T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Yrd.Doç.Dr. Funda S. PALA

KANSERLİ OLGULARDA MİKRONUKLEUS SIKLIĞININ BELİRLENMESİ VE MİKRONUKLEUSLARIN ORİJİNİNİN MN+FISH YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Bio. Mehtap TAŞ

EDİRNE – 2010

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Yrd.Doç.Dr. Funda S. PALA

KANSERLİ OLGULARDA MİKRONUKLEUS SIKLIĞININ BELİRLENMESİ VE MİKRONUKLEUSLARIN ORİJİNİNİN MN+FISH YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Bio. Mehtap TAŞ

Tez No:....

EDİRNE - 2010

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bana verdikleri destekten ve gösterdikleri sabırdan dolayı değerli hocalarım; T.Ü.Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D Başkanı Prof.Dr. Çetin ALGÜNEŞ, danışman hocam Yrd.Doç.Dr. Funda S. PALA, Hematoloji A.D Başkanı Prof.Dr. Muzaffer DEMİR, Üroloji A.D'da Doç.Dr. Mustafa KAPLAN'a Tıbbi Biyoloji A.D Araş.Gör. Kıymet TABAKÇIOĞLU'na ve değerli arkadaşlarım Bio. Cüneyt ÇİMEN ve Bio. Tuğba GÜRSOY ve Bio. Sefa ÇETİNKAYA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bio. Mehtap TAŞ

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1
GENEL BİLGİLER 3
- KANSER 3
- HÜCRE DÖNGÜSÜ 4
- HÜCRE DÖNGÜSÜ KONTROL NOKTALARI 6
- KANSER ETİYOLOJİSİ 9
- GENOMİK KARARSIZLIK 11
- MİKRONUKLEUS 16
- KANSERLERİN ORİJİNİNE GÖRE SINIFLANDIRILMASI 18
- LÖSEMİLER 18
- AKUT LÖSEMİLER 20
- KRONİK LÖSEMİLER 23
- LÖSEMİ ETİYOLOJİSİ 25
- MESANE KANSERİ 26
- PROSTAT KANSERİ 28

GEREÇ VE YÖNTEMLER 31
BULGULAR 37
TARTIŞMA 57
SONUÇLAR 65
ÖZET 67
SUMMARY 69
KAYNAKLAR 71
ŞEKİLLER VE TABLOLAR LİSTESİ 81
ÖZGEÇMİŞ 83
EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

AIDS	:	Acquired Immunodeficiency Syndrome (Edinilmiş Bağışıklık Yetmezliği Sendromu)
BN	:	Binukleat
BFB	:	Kırık-füzyon-kırık
Cyt-B	:	Sitokalazin B
DAPI	:	4,6-diamidino-2-phenylindole
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	:	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FCS	:	Fetal Calf Serum
FISH	:	Floresan In Situ Hibridizasyon
HTLV-I	:	İnsan T hücresi Lösemi Virüsü tip 1
HTLV-II	:	İnsan T hücresi Lösemi Virüsü tip 2
HIV	:	Human Immunodeficiency Virusu (İnsan İmmun Yetmezlik Virüsü)
KCL	:	Potasyum Klorür
KKD	:	Kardeş Kromatid Değişimi (SCE: Sister Chromatid Exchange)
MN	:	Mikronukleus
MNC-	:	Sentromerik fragman içermeyen MN
MNC+	:	Sentromerik fragman içeren MN
NER	:	Nucleotide Excision Repair (Nükleotid Eksizyon Onarımı)
PBS	:	Phosphate Buffered Saline

PHA	:	Fitohemaglutinin
Ph Kromozomu	:	Philadelphia Kromozomu
RNA	:	Ribonükleik asit
RNAz	:	Ribonükleaz
rpm	:	Revolutions per minute
SSC	:	Standard Saline Citrate
UV	:	Ultraviyole

GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser günümüzün üzerinde en çok araştırma yapılan hastalığıdır. Birden fazla tanımı olmakla birlikte en genel tanımı, hücre döngüsünü düzenleyen mekanizmalardaki bozukluklar sonucu ortaya çıkan, hücrenin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıdır (1).

Karmaşık bir mekanizmaya sahip olan kanserin etiyolojisinde pek çok farklı etmen gözlenmektedir. Kanser tek bir hücredeki değişimle başlar. Gelişiminde ise çeşitli genetik ve biyokimyasal faktörler rol oynar. Farklı dokulara ait kanserler, değişik özellikler göstermekle birlikte pek çok kanserin başlangıcı DNA mutasyonu veya kromozomal aberasyonlarla ilişkilendirilir (2). Bu nedenle DNA veya kromozom boyutunda biyoindikatörler kullanan çeşitli kanser tanı yöntemleri geliştirilmiştir.

Bir biyoindikatörün kanserin erken tanısında kullanılabilmesi için 3 anahtar aşamayı geçmesi gerekir (3,4) Bunlar;

1) Örnek alma, saklama vb. konularda standartlaşmış bir protokolünün olması,

2) Normal popülasyondaki backgroundunun belirlenmiş olması,

3) Vaka kontrol ve prospektif çalışmalarla kanser riskini belirlemedeki duyarlılığının test edilmesidir.

DNA hasarını belirlemede; DNA zincir kırıkları, kromozom aberasyonları, mikronukleuslar (MN), kardeş kromatid değişimi (KKD), p53 mutasyonu gibi çeşitli biyoindikatörler kullanılabilir (2).

Kanserin erken tanısıyla ilgili araştırmalarda bu biyoindikatörler arasında kromozomal aberasyonlar öne çıkmaktadır. Bonassi ve ark.(5) İtalyan ve Norveç popülasyonlarında yaptıkları çalışmalarda metafaz kromozom aberasyonlarının kanser riskini

2.3-2.6 oranında arttırdığını ortaya koymuşlardır (5). Metafazda gözlemlenen disentrik ve asentriklerin MN oluşumuna da neden olduğu bilinen bir gerçektir (6). Yüksek MN sıklıklarının kanser riskini arttırdığını ileri süren retrospektif çalışmalar giderek artmaktadır (7,8,9).

Mikronukleuslar hücrede mitozun metafaz-anafaz geçişi esnasında oluşan, hücre sitoplazması içinde, ana nukleusun dışında fakat nukleus ile şekil, yapı ve boyanma özellikleri bakımından aynı olan küçük küresel yapılardır (4,6,10). Fiziksel veya kimyasal mutajene maruz kalan lenfosit hücrelerinde, hasar gören tüm kromozomlar ve onların asentrik parçaları veya mitotik iğdeki hatalar nedeniyle kutuplara çekilemeyen kromozomların sitoplazmada yoğunlaşması sonucu oluşurlar. Bu nedenle MN kromozomal fragment veya tüm bir kromozom içerebilir (2,11,12).

Klasik Giemsa boyama yöntemiyle MN sıklığını belirlemek mümkünken 90'lı yılların ortalarından sonra geliştirilmeye başlayan ve günümüzde son halini alan MN+FISH yöntemiyle de mikronukleusların orijinini belirlemek mümkündür.

Yapılan araştırmalar hematolojik kanserlerin etiyolojisinde radyasyon vb. fiziksel ajanların etkili olduğunu ileri sürerken, solid tümörlerin ise iğ ipliği mekanizmasında bozukluğa neden olan kimyasal ajanlardan kaynaklandığını görüşünü savunmaktadır (11,13,14,15). Bu durumda hematolojik kanserlerde gözlemlenen MN'ların asentrik fragmentlerden köken alması buna karşılık, solid tümörlerde MN'ların tüm kromozom içermesi beklenir.

Biz bu çalışmada, hematolojik kanserler, prostat kanseri ve mesane kanserli olgularda MN görülme sıklıklarını ve MN orijinlerini belirledik. Böylece yüksek MN sıklığının ve orijinin belirlenmesinin farklı kanser tipleri için erken tanıda kullanılabilirliğini ve kanser mekanizmasındaki rolünün anlaşılmasını amaçladık.

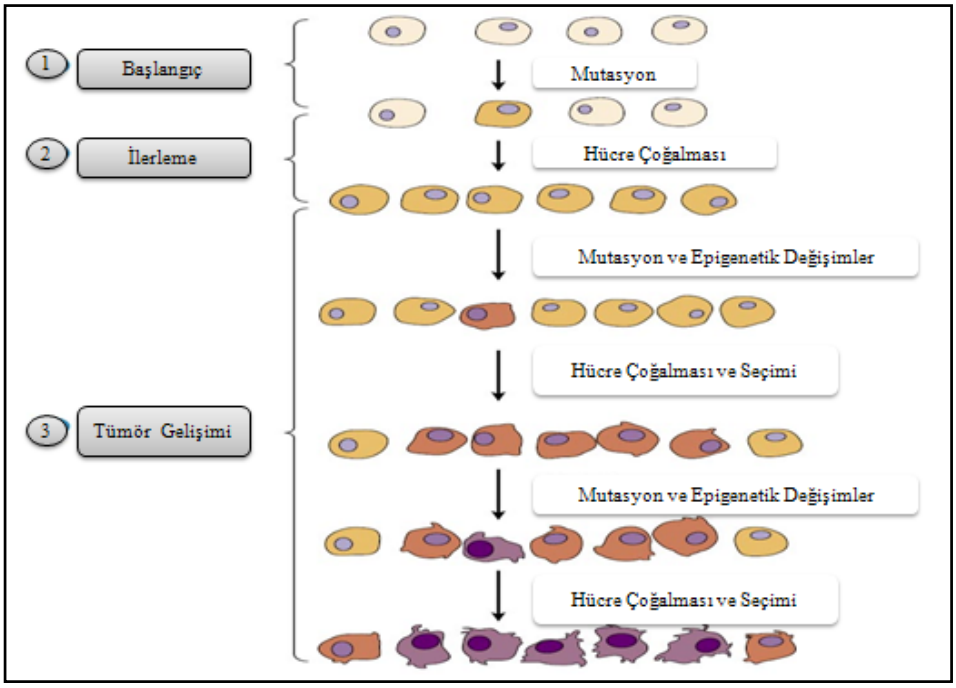
GENEL BİLGİLER

KANSER

Normal yaşam sürecinde hücreler çeşitli mekanizmaların kontrolü altında, ihtiyaca göre bölünerek çoğalırlar ve farklılaşırlar. Buna karşılık kontrol dışında çoğalma veya farklılaşmaya yönelen hücreler, programlı hücre ölümü (apoptozis) ile yok edilirler. Kanserli dokularda, hücrelerin çoğalması ile apoptozis arasındaki denge bozulmuştur. Hücrelerin aşırı çoğalması, apoptozisin baskılanması ya da bu ikisinin birlikte görülmesiyle atipik hücreler aşırı artar ve kanser dokusu çevre dokularla etkileşmeye başlayıp normal fizyolojik akışı bozar **(**16).

Kanser gelişimi karmaşık bir mekanizmaya sahip olmakla birlikte, kanser hücreleri monoklonaldir, yani vücutta bulunan herhangi bir, anormal, tek hücreden köken alırlar (16,17,18,19). Karsinogenez gelişim aşamaları Şekil 1'de verilmiştir.

Kanser gelişimi (karsinogenez), fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanların neden olduğu DNA hasarları sonucunda ortaya çıkan genetik ve/veya epigenetik değişimlerden kaynaklanan çok aşamalı bir süreçtir. Meydana gelen mutasyonların hücrenin pozitif ve/veya negatif kontrolünde değişikliğe yol açması anormal yapıdaki hücrenin kontrolsüz çoğalması ile sonuçlanabilir. Hücre döngüsünün kontrolündeki değişiklikler ise kanserin spesifik belirleyicisidir. Kanser hücrelerinin mutasyonlar sonucu malign özellik kazanması, çevrelerindeki dokunun ve devamında organizmanın yaşamını tehdit eder hale gelmektedir (21,22,23).



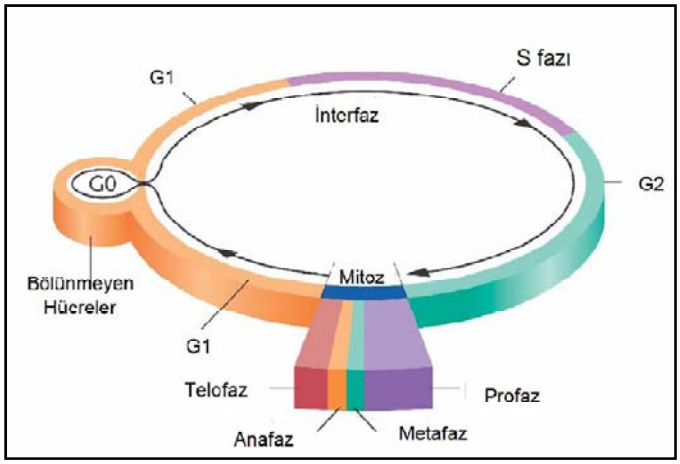
Şekil 1. Karsinogenez gelişimi (20)

Karsinogenezde etiyolojik faktörlerin DNA üzerinde yarattığı hasar kadar hücrenin moleküler bileşenlerinin bu hasara verdikleri cevap da önemlidir. Genetik materyal hasarlandığı zaman hücrenin buna vereceği ilk yanıt hasarı tamir etmektir. Eğer hasar tamir edilemeyecek boyutta ise hücrenin yanıtı kendini kontrollü bir şekilde öldürmek olacaktır. Bütün bu süreçleri kontrol eden hücre döngüsünde yer alan protoonkogenler, onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdir. Bu gen grupları mutasyona uğradıkları zaman kanser gelişiminden sorumlu tutulmaktadırlar. Bu nedenle hücre döngüsünden kısaca bahsetmek kanserin gelişim mekanizmasını daha iyi anlamamızı sağlayacaktır (17,18,24,25).

HÜCRE DÖNGÜSÜ

Hücre döngüsü; hücrenin genetik materyalinin iki katına çıkması ve ardından ikiye bölünmesini içeren, biyokimyasal aktiviteler sonucu, genetik olarak eş iki yavru hücre oluşturmasıyla tamamlanan bir süreçtir (26,27).

Ökaryotlarda hücre döngüsü G_1, S, G_2, M olmak üzere 4 ardışık evrede gerçekleşir. G_1, S, G_2 birlikte interfaz evresini oluşturmaktadır. M ise mitoz bölünmeyi ifade eder. Hücre döngüsünün evreleri Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Hücre döngüsünün evreleri (28)

G_1 Evresi (İlk Aralık)

Hücrenin bölünmeye karar verdiği evredir. DNA sentezi için bu evrede hazırlık yapılır. Hücre fonksiyonları için özgül proteinler ve RNA sentezlenir. G_1 evresindeki hücreler, S evresine geçmeye hazır değillerse, G_0 dinlenme evresine geçerler. G_0, G_1'in gelişim göstermeyen evresidir. Kanser hücreleri, bu evreye girmekten kaçınırlar ve evreyi çok hızlı bir şekilde terk ederler (22,29,30). Eğer bu evreye girerlerse G_0'daki hücreler, kemoterapiye direnç kazanmış olup en tehlikeli hücre grubunu oluştururlar (31).

S Evresi (DNA Sentezi Evresi)

Sentez evresinde DNA miktarı iki katına çıkar. RNA sentezi devam eder, protein sentezi en yüksek seviyeye ulaşır. Sentrozom (sentrioller) kendini eşlemeye başlar.

G_2 Evresi (İkinci Aralık)

Bu evrede DNA sentezi ve sentrozomun kendini eşlemesi tamamlanır. RNA ve protein sentezi devam eder.

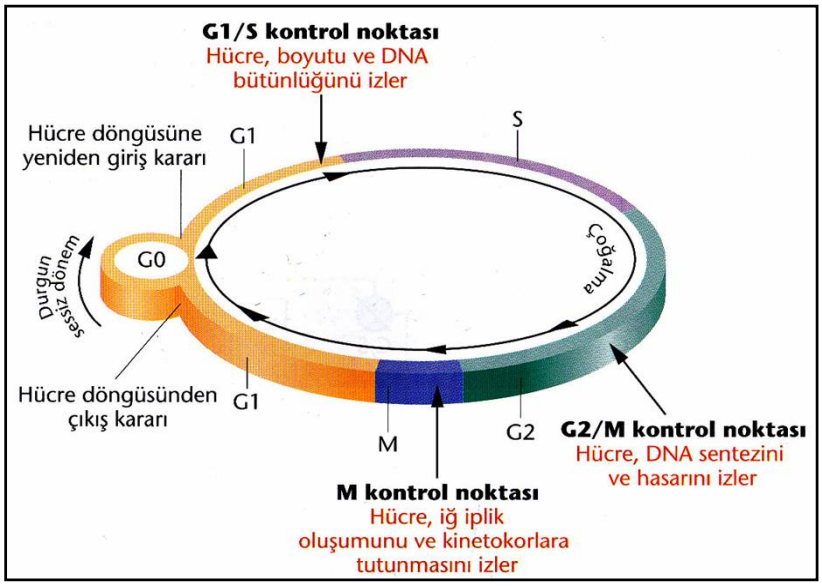
M Evresi (Mitoz)

Hücre büyümeye devam eder, protein ve RNA sentezinin hızı birden yavaşlar, genetik materyal oluşan iki yeni hücreye eşit şekilde dağılır (25,29).

Mitoz evresi ise kromozomların, kısalıp kalınlaşması, kutuplara çekilmesi ve iki eşit yavru hücreye dönüşmesi aşamalarını içeren Profaz, Metafaz, Anafaz ve Telofaz bölümlerinden oluşmaktadır (22,29).

HÜCRE DÖNGÜSÜ KONTROL NOKTALARI

Hücre döngüsünün sağlıklı işleyişi, üzerinde bulunan kontrol noktaları sayesinde gerçekleşmektedir (32). Hücre döngüsünde bir evrenin doğru bir şekilde tamamlanmadan diğer evreye geçişini engelleyen 3 ayrı kontrol noktası bulunmaktadır. Bunlar; G_1 kontrol noktası, G_2 Kontrol noktası ve M kontrol noktasıdır **(**18**).** Hücre döngüsü kontrol noktaları Şekil 3'de gösterilmiştir**.**



Şekil 3. Hücre döngüsü kontrol noktaları (18)

G_1 Kontrol Noktası

Hücrenin uygun boyuta ulaşması, DNA'nın doğru bir şekilde kendisini eşleyebilmesi için RNA, protein ve enzimlerin yeterince üretilip üretilmediğini kontrol eder. Hücre uygun boyuta ulaşmamış ve DNA bütünlüğü korunmamış ise bu kontrol noktası S evresine girişi engeller (18,33). Hücrenin kendini onarabilmesi için ona zaman tanır. Hata onarılamıyorsa hücreler apoptozise giderler (25,34). G_1 kontrol noktasının pek çok kanserde hatalı olduğunu gösteren bulgular mevcuttur (18,32).

G_2 Kontrol Noktası

Doğru eşleşme gerçekleştirmemiş veya hasar görmüş DNA'ya duyarlıdır. Böyle bir durumda hücre döngüsü inhibitörleri, DNA replikasyonu doğru bir şekilde tamamlanana kadar döngüyü durduracak sinyal oluşturur (24,26,34).

M Kontrol Noktası

Bu kontrol noktasında G_2'den M evresine geçişi sağlayan ana düzenleyici mitoz ilerleten faktör (MPF) kompleksi görev alır. MPF, kromatinlerin yoğunlaşmasını, iğ iplikçiklerinin oluşmasını ve bu iplikçiklerin kinetokorlar ile uygun bir şekilde bağlanmasını kontrol etmektedir (18,34).

Kromozomun kinetokor bölgesinde bir hasar oluşursa, M kontrol noktası mitozu metafaz evresinde durdurur. Hasar onarımı tamamlandıktan sonra ancak bir sonraki evreye geçiş yapılabilir (25,27,30,34).

Hücre döngüsünün kontrol noktaları, protoonkogen-onkogen ve tümör baskılayıcı genlerin karşılıklı etkileşimleri ile düzenlenmektedir (32).

Protoonkogenler-Onkogenler: Hücrelerin normal büyüme sistemi içinde yer alan çeşitli proteinleri kodlayan bir gen ailesidir. Protoonkogen ürünleri, normal hücrelerde büyüme, çoğalma ve farklılaşma ile ilgili yolakları kontrol ederler. Bu yolaklar üzerinde büyüme faktörleri, hücre bölünmesini uyaran sinyal iletim molekülleri, transkripsiyon faktörleri ya da hücre döngüsü düzenleyicileri gibi moleküller bulunmaktadır (18,35,36).

Protoonkogenler herhangi bir nedenle mutasyona uğrarlarsa ya da hatalı olarak normalden fazla ifade edilirlerse onkogenlere dönüşürler. Onkogenler hücre çoğalmasını uyarıcı etkiye sahiptirler. Tümör dokusunda aşırı miktarda ya da farklılaşmış biçimde ifade edilerek kontrolsüz hücre çoğalmasına yani maligniteye neden olurlar (16,18).

Onkogenler otozomal dominant biçimde etkisini gösterirler. Yani ekspresyonları arttığında, tek bir mutant allel normal bir hücreyi malign fenotipe dönüştürebilir (16,18,36).

Tümör baskılayıcı genler: Negatif kontrolden sorumludurlar. Bu genlerin ürünü, tümör baskılayıcı proteinler, hücre döngüsü kontrol noktalarını düzenleyen, tümör gelişimini baskılayan ve DNA'daki hasarlı hücreleri replikasyondan önce apoptozise yönlendirilen genlerdir (18,24). Bu genlerde meydana gelen mutasyon veya mutasyonlar genin ekspresyonunu kısmen ya da tamamen ortadan kaldırarak, düşük işlevli ya da işlevsiz protein sentezletip sonuçta tümör gelişimine neden olabilirler (16,36,37).

Tümör baskılayıcı genlerin etkisiyle oluşan hastalıklar resesif etki mekanizmasıyla kendini gösterir. Yani tümör baskılayıcı genin işlevini yerine getirememesi için her iki allelinin de mutasyona uğraması gerekmektedir (16,17,25,37).

Kanser türlerinin pek çoğunda hücre döngüsü kontrol noktalarında görev alan protoonkogen ve tümör baskılayıcı proteinlere ait gen bölgelerinde mutasyonlar saptanmıştır (18,25,30). Karsinogenezle ilişkilendirilen protoonkogenler ve tümör baskılayıcı genlerden bazıları ve bu genlerde gözlemlenen mutasyonlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Protoonkogen ve tümör baskılayıcı genlerden bazılarında görülen mutasyon lar ve karsinogenezle ilişkisi (18)

Genler	**Normal Fonksiyonları**	**Kanserdeki Değişiklik Biçimi**	**İlgili Olduğu Kanserler**
H-ras (Protoo.)	Sinyal iletimi	Nokta mutasyonları	Kolorektal, mesane ve pek çok kanser tipi
c-myc (Protoo.)	Hücre döngüsünü, farklılaşma, apoptozis	Nokta mutasyonları, translokasyon, amplifikasyon	Lösemi, lenfoma, akciğer ve pek çok kanser tipi
RAR α (Protoo.)	Transkripsiyon faktörü, farklılaşma	Kromozomal translokasyon, füzyon ürünü	Akut promiyelositik lösemi
CDK2,4 (Protoo.)	Hücre döngüsü evrelerini düzenler	Aşırı ifade, mutasyonlar	Mesane, meme ve pek çok kanser tipi
p53 (Tüm.b.)	Hücre döngüsü kontrol noktaları, apoptozisi düzenler	Mutasyonlar, delesyonlar	Tüm kanserlerin %50'sinden fazlasında mutant (meme,akciğer, beyin)
RB1 (Tüm.b.)	Hücre döngüsü kontrol noktaları	Mutasyon ve delesyonlar	Retinoblastoma, osteosarkoma ve bir çok kanser tipi
Bcl2 (Tüm.b.)	Apoptozis düzenlenmesi	Aşırı ifade, apoptozisin durdurulması	Lösemi, lenfoma
BRCA2 (Tüm.b.)	DNA tamiri	Nokta mutasyonları	Prostat, meme ve yumurtalık kanseri

Protoo: Protoonkogen**; Tüm.b.:** Tümör baskılayıcı gen.

Kısaca özetlemek gerekirse; her türlü kontrol mekanizmasından kaçıp çoğalan ve vücudu istila eden kanser hücrelerinin genel özellikleri:

- Genomik kararsızlığa sahip olma,
- Apoptozisten kaçabilme,
- Kendi büyüme sinyallerini oluşturabilme,
- Büyüme inhibitörü uyarılarına karşı duyarsız olma,

- Sınırsız çoğalma kapasitesine sahip olma,
- Tümör anjiogenezisi ile tümörde yeni kan damarlarının oluşumunu sağlama,
- Doku invazyonu ve metastaz yapabilme yeteneğidir (24,38).

