

## Lösemili Hastalarda Direkt Kromozom Analiz Yöntemi ile Sitogenetik İncelemeler

Ünal EGELİ\*

### ÖZET

*Bu çalışmada KML (Kronik Myeloid Lösemi), KLL (Kronik Lenfositik Lösemi), AML (Akut Myelositik Lösemi) tanısı konmuş 11 lösemili ve 2 prelökozlu hastadan direkt kromozom analizi yöntemiyle sitogenetik değerlendirme ve karyotip analizi yapılarak kromozomlardaki sayı ve yapı kusurları araştırıldı. Direkt kromozom analiz yöntemi kısa ve uzun süreli kültürlerle nazaran daha kısa sürede sonuç alınan ve maliyeti çok daha ucuz bir yöntem olduğu için çalışmada tercih edildi.*

### SUMMARY

#### Cytogenic Evaluation on The Leukemia by Direkt Chromosome Analysis Method

*In this study we investigated structural and number defects of chromosomes by direkt chromosome method of bone marrow with cytogenetic evaluation and karyotip analysis. These samples were taken from 11 leukemia and 2 preleukosis patients who were diagnosed by Chronic Myeloid Leukemia (CML), Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) and Acute Myelocytic Leukemia (AML). Direct chromosome analysis method is better compare to short and long term culture method as it is cheaper and results can be taken in a short time. Because of these superiorities we have used direkt chromosome method in our work.*

\* Yrd. Doç. Dr.; Uludağ Üniv. Fen Fak. Genel Biyoloji Anabilim Dalı

Pek çok malign hastalık ile kromozom anomalileri arasında bir ilgi bulunmaktadır<sup>1,2,3</sup>. Bu tür hastalarda kromozom anomalileri hem sayısal hem de yapısal kromozom kusurları şeklinde belirebilmektedir<sup>1,4,5,6,7</sup>. Moleküler çalışmalar ve ileri sitogenetik çalışmalar protoonkogenler ve onkogenler ile birlikte kromozomların delesyon, translokasyon ve inversiyonunun neoplastik transformasyonunun sebebi olabileceğini düşündürmektedir<sup>1,8,9,10,11,12,13,14</sup>. Lösemili hastalarda sitogenetik değerlendirme yapılarak kromozom konfigürasyonunun belirlenmesi gerek teşhis gerekse tedavi açısından büyük önem arz etmektedir. Ayrıca bu tür hastalarda tedaviye bir an önce başlanmasının hastanın sağlığını korumak açısından önemi düşünülecek olursa kısa sürede hastaların kromozom yapılarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla bu araştırmada direkt kromozom analiz yöntemi kullanılarak 4 saat gibi çok kısa bir sürede kemik iliği hücrelerinden metafaz kromozomları incelenerek yapısal ve sayısal kromozom kusurları araştırıldı.

## MATERYAL VE METOD

Bu araştırma İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi-Genetik Bilim Dalında, Hematoloji Bilim Dalından alınan lösemili hastalarda gerçekleştirildi.

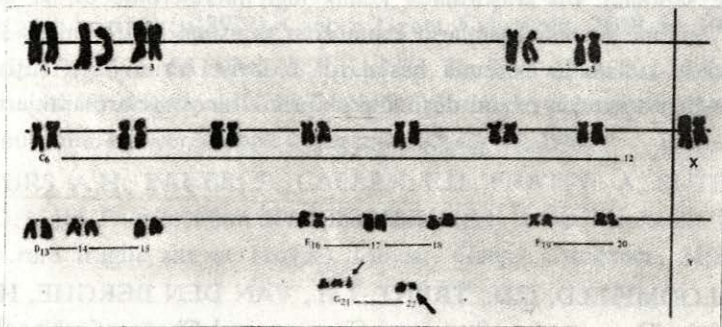
Araştırmada Tijo ve Whang tarafından geliştirilen<sup>15</sup> kemik iliğinden direkt kromozom hazırlama yöntemi laboratuvar şartlarına göre modifiye edilerek kullanıldı. Hastalardan heparinli steril bir sternal iğnesi ile alınan 4-5 damla kemik iliği daha önceden hazırlanan ve içerisinde 0.01 µg/ml cholcicine ihtiva eden 10 cc'lik Bacto Hemagglütinasyon Buffer solüsyonu (DIFCO) içerisine ilave edildi. Hafifçe çalkalanarak 37°C'lik etüvde 2 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda etüvden çıkartılarak 1500 devirde 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant olarak dipte kalan hücreler üzerine yaklaşık 7-8 cc % 1'lik sodium sitrat solüsyonu konularak 37°C'lik etüvde 30 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda 1500 devirde 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı ve dipte kalan hücreler üzerine yaklaşık 7-8 cc 1/3'lik taze hazırlanmış asetik asit-methanol solüsyonu (fixatif) ilave edildi ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda tekrar 1500 devirde 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı ve hücreler üzerine 1 cc 1/3'lik fixatif solüsyonu ilave edilerek hücreler pastör pipeti ile lama yayıldı ve gimza boyası ile 30 dakika boyandı. Böylece metafaz kromozomları ışık mikroskopunda değerlendirilecek hale getirildi. Her vakadan 3-4 preparat hazırlandı ve en az 15 metafaz figürü sayılarak kromozomlardaki yapısal ve sayısal kusurlar değerlendirildi.

