)

- Stok Solüsyon

Solüsyon A :

Potasyum fosfat	(Merck)	4.539 gr
Distile su		500 ml

Solüsyon B :

Sodyum fosfat	(Merck)	4.74 gr
Distile su		500 ml

- Kullanma Solüsyonu

Solüsyon A :	50.8 ml
Solüsyon B :	49.2 ml

ii) 2 x SSC Tamponu (ph = 7.2)

- Sodyum Klorür	(Merck 0.3M)	17.53 gr
- Trisodyum Sitrata	(Merck 0.03M)	8.82 gr
- Distile su		1000 ml

iii) Mc Ilvaine Tamponu (pH=7.1)

-Stok Solüsyon

Sodyum fosfat	(Merck 0.2M)	2.48 gr
Distile su		100 ml
Sitrik asit	(Merck 0.1M)	1.922 gr
Distile su		100 ml

- Kullanma Solüsyonu :

Sodyum fosfata damla damla sitrik asit ilave edilerek pH 7.1'e ayarlanır.

2.1.4.b. Solüsyonlar

i) Colcemid solüsyonu 10µg/ml (Gibco 043 - 5210) 10µg/ml

ii) Hipotonik solüsyon (Merck 0.075M)

Potasyum klorür	1.398 gr
Distile su	250 ml

iii) Fiksatif solusyon

Methanol	3 kısım
Glaciel asetik asit	1 kısım

iv) Trypsin (1:250 Difco lyophilize)

Stok solüsyon : 10 ml bidistile su ile sulandırıldı.

Kullanma solüsyonu :

Stok trypsin	3.5 ml
Serum Fizyolojik	80 ml

v) Serum Fizyolojik (SF) % 0.9

vi) Methotrexate (Atabay 7305 - 2 - 04/01)

Methotrexate	2ml
Bidistile su	18 ml

vii) Timidin (Sigma T 1895)

Timidin ($10^{-4}M$)	0.242 mg
Bidistile su	10 ml

viii) Floresan boya (Hoechst 33258) (Sigma B - 2883)

Stok solüsyon :

Hoechst	1 mg
Bidistile su	10 ml

Kullanma solüsyonu :

Stok solüsyon	0.025 ml
2 x SSC	100 ml

Stok solüsyon ağzı kapaklı ve etrafı alüminyum foil ile sarılmış bir şişede $+4^0C$ 'de buzdolabında saklandı.

ix) 5 - Bromo - 2' - deoxyuridine (BrdU) (Sigma B - 5002)

BrdU	6.5 mg
Mc Coy besi ortamı	12.5 ml

Stok solüsyon ağzı kapaklı bir şişede, etrafı alüminyum foil ile sarılmış olarak $+4^0C$ 'de buzdolabında saklandı.

x) Giemsa boya solüsyonu (Trypsin bantlama için)

Giemsa solüsyonu	15ml
Buffer solüsyonu	60ml

xi) Giemsa boya solüsyonu (KKD için)

Giemsa solüsyonu	5 ml
Distile su	95 ml

2.1.5.Aygıtlar

- İnkübatör (Dedeoğlu)
- Kuru hava sterilizatörü (Dedeoğlu)
- Zaman ayarlı santrifüj (Hettich Rotofix - II)
- Binoküler araştırma mikroskobu (Olympus)
- Lamin Air Flow (Heraeus ELB 2448)
- Elektronik duyarlı terazi (Seuter)
- Su banyosu (Nüve SB 600)
- Vortex mixer (Nüve NM 110)
- pH metre (Crison micro pH 2002)
- Distile su cihazı (Nüve NS 212)
- UV lambası (Philips)
- Çeker ocak
- Buzdolabı (Arçelik 415 lux)
- Laboratuvar saati
- Steril santrifüj tüpü (Nunc 348232 11mm vida kapaklı)
- Steril disposable farklı büyüklükte enjektörler
- Pastör pipeti
- Mezür
- Beher
- Şale
- Lam
- Lamel
- Bunsen bek
- Alüminyum folyo kağıt
- Fotoğraf filmi (25 ASA)
- Cam yazar kalem

2.2. Yöntem

2.2.1.Kromozom elde etme yöntemleri

2.2.1.a. Standart periferik kan kültürü yöntemi

Standart ya da makrokültür tekniğinin (6) akut lösemili olgularda modifiye edilmiş şekli uygulandı (9, 10, 29, 36). Bu yöntemle göre sırasıyla şu işlemler yapıldı :

i) Steril disposable 10 ml'lik heparinize enjektöre 10 ml venöz kan alındı ve ağzı kapaklı steril 5ml besi ortamı bulunan 2 tüpe ayrı ayrı 0.1 - 0.5 ml kan damlatıldı. Hafifçe karıştırıldıktan sonra her kültür tüpü, olgunun adı soyadı, tarih, saat, protokol numarasına göre işaretlenerek 37°C 'de 72 - 74 saat inkübe edildi.

ii.) Kontrol grubunda kültürün 70'ci saatinde çalışma grubunda ise 72'ci saatinde her tüpe 0.1 ml ($10\mu\text{g/ml}$) colcemid ilave edildi, tüpler hafifçe karıştırıldı ve 2 saat 37°C 'de inkübe edildi.

iii.) Süre sonunda tüpler hafifçe karıştırıldı, kapakları açıldı ve 1000 rpm'lik devirde 8 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan kısım (dökelti) pastör pipeti ile atıldı.

iv.) Dipte kalan çökelti üzerine vortex mixerde önceden 37°C 'ye getirilmiş 0.075 M KCL (hipotonik solüsyon) den 5'er ml kondu. 37°C 'de 20 dakika bekletildi.

v.) Süre sonunda 1000 rpm'de 8 dakika santrifüj edildi. Dökelti atıldıktan sonra taze hazırlanmış tespit solüsyonundan (3 kısım metanol : 1 kısım glasiel asetik asit) vortex mixerde yavaşça her tüpe 5'er ml ilave edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı (fiksatif ile yıkama).

vi.) Dökelti atıldıktan sonra kalan miktar yavaş yavaş pastör pipeti ile pipetaj yapılarak karıştırıldı. Daha önceden üzerine protokolü yazılıp methanolde 30 dakika bekletilerek temizlenen lamalar kurutulduktan sonra 45° lik açı ile damlalar nemli lam üzerine damlatıldı. Hazırlanan preparatlar havada kurutuldu ve incelemeye alındı.

2.2.1.b. High Resolution Bantlama (HRB) yöntemi

i.) Standart teknikte olduğu gibi ekim yapıldı.

ii.) 48. saatte her tüpe stok methotrexate solüsyonundan 0.5 ml ilave edildi.

iii.) 18 saat sonra tüpler karıştırıldı, 10 dakika 1200 rpm'lik devirde santrifüj edildi. Dökelti atıldıktan sonra her tüpe 5 ml RPMI besi ortamı ilave edildi. 1200 rpm'lik devirde 10 dakika santrifüj edildi.

iv.) Bu işlem 3 kez tekrar edilerek yıkama işlemi tamamlandı. Son yıkamadan sonra dökelti atıldı, her tüpe 5'er ml RPMI besi ortamı ve 0.5'er ml stok timidin solüsyonundan ilave edildi ve tüpler hafifçe karıştırıldı. 5 saat 10 dakika 37⁰C'de inkübe edildi.

v.) Süre sonunda her tüpe 0.1 ml colcemid ilave edildi, 37⁰C'de 15 dakika inkübe edildi ve standart kromozom eldesi yöntemi uygulandı. Sadece hipotonik solüsyonda 20 dakika yerine 30 dakika bekletildi. En son yayma işlemi 15 - 20 cm yükseklikten damlatılarak yapıldı (34, 56)

2.2.1.c. Giemsa - Trypsin - Giemsa (GTG) bantlama yöntemi

Havada kurutulan preparatların her hasta için birer tanesi giemsa solüsyonunda (5 ml giemsa :95 mldistile su) 10 dakika boyandı. Geri kalan preparatlar Başaran (1987) tarafından modifiye edilen bantlama yöntemine göre boyandı.

GTG bantlaması için sırasıyla şu işlemler yapıldı :

i.) Preparatlar bir gece 2 x SSC solüsyonunda bekletildi.

ii.) Ertesi günü sırasıyla 10 dakika %0.9'luk SF solüsyonunda, 2'şer dakika %70'lik, %95'lik ve %100'lük alkol serisinden geçirilen preparatlar havada kurutuldu.

iii.) Daha önceden 15⁰C'ye getirilen trypsin solüsyonundan 60 - 95 saniye bekletildi,

iv.) Sırasıyla 1 dakika SF, 4 dakika giemsa solüsyonu ve 1'er dakikada buffer solüsyonu bulunan 2 şaleden geçirilerek bantlama tamamlanmış oldu. Preparatlar havada kurutulduktan sonra xylol'den geçirilerek entellan ve lamel ile kapatılarak devamlı hale getirildive incelemeye alındı.

2.2.2. Kardeş kromatid değişimi (KKD) analiz yöntemi

KKD incelenmesinde, Başaran (1987) tarafından modifiye edilen Wolf ve Perry yöntemi uygulandı (72) ve sırasıyla şu işlemler gerçekleştirildi.

i.) KKD analizinde kültür zamanı 72 - 74 saat olarak uygulandı. Her hasta için 3 tüp kullanıldı. Heparinize enjektöre alınan kandan daha önceden hazırlanmış, 5 ml kültür ortamı bulunan kültür tüplerine 0.1 - 0.5 ml olacak şekilde steril koşullarda (Lam Air Flow'da) damlatıldı. Bu ortama son konsantrasyonu 10µg/ml olacak şekilde BrdU ilave edildi.

ii.) Kültür tüpleri, BrdU almış hücreleri ışıktan korumak amacıyla alüminyum kağıda sarılarak 72 - 74 saat inkübasyon için 37⁰C'de inkübatöre bırakıldı.

iii.) Lenfoblast hücre kültürlerine kontrol grubunda kültürün 70. saatinde, çalışma grubunda ise 72. saatinde, son konsantrasyonu 1µg/ml olacak şekilde colcemid ilave edildi. Tüpler hafifçe karıştırıldı ve 2 saat 37⁰C'de inkübe edildi

iv.) Bu süre sonunda kültür tüpleri 1000 rpm'de 8 dakika santrifüj edildi. Dökelti kısmı atıldı, çökelti üzerine hücrelerin şişmesini sağlamak için her tüpe daha önceden 37⁰C'ye getirilmiş 5'er ml hipotonik solüsyon (0,075M KCL) ilave edildi. Vortex mixerde hücrelerin dağılımı sağlandıktan sonra 20 dakika 37⁰C'de inkübe edildi.

v.) Tekrar aynı devir ve sürede santrifüj edildikten sonra üstteki dökelti kısmı atıldı. Çökelti vortex mixerde karıştırıldıktan sonra pastör pipeti ile 5'er ml taze hazırlanmış fiksatif ilave edildi. Santrifüj edildi ve fiksatif ile yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Santrifüjler hep aynı süre ve devirde yapıldı.

vi.) Son santrifüjden sonra çökeltinin üzerine hücre miktarına göre fiksatif bırakılarak fazlası atıldı. Çözelti süspansiyon haline getirilerek metanolla temizlenmiş nemli lamlar üzerine pastör pipeti ile 2 - 3 damla damlatıldı ve preparatlar havada kurutularak boyama işlemine alındı.

vii.) Hazırlanan preparatlar, Hoechst 33258 floresan boya ile 20 dakika boyandı.

viii.) Bu süre sonunda preparatlar Mc Ilvaine tamponunda (pH 7.1) çalkalandı ve preparatlar petri kabına yerleştirilerek üzerine Mc Ilvaine tamponu ilave edildi ve 11 cm mesafe olan UV lambası (30 W) altına kondu, 1 saat bekletildi.

ix.) Preparatlar 2 x SSC tamponunda çalkalandı ve 60°C'lik su banyosu içinde bulunan şalede 2 x SSC tamponunda 1 saat bekletildi.

x.) Bu süre sonunda oda sıcaklığında bulunan 2 x SSC tamponunda çalkalandı, %5'lik giemsa boyasında 6 dakika boyandı, distile suda çalkalandı ve kurutularak değerlendirilmeye alındı.

2.2.3. Değerlendirme

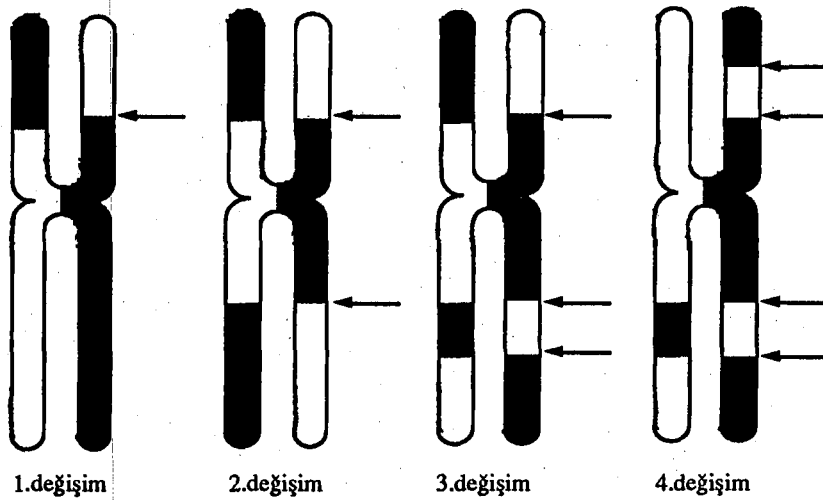
3.2.3.a. Kromozom düzensizliklerinin değerlendirilmesinde uygulanan ilkeler

Araştırma grubunu oluşturan olgular ile kontrol grubunu oluşturan bireylere ilişkin hazırlanan preparatlardan önce klasik giemsa boyası ile boyananlarda her olgu için kemoterapi öncesi 20 ve kemoterapi sonrası da 20 metafaz plağı olmak üzere toplam 40 metafaz plağında kromozom analizi gerçekleştirildi. Bu plaklarda yapısal kromozom düzensizlikleri araştırıldı. Yine ikinci aşamada GTG bantlaması ile boyanan preparatlarda kromozomları en iyi dağılan ve incelenebilecek metafaz plakları içinden örnekler seçilerek hem yapısal hem de sayısal düzensizlik yönünden incelendi. İlk olarak Rowley ve Potter'in önerdiği ve "İlk Uluslararası Lösemilerde Kromozom Çalışması Grubunun" kabul ettiği kritere göre kromozom düzensizlikleri belirlendi. Bu kritere göre düzensizliklerin kabul edilmesinde aynı pseudodiploid (translokasyon, delesyon,

inversiyon) veya aynı hiperdiploidin en az iki , aynı hipodiploid düzensizliğinin ise en az üç metafaz plağında görülmesi esas alınarak değerlendirmeler yapıldı (10, 28, 52)

2.2.3.b. KKD içeren preparatların değerlendirilmesi

Her olgu için KKD düzeylerinin araştırılmasına yönelik hazırlanan ve FPG yöntemi ile boyanan kromozom preparatları incelemeye alındı. Her olgu için kemoterapi öncesi 20 ve kemoterapi sonrası da 20 olmak üzere toplam 40 metafaz plağında KKD düzeyleri belirlendi. Kromozomlarda kardeş kromatid değişimleri şekil 2.1 de olduğu gibi birli, ikili, üçlü ve dördü değişimler dikkate alındı.



Şekil 2 1. Birli, ikili, üçlü, dördü kardeş kromatid değişimleri.

2.2.4. İstatiksel değerlendirme

Araştırmamız süresince elde edilen bulgulardan kromozom düzensizlikleri (kromatid tipi, kromozom tipi kırık ve asentrik kromozom) için olanlara Mann - Whitmen U testi testi uygulandı.

KKD düzeylerinin değerlendirilmesinde ise :

i) Araştırma grubu ile kontrol grubu KKD değerlerinin karşılaştırılmasında bağımsız örneklerde t testi,

ii) Araştırma grubu için tedavi öncesi - tedavi sonrası KKD düzeylerinin karşılaştırılmasında ise eşleştirilmiş t testi uygulandı.

2.2.5. Fotoğraf çekimi

Araştırmamızda, incelenen olguda sayısal ya da yapısal kimi kusurlar saptandığında bir başka aşama olan fotoğraf çekimi işlemi yapıldı. Seçilen metafaz plağının fotoğrafı immersiyon objektifi ve düşük ASA'lı (25 ASA) film kullanılarak çekildi. Her pozdan üç adet fotoğraf kartına basıldı. Kart üzerinde sayısal ve yapısal düzensizlik değerlendirilmesi tekrarlandı. Biri kontrol olarak bırakıldı, diğer ikisinden karyotip yapılarak düzensizliğin hangi kromozomu tuttuğu saptanmaya çalışıldı.

2.2.6 Akut lösemili olgulara Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji kliniğinde uygulanan kemoterapi

Akut non - lenfoblastik lösemili 13 olgunun tümüne AD (C - ARA + Adriamycin) protokolü uygulandı. AD protokolü :

C - ARA -----> 100 mg / m² / 12 saat -----> 7 gün uygulandı.
 Adriamycin (Deoxorubicine) ----> 30 mg / m² / günde -----> 3 gün uygulandı.
 (veya Adriamycin yerine onun analogu olan Mitoxantrone verildi)
 Mitoxantrone (Novatrone) -----> 10 mg / m² / günde -----> 3 gün uygulandı.
 Bu birinci kürü oluşturmaktadır . 28 gün sonra ikinci kür uygulanmaktadır.

Akut lenfoblastik lösemili olguya VAP (Vincristine + Prednisolone + Adriamycine) protokolü uygulandı. VAP protokolü :

Vincristine -----> 1.4 mg / m² / haftada bir -----> 4 kez uygulandı.
 Adriamycine -----> 25mg / m² / haftada bir-----> 4 kez uygulandı.
 Prednisolone -----> 40 mg / m² / gün ----->28 gün uygulandı.

Hodgkin's hastalığı olan olguya MOPP (Nitrojen mustard + Oncovine + Procarbazine + Prednisone) protokolü uygulanmıştır. MOPP protokolü :

Nitrojen mustard ----> 6 mg / m² / gün -----> 1. ve 8. günler uygulandı.
 Oncovine -----> 1.4 mg / m² / gün -----> 1. ve 8. günler uygulandı.
 Procarbazine -----> 100 mg / m² / gün -----> 14 gün uygulandı.
 Prednisone -----> 40 mg / m² / gün -----> 14 gün uygulandı.

Çizelge 2.1. Akut Lösemili Olguların Kemoterapi Öncesi Laboratuvar Bulguları

Olgu No	Yaş Cinsiyet	Klinik Tanı (FAB)	Lökosit Sayısı	Trombosit Sayısı	Hb	Htc
1	66/K	M5b	15.800	24 x 10 ³	11.9	37.6
2	58/E	M3	7.700	58 x 10 ³	12.7	39.0
3	47/E	M2	4.000	24.6 x 10 ³	12.2	37.8
4	55/K	---	22.500	62 x 10 ³	11.3	34.8
5	34/E	M4	48.100	62 x 10 ³	6.2	20.2
6	56/E	Hodgk..hast.	28.000	187 x 10 ³	4.3	17.2
7	27/E	M5b	420.000	61 x 10 ³	10.3	38.7
8	40/E	M2	41.600	84 x 10 ³	7.7	25.5
9	27/K	L2	15.200	18 x 10 ³	6.3	19.9
10	66/E	M5a	133.800	50 x 10 ³	8.7	27.5
11	17/E	M3	110.000	10 x 10 ³	8.9	27.3
12	22/K	M3	2.400	13 x 10 ³	13.4	37.5
13	45/E	M5	141.000	107 x 10 ³	7.1	23.2
14	46/E	M2	34.800	35 x 10 ³	5	15.9
15	59/K	M4	14.600	60 x 10 ³	8	24.5

Çizelge 2.2. Akut Lösemili Olguların Kemoterapi Sonrası Laboratuvar Bulguları

Olgu No	Yaş Cinsiyet	Klinik Tanı (FAB)	Lökosit Sayısı	Trombosit Sayısı	Hb	Htc
1	66/K	M5b	500	19 x 10 ³	13.1	39.5
2	58/E	M3	400	16 x 10 ³	12.8	39.1
3	47/E	M2	800	15 x 10 ³	10.7	31.4
4	55/K	----	2.100	27 x 10 ³	13.5	41.3
5	34/E	M4	2.200	191 x 10 ³	9.4	28.5
6	56/E	Hodgk.hast..-----	-----	-----	-----	-----
7	27/E	M5b	400	20 x 10 ³	15.1	44.0
8	40/E	M2	1.000	40 x 10 ³	11.9	36.5
9	27/K	L2	2.400	26.6 x 10 ³	9.9	29.2
10.	66/E	M5a	200	15 x 10 ³	13.6	39.8
11.	17/E	M3	1.000	27 x 10 ³	16.5	46.8
12.	22/K	M3	200	23 x 10 ³	12.8	39.1
13.	45/E	M5	300	13 x 10 ³	13.8	42.7
14.	46/E	M2	800	11 x 10 ³	11.1	34.1
15.	59/K	M4	100	14 x 10 ³	11.6	93.5

BULGULAR

3.1. Kromozom Analizi Bulguları

Akut lösemili olgularda kromozom ve KKD düzeylerinin saptanması amacıyla yapılan bu çalışmada toplam 15 olgu değerlendirmeye alındı ve aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

FAB sınıflandırmasına göre çizelge 3.1.de yer alan ve araştırma grubunu oluşturan toplam 15 olgudan üç tanesi ANLL - M2, üç tanesi ANLL - M3, iki tanesi ANLL - M4, bir tanesi ANLL - M5, bir tanesi ANLL - 5a, iki tanesi ANLL - M5b, bir tanesi alt tipi belirlenemiyen ANLL formunda iken bir tanesi ALL - L2' ve bir tanesi de Hodgkin's hastalığı tanılı idi.