KANSER ETİYOLOJİSİ

Kanser etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte hem kalıtsal hem de edinsel faktörlerin etiyolojide önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Kalıtsal Faktörler

Kanser gelişiminde aile öyküsünün önemli bir risk faktörü olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Kanser olgularının %5'inden daha azının genetik geçiş gösterdiği belirlenmiştir (16). Örneğin meme kanserinin yüksek oranda gözlendiği ailelerde otozomal dominant geçiş gösteren BRCA1 mutasyonunu taşıyan çocukların % 50'sinde yaşamının ileri dönemlerinde kanser gelişimi gözlenmiştir. Özellikle mutasyon taşıyan kadınlarda hayat boyu meme kanseri gelişme riski % 87 gibi yüksek oranlara çıkmaktadır (39).

Kolon kanserinin kalıtsal formu olan ailevi adenomatöz polipler, APC geninin mutant tek kopyasını taşıyan bireylerde görülmektedir. Ailevi tür ile sporadik tür gözlenme sıklığı ve başlangıç yaşı açısından karşılaştırıldığında ailevi türün diğerine göre daha erken yaşlarda ortaya çıktığı ve daha sık gözlendiği görülmektedir (40).

Retinoblastoma ise RB geninin mutasyonlu tek kopyasını taşıyan çocuklarda ortaya çıkmaktadır. Bu ailesel formu içeren bireyler %85 oranında retinoblastoma'ya yakalanma olasılığı içerirler. Kalıtımsal vakalarda tümör genellikle çift taraflı, tek odaklı olarak, bazen de çoklu tümörler şeklinde gözlenmektedir. Sporadik retinoblastoma ise çoğunlukla tek gözde tek tümör olarak gözlenmektedir (18,41).

Kansere genetik yatkınlığı olan kişiler ile yapılan çalışmalar göstermiştir ki kalıtılan kanserlerde;

- Bir sonraki kuşakta kanser daha erken yaşlarda ortaya çıkar.
- İkinci kuşakta daha sık gözlenir.
- İlk kuşağa oranla daha şiddetli bir klinik tablo gözlenir (41).

Edinsel Faktörler

Edinsel faktörler arasında kanser gelişimine, fiziksel (radyasyon, ultraviyole ışınlar vs.), kimyasal (sigara, alkilleyici ajanlar vs.) ve biyolojik (virüsler, GDO'lu besinler vs.)

ajanların neden olabileceği ileri sürülmüştür. Tüm kanserlerin en az %50'sinin edinsel faktörlerle uyarıldığı bilinmektedir (42,43,44).

Fiziksel ajanlar: İyonlaştırıcı radyasyon DNA'ya doğrudan ya da dolaylı olarak 2 farklı şekilde hasar verebilir. Doğrudan etkide yüksek enerjili elektronlar DNA'nın fosfodiester bağlarını koparırlar. Dolaylı etkide ise, hücre içindeki moleküllerle iyonlaştırıcı radyasyon etkileşerek serbest oksijen radikalleri ($^{\cdot}O_2$ ve $^{\cdot}OH$) oluşur. Bu durumda serbest radikallerin DNA bileşenleri ile etkileşimi, zincirde kırılmalara yol açar (45,46).

İyonlaştırıcı radyasyon enerjisinin hücredeki ilk hedefinin DNA molekülü olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir (45). Genetik materyalde DNA ve kromozom boyutunda meydana gelen hasarlar; tek nokta mutasyonları, delesyon, translokasyon, kromatid kırıkları gibi çeşitli mutasyonlar olarak karşımıza çıkmaktadır (18,46). Bu mutasyonların zaman içerisinde artması ve birikmesi kanser başta olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir.

Hiroşima ve Nagazaki'ye atom bombası atıldıktan sonra sağ kalan Japonlarda yapılan çalışmalar, iyonlaştırıcı radyasyonun lösemi gelişimini 5-8 yılda en yüksek orana ulaştırırken, diğer bazı tümörlerde yaklaşık 40 yıl gibi uzun bir latent dönemi olduğunu göstermiştir (9,44,45,47). Yüksek doz radyasyonun lösemi vb. hematolojik kanserlere; prostat kanseri, mesane kanseri vb. solid tümör artışına neden olduğu ileri sürülmüştür (23).

Kimyasal ajanlar: İnsanlar gün içerisinde çok sayıda kimyasal karsinojen ve mutajene maruz kalabilmektedir. Bu maruziyet sonucunda hücre DNA'sında hasar meydana gelebilmektedir. Kimyasal ajanlardan bazıları yanlış baz eşleşmelerine, bazıları baz artışı ve eksilmesine neden olurken, bazıları da baz-şeker bağlarının ve bazlar arasında yer alan hidrojen bağlarının kopmasıyla mutasyonlara yol açmaktadır (18,46).

Toplumun genelinin sıklıkla karşılaştığı kimyasal maddeler arasında sigara dumanı ve alkilleyici ajanlar başta gelir.

Sigara dumanı: Sigara içimi kanserin önlenebilir tek nedenidir. Sigara dumanı yapısında bulunan 4000'den fazla kimyasal madde nedeniyle önemli bir karsinojen kaynağı olarak tanımlanmaktadır. Bu kimyasallar arasında polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N-nitrozaminler, aromatik aminler, aldehitler, benzen ve butadien en yüksek potansiyelli karsinojenlerdir. Sigara içeriğindeki maddeler DNA'da doğrudan ya da enzimler aracılığı ile aktif metabolitlere dönüştürülerek etki göstermektedir (7,48).

Alkilleyici ajanlar: Bu ajanlar direkt etkili karsinojen olup elektrofilik özelliktedir. Hücrede elektrondan zengin olan DNA, RNA ve protein bölgelerine kovalent bağlarla bağlanmaktadır. Alkilleyici ajanlar, nükleotidlerdeki amino ve keto gruplarına karbon içeren (CH3─ veya CH3 ─CH2─) alkil grupları eklerler. Alkil grupları, bazlarda tautomerik kaymaya ve bunun sonucunda transisyon mutasyonlarına neden olmaktadır (46).

Biyolojik faktörler: RNA virüslerinden; İnsan T hücresi lösemi virüsü tip 1 (HTLV-I), insan T hücresi lösemi virüsü tip 2 (HTLV-II) ve insan bağışıklık yetmezlik virüsü (HIV, AIDS virüsü), DNA virüslerinden; Papilloma virüs, Hepatit B virüsü, Epstein-Barr virüsünün insan kanserlerinin etiyolojisinde rol aldığı düşünülmektedir **(**17,36,49).

Buraya kadar saydığımız etiyolojik faktörler, genomda yol açtıkları değişiklikler sonucu, genomun hem yapısını hem de işlevsel davranışlarını değiştirebilmektedir. Normalden farklı davranışlar sergileyen genomun bu hali, genomik kararsızlık olarak adlandırılır.

GENOMİK KARARSIZLIK

Canlının yaşamını sağlıklı bir şekilde devam ettirebilmesi ve sonraki kuşaklara genomunu hatasız aktarabilmesi için genom kararlılığı şarttır. Gün içerisinde DNA'da pek çok etkene bağlı olarak hasarlar meydana gelmektedir. Ancak DNA onarım mekanizması çok organize bir şekilde çalıştığından bu hataların 1/1000'den daha azı kalıcı olabilmektedir (17).

Herhangi bir zamanda genlerin yer aldığı DNA bölgelerinin hasar oluşturacak ajanlarla etkileşmesi sonucunda, kontrol noktalarındaki bozukluklar, kromozomal aberasyonlar, telomerlerde fonksiyon bozukluğu meydana gelmesi genomik yapıda kararsızlık oluşmaktadır. Genomik kararsızlık, hücrelerin kendilerini malign yapıya dönüştürecek mutasyonlara uğrama olasılığını artırır. Genomik kararsızlık, hem solid tümör hem de lösemi gelişiminde erken gözlenen neoplastik değişimlerden biridir (38,50). Genomik kararsızlığın gelişmesi için üç farklı yolak tipi tanımlanmıştır;

1. NER Bağımlı Kararsızlık

Nükleotid eksizyon onarımı (NER)'de görevli genlerden birinde önce bir allelde, sonra ikinci allelde mutasyon meydana gelmesi ve sonuçta bu mutant alleller yüzünden inaktif hale gelen genin fonksiyon görememesine ek olarak tümör gelişimi için UV gibi çevresel bir ajana maruz kalmak da gereklidir (51).

2. Mikrosatellit Kararsızlığı

Yanlış eşleşme tamir (mismatch repair) genlerinde meydana gelen ilk mutasyonun ardından 2. allelde de mutasyonun meydana gelmesi tümör oluşumunun başlaması için yeterlidir (51).

3. Kromozom Kararsızlığı

Mitotik iği kontrol noktalarında yer alan genlerden birinin tek bir allelinde mutasyon meydana gelmesi tümör gelişimini başlatır (51).

Kanser ve Biyoindikatör Olarak Kullanılabilen DNA Hasarları

Kanserin erken tanısıyla ilgili araştırmalarda çeşitli biyoindikatörler kullanılabilmektedir. Bunlar Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Biyoindikatör olarak kullanılabilen DNA hasarları (2)

Biyoindikatörler	
• DNA zincir kırıkları • Kromozom aberasyonları • Kardeş kromatid değişimi (KKD) • Mikronükleuslar (MN) • Telomer kısalığı • Apurinik bölgeler	• DNA adduct • DNA oksidasyonu • DNA metilasyonu • p53 mutasyonu • Mitokondriyal DNA mutasyonu • Eşey hücrelerindeki DNA hasarları

Kromozomal Aberasyonlar'ın Kanserle İlişkisi

İyonlaştırıcı radyasyon, kimyasal ajanların in vivo ve in vitro ortamlarda kromozomal aberasyonlara neden olduğu bilinmektedir. Yapılan prospektif ve retrospektif çalışmalar kanser görülme sıklığının, yüksek oranda kromozomal aberasyon taşıyan bireylerde, düşük oranda kromozomal aberasyon taşıyanlara göre artmış olduğunu göstermektedir (19,52,53,54).

Çeşitli kanserlerle ilişkilendirilen kromozomal aberasyonlar sayısal ve yapısal olmak üzere 2'ye ayrılır. Hangi mekanizmayla meydana gelirse gelsin, DNA'nın kromozom boyutundaki tüm bozuklukları sonuçta kanser etiyolojisi ve prognozunda önemli görünmektedir.

Sayısal kromozom aberasyonları: İnsan kromozom aberasyonları arasında en sık gözlenen ve klinik olarak en önemli tipi anöploidi'dir.

Anöploidi: Anöploid hücrelerde fazladan kromozom bulunur ya da kromozom kaybı vardır. Anöploidiler oluşurken kaybedilen ya da kazanılan kromozomlar klinikte genelde sendromlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Örneğin;

Down Sendromlu erkek için karyotip 47, XY+ 21

Turner Sendromlu dişi için karyotip 45,X0.

Anöploidi, organizmada başlıca iki yolla meydana gelen bir kromozomal aberasyondur. Bunlar:

1. Non-disjunction**:** Mitoz ya da mayoz bölünmede kromozom çiftlerinin ayrılmasında meydana gelen aksamalardır. Bunun sonucunda yavru hücrelerden birine fazla bir kromozom gider, diğeri de bir kromozomunu kaybeder.
2. Kromozom kaybı: Hücre bölünmesi sırasında anafaz gecikmesi sonucu meydana gelir. İğ iplikçiklerinin kromozomlara doğru bağlanmaması ve metafaz plağının gerisinde kalıp bölünmeyi kaçırması buna örnek verilebilir (55).

Ayrıca kardeş kromatidlerin yapışmaması, defektli sentromer bölünmesi ve kromozomların ekstra replikasyonu gibi mekanizmalarla da anöploidi meydana gelebilir.

İlk kez 1914'te Boveri sayısal kromozomal aberasyonlarla kanser ilişkisine dikkat çekmiştir (56).

Kirsch-Volders ve ark. (55) çalışmalarında, germ hücrelerindeki anöploidilerin canlılarda pek çok büyüme ve gelişim defektine yol açtığını göstermiştir. Embriyonun oluşumu sırasında ortaya çıkan anöploidi ve poliploidi defektleri embriyoların çok büyük bir kısmının kaybedilmesine neden olur. Doğan çocukların ancak 3/1000'ü kromozomal anomalili olarak doğabilir. Daha önce de ifade edildiği gibi çoğunlukla sendromik olan bu bireylerde, sayısal aberasyon anöploidiye bağlı olarak artmış bir kansere yatkınlık durumu söz konusudur.

Panigrahi ve ark.'nın (57) çalışmalarında Down Sendromu, Klinefelter ve Turner sendromunda lösemi, meme kanseri, glondoblastoma ve nöral tüp defekti için riskin artmış olduğu bildirilmektedir. Trisomi 13 ve 18 için de artmış bir teratom, nöroblastom ve Wilms' tümörü riskinden bahsedilmektedir.

Somatik hücrelerdeki anöploidiler de çeşitli kanserlerin gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Araştırıcılar, anöploidi ve kanserin indüklenme mekanizması ile ilgili farklı görüşler öne sürmüştür (Tablo 3).

Tablo 3. Anöploidi ve kanserin indüklenme mekanizması ile ilgili görüşler

Kirsch-Volders ve ark. (55)	• Tümör baskılayıcı genlerden birinin anöploidi ile kopyalarını kaybetmesi, • Karsinogenezde rol oynayan resesif genlerin (Örneğin; mismatch tamir genleri) kromozom kaybı ile aktive olması, • Protoonkogenlerin tüm kromozom değişiklikleri ile onkogene dönüşmesi,
Panigrahi ve ark. (57)	• Anöploidinin derecesi ile malignensinin derecesi arasında uyum olduğu, • Anöploidinin tek başına kansere yol açamayacağını ama DNA tamir yolaklarının anöploidi ile bağlantılı bozukluklarında mutasyonların birikmesine yol açabileceği,
Duesberg ve ark. (58)	• Anöploidinin prekanseröz veya kanser hücrelerinde genomik kararsızlığın birincil sebebi olduğu, • Kromozomların oluşmasını, ayrılmasını ve tamirini gerçekleştiren proteinlerin dengesini bozarak yine anöploidiye yol açtığı, • Bir karsinojen tarafından uyarılan ya da kendiliğinden ortaya çıkan rastlantısal bir anöploidi ile başladığı ve anöploidinin yapısında varolan kararsızlığın bir zincir reaksiyonu başlatarak anöploid yapıların otonom gelişimini sağladığı,
Bannon JH ve ark. (59)	• Memeli sentrozomlarında içlerinde hücre döngüsü proteinleri ve tümör baskılayıcı genlerin proteinleri bulunmaktadır. Genomun gardiyanı olarak tanımlanan bu bölgede meydana gelen herhangi bir bozukluk sitokinez gecikmesi, mitotik kayma, hücre füzyonu, DNA tamirinde bozukluk gibi pek çok tabloya yol açmaktadır. Bu sonuçlar pek çok kanser türünün erken evrelerinde gözlenen bulgulardır.

Yapısal kromozom aberasyonları: Kromozom tipi aberasyonlar ve kromatid tipi aberasyonlar olmak üzere 2 gruptur.

Kromozom tipi aberasyonlar: İnterfazın erken evresinde, G_1 lenfositlerinin DNA replikasyonundan önce kromozom hasarı yapan ajanlara maruz kalması öncül nükleotidlerin yapısında değişiklikler oluşturmaktadır. Bu da kromozomlarda kırılmalara ve sonuçta translokasyon, delesyon, insersiyon, ring kromozom, disentrik kromozom ve sayısal anomalilere yol açmaktadır (1,45).

Günümüzde pek çok kanserin teşhis ve tedavisinde yapısal ve sayısal kromozom aberasyonlarının önemli olduğu bilinmektedir (1,2,60). Kromozom tipi aberasyonlar Şekil 4'de gösterilmiştir.

Karşılıklı değişim	Kollar arası değişim	Kol içi değişim	Kırık ve kopmalar
 Disentrik Asentrik	 Sentrik halka	 Ara delesyon	 Asentrik
 Resiprokal translokasyon	 Perisentrik inversiyon	 Parasentrik inversiyon	

Şekil 4. Kromozom tipi aberasyonlar (61)

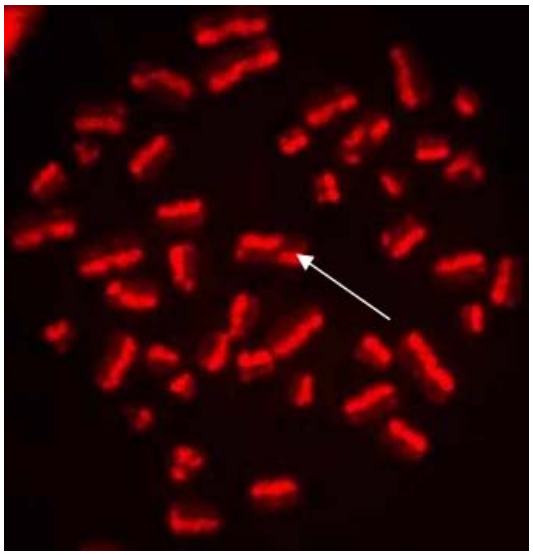
Kromatid tipi aberasyonlar**:** DNA sentezinden sonraki interfaz evresinde fosfodiester bağlarının kırılması ile kromatidde meydana gelir. Bunların, radyasyon dışında çeşitli mutajenlerle hasar görmüş DNA'nın yanlış replikasyonu veya yanlış tamirinden kaynaklandığı ve ilk DNA sentez fazı içinde oluşturulduğu düşünülmektedir. Kromatid tipi aberasyonlar Şekil 5'de gösterilmiştir.

Karşılıklı değişim	İç kollar arası değişim		Kollar arası değişim		Kırık kopukluk
 Disentrik	 Sentrik halka	 Disentrik	 Asentrik halka	 İzokromozom delesyon	
 Resiprokal translokasyon	 Perisentrik inversiyon	 Duplikasyon/ delesyon	 Parasentrik inversiyon	 Duplikasyon/ delesyon	Kırılma ve İç kollar arası değişim

Şekil 5. Kromatid tipi aberasyonlar (61)

Kardeş Kromatid Değişimi

Kromatid tipi aberasyonlar arasında özellikle sık incelenen bir aberasyondur. Kardeş kromatid değişimi (KKD) analizi, Fanconi Anemisi, Bloom Sendromu, Ataxia Telangiectasia gibi bazı genetik hastalıklara tanı konmasında yardımcıdır. Kardeş kromatid değişiminin artması mutajen etkinin varlığını gösterebilmektedir. Bloom sendromlu olguların yaklaşık % 25'inde 30'lu yaşlarda hem karsinoma hem de lösemi gelişebilir (62). Kromatid kırıklarının yıllar içinde birikmesiyle kanser görülme sıklığı (insidansı) artışı belirlenmektedir (1,45). Kardeş kromatid değişimi Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. Kardeş kromatid değişimi (KKD)

Yapısal ve/veya sayısal kromozomlardan kaynaklanan ve kanserlerle ilişkili olabileceği düşünülen bir diğer oluşum ise Mikronukleuslardır.

MİKRONUKLEUS

Mikronukleus (MN) hücrede mitozun metafaz-anafaz geçişi esnasında oluşan, hücre sitoplazması içinde, ana nukleusun dışında fakat nukleus ile şekil, yapı ve boyanma özellikleri bakımından aynı olan küçük küresel yapılardır (4,6,10). Fiziksel veya kimyasal mutajene maruz kalan hücrelerde, hasar gören tüm kromozomlar ve onların asentrik parçaları veya mitotik iğdeki hatalar nedeniyle kutuplara çekilemeyen kromozomların sitoplazmada yoğunlaşması sonucu oluşurlar. Bu nedenle MN kromozomal fragment veya tüm bir kromozom içerebilir (2,10,11,12). MN oluşum mekanizmaları Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Mikronukleus oluşum mekanizmaları (63)

- DNA kırıkları sonucu oluşan asentrik kromozom/ kromatid fragmanları,
- Tüm kromozomun/kromatidin kinetokorları üzerindeki tubulin fiberlerinin tutunmasındaki hatalar sonucu nükleus dışında kalması,
- Sentromerik DNA'da oluşan hatalar sonucu kromozom/kromatidlerin nükleus dışında kalması,
- Kinetokor proteinlerinde hataların oluşması sonucu kromozom/kromatidlerin nükleus dışında kalması,
- Nükleoplazmik köprü oluşumu ve kırılması,
- Histon modifikasyonları ve geç replikasyon,
- BFB (bridge-fusion-break) (kırık-füzyon-kırık) sonucu oluşan gen amplifikasyonu nedeniyle nüklear tomurcuklanma olarak tanımlanmıştır.

Mikronükleuslar mitozdan sonra farklı yollar izleyebilir;

1. Apoptozis ile hücreden uzaklaştırılabilir,
2. Hücreden dışarı atılabilir,
3. Ana nükleus içine tekrar girebilir,
4. Nükleus dışı bir yapı olarak, hücre sitoplazması içinde kalabilir (64).

Mikronukleus yöntemi, hem fiziksel hem de kimyasal genotoksik ajanların etkilerinin belirlenmesine olanak sağlayan bir yöntem olup uzun yıllardan beri kullanılmaktadır (6,65,66). Mikronukleusların dolaşan kan lenfositlerindeki doğal sıklığı bireyler arasında yaş ve cinsiyete bağlı olarak farklılık gösterir (11). Beklenilenin üzerinde görülen mikronukleus sıklıklarının kanser riskini arttırdığını ileri süren retrospektif çalışmalar giderek artmaktadır (7,8,9). 2006 yılında 10 ülkeden 20 laboratuvarın 1980-2002 yılları arasında yaptığı mikronukleus analizlerinin değerlendirilmesi ile yapılan çalışmada, mikronukleus sıklığı yüksek olan kişilerde, kanser gelişimi riskinin de yüksek olduğu, kanserden bağımsız olarak, bu kişilerin yaşam sürelerinin de diğer popülasyondan anlamlı düzeyde düşük olduğunu ortaya koymuşlardır (8).

Mikronukleus analizinin kullanım alanları:

- Karsinojenlerin sitogenetik etkilerinin,
- Farmasötik ajanların sitogenetik etkilerinin,

- Radyolojik kazalarda genetik materyaldeki hasarların,
- İn vivo/in vitro genotoksik hasarların,
- Kanser riskinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (2,10).