## BULGULAR

11 lösemili ve 2 prelökozlu toplam 13 vakada gerçekleştirilen araştırma sonuçları Tablo: I'de verildi ve bulgulara ait iki örnek karyotip Figür 1 ve 2'de gösterildi. Hastaların kromozom bulgularının değerlendirilmesi sonucunda 6 vakada monosomi, trisomi ve poliploidi şeklinde sayı kusurları belirlendi. Yapılan karyotip değerlendirmesi sonucunda 47 kromozomlu trizomik metafaz figürlerinde ekstra kromozomun C ve G grubu kromozomlara, 45 kromozomlu monosomik metafaz figürlerinde ise eksik kromozomun G grubu kromozomlara ait olduğu saptandı. Kromozom yapı kusurlarının değerlendirilmesi sonucunda 4 vakada düşük oranda gap, kırık ve disentrik kromozom şeklinde strüktür kusurları gözlemlendi. Ayrıca 5 KML'li hastada Philadelphia (Ph<sub>1</sub>) kromozomu pozitif olarak saptandı. İlginç bir bulgu olarak bir KML'li hastada neartriploid yapıdaki metafaz figürlerinde çift Ph<sub>1</sub> kromozomu belirlendi.

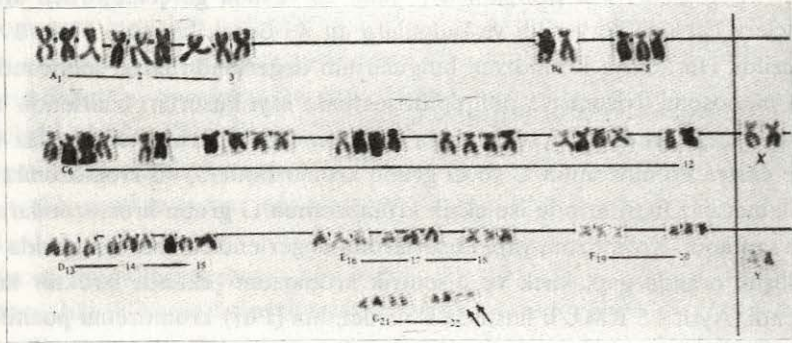
**Tablo: I- Lösemili Hastalarda Muhtelif Kromozom Bulguları**

Vaka No	Yaş	Tanı	Cinsiyet	Kromozom Sayı Kusuru			Kromozom Yapı Kusuru			
				Monosomi	Trisomi	Poliploidi	Ph1	Gap	Kırık	Disentrik
1	43	Prelökoz	XY	1	-	1	-	-	1	-
2	32	KML	XY	-	-	4	+	-	-	-
3	25	Prelökoz	XY	-	1	-	-	1	-	-
4	46	AML	XY	-	-	-	-	1	-	-
5	35	AML	XY	-	-	-	-	-	-	-
6	73	KML	XX	-	-	-	-	-	-	-
7	53	KML	XX	-	-	-	-	-	1	2
8	57	KLL	XY	-	-	-	-	-	-	-
9	55	KLL	XY	2	-	-	-	-	-	-
10	63	KML	XY	1	1	3	+	-	-	-
11	32	KML	XX	-	11	-	+	-	-	-
12	37	KML	XX	-	-	-	+	-	-	-
13	49	KML	XX	4	-	-	+	-	-	-



**Figür: 1**

**Vaka no 11: 47XX, Ph<sub>1</sub>(+), +21. Hiperdiploid karyotip yapısı**



Figür: 2

Vaka no: 2. 74 XXYY, +X, +Y, +1, +2, +3, +5, +6, +6, +7, +7, +8, +8, +9, +9, +10, +10, +11, +11, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, +21, +22 (Ph<sub>1</sub>), +22(Ph<sub>1</sub>). Near triploid karyotip yapısı.

## TARTIŞMA

Lösemili hastalarda kromozom sayı ve yapı kusurlarının mevcut olduğu birçok araştırmada belirtilmiştir<sup>1,5,6,16</sup>. Trizomik ve hiperdiploid metafaz figürlerinde ekstra kromozomun C, D ve F gruplarında bulunduğu gösterilmiştir. Araştırmamızda da iki KML'li hastada ekstra kromozomların C grubu kromozomlara bir KML'li hastada ise G grubu kromozomlara ait olduğu karyotip analizi yapılarak gösterildi. Bazı araştırmacılar hipodiploid veya monosomik figürlerde eksik kromozomun G grubu kromozomlardan 21 ve 22'ci kromozomlara ait olduğunu<sup>6</sup> bazıları ise özellikle ileri yaştaki lösemili erkek hastalarda eksik kromozomun Y kromozomu olduğunu ileri sürmüşlerdir<sup>7,17,18</sup>. Araştırmamızda KLL'li bir hastada eksik kromozomun G grubu kromozomlara ait olduğu yapılan karyotiplerde saptandı. Bu araştırmada kemik iliği hücrelerinde direkt kromozom analiz yöntemi lösemili hastaların kromozom yapısının belirlenmesinde başarılı bir şekilde kullanıldı. Lösemili hastalarda tedaviye biran önce başlanmasının hasta sağlığı açısından önemi düşünülerek pratik bir yöntem olarak araştırmada tercih edildi.