Bu olgulardan M2 tipinde olanlardan birinde 3q delesyonu [46,XY,(3)(q25)] saptanırken ikincisinde 2q delesyonu [(46, XY,(2) (q12q14)] ve üçüncüsünde ise marker kromozom ve inversiyon [46, XY,- 7,+ mar / 46, XY, inv (16) (pq)] gözlemlendi (çizelge 3.1.ve şekil 3.5.). Diğer taraftan M3 tipinde uygunluk gösteren olgulardan birinde normal karyotip (46, XX) saptanırken diğer ikisinden ilkinde [(44, XY, - 14, - 19, t (7;8) (q22;p11)] karyotipi ve ikincisinde [43, XY, -19, t (13q22q), t (21q22q)] şeklinde iki translokasyon birlikte bulundu (çizelge 3.1.ve şekil 3.6). ANLL - M4 formuna uyan iki olgumuz bulunmaktaydı. Bunlardan ilkinde translokasyon ve minute kromozom [46,XX,+19,t(15;22)(q26;q11) / 46,XX, +19, -22, min] gözlenirken ikincisinde inversiyon [46,XX, inv (3) (p11;q22) / 47, XX, + del (22)(q11)] bulundu (çizelge 3.1 ve şekil 3.7). Diğer taraftan araştırmamızda ANLL - M5 tipine uygunluk gösteren dört olgu yer almakta olup bunlardan bir tanesi M5, bir tanesi M5a ve iki tanesinde M5b tipinde yer almaktaydı. Bu olgulardan M5 tipinde olanda onüçüncü

kromozomun uzun kolunda artış [46, XY, 13q+] gözlenirken, M5b tipine uygunluk gösterenlerden ilkinde trizomi 21 [47, XX, +21] , ikincisinde ise translokasyon tipi düzensizlik [45, XY, -19, t(10;14) (q23;q23)] ve M5a tipinde olan bir olguda da 20. kromozom monozomisi [45, XY -20] gözlendi (çizelge 3.1 ve şekil 3.8). Araştırmamızda yer alan toplam 15 olgunun kalan üç tanesinden biri tipi belirlenemiyen ANLL formunda, bir tanesi ALL - L2 ve sonuncusunda Hodgkin's hastalığı tanılı idi. Bunlardan ilkinde onyedinci kromozom monozomisi , marker kromozom ve minute kromozom [46, XY, -17, +mar, min] bulunurken ikincisinde normal karyotip (46, XX) ve sonuncusunda da [46,XYt(8;19)(q24;q13)] karyotipi bulundu (çizelge 3.1 ve şekil 3.9).

Çizelge 3.2.a, çizelge 3.2.b.ve şekil 2.1.de araştırma grubuna ilişkin tedavi öncesi ve tedavi sonrası kromozom bulguları ile kontrol grubuna ilişkin bulgular yer almaktadır. Araştırma grubunu oluşturan bireylerde en çok rastlanan kromozom düzensizliği kromatid tipi kırk iken, ikinci sırayı asentrik kromozom ve en az da kromozom tipi kırk yer aldı. Diğer taraftan, kontrol grubu bireylerinde ise toplam yedi kromatid tipi kırk, dört asentrik kromozom ve üç kromozom tipi kırk saptandı.

Araştırma grubunu oluşturan bireylerde tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemde 15 olgunun tümünde kromatid tipi kırk gözlendi. Toplam 15 olguya ilişkin tedavi öncesi dönemde incelenen toplam 300 plakta 45 kromatid tipi kırk gözlendi. Yine aynı olgularda tedavi sonrası dönemde incelenen toplam 300 plakta 74 kromatid tipi kırk gözlendi. Bu bulgulara göre kromatid tipi kırk düzensizliği araştırma grubunu oluşturan bireylerde tedavi öncesi dönemde kontrol grubuna göre önemli derecede arttığı ($p < 0.001^{***}$), yine araştırma grubu olgularında aynı düzensizliğin tedavi sonrası dönemde tedavi öncesine göre önemli derecede arttığı belirlendi ($p < 0.001^{***}$).

Çizelge 3.2.a de ve şekil 3.1 de görüldüğü üzere araştırma grubunu oluşturan bireylerde tedavi öncesi dönemde toplam 300 plak incelenmesi sonucu bu

olguların 10 (% 66.7) tanesinde toplam 20 asentrik kromozom gözlemlendi. Yine tedavi sonrası dönemde de aynı olgularda aynı sayıda plak incelenmiş olup 13 olguda (% 86.7) toplam 39 asentrik kromozom gözlemlendi. Buna karşın aynı düzensizlik kontrol grubunda yalnızca 4 bireyde (% 26.7) saptandı. Bu düzensizlik açısından hem araştırma grubu ile kontrol grubu arasında bir farklılık olduğu ($p < 0.05^*$), hem de araştırma grubu bireylerinde tedavi öncesi dönem ile tedavi sonrası dönem arasında istatistiksel olarak fark olduğu ($p < 0.05^*$) belirlendi (çizelge 3.2., şekil 3.1.).

Yine çizelge 3.2.a ve çizelge 3.2.b de görüldüğü gibi araştırma grubunu oluşturan toplam 15 olguda tedavi öncesi dönemde kromozom tipi kırık açısından toplam 300 plak incelendi. Bu olguların 9 (% 60) tanesinde toplam 15 kromozom tipi kırık gözlemlendi. Yine bu olgularda tedavi sonrası dönemde de aynı sayıda plak incelenmiş olup 11 (% 73.3) olguda toplam 19 kromozom tipi kırık gözlenirken, kontrol grubunda yalnızca 3 (% 20) bireyde bu düzensizlik saptandı. Bu bulgulara göre bu düzensizliğin araştırma grubunda tedavi öncesi dönemde kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı ($p < 0.01^{**}$), ancak tedavi öncesi - tedavi sonrasına ilişkin bulgular arasında istatistiksel düzeyde önemli bir farkın olmadığı saptandı ($p > 0.05$).

3.2. KKD Analizi Bulguları

Araştırmada toplam 15 olgunun kromozom analizleri yanısıra KKD düzeylerinin saptanmasına da çalışıldı. Bu çalışmaların sonunda KKD düzeylerinin saptanması için araştırma grubunda tedavi öncesi dönemde 300 metafaz plağı ve tedavi sonrası dönemde de 300 olmak üzere toplam 600, kontrol grubunda ise 300 metafaz plağı (15 birey X 20 metafaz plağı) değerlendirildi. Araştırma grubunda yer alan her olgu için kemoterapi öncesi 20 ve kemoterapi sonrası da 20 olmak üzere toplam 40, kontrol grubunda yer alan her olgu için de yine 20 metafaz plağı değerlendirildi. Bu değerlendirilmelerin sonucunda araştırma grubunda ve kontrol grubunda gözlenen KKD leri şekil 3.10 da görülmektedir.

Bu değerlendirilmelerin sonucunda araştırma grubunda kemoterapi öncesi saptanan KKD düzeylerinin kromozom gruplarına göre dağılımı çizelge 3.3 de, kemoterapi sonrası saptanan aynı yöndeki bulgular ise çizelge 3.4 de yer alırken kontrol grubuna ilişkin aynı dağılım ise çizelge 3.5 da verildi. Buna göre olgulara ilişkin tedavi öncesi dönemde toplam 3601 değişim gözlenirken, tedavi sonrası dönemde 4209 ve kontrol grubunda ise 2360 olarak bulundu.

Diğer taraftan, çizelge 3.6 de her olguda kemoterapi öncesi ve kemoterapi sonrası saptanan toplam KKD sayısı dikkate alınarak kemoterapi öncesine ve sonrasına ilişkin ortalama değer ile KKD sıklığının değişim genişliği verilmektedir. Araştırma grubu olgularında kemoterapi öncesi dönemde gözlenen KKD değerleri 10.85 ± 0.52 ile 13.30 ± 0.69 arasında değişmekte olup toplam 15 olgunun ortalama KKD değeri 12.07 ± 0.15 olarak saptandı. Yine araştırma grubu olgularında tedavi sonrasında gözlenen KKD değerleri 12.20 ± 0.66 ile 16.55 ± 0.73 arasında bulundu ve toplam 15 olgunun tedavi sonrası ortalama KKD değeri 14.04 ± 0.32 olarak belirlendi. Aynı değerler, kontrol grubunda ise 7.50 ± 0.57 ile 8.25 ± 0.47 arasında gözlemlendi ve ortalama KKD değeri de 7.87 ± 0.60 olarak saptandı (çizelge 3.7.).

Öte yandan çizelge 3.8 ve şekil 3.2 de araştırma grubu olgularında kemoterapi öncesi ve kemoterapi sonrası gözlenen toplam KKD sayısı ve ortalama KKD değerleri yanısıra değişim genişliği verilmektedir. Buna göre araştırma grubu olgularında kemoterapi öncesi gözlenen KKD sıklığının değişim genişliği 4 - 24 iken , kemoterapi sonrası 7 - 28 olarak saptandı. Bu değişim genişliği kontrol grubu bireylerinde ise 2 - 18 olarak belirlendi.

Yukarıda verilen bu verilere göre araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemde saptanan KKD düzeyleri kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu saptanırken ($p < 0.001^{***}$), araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönem arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu gözlemlendi ($p < 0.001^{***}$).

Araştırma grubuna ilişkin tedavi öncesi dönemde kromozom çiftleri ve kromozom grupları dikkate alınarak KKD /kromozom ortalamaları çizelge 3.9 da, tedavi sonrası dönemde saptanan bulgular ise çizelge 3.10 de verilmektedir. Buna göre KKD /kromozom ortalaması değerlerinin tedavi öncesi dönemde 0.62 ile 0.07 arasında değişirken (çizelge 3.9), tedavi sonrası dönemde ise 0.73 ile 0.09 arasında değiştiği gözlemlendi (çizelge 3.10). Aynı ortalamalar kontrol grubu bireylerinde ise 0.45 ile 0.05 arasında bulundu (çizelge 3.11).

Çizelge 3.12 de ve şekil 3.3 de araştırma grubunda yer alan olguların tedavi öncesi dönemde KKD düzeylerinin kromozomlara göre dağılımı verilirken çizelge 3.13 de aynı grubun tedavi sonrası dönemdeki bulguları verilmektedir. Buna göre KKD sıklığı tedavi öncesi ve tedavi sonrası olgularda birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci çiftler ile C grubu kromozomlarda beklenenden daha çok, 13 - 15. çiftler ile E, F ve G grubu kromozomlarda ise beklenenden daha az olarak gözlemlendi. Diğer taraftan kontrol grubuna ilişkin aynı yöndeki bulgular çizelge 3.14 ve şekil 3.4 de yer almakta olup, çizelgede de görüldüğü üzere birinci, ikinci ve üçüncü çift kromozomlar ile dördüncü ve beşinci çiftlerde beklenenden daha çok, C grubu kromozomları ile D, E, F ve G grubu kromozomlarda ise beklenenden daha az olarak saptandı (şekil 3.3 ve şekil 3.4).

Diğer taraftan çizelge 3.15 da araştırma grubuna ilişkin tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemler ile kontrol grubuna ilişkin kromozom çiftleri ve kromozom gruplarında saptanan toplam KKD sayısı dikkate alınarak ortalama KKD değerleri verilmektedir. Kromozom gruplarına göre KKD düzeyleri değerlendirildiğinde en fazla değişimin 1,2,3 nolu yani A grubu kromozomlarda olduğu, buna karşılık en az değişimin G grubu kromozomlarında olduğu gözlemlendi. Bu veriler istatistiksel değerlendirmeye alındı ve sonuçta araştırma grubunda tedavi öncesi dönemde G grubu hariç , tedavi öncesi ve tedavi sonrası tüm kromozom çiftleri ve kromozom gruplarında KKD düzeyleri kontrol grubu bireylerine göre istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılığın olduğu saptandı ($p < 0.001^{***}$). Buna göre araştırma grubunun

tedavi öncesi G grubu bulguları dışında hem tedavi öncesi ve hem de tedavi sonrası kromozom çiftleri ve kromozom gruplarına ilişkin KKD düzeylerinde önemli düzeyde artış olduğu ortaya kondu.

Öte yandan araştırma ve kontrol grubuna ilişkin bulgular cinsiyete göre değerlendirildi (çizelge 3.16). Buna göre KKD düzeyleri araştırma grubunda tedavi öncesi kadınlarda 1155, tedavi sonrası ise 1305 iken kontrol grubu kadınlarda 1098 olarak belirlendi. Aynı değerler araştırma grubunda yer alan erkekler için tedavi öncesi dönemde 2446 iken tedavi sonrası dönemde 2904 ve kontrol grubu erkeklerde ise 1262 olarak saptandı. Bu değerlendirmeye göre hem araştırma grubunda yer alan kadınlara ilişkin tedavi öncesi ve tedavi sonrası KKD sayıları ile hem de yine araştırma grubu içerisinde yer alan erkeklere ilişkin bulgular ile kontrol grubunda yer alan kadın ve erkeklere ilişkin bulguların gruplar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılığın olduğu gözlemlendi.

Bu verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda araştırma grubunda yer alan kadınlarda tedavi sonrası KKD düzeyi hem tedavi öncesine hem de kontrol grubu kadınlara ilişkin verilere göre önemli düzeyde farklılık bulundu ($p < 0.001^{***}$). Yine araştırma grubunda yer alan erkeklere ilişkin KKD düzeyleri tedavi öncesine ve kontrol grubu erkeklerin bulgularına oranla önemli düzeyde farklılık gözlemlendi ($p < 0.001^{***}$). Ayrıca araştırma grubu içerisinde yer alan kadınlarla erkeklere ilişkin yapılan değerlendirmelerde bu iki grup arasında tedavi öncesi dönemde KKD düzeyleri arasında önemli bir fark gözlenmez iken ($p > 0.05$), yine aynı grup içerisinde yer alan tedavi sonrası kadınlarla erkeklere ilişkin yapılan değerlendirmeler sonucunda istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılığın olduğu bulundu ($p < 0.05^*$).

Çizelge 3.1. Akut lösemili olgularda yapılan kromozom analizi bulguları.

Sıra No	Protokol No	Adı Soyadı	Yaş	Cinsiyet	Klinik Tanı (FAB)	İncelenen Metafaz Sayısı	Normal Karyotip (%)	Anormal Karyotip	Anormal Karyotip (%)
1.	91/2439	M.E.	66	K	ANLL - M5b	25	84	47,XX, +21	16
2.	91/2473	S.A.	58	E	ANLL - M3	30	93	44,XY, -14, - 19, t (7;8) (q22;p11)	7
3.	91/2484	R.İ.	47	E	ANLL - M2	40	95	46,XY, del (3) (q25)	5
4.	91/2494	H.U.	55	K	ANLL	10	80	46,XY, -17, +mar., min.	20
5.	91/2505	R.D.	34	E	ANLL - M4	46	85	46,XX, +19, t(15;22)(q26;q11) / 46,XX, +19, -22, min	6.5/8.5
6.	91/2521	M.H.	56	E	Hodgk.Hast..	20	90	46,XY, t (8;19) (q24;q13)	10
7.	91/2543	H.D.	27	E	ANLL - M5	22	86	45,XY, -19, t (10;14) (q23;q23)	14
8.	91/2583	R.G.	40	E	ANLL - M2	25	92	46,XY, del (2) (q12q14)	8
9.	91/2584	F.A.	27	K	ALL - L2	40	100	46,XX	
10.	91/2603	H.Ü.	66	E	ANLL - M5a	10	70	45,XY, -20	30
11.	91/2619	H.Ç.	17	E	ANLL - M3	20	85	43,XY -19, t (13q22q), t (21q22q)	15
12.	91/2629	Ş.Ç.	22	K	ANLL - M3	50	100	46,XX	
13.	91/2634	T.A.	45	E	ANLL - M5	26	88	46,XY, 13q+	12
14.	91/2636	H.Ç.	46	E	ANLL - M2	46	92	46,XY, -7, + mar. / 46, XY, inv (16) (pq)	4 / 4
15.	91/2649	Ş.D.	59	K	ANLL - M4	45	91	46,XX, inv(3)(p11q22) / 47,XX, +del(22)(q11)	4.5/4.5

Çizelge 3.2.a. Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve sonrası dönemde gözlenen kromozom düzensizlikleri.

Olgu No	Hasta Ad.Soy	İncelenen Toplam Met. Say	Anomali Sayısı		Kromatid Tipi Kırık		Asentrik Kromozom		Kromozom Tipi Kırık	
			Td.Ön.	Td.Sn.	Td.Ön.	Td.Sn.	Td.Ön.	Td.Sn.	Td.Ön.	Td.Sn.
1.	M.E.	20	5	6	3	3	1	1	1	2
2.	S.A.	20	11	16	5	10	2	4	4	2
3.	R.İ.	20	6	8	6	7	-	-	-	1
4.	H.U.	20	4	5	2	3	1	1	1	1
5.	R.D.	20	5	9	4	6	1	1	-	2
6.	M.H.	20	4	8	2	4	1	2	1	2
7.	H.T.	20	4	7	2	4	1	2	1	1
8.	R.G.	20	4	12	2	5	-	3	2	4
9.	F.A.	20	5	11	4	5	-	4	1	2
10.	H.Ü.	20	4	6	2	5	-	-	2	1
11.	H.Ç.	20	6	10	4	6	2	4	-	-
12.	Ş.Ç.	20	9	9	3	3	6	6	-	-
13.	T.A.	20	5	9	2	4	3	5	-	-
14.	H.Ç.	20	2	8	2	6	-	2	-	--
15.	Ş.D.	20	6	8	2	3	2	4	2	1
TOPLAM:		300	80	132	45	74	20	39	15	19

Çizelge 3.2.b. Araştırma ve kontrol grubu olgularında gözlenen yapısal kromozom düzensizlikleri.

Gruplar	Olgu Sayısı	İncelenen Toplam	Anomali Sayısı		Kromatid Tipi Kırık		Asentrik Kromozom		Kromozom Tipi Kırık			
			Met.	Say	Td.Ön.	Td.Sn.	Td.Ön.	Td.Sn.	Td.Ön.	Td.Sn.	Td.Ön.	Td.Sn.
			Araştırma Grubu	15	600	80	132	45	74	20	39	15
Kontrol Grubu	15	300	14		7		4		3			

Kromatid Tipi Kırık

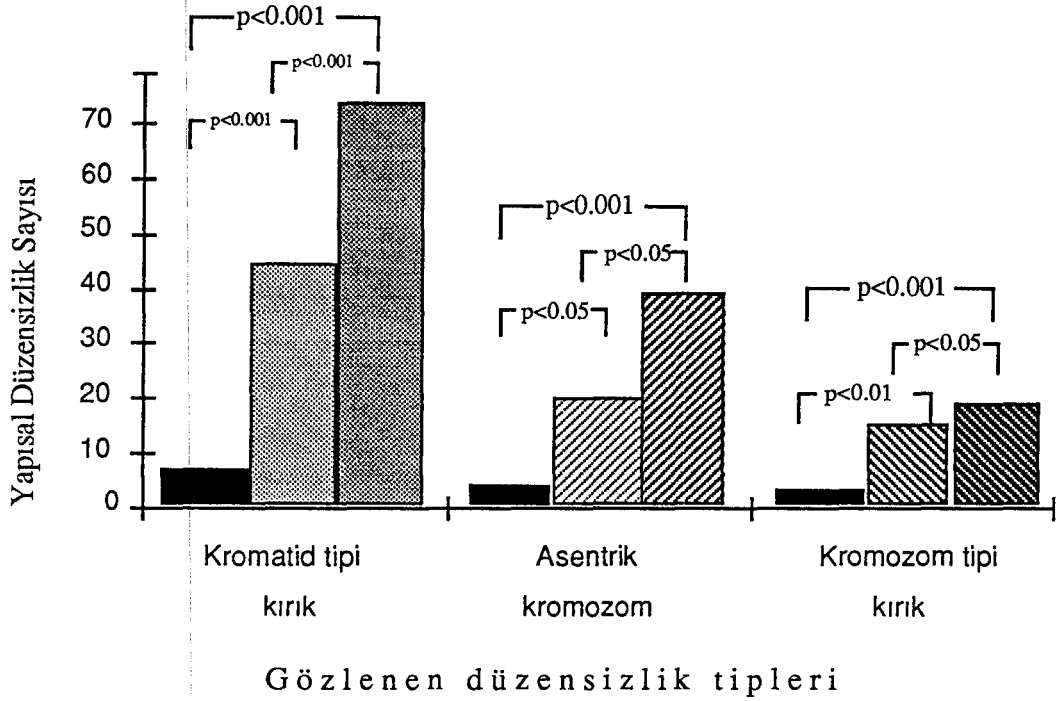
Arşt. Grubu Tedavi Öncesi - Kontrol Grubu	U = 0	p < 0.001
Arşt. Grubu Tedavi Sonrası - Kontrol Grubu	U = 0	p < 0.001
Arşt. Grubu Tedavi Öncesi - Arşt. Grubu Tedavi Sonrası	U = 40.5	p < 0.001

Asentrik Kromozom :

Arşt. Grubu Tedavi Öncesi - Kontrol Grubu	U = 57.5	p < 0.05
Arşt. Grubu Tedavi Sonrası - Kontrol Grubu	U = 25	p < 0.001
Arşt. Grubu Tedavi Öncesi - Arşt. Grubu Tedavi Sonrası	U = 65	p < 0.05

Kromozom Tipi Kırık :

Arşt. Grubu Tedavi Öncesi - Kontrol Grubu	U = 61.5	p < 0.01
Arşt. Grubu Tedavi Sonrası - Kontrol Grubu	U = 43.5	p < 0.001
Arşt. Grubu Tedavi Öncesi - Arşt. Grubu Tedavi Sonrası	U = 88.5	p < 0.05



- Kontrol Grubunda Kromatid Tipi kırık
- Arşt. Grb. da Tedavi Öncesi Kromatid Tipi Kırık
- Arşt. Grb. da Tedavi Sonrası Kromatid Tipi Kırık
- Kontrol Grubunda Asentrik Kromozom
- Arşt. Grb. da Tedavi Öncesi Asentrik Kromozom
- Arşt. Grb. da Tedavi Sonrası Asentrik Kromozom
- Kontrol Grubunda Kromozom tipi kırık
- Arşt. Grb. da Kromozom tipi kırık
- Arşt. Grb. da Kromozom tipi kırık

Şekil 3.1. Araştırma grubu olguları ile kontrol grubu bireylerinde saptanan yapısal kromozom düzensizlikleri.

Çizelge 3.3. Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi dönemde KKD sıklığının kromozomlara göre dağılımı.