KANSERLERİN ORİJİNİNE GÖRE SINIFLANDIRILMASI

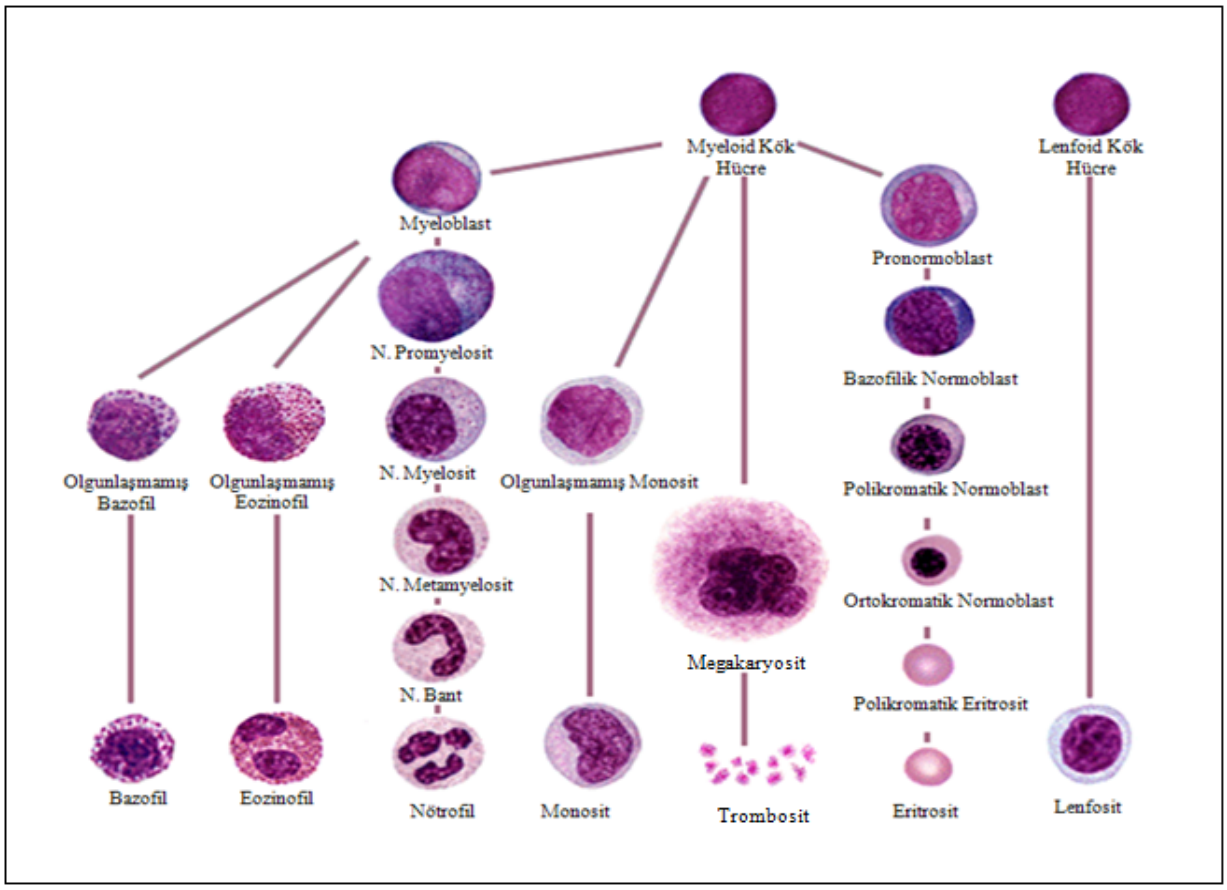
Kanserler, kanserin köken aldığı doku ve hücrenin embriyonik orijinine göre sınıflandırılırlar. Barsak mukozası, bronşlar ve meme duktusları gibi epitel hücrelerinden köken alan kanserler **karsinom,** bağ dokusu, kemik ya da kas hücrelerinden köken alanlar **sarkom,** bu iki ana grubun dışındaki bir diğer grup ise kemik iliği, lenfatik sistem ve periferik kan hücrelerinden köken alanlar ise **lösemi** ve **lenfoma**lardır. İnsan kanserlerinin yaklaşık %90'ını karsinomlar oluşturmaktadır. Sarkomlar ise solid tümörlerin gelişmesine neden olmaktadır (1,16,17,24).

Bu çalışmada araştırılan kanser türleri lösemiler, mesane ve prostat kanserleri olduğundan bu kanser türleri tanımlanmıştır.

LÖSEMİLER

Lösemiler, kemik iliğindeki hematopoietik hücrelerin habisleşmesi ve kontrol dışı çoğalmaları sonucu gelişen bir hastalık grubudur. Dolaşımdaki lökositlerin sayısının artışı ile belirlenmektedir (42,43,60).

Lösemiler, periferik doku ya da kemik iliğindeki anormal bir tek kök hücreden köken alır. Bu hücreler tek bir doku ya da organa ait bütün hücre türlerini verdiği için 'pluripotent kök hücresi' olarak isimlendirilir. Bu hücrelerin bir kısmı 'miyeloid' hücre serisini oluştururken, bir kısmı 'lenfoid' serisine farklılaşmaktadır. Miyeloid hücreler kemik iliğinde gelişimini tamamlayarak eritrositler, monositler, granülositler ve megakaryositlere farklılaşırlar. Lenfoid hücreler ise gelişiminin erken evresinde kemik iliğinden lenf düğümleri, dalak ve timusa göç eder ve lenfositlere dönüşürler. Lösemi, kök hücreden spesifik kan hücreleri oluşana dek herhangi bir farklılaşma aşamasında meydana gelebilir (42,67). Kan hücrelerinin olgunlaşma evreleri Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. Kan hücrelerinin olgunlaşma evreleri (68)

Lösemilerin Sınıflandırılması

Kan hücreleri, köken aldıkları hücre tiplerine göre;

- Miyeloid
- Lenfoid

Hastalığın ortaya çıkış hızlarına göre;

- Akut
- Kronik olarak 2 ana grupta yer almaktadır (42,44).

Akut ve kronik terimleri hastalığın doğal seyrindeki göreceli süreyi yansıtır. Akut lösemiler; birden ortaya çıkan, hızlı ilerleyen ve prognoz olarak daha dramatik seyirli hastalıklardır. Kronik lösemiler ise; daha az agresif olup, daha yavaş gelişim göstermektedir. Akut lösemiler her yaşta gelişebilir, kronik lösemiler yetişkinlerde görülür. Akut lösemiler genellikle olgunlaşmamış hücrelerde gelişirken, kronik lösemiler olgun hücrelerde gelişim göstermektedir (69,70).

AKUT LÖSEMİLER

Olgunlaşmamış (blastik) miyeloid ya da lenfoid dizi hücrelerinin kontrolsüz çoğalması sonucu kemik iliği, periferik kan ve diğer dokuları istila ederek birikmesi ile oluşan malign hastalıklardır (42,44,45).

Akut lösemi hücrelerinin karakteristik özelliği farklılaşma yeteneğini kaybetmiş olmalarıdır. Bu hücrelerin olgunlaşması akut miyeloid lösemi (AML)'de miyeloblast ya da promiyelosit, akut lenfositik lösemilerde (ALL) ise lenfoblast düzeyinde kalmıştır. Bu olgunlaşmayan ve kontrolsüz çoğalan hücrelerin kendi serilerini oluşturarak kemik iliğini istila etmesiyle normal hematopoietik hücrelerin (eritrosit, granülosit ve lenfosit) çoğalması engellenir. Böylece lösemi hücreleri periferik kana ve diğer dokulara geçerek tüm vücuda yayılırlar (metastaz) (44).

Akut lösemiler, insanlarda tüm kanserlerin % 10'unu; tüm lösemilerin ise yaklaşık % 50'sini oluştururlar. Erkeklerde kadınlara göre, beyaz ırkta zencilere göre daha sık görülür (42,45,71).

Laboratuvar bulguları: Kan sayımı sonucuna göre ileri derecede anemi, trombosit sayısının az olması, periferik kan ve kemik iliği yayma preparatlarında blast hücrelerinin bulunması ile tanı konulmaktadır (42,44).

Akut Lösemilerin Sınıflandırılması

Akut lösemiler, kan hücrelerinin morfolojik, histokimyasal ve immünolojik özelliklerine göre;

1. Akut lenfositik lösemi (ALL)
2. Akut nonlenfoblastik veya miyeloid lösemi (AML)

olarak sınıflandırılmış ve çeşitli alt grupları oluşturulmuştur (44,45).

Akut lösemi tiplerinden ALL ve AML görülme sıklığı tüm toplum ele alındığında yaklaşık olarak eşittir. Ancak doğal seyir, prognoz ve görülme sıklığı bakımından farklılıklar gösterir. ALL çocukluk döneminde, AML ise erişkinlerde sık görülmektedir (43,44). Çocuklardaki akut lösemilerin %85'i ALL, %15'i AML, erişkinlerdeki akut lösemilerin yaklaşık %70-%80'i AML, %15-20'si ALL tipindedir (42,72,73).

Akut Miyeloid Lösemi (AML)

Akut miyeloid lösemi, kemik iliğindeki miyeloid tek bir kök hücreden köken alan olgunlaşmamış lösemik blast hücrelerin hep aynı evrede kalıp birikmesi ve normal kan

hücrelerinin üretiminin azalmasıyla karakterize, klonal bir hastalıktır. AML'li hastaların yaklaşık %80'inde somatik mutasyon, kromozomal translokasyon sonucu ortaya çıkar (42,73, 43,71).

Akut miyeloid lösemi, erkeklerde bayanlara göre daha sık görülmekte ve görülme sıklığı yaşla artmaktadır. Çocuklarda AML görülme sıklığı 1,2/100.000, 50 yaşındaki kişilerde 3,5/100.000, 70 yaşındaki kişilerde 15/100.000 olarak belirtilmiştir.

Akut lösemi değerlendirilmesinde hücrelerin morfolojisi ve sitokimyasal boyanma özellikleri dikkate alınarak 'French-American-British Cooperative Group' (FAB) tarafından oluşturulan sınıflandırma sistemine göre AML sekiz alt gruba ayrılır. AML alt tipleri ve görülme sıklıkları Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. FAB sınıflandırmasına göre AML alt tipleri ve görülme sıklıkları (44,70,71)

AML'nin Morfolojik Alt Tipleri		**Görülme Sıklıkları (%)**
AML-M0	Minimal farklılaşmış akut myeloblastik lösemi	% 3-5
AML-M1	Olgunlaşma göstermeyen akut myeloblastik lösemi	% 15-20
AML-M2	Olgun akut myeloblastik lösemi	% 25-30
AML-M3	Akut promyelositik lösemi	% 5-20
AML-M4	Akut myelomonositik lösemi	% 20-30
AML-M5	Akut monositik lösemi	% 2-9
AML-M6	Akut eritrolösemi	% 3-5
AML-M7	Akut megakaryositik lösemi	% 3-12

Akut miyeloid löseminin alt tiplerinde gözlemlenen kromozom aberasyonları farklılıklar göstermektedir.

Bu alt tiplerinde görülen kromozomal aberasyonları ve füzyon genler Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. AML'de görülen kromozom aberasyonların bazıları (44,71)

FAB Alt Tipi	Sitogenetik Değişim	Moleküler Değişim
M0	t(10;11)	CALM;AF10
M1	trizomi 11, t(9;22)	MLL duplikasyonu, BCR;ABL
M2	t(8;21), t(9,22)	AML1; ETO, BCR;ABL
M3	t(15;17),t(11;17), t(5;17)	PML;RARα, PLZF;RARα, NPM;RARα
M4	t(8;16), inv(16)	MOZ;CBP, CBFβ;MYH11
M5	t(11q23)	MLL füzyonu
M6	t(3;5)	NPM;MLF1
M1, M2 ve M4	t(6;9)	DEK;CAN, SET;CAN
Birkaç FAB alt grubu	t(16;21)	TLS/FUS;ERG

Akut miyeloid lösemi'de t(8;21), t(15;17), inv(16) ve normal karyotip varlığı iyi prognoza işaret ederken; t(9;22) translokasyonu ve 11q23 delesyonu varlığı kötü prognozu göstermektedir. Bu kromozomal aberasyonlar hastalığın tanısında olduğu kadar prognozunda da önem taşır (74). Bunların dışında AML'de sık görülen diğer kromozomal aberasyonlar trizomi 8, del(5q), del(7q)dur (42).

Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL)

Akut lenfoblastik lösemi (ALL), lenfoid kökenli hücrelerin birikmesi ile karakterize klonal bir hastalıktır. ALL, esasen çocuk hastalığı olup, erişkinlerde daha az görülür. En sık olarak beş yaşın altındaki çocuklarda görülür. Erkeklerde görülme oranı kadınlara göre daha fazladır. Erişkinlerde akut lösemilerin % 20'sini ALL oluşturmaktadır**.** İlerleyen yaşlarda görülme sıklığı giderek azalır. Otuz beş yaşından sonra hafif bir artış gösterir ve 80-85 yaş grubunda ikinci kere küçük bir artış gösterir (42,43,73).

FAB sınıflamasına göre ALL olguları L1, L2 ve L3 olmak üzere 3 alt gruba ayrılır. Tablo 7'de ALL alt tipleri verilmiştir.

Tablo 7. FAB sınıflandırmasına göre ALL alt tipleri (43,44,71)

FAB Sınıflaması	Tanımlama	Morfolojik Alt Tipleri
L1	Çocukluk tipi ALL	Küçük hücreli, sitoplazması dardır.
L2	Erişkin tipi ALL	Büyük hücreli- heterojen, daha geniş sitoplazmalıdır.
L3	Burkitt tipi ALL	Büyük hücreli-homojen, sitoplazmaları koyu ve vakuollüdür.

Akut lenfoid lösemi'de gözlemlenen kromozom aberasyonların bazıları Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. ALL'de görülen kromozom aberasyonların bazıları (44,71)

Anomali Tipi	Gen Bölgesi
t(1;19) (q23;p13)	PBX1;E2A
t(4;11) (q21;q23)	AF4;MLL
t(5;14) (q31;q32)	IL3;IgH
t(8;14) (q24;q32)	MYC;IgH
t(8;22) (q24;q11)	MYC;Ig1
t(9;22) (q34;q11.2)	BCR;ABL
t(10;14) (q24;q11)	HOX11;TCRad
t(11;var) (q23;var)	MLL;var
t(12;21) (p13;q22)	TEL;AML1

Akut lenfoid lösemi'de farklı kromozom aberasyonları prognozu etkiler. Erişkin ALL olgularında en sık rastlanan genetik anomali Philadelphia (Ph) kromozomu t(9;22)'nin varlığıdır. Ph kromozomu olması durumunda hastalık hızla ilerlemekte ve daha kötü prognoz göstermektedir. ALL olgularında t(1;19), t(4;11), t(8;14) ve trizomi 8 de kötü prognozu göstermektedir (43,44,71,75).

KRONİK LÖSEMİLER

Kronik lösemiler, görünüşte olgun ancak normal olgun kan hücrelerinin işlevlerini yerine getiremeyen, malign kan hücrelerinin aşırı üretimi ile karakterizedir. Kronik lösemi daha yavaş ilerler ve sonuçları daha az dramatiktir. Temel olarak iki alt grubu vardır:

Kronik Miyeloid Lösemi (KML)

Kronik miyeloid lösemi (KML), çoğalma düzeninin bozulduğu ama farklılaşma ve olgunlaşmanın genellikle korunduğu klonal hematopoietik kök hücre bozukluklarıdır. Kemik iliğinde aşırı miyeloid hücre artışı, periferik kanda olgun miyeloid hücrelerden oluşan yüksek lökosit sayısı ile karakterizedir (42,71,76).

Kronik miyeloid lösemi'nin yıllık görülme sıklığı 1/100.000 olup tüm hematolojik malignitelerin %15-20'sini oluşturmaktadır. 50-60 yaş arasında daha sık görülür. Erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmektedir (1,4/1) (42,71,77).

Laboratuvar bulguları: KML tanısı, periferik kan yayması, kemik iliği incelenmesi ve karyotip analizinde Ph kromozomunun varlığı ile konulabilir. Periferik kan yayma

preparatlarında dev trombositler, megakaryosit parçacıkları gözlenmektedir. Bazofil ve eozinofil sayısı belirgin bir şekilde artmıştır (42,71).

Kronik Miyeloid Lösemi'de Görülen Kromozom Anomalileri

Kronik miyeloid lösemi'ye özgü kromozom anomalisi t(9;22) Philadelphia (Ph) kromozomudur. KML olgularında lösemik hücrelerin %90-95'inde Ph kromozomu bulunur. KML ve ALL'de bcr üzerindeki kırılma noktaları birbirinden farklı olduğu için bu hastalıkta gen ifadeleri de farklıdır. ALL'deki Ph koromozunun etkilediği gen bölgesi (q34,q11.2) iken, KML'de (q34,q11) dir. Ph kromozomun varlığı KML hastalarında iyi prognoza işaret ederken ALL'de kötü prognoz göstergesidir (71,75,77,78).

Philadelphia kromozomu 9. ve 22. kromozomun uzun kolları arasında resiprokal translokasyon sonucu oluşur. İnsanda sitogenetik anormalliğin bir neoplazma ile ilişkisinin gösterildiği ilk translokasyondur (79). Bu translokasyon ile 9 numaralı kromozom üzerinde yer alan abl protoonkogeni, 22 numaralı kromozom üzerindeki bcr geninin yanına giderek kimerik bcr/abl füzyon genini t(9:22)(q34;q11) oluşturmaktadır. KML'nin patogenezinde füzyon gen, p210 bcr/abl proteinini şifreler. Bu protein, artmış tirozin kinaz aktivitesi göstererek hücre içi sinyal yolaklarını etkiler ve kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olur. Bu protein mitoz aktivasyonu, apoptoz inhibisyonu, hücrenin adezyon özelliklerinin değişimi ile malign fenotipin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (16,18,43,67).

Kronik Lenfoid Lösemi (KLL)

Kronik lenfoid lösemi (KLL) küçük, olgun görünümlü, yavaş prolifere olan uzun ömürlü monoklonal lenfositlerin kan, kemik iliği ve lenfoid dokularda birikimi ile karakterize bir hastalıktır. Bu birikim KLL'de proliferasyon oranlarında artma olmaksızın lösemik lenfositlerin uzamış yaşam sürelerinin bir sonucudur. KLL'de lenfositler apoptozis'in inhibe edilmesi nedeniyle artar. KLL'deki lösemik hücrelerin çoğu hücre siklusunun G_0 evresinde kalmıştır (42,71).

Kronik lenfoid lösemi ileri yaş hastalığıdır ve tanıda ortalama yaş 55'tir. 60 yaş üzerinde toplumda görülme sıklığı 10/100.000'den fazladır. Erkeklerde kadınlara göre görülme oranı yaklaşık 1,7/1 dir. Radyasyonla ilişkisi gösterilememiş tek lösemi tipidir. Sitotoksik ilaçlar ve kimyasal ajanların da hastalığa neden olan bir etkisi bulunmamıştır (23,42,71).

Laboratuvar bulguları: Lökosit hücrelerinin %70-95'ini sitoplazması az, yoğun kromatinli çekirdeğe sahip, küçük ve olgun gibi görünen lenfositler oluşturur. Trombosit sayısı normal değerde ya da artmış bulunur ve trombositlerde fonksiyon bozuklukları sıklıkla belirlenir. Periferik yayma esnasında ezilmiş lenfosit çekirdeklerine sık rastlanır. KLL'de kemik iliğinde lenfositler en az tüm çekirdekli hücrelerin % 30'u civarında bulunur (42,71). KLL'de görülen kromozom aberasyonların bazıları Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. KLL'de görülen kromozom aberasyonların bazıları (80)

Anomali tipi	Gen bölgesi
13q14	RB1
17p13	p53
11q23	myc

Kronik lenfoid lösemi olgularında en sık gözlenen genomik aberasyon tipi delesyonlardır. Olguların yaklaşık % 55'inde 13q14 delesyonu (80), yaklaşık %20'sinde 11q23 delesyonu (81), yaklaşık %15-20'sinde trizomi 12, yaklaşık %7'sinde 17p delesyonu (80) saptanmıştır. 13q14 delesyonu iyi prognoz gösterirken 11q23 ve 17p13 delesyonu kötü prognoz göstergesi kabul edilmektedir (80,82).

LÖSEMİ ETİYOLOJİSİ

Tek yumurta ikizlerinde bir kardeşte lösemi varsa diğerinde de lösemi görülme olasılığının yüksek olması hastalığın kalıtsal karakterinin bir göstergesidir (42,43,83).

Atom bombasından sonra sağ kalanlarda yapılan çalışmalarda löseminin yüksek frekanslarda gözlenmesi birçok araştırıcı tarafından iyonlaştırıcı radyasyonun lösemi ile ilişkili olduğu şeklinde yorumlanmaktadır (23,44,45,47,84).

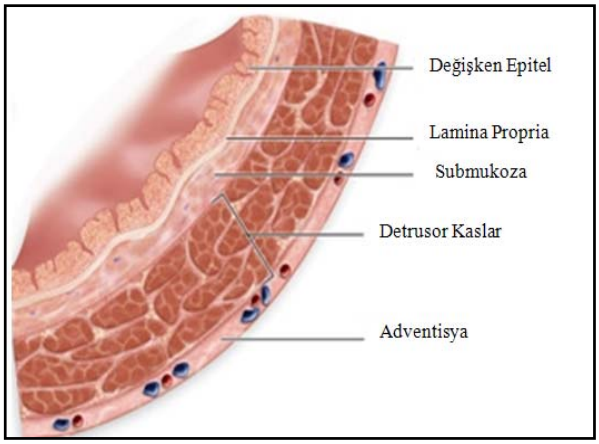
İyonlaştırıcı radyasyona maruz kalmanın akut lösemi ve kronik myeloid lösemi (KML) riskini arttırdığı fakat kronik lenfosit lösemi (KLL) görülme sıklığında artışa neden olmadığı kabul edilmektedir (45,85).

Alkilleyici ajanlardan benzen ve petrol ürünlerine mesleki olarak maruz kalan kişilerde akut miyeloid lösemi (AML) ve akut lenfoid lösemi (ALL) riskinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (42,43,86).

Alkilleyici ajanlar başta olmak üzere kanser tedavisinde kullanılan bazı sitotoksik ilaçların ise lökomojenik olduğu saptanmıştır (71,85). Bu ajanların uzun süre kullanımının, ikincil lösemi gelişimine neden olduğu gösterilmiştir (18,23,71).

MESANE KANSERİ

Mesane böbreklerden gelen idrarın biriktirildiği bir organdır. Karın boşluğunun alt kısmında yer alır. Mesane duvarının yapısında değişici epitel hücreleri, kas hücreleri, yağ dokusu ve bağ dokusu bulunur (87). Mesane duvarının katmanları Şekil 8'de verilmiştir.



Şekil 8. Mesane duvarının katmanları (88)

Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de mesane kanseri görülme sıklığı prostat kanseri'nden daha fazla olup ürolojik kanserler arasında ilk sırada yer almaktadır (89).

Mesane kanseri mesane duvarını oluşturan hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla oluşur. Mesane kanserlerinin % 98'i epiteliyal kökenlidir. Bunlardan yaklaşık %90'ı değişici epitel karsinom, %5-7'si skuamöz hücreli karsinom ve %1-2'si de adenokarsinomdan oluşmaktadır (89,90,91).

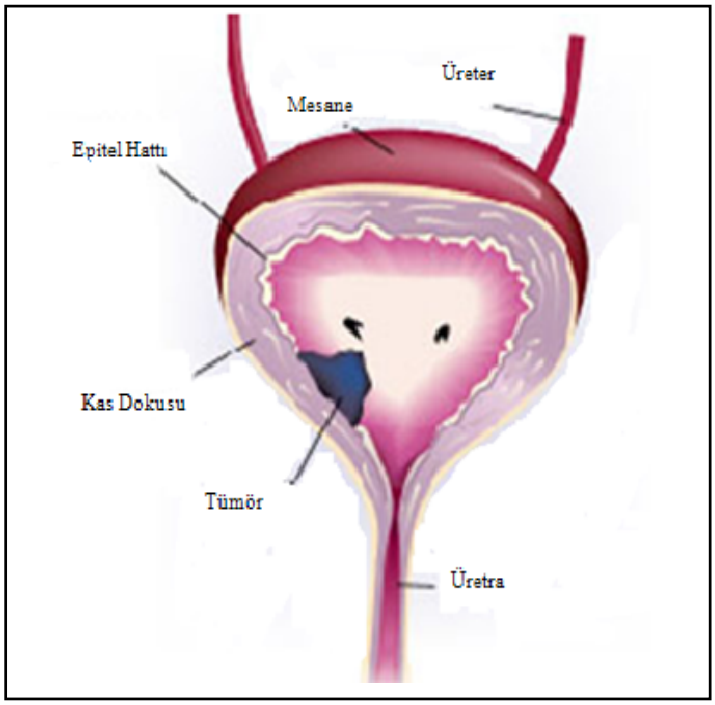
Mesane kanseri görülme sıklığı, yaşla birlikte artış göstermektedir. Ortalama görülme yaşı 65'tir. 65-69 yaş erkeklerde 142/100.000, kadınlarda 33/100.000, 85 yaş üzerindeki erkeklerde 296/100.000, kadınlarda 75/100.000 olarak bildirilmiştir. Son 50 yılda mesane kanseri insidansı yaklaşık olarak %50 artmıştır (92,93).

Mesane kanseri görülme sıklığı, çeşitli ülkelerde ve farklı coğrafi bölgeler arasında yaklaşık 10 kat farklılık göstermektedir. Bu farklı dağılımın kalıtım, çevresel faktörlere maruz kalma ve metabolik farklılıkların kombinasyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir (89,92,93).

Mesane Kanseri Tanısı

Mesane kanseri'nde en sık rastlanan belirti, idrarda kan (hematüri) bulunması olup hastaların yaklaşık %85'inde görülür (87,92,94).