## KAYNAKLAR

1. BLOOMFIELD, C.D., TRENT, J.M., VAN DEN BERGHE, H.: Report of the Committee on Structural Chromosomal Changes in Neoplasia. Human Gene Mapping: Ninth International Workshop on Human Gene Mapping. Cytogenet. Cell. Genet., 46:344-66, 1987.

2. MULES, H.E., TESTA, R.J., THOMAS, H.G., ABBEY, H.: Cancer in relatives of leukemic patients with chromosomal rearrangements at rare (Heritable) fragile-site locations in their malignant cells. *Am. J. Hum. Genet.*, 44:811-819, 1989.
3. ROWLEY, J.D.: Chromosome abnormalities in human leukemia as indicators of mutagenic exposure. *Carcinog. Compr. Surv.*, 10:409-418, 1985.
4. COURT, B.W.W., BUCKTON, K.E., JACOBS, P.A.: Chromosome studies on adults. *Eugenics Laboratory Memoirs*. XLU: The Galton Laboratory Cambridge University Press, 1966.
5. DANIEL, R.G., MICHAEL, C.C., VARIAKOJIS, D., GOLOMB, M.H., ROWLEY, D.J.: B cell acute lymphoblastic Leukemia (ALL) with a 14 q+ chromosome abnormality. *Blood.*, 53:235-243, 1979.
6. ENGEL, E., JENKINS, D.E., JANDTIPTON, R.E.: Ph<sub>1</sub> positive chronic myelogenous leukemia, with absence of another G chromosome in a male. *New England, J. Med.*, 273:738-42, 1965.
7. ROBERTOV, P., HOOGLAND, H.C.: 45X0 cell lines in adult men loss of Y chromosome anormal aging phenomenon. *Mayo. Clin. Proc.*, 46:52-55, 1971.
8. BISHOP, J.M.: The molecular genetics of cancer. *Science.*, 235:305-311, 1987.
9. HECHT, F., SANDBERG, A.A.: Of fragile sites and cancer chromosome breakpoints. *Cancer. Genet. Cytogenet.*, 31:1-3, 1988.
10. HECHT, F., SUTHERLAND, G.R.: Fragile sites and cancer breakpoints. *Cancer. Genet. Cytogenet.*, 12:179-181, 1984.
11. MURATA, M., TAKAHASHI, E., ISHIHARA, M., MINAMIHISAMATSU, TAKAGI, T., KAMEKO, Y., HORI, T.: Heritable fragile sites and cancer: Fra (16) (922) in lymphocytes of an acute nonlymphocytic leukemia patient with inv (16) (p13922). *Cancer, Genet. Cytogenet.*, 25:81-86, 1987.
12. OHYASHIKI, J.H., OHYASHIKI, K., ITO, H., TOYAMA, K.: Molecular and clinical investigations in Philadelphia chromosome-negative myelogenous leukemia. *Cancer. Genet. Cytogenet.*, 25:227-31, 1987.
13. PUSPURS, A.H., BAKER, E., CALLEN, F.D., FRATINI, A., SUTHERLAND, G.R.: Translocation breakpoint in t(11;14) in Bcell leukemia is not at the rare fragile site at 11q13.3. *Cancer. Genet. Cytogenet.*, 31:25-30, 1987.
14. YUNIS, J.J.: Fragile sites and predisposition to leukemia and lymphoma. *Cancer. Genet. Cytogenet.*, 12:85-88, 1984.
15. TIJO, J.H., WHANG, J.: In: Direct chromosome preparations of bone

marrow cells (ed. Yunis, J.J.) Human chromosome Methodology), Academic Press, New York, 1965, p. 51-56.

16. BRAEKELLEER, M., SMITH, B., LIN, C.C.: Fragile sites and structural rearrangements in cancer. Hum. Genet., 69:112-16, 1985.
17. NERXHEIMER, H.: The missing Y chromosome and human leukemia. The Lancet., 17:375, 1973.
18. LAWLER, D.S., LOBB, S.D., WILTSHAW, E.: Philadelphia-chromosome positive bone-marrow cells showing loss of the Y in males chronic myeloid leukaemia. Br. J. Haematol., 27:247-252, 1974.

Yrd. Doç. Dr. Ünal EGELİ  
U.Ü. Fen Fakültesi  
Genel Biyoloji Anabilim Dalı  
BURSA