Olgu No	KROMOZOM veya KROMOZOM GRUPLARI									TOPLAM
	A	B	C	D	E	F	G			
1	2	3	4 - 5	6 - 12 - X	13 - 15	16 - 18	19 - 20	21 - 22 - Y		
1.	26	21	16	43	88	13	10	6	4	227
2.	30	18	20	27	100	15	11	5	8	234
3.	24	30	18	31	119	19	12	8	5	266
4.	22	26	13	26	97	20	12	9	5	230
5.	23	19	15	31	109	14	13	8	4	236
6.	33	26	22	33	85	19	13	6	7	244
7.	22	25	18	26	116	14	12	10	12	255
8.	27	32	26	33	82	22	19	6	5	252
9.	19	23	13	28	94	17	12	6	5	217
10.	29	24	21	33	80	17	18	6	6	234
11.	27	31	15	28	93	19	10	7	9	239
12.	30	21	18	27	102	15	9	6	4	232
13.	20	23	19	28	106	16	12	8	8	240
14.	22	30	23	29	103	14	11	9	5	246
15.	23	32	23	25	97	21	17	7	4	249
T	377	381	280	448	1471	255	191	107	91	3601

Çizelge 3.4. Araştırma grubu olgularında tedavi sonrası dönemde KKD sıklığının kromozomlara göre dağılımı.

KROMOZOM veya KROMOZOM GRUPLARI										
Olgu	A		B		C	D	E	F	G	TOPLAM
No	1	2	3	4-5	6-12-X	13-15	16-18	19-20	21-22-Y	
1	32	21	22	36	95	27	16	12	8	269
2.	25	26	26	35	108	23	13	5	8	269
3.	43	36	28	37	115	27	25	12	8	331
4.	25	18	23	28	111	15	12	12	6	250
5.	26	33	15	35	133	28	12	8	5	295
6.	25	26	15	46	89	33	19	9	11	273
7.	30	29	24	44	132	25	17	4	9	314
8.	35	27	29	49	112	20	17	8	10	307
9.	28	30	20	19	105	13	13	8	6	242
10.	32	25	31	28	115	16	15	10	12	284
11.	33	28	19	35	119	27	12	6	10	289
12.	24	21	18	24	109	18	17	13	8	252
13.	21	32	19	37	110	21	16	13	11	280
14.	29	22	13	25	125	21	15	4	8	262
15.	32	33	26	33	116	18	15	10	9	292
T	440	407	328	511	1694	332	234	134	129	4209

Çizelge 3.5. Kontrol grubu bireylerinde KKD sıklığının kromozomlara göre dağılımı.

KROMOZOM veya KROMOZOM GRUPLARI										
Olgu	A		B	C	D	E	F	G	TOPLAM	
No	1	2	3	4 - 5	6 - 12 - X	13 - 15	16 - 18	19 - 20	21 - 22 - Y	
1.	15	19	10	17	67	13	11	4	3	159
2.	17	16	14	25	58	9	11	5	3	158
3.	20	18	14	22	61	11	9	6	2	163
4.	19	17	14	15	58	14	11	3	3	154
5.	16	13	14	19	53	15	8	8	5	151
6.	16	15	12	24	59	13	7	6	7	159
7.	15	16	12	24	54	15	13	8	3	160
8.	15	15	11	23	57	10	11	7	4	153
9.	21	21	18	21	49	11	9	6	4	160
10.	20	16	12	21	50	16	10	7	8	160
11.	19	17	19	22	68	9	5	4	2	165
12.	15	15	17	17	58	15	8	6	7	158
13.	16	15	11	28	55	14	10	6	5	160
14.	15	22	13	22	42	16	12	4	4	150
15.	17	18	10	19	58	10	7	3	8	150
T	256	253	201	319	847	191	142	83	68	2360

Çizelge 3.6. Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası KKD dağılımı.

Olgu No	Tedavi Öncesi			Tedavi Sonrası		
	KKD Sayısı	X ± S _H	Değişim Genişliği	KKD Sayısı	X ± S _H	Değişim Genişliği
1.	227	11.35 ± 0.63	4 - 18	269	13.45 - 0.68	8 - 21
2.	234	11.70 ± 0.91	4 - 22	269	13.50 ± 0.78	7 - 22
3.	266	13.30 ± 0.69	8 - 18	331	16.55 ± 0.73	10 - 22
4.	230	11.50 ± 0.59	7 - 18	250	12.50 ± 0.60	8 - 19
5.	236	11.80 ± 0.79	5 - 21	295	14.75 ± 0.79	8 - 21
6.	244	12.20 ± 0.69	7 - 18	273	13.65 ± 0.89	9 - 20
7.	255	12.65 ± 0.52	8 - 16	314	15.70 ± 1.22	8 - 28
8.	252	12.60 ± 0.77	6 - 20	307	15.35 ± 0.70	9 - 20
9.	217	10.85 ± 0.52	7 - 16	242	12.20 ± 0.65	8 - 18
10.	234	11.70 ± 1.18	5 - 24	284	14.20 ± 0.80	10 - 23
11.	239	11.95 ± 0.65	7 - 19	289	14.45 ± 1.35	8 - 25
12.	232	11.60 ± 0.49	8 - 16	252	12.60 ± 0.57	9 - 20
13.	240	12.00 ± 0.67	7 - 17	280	14.00 ± 0.85	8 - 24
14.	246	12.30 ± 0.75	7 - 18	262	13.10 ± 0.74	8 - 20
15.	249	12.45 ± 0.71	9 - 18	292	14.60 ± 1.23	8 - 28
	3601	12.07 ± 0.15	4 - 24	4209	14.04 ± 0.32	7 - 28

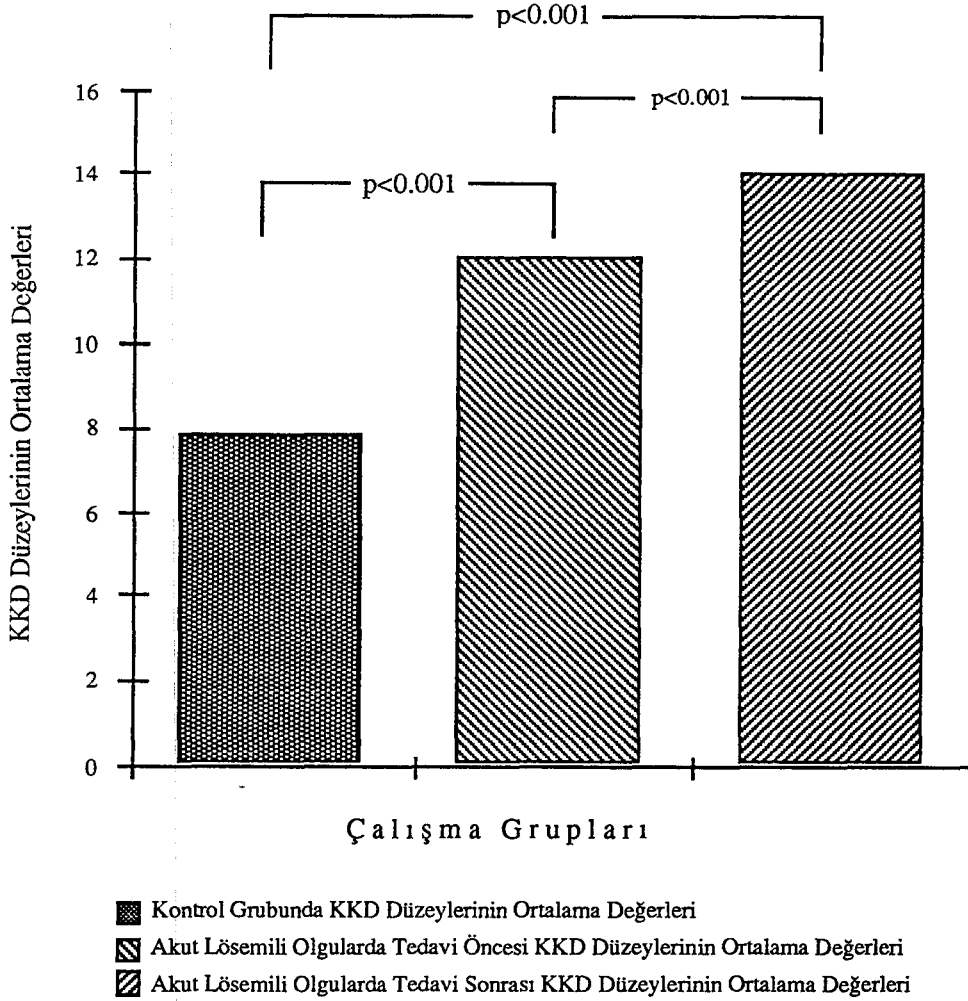
Çizelge 3.7. Kontrol grubu bireylerinde KKD dağılımı.

Olgu No	Adı Soyadı	Yaş / Cinsiyet	KKD Sayısı	KKD / Metafaz	
				X ± SH	Dağılım
1	N.D	26 /K	159	7.95 ± 0.39	5 - 18
2	S.S.	45 /K	158	7.90 ± 0.62	2 - 15
3	T.A.	17/K	163	8.15 ± 0.53	4 - 15
4	F.İ.	45/K	154	7.70 ± 0.72	4 - 15
5	F.Ç.	45/K	151	7.55 ± 0.55	4 - 15
6	S.K.	48/K	159	7.95 ± 0.69	3 - 18
7	K.F.	46/E	160	8.00 ± 0.66	4 - 14
8	A.M.	60/K	153	8.00 ± 0.56	5 - 16
9	M.Ç.	29/E	160	8.00 ± 0.75	2 - 16
10	M.M.	23/E	160	8.00 ± 0.76	3 - 16
11	D.K.	44/E	165	8.25 ± 0.47	6 - 15
12	A.V.	55/E	158	7.90 ± 0.55	3 - 12
13	B.S.	50/E	160	8.00 ± 0.59	4 - 15
14	G.Ç.	54/E	150	7.50 ± 0.57	3 - 13
15	R.D.	50/E	150	7.50 ± 0.61	3 - 16
			2360	7.87 ± 0.60	2 - 18

Çizelge 3.8. Araştırma ve kontrol grubunda gözlenen ortalama KKD değerleri.

Çalışma Grupları	Olgu Sayısı	Metafaz		KKD / Kromozom	
		Plağı Sayısı	KKD Sayısı	X ± SH	Değişim Genişliği (Range)
Araştırma Ted. Önc.	15	300	3601	12.07 ± 0.15	4 - 24
Araştırma Ted. Son.	15	300	4209	14.04 ± 0.32	7 - 28
Kontrol	15	300	2360	7.87 ± 0.60	2 - 18

Arşt.grubu tedavi öncesi - Kontrol grubu	t = 27.95	SD = 26	p < 0.001
Arşt.grubu tedavi sonrası - Kontrol Grubu	t = 20.25	SD = 26	p < 0.001
Arşt.grubu tedavi öncesi - Tedavi sonrası	t = 8.65	SD = 12	p < 0.001



Şekil 3.2 Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönem ile kontrol grubu bireylerde saptanan KKD düzeylerinin aritmetik ortalamalarına göre dağılımı.

Çizelge 3.9. Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi KKD lerin kromozomlar arasında dağılımı.

Kromozom Sayısı	Relativ Kromozom	Kromozom Sayısı	KKD Sayısı	Gözlenen KKD / Kromozom Ort.	Beklenen KKD / Kromozom Ort.
1	8.44	600	377	0.62	0.48
2	8.02	600	381	0.63	0.45
3	6.83	600	280	0.46	0.39
B	6.19	1200	448	0.37	0.35
C + X	4.99	4600	1471	0.32	0.29
D	3.58	1800	255	0.14	0.20
E	3.18	1800	191	0.11	0.18
F	2.61	1200	107	0.09	0.15
G + Y	1.97	1400	91	0.07	0.12
		13800	3601		

Çizelge 3.10. Araştırma grubu olgularında tedavi sonrası KKD lerin kromozomlar arasında dağılımı.

Kromozom Sayısı	Relativ Kromozom	Kromozom Sayısı	KKD Sayısı	Gözlenen KKD / Kromozom Ort.	Beklenen KKD / Kromozom Ort.
1	8.44	600	440	0.73	0.56
2	8.02	600	407	0.69	0.53
3	6.83	600	328	0.55	0.45
B	6.19	1200	511	0.43	0.41
C + X	4.99	4600	1694	0.37	0.34
D	3.58	1800	332	0.18	0.24
E	3.18	1800	234	0.13	0.21
F	2.61	1200	134	0.11	0.17
G + Y	1.97	1400	129	0.09	0.14
		13800	4209		

Çizelge 3.11. Kontrol grubu bireylerde KKD lerin kromozomlar arasında dağılımı.

Kromozom Sayısı	Relativ Kromozom	Kromozom Sayısı	KKD Sayısı	Gözlenen KKD / Kromozom Ort.	Beklenen KKD / Kromozom Ort.
1	8.44	600	256	0.45	0.31
2	8.02	600	253	0.42	0.30
3	6.83	600	201	0.34	0.25
B	6.19	1200	319	0.27	0.23
C+X	4.49	4640	847	0.18	0.19
D	3.58	1800	191	0.11	0.13
E	3.18	1800	142	0.08	0.12
F	2.61	1200	83	0.07	0.10
G+Y	1.97	1360	68	0.05	0.08
		13800	2360		

Çizelge 3.12. Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi kromozomlar arasında değişimlerin dağılımı.

Kromozom Sayısı	Total		Gözlenen Değişim Sayısı	Beklenen Değişim Sayısı	X ²
	Relativ Uzunluk	Uzunluk Yüzdesi			
1	16.88	0.07955	377	286.459	28.61
2	16.04	0.07559	381	272.199	43.49
3	13.66	0.06438	280	231.832	10.00
B	24.76	0.11669	448	420.200	1.84
C + X	79.94	0.37674	1471	1356.640	9.64
D	21.52	0.10142	255	365.213	35.72
E	19.08	0.08992	191	323.800	54.46
F	10.46	0.04929	107	177.494	27.99
G + Y	9.85	0.04642	91	167.158	34.69
	212.19	1.00000	3601	3601.000	

Çizelge 3.13. Araştırma grubu olgularında tedavi sonrası kromozomlar arasında değişimlerin dağılımı.

Kromozom Sayısı	Total		Gözlenen Değişim Sayısı	Beklenen Değişim Sayısı	X ²
	Relativ Uzunluk	Uzunluk Yüzdesi			
1	16.88	0.07955	440	334.826	33.04
2	16.04	0.07559	407	318.158	24.81
3	13.66	0.06438	328	270.975	12.00
B	24.76	0.11669	511	491.148	0.80
C + X	79.94	0.37674	1694	1585.699	7.40
D	21.52	0.10142	332	426.877	21.09
E	19.08	0.08992	234	378.473	55.15
F	10.46	0.04929	134	207.462	26.01
G + Y	9.85	0.04642	129	195.382	22.55
	212.19	1.00000	4209	4209.000	

Çizelge 3.14.Kontrol grubu bireylerde kromozomlar arasında değişimlerin dağılımı.

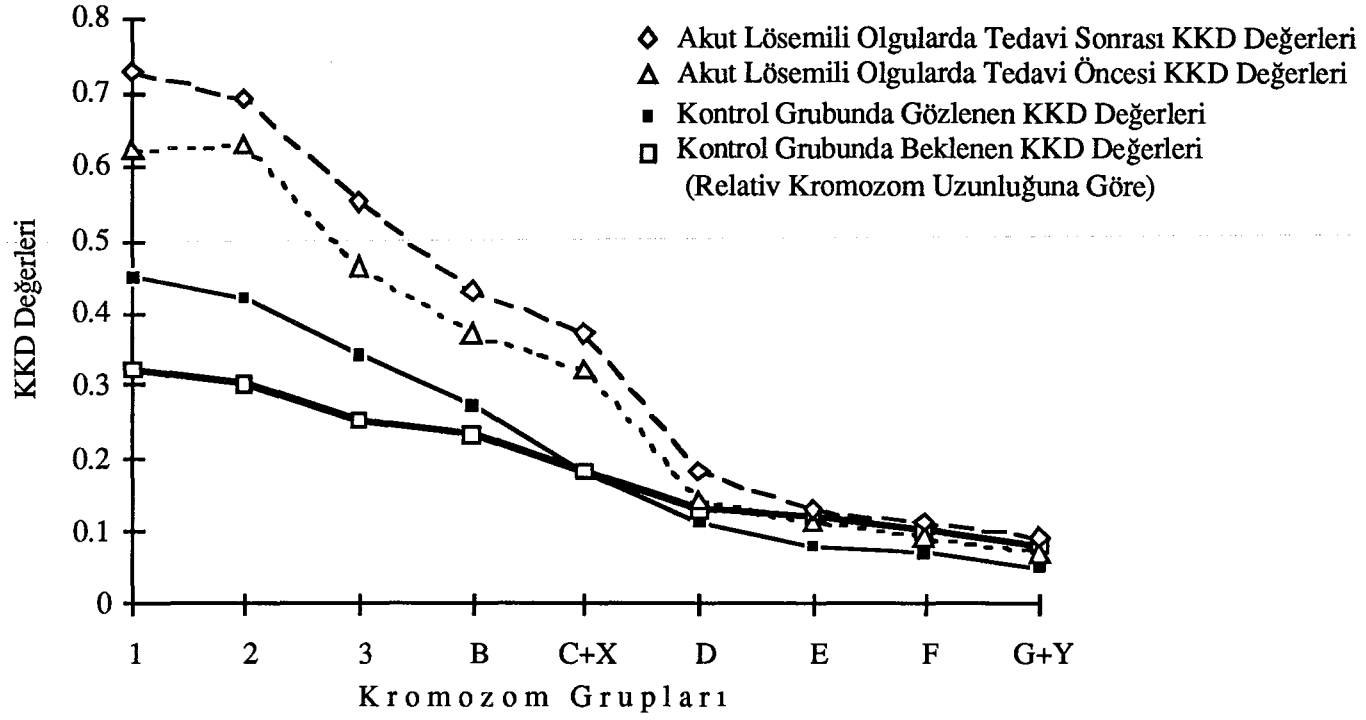
Kromozom Sayısı	Total	Uzunluk Yüzdesi	Gözlenen	Beklenen	X ²
	Relativ Uzunluk		Değişim Sayısı	Değişim Sayısı	
1	16.88	0.07955	256	187.738	24.82
2	16.04	0.07559	253	178.392	31.20
3	13.66	0.06438	201	151.937	15.84
B	24.76	0.11669	319	275.388	6.91
C + X	79.94	0.37674	847	889.106	1.99
D	21.52	0.10142	191	239.351	9.77
E	19.08	0.08992	142	212.211	23.23
F	10.46	0.04929	83	116.325	9.55
G + Y	9.85	0.04642	68	109.551	15.76
	212.19	1.00000	2360	2360.000	

Çizelge 3.15.Kromozom veya Kromozom Gruplarına Göre araştırma grubu ve kontrol grubu olgularda KKD düzeylerinin dağılımı

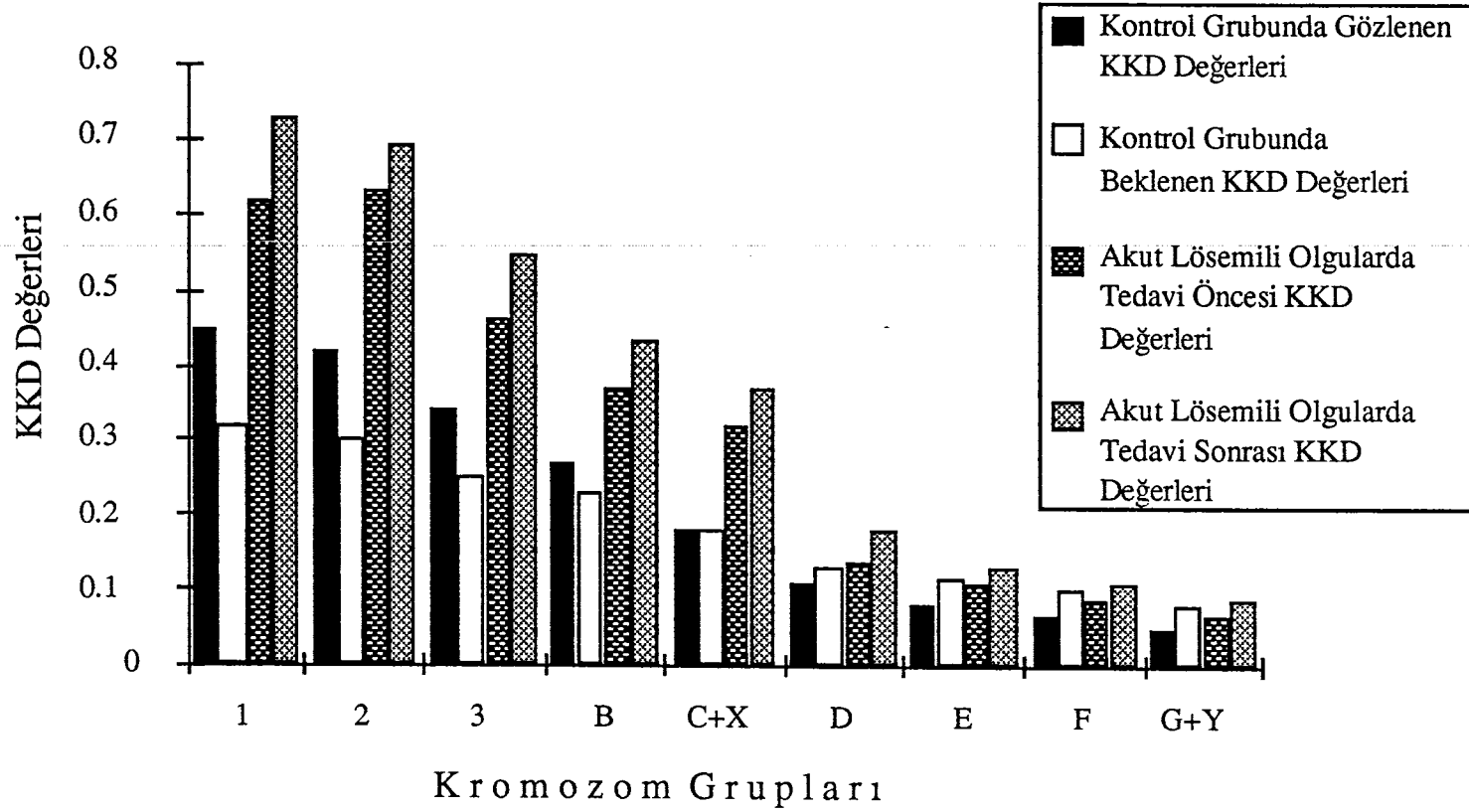
Kromozom ve/veya Grupları	Kontrol Grubu		Araştırma Grubu			
	KKD Sayısı	X ± S _H KKD/Met.	Tedavi Öncesi		Tedavi Sonrası	
			KKD Sayısı	X ± S _H KKD/Met.	KKD Sayısı	X ± S _H KKD/Met.
1	256	17.07 ± 0.56	377	25.13 ± 1.06***	440	29.33 ± 1.42***
2	253	16.87 ± 0.62	381	25.40 ± 1.21***	407	27.13 ± 1.34***
3	201	13.40 ± 0.72	280	18.67 ± 1.00***	328	21.87 ± 1.41***
B	319	21.27 ± 0.89	448	29.87 ± 1.17***	511	34.07 ± 2.15***
C + X	847	56.47 ± 1.70	1471	98.07 ± 3.00***	1694	112.93 ± 3.07***
D	191	12.73 ± 0.65	255	17.00 ± 0.74***	332	22.13 ± 1.46***
E	142	9.47 ± 0.56	191	12.73 ± 0.76**	234	15.60 ± 0.87***
F	83	5.53 ± 0.42	107	7.13 ± 0.38**	134	8.93 ± 0.81**
G + Y	68	2.88 ± 0.33	91	3.54 ± 0.36	129	4.91 ± 0.37**

*** p < 0.001

** p < 0.01



Şekil 3.3 Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası ile kontrol grubu bireylerinde kromozom çifti ve kromozom gruplarına göre beklenen ve gözlenen KKD düzeyleri.