Mesane kanserinin tanısı, idrar analizi, idrar sitolojisi ve çeşitli radyolojik yöntemler; ultrason incelemesi, sistoskopi (mesaneye ışıklı kamera sistemi ile bakma işlemi) ile konulmaktadır (44,92). Kanser kitlesinin tanımlanması için ayrıca intravenöz pyelografi (IVP)'de kullanılmaktadır. Bu yöntemde mesane içerisine doğru uzanan papillamatoz oluşum dolma defekti şeklinde kendini göstermektedir. Anormal bir görüntüye rastlanırsa mutlaka biyopsi alınmalıdır. Mesane kanseri Şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 9. Mesane kanseri (95)

Mesane kanseri'ne genetik yaklaşım: Mesane kanseri gelişiminde p53, Rb, p16, p21 gibi tümör baskılayıcı genler, kromozom 9 delesyonları ve H-ras, c-myc, erbB-1, erbB-2 gibi bazı onkogenler de etkilidir (91,96).

Mesane kanseri ile en sık ilişkilendirilen genler p53 (17p13) ve retinoblastoma (13q14) genleri'dir. Mesane kanserli olguların yaklaşık % 60'ında p53 mutasyonu, yaklaşık %25-30'unda retinoblastoma (Rb) gen mutasyonu görülmektedir (91,97,98,99).

Kromozom 17p kaybı ve p53 mutasyonları, Rb mutasyonu daha çok ileri evre ve yüksek tümör derecelerinde görülür (89,100,101).

Mesane kanserli olgulara spesifik olan 9. kromozomun uzun kolunda ortaya çıkan delesyonlar ise olguların %50'sinden fazlasında saptanmıştır (89,96,97,98).

H-ras (11p15) gen mutasyonları da mesane kanserinin progresyonu ile ilişkilidir. Kromozom 11 delesyon mesane tümörlü olguların yaklaşık %30-40'ında kötü prognoz tespitinde bağımsız değişken olarak bildirilmiştir (89,91,96,97,102). Farklı pek çok mutasyon saptanmışsa da sıklıkla kodon 12'deki tek nokta mutasyon (G→A), H-ras geninin aktivasyonuna neden olmaktadır (103). Bu genler çeşitli şekillerde mutasyona uğradığında, gen ekspresyon artışı, gen ürününde kayıplar veya işlev kaybı gibi sonuçlara yol açmaktadır.

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR) sıklıkla malign üroepitelyumda, normal epitelyumdan daha yüksek seviyelerde salgılanır. Özellikle yüksek dereceli ve ileri evreli tümörlerde belirgindir ve kötü prognozu gösterir (91,96,104). İzokromozom 5p ve trizomi 15 de kötü prognoz göstergesidir (104).

Mesane kanseri etiyolojisi ve risk faktörleri: Mesane kanserlerinin büyük bir kısmına çevresel faktörlerin neden olduğu düşünülmektedir. Mesane kanseri gelişimine ve ilerlemesine neden olan faktörler; sigara içimi, fazla analjezik kullanımı, enfeksiyonlar, uzun süreli böbrek ve mesane taşları, mesleki karsinojenler, genotoksik kemoterapötik ajanlar olarak bildirilmiştir (89,91,92,93).

Bilinen en önemli çevresel risk faktörü sigaradır. Kadınlarda mesane kanserlerinin yaklaşık %31-34'ü, erkeklerde yaklaşık %50'si sigaradan kaynaklanmaktadır (91,105). Sigara içenlerde, içmeyenlere göre mesane kanseri görülme sıklığı yaklaşık 4 kat fazladır (36, 89,104,105).

Mesane kanserli olguların yaklaşık %20'si mesleki maruziyet kaynaklıdır (96). Petrokimya tesislerinde çalışanlar, kaynakçılar, oto sanayi işçileri, deri işçileri, kağıt sanayi çalışanları, tornacılar, kamyon şoförleri, doktor, giyim sanayi çalışanları, boyacılar, lağım işçileri'nde artmış mesane kanseri riski olduğu bilinmektedir (36,89,101,106). Son yıllarda özellikle asbestozisin mesane kanserinde rolünü ortaya koyan çalışmaların sayısı giderek artmaktadır (105).

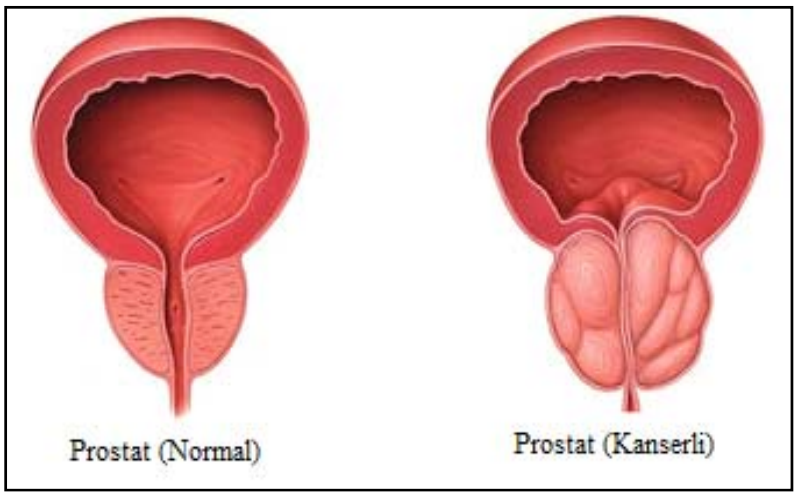
Mesane kanseri olgularının çoğunda kalıtım için güçlü epidemiyolojik bulgular bulunmuş ve mesane kanseri aile grupları da bildirilmiştir (91,97,107).

PROSTAT KANSERİ

Prostat, erkeklerde idrar torbasının (mesane) hemen çıkışında, rektumun (makat) önünde yer alan bir salgı bezidir. Bu bezin asıl görevi, salgısı ile spermleri taşıyan meninin sıvı kısmını oluşturmaktır. Ayrıca meninin miktarını çoğaltarak spermin döllenme

kapasitesini de arttırır. Yapısında yer alan epitelyum, stroma denilen bir doku ile kaplı olup her ki tabakada da kas lifleri bulunmaktadır (108).

Prostat kanserinin yaklaşık %95'ten fazlası epitel hücrelerinden köken alan adenokarsinomlardır (92,109). Nadiren değişici epitel hücreli, küçük hücreli, epidermoid kanserler ve sarkomlar da gözlenir. İyi farklılaşma olan tümörlerde histopatolojik tanı güç olabilir. Tümörü oluşturan hücrelerdeki farklılaşmanın azlığı ya da tümörün evresi önemli prognostik işarettir. Prostat kanseri Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. Normal prostat ve kanserli prostat (110)

Prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen kanser tiplerinden biridir. İnsidans yaşın ilerlemesiyle birlikte düzenli artış göstermektedir. Yeni tanı konmuş erkeklerin %75'i 65 yaş üstündedir. 50-59 yaş arası erkeklerde insidans 1970'lerden bugüne belirgin bir şekilde artmıştır. İnsidans 1973'de 35/100.000 iken, 1989'da 70/100.000'e yükselmiştir (106,111).

Prostat kanseri insidansı ve mortalitesi; ırk, yaşam tarzı, coğrafya ve ülkeden ülkeye hatta aynı ülkenin farklı yerleşim bölgelerindeki populasyonlar arasında değişiklik gösterir. Bu insidans değişikliğinin temel nedenini çevresel faktörler oluşturmaktadır (112).

Prostat Kanseri Tanısı

Hastalar genellikle sık idrara çıkma, idrar yapmada zorlanma, mesaneyi tam olarak boşaltamama hissi ve metastatik hastalık bulguları ile kliniklere başvururlar **(**44).

Prostat kanseri ileri evreye gelmedikçe nadiren semptom verir. (44,104). Parmakla rektal muayenede anormal bir durumun saptanması, prostat spesifik antijen (PSA) serum

değerinde yükseklik, görüntüleme yöntemlerinden; transrektal ultrasonografi (TRUS), bilgisayarlı tomografi birlikte değerlendirilerek tanı konulmaktadır (92,104,108,113).

Ancak bazı durumlarda kesin tanının konulabilmesi için, şüpheli görülen prostat bölgelerinden doku alınması gerekmektedir. Doku alınması, ultrason eşliğinde iğne biyopsisi ile gerçekleştirilmektedir. Biyopsi rektumdan prostat bezi içine uzatılan özel iğne aracılığı ile alınır. Biyopsi, prostat kanserinin kesin tanısını koymada tek yoldur (44,108,113,114).

Prostat kanseri'ne genetik yaklaşım: Ailesel prostat kanseri ile ilişkilendirilmiş bazı genler; 1q24-25 RNASEL, 17p11 ELAC2/HPC2 ve 8p22 MRS1'dir. Bu gen bölgeleri sıklıkla delesyona uğramaktadır. (112,115,116).

Kromozom 10'nun uzun kolu (10q23) heterozigot kaybı prostat kanserinde en sık delesyona uğrayan kromozom bölgelerinden biridir ve ileri evre prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir (112,115).

Prostat kanserinin son derece önemli bir diğer kromozomal bölgesi 8.kromozomun kısa kolu (8p) olup prostat kanserlerinin %85'inde delesyon gözlenir (106,109,112,114).

Tedavi edilmemiş prostat kanseri olgularında p53 mutasyonu %10-35 sıklıkta, tedaviye dirençli hastalarda ise %40-50 sıklıkta bulunmuştur (115,116).

Prostat kanserinde 5q, 6q, 16p, 16q, 17p, 17q, ve Y kromozom delesyonları da gözlenmektedir (112,114).

Prostat kanseri etiyolojisi ve risk faktörler: Prostat kanseri gelişiminde yaş bilinen en önemli risk faktörüdür. Prostat kanseri uzun süre alan, kronik ve kompleks karsinogenez olayları sonucu oluşmaktadır. Risk oluşturan diğer faktörler; genetik yatkınlık, D vitamini, sigara içimi, alkol, prostat hipertrofisi, kadmiyuma maruz kalmak şeklinde sıralanabilir (112,115).

Prostat kanseri, genetik ve çevresel faktörlerin etiyolojisinde rol oynadığı, çok yönlü bir malignitedir. Prostat kanserlerinin %10'unun kalıtsal olduğu kabul edilmektedir (112,114,115**).** Kanserin gelişmesi için en büyük risk faktörü ailede prostat kanseri öyküsünün olmasıdır (112,117). Birinci derece akrabalarında prostat kanseri olanlarda normal poplasyona oranla 2,1-2,8 kat fazla kanser riski saptanmıştır (104,114).

Tarım ilaçlarına maruz kalan çiftçilerde ve petrol endüstrisinde çalışan kişilerde prostat kanserinin artmış riski bildirilmiştir (112,118).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

ÖRNEKLEM GRUBUNUN OLUŞTURULMASI

Bu çalışmada Mart 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji ve Üroloji Kliniklerine başvuran yeni tanı almış, ilaç veya radyasyon tedavisi görmemiş olgular seçildi. Hematolojik kanserli olgular; 23 kadın ve 27 erkek toplam 50 bireyden oluşurken, ürolojik kanserli olgular; 3 kadın ve 22 erkek olmak üzere toplam 25 bireyden oluştu. Ürolojik kanserler içerisinde mesane ve prostat kanserli olgular yer aldı.

Kontrol grubu olarak, herhangi bir radyasyon ve genotoksik maddeye maruz kalmamış 50 sağlıklı birey seçildi. Kontrol bireyleri seçilirken, hasta yaş aralığı ve cinsiyet dağılımı dikkate alındı. Çalışmada ayrıca kontrol bireyleri için aşağıdaki dışlama ölçütleri kullanıldı.

1. Diabet, Lupus vb. otoimmün bir hastalığı olmak,
2. Allerjik bir hastalığı olmak,
3. Neoplastik bir hastalığı olmak,
4. Akut veya kronik bir enfeksiyonu olmak,
5. Herhangi bir kalıtsal hastalığı olmak.

GEREÇLER

Bilgilendirilmiş Olur Formu

Çalışmamızda olgu ve kontrol grubu bireylerine araştırmanın içeriğini kısaca anlatan, araştırma esnasında kendilerine uygulanacak işlemler hakkında bilgi veren, araştırmayla ilgili sahip oldukları haklar ve yüklendikleri sorumlukları kendilerine bildiren "Bilgilendirilmiş

Olur Formları" kullanıldı (Ek-1). Formlar çalışmaya katılan bireylere okutulduktan veya okunduktan sonra yazılı onayları alındı.

Sosyodemografik Bilgi Formları

Olgu ve kontrol gruplarında, kişilerin bireysel özelliklerini belirlemek için sosyo demografik bilgi formları kullanıldı (Ek-2). Formlarda hasta ve kontrol grubu bireylerinin yaş, cinsiyet, medeni durum, eğitim durumu, meslek, alkol, sigara ve madde kullanımı, aile ağacı bilgileri, genel tıbbi geçmişleri sorgulandı. Formlar hasta ve kontroller ile yüz yüze görüşme yapılarak doldurulduu.

Etik Kurul Onayı

Çalışmamız Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından, araştırmanın amacı, gerekçesi, gereç ve yöntemler ile gönüllü bilgi metni incelendikten sonra 29.12.2008 tarih ve 102-13887 sayılı belge (TÜTFEK 2008-191 nolu karar) ile onaylanmıştır (Ek-3).

YÖNTEM

Örneklerin Toplanması

Araştırmada kullanılan periferik kan veya kemik iliği örnekleri steril şartlarda, vakumlu ve lityum-heparinli kan tüplerine alınarak 1 saat bekletildi. Kültür ekimi yapılmadan önce 1 ml Ficoll-Histopaque ile 2ml kan veya kemik iliği örnekleri falkon tüpüne konulup 400xg'de 30 dakika santrifüj edilerek lökositler ayrıştırıldı. Bu lökositler steril pastör pipeti yardımı ile ayrılarak kültür tüpüne ekim yapıldı.

Hücrelerin Kültüre Alınması

Kan örnekleri Moorhead ve ark. (10) geliştirdiği mikro kültür yöntemi uygulanarak kültüre alındı. Kültür medyumu olarak L-glutaminli RPMI-1640 kullanıldı. 9 ml medyum içine kültür ortamını zenginleştirmek amacıyla %10 Fetal Calf Serum ve bakteri kontaminasyonunu önlemek amacıyla %1 Penisilin/Streptomisin ilave edildi. Medyuma en son 0,5 ml lökosit süspansiyonu ve lenfositleri bölünmeye teşvik etmek amacıyla uygun konsantrasyonda (stok 1mg/ml) 0.15 ml fitohemaglutinin (PHA) eklendi. Kültür işlemleri UV ışıkla (210-300 nm dalga boyunda) steril edilen bir doku kültür laboratuvarında, laminar air flow kabini içinde gerçekleştirildi. Hazırlanan kültür örnekleri 37°C' de %5 CO_2'li etüvde

kültüre alındı. Kültüre 44.saatte uygun konsantrasyonda (stok 6µg/ml) 0.3 ml Sitokalazin B (Cyt-B) eklendi ve 72. saatte kültür durduruldu.

Kültürde ve harvest aşamasında kullanılan cihazlar ve malzemelerin konsantrasyonları ile miktarları Ekler bölümünde topluca verilmiştir (Ek-4).

Hücre Fiksasyonu (Harvest)

Kültür materyali 72 saat sonunda 15 ml'lik falkon tüplerine aktarıldı. 800 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra buz soğuğunda 0.075 M KCL çözeltisi toplam hacmi 10 ml'ye tamamlayacak şekilde vorteks üzerinde damla damla ilave edilerek hipotonik şok uygulandı. Örnekler 800 rpm'de 8 dakika santrifüj edildikten sonra 3 kez Carnoy Fiksatifi (3:1 (v/v) metanol:asetik asit) uygulanarak fiksasyon işlemi tamamlandı. 2. fiksatife sitoplazmayı koruyabilmek için % 1'lik formaldehit eklendi. Her bir fiksatiften sonra 1000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve üstteki sıvı atıldı. Daha sonra hücreler, önceden dondurulmuş slaytların üzerine 45ºC'lik açı ile 30 cm yükseklikten damlatılarak yayıldı. Slaytlar oda sıcaklığında kurutuldu ve FISH uygulaması yapılana kadar -20°C'lik derin dondurucuda saklandı.

FISH PROTOKOLÜ

1.GÜN

1. Slaytlar 3:1 metanol:asetik asit içinde en az 1 saat bekletilir. %70, %90, %100' lük etanol serisinde 2 dakika yıkanır. Havada kurutulur.
2. 65ºC'de 15 dakika hibridizasyon fırınında kurutulur.
3. Slaytlar soğuduktan sonra 10 dakika asetonda bekletilir.
4. Havada kurutulur.
5. Her bir slayta 200µl RNAz (1µg/ml) uygulanır. 1saat 37ºC'de inkübe edilir.
6. 2xSSC'de 5 dakika oda sıcaklığında yıkanır.
7. PBS'de 5 dakika oda sıcaklığında yıkanır.
8. 3 dakika 37ºC'de pepsin uygulaması yapılır. (Prob hazırlanır.)
9. PBS'de 5 dakika oda sıcaklığında yıkanır.
10. Etanol serilerinden 2 dakika geçirilir (%70, %90, %100).
11. Havada kurutulur.
12. Slaytlar %70 formamidde 70ºC'de 3 dakika bırakılarak denatüre edilir (denatürasyon çözeltisi 70 ml iyonize formamid+30 ml 2xSSC).

13. Hemen ardından buz soğuğunda %70'lik etanol içinde 4 dakika bırakılır.
14. Etanol serilerinden 2 dakika geçirilir (%70, %90, %100).
15. Havada kurutulur.
16. Prob uygulanır, lamelle kapatılır ve en az 16 saat 37ºC'de nemli kutuda hibridizasyon için bırakılır.

Prob Hazırlama

1. 37ºC'de 5 dakika ısıtılır ve vortekslenir.
2. Slayt başına 10µl kullanıma hazır prob bir tüpe konur.
3. Prob 10 dakika 85ºC'de denatüre edilir ve hemen buza yerleştirilir.

2.GÜN

1. 37ºC'de 2xSSC'de 5 dakika yıkanır ve lamel alınır.
2. Slaytlar %50 formamide 50 ml 2xSSC eklenerek 37ºC'de 5 dakika iki kere yıkanır.
3. Slaytlar 2xSSC'de oda sıcaklığında 5 dakika iki kere yıkanır.
4. Her slayta 10µl DAPI uygulanır ve slaytın üzerine lamel kapatılır.

Preparatların Değerlendirilmesi

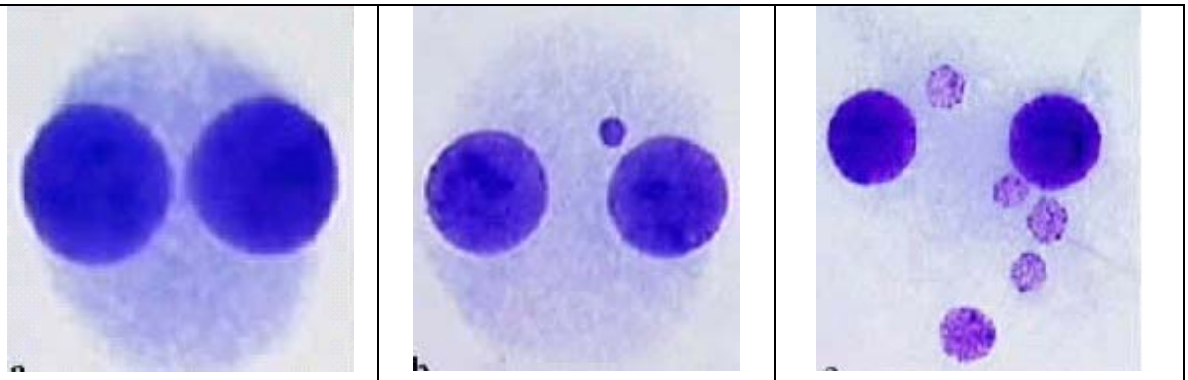
Hücreler Fenech'in (4) sayım kriterlerine göre değerlendirildi.

Fenech'in (4) sayım kriterleri;

1. Hücreler binukleat (BN) olmalıdır.
2. BN'ın her bir nukleus nuklear membranla temas halinde olmalı ve aynı sitoplazmik sınır içinde yer almalıdır.
3. BN içindeki iki nukleus da yaklaşık aynı boyutta, aynı yapıda olmalı, aynı şekilde boya almış olmalıdır.
4. BN içindeki iki nukleus nukleoplazmik köprü ile bağlanabilir. Bu nukleoplazmik köprü nukleus çapının 1/4'ünden büyük olmamalıdır.
5. BN'ın iki nukleusu birbirine temas edebilir ancak üst üste binmemelidir. Üst üste binmiş binukleatlarda ancak iki nukleusun sınırları da birbirinden ayrı seçilebiliyorsa sayılmalıdır.

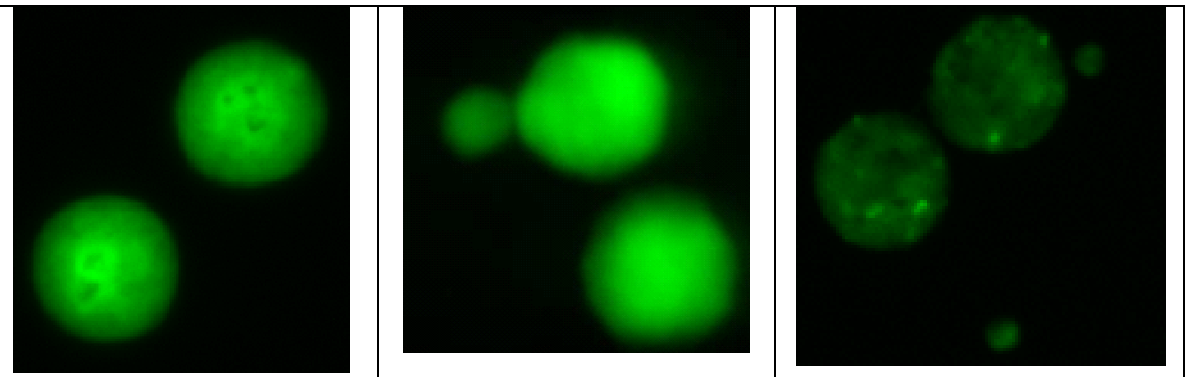
6. BN hücrenin sitoplazma sınırı ve zar yapısı bozulmamış olmalı ve komşu hücrelerin sitoplazma sınırından açıkça ayırt edilmelidir.

Toplam MN sıklıklarının kontrol edilebilmesi amacıyla bazı slaytlar Giemsa ile boyandı ve Işık mikroskobunda MN dağılımlarına bakıldı. Giemsa boyanan preparatların görüntüleri Şekil 11'de, pansentromerik FISH probu kullanılarak boyanan MN görüntüleri Şekil 12'de verilmiştir.



A. Binukleat hücre (BN)	B. 1 MN içeren BN	C. 5 MN içeren BN

Şekil 11. Giemsa ile boyanmış MN görüntüleri (120)



A. Binukleat hücre (BN)	B. 1 MN içeren Binukleat	C. 2 MN içeren Binukleat

Şekil 12. Pansentromerik FISH probu kullanılan MN görüntüleri
Floresan mikroskop (Olympus BX51 Floresan Ataçmanlı, yeşil FITC, kırmızı RHODAMINE filtre, x 1000)

Mikronukleus Değerlendirme Kriterleri (4)

1. İnsan lenfositlerindeki MN'ların çapı, genellikle ana nukleusun ortalama çapının 1/16 ve 1/3'ü aralığında değişmektedir.

2. MN'lar kırılgan olmamalıdır ve boyanan artefaktlardan ayırt edilmelidir.
3. MN'lar ana nukleusla birleşmiş ve/veya bağlantılı olmamalıdır.
4. Binukleatın iki nukleusu birbirine temas edebilir ancak mikronukleat sınırı çekirdek sınırından ayırt edilebilmelidir.

Mikronükleus Sayımı

Mikronukleus ve binukleatlar sayıldıktan sonra MN sayısı, toplam BN sayısına bölünerek mikronukleus oranı bulundu.

Pansentromerik FISH probları ile boyanan preparatlar floresan mikroskop (Olympus BX51 Floresan Ataçmanlı, yeşil FITC, kırmızı RHODAMINE filtre, x 1000)'ta sayıma alındı. Hazırlanan preparatlarda 2500 BN hücre sayıldı. Sayım esnasında, MN içeren binukleat hücrelerin sayısı ve koordinatları sayım kağıdına (Ek-5) kaydedildi. Ayrıca MN'ların sentromerik fragment içerip içermediğine göre de dağılımları (Ek-6) kaydedildi.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmada verilerin istatistiksel analizi XLStat-2010 (serbest yazılım) programı yardımıyla yapıldı.