Şekil 3.4 Araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası ile kontrol grubu bireylerinde kromozom çifti ve kromozom gruplarına göre beklenen ve gözlenen KKD düzeyleri.

Çizelge 3.16. Araştırma ve kontrol grubu olgularında cinsiyete göre ortalama KKD düzeylerinin dağılımı.

Çalışma Grupları	İncelenen		KKD / Metafaz plağı			
	Hücre Sayısı	Ortalama Yaş	Tedavi Öncesi		Tedavi Sonrası	
			KKD Say.	X ± SH	KKD Say	X ± SH
Arşt.Grb. Kadınlar	100	45.80 ± 8.91	1155	11.76 ± 0.30	1305	13.07 ± 0.44
Arşt.Grb. Erkekler	200	43.60 ± 4.68	2446	12.23 ± 0.17	2904	14.56 ± 0.34
Kont. Grb. Kadın.	140	40.86 ± 5.48	1098	7.84 ± 0.08		
Kont. Grb. Erkek.	160	43.88 ± 40.15	1262	7.89 ± 0.09		

Arşt. Grb. Kadınlar Ted. Önc. - Ted. Son.	t = 5.96	SD = 12	p < 0.001***
Arşt. Grb. Kadınlar Ted. Önc. - Kontrol Kadınlar	t = 14.72	SD = 10	p < 0.001***
Arşt. Grb. Kadınlar Ted. Son. - Kontrol Kadınlar	t = 13.88	SD = 10	p < 0.001***
Arşt. Grb. Erkekler Ted. Önc. - Ted. Son.	t = 9.42	SD = 9	p < 0.001***
Arşt. Grb. Erkekler Ted. Önc. - Kontrol Erkekler	t = 20.94	SD = 16	p < 0.001***
Arşt. Grb. Erkekler Ted. Son. - Kontrol Erkekler	t = 16.99	SD = 16	p < 0.001***
Arşt.Grb.Kad.Ted.Önc.-Arşt. Grb.Ted.Önc.Erk.	t = 1.47	SD = 13	p > 0.05
Arşt.Grb.Kad.Ted.Son.-Arşt. Grb Ted.Son.Erk.	t = 2.54	SD = 13	p < 0.05*
Kontrol Grubu Kadın -Kontrol Grubu Erkek	t = 1.01	SD = 13	p > 0.05

TARTIŞMA

Akut lösemilere ilişkin bulgularımız Bulgular bölümünde izlenen sıraya göre tartışılacaktır. Buna göre önce kromozom düzensizliklerine ilişkin bulgular daha sonra da KKD düzeylerine ilişkin veriler gözden geçirilecektir.

Sitogenetik çalışmaların ilerlemesi ile çoğu kanser ve lösemi türlerine özgü, özel kromozom anomalileri saptanmaya çalışılmaktadır. İlk olarak KML'ye özgü Philadelphia kromozomu 1960 yılında Nowel ve Hungerford tarafından saptanmıştır (52). Daha sonra 1973 yılında Rowley tarafından ANLL - M2 tipinde (8;21) translokasyonu tanımlanmıştır (52). Yine ANLL - M3 tipine özgü [t (15;17)] translokasyonunu da Rowley ve arkadaşları yaptıkları bir başka çalışmada tanımlamışlardır (52). GTG ve HRB gibi yüksek rezolasyonlu bantlama tekniklerinin bulunması ile saptanan kromozom düzensizliğinin oranı artarken akut lösemi tiplerine özgü kromozom düzensizliklerinden başka düzensizlikler de saptanmaktadır (5, 7, 11, 13, 19, 21, 22, 24, 35, 36, 38, 40, 48, 55, 56, 57, 78, 82).

Çizelge 3.1 de de görüldüğü üzere araştırma grubumuz içerisinde yer alan olgulardan üç tanesi ANLL - M2 tipinde olup, bunlardan ilkinde 3q delesyonu [46,XX, del (3) (q25)] saptanırken ikincisinde 2q delesyonu [46,XY, del (2) (q12q14)] ve üçüncüsünde ise marker kromozom ve inversiyon [46,XY,-7,+mar / 46,XY, inv (16)(pq)] gözlemlendi. Buna karşılık Fujishita ve arkadaşları 1988 yılında yaptıkları çalışmada ANLL-M2 tanılı bir olguda 4. kromozom trizomisi [47,XX,+4] gözlemişlerdir. (11). Diğer taraftan Brothman ve arkadaşları 1990 yılında ANLL - M2 tanılı yenidoğan bir bebekte [47,XY,+21/48,XY,+21,+i(21q)/48,XY,+21,+21] karyotipi bildirirken (13), Najfeld ve arkadaşlarınca 1990 yılında yapılan bir çalışma sonucunda ANLL - M2 tanılı iki olgunun ilkinde [46,XY,del (2)(p23),t (8;21)(q22;q22)] karyotipi, ikincisinde ise [46,XY, del (2) (p23)] kromozom düzensizliği bildirilmiştir (48). Yine bu alanda Stejskalova ve arkadaşlarının 1990 yılında yaptıkları bir çalışmada ANLL - M2 tanılı bir kız çocuğunda (6;9) translokasyonu [46, XX, t (6;9) (p23;q24)] bulunmuştur (74,75). Diğer taraftan Kaneko ve arkadaşlarınca 1982 yılında incelenen 26 ANLL tanılı

olgunun 8 tanesi ANLL - M2 tipinde olup , bu olgularda saptadıkları karyotipler ilkinde [46, XX , t (11;19) (q23 ; p13 veya q13)] şeklinde iken, ikincisinde [46, XX, t (4;10) (q31;q22) , t (6;9) (p23;q34)] şeklinde ve üçüncü olguda ise [47,XY, +19, del (9) (q22)] şeklinde gözlenmiştir. Dördüncü olguda ise translokasyon tipi düzensizliğin yanısıra Y kromozomu monozomisi [46,X,-Y,t (8;21)(q22;q22)+der (11) t (11;12)(p11;q13) / 45,X,-Y,t (8;21)] , beşinci olguda ring kromozom ve 4. kromozom ile 19. kromozom trizomisi belirlenirken [49,XY,+4,+19, +r (7) (p15? q32?) / 48, XY, +4, +19] , buna karşın altıncı olguda translokasyon tipi düzensizlikle birlikte X kromozomu monozomisi [45,X,-X,t (8;21)(q22;q22) / 46, XX, t (8;21)], yedinci olguda da aynı düzensizlik [46,XX, t (8;21) (q22;q22) / 45, X, -X, t (8;21)] bulunmuştur. Son olguda ise translokasyon tipi düzensizliğin yanısıra monozomi ve trizomi tipi sayısal kromozom düzensizlikleri de [47, XY, -7, -8, +3, t (7q;8q) (cen;cen)] saptanmıştır (41).

Diğer taraftan çalışmamızdaki olgularda yer alan üç tanesi M3 tipine uygunluk göstermekteydi. Bu olgulardan ilkinde normal karyotip (46, XX) saptanırken ikincisinde [44, XY, -14, -19, t (7;8) (q22;p11)] karyotipi ve üçüncüsünde ise [43, XY, -19,t (13q22q) , t (21q22q)] şeklinde iki translokasyon birlikte bulundu. Öte yandan Russell ve arkadaşları 1988 yılında yaptıkları çalışmada ANLL - M3 tanılı bir olguda ring kromozomu yer alan [46, XY, r (6) / 46, XY, r (6) , i (17q-)] bir karyotipi bildirmişlerdir (63). Yine Kaneko ve arkadaşlarının 1982 yılında inceledikleri 26 ANLL olgudan üç tanesi ANLL - M3 tanısına uymaktaydı. Bu olguların ilkinde mozaik bir karyotip [46, XY, t (15;17) (q22-25;q12-22) / 46, XY,- 21, t (15;17) , +der (21), t (21;?)(p11;?)/46,XY,del (4) (q22) , t (15;17)] gözlenirken, ikincisinde [46,XY,t(15;17) (q22 - 25 ; q12 - 22)] şeklinde ve üçüncüsünde ise yine [45,X -Y, t (15;17) (q22 - 25;q12 - 22)] şeklinde düzensizlik bildirilmiştir (41).

Çalışmamızda yer alan olgulardan iki tanesi ANLL - M4 tanılı idi. Bunlardan ilkinde translokasyon ve minute kromozom [46, XX, +19 t (15;22) (q26;q11) / 46,XX,+19,-22, min]] gözlenirken ikincisinde inversiyon [46,XX, inv (3) (p11;q22) / 47, XX, +del (22) (q11)] bulundu. Öte yandan Peters ve arkadaşları 1990 yılında yayınladıkları iki ANLL - M4 tanılı olguda iki yeni translokasyon tipi bildirmişlerdir. Bunlar [45, X, -Y, t (3;21) (q26 -q27;q22)] ve [46, XX, t (15;21) (q21 - q22;q22)]

şeklinde (56). Yine Green ve arkadaşları tarafından ANLL - M4 tanılı bir olguda yaptıkları çalışma sonucu [46, XY, t (2;14) (q23;q32.3)] karyotipini belirlemişlerdir (19). Ayrıca Tuerlings ve arkadaşları 1990 yılında ANLL - M4 tanılı bir olguda [46,XX,del (8) (q22)] tespit etmişlerdir (81). Thompson ve arkadaşlarının 1989 yılında dördüncü kromozom trizomisi saptadıkları dört olgunun ikisinin ANLL - M4 tipinde olduğu bildirilmektedir. Saptanan karyotipler ilk olguda [46, X, -Y, +4] şeklinde iken ikincisinde [47, XY, +4] şeklindedir (78).

Diğer taraftan araştırma grubu içinde ANLL - M5 tipine uygunluk gösteren dört olgu yer almakta olup, bunlardan bir tanesi M5, bir tanesi M5a ve iki tanesi de M5b tipine uymaktaydı. Bu olgulardan M5 tipinde olanda onüçüncü kromozomun uzun kolunda artış [46, XY, 13q+], M5b tipine uygunluk gösterenlerden ilkinde trizomi 21 [47, XX, +21] ve ikincisinde ise translokasyon tipi düzensizlik [45, XY, -19, t (10;14) (q23;q23)] gözlemlendi. Öte yandan Becher ve arkadaşları 1988 yılında ANLL - M5a tipinde olan üç olguda translokasyon tipi düzensizlik gözlemişlerdir. Bunlardan ilkinde [49,XY,+1,+8,+13, del (1) (p22), del (3) (p25), t (8;16) (p11;p13), 17p+] şeklinde bir karyotip gözlenirken ikinci ve üçüncü olguda [46, XX, t (8;16) (p11;p13)] şeklinde aynı düzensizliği saptamışlardır (7). Yine Niiya ve arkadaşlarınca 1989 yılında M5a tipinde olan bir olguda 11. kromozomda izokromozom tipi düzensizlik [47,XY,+i(11q)] bildirmişlerdir (49). Bu çalışmalara paralel olarak Kaneko ve arkadaşları ANLL - M5 tipinde olan 6 olguda inversiyon, delesyon ve translokasyon tipi yapısal düzensizlik örnekleri bildirmişlerdir. İncelenen bu altı olgudan ilkinde insersiyon tipi yapısal ve trizomi tipi sayısal kromozom düzensizliği belirlenirken [46,XX,dir ins(10;11)(p11;q23q24?) / 52,XX,+4,+8,+12,+16,+19,+20, dir ins(10;11)] ikinci olguda trizomi delesyon ve duplikasyon tipi kromozomal anomaliler [51, XX, +3, +6, +9, +19, -10, del (1) (p22), + del (1) (p22), dup (11) (q11q21), +der (10) t (10;?) (p13;?) / 52, XX, same, +18], dördüncü olguda 8. ve 9. kromozom trizomisi [46, XY, +8, +9], beşinci olguda trizomi ve monozomi gibi sayısal anomaliler ile marker kromozom birlikte [47,XY,+13,-3,1p+q+,2p+,4q+,abn (11),+mar (E16,sm)] ve altıncı olguda ise monozomi, inversiyon, delesyon gibi düzensizlikler ile marker kromozomlar saptanmıştır [46, -X, Y, -1, -7, -8, -14, -15, -17, -20, inv (6) (p23q13), del (11) (q23), +der(X) t (X;?) (p11;?), +der (1) t (1;?) (p24;?), + der (12) t (12;?) (q22;?), +der (17) t (17;?) (p11;?), + mar1 (C8,sm), + mar 2 (E16,sm), + mar 3 (F,t),

+mar 4 (G,sm)], [49,XX, +4, +8, t (9;11) (p22;q23)] (41).

Çalışmamızda araştırma grubunu oluşturan olgulardan bir tanesi alt tipi belirlenemiyen ANLL tanılı olguydu. Bu olguda onyedinci kromozom monozomisi ile marker ve minute kromozom [46, XY, -17, +mar, min] gözlemlendi. Iurlo ve arkadaşları 1989 yılında yaptıkları bir çalışmada alt tipi belirlenemiyen üç olgu bildirmişler ve bu olgulardan bir tanesinde 17. kromozom monozomisi ile marker kromozom saptanırken [47, XX, -3, -17, +mar 1, +mar 2, +mar 3 / 46, XX, -3, -17, -11, +mar1,mar2,+mar4], diğer iki olgudan ilkinde yedinci kromozom monozomisi [45, XY, -7] ve diğerinde ise normal karyotip [46, XX] saptanmıştır (34).

Araştırma grubunda yer alan 15 olgudan biri IIIB evresinde Hodgkin's hastalığı olan bir olgu idi. Bu olguda 8. ve 19. kromozomlar arasında translokasyon tipi düzensizlik [46, XY, t (8;19) (q24;q13)] gözlemlendi. Diğer taraftan Tilly ve arkadaşlarının 1991 yılında Hodgkin's hastalığı olan 60 olgudan 8 tanesi IIIB evresinde olup yaptıkları sitogenetik çalışma sonucunda iki tanesinde [46, XY] ve [46, XX] şeklinde normal karyotip gözlenirken, 5 tanesinde sayısal düzensizlik ve translokasyon, delesyon tipi yapısal düzensizlik saptanmıştır. Bunlardan ilkinde trizomi ve monozomi gibi sayısal düzensizliklerin yanısıra delesyon gibi yapısal tip kromozom düzensizliği saptanırken [46, XY, +8, +9, -11, -16, t (2;?) (p25;?), del (6) (q16q25)], ikinci olguda trizomi, delesyon, inversiyon ve translokasyon tipi düzensizlikler belirlenmiştir [67, XY, +X, +2, +2, +3, +3,+4, +5, +7, +8, +11, +12, +16, +18, +20, +21, +22, del(1) (q41), inv (2) (p14q21), t (3;9) (p12;p11), t (3;?) (q25;?), t (4;?) (p16;?), del (5) (q13q21), t (7;?) (q11;?), del (8) (q12q21), t (9;?) (p24;?), t (12;12) (q11; q21), der (14) t (14;?) (q32;?), +der (14) t (14;?) (q32;?), t (15;?) (p11;?), t (17;17) (q22;q25), +4 mar] buna karşın üçüncü olguda ise trizomi ve monozomi tipi sayısal kromozom düzensizlikleri yanısıra delesyon, translokasyon ve marker tipi yapısal kromozom düzensizlikleri de belirlenmiştir [71, X, +X, -Y, +1, +2, +3, +4, +5, +8,+10, +12, +16, +17, +18, +18, +19, +20, +20, -21, del (3) (q26q28), + del (3) (q26q28), del (6) (q21q24), t (12;?) (p12;?), t (13;?) (p11;?), t (19;?) (p12;?), +9 mar].Diğer taraftan dördüncü olguda, üçüncü olguda gözlenen monozomi, trizomi, delesyon, translokasyon, duplikasyon ve marker tipi kromozom düzensizliklerinin yanısıra izokromozom tipi düzensizlikte [66, XX, +1, +2, +3, +3, +4, +5, +7, +7, +9, +12, +12, +16, +17, +18, +20, -21, -22, - 22, dup (1) (q25 -->q41), t (2;?) (p25;?), t (3;?) (p21;?), del (7) (q22), dup (7) (q22 -->q31 - 32), der (7) t (7;?) (q35;?),

+ der (7) t (7 ; ?) (q35 ; ?) , t (8 ; ?) (p23 ; ?) , t (8 ; ?) (q24 ; ?) , t (9 ; ?) (p21 ; ?) , t (9 ; ?) (q31 ; ?) , t (12 ; ?) (p12 ; ?) , t (13 ; 14) (p11 ; q11) , i (17q) , i (21q) , +7 mar] saptanmıştır .Beşinci olguda ise delesyon, translokasyon ve marker tipi yapısal kromozom düzensizliklerinin yanısıra hiperploidi tipi sayısal düzensizlik [81, XY, +Y, +1, +2, +2, +3, +4, +4, +5, +5, +6, +6, +6, +8, +9, +9, +10, +10, +11, +12, +12, +13, +13, +15, +16, +16, +16, +17, +18, +19, +20, +20, +21, +21, del (6)(q15q24), del (7) (q21) , t (9 ; ?) (p21 ; ?) , t (10 ; 18) (p14 ; q12) , t (13 ; 15) (p11 ; q11) , t (14 ; 14) (p11 ; q12) , del (14) (q24) , + 2 mar] belirlenmiştir ve Hodgkin's hastalığı IIIB everesinde olan bir olguda ise metafaz plağı elde edilememiştir (79) .

Yukarıda verilen çalışmada yer alan araştırma grubunu oluşturan olgulardan sonuncusu ALL - L2 tanılı idi.Bu olguda yapılan kromozom analizinde normal karyotip (46, XX) saptanırken Sessarego ve arkadaşları (1990) tarafından yapılan bir çalışmada aynı tanılı bir olguda [46, XX, t (9 ; 22) (q34 ; q11)] karyotipi belirlenmiştir (68) .Yine Crist ve arkadaşlarının (1990) ALL tanılı olgularda yaptıkları çalışmada L2 tipinde olanlarda Ph⁺ gözlemişlerdir. İlk olguda bu düzensizliğin yanısıra delesyon ve translokasyon [47, XY, del (9) (p13) , t (9 ; 22) (q34 ; q11) , + Ph] , ikinci olguda delesyon [46, XY, del (22) (q11)] belirlenirken üçüncü olguda ise yapısal düzensizliklerin yanısıra sayısal düzensizlik [55, XY, +X, +2+4, +6, +9, +18, +21, +21, (9 ; 22) (q34 ; q11) +Ph, + mar] de belirlenmiştir Son olguda ise yalnızca translokasyon tipi yapısal kromozom düzensizliği [46, XX, t (21 ; 22) (p21 ; q11)] saptanmıştır (20) .

Rowley'in 1989 yılında bildirdiğine göre akut lösemi tanılı olgulardan ANLL - M2 nin karakteristik bulgusu olan t (8 ; 21) (q22 ; q22) düzensizliği, bu olguların % 18 kadarında M3 tipine uyan olguların karakteristik bulgusu olan (15 ; 17) translokasyonu ise bu olguların % 60 - 100'de görülmektedir. Yine M4 tipine uyan olguların karakteristik bulgusu olan ve onaltıncı kromozomda gözlenen inversiyon tipi düzensizlik olguların yaklaşık olarak tümünde (%100) görülürken, M5 tipine uyan olguların karakteristik bulgusu olan (9 ; 11) translokasyonu olguların yaklaşık % 35 kadarında görülmektedir. Ayrıca ANLL'li olgularda % 2 oranında inv (3) , % 2 oranında (6 ; 9) translokasyonu, % 13 oranında 8 trizomisi, % 9 oranında 7. kromozom monozomisi ve % 5 oranında ise 20. kromozom delesyonu gibi düzensizlikleri görülebilmektedir (62) .

Yine Berger ve arkadaşları (1987) 519 yeni oluşan ANLL tanılı olguda yaptıkları sitogenetik çalışma sonunda olguların % 15.2 kadarında (8;21) translokasyonu, % 15.2 kadarında (15;17) translokasyonu, % 5.3 kadarında 16. kromozomda inversiyon ve / veya del (16q), % 1 kadarında 21 trizomisi, % 1 kadarında (9;22) translokasyonu ve % 0.4 de (6;9) translokasyonu saptarken % 44.3 kadarında diğer bazı anomaliler saptamışlardır. Yine M2'li çocuklarda t (8;21) % 72.7 oranında gözlenirken yetişkin M2'li olgularda aynı düzensizlik % 23.2 oranında saptanmıştır (10). ANLL'li çocuklarda saptanan anomali insidansı (% 65.5) nın yetişkinlerden (% 50.4) daha yüksek olduğu saptanmıştır (10).

Araştırmamızda kromatid tipi kırık, kromozom tipi kırık ve asentrik kromozom gibi diğer yapısal kromozom düzensizlikleri de incelendi. Bu incelemenin sonunda çizelge 3.2a ve çizelge 3.2b ile şekil 3.1 de verildiği üzere araştırma grubunu oluşturan olgularda en çok rastlanan düzensizlik kromatid tipi kırık olurken, ikinci sırayı asentrik kromozom ve en az da kromozom tipi kırık yer aldı.

Araştırma grubunu oluşturan olgularda kromatid tipi kırıkların hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrası dönemde kontrol grubuna göre önemli derecede arttığı ($p < 0.001^{***}$), yine araştırma grubu olgularında aynı düzensizliğin tedavi sonrası dönemde de tedavi öncesi döneme göre önemli derecede arttığı ($p < 0.001^{***}$) ortaya kondu.

Diğer taraftan araştırma grubu olgularında asentrik kromozom düzensizliği yönünden de hem tedavi öncesi dönem ile kontrol grubu arasında ($p < 0.05^*$), hem de tedavi sonrası dönem ile kontrol grubu arasında bir farklılık olduğu saptandı ($p < 0.001^{***}$). Buna göre hem tedavi öncesi dönemde hem de tedavi sonrası dönemde kontrol grubuna göre asentrik kromozom sayısında bir artış gözlemlendi. Ayrıca aynı düzensizlik açısından araştırma grubunu oluşturan bireylerde tedavi öncesi dönem ile tedavi sonrası dönem arasında da istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılık olduğu belirlendi ($p < 0.05^*$).

Yine 3.2b ve şekil 3.1 de görüldüğü üzere araştırma grubunu oluşturan olgularda kromozom tipi kırıkların da hem tedavi öncesi dönemde kontrol grubu bireyelerine göre ($p < 0.01^{**}$), hem de tedavi sonrası dönemde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak

önemli düzeyde bir farklılık olduğu saptandı ($p < 0.001^{***}$). Öte yandan aynı düzensizlik açısından araştırma grubunu oluşturan bireylerde tedavi öncesi dönem ile tedavi sonrası dönemde elde edilen bulgular arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık olduğu gözlemlendi ($p < 0.05^*$). Çalışmamıza ilişkin bu bulgular literatürde aynı yönde başka bir araştırmaya rastlanamadığından karşılaştırma yapılamadı. Bulgularımız tartışmaya açıktır.

Karsinojen olduğu bilinen çoğu kimyasal ve fiziksel maddelerin KKD düzeyi üzerine etkileri araştırılmış ve bu maddelerin kromozomal düzensizlikler yapamıyacak kadar küçük dozlar ile bile KKD sıklığını önemli düzeyde arttırdığı bildirilmiştir. Yine karsinojenik ajanlarda KKD düzeyinin yüksek, karsinojenik olmayan ajanlarda KKD düzeyinin normal sınırlarda bulunması ve malignite gelişim oranının yüksek olduğu bilinen bir takım hastalık grubunda KKD değerinin yüksek olarak bulunmasından KKD analizi, kimyasal ve fiziksel ajanların karsinojenik potansiyellerini göstermede çok hassas bir ölçüt olarak kabul edilmiştir (64). KKD nin mutajen ve karsinojenik ajanlar için duyarlı bir test olduğunun anlaşılmasından sonra pek çok araştırmacı bu yöntemi uygulayarak tedavi öncesi dönemde akut lösemilerde ve farklı kanser türlerinde ve bu hastalıklar için tedavi amacıyla uygulanan kemoterapi ve radyoterapi kullananlarda ve sigara kullanan bireylerde KKD düzeylerini incelemişlerdir.

Araştırmamızın ikinci bölümünde akut lösemili olgularda tedavi öncesi dönemde ve tedaviden 20 gün sonra KKD düzeyleri araştırıldı. Araştırma grubunu oluşturan toplam 15 olgunun incelenmesi sonucu, bu olguların tedavi öncesi dönemde ortalama KKD düzeyleri 12.07 ± 0.15 iken tedavi sonrası dönemde 14.04 ± 0.32 olarak bulundu. Aynı değer kontrol grubunda 7.87 ± 0.60 olduğu gözlemlendi. Bu verilere göre araştırma grubu olgularında tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemde saptanan KKD değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu ve istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılık saptandı ($p < 0.001^{***}$). Yine araştırma grubu olgularında tedavi sonrası dönemde tedavi öncesi döneme oranla KKD düzeyi yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya kondu. ($p < 0.001^{***}$).

Yine çalışmamızda yer alan araştırma grubu olgularında kemoterapi öncesi gözlenen KKD sıklığının değişim genişliği 4 - 24 iken, kemoterapi sonrası 7 - 28 olarak saptandı. Bu değişim genişliği kontrol grubu bireylerinde ise 2 - 18 olarak belirlendi.

Diğer taraftan araştırma grubu olgularında yer alan tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemde saptanan KKD düzeyleri bakımından kromozom çift ve grupları açısından önemli bir farklılığın olmadığı gözlemlendi. Ancak C grubu kromozomlarda KKD düzeyi tedavi öncesi dönem ile tedavi sonrası dönemde beklenenden daha fazla bulunurken kontrol grubunda beklenenden daha düşük saptandı. Öte yandan araştırma grubunda yer alan kadınlarla erkeklere ilişkin yapılan değerlendirmelerde bu iki grup arasında tedavi öncesi dönemde KKD düzeyleri açısından önemli bir fark gözlenmez iken ($p > 0.05$), yine aynı grup içerisinde yer alan tedavi sonrası kadınlarla erkeklere ilişkin yapılan değerlendirmeler arasında ise farklılık gözlemlendi ($p < 0.05$). Kontrol grubu içerisinde yer alan kadınlarla erkeklere ilişkin yapılan değerlendirmeler sonucunda ise istatistiksel bir farklılığın olmadığı gözlemlendi ($p > 0.05$).

Otter ve arkadaşları (1979) yeni teşhis edilen 16 ALL tanılı olgunun periferik kanından yaptıkları KKD düzeyi araştırmasında, ortalama KKD düzeyini 12.2 ± 0.2 olarak, kontrol grubu bireylerde aynı değer 7.6 ± 0.2 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre yeni tanı konan ALL'li olgularda saptanan KKD düzeyinin kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$). Diğer taraftan 6-merkaptopurine (6 - MP) ve haftada bir MTX tedavisi uygulanan beş olguda remisyon döneminde KKD değerinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0.005$). Buna ek olarak uzun süre yaşayan yedi ALL'li olguda saptanan KKD değeri kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0.005$). Öte yandan en az sekiz ay kemoterapi almayan olgularda ise saptanan KKD değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı saptanmamıştır ($p > 0.1$). Yine bu çalışmada gözlenen KKD sıklığının değişim genişliği ALL'li olgularda 2 - 28 arasında iken kontrol grubu bireylerde 1 - 20 olarak gözlemlenmiştir (53, 64).

Schwartz ve arkadaşlarının (1989) yeni oluşan ANLL 'li ve tedavi sonrası gelişen ANLL'li (t - ANLL) ve Hodgkin's hastalığı (HD) ve non - Hodgkin's lenfomalı (NHL) olgularda yaptıkları KKD düzeyi araştırması sonucunda saptanan ortalama KKD değerleri t - ANLL'li olgularda 9.3 ± 1.0 iken yeni oluşan ANLL'li olgularda 9.9 ± 1.2 ve NHL 'li olgularda 11.7 ± 1.2 , kontrol grubu bireylerinde ise 9.3 ± 0.9 olarak bildirilmektedir. Diğer taraftan tedavi boyunca ise saptanan ortalama KKD değerleri tANLL'li olgularda 6.6 ± 2.2 , ANLL'li olgularda 17.8 iken NHL'li olgularda 13.8 ± 0.9 olarak saptanmıştır (65).

Raposa ve arkadaşları 1987 yılında yaptıkları çalışmada melphalan, cyclophosphamide (CP), CP + VCR + 5 - FU, COPP tedavisinin KKD değerini uzun süre arttırırken, C - ARA, hydroxyurea, MTX, vincristine (VCR), azathioprine, 5 - FU ve actinomycin D nin ise KKD değerini arttırmadığını saptamışlardır (61).

Diğer taraftan Brown ve arkadaşları 1986 yılında Hodgkin's hastalığı olan 28 olguda tedavi öncesi, tedavi boyunca (MVPP = mustine - vinblastine - prednisolone - procarbazine) ve tedaviden 2 - 13 yıl sonra KKD analizi çalışması yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda tedavi öncesi KKD değeri 9.2 ± 0.7 olarak saptanırken, 20 hafta sonra KKD düzeyinin pik yaptığı, tedavi sonrası ise 8.9 ± 0.3 değerinde olduğu saptanmıştır. Aynı değer kontrol grubunda ise 10.1 ± 0.4 olarak bulunmuştur. Tedavi sonrası dönem ile tedavi öncesi dönem arasında önemli bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir (15).

SONUÇLAR

Akut lösemi tanılı olgularda kromozom ve KKD düzeylerinin belirlenmesi amacı ile yapılan bu çalışmada aşağıda verilen sonuçlara ulaşılmıştır.

a) Araştırma grubunda yer alan 14 tanesi akut lösemi ve biri Hodgkin's hastalığı olan toplam 15 olguda yapılan kromozom analizi sonucunda

i) ANLL - M2 tipinde olanların ilkinde [46, XY, del (3) (q25)] karyotipi , ikincisinde [46, XY, del (2) (q12q14)] saptanırken, üçüncüsünde ise. [46,XY, -7, mar / 46, XY, inv (16) (pq)] karyotipi belirlendi.

ii) Yine ANLL - M3 tipinde olan üç olgudan ilkinde normal karyotip [46,XX], ikincisinde [44, XY, -14, -19, t (7;8) (q22;p11)] ve üçüncüsünde ise translokasyon tipi düzensizlik [43, XY, -19, t (13q22q), t (21q22q)] saptandı.

iii) Araştırma grubundaki olgulardan iki tanesi ANLL - M4 tipinde olup ilkinde translokasyon [46, XX, +19, t (15;22) (q26;q11) / 46, XX, +19, -22,min)] gözlenirken ikinci olguda inversiyon tipi düzensizlik [46,XX,inv(3)(p11;q22)/47,XX,+del (22) (q11)] gözlendi.

iv) Yine araştırma grubunu oluşturan olgulardan dört tanesi ANLL - M5 tipinde idi. Bu olgulardan ilkinde 13. kromozomun uzun kolunda artış [46,XY,13q+] saptandı. Bu grubun diğer üç olgusundan ilki M5a tipinde olup 20. kromozom monozomisi [45, XY, -20] gözlenirken geri kalan iki tanesi M5b tipinde olup ilkinde [47, XX, +21] ve ikincisinde ise translokasyon tipi düzensizlik belirlendi [45, XY, -19, t (10;14) (q23;q23)].

v) Araştırmamızda yer alan son üç olgudan biri alt tipi belirlenemiyen ANLL tipinde, bir tanesi ALL - L2 ve sonuncusu da Hodgkin hastalığı tanılı idi. Bunlardan ilkinde 17. kromozom monozomisi ve minute kromozom [46, XY, -17, + mar, min.], ikincisinde normal karyotip [46, XX] ve sonuncusunda da translokasyon tipi düzensizlik [46, XY, t (8;19) (q24;q13)] saptandı.

b) Yine bu olgularda yapılan kromatid tipi kırık, asentrik kromozom ve kromozom tipi kırık düzensizliği yönünden değerlendirme sonucunda her üç düzensizlik yönünden araştırma grubunda kontrol grubuna göre artış olduğu belirlendi (p <0.001***) Yine araştırma grubu olgularında tedavi sonrası dönemde tedavi öncesi dönemine göre

aynı düzensizlikler açısından önemli düzeyde artış olduğu belirlendi ($p < 0.01^{**}$).

c) Diğer taraftan incelenen KKD düzeylerinin değerlendirilmesi sonucunda araştırma grubu olgularında kemoterapi öncesi ortalama KKD değeri 12.07 ± 0.15 ve kemoterapi sonrası 14.04 ± 0.32 iken, kontrol grubunda aynı değer ise 7.87 ± 0.60 olarak saptandı. Araştırma grubu olguları ile kontrol grubu olguları arasında ve yine araştırma grubu olgularında kemoterapi öncesi ve kemoterapi sonrası dönem arasında KKD düzeyleri incelendi. Sonuçta araştırma grubu olgularında kontrol grubuna göre; ve yine araştırma grubunda kemoterapi sonrası dönemde kemoterapi öncesine göre KKD düzeylerinde önemli derecede artış ($p < 0.001^{***}$) belirlendi.

Yapılan bu çalışma sonucunda akut lösemi tanılı olgularda literatürde yer alan düzensizliklerin dışında farklı bazı kromozom düzensizliklerinin de bulunabileceği, KKD düzeylerinin sağlıklı kişilere oranla yüksek olduğu ve yine bu olgularda KKD düzeylerinin kemoterapi sonrası dönemde kemoterapi öncesi döneme göre artış gösterdiği, bunun sonucu olarak kemoterapide kullanılan antikanserojen ilaçların KKD düzeylerini önemli düzeyde arttırdığı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Aksoy, M.: Akut lösemileride içeren malignitelerin oluşumunda bazı kimyasal maddelerin rolleri. Doğa Tıp ve Eczacılık, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, 3: 190 - 197, 1988.
2. Albayrak, A.: Hematopoetik Sistemin Neoplastik Hastalıkları. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum, 1983.
3. Alberts, B., Bray, D., Levis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, D.: Molecular Biology of the cell. New Yorc, 218, 1989.
4. Arrighi, F., Rao, P.N., Stubblefield, E.: Genes, Chromosomes, and Neoplasia. Raven Press. New Yorc, 1980.
5. Barbata, G., Carbone, P., Mirto, S., Santoro, A., Giglio, M.C., and Granata, G.: Translocation t (8;16) (p11;p13) in Acute Nonlymphoblastic Leukemia (M4) Possibly Secondary to Hodgkin's Disease. Cancer Genet Cytogenet., 37: 127 - 131, 1989.
6. Başaran, N.: Tıbbi Genetik. Bilim Teknik Yayınevi. 3. Baskı. İstanbul, 1985.
7. Becher, R., Hass, O.A., Graeven, U., Bettelheim, P., Ambros, P., Fridrick, M., Shaefer, U.W., Schmidt, C.G.: Translocation t (8;16) in Acute Monocytic Leukemia. Cancer Genet Cytogenet., 34 : 265 - 271, 1988.
8. Becher, R., Qiv, J.Y., Parr, A., Wendehorst, E., and Schmidt, C.G.: Seven Variants Including Four New Philadelphia Translocations. Cancer Genet Cytogenet., 44: 181 - 186, 1990.
9. Berger, R., Coniat, M.L., Vecchione, D., Derre, J., and Chen, S.J.: Cytogenetic Studies of 44 T - cell Acute Lymphoblastic Leukemias. Cancer Genet Cytogenet., 44: 69 - 75, 1990.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

10. Berger, R., Flandrin, G., Bernheim, A., Coniat, M.L., Vecchiona, D., Pacot, A., Derre, J., Daniel, M.T., Velensi, F.: Cytogenetic Studies on 519 Consecutive De Novo Acute Nonlymphocytic leukemias. *Cancer Genet Cytogenet.*, 29 : 9 - 21. 1987.
11. Bingöl, G.: Biyokimya. Hacettepe - Taş Kitapçılık Ltd. Şti. Yayını, 4. Baskı, 259 - 263, 1983.
12. Bjergaard, J.P. and Philip, P.: Cytogenetic characteristics of therapy - related acute nonlymphocytic leukemia, preleucemia and acute myeloproliferative syndrome : correlation with clinical data for 61 consecutive cases. *British Journal of Haematology*, 66 : 199 - 207, 1987.
13. Brothman, A.R., Ghosn, C., and Werner, E.: Pentosomy 21q in a Neonatal Case of Acute Myeloblastic Leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.*, 47 : 135 - 137, 1990.
14. Brown, T., Dawson, A.A., Bennet, B., and Moore, N.R.: The Effects of Four Drug Regimens on Sister Chromatid Exchange Frequency in Patients with Lymphomas. *Cancer Genet Cytogenet.*, 36 : 89 -102, 1988.
15. Brown, T., Dawson, A.A., King, D.J., Bullock, I., and Watt, J.L.: Variation of SCE Frequency in Lymphocyte Cultures from Patients with Hodgkin's Disease Before, During and After Treatment. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 20 : 53 - 61, 1986.
16. Clare, M.G., Blain, E.A., and Taylor, S.H.: Sister Chromatid Exchanges in Human Lymphocytes Treated with Combinations of Cytotoxic Drugs. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 18 : 533 - 544, 1982.
17. Clare, M.G., Taylor, S.H., Blain, E., and Jones, W.G.: The Quantitation of Sister Chromatid Exchanges in Lymphocytes of Cancer Patients at Interval after Cytotoxic Chemotherapy. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 19 : 1509 - 1515, 1983.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

18. Cohen, F.L.: Clinical Genetics in Nursing Practice. J.B.Lippincott Company. Philadelphia. 285 - 302, 1984.
19. Columbano - Green, L.M., Romain, D.R., Carter, J., Crossen, P.E.: t (2;14) (q23;q32,3) as the Sole Abnormality in a Patient with Acute Nonlymphoblastic Leukemia (FAB - M4). Cancer Genet Cytogenet., 48 : 255 - 257, 1990.
20. Crist, W., Carrol, A., Shuster, J., Jackson, J., Head, D., Borowitz, M., Behm, F., Link, M., Steuber, P., Ragab, A., Hirt, A., Brock, B., Land, V., and Puller, J.: Philadelphia Chromosome Positive Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia : Clinical and Cytogenetic Characteristics and Treatment Outcome. A. Pediatric Oncology Group Study. Blood, 76 : 489 - 494, 1990.
21. Cuneo, B.A., Mecucci, C., Kerim, S., Vonderberghe, E., Cin, P.D., Orshoven, A.N., Rodhain, J., Bosly, A., Michaux, J.L., Martiat, P., Boogaerts, M., Carli, M.G., Castoldi, G., and Berghe, H.V.D.: Multipotent Stem Cell Involvement in Megakaryoblastic Leukemia: Cytologic and Cytogenetic Evidence in 15 Patients. Blood. 74 : 1781 - 1790, 1989.
22. Dallorso, S., Sessarego, M., Garre, M.Z., Haupt, R., Pasino, M., and Sansone, R.: Secondary Acute Promyelocytic Leukemia with t (8;21) and t (9;22) at Onset and Loss of the Philadelphia Chromosome at Relapse. Cancer Genet. Cytogenet., 47 : 41 - 46, 1990.
23. Dewald, G.W., Brecher, M., Travis, L.B., and Stupca, P.J.: Twentysix Patients with Hematologic Disorders and X Chromosome Abnormalities. Cancer Genet. Cytogenet., 42 : 173 - 185, 1989.
24. Duarte, M.H.O., Tone, L.G., Soares, L.R.M., and Santos, S.A.: Cytogenetic Study of a Case of Childhood Erythroleukemia. Cancer Genet. Cytogenet., 49 : 25 - 30, 1990.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

25. Einhorn, N., Eklund, G., Franzen, S., Lambert, B., Lindsten, L., and Söderhau, S.: Late Side Effects of Chemotherapy in Ovarian Carcinoma. *Cancer*, 49 : 2234 - 2241, 1982.
26. Emre, S., Nohutçu, R., Sakızlı, M.: Sister Chromatid Exchange in Cigarette Smokers and Non - smokers. *The Turkish Journal of Cancer*. 20 : 47 - 51. 1990.
27. Fırat, D., Akdaş. A., Atakan, I.A., Baltalı, E., Berk, Ö., Berkarda, B., Bilge, N., Büyükpamukçu, M., ve Çevik, N. (Çeviri): *Klinik Onkoloji. Dördüncü Baskı, Sağlık Bakanlığı Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Ortak Yayını*, 1990.
28. Fletcher, J.A., Kimball, V.M., Lynch, E., Donnelly, M., Pavelka, K., Gelbert, R.D., Tantravahi, R., and Sallan, S.E.: Prognostic Implication of Cytogenetic Studies in an Intensively Treated Group of Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*, 74: 2130 - 2135, 1989.
29. Français, G.: Acute Myelogenous Leukemia with an 8;21 Translokation. A Report an 148 Cases from the Groupe Français de Cytogenetique Hematologique. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 44 : 169 - 179, 1990.
- 30 Ghosh, R., and Ghosh, P.K.: The Effect of Tobacco Smoking on the Frequency of Sister Chromatid Exchanges in Human Lymphocyte Chromosomes. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 27 : 15 - 19, 1987.
31. Ghosh, P.K., and Ghosh, R.: Effect of Hyperthermia on the Frequency of Sister Chromatid Exchanges in Patients with Cancer of Cervix Uteri. *Mutation Research*, 208: 143 -147, 1988.
32. Hörnstein, P., Nordenson, I., and Wahlin, A.: Philadelphia Chromosome Negative Acute Lymphoblastic Leukemia Preceding Philadelphia Positive Chronic Myelogenous Leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 39 : 147 - 152, 1989.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

33. Inaba, T., Murakami, S., Oku, N., Hoh, K., Ura, Y., Nakanishi, S., Shimazaki, C., Nishio, A., Nakagava, M., Fujita, N., Nishigaki, H., Tanivaki, M., and Misawa, S.: Translocation Between Chromosomes 8q24 and 14q11 in T - cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 49 : 69 - 74, 1990.
34. Irlo, A., Mewcci, C., Orshoven, A.V., Michaux, J.L., Boogaerts, M., Noens, L., Bosly, A., Louwagie, A., and Berghe, H.V.D.: Cytogenetic and Clinical Investigations in 76 Cases with Therapy - Related Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 43 : 227 - 241, 1989.
35. Jacob, A.K., Strekantaak, C., Baer, M.R., and Sandberg, A.A.: Translocation (1;6) (p12;p23) in ANLL. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 45 : 67 - 71, 1990.
36. Jenkins, R.B., Tefferi, A., Solberg, L.A., and Dewald, G.W.: Acute Leukemia with Abnormal Thrombopoiesis and Inversions of Chromosome 3. Mayo Foundation, 39: 167 - 179, 1989.
37. Jensen, M.K., and Nyfors, A.: Cytogenetic effect of Methotrexate on human cells in vivo. *Mut. Res.*, 64: 339 -349, 1979.
38. Johanson, Bertil., Mertens, F., Heim, S., Kristoffersson, V., Mandahl. N., Nilsson, P. G., and Mitelman, F.: Cytogenetik Findings in Acute Megakaryoblastic Leukemia (ANLL - M₇). *Cancer Genet. Cytogenet.*, 48: 119 - 123, 1990.
39. Kadam, P.R., Advani, S.H., and Bhijey, A. N.: Studies on Sister Chromatid Exchanges in Patients with Hodgkin's Disease. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 22: 265 - 274, 1985.
40. Kadam, P. R., Balsara, B.R., Zafaraullah, K.Z., Dadabhoy, K. D., Bhisey, A. N., and Advani, S. H.: Cytogenetic Features of Erythroleukemia (EL). A Study of II Cases. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 50: 89 - 96, 1990.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