Yaş değişkeninin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Simirnov testi ile araştırıldı ve yaş değişkeni normal dağılıma uygunluk gösterdiği için olgu ve kontrol grupları bağımsız gruplarda t testi ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

Bu çalışmada olgu grubunu Mart 2009-Mayıs 2010 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji ve Üroloji Anabilim Dallarına başvuran hastalardan yeni tanı konulmuş ve hiçbir tedavi almamış kişiler oluşturdu. Bu kriterler çerçevesinde Hematoloji olgu grubu 50, Üroloji olgu grubu 25 hastadan oluştu. Kontrol grubu olarak da olgu grubuyla yaş ve cinsiyet bakımından uyumlu 50 birey çalışmaya dahil edildi. Olgu ve kontrol gruplarına ait demografik bilgiler Tablo 10'da gösterilmektedir.

Tablo 10. Olgu ve kontrol grubu yaş aralığı ve cinsiyet dağılımları

Araştırma grubu	Tanı	Kişi Sayısı	Yaş aralığı	Cinsiyet dağılımı (K/E)
Kontrol	**-**	**50**	**18-87**	**21/29**
Hematoloji Olgu Grubu	ALL	7	30-56	5/2
	AML	38	18-87	16/22
	KLL	2	25-69	1/1
	KML	3	41-69	2/1
Toplam		**50**	**18-87**	**24/26**
Üroloji Olgu Grubu	Mesane Ca	16	48-83	3/13
	Prostat Ca	9	56-87	0/9
Toplam		**25**	**48-87**	**3/22**

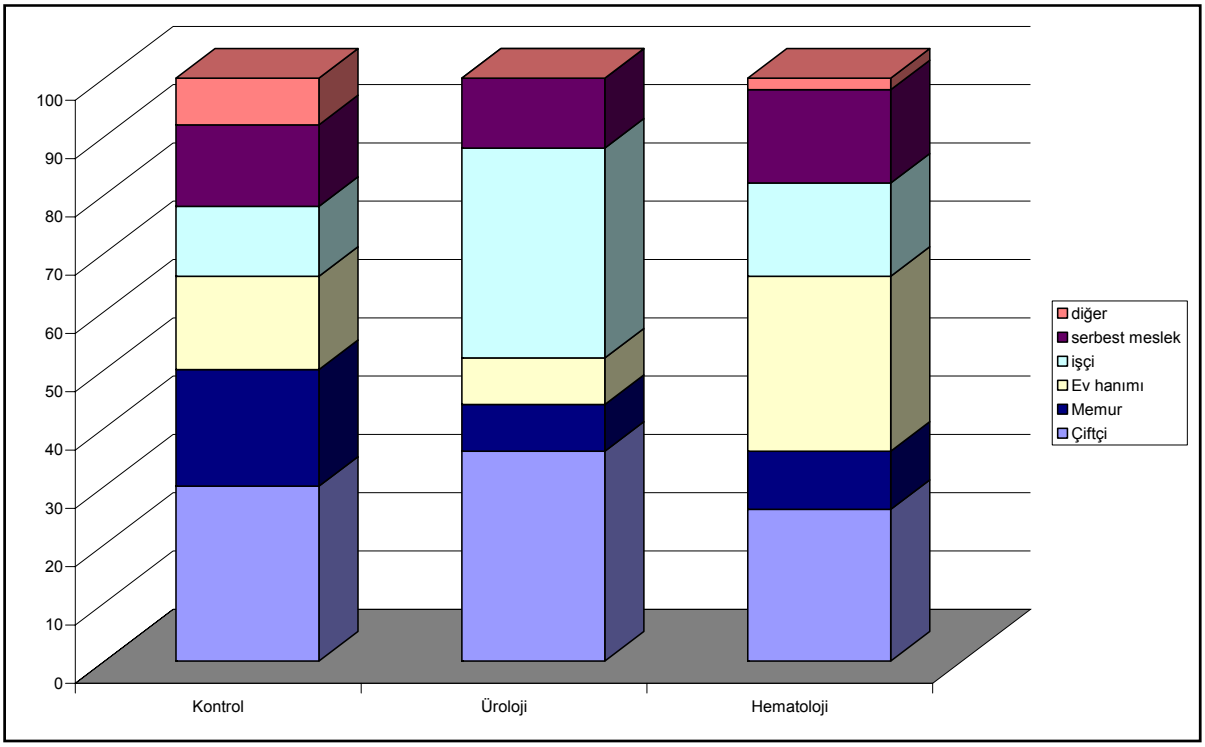
Mesane Ca: Mesane kanseri**; Prostat Ca:** Prostat kanseri.

Çalışmada yer alan toplam üç grubun yaş aralığının normal dağılıma uygunluğu Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. Olgu ve kontrol grubu bireylerinin yaş aralığı ve normal dağılıma uygunluk p değeri

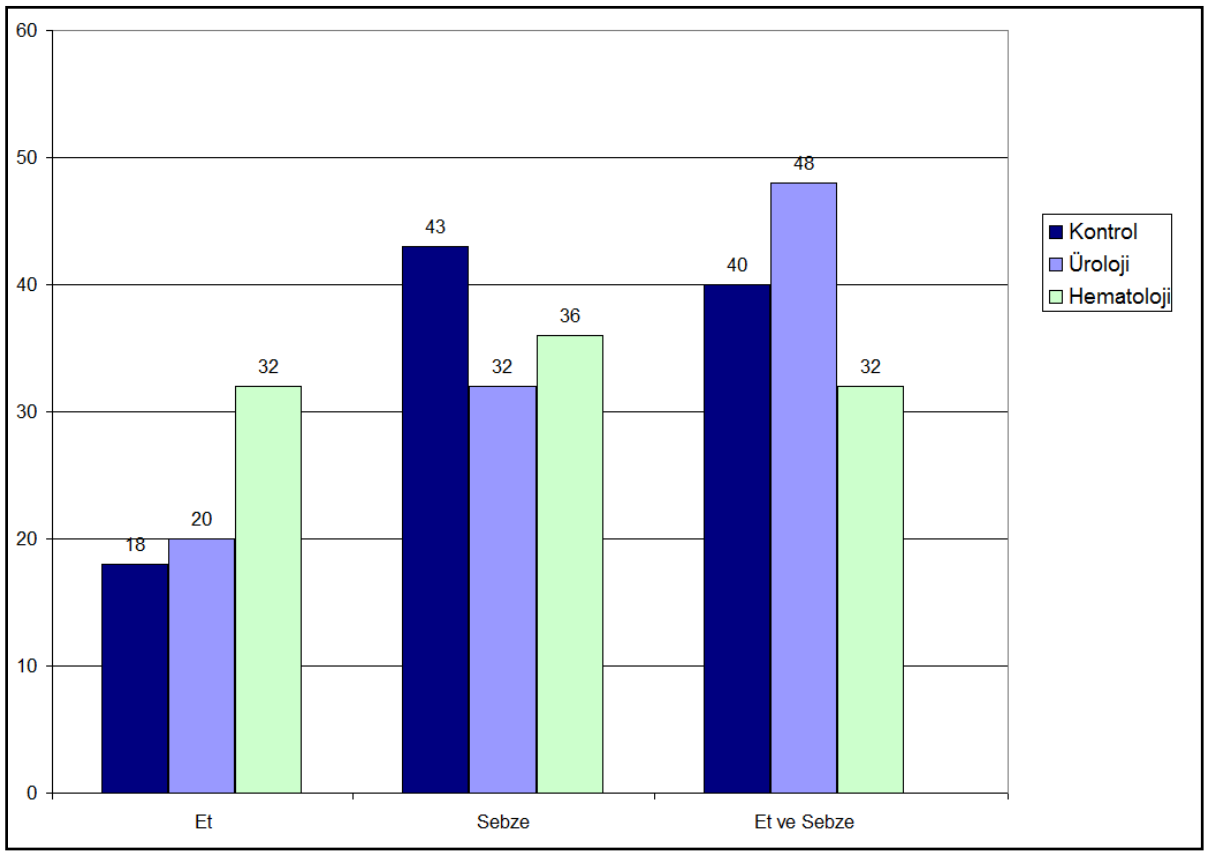
Gruplar	Yaş Aralığı	p değeri
Kontrol- Hematoloji	18-87	0.51
Kontrol-Üroloji	48-87	0.41
Hematoloji-Üroloji	48-87	0.34

Hem olgu hem de kontrol grubuna mesleki şartları, beslenme şekilleri, sigara alışkanlıkları vb. sorular içeren anketler uygulandı (Ek-2). Her 3 grubun da meslek dağılımları Şekil 13, beslenme alışkanlıkları Şekil 14, hayatının bir döneminde veya meslekleri gereği yoğun kimyasal maddelere maruz kalma oranları (sigara, çay-kahve ve akol) ve ailesel kanser öyküleri Şekil 15 ve Şekil 16'da özetlenmiştir.



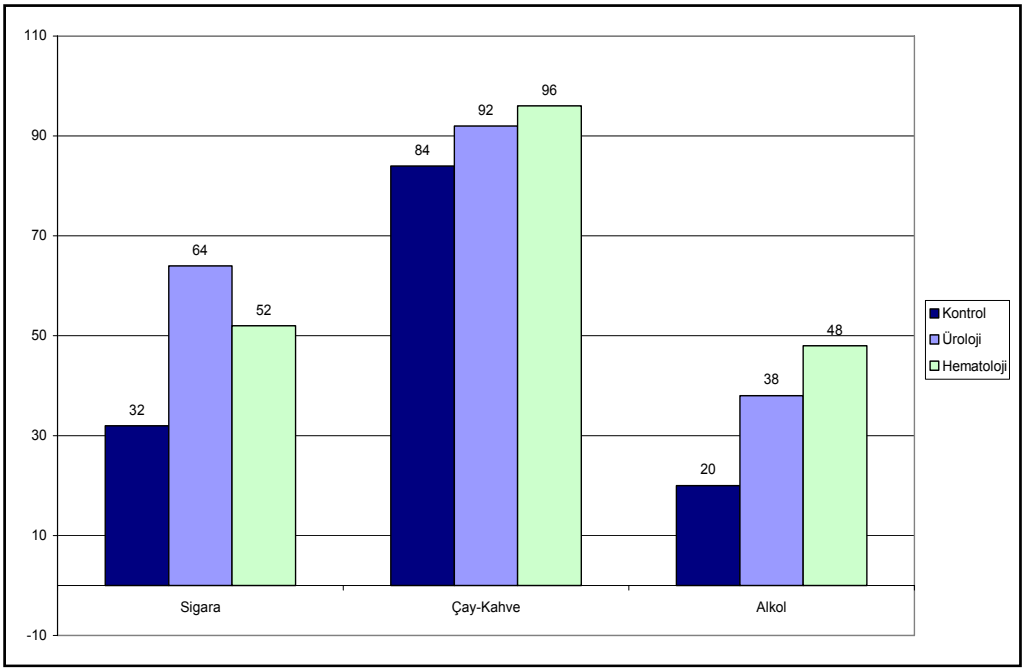
Şekil 13. Olgu ve kontrol gruplarının mesleklere göre yüzde dağılımı

Anket değerlendirmelerinde olguların ve kontrol grubunun ~30'unun çiftçi olduğu görüldü. Toplam değerlendirmede meslek oranları arasında fark var gibi görülse de cinsiyet bazlı değerlendirmede kontrol ve olgu gruplarının meslek yüzdelerin benzerlik gösterdiği tespit edildi. Erkek Üroloji ve Hematoloji olgu gruplarında en çok görülen meslek %36 ve %31 ile işçilik olurken, hematoloji olgu grubunda en geniş grubu ev hanımlarının oluşturduğu (tüm popülasyonda %30, kadınların yüzde 60'ı), gözlemlendi. Olgu ve kontrol gruplarının meslek dağılımlarının birbirleriyle uyumlu olduğu görüldü (p=0.12).



Şekil 14. Olgu ve kontrol gruplarının beslenme tercihleri

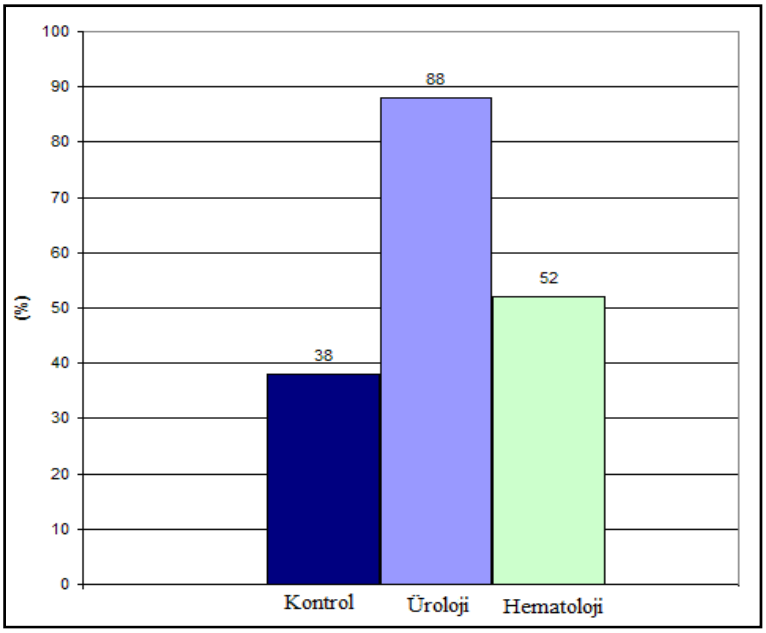
Olgular kendi içinde incelendiğinde, sebze ve sebze+et ağırlıklı beslenmenin her üç grup tarafından da tercih edildiği, hematoloji olgu grubunda et tüketiminin diğerlerinden yüksek olmakla birlikte grup genelinde anlamlı dağılım göstermediği görüldü.



Şekil 15. Olgu ve kontrol gruplarının sigara, çay kahve ve alkol tüketimi yüzdeleri

Sigara ve alkol tüketiminin olgu gruplarında kontrol grubuna göre 2 katı fazla olduğu görüldü. Çay-kahve tüketimi açısından gruplar arasında bir fark görülmedi.

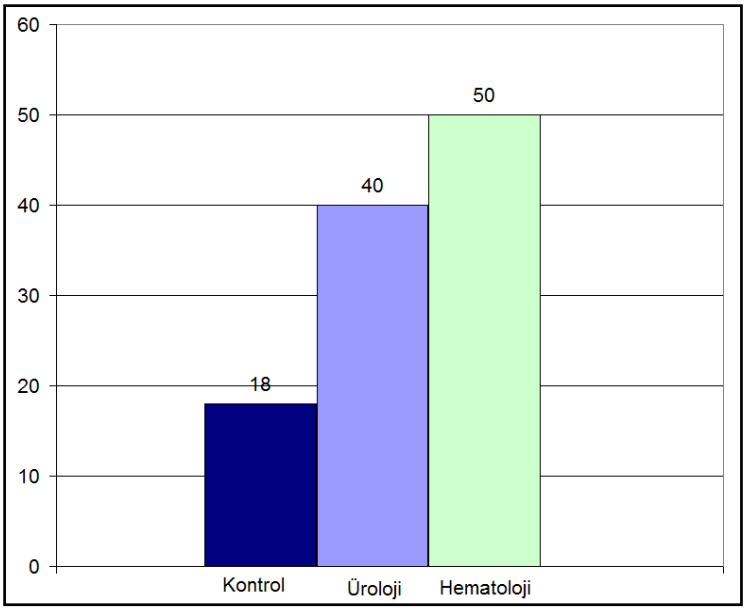
Olgu ve kontrol gruplarının mesleki olarak kimyasal ajanlara maruz kalma yüzde dağılımı Şekil 16'da verilmiştir.



Şekil 16. Olgu ve kontrol gruplarının mesleki olarak kimyasal ajanlara maruz kalma yüzde dağılımı

Üroloji olgu grubunun kimyasal ajanlara maruz kalma yüzdesi %88, hematolojik olgu grubunun ise %52 olarak hesaplandı. Her iki olgu grubunun da kimyasal maddelere maruz kalma oranı kontrol grubunda gözlenen %38'den anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

Olgu ve kontrol gruplarında ailesel kanser öyküsü Şekil 17'de verilmiştir.



Şekil 17. Olgu ve kontrol gruplarının ailesel kanser öyküsü

Hematoloji olgularının %52'si ve Üroloji olgularının %40'ının 1. derecede akrabalarında kanser öyküsü olduğu tespit edildi. Bu oran Kontrol grubunun %18'lik oranından anlamlı derece yüksek bulundu (p=0.03).

MN SIKLIKLARI VE MNC+, MNC-% ORANLARI

Kontrol Grubu

Kontrol grubunu oluşturan 50 bireye ait MN sıklıkları Tablo 12'de ve MNC+, MNC- yüzdeleri ise Tablo 13'de verilmiştir.

Tablo 12. Kontrol grubu MN'larının binukleatlara göre dağılımları

KONTROL GRUBU	SAYILAN HÜCRE	TOPLAM MN	MİKRONUKLEUS DAĞILIMI		
			0	1	2
K1	1000	7	994	5	1
K2	1000	8	992	8	
K3	1000	8	992	8	
K4	1000	9	991	9	
K5	2500	27	2489	27	
K6	1000	4	996	4	
K7	2500	20	2492	20	
K8	1000	4	996	4	
K9	1000	4	996	4	
K10	1250	6	1245	6	
K11	1000	9	993	5	2
K12	1000	7	993	7	
K13	2500	36	2486	36	
K14	1000	8	992	8	
K15	1000	7	993	7	
K16	1250	7	1245	5	1
K17	1250	6	1246	4	1
K19	1250	13	1240	11	1
K20	1250	5	1246	5	
K21	1000	12	988	12	
K22	1000	14	988	10	2
K23	1250	14	988	10	2
K24	1000	12	988	12	
K25	1250	15	1238	15	
K26	2500	36	2486	36	
K27	1250	5	1246	5	
K28	1000	4	996	4	
K29	1000	10	991	8	1
K30	1250	13	1240	11	1
K31	1000	12	988	12	
K32	1000	5	995	5	
K33	1000	7	994	5	1
K34	2500	28	2489	28	
K35	1000	10	991	8	1
K36	1000	12	988	12	
K37	2500	28	2489	28	
K38	1250	14	1239	14	
K39	1000	12	989	10	1

Tablo 12 (devamı). Kontrol grubu MN'larının binukleatlara göre dağılımları

KONTROL GRUBU	SAYILAN HÜCRE	TOPLAM MN	MİKRONUKLEUS DAĞILIMI		
			0	1	2
K40	1000	13	988	11	1
K41	2500	40	2484	40	
K42	2500	35	2486	35	
K44	2500	37	2485	37	
K45	2500	39	2484	39	
K46	2500	14	2494	14	
K47	2500	25	2490	23	1
K48	2500	32	2488	30	1
K49	2500	35	2487	31	2
K50	2500	34	286	34	

50 bireyde toplam 76750 hücre sayıldı ve 809 MN gözlemlendi. En fazla 2 MN taşıyan BN'lara rastlanıldı. MN'lu BN'ların %96'sının tek MN taşıdığı görüldü.

Tablo 13. Kontrol grubu toplam MN sıklığı ve bu MN'ların sentromer taşıma yüzdeleri

KONTROL GRUBU	YAŞ	CİNSİYET	MN SIKLIĞI *	MNC+(%)	MNC-(%)
K1	43	E	7	57	43
K2	60	E	8	75	25
K3	61	K	8	75	25
K4	36	K	9	78	22
K5	42	E	11	63	37
K6	67	E	4	75	25
K7	48	E	8	66	34
K8	48	E	4	100	0
K9	30	K	4	100	0
K10	47	E	5	100	0
K11	48	K	9	100	0
K12	40	E	7	100	0
K13	45	E	14	72	28
K14	32	K	8	50	50
K15	45	E	7	100	0
K16	55	K	6	71	29
K17	45	E	5	67	33
K18	56	K	8	60	40
K19	54	E	10	62	38
K20	40	K	4	60	40

Tablo 13 (devamı). Kontrol grubu toplam MN sıklığı ve bu MN'ların sentromer taşıma yüzdeleri

KONTROL GRUBU	YAŞ	CİNSİYET	MN SIKLIĞI *	MNC+(%)	MNC-(%)
K21	56	E	12	50	50
K22	62	K	14	64	36
K23	69	E	11	71	29
K24	67	K	12	42	58
K25	69	E	12	53	47
K26	67	E	14	64	36
K27	24	E	4	100	0
K28	32	K	4	50	50
K29	30	K	10	100	0
K30	40	K	10	46	54
K31	49	E	12	25	75
K32	35	E	5	60	40
K33	40	K	7	57	43
K34	45	E	11	64	36
K35	54	K	10	100	0
K36	65	K	12	58	42
K37	45	E	11	68	32
K38	40	K	11	64	36
K39	55	K	12	58	42
K40	68	K	13	62	38
K41	77	E	16	70	30
K42	65	E	14	71	29
K43	87	E	15	73	27
K44	67	E	15	73	27
K45	69	E	16	74	26
K46	18	K	9	79	21
K47	20	K	10	72	28
K48	36	E	13	69	31
K49	50	E	14	71	29
K50	50	E	14	74	26

Kontrol grubunda tüm popülasyonun MN sıklığı ortalaması 10.5±3.6 olarak tespit edildi. Kontrol grubunda mikronukleusların ~%70'inin sentromer taşıdığı görüldü.

Hematoloji Olgu Grubu

Lösemili 50 bireyden oluşan Hematoloji olgu grubunun tanıları ve demografik özellikleri MN dağılımları ve MN, MNC+%, MNC-% değerleri Tablo 14 ve Tablo 15'de verilmiştir.

Tablo 14. Hematolojik olgu grubu MN'larının binukleatlara göre dağılımları

HEMATOLOJİ OLGULARI	SAYILAN HÜCRE	TOPLAM MN	MİKRONUKLEUS DAĞILIMI										
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10+
H1	2500	49	2469	18	10	2		1					
H2	2500	66	2458	30	3	6	3						
H3	2500	58	2462	30	4	2		1			1		
H4	1250	43	1221	23	2	1	2	1					
H5	2500	56	2459	32	8						1		
H6	2500	129	2435	46	14		2		1		1		1
H7	1250	52	1216	24	6	4							
H8	2500	82	2447	38	10	3	2						
H9	2500	66	2448	44	4	4							
H10	2500	59	2455	33	10	2							
H11	1250	40	1226	15	5	2	1	1					
H12	2500	92	2445	38	12		2		3				
H13	2500	65	2473	10	6	6	2	2		1			
H14	1000	21	981	17	2								
H15	2500	100	2434	42	14	10							
H16	2500	48	2461	36	2		1						
H17	2500	64	2448	44	6		2						
H18	2500	52	2454	40	6								
H19	2500	80	2446	44	6								
H20	2500	60	2450	40	10	4							
H21	2500	50	2460	32	6	2							
H22	625	22	611	10	1	2	1						
H23	1250	40	1218	26	4	2							
H24	2500	60	2446	50	2	2							
H25	2500	64	2454	36	4	4	2						

Tablo 14 (devamı). Hematolojik olgu grubu MN'larının binukleatlara göre dağılımları

HEMATOLOJİ OLGULARI	SAYILAN HÜCRE	TOPLAM MN	MİKRONUKLEUS DAĞILIMI										
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10+
H26	2500	76	2442	50	4	2			2				
H27	2500	64	2446	44	10								
H28	1000	36	970	30	3								
H29	2500	54	2464	36	6	2							
H30	500	20	482	18	1								
H31	2500	64	2446	54	2	2							
H32	2500	96	2440	36	14	8	2						
H33	2500	60	2450	40	10								
H34	1250	37	1226	18	5	1							
H35	2500	84	2426	66	6	2							
H36	1250	41	1214	31	5								
H37	2500	88	2428	60	8	4							
H38	1250	37	1217	29	4								
H39	2500	60	2446	50	2	2							
H40	1250	36	1219	28	2		1						
H41	700	19	682	17	1								
H42	2500	70	2442	46	12								
H43	2500	126	2416	58	22	2		2					
H44	2500	102	2430	46	20	2		2					
H45	2500	92	2440	36	18	4	2						
H46	1000	50	962	32	3	1	1	1					
H47	1000	38	971	23	5	1							
H48	1000	37	969	28	2	1							
H49	2500	59	2449	45	4	2							
H50	1250	31	1227	16	6	1							

Hematoloji olgu grubunda toplam 100575 hücre sayıldı ve 2995 MN gözlemlendi. binukleat hücrelerde rastlanan en fazla MN sayısı 14 oldu. Hücrelerin % 21'inin 1 den fazla MN taşıdığı görüldü.