41. Kaneko, Y., Rowley, J. D., Mavrer, H. S., Variakojis, D., and Moohr, J.W.: Chromosome Pattern in Childhood Acute Nonlymphocytic Leukemia (ANLL). *Blood*, 60: 389 - 399, 1982.
42. Kayaalp, S.O.: Tıbbi Farmakoloji. Üçüncü Baskı, Ulucan Matbaası, Ankara, 282 - 939, 1984.
43. Malcolm, S.: Chromosome Rearrangements and Cancer. *Molecular Medicine*, 1: 79 -93, 1984
44. Mc. Diarmid, M. A., Strickland, P. T., Kolodner, K. Hansen, J., and Kram, D. S. Baseline and phosphoramidate mustard - induced sister - chromatid exchanges in cancer patients treated with cyclophosphamide. *Mut. Res.*, 241: 273 - 278, 1990.
45. Murphy, S. B., Raimondi, S. C., Rivera, G. K., Crone, M., Dodge, R.K., Behm, F.G., Pui, C - H., Williams, D.L.: Nonrandom Abnormalities of Chromosome 9p in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Association With High - Risk Clinical Features, *Blood*, 74: 409 - 415, 1989.
46. Murty, V.V.V.S., Mitra, A.B., Sharma, A., Das, B. C., and Luthra, V.K.: Mytomycin C induced chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges (SCE₂) in lymphocytes of patients with precancerous and cancerous lesions of the uterine cervix. neoplasia., 34: 101 - 105, 1987.
47. Muth, V.V.V.S., Mitra, A.B., Luthra, V. K., and Singh, I. P.: Sister chromatid exchanges in patients with precancerous and cancerous lesions of cervix uteri. *Hum.Genet.*, 72: 34 - 42,, 1986.
48. Najfeld, V., Scalise, A., Fruchtman, S., and Troy, k.: del (2)(P23): A New Recurrent Abnormality in Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 46: 185 - 190, 1990.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

49. Niiya, K., Iwahara, Y., Ishii, K., Takevchi, T., Taguchi, H., Ohtsuki, Y., and Miyoshi, I.: Isochromosome 11q in Acute Monoblastic Leukemia (M5a). *Cancer Genet. Cytogenet.*, 48: 61 - 65, 1990.
50. Ohyashiki, K., Ohyashiki, J. H., Hojo, H., Ohtaka, M., Toyama, K., Sugita, K., Nakazawa, S., Sugiura, K., Nakazawa, K., Nagasawa, T., Enomoto, Y., and Watanabe, Y.: Cytogenetic Findings in Adult Acute Leukemia and Myeloproliferative Disorders With an Involvement of Megakaryocyte Lineage. *Cancer*. 65: 940 - 948, 1990.
51. Olah, E., Balogh, E., Kovacs, I., and Kiss, A.: Abnormalities of Chromosome 1 in Relation to Human Malignant Diseases. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 43: 179 - 194, 1989.
52. Oski, F.A., Nathan, D. G.: Hematology of infancy and childhood. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1987.
53. Otter, M., Palmer, C. G., and Baehner, R.L.: Sister Chromatid Exchange in Lymphocytes from Patients With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hum. Genet.*, 52: 185 - 192, 1979.
54. Özalp, Ü.: Kimyasal Karsenojen Maddeler ve Moleküler ve Hücresel Etkinlikleri. *Acta Oncologica Turcica*, 21: 166 - 192, 1988.
55. Parry, S.H., Gibbons, B., Amess, J. A.: A Further Case of Acute Myelogenous Leukemia With Trisomy 4 and Double Minutes. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 39: 295 - 297, 1989.
56. Peters, G. B., Dale, B. M., Sage, R. E., and Ford, J. H.: Novel translocations in Acute Nonlymphocytic Leukemia. Two cases Involving Chromosome 21, band q 22. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 44: 99 - 105, 1990.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

57. Peterson, L. C., Parkin, J.L., Arthur, D. C., Brunning, R. D.: Acute Basophilic Leukemia, A Clinical, Morphologic, and Cytogenetic Study of Eight Cases. American Journal of Clinical Pathology. 2: 160 - 171, 1991.
58. Prieto, F., Badia, L., Beneyto, M., Sirvent, M.L.P., Orts. A., and Castel, V.: 11q23 Abnormalities in Children with Acute Nonlymphocytic Leukemia (M₄ - M₅). Cancer Genet. Cytogenet., 45: 1 - 11, 1990.
59. Raimondi, S.C., Peiper, S.C., Kitchingman, G.R., Behm, F. G., Williams, D.L., Hancock, M.L., and Mirro, J.: Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia with Chromosomal Breakpoints at 11 q 23. Blood, 73: 1627 - 1634, 1989.
60. Raphael, S.S.: Lynch's Medical Laboratory Technology. W.B. Savvqunders Company, Philadelphia, 2: 1352 - 1453, 1978.
61. Raposa, T., Varkonyi, J.: The Relationship Between Sister Chromatid Exchange Induction and Leukemogenicity of Different Cytostatics. Cancer Detection and Prevention, 10: 141 - 151, 1987.
62. Rowley, J.D.: The Philadelphia Chromosome Translocation. Cancer. 65: 2178 - 2184, 1990.
63. Russell, S.J., Walker, H., Giles, F.S., and Goldstone, A.H.: Ring Chromosome 6 and i (17q⁻) in a Patient with Acute Promyelocytic Leukemia. Absence of Translocation t (15; 17). Cancer Genet. Cytogenet., 34: 273 - 276, 1988.
64. Sandberg, A.A.: Sister Chromatid Exchange Vol. 2. Alan R. Liss, New York, 1982.
65. Schwartz, J.L., Karrison.T., Beau, M.M.L., Larson, R.A., Sagher, D., Strauss, B., Rowley, J.D., and Weichselbaum R.R.: Chromosomal sensitivity of lymphocytes from individuals with therapyrelated acute nonlymphocytic leukemia Mut. Res., 216: 119 - 126, 1989.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

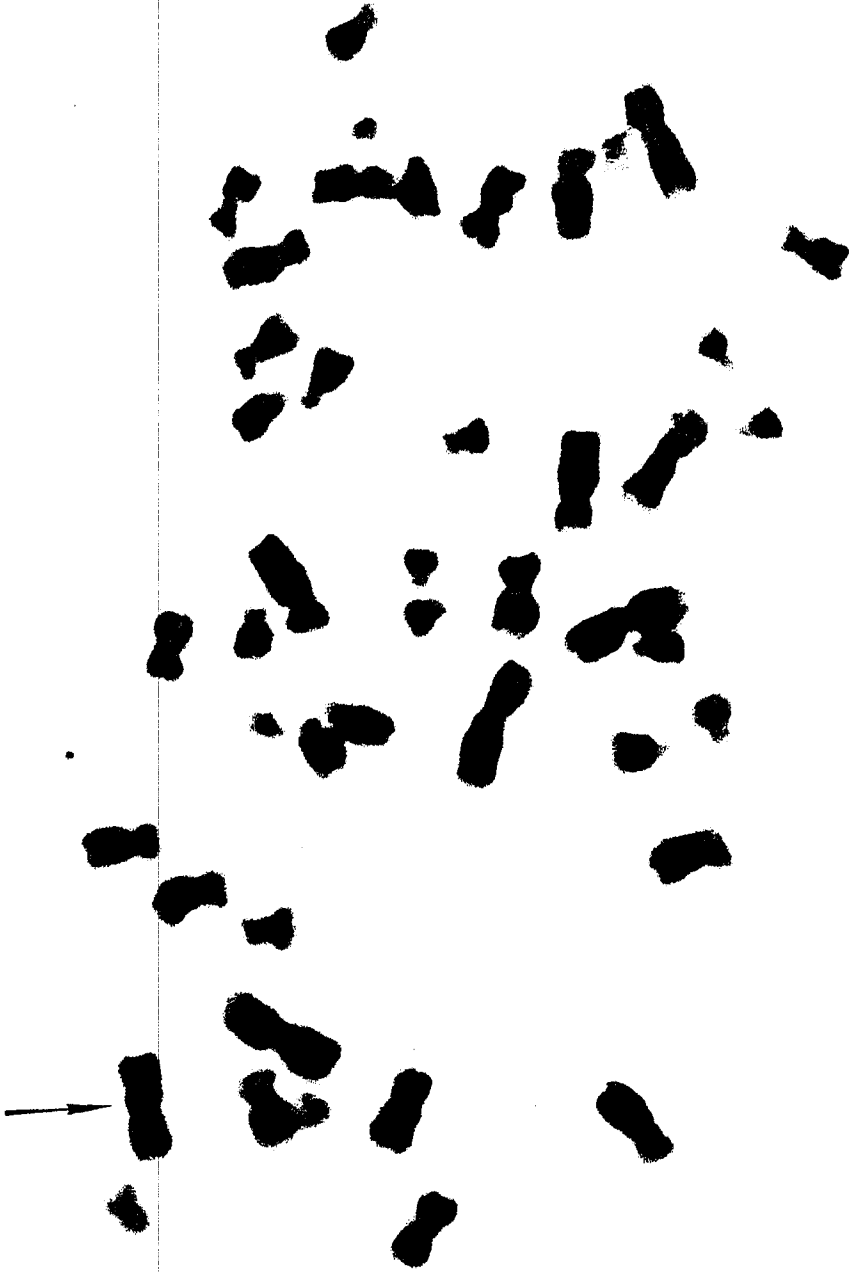
66. Schwartz, J.L., Turkula, T., Sagher, D., and Straus, B.: The relationship between O⁶-alkylguanine alkyltransferase activity and sensitivity to alkylation-induced sister chromatid exchanges in human lymphoblastoid cell. lines. *Carcinogenesis.*, 10: 681 - 685, 1989.
67. Sen, P., Bailey, N.M., Hagemester, F.B., and Liang, J.C.: Induction of Chromosome Breaks and Sister Chromatid Exchanges in Patients With Hodgkin's Disease by Two Combination Chemotherapy Regimens of Different Leukemogenic Potential. *Cancer Res.*, 50: 558 - 562, 1990.
68. Sessarego, M., Defferrari, R., Dejana, A., and Salvidio, E; Late - Appearing Philadelphia Chromosome in Acute Lymphoblastic Leukemia *Cancer Genet. Cytogenet.*, 48: 35 - 38, 1990.
69. Shinkai, T., Saijo, N., Eguchi, K.: Serial Measurement of Sister Chromatid Exchanges in the Peripheral Lymphocytes of Patients with Lung Cancer Receiving Chemotherapy in Relation to Bone Marrow Toxicity. *Spn. J. Cancer Res.*, 80: 783 - 786, 1989.
70. Shinkai, T., Saijo, N., Eguchi, K., Sasak, Y., Tamura, T., Sakurai, M., Sunji, S., Nakano, H., and Nakajima, T: Cytogenetic effect of carboplatin on human lymphocytes. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 21: 203 - 207, 1988.
71. Smith, S. D., Morgan, R., Gemmel, R., Amylon, M.D., Link, M.P., Linker, C., Hecht, B., Warnke, R., Glader, B.E., and Hecht, F.: Clinical and Biologic Characterization of T - Cell Neoplasia With Rearrangements of Chromosome 7 Band q 34. *Blood.* 71: 395 - 402, 1988.
72. Solak, M., Özdemir, G., Artan, S., Kutlu, C., Başaran, A., Yavuzer, A., Güney, İ., Başaran, N.: Epileptik Olgularda Kardeş Kromatid Değişimi Sıklığı ile Kromozom Düzensizliklerine İlişkin Araştırmalar: ilk Bulgular. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Sempozyumu, Samsun, 1, 1990.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

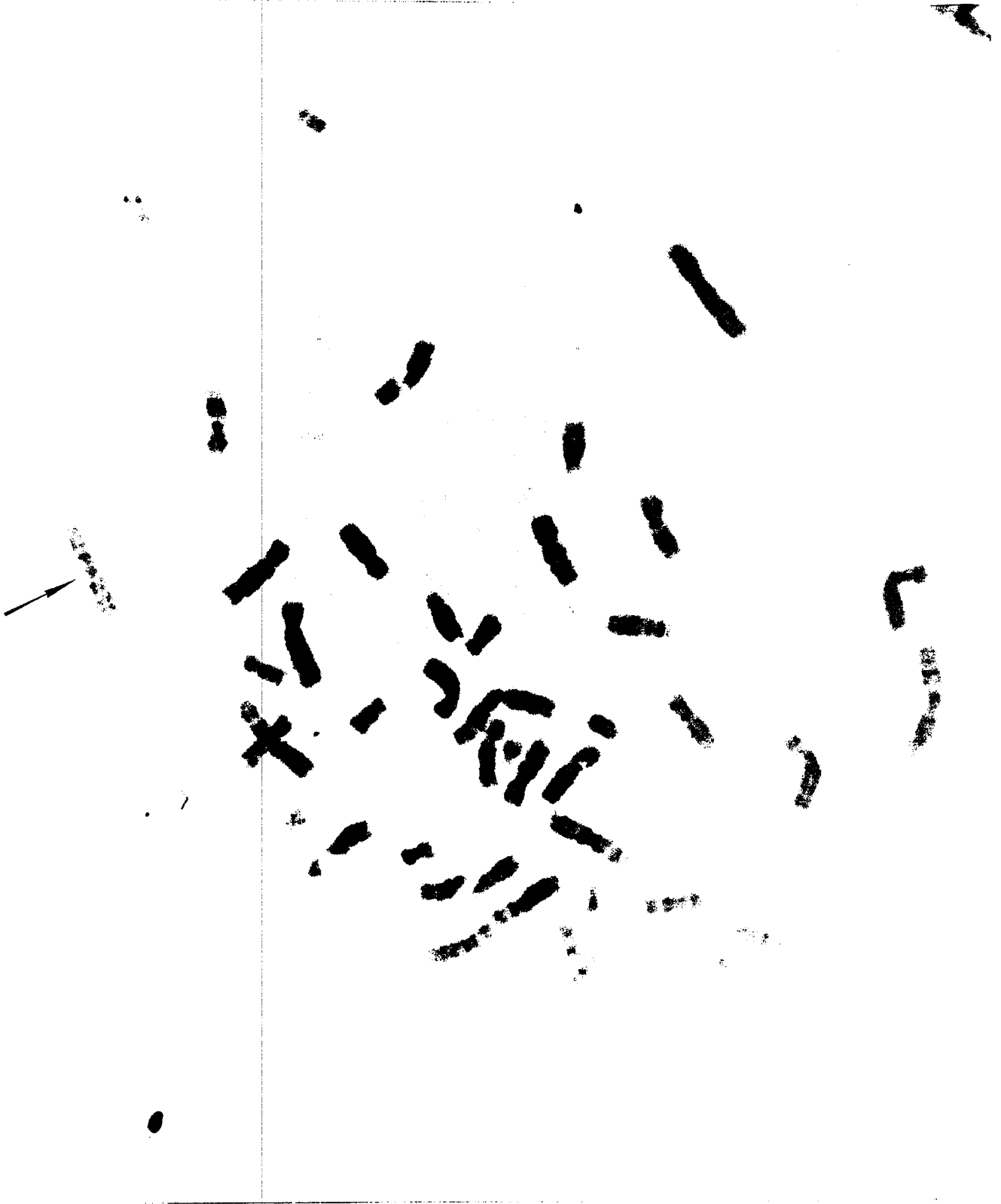
73. Speit, G.: Considerations on the mechanism of differential Giemsa staining of Brd U substituted chromosomes. *Human Genetics*, 67: 264 - 269, 1984.
74. Stejskalova, E., Goetz, P., and Starg, J.: A. Translocation (6;9) (p 23; q 34) and Trisomy 13 in a Case of Childhood Acute Nonlymphocytic Leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 45: 139 - 141, 1990.
75. Strejskalova, E., Goetz, P., and Stary, J.: A.translocation (6;9) (p 23; q 34) and trisomy 13 associated case of ANLL. *Clin. Genet.*, 37: 399 - 340, 1990.
76. Şaylı, B.S.: *Medikal Sitogenetik*. Yargıçoğlu Matbaası, Ankara, 1986.
77. Therman, E.: *Human Chromosomes Structure, Behavior, Effects*. Second Edition. Springer - Verlag, 1985.
78. Thompion, P.W., Thompson, E.N., and Whittaker, J.A.: Four Cases of Acute Leukemia with Trisomy 4. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 43: 211 - 217, 1989.
79. Tilly, H., Bastard, C., Delastre, T., Duval, C., Bizet, M., Lenormand, B., Dauce, J.P., Monconduit, M. and Piguet, H.: Cytogenetic Studies in Untreated Hodgkin's Disease. *Blood*, 77 : 1298 - 1304, 1991.
80. Tominaga, K., Shinkai, T., Sarjo, N., Eguchi, K., Sasaki, Y., Sakurai,M., Suga, J., Nakajima, T., Ochi, H., and Suemasu, K.: Cytogenetic effects of multiagent chemotherapy an the peripheral lymphocytes of patients with small cell lung cancer. *Spn. J. Cancer Res.*, 77: 1241 - 1248, 1986.
81. Tuerlings, J., Noordhoek, L., Bosga - Bouwer, A., Muis, N., and Jong, B.:Cytogenetics of Three Cases of ANLL M₂ and M₄. Involvement of Chromosomal Region 8q22 in A11 Three but 21q22 in Only One. *Cancer Genet. Cytogenet.* 50: 103 - 107, 1990.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

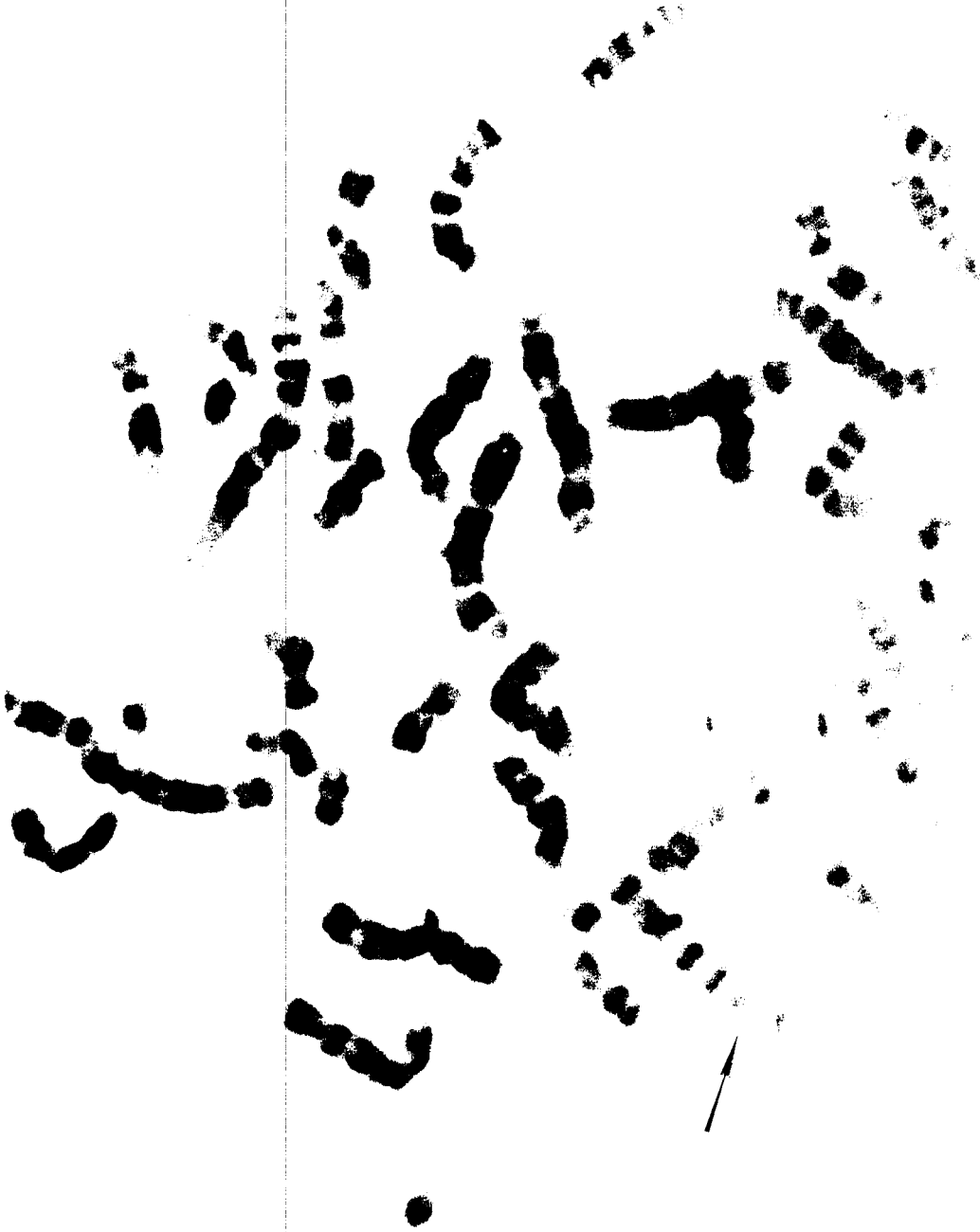
82. Vern, A.K., and Melnyk, A.: T - cell Acute Lymphoblastic Leukemia with t (1;18) (p36; q22) *Cancer Genet. Cytogenet.*, 50: 31 - 33, 1990.
83. Wolf, V. and Schwarzbacher, H.G.: *Methods in Human Cytogenetics*. Springer-Verlag, Berlin, 1974.
84. Yokota, K., Veda, K., Ohama, K., and Fujiwara, A.: Increased Spontaneous and Mytomycin C - Induced Sister Chromatid Exchanges in Patients with Cancer of the Cervix Uteri, with Special Reference to Stage of Cancer. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 43: 79 - 87, 1989.
85. Yunis, J.S.: The Chromosomal Basis of Human Neoplasia. *Science*, 221: 227 - 236, 1983.



Şekil 3.5. ANLL tanılı ve M2 formuna uyan üç olguda gözlenen düzensizlikler:
(a) Üç nolu olguda gözlenen del (3) (q25) tipi delesyon



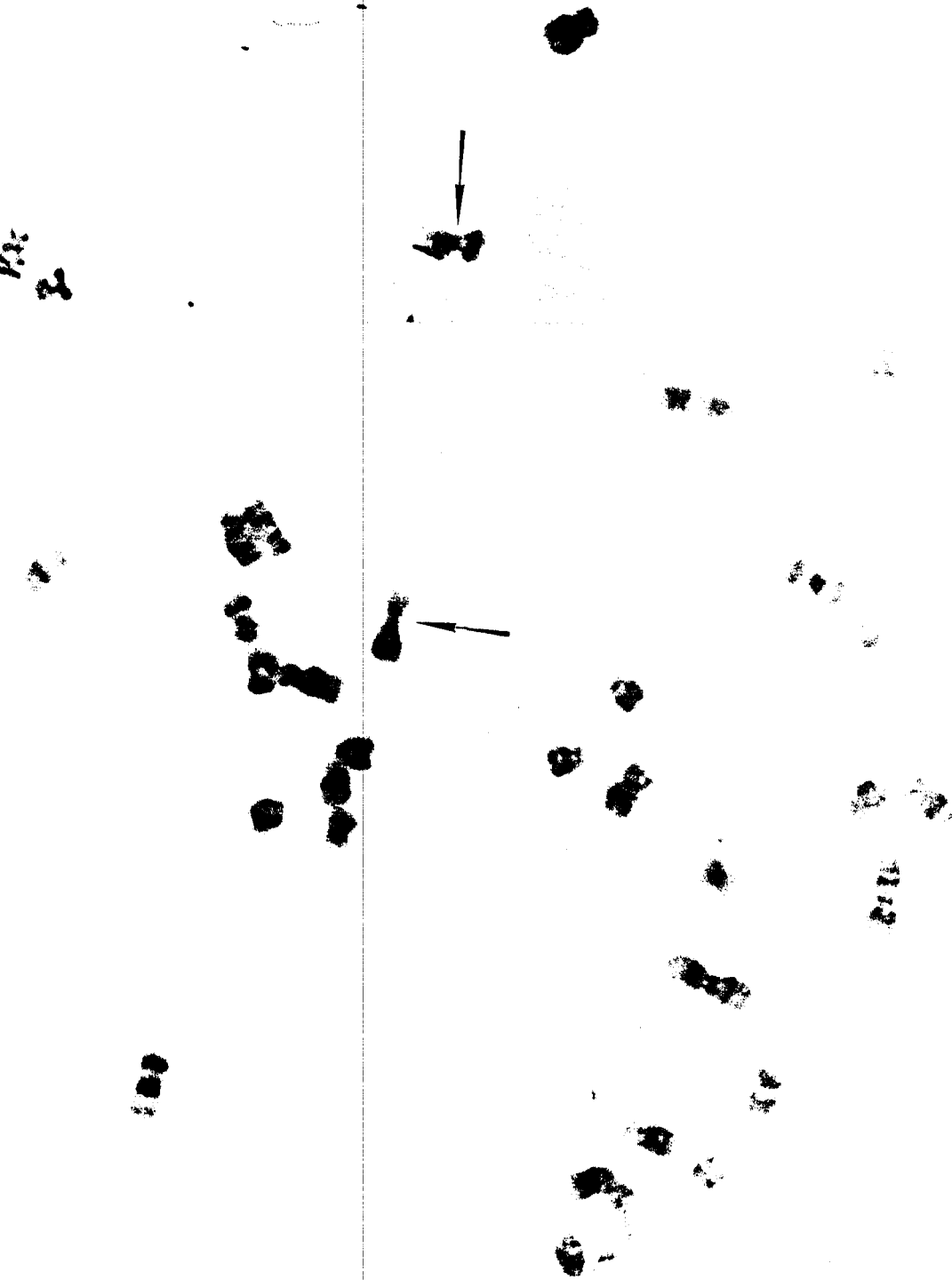
Şekil 3.5. ANLL tanı ve M2 formuna uyan üç olguda gözlenen düzensizlikler:
(b) Sekiz nolu olguda gözlenen del (2) (q12q14) tipi delesyon



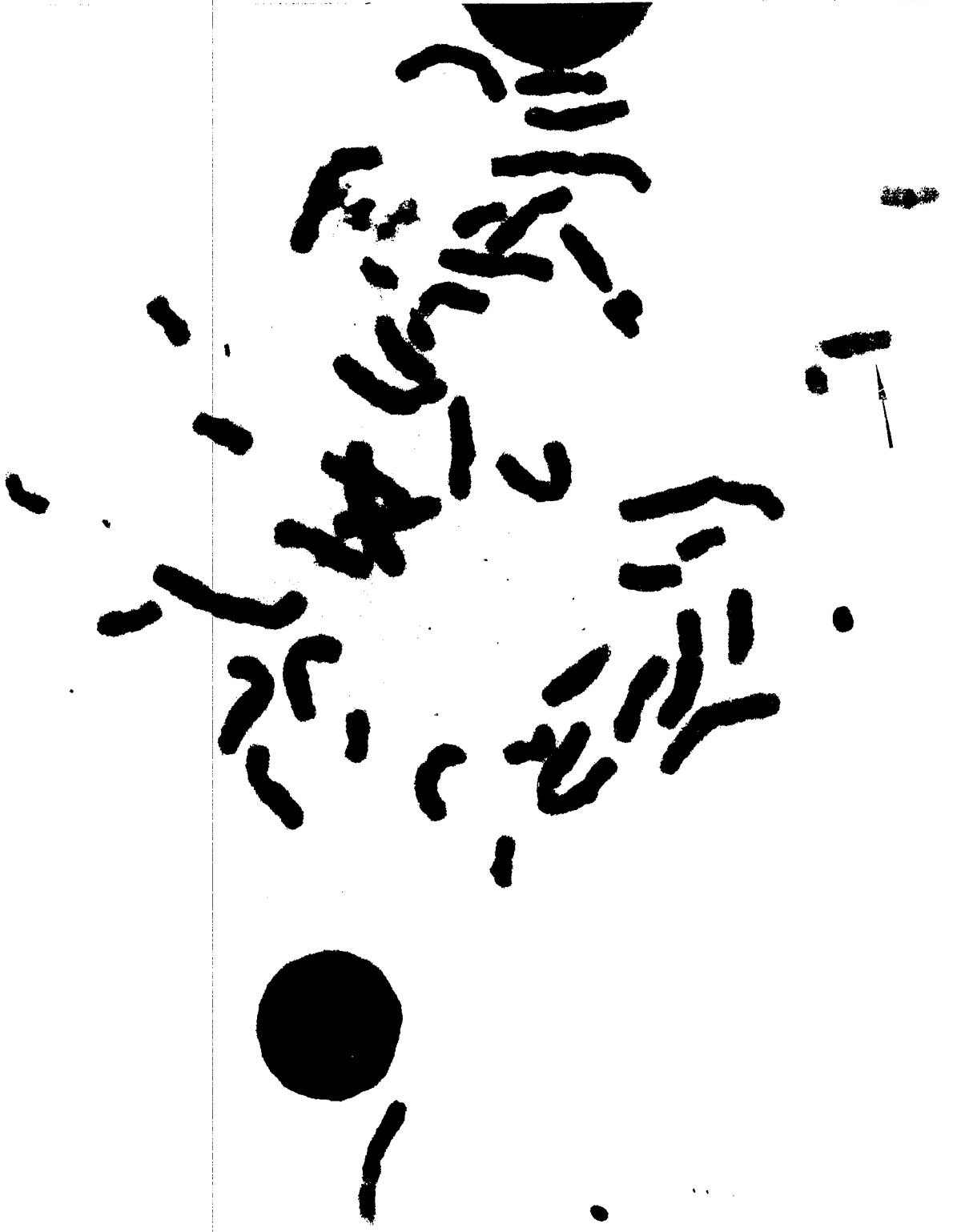
Şekil 3.5. ANLL tanılı ve M2 formuna uyan üç olguda gözlenen düzensizlikler:
(c) Ondört nolu olguda gözlenen marker kromozom



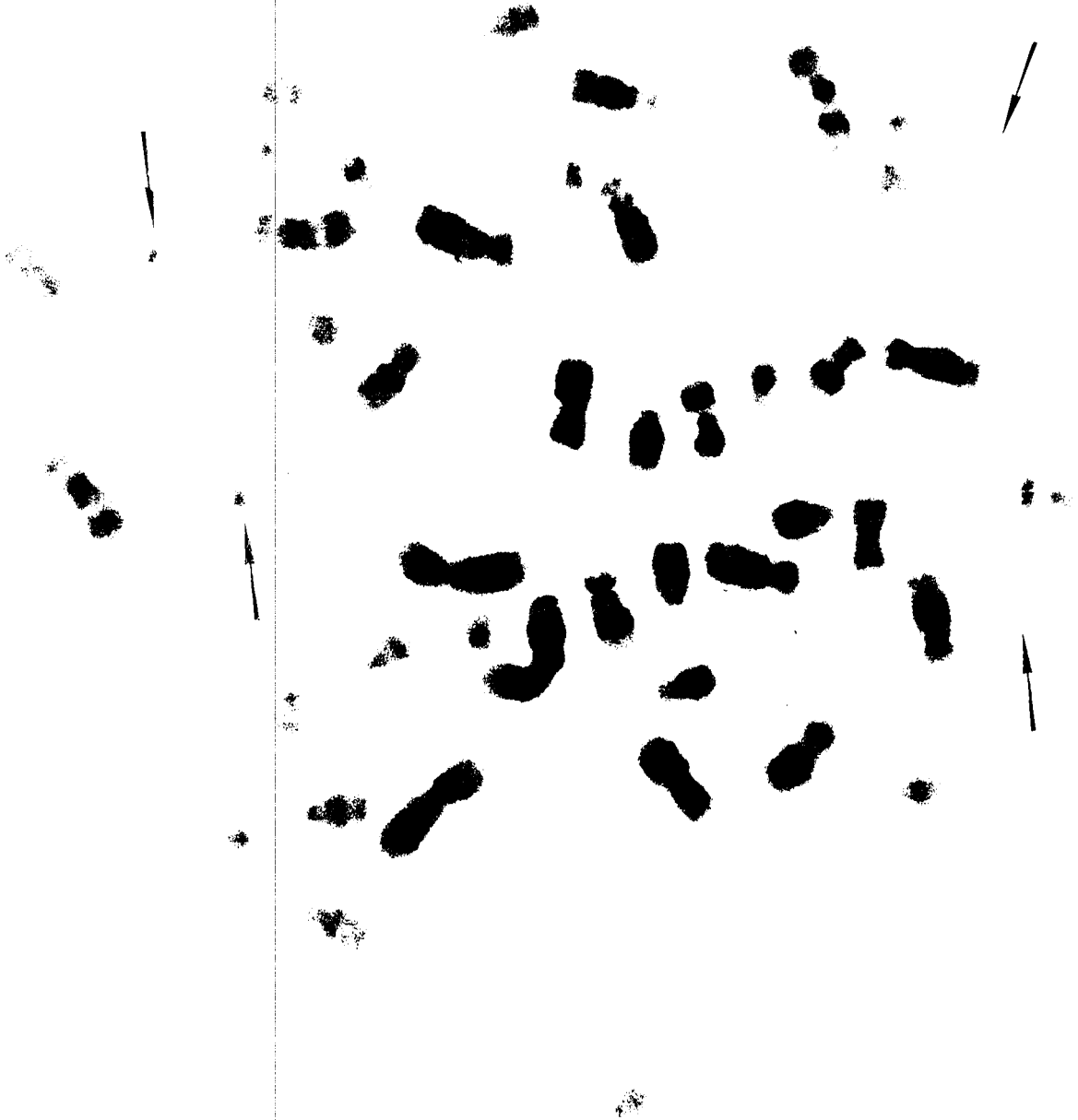
Şekil 3.6. ANLL tanılı ve M3 formuna uyan üç olguda gözlenen düzensizlikler:
(a) İki nolularda gözlenen $t(7;8)(q22;p11)$ tipi translokasyon



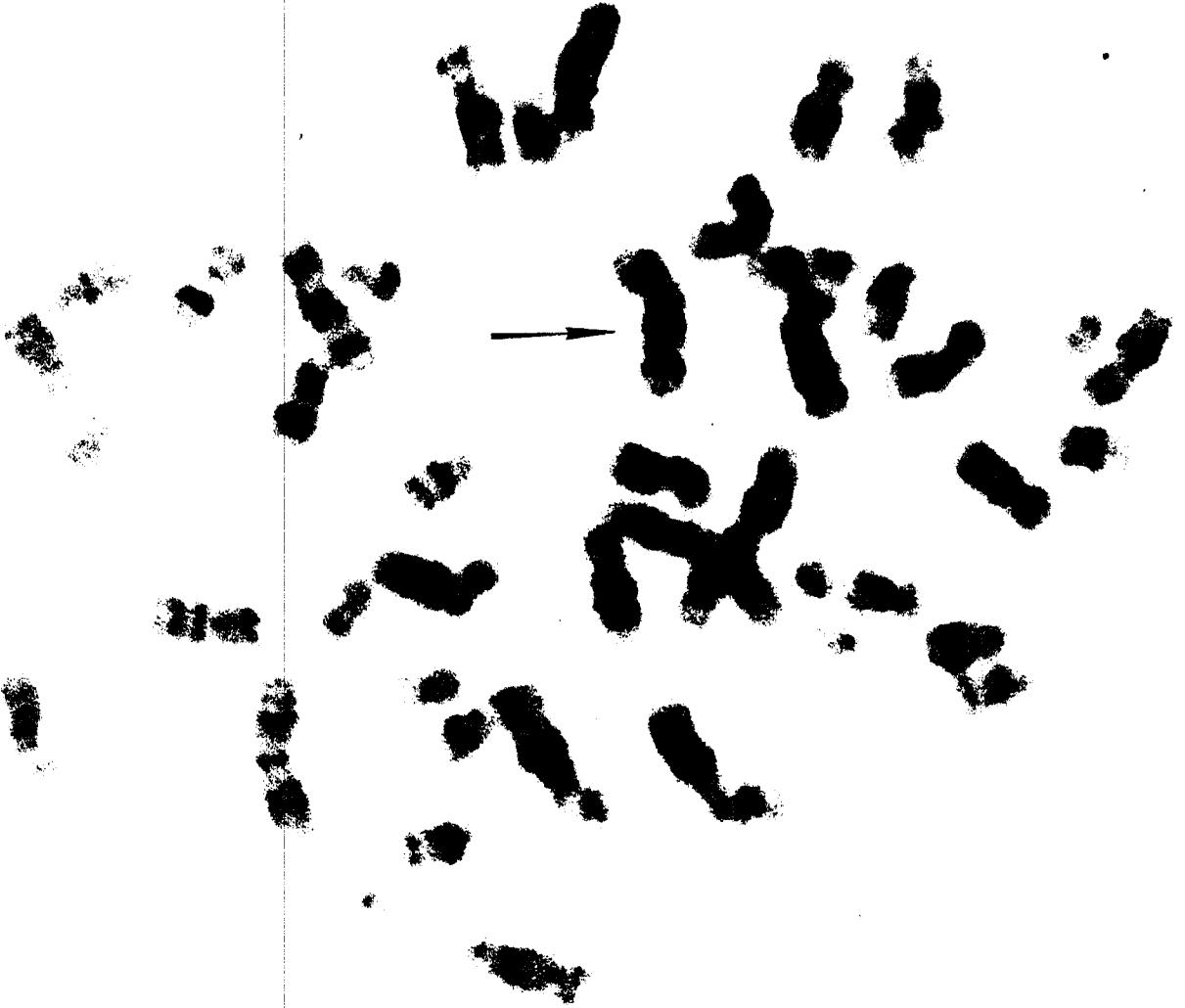
Şekil 3.6. ANLL tanılı ve M3 formuna uyan üç olguda gözlenen düzensizlikler:
(b) Onbir nolu olguda gözlenen t(13q22q), t(21q22q) tipi ikili translokasyon



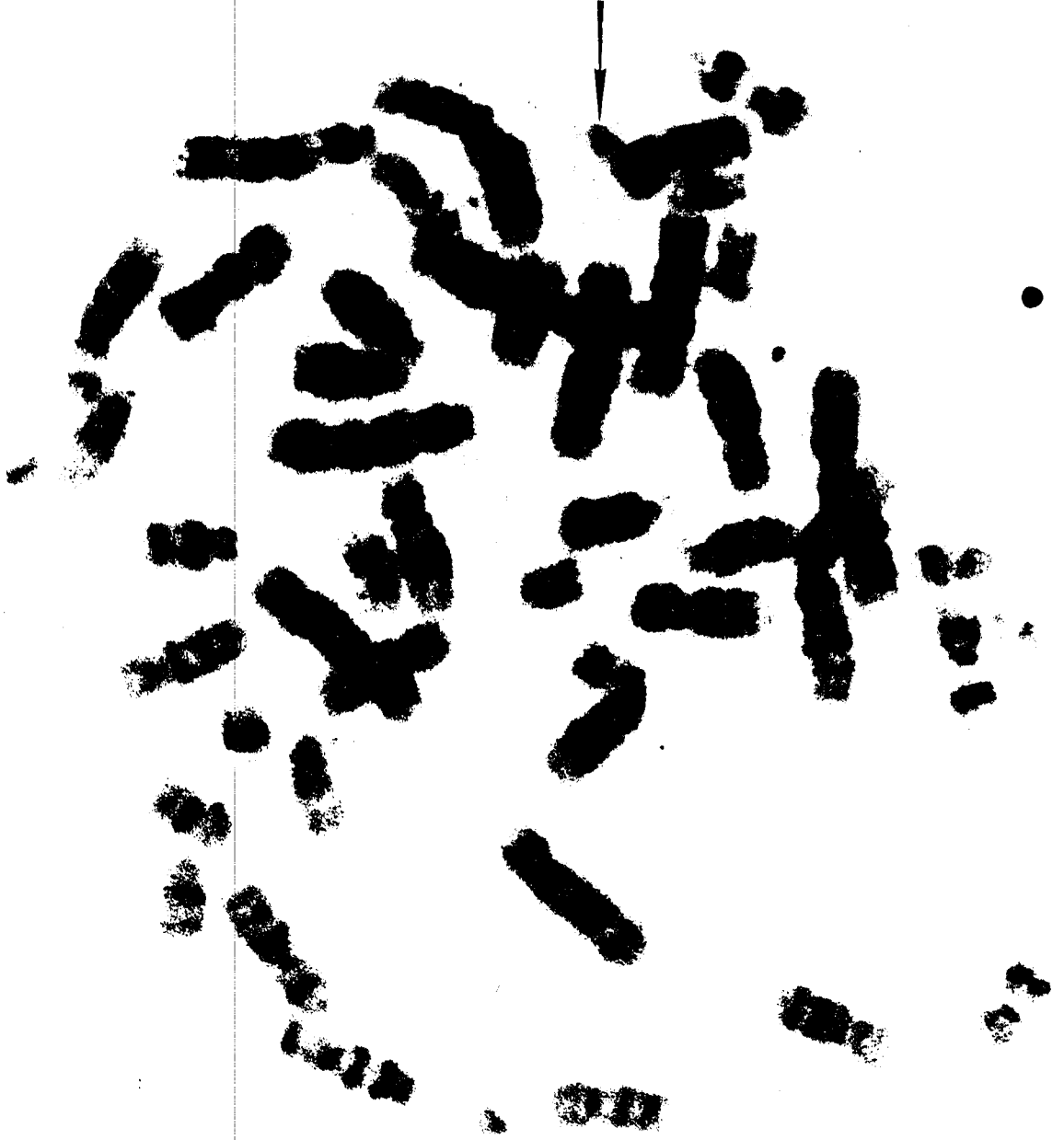
Şekil 3.7. ANLL tanılı ve M4 formuna uyan iki olguda gözlenen düzensizlikler:
(a) Beş nolu olguda gözlenen $t(15;22)(q26;q11)$ tipi translokasyon