Hematolojik olgularda MN sıklığı ve MNC+ ve MNC- yüzde dağılımları Tablo 15'te gösterilmiştir.

Tablo 15. Hematolojik olgularda MN sıklığı ve MNC+ ve MNC- % dağılımları

HEMATOLOJİ	YAŞ	CİNSİYET	TANI	MN SIKLIĞI *	MNC+(%)	MNC-(%)
H1	76	E	AML	20	63	37
H2	47	E	AML	26	30	70
H3	62	K	AML	23	36	64
H4	18	K	AML	34	37	63
H5	57	E	AML	22	34	66
H6	56	K	ALL	51	29	71
H7	26	K	AML	42	21	79
H8	55	E	AML	33	37	63
H9	43	K	AML	26	41	59
H10	69	E	AML	24	44	56
H11	57	E	AML	32	38	63
H12	63	E	AML	37	36	64
H13	69	E	AML	26	35	65
H14	35	E	AML	21	48	52
H15	50	K	KML	40	52	48
H16	51	E	AML	19	42	58
H17	69	K	AML	26	50	50
H18	71	E	AML	21	35	65
H19	87	E	AML	32	33	68
H20	65	K	AML	24	47	53
H21	55	E	AML	20	36	64
H22	47	K	ALL	35	41	59
H23	34	K	AML	32	35	65
H24	31	E	ALL	24	43	57
H25	30	K	ALL	26	39	61
H26	72	K	AML	30	22	78
H27	29	E	KLL	26	22	78
H28	50	E	AML	36	67	33
H29	59	E	AML	22	26	74
H30	65	E	AML	40	10	90
H31	65	K	AML	26	22	78
H32	23	K	AML	38	42	58
H33	40	K	ALL	24	48	52
H34	48	E	AML	30	19	81
H35	54	E	ALL	34	21	79
H36	75	K	AML	33	27	73
H37	18	K	AML	35	30	70
H38	50	K	AML	30	22	78
H39	41	K	KML	24	27	73
H40	40	K	AML	29	31	69
H41	65	K	KLL	27	37	63
H42	70	E	KML	28	31	69
H43	50	K	ALL	50	51	49
H44	48	E	AML	41	20	80
H45	50	E	AML	37	39	61
H46	52	K	AML	50	26	74
H47	32	E	AML	38	21	79
H48	62	E	AML	37	43	57
H49	36	K	AML	24	46	54
H50	64	E	AML	25	29	71

Hematoloji olgu grubunda tüm popülasyonun MN sıklığı 29.8±8.1 olarak tespit edildi. Kontrol grubunda mikronukleusların ~%35'inin sentromer taşıdığı görüldü.

Hematolojik olgu grubu lösemi tiplerine göre de değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 16'da gösterilmiştir.

Tablo 16. Lösemi tiplerine göre MN sıklığı ve MNC+/MNC- oranları

	OLGU SAYISI	**MN SIKLIĞI±SD***	**MNC+/MNC-±SD ***
ALL	7	34.9±9.5	0.7±0.3
AML	38	28.9±7.4	0.6±0.4
Akut L.	45	30.3±6.7	0.6±0.3
KLL	2	25.9±0.7	0.4±0.2
KML	3	30.7±6.9	0.6±0.4
Kronik L.	5	30.8±8.2	0.6±0.3

***±Standart sapma.**

Akut Lösemiler için MN sıklığı 30.3±6.7, Kronik Lösemiler için ise 30.8±8.2 bulundu. Kronik ve akut tipler arasında MN sıklığı açısından toplamda anlamlı bir farklılık görülmedi. ALL'nin MN sıklığı, AML'den ($p=0.012$) ve diğer lösemi gruplarından ($p=0.034$) anlamlı derecede farklı bulundu. Kronik lösemi grubu kendi içinde olgu sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilemedi.

Üroloji Olgu Grubu

Üroloji grubunu oluşturan 25 olgunun tanıları, demografik özellikleri, MN sıklıkları ve MN, MNC+%, MNC-% değerleri Tablo 17 ve Tablo 18'de verilmiştir.

Tablo 17. Ürolojik olgu grubu MN'larının binukleatlara göre dağılımları

ÜROLOJİ OLGULARI	SAYILAN HÜCRE	TOPLAM MN	MİKRONUKLEUS DAĞILIMI							
			0	1	2	3	4	5	6	7
Ü1	1250	51	1199	23	10	2	1			
Ü2	2500	97	2403	47	16	2				1
Ü3	2500	119	2381	60	12	9	2			
Ü4	2500	126	2374	54	14	6	4		2	
Ü5	250	22	228	4	1	2				
Ü6	2500	82	2418	44	10	6				
Ü7	1250	30	1220	21	3	1				
Ü8	625	21	604	17	2					
Ü9	2500	70	2430	30	2	12				
Ü10	2500	106	2394	66	8	8				
Ü11	625	19	606	12	2	1				
Ü12	2500	105	2395	65	14	4				
Ü13	1250	32	1218	28	2					
Ü14	1250	52	1198	46	3					
Ü15	2500	64	2436	58	3					
Ü16	1000	29	971	20	3	1				
Ü17	2500	90	2410	56	4	6	2			
Ü18	1250	39	1211	34	1	1				
Ü19	2500	62	2438	50	6					
Ü20	1250	29	1221	25	2					
Ü21	350	8	342	6	1					
Ü22	1250	39	1211	33	3					
Ü23	1250	46	1204	31	4					1
Ü24	1250	47	1203	33	4	2				
Ü25	2500	62	2438	46	5	2				

Toplam 41600 hücre sayıldı ve 1447 MN gözlemlendi. Olgu grubunun MN sıklığı 34.8±12.2 olarak tespit edildi. En fazla 7 MN'lu BN'lara rastlanıldı. BN'ların %12'sinin birden fazla mikronukleus taşıdığı görüldü.

Tablo 18. Ürolojik olgularda MN sıklığı ve MNC+ ve MNC-dağılımları

ÜROLOJİ OLGULARI	YAŞ	CİNSİYET	TANI	MN SIKLIĞI *	MNC+(%)	MNC-(%)
Ü1	48	E	M.Ca	41	53	47
Ü2	76	E	M.Ca	39	70	30
Ü3	65	E	M.Ca	48	43	57
Ü4	83	E	M.Ca	50	63	37
Ü5	83	E	P.Ca	88	55	45
Ü6	81	E	P.Ca	33	71	29
Ü7	87	E	P.Ca	24	77	23
Ü8	56	E	M.Ca	34	86	14
Ü9	59	E	P.Ca	28	54	46
Ü10	69	E	M.Ca	42	72	28
Ü11	75	E	M.Ca	30	58	42
Ü12	69	E	M.Ca	42	83	17
Ü13	63	E	P.Ca	26	78	22
Ü14	54	E	M.Ca	42	87	13
Ü15	56	E	P.Ca	26	69	31
Ü16	63	E	P.Ca	29	76	24
Ü17	56	E	M.Ca	36	61	39
Ü18	56	E	M.Ca	31	62	38
Ü19	80	K	M.Ca	25	87	13
Ü20	63	K	M.Ca	23	83	17
Ü21	57	K	M.Ca	23	50	50
Ü22	60	E	M.Ca	31	79	21
Ü23	70	E	P.Ca	37	57	43
Ü24	65	E	P.Ca	38	72	28
Ü25	60	E	M.Ca	25	63	37

M.Ca: Mesane kanseri**; P.Ca:** Prostat kanseri.

Üroloji olgu grubunda tüm popülasyonun MN sıklığı 34.8±12.2 olarak tespit edildi. Kontrol grubunda mikronukleusların ~%68'inin sentromer taşıdığı görüldü.

Ürolojik olgu grubu kanser tiplerine göre de değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 19'da gösterilmiştir.

Tablo 19. Mesane kanserli ve prostat kanserli olgularda MN sıklığı ve MNC+/MNC oranlarının karşılaştırılması

OLGULAR	OLGU SAYISI	MN SIKLIĞI±SD	MNC+/MNC-
Mesane kanserli	13	36.8±7.2	3.0±2.0
Prostat kanserli	9	30.7±5.2	2.3±0.9

Mesane kanserli olguların MN sıklıklarının Prostat kanserli MN sıklıklarından daha yüksek olduğu görüldü. Aradaki farkın çok küçük olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (p=0.04).

OLGU-KONTROL GRUPLARININ SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Olgu ve kontrol gruplarının toplam MN ve mikronukleus taşıyan binukleat sayısı (BNMN) sıklıkları, Tablo 20 ve Şekil 18'de verilmiştir.

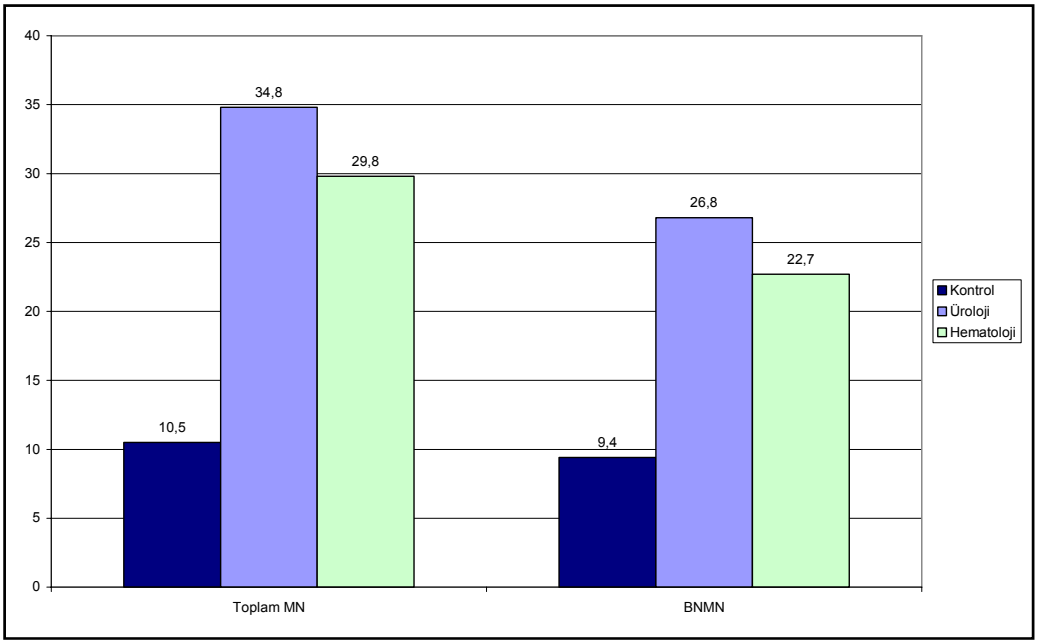
Tablo 20. Olgu ve kontrol gruplarının toplam MN ve BNMN sıklıklarının karşılaştırılması

Grup	Toplam MN±SD*	BNMN±SD**
Kontrol	10.5±3.6	9.4±3.6
Üroloji	34.8±12.2	26.8±5.1
Hematoloji	29.8±8.1	22.7±5.8

SD: Standart sapma**;**

***1000 BN hücrede;**

**** MN taşıyan binukleat sayısı.**

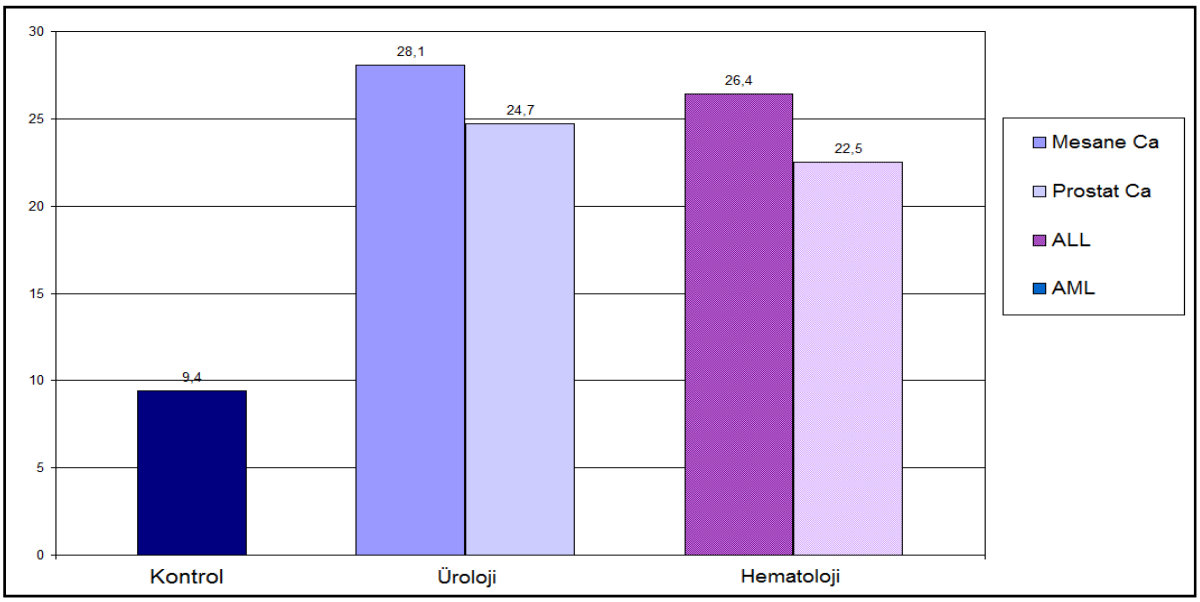


Şekil 18. Olgu ve kontrol gruplarının toplam MN ve BNMN sıklıkları

Kontrol-Hematoloji grubunun ve Kontrol-Üroloji grubunun MN sıklığı ve BNMN dağılımları istatistiksel olarak anlamlı derece farklı bulundu ($p<0.0001$).

Hematoloji-Üroloji gruplarının MN sıklığı ve BNMN dağılımları ise kendi içlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p=0.125$).

BNMN dağılımları olgu gruplarında tanılarına göre de incelendi sonuçlar Şekil 19'da verilmiştir.



Şekil 19. Olgu ve kontrol gruplarının BNMN açısından değerlendirilmesi

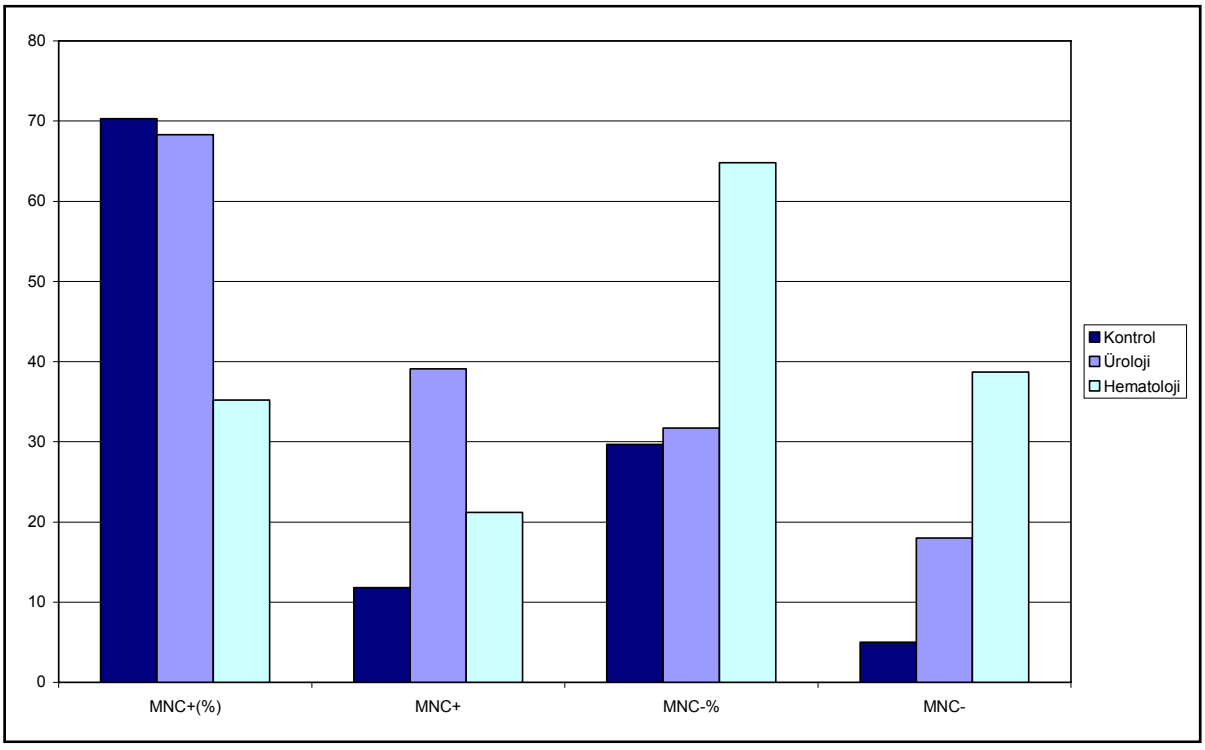
Hematolojik kanserli olgulardan ALL'de BNMN sıklığı 24.6±5.7 iken, AML'de 22.5±6.1 olarak gözlemlendi. Fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (p=0.03).

Ürolojik kanserlerden mesane kanserli olgularda prostat kanserli olgulardan daha yüksek BNMN sıklığı gözlenmekle birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0.04).

Olgu ve kontrol grubunda toplam MN sıklığında MNC+ ve MNC-% dağılımları ve sentromer taşıyan ve taşımayan MN'ların sıklıkları da karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 21 ve Şekil 20'de gösterilmiştir.

Tablo 21. Olgu ve kontrol gruplarında gözlemlenen mikronukleuslarda MNC+ ve MNC- yüzdelerinin karşılaştırılması

	MNC+		**MNC-**	
Grup	**(%)±SD**	**MNC^+**	**(%)±SD**	**MNC^-±SD**
Kontrol	70.3±16.2	11.1±8.4	29.7±16.2	5.0±3.9
Hematoloji	35.2±10.5	21.2±11.6	64.8±10.5	38.7±17.3
Üroloji	68.3±11.6	39.1±22.3	31.7±11.6	18±15.3



Şekil 20. Olgu ve kontrol gruplarında gözlemlenen mikronukleuslarda MNC+ ve MNC- yüzdelerinin karşılaştırılması

Kontrol ve Üroloji grubunda gözlemlenen MN'ların ~%70'inin, hematoloji olgu grubunda ise ~%35'inin sentromer taşıdığı gözlemlendi. MNC+ sıklığı açısından değerlendirildiğinde ise, Üroloji olgu grubunda gözlemlenen sentromerli MN'ların sayısının Kontrolun ~4, Hematoloji grubunun ise ~2 katı olduğu tespit edildi.

Doğal MN sıklığı çalışmalarında bazı araştırıcılar MN sıklığının yaşla ve cinsiyetle değiştiğine işaret eden bulgulara dikkat çekmişlerdir (11,15,121). Bu nedenle biz de Olgu ve Kontrol gruplarımızı yaş ve cinsiyet bakımından inceledik.

Yaş aralıklarını belirlemek için önce yaşlar küçükten büyüğe 5'li gruplar halinde halinde ayrılarak MN sıklığı ve MNC+ ve MNC- yüzdeleri açısından değerlendirildi. Daha sonra birbirini takip eden yaş gruplarında artış göstermeyenler birleştirilerek, aralıklar genişletildi. Olgu ve kontrol karşılaştırmalarında da bu yaş aralıkları dikkate alındı. Olgu ve kontrol gruplarının yaş aralıklarına ait standart hataları Tablo 22'de verilmiştir.

Tablo 22. Olgu-kontrol gruplarının yaş aralıklarına ait standart hataları

Yaş Aralığı	**Ortalama Yaş±SD**		
	Kontrol	**Hematoloji**	**Üroloji***
18-35	27±6	27±5	-
36-49	44±4	43±4	-
50-64	57±4	59±5	58±4
65-üstü	77±8	71±6	75±7
Min-Max Yaşlar	(18-87)	(18-87)	(47-87)

Üroloji olgu grubunda bulunan 48 yaşındaki 1 kişi de 50-65 yaş grubunda değerlendirildi.

Olgu ve Kontrol gruplarının yaş aralıklarına göre MN sıklığı ve MNC+/MNC- oranları Tablo 23 ve Şekil 21'de verilmiştir.

Tablo 23. Olgu ve kontrol gruplarında MN sıklığı ve MNC+ ve MNC- yüzdelerin yaş aralıklarına göre dağılımı

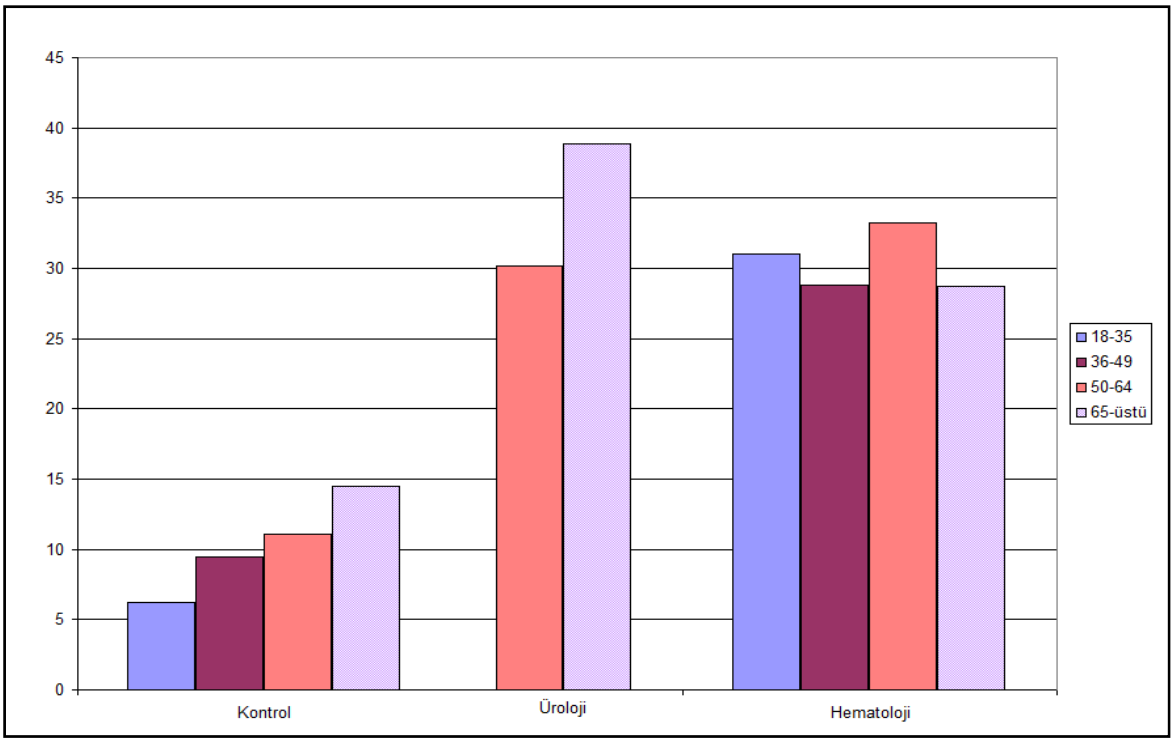
YAŞ ARALIĞI	MN SIKLIĞI*±SD**			MNC+/MNC-		
	K	Ü	H	K	Ü	H
18-35	6.2±2.3		31.0±7.0	3.7±1.3		0.5±0.2
36-49	9.5±3.1		28.8±5.9	3.1±0.9		0.5±0.2
50-64	11.1±2.9	30.2±6.3***	33.2±8.2	2.8±0.5	2.6±1.3	0.6±0.3
65-üstü	14.5±1.3	38.9±13.6	28.7±4.8	2.1±0.7	2.8±1.4	0.5±0.2
TOPLAM	10.5±3.6	34.8±12.2	29.8±8.1	2.9±1.3	2.7±1.6	0.6±0.3

K: Kontrol grubu; **Ü:** Ürolojik onkoloji olguları; **H:** Hematolojik onkoloji olguları;

***1000 BN hücrede;**

****Standart sapma;**

***** 1 olgu 48 yaşında (50 yaş grubunda değerlendirildi).**



Şekil 21. Olgu ve kontrol grubunda MN sıklığının yaşla değişimi

Kontrol ve Ürolojik olgu grubu yaşla anlamlı bir artış gösterdi. Hematolojik kanserli olgularda MNC- oranı kontrol grubundan yüksek gözlenirken, MNC+/MNC- yüzde oranlarında Kontrol ve Üroloji uyumlu bulundu.