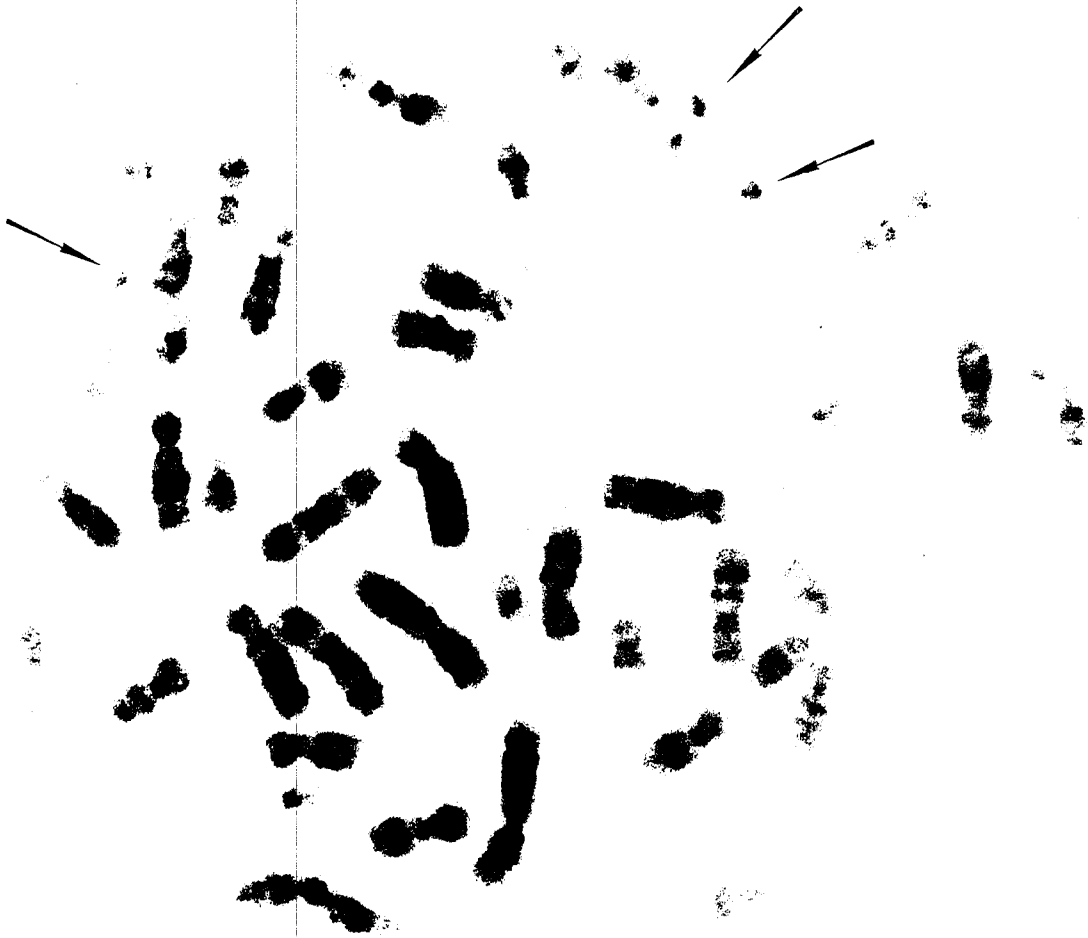
Şekil 3.7. ANLL tanılı ve M4 formuna uyan iki olguda gözlenen düzensizlikler:
(b) Yine aynı olguda gözlenen 19. kromozom trizomisi, 22.kromozom monozomisi ve minute kromozom



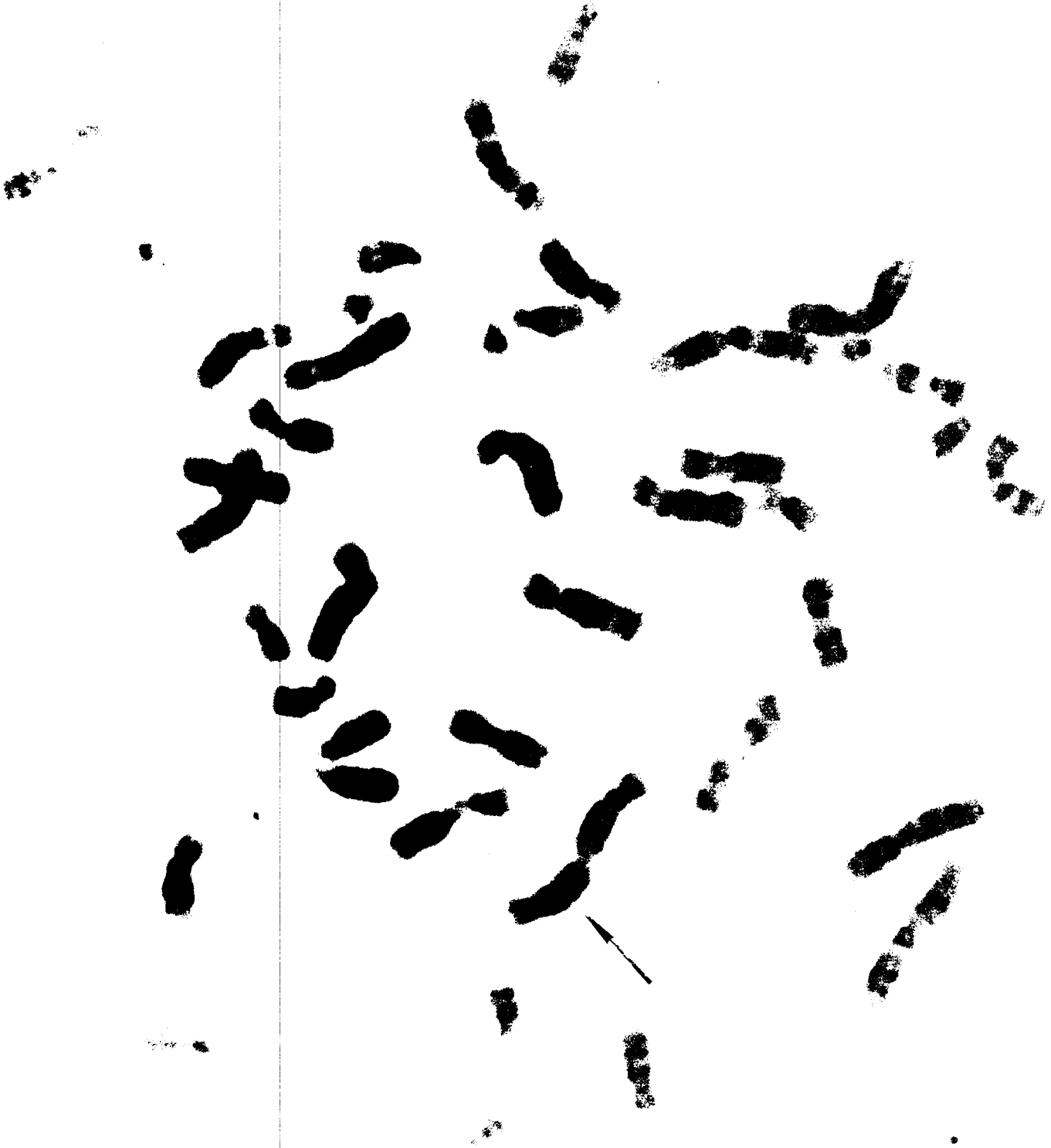
Şekil 3.7. ANLL tanılı ve M4 formuna uyan iki olguda gözlenen düzensizlikler:
(c) Onbeş nolu olguda gözlenen inv (3)(p11q22) tipi inversiyon



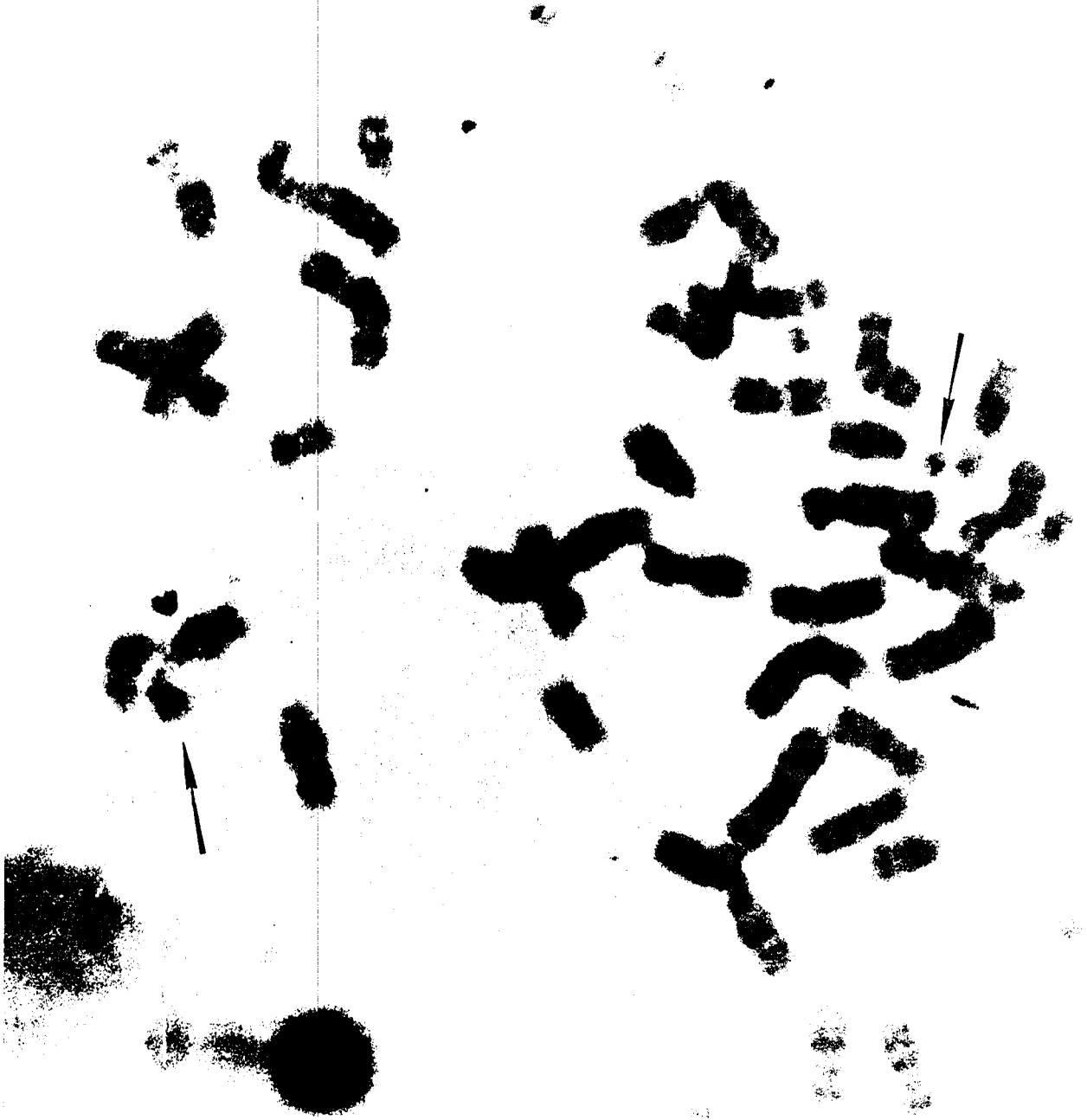
Şekil 3.7. ANLL tanılı ve M4 formuna uyan iki olguda gözlenen düzensizlikler:
(d) Yine aynı olguda gözlenen del (22)(q11) tipi delesyon



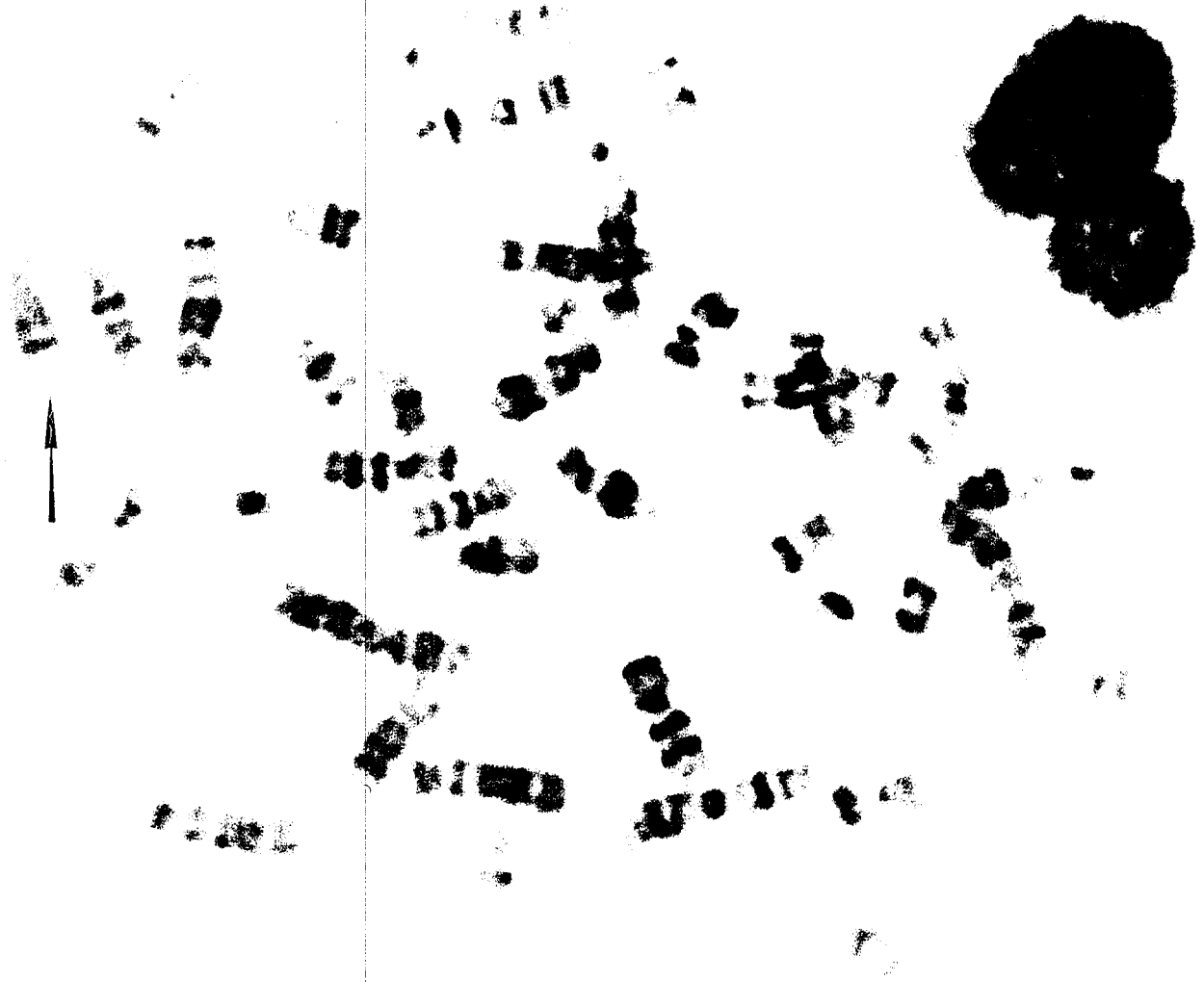
Şekil 3.8 ANLL tanılı ve M5 formuna uyan dört olgudan ikisinde gözlenen düzensizlikler:
(a) Bir nolu olguda gözlenen 21. kromozom trizomisi



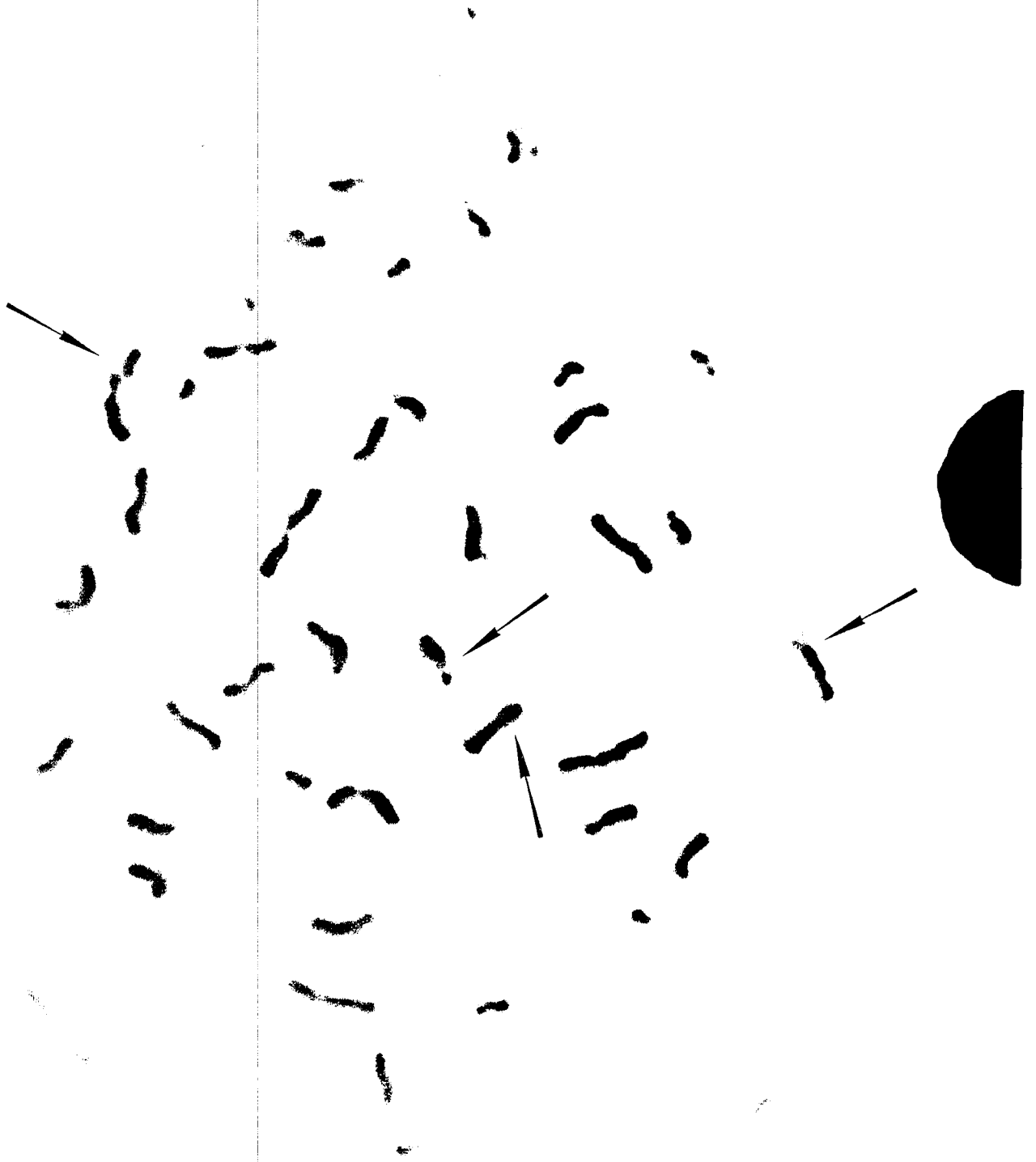
Şekil 3.8 ANLL tanılı ve M5 formuna uyan dört olgudan ikisinde gözlenen düzensizlikler:
(b) Yedi nolu olguda gözlenen t(10;14)(q23;q23) tipi translokasyon



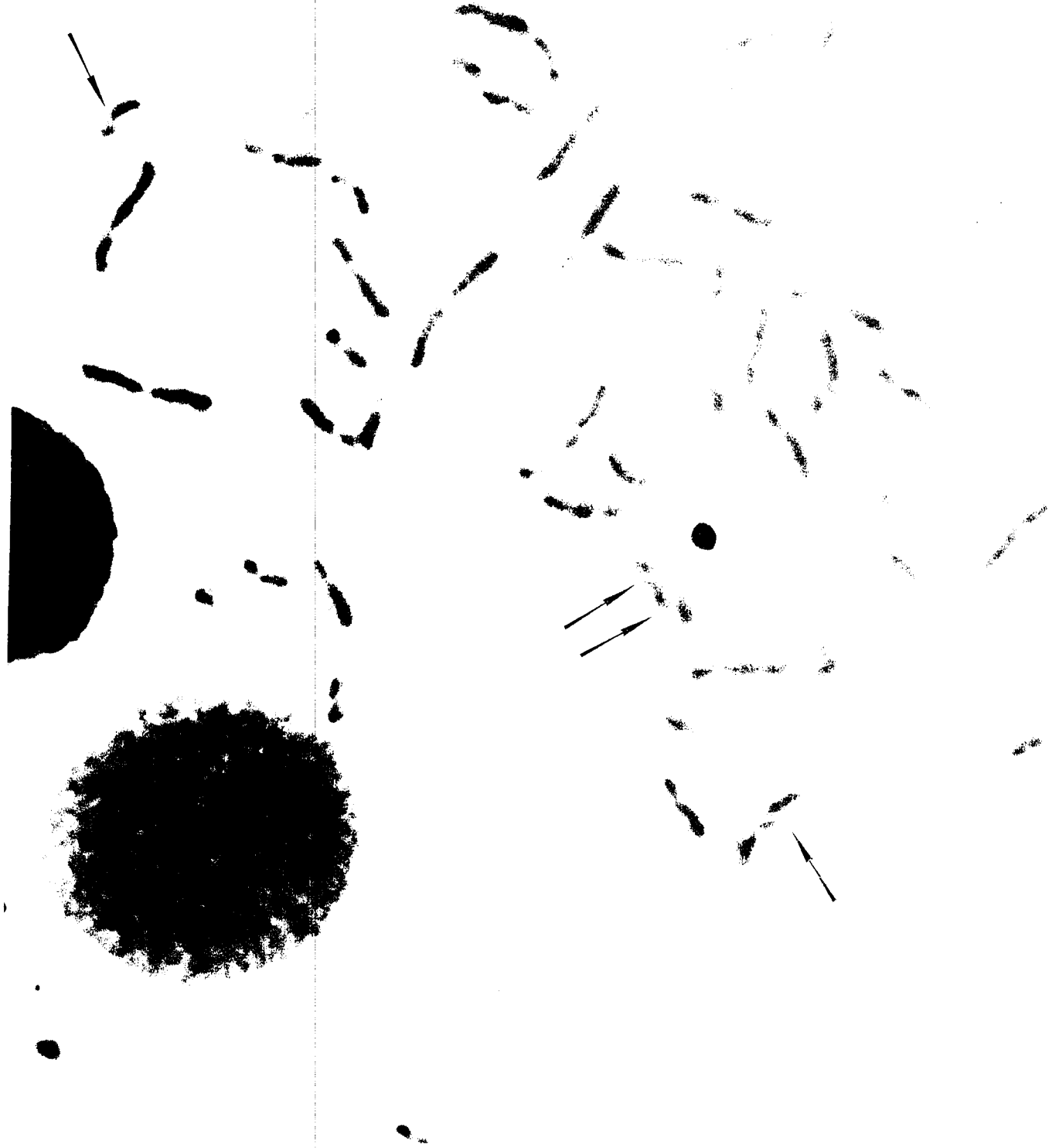
Şekil 3.9. (a) ANLL tanılı ve alt tipi belirlenemeyen dört nolu olguda gözlenen marker kromozom ve minute kromozom



Şekil 3.9. (b) Hodkin's hastalığı tanıli altı nolu olguda gözlenen t(8;19)(q24;q13) tipi translokasyon



Şekil 3.10. (a) Araştırma grubu olgularında gözlenen kardeş kromatid değişimlerine ilişkin metafaz plağı örneği



Şekil 3.10. (b) Araştırma grubu olgularında gözlenen kardeş kromatid değişimlerine ilişkin metafaz plağı örneği