Olgu ve kontrol grubunda MN sıklığının cinsiyete bağlı değişimi Tablo 24'de verilmiştir.

Tablo 24. Olgu ve kontrol grubunda MN sıklıklarının cinsiyetle değişimi

	MN SIKLIĞI*±SD**		**MNC-%±SD****		**MNC+%±SD****	
	Kadın	**Erkek**	**Kadın**	**Erkek**	**Kadın**	**Erkek**
Kontrol	8.9±3.2	10.4±4.0	31.8±3.8	29.7±2.3	68.2±5.6	69.3±3.4
Hematoloji	32.5±8.7	28.9±7.1	63.2±2.0	66.0±2.1	36.8±1.6	34.0±1.5
Üroloji	23.7±1.2	37.2±12.3	27.7±5.8	33.7±1.6	82.3±9.1	66.3±2.2

Cinsiyet açısından yapılan değerlendirmede ise Kontrol (p=0.018) ve Hematolojik olgu grubunda (p=0.011) mikronukleus sıklıkları arasında anlamlı bir fark görülmedi. Kontrol grubunda MNC+% ve MNC-% değerlerinde ortalamadan sapma gözlemlenmedi. Hematolojik olgu grubunda kadınlarda MNC+% arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0.04). Buna karşılık Üroloji olgu grubunda MNC+%'si Kadınlarda erkeklerden anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0.11).

TARTIŞMA

Dünyada kanser toplum sağlığını tehdit eden önemli hastalıkların başında gelmektedir. Bu durum ülkemiz için de geçerlidir. 1998 yılında kanserle savaş derneğinin yaptığı bir araştırmaya göre Türk toplumunda ölüm nedenleri arasında kanser, kalp krizinden sonra 2. sıraya yükselmiştir (122). 1982'den beri ülkemizde "bildirimi zorunlu hastalıklar" listesinde yer alan kanserin insidans artışlarının takibi için Sağlık Bakanlığınca "aktif kanser kayıtçılığı" için seçilen 14 ilden biri olan Edirne'de 2005 yılında kanser insidansı 100.000 kişide 194.39 olarak tespit edilmiştir. Bu değer Türkiye ortalaması olan 100.000 olguda 173.85'in üzerinde ve listedeki 14 il arasında 2. sıradadır (123).

Hem ülkemiz hem de yaşadığımız il açısından ön sıralarda yer alan bir mortalite nedeni olan kanserin mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi ve erken tanısında yardımcı olabilecek bir yol ortaya konulmasının önemi tartışılmazdır.

Biz de çalışmamızda kanserin mikronukleus sıklığı ile ilişkisini ortaya koyarak erken tanısına yardımcı olabilecek bir yöntem önermeyi ve mikronukleuslarının orijinlerini belirleyerek, farklı kanser tiplerinin mekanizmaları hakkında bilgi sahibi olmayı amaçladık.

Kanser gelişim mekanizmasının karmaşık bir yol izlediği ve kanser tipleri arasında farklılıklar gösterdiği artık bilinen bir gerçektir. Kanserin etiyolojisini araştıran çalışmalarda beslenme alışkanlıklarından, çevresel faktörlere kadar pek çok farklı etmenin rol aldığını gösteren kanıtlar ortaya konulmuştur. Bu çalışmada da MN sıklıklarının yanı sıra olgu ve kontrol gruplarının demografik bilgileri de karşılaştırarak, farklı kanser tiplerinde bu etmenlerin ilişkisi araştırıldı. Benzer yaş aralığında sağlıklı kişilerden oluşturulan kontrol grubu referans alındığında, beslenme şekillerinin et ve/veya sebze ağırlıklı olmasının ya da fazla miktarda çay kahve tüketiyor olmalarının bu iki kanser tipi için de belirleyici bir etken

olmadığı görüldü. Alkol tüketimi her iki olgu grubunda da kontrol grubunun yaklaşık 2 katı oranında bulunmakla birlikte, olgular içi değerlendirmede oran %50'nin altında kaldı. Bu nedenle anlamlı olmadığı sonucuna varıldı. Buna karşılık, her iki olgu grubunda da sigara kullanımı ve meslek gereği kimyasal maddelere maruz kalma yüzdeleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu. Bizim olgu grubumuz da sigara içen erkek mesane kanserli olgu oranı %62, prostat kanserli olgu oranı ise %66 bulunmuştur. Bu durum literatür bilgileri ile uyumludur. Kadınlarda mesane kanserlerinin yaklaşık %31-34'ünün, erkeklerde ise yaklaşık %50'sinin sigaradan kaynaklandığını ileri sürmektedir (91,105). Sigara içenlerde, içmeyenlere göre mesane kanseri görülme sıklığı yaklaşık 4 kat fazla olarak hesaplamıştır (89,92,104,105).

Ürolojik olguların %88'inin meslekleri gereği pestisit vb. kimyasallara maruz kalmış olmaları, çeşitli araştırıcıların mesane ve prostat kanserleri açısından kimyasal maddelere maruz kalmanın risk oluşturduğu sonucu ile uyumlu bulunmuştur (89,101,112,118)

Kansere yatkınlığın kalıtsal olduğu görüşünü destekler bir biçimde hematolojik olguların %52'sinin ve Ürolojik onkolojik olguların %40'ının ailesinde kanser öyküsünün bulunduğu gözlemlendi. Bu oranlara kontrol grubunun %18'lik oranından anlamlı derecede yüksek bulundu.

Jung ve ark.'nın(96) 2000 yılında yapıkları çalışmada mesane kanserli olgularda ailesel kanser öyküsünün riski 1.5 kat arttırdığını, Kramer ve ark.'ları (124) ise bu oranın 1.9 olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bizim olgu ve kontrol grubumuzda ailesel kanser görülme yüzdelerini karşılaştırdığımızda, oranın mesane kanserli olgularda 2.1 iken, prostat kanserli olgularda 2.5 hematoloji olgu grubunda ise 2.8 kat fazla olduğu gözlemlendi.

Kanser monoklonal bir hasalıktır. Gelişmesi farklı temellere dayanan karmaşık bir mekanizma izlemekle birlikte hastalık anormal, tek bir hücreden köken alır. Hem başlangıç aşaması hem de karsinogenez evresinde genomik insitabilitenin önemli bir neden olduğu artık bilinen bir gerçektir. Fiziksel ve kimyasal ajanlar klastojen özellikleri nedeniyle kanserle en fazla ilişkilendirilen ve araştırılan mutajen grubunu oluşturmaktadır. Bu nedenle bu faktörlerin kromozom düzeyindeki etkilerini belirlemek amacıyla kromozomal aberasyon (KA) analizi, Kardeş Kromatid Değişimi analizi (KKD), Mikronukleusların (MN) analizi vb. çeşitli biyomonitorizasyon yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler içinde MN'ların analiz yöntemi pek çok araştırmacı tarafından genotoksik etkinin ortaya konulmasında sıklıkla tercih edilmektedir (63).

Hem fiziksel hem de kimyasal ajanların etkisini ortaya koyabilmesi ve hızlı sonuç veren maliyeti düşük bir yöntem olması nedeniyle biz de çalışmamızda kanserli olgularda genomik insitabiliteyi belirlemek amacıyla MN'ların analizi yöntemini tercih ettik.

Toplumların endüstrileşme düzeyi, geleneksel alışkanlıkları yaş, cinsiyet vb. pek çok faktörün etkisiyle mikronukleusların sıklıkları toplumdan topluma, hatta aynı toplumun bireyleri arasında değişim gösterdiği pek çok araştırıcı tarafından ortaya konulmuştur (19,125,126,127,128,129).

Bu nedenle mikronukleus sıklığı karşılaştırma çalışmalarında sabit bir doğal sıklık değeri kullanmak yerine benzer özellikleri taşıyan kişilerden oluşan bir kontrol grubu oluşturmak tercih edilir. Biz de çalışmamızda hasta popülasyonuna uygun cinsiyet ve yaş aralığında bireylerden oluşturduğumuz 50 kişilik bir kontrol grubu kullandık. Kontrol grubumuzun 1000 hücrede 10.5±3.6 olarak belirlediğimiz MN sıklığı literatürdeki diğer araştırıcıların MN sıklıklarının minimum ve maksimum değerleri arasında yer aldı (Tablo 25).

Olgu gruplarımızı ise 1 yıl içinde üniversitemiz hematoloji ve üroloji kiniklerine başvuran yeni tanı almış 50 hematolojik kanserli ve 25 mesane veya prostat kanserli olgu olmak üzere toplam 75 kişilik hasta grubu oluşturdu. Hematolojik kanserli olgularda MN sıklığı 1000 hücrede 29.8±8.1 iken, Üroloji olgu grubunda MN sıklığı 1000 hücrede 34.8±12.2 olarak tespit edildi. Hematoloji ve Üroloji olgularının MN sıklığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek bulundu ($p<0.0001$). İki olgu grubu arasında ise anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p=0.125$).

Mikronukleus sıklığının kanserle olası ilişkisi 90'lı yılların sonundan bu yana pekçok araştırıcının ilgisini çekmiştir. Kanserli olgularda mikronukleus sıklıklarının belirlenmesi ile ilgili çalışmaların bir kısmı Tablo 25'de özetlenmiştir.

Tablo 25. Kanserli olgularda mikronukleus sıklıkları

Araştırıcılar	Olgu grubu	Olgu-kontrol sayısı	MN sıklıkları*	Oran
Ventakachalam ve ark. (125)	Serviks kanseri	25 (olgu) 21 (Kontrol)	29.8±1.8[1] (olgu) 12.1±0.8 (Kontrol)	2.5
Başer ve ark. (126)	KML	10 10	15.18±5.05[2] 6.45±2.75	2.4
Baciuchka-Palmaro ve ark.(127)	Solid tümörler	10 10	21.7±17.5 [2] 11.1±6.0	2
Hamurcu ve ark. (19)	Lösemi	20 20	34.1±1.19[1] 17.8±0.75	1.9
Murgia ve ark. (128)	Sindirim-solunum sistemi kanserleri	59 101	4.7±3.4[2] 1.5±1.7	3.1
Milosevic ve ark. (129)	Farenks, meme, uterus kanserleri	44 40	15.28±5.05[2] 6.45±2.75	2.4

***1000 hücrede**

[1]Standart hata

[2]Standart sapma

Araştırıcılar kanserli olgularda MN sıklığının kontrol grubuna göre 1.9 ile 3.13 arasında değişen oranlarda yüksek olduğu sonucuna varmışlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızdaki ürolojik kanserler için 2.7 ve hematolojik kanserler için 2.8 oranları ile uyumludur (Ürolojik olgu grubu kendi yaş aralığına karşılık gelen 12.8 oranı ile karşılaştırıldı).

Genotoksik etki araştırmalarında toplam MN sıklığının yanı sıra dikkate alınan bir diğer faktör MN taşıyan binukleatların oranıdır (130). BNMN açısından değerlendirildiğinde yine kanserli olgularda mikronukleus taşıyan binukleat sayılarının da kontrol grubunun yaklaşık 2 katı olduğu görülmektedir (Tablo 20).

Olgu gruplarını kendi içlerinde kanser tiplerine göre incelediğimizde bazı olgu gruplarında diğerlerinden daha yüksek oranlarda MN sıklığı gözlemlendi. Hematolojik

olgularda Kronik ve Akut tipli MN sıklığı açısından toplamda anlamlı bir farklılık görülmezken, ALL'li olguların MN sıklığı, AML'li olgulardan (p=0.12) ve diğer lösemi gruplarından (p=0.34) anlamlı derece de farklı bulundu. BNMN değerleri açısından değerlendirildiğinde ise ALL'li olgularda 24.6±5.7 iken, AML'li olgularda 22.5±6.1 mikronukleus taşıyan BN gözlemlendi fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (p=0.03). Aynı durum Prostat kanserli olgulardan daha fazla MN sıklığına sahip mesane kanserli olgularda da gözlemlendi, bu olgu grubu için de toplam MN sıklığındaki fark BNMN'de ortadan kalktı (p=0.04). Her iki durumda da toplam MN sıklıklarındaki yüksekliğin hücre başına düşen mikronukleus sayısının yüksek olmasından kaynaklandığı görüldü. Olgu gruplarında alt grup sayılarının yeterli olmaması ve MN-Kanser ilişkisini araştıran diğer yayınlarda BNMN oranları ile ilgili bir bilgiye rastlanılmaması nedeniyle bu durumun bireysel olarak maruz kalınan fiziksel veya kimyasal ajanların yoğunluğu veya kanser tipi ile ilişkili olup olmadığına dair bir yorum yapılamadı.

Doğal MN sıklığı çalışmalarında bazı araştırıcılar yaşla ve cinsiyetle değiştiğine işaret eden bulgulara dikkat çekmişlerdir (11,15,121). O nedenle Olgu ve Kontrol grupları yaş (Tablo 23) ve cinsiyet (Tablo 24) açısından da incelendi. Kontrol grubu ve üroloji olgu grubu bireylerinde yaşla anlamlı bir artış görülürken, Hematolojik olgu grubu bireylerinde bir değişim tespit edilmedi. Bu duruma kontrol ve üroloji olgu gruplarında sentromer taşıyan MN oranının yüksek olması, buna karşılık, Hematoloji olgu grubunda asentrik taşıyan MN'ların sayısının fazla olmasının neden olduğu düşünüldü (Tablo 21).

Cinsiyet açısından yapılan değerlendirmede ise Kontrol (p=0.018) ve Hematolojik olgu grubunda (p=0.011) beklenenin aksine kadın ve erkek MN sıklıkları arasında anlamlı bir fark görülmedi. Doğal MN sıklığının cinsiyetle değiştiğini ortaya koyan bir çalışmada, sentromer taşıyan MN'ların anlamlı oranda X kromozomu taşıdıkları MN+FISH yöntemi ile gösterilmiştir (15). El zein ve ark. (7) tarafından yapılan bir başka çalışmada X ve 1. kromozomun mikronukleuslardaki sıklığı anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. El Zein ve ark.çalışmasında (7) Kadınlarda X kromozomu kaybının yaşla ilgili olduğu düşünülmektedir (15). Her iki grupta da kadın yaş ortalamasının (Kontrol 45±15, Hematolojik olgu grubu 47±15) erkek yaş ortalamasından (kontrol 55±15 ve hematolojik olgu grubu 57±15) daha düşük olmasının cinsiyetler arasında MN sıklığı farkının ortaya çıkmamasına neden olduğu düşünüldü. Ürolojik olgu grubunda bulunan 3 mesane kanserli kadın olgunun MN sıklıklarının bütün kanser grupları içinde en düşük değere sahip olması dikkat çekti. Yapılan dosya incelemesinde 3 kadın olgunun erkek mesane kanserli olgulardan farklı olarak invazif

tipte tümöre sahip oldukları tespit edildi. Olgu sayısının çok yetersiz olması nedeniyle mesane kanserli olgu tiplerinde MN sıklıklarının daha büyük popülasyonlu bir çalışmayla ele alınmasının daha doğru olacağı görüşüne varıldı.

Doğal sıklığı oluşturan mikronukleuslar kutuplara çekilemeyen tüm kromozomlar ya da asentrik kromozom parçalarını taşırlar. Klasik Giemsa boyama ile mikronukleusların sentromer taşıyıp taşımadığını anlamak mümkün değildir. Bu amaçla MN+FISH yöntemi geliştirilmiş, uygulama olarak da Kinetokor (K) veya sentromer (C) bölgelerinin floresan boyalarla işaretlenmesinin uygun olacağı görüşü ileri sürülmüştür. Ancak Mateuca ve ark.'ları (63) Kinetokor (K) bölgeleri boyanarak yaptıkları çalışmada X ve Y kromozomu taşıyan MN'ların bazen (K-) sonuç verdiğini gözlemlemiştir. Daha önce de sözü edildiği gibi özellikle X kromozomu tüm kromozom taşıyan MN'larda sıklıkla yer alır. X kromozomunun değerlendirilememesi özellikle kadınlarda MNC+ sıklığının yanlış değerlendirilmesine yol açabilir. Bu nedenle pansentromerik prob kullanarak yapılan analizlerin daha güvenli olacağı aşikardır. Biz de çalışmamızda kanserli olgularda mikronukleusların sıklığının yanı sıra mikronukleusların orijinlerini de pansentromerik prob kullanarak MN+FISH yöntemiyle belirledik. Böylece kanser tiplerinin etiyolojileri arasındaki farklılığı ortaya koymayı amaçladık.

Yapılan çalışmalar kimyasal ajanların daha çok iğ ipliği mekanizmasını etkileyerek MN'ların içinde tüm kromozom bulunmasına yol açtığını, fiziksel ajanların ise kromozom kırıklarına yol açarak asentrik fragmanların MN içeriğine katılmasına neden olduklarını ortaya koymuştur (13,15, 127,131).

Kontrol grupları ile yapılan doğal MN sıklığı çalışmaları mikronukleusların %62.5-71.5 arasında bir oranda sentromer içerdiğini ortaya koymaktadır (11,121,127). Bizim çalışmamızda gözlemlediğimiz 70.3±16.2 oranı literatürle uyumlu bulunmuştur. Üroloji olgu grubunda da MNC+% dağılımı bu sınırlar içinde yer almaktadır. Buna karşılık Hematolojik olgu grubunda MNC+/MNC- oranının 0.6±0.3 olması Bu olgu grubunun etiyolojisinde fiziksel ajanların etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Pala ve ark.'ları (11) 2008 yılında gerçekleştirdikleri Co-60 doz cevap eğrisi çalışmasında, kontrolda 62.8±5.2 olan MNC+%' sinin 0.25 Gy'de 48.2±3.2'ye 5 Gy'lik dozlardaysa %15'in altına düştüğünü gözlemlemişlerdir. Fiziksel ajanların meydana getirdiği aberasyonların başında disentrik kromozomlar ve asentrik fragmentler öne çıkar (6). Disentriklerin bir sonraki bölünmeye geçme oranları %50'dir (132). bu durumda kemikiliği yenilenme sürecinde dolaşan kana dönecek olan lenfositler herbir bölünmede taşıdıkları

disentriklerin yarısını kaybedeceklerdir. Bu durum MNC+değerlerinin düşmesinin nedenlerinden biri olarak kabul edilebilir.

Hematolojik kanser sitogenetiğinde translokasyonlar öne çıkarken (9,44), Mesane ve prostat kanserlerinde anöploidi görülüyor olması da (89,92,93), MNC+ yüzdesinin farkının bir açıklaması olabilir. Translokasyonlar sonucunda meydana gelen füzyon kromozom farklı bir protein üretimine neden olmakla birlikte fiziksel açıdan kromozom şeklinden farklı olmadığından ve karyotipte kromozom sayısı artışına neden olmadığından dolayı bölünme sırasında translokasyon nedeniyle mikronukleus meydana gelmeyecektir. Ancak translokasyon resiprokal değilse, traslokasyona eşlik eden asentrik fragment MN'da yer alacaktır. Mesane ve prostat tümörlü olgularda ise normal karyotip sayısından fazla kromozoma sahip hücrelerde bölünme sırasında iğ ipliğine tutunup kutuplara çekilemeyen sentromer taşıyan kromozom parçası veya tüm kromozom MN içinde yer alacaktır.

Her ne kadar üroloji olgu grubunda MNC+ yüzdesi kontrol grubuyla paralellik gösterse de MN bazında incelendiğinde MNC+ ve MNC- taşıyan MN sayısının kontrol grubuna göre 3.6 kat fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuç Baciuchka-Palmaro ve arkadaşlarının sonucunu destekler niteliktedir. Baciuchka-Palmaro ve ark. (127) farklı tipte kanserli olgularla yaptıkları çalışmada MNC+%'sini olgu ve kontrol grubu için 69.2 ve 71.5 olarak belirlerken, MN başına MNC+ ve MNC- değerlerinin 2 kat fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ancak 10 kişiden oluşan olgu gruplarında kanser tiplerinin karışık olması nedeniyle bu değeri istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlar. Bu durumu da kişisel farklılıklardan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda Hematoloji ve Üroloji olgu gruplarının MNC+ ve MNC- değerlerindeki farklılık göz önüne alındığında bu durumun karışık olgu grubundan kaynaklandığı aşikardır. Baciuchka-Palmaro ve ark.'larının (127) çalışmasında oranın düşük ve istatistiksel olarak anlamsız bulunmasının nedeni, olgu gruplarını oluşturan 10 kişiden 6'sının solid tümörlü olmasının 2 oranına katkısı olduğu, diğer tipini bilmedikleri kanserli olgular nedeniyle oranı istatistiksel olarak anlamlı bulamadıklarını düşündürttü.

Sonuç olarak kanserli olgularda MN sıklığının kontrol grubundan yüksek olduğu bu çalışmayla bir kez daha ortaya konulmuştur. Kanserli olgularda hem MN taşıyan MN sayısının hem de MNC+ ve MNC- oranlarının kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olması, genetik insitabilitenin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Yaptığımız demografik değerlendirme sigara, mesleki olarak kimyasal maddelere maruz kalma ve ailesel kanser öyküsünün kanser etiyolojisindeki önemini bir kez daha vurgulamıştır. Unutulmamalıdır ki

kanser tek bir hücreden başlar. MN'ların analizi bu aşamada oluşan genomik insitabilitenin tespitinde erken bir uyarı sistemi gibi görev yapabilir. Özellikle risk altında bulunan kişilerin ucuz ve basit bir yöntem olan MN analizi yöntemi ile kontrollarının yapılmasının, önemli olacağı görüşündeyiz. Bunun yanı sıra, MN+FISH yöntemi ile Hematolojik olguların MNC-, Mesane ve Prostat kanserli olguların ise MNC+ taşıyor olması bu iki kanser tipinde fiziksel ve kimyasal ajanların etkisinin açık bir göstergesidir. Yaptığımız literatür taramasında, Baciuchka-Palmaro ve ark.'larının (127) 10 olguyla yaptığı çalışma dışında MNC çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmanın kanserlerin etiyolojisinin belirlenmesiyle ilgili çalışma yapacak araştırıcılara yol göstereceği inancındayız.

SONUÇLAR

Bu çalışmanın hedefi, MN+FISH yöntemiyle hematolojik kanserli ve ürolojik kanserli olgularda MN sıklığını ve MN orijinlerini belirleyerek farklı kanser tipleri için erken tanıda kullanılabilirliğini ve kanser mekanizmasındaki rolünü belirlemektir.

Olgu ve kontrol gruplarının toplam MN sıklığı ve mikronukleus taşıyan binukleat (BNMN) sıklıklarını değerlendirdik. Kanserli olgularda hem MN taşıyan BN sayısının hem de MNC+ ve MNC- oranlarının kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olmasını genetik insitabilitenin bir göstergesi olarak değerlendirdik. Genomik insitabilitenin tespitinde MN analizi erken bir uyarı sistemi gibi görev yapabilir. Özellikle risk altında bulunan kişilerin MN analiz yöntemi ile kontrol grupları oluşturularak yapılmasının, önemli olacağı görüşündeyiz.

Kontrol-Hematoloji grubunun ve Kontrol-Üroloji grubunun MN sıklığı ve BNMN dağılımları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.0001$). Hematoloji-Üroloji gruplarının MN sıklığı ve BNMN dağılımları ise kendi içlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p=0.125$).

Olgu ve kontrol grubunda demografik değerlendirme sigara, mesleki olarak kimyasal maddelere maruz kalma ve ailesel kanser öyküsünün kanser etiyolojisindeki önemini bir kez daha vurgulandı.

Mikronukleus+FISH yöntemi ile olgu ve kontrol gruplarında gözlemlenen MN'larda sentromerik fragment içeren (MNC+) ve sentromer içermeyenlerin (MNC-) % dağılımlarıkarşılaştırıldı. Kontrol ve Üroloji grubunda gözlemlenen MN'ların ~%70'inin, Hematoloji olgu grubunda ise ~%35'inin sentromer taşıdığı gözlemlendi. Sentromer içeren MN sıklığı açısından değerlendirildiğinde ise, Üroloji olgu grubunda gözlemlenen (MNC+)

sayısının kontrolun ~4, hematoloji grubunun ise ~2 katı olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar ürolojik olgularda (MNC+)'nın fazla olması kimyasal ajan maruziyetini gösterirken, hematolojik olgularda (MNC-)'nin fazla olması fiziksel ajanların etkisinin açık bir göstergesidir. Yaptığımız literatür taramasında, Baciuchka-Palmaro ve ark. larının 10 olguyla yaptığı çalışma dışında MNC çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmanın kanserlerin etiyolojisinin belirlenmesiyle ilgili çalışma yapacak araştırıcılara yol göstereceği inancındayız.

ÖZET

Günümüzde kanser, insan sağlığını tehdit eden ve yüksek mortalite nedeni olan hastalıkların başında gelmektedir. Kanser, normal hücrelerin çoğalma ve farklılaşma mekanizmalarında ortaya çıkan aksaklıklar sonucu gelişen bir hastalıktır. Kanser gelişiminde rol oynayan temel değişiklik kanser hücrelerinin sürekli, kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıdır. Etiyolojisi tam bilinmemekle birlikte fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanların hücrenin genetik materyali DNA'yı hasarlaması sonucu kanserin oluştuğu belirlenmiştir.

Kansere yatkınlığı tespit edebilmek için çeşitli biyoindikatörler geliştirilmiştir. Bu biyoindikatörlerden kolay ve güvenilir olduğu için tercih edilen MN yöntemidir. MN yöntemi DNA hasarının ve hasara cevabın değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. MN+FISH yöntemleriyle ise etkenin kökenini belirlemek mümkündür. İkisinin birleştirilmesiyle etiyolojik etkeni tahmin etme olasılığı artmaktadır.

Bu çalışmada, hematolojik kanserli, prostat kanserli ve mesane kanserli olgularda MN+FISH yöntemi ile mikronukleus görülme sıklıkları ve MN'ların orijinlerini belirlemek amaçlandı.

Bu amaçla 2009-2010 yılları arasında üniversitemiz hematoloji ve üroloji kliniklerine başvuran yeni tanı almış 50 hematolojik kanserli ve 25 ürolojik kanserli olgunun mikronukleus sıklıkları ve MN'ların sentromerik fragment içerip içermediği belirlendi. Sonuçlar 50 kontrol grubu bireyi ile karşılaştırıldı.

Olgu ve kontrol gruplarının toplam MN sıklığı ve mikronukleus taşıyan binukleat sayılarının (BNMN) sıklıkları değerlendirildi. Kontrol-Hematoloji olgu grubunun ve Kontrol-Üroloji grubunun MN sıklığı ve BNMN dağılımları istatistiksel olarak anlamlı derecede

yüksek bulundu ($p<0.0001$). Hematoloji-Üroloji olgu gruplarının MN sıklıkları ve BNMN dağılımları ise kendi içlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p=0.125$).

Olgu ve kontrol gruplarında gözlemlenen MN'larda sentromerik fragment içeren (MNC+) ve sentromer fragment içermeyenlerin (MNC-) % dağılımları karşılaştırıldı. Kontrol ve Üroloji grubunda gözlemlenen MN'ların ~%70'inin, Hematoloji olgu grubunda ise ~%35'inin sentromer taşıdığı gözlemlendi. Sentromer içeren MN sıklığı açısından değerlendirildiğinde ise, Üroloji olgu grubunda gözlemlenen (MNC+) sayısının Kontrolun ~4, Hematoloji grubunun ise ~2 katı olduğu tespit edildi. Ürolojik olgularda (MNC+)'nın fazla olması kimyasal ajan maruziyetinin ürolojik kanserler etiyolojisinde, Hematolojik olgularda (MNC-)'nin fazla olması fiziksel ajanların lösemi etiyolojisinde daha etkili olduğu şeklinde değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: MN+FISH, Lösemi, Mesane Ca, Prostat Ca.

THE DETERMINATION OF FREQUENCIES AND ORIGING OF MICRONUCLEI USING MN+FISH ASSAY

SUMMARY

Nowadays, cancer is one of the leading causes of high mortalty rate in human beings and threaths our lives. Cancer develops as a result of defects in mechanisms of proliferation and differentiation of normal cells. Basic change that plays a key role in the cancer development is continuously and uncotrolled proliferation of the cells. Although, cancer etiology is not clearly known, it is determined that cancer occurs as a result of damage at cell's genetic material, DNA, by physical, chemical and biological agents.

Many bioindicators have been developed in order to estimate cancer tendency. The micronucleus assay has been preferred for evaluation of the genotoxic or clastogenic effects of chemicals and radiation. The scoring of MN is easier and less time consuming then the other chromosomal aberration analysis. Possibility of estimation of etiologic factors' origin have been increased by using MN+FISH assay.

In this study, it is aimed to determine the frequencies of micronuclei and their origins in patients with hematological cancer, prostate cancer and bladder cancer by MN+FISH method.

For this purpose, blood samples were collected from newly diagnosed 50 the leukemia and 25 prostate and bladder carcinoma patient that applied to our university clinics beteen 2009-2010 years. Their MN frequencies and centromere content yields were determined. The results were compared with 50 control individuals.

MN frequency and the total number of micronuclei and the distirbution MN in Binucleat (BNMN) cells frequency of case and control grous were evaluated. The Hematology and Urology groups MN frequences and BNMN distributions were found statistically significantly higher than the controls ($p<0.0001$). Urology and hematology groups's sub groups' MN frequecies and BNMN distributions did not show discrepancy ($p=0.125$).

Micronucleus with/without centrome (MNC+,MNC-) yields of Case and control groups were also compared. Control and Urology groups' MNC+ yield were found 70% and Hematology groups MNC+ yield were 35. The comparison of the MNC+frequencies showed that Urology MNC+ rate 4-fold higher that control and 2 fold higher than Hematology groups. This is clearly indicate that chemical agents are more effective in the etiology of bladder and prostate carcinoma while the physical agents more affective in hematological cancers.

Keywords: MN+FISH, Leukemia, Bladder Ca, Prostate Ca.

KAYNAKLAR

1. Bozcuk NA. Genetik. 2. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık,2005:299-308.
2. Fenech M. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. Toxicology 2002;181-182:411-416.
3. Albertini RJ. Biomarker responses in human populations: towards a worldwide map. Mutat Res 1999;428(1-2):217–226.
4. Fenech M. The in vitro micronucleus technique. Mutat Res 2000;455:81–95.
5. Bonassi S, Hagmar L, Strömberg U, Montagud AH, Tinnerberg H, Forni A, et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. Cancer Res 2000;60:1619-1625.
6. Köksal G, Dalcı D, Pala FS. Micronuclei in human lymphocytes: The Co-60 gamma ray dose-response Mutat Res 1996;359(2):151-157.
7. El-Zein R, Schabath MB, Etzel CJ, Lopez MS, Franklin JD, Spitz MR. Cytokinesis-blocked micronucleus assay as a novel biomarker for lung cancer risk. Cancer Res 2006;66(12):6449-6456.
8. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang P.W, Holland N, et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. Carcinogenesis 2006;28(3):625-631.
9. Fenech M, Holland N, Chang WP, Zeiger E, Bonassi S. The HUman MicroNucleus Project: an international collaborative study on the use of micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. Mutat Res 1999;428(1-2):271-283.

10. Fenech M, Chang W.P, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S. Zeiger E: HUMN Project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated lymphocyte cultures, Mutat Res 2003;534(1-2):65-75.
11. Pala FS, Alkaya F, Tabakçıoğlu K, Tokatlı F, Uzal C, Parlar Ş, Algüneş Ç. The effects of micronuclei with whole chromosome on biological dose estimation. Turk J Biol 2008;32:283-290.
12. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nat Protoc 2007;2(5):1084-1104.
13. Vanparys P, Vermeiren F, Sysmans M, Temmerman R. The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. Mutat Res 1990;244(2):95-103.
14. Darroudi FM, Meijers V, Hadjidekova, Natarajan AT. Detection of aneugenic and clastogenic potential of X-rays, directly and indirectly acting chrmicals in human hepatoma (Hep G2) and peripheral blood lymphocytes, using the micronucleus assay and fluorescent in situ hybridization with a DNA centromeric probe, Mutagenesis 1996;11(5):425-433.
15. Norppa H, Ghita C, Falck M. What do human micronuclei contain?. Mutagenesis 2003;18(3):221-233.
16. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Genetics and cancer. Thompson & Thompson Genetics in medicine. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company;2001:p.311-334.
17. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Cancer. In: Molecular biology of the cell. 4th ed. New York: Garland Science;2002:p.1313-1362.
18. Klug WS, Cummings MR, Spencer CA. Hücre döngüsünün düzenlenmesi ve kanser. Öner C (Editör). Genetik kavramlar'da. Ankara: Palme Yayıncılık;2009:p.434-456.
19. Hamurcu Z, Altuntaş HD, Patıroğlu T. Basal level micronucleus frequency in stimulated lymphocytes of untreated patients with leukemia. Cancer Genet Cytogenet 2008;180:140-144.
20. Karsinogenez. http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060 24/2409.Jpg 03.06.2010.
21. Kanser gelişiminin mekanizmaları 3. whqlibdoc.who.int/publications/.../9789283204237_tur_p189-260.pdf -.
22. Johnson DG, Walker CL. Cyclins and cell cycle checkpoints. Pharmacol Toxicol 1999;39:295-312.

23. Taş F, Aydıner A. Kanserin nedenleri, sigara ve kanser ilişkisi diyet ve kanser. Topuz E, Aydıner A, Karadeniz AN (Editörler). Klinik Onkoloji'de. İstanbul: Tunç Matbaası;2000:s. 54-58.
24. Cooper GM, Hausman RE. Kanser (Çeviri: Dalay N). Sakızlı M, Atabey N (Editörler). Hücre Moleküler Yaklaşım'da. İzmir: İzmir Tıp Kitabevi;2006.s.631-680.
25. Foster I. Cancer: A cell cycle defect. Radiography 2008;14(2):144-149.
26. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. The cell cycle and programmed cell death. In: Molecular biology of the cell. 4th ed. New York: Garland Science;2002.p.983-1026.
27. Cooper GM, Hausman RE. Hücre döngüsü (Çeviri: Erdal E). Sakızlı M, Atabey N (Editörler). Hücre Moleküler Yaklaşım'da. İzmir: İzmir Tıp Kitabevi;2006.s.591-629.
28. Hücre döngüsü. http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch02/02_05-cell_cycle.jpg 14.6.2010.
29. Klug WS, Cummings MR, Spencer CA. Mitoz ve mayoz. Öner C (Ed.). Genetik kavramlar'da. Ankara: Palme Yayıncılık;2009.s.17-34.
30. Vermeulen K, Berneman ZN, VanBockstaele DR. Cell cycle and apoptosis. Cell Prolif 2003;36(3):165-175.
31. Akyol H. Kemoterapinin temel ilkeleri. XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Hemşire Programı: 2004 Mayıs 18-22; İzmir.
32. Vermeulen K, VanBockstaele DR Berneman ZN. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. Cell Prolif 2000;36:131-149.
33. Murray AW. Cell cycle checkpoints. Curr Opin Cell Biol 1994;6(6):872-876.
34. Başaran A. Hücre bölünmesi ve hücresel yaşlanma. Tıbbi Biyoloji'de. Güneş & Nobel Tıp Kitabevi, 2005:233-269.
35. Yaren H, Karayılanoğlu T. Radyasyon ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni 2005:4(4).
36. Kibel AS, Nelson JB. Molecular genetics and cancer biology. In: Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (Eds.). Campbell's Urology.8 th ed. Philadelphia: New York;2002;4:2625-2671.
37. Türkeri L, Yazıcı C. Ürogenital Tümörlerde Biyoloji ve Karsinogenez. Anafarta K, Bedük Y, Göğüş O, Arıkan N (Editörler). Temel Üroloji'de. 3.Baskı. Ankara: Güneş Kitabevleri;2007: s.677-686.
38. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell. 2000(1);100:57-70.

39. Couch FJ, Weber BL. Breast cancer. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (Eds.). The metabolic & molecular bases of inherited disease. 8th ed. New York: Mc Graw Hill Co;2001;(1):p.999-1032.
40. Kinzler KW, Vogelstein B. Colorectal tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW (Eds.). The genetic basis of human cancer. 2nd ed. New York: Mc Graw-Hill Co;2002:p.583-612.
41. Frank SA. Dynamics of cancer Incidence, inheritance, and evolution (Princeton series in evolutionary biology). In: Orr HA (Ed.). 3 rd ed. United Kingdom: New Jersey;2007.p.213-250.
42. Dinçol G, Pekçelen Y, Atamer T, Sargın D, Nalçacı M, Aktan M, Beşışık S. Lösemiler. Klinik Hematoloji'de. Nobel Tıp Kitapevi, 2003:167-224.
43. Berkarda B. Kan Hastalıkları. İstanbul: İ.Ü.Basım ve Yayınevi, 2003:155-188.
44. Sağlık Bakanlığı Türk kanser araştırma ve savaş kurumu. Klinik Onkoloji. Ankara: Başbakanlık Basımevi;1990.
45. Özalpan A. Temel Radyobiyoloji. İstanbul: Orkide Matbaası, 2001:68-77.
46. Yıldırım A, Bardakçı F, Karataş M, Tanyolaç B. Moleküler Biyoloji. 2007;1:295-322.
47. Uzal C, Çaloğlu M. The role of ionizing radiation in the etiology of cancer. Trakya Üniv Tıp Fak Derg 2002;19(3-4):177-182.
48. Lodovici M and bigagli E. Biomarkers of induced active and passive smoking damage. Int J Environ Res Public Health 2009;(6):874-888.
49. Dinçol K. Kemoterapide temel prensipler. Topuz E, Aydıner A, Karadeniz AN (Editörler). Klinik Onkoloji'de. İstanbul: Tunç Matbaası;2000:34-47.
50. Strachan T, Read AP. Cancer Genetics. Human Molecular Genetics, 2nd ed. New York: Wiley-Liss;1999.
51. Cahill DP, Lengauer C. Tumor Genome Instability. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (Eds.). The metabolic & molecular bases of inherited disease. 8th ed. New York: Mc Graw Hill Co;2001(1):611-613.
52. Hagmar L, Brogger A, Hansteen IL, Heim S, Högstedt B, Knudsen L, et al. Cancer risk in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. Cancer Res 1994;54(11):2919-2922.
53. Boffetta P, Hel O, Norppa H, Fabianova E, Fucic A, Gundy S, et al. Chromosomal aberrations and cancer risk: results of a cohort study from central europe. Am J Epidemiol 2007;165(1):36-43.

54. Mitelman F. Recurrent chromosome aberrations in cancer. Mutat Res 2000;462(2-3):247-253.
55. Kirsch-Volders M, Vanhauwaert A, Boeck MD, Decordier I. Importance of detecting numerical versus structural chromosome aberrations. Mutat Res 2002;504(1-2):137-148.
56. Boveri T. Zur frage der entstehung maligner tumoren, fischer, Jena, 1914.
57. Panigrahi AK, Pati D. Road to the crossroads of life and death: linking sister chromatid cohesion and separation to aneuploidy, apoptosis and cancer. Crit Rev Oncol Hematol 2009;72(3):181-193.
58. Duesberg P, Rausch C, Rasnick D, Hehlmann R. Genetic instability of cancer cells is proportional to their degree of aneuploidy. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95(23):13692-13697.
59. Bannon JH, Mc Gee MM. Understanding the role of aneuploidy in tumorigenesis. Biochem Soc Trans 2009;37(4):910-913.
60. Kuby J. Immunology. 3 rd ed. New York: Freeman,2001:574.
61. Kromozom tipi aberasyonlar, kromatid tipi aberasyonlar http://atlasgenetics oncology.org/Kprones/FA10001.html 28.07.2010.
62. Natarajan A. Chromosome aberrations: past, present and future. Mutat Res 2002;504(1-2):3-16.
63. Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I, Kirsch-Volders M. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. Biochimie 2006;88(11):1515-1531.
64. Leach NT, Jackson-Cook C. Micronuclei with multiple copies of the X chromosome: do chromosomes replicate in micronuclei?. Mutat Res 2004;554(1-2):89-94.
65. Acar H, Çalışkan Ü, Demirel S, Largaespada AD. Micronucleus incidence and their chromosomal origin related to therapy in acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients:detection by micronucleus and FISH techniques. Teratog Carcinog Mutagen 2001;21(5):341-347.
66. Moore LE, Smith AH, Hopenhayn-Rich C, Biggs ML, Kalman D, Smith MT. Micronuclei in exfoliated bladder cells among individuals chronically exposed to arsenic in drinking water. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1997;6(1):31-36.
67. Başaran N. Tıbbi Genetik.6.Baskı. İstanbul: Bilim Teknik Yayınevi, 1996:357-368.
68. Kan hücreleri olgunlaşma serisi http://www.irvingcrowley.com/cls/hemchart.gif 4.6.2010.

69. Beers MH, Berkow R. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. 17.Baskı (Türkçe). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002:944-953.
70. Head DR. Classification and differentiation of the acute leukemias. In: Greer JP, Foerster J, Leukenks JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Graider B (Eds.). Wintrobe's clinical hematology. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins;2004:p.2063-2076.
71. Yalçın A. Klinik Hematoloji. Ankara: GATA Basımevi, 2001:144-181.
72. Başlar Z. Erişkinlerde akut lösemiler. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Kasım 2005, İstanbul. Sempozyum Dizisi 2005;(45):171-180.
73. Ar MC. Hematoloji Ders Kitabı. Akut Lösemiler. İstanbul: İ.Ü.Basım ve Yayınevi Müdürlüğü;2008:p.119-138.
74. Pala FS. Hematolojik kanserlerde FISH uygulamaları. Trakya Üniv Tıp Fak Derg 2005;22(3):132-136.
75. Lee DS, Lee YS, Yun YS, et al. A study on the incidence of ABL gene deletion on derivative chromosome 9 in chronic myelogenous leukemia by interphase fluorescence in situ hybridization and its association with disease progression. Genes Chromosomes Cancer 2003;37(3):291-299.
76. Soysal T. Hematoloji Ders Kitabı. Kronik Lösemiler. İstanbul: İ.Ü.Basım ve Yayınevi Müdürlüğü;2008:p.149-172.
77. Nevruz O, Güran Ş, Beyan C, Ifran A, Tunca Y, Kaptan K ve ark. Kronik miyelositer lösemi olgularında Philadelphia kromozomu haricindeki sitogenetik anomalilerin prognoza etkisi. Turkiye Klinikleri J Med Sci 2005;25(2):174-177.
78. Özbey Ü, Yüce H, Elyas H. Kronik myeloid lösemili hastalarda kromozomal anomalilerin belirlenmesi için sitogenetik ve FISH tekniği uygulamaları. F.Ü Sağ Bil Derg 2006;20 (6):383-389.
79. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic myelogenous leukemia. Science 1960;132:1497-1499.
80. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2000; 343(26):1910-1916.
81. Crossen PE. Genes and chromosomes in chronic B-cell leukemia. Cancer Genet Cytogenet 1997;94(1):44-51.
82. Shaw GR, Kronberger DL. TP53 deletions but not trisomy 12 are adverse in B-cell lymphoproliferative disorders. Cancer Genet Cytogenet 2000;119(2):146-154.

83. Uckun FM, Nachman JB, Sather HN, Sensel MG, Kraft P, Steinherz PG, et al. Clinical significance of Philadelphia chromosome positive pediatric acute lymphoblastic leukemia in the context of contemporary intensive therapies. A report from the Children's Cancer Group Cancer 1998;83(9):2030-2039.
84. Greaves MF, Colman SM, Beard MEJ, et al. Geographical distribution of acute lymphoblastic leukemia subtypes: second report of the Collaborative Group Study. Leukaemia 1993;7: 27-34.
85. Champlin R, Golde DW. The leukemias. In: Harrison's Principals of Internal Medicine II Philedelphia: Saunders, 1991:1552-1561.
86. Yaris F, Dikici M, Akbulut T, Yaris E, Sabuncu H. Story of benzene and leukemia: epidemiologic approach of Muzaffer Aksoy. J Occup Health 2004;46(3):244-247.
87. Aydın H. Mesane kanserlerinin patolojisi ve idrar sitolojisinin ürotelyal karsinom tanısındaki yeri. Üroonkoloji'de. 1.Baskı. Ankara: Üroonkoloji Derneği;2007:p.173-184.
88. Mesane duvarının katmanları. http://academic.kellogg.cc.mi.us/herbrandsonc/bio201_McKinley/f279a_urinary_bladder_c.jpg 5.6.2010.
89. Bedük Y. Mesane Tümörleri. Anafarta K, Bedük Y, Göğüş O, Arıkan N (Editörler). Temel Üroloji'de. 3.Baskı. Ankara: Güneş Kitabevleri;2007:725-739.
90. Manunta A, Vincendeau S, Kiriakou G, Lobel B, GuilleF. Non-transitional cell bladder carsinomas. BJU Int 2005;95(4):497-502.
91. Simoneau AR and JonesPA. Bladder cancer: the molecular progression to invasive disease. World J Urol 1994:12(2):89-95.
92. Messing EM. Urothelial tumors of the urinary tract. In: Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (Eds.). Campbell's Urology.8 th ed. Philadelphia: New York;2002;4:2732-2784.
93. Tekin A. Mesane kanserlerinde etiyoloji, epidemiyoloji ve risk faktörleri. Üroonkoloji'de. 1.Baskı. Ankara: Üroonkoloji Derneği;2007:s.151-158.
94. Sözen S. Mesane kanserlerinde tümör belirleyiciler. Üroonkoloji'de. 1.Baskı. Ankara: Üroonkoloji Derneği;2007:p.185-190.
95. Mesane kanseri http://delmarvacancerdoctors.com/disease-information/bladder%20ca.jpg 28.7.2010.
96. Jung I, Messing E. Molecular mechanisms and pathways in bladder cancer development and progression. Cancer Control 2000;7(4):325-334.

97. Lerner SP, Tsai YC, Jones PA. Genetic aspects of bladder cancer progression. World J Urol 1991;9(2):69-74.
98. Wu Q, Possati L, Montesi M, Gualandi F, Rimessi P, Morelli C, et al. Growth arrest and suppression of tumorigenicity of bladder-carcinoma cell lines induced by the P16/CDKN2 (p16INK4A, MTS1) gene and other loci on human chromosome 9. Int J Cancer 1996;65(6):840-846.
99. Esrig D, Elmajian D, Groshen S, Freeman JA, Stein JP, Chen S, et al. Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. New Engl J Med 1994;331(19):1259-1264.
100. Ishikawa J, Xu HJ, Hu SX, Yandell DW, Maeda S, Kamidono S, et al. Inactivation of the retinoblastoma gene in human bladder and renal cell carcinomas. Cancer Res 1991;51(20):5736-5743.
101. Çal Ç. Mesane kanserlerinin doğal seyrinin moleküler mekanizmaları. Üroonkoloji'de. 1.Baskı. Ankara: Üroonkoloji Derneği;2007:s.151-158.
102. Wu S, Storer B, Bookland E, Klingelhutz A,Gilchrist K, Meisner L, et al. Nonrandom chromosome lossesin stepwise neoplastic transformation in vitro of human uroepithelial cells. Cancer Res 1991;51(12):3323-3326.
103. Nagata Y, Abe M, Kobayashi K, Saiki S, Kotake T, Yoshikawa K, Ueda R, et al. Point mutations of c-ras genes in human bladder cancer and kidney cancer. Jpn J Cancer Res 1990;81(1):22-27.
104. Özcan F. Ürolojik ve erkek genital kanserleri. Topuz E, Aydıner A, Karadeniz AN (Editörler). Klinik Onkoloji'de. İstanbul: Tunç Matbaası;2000:140-151.
105. Zeegers MP, Tan FE, Dorant E, Brandt PA. The impact of characteristics of cigarette smoking Husgafvel-Pursiainen K, Kannio A. Cigarette smoking and p53 mutations in lung cancer and bladder cancer. Environ Health Perspect 1996;104(3): 553–556.
106. İnci O. Ürogenital Tümörler. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi;1995:s.51-140.
107. Klemeney LA, Schoenberg M. Familial transitional cell carsinoma. J Urol 1996;156:867-872.
108. Prostat. http://www.krebsgesellschaft-nrw.de/d_service/b_runterladen/Prostata.pdf.
109. Baydar DE. Prostat kanserinin patolojisi. Üroonkoloji'de. 1.Baskı. Ankara: Üroonkoloji Derneği;2007:s.549-570.
110. Normal prostat ve kanserli prostat http://www.idraryollari.com/prostatnedir.htm 12.07.2010.

111. Hankey BF, Feuer EJ, Clegg LX, Hayes RB, Legler JM, Prorog PC, et al. Cancer surveillance series: interpreting trends in prostate cancer-Part I: Evidence of the effects of screening in recent prostate cancer incidence, mortality, and survival rates. J Natl Cancer Inst 1999;91(12):1017-1024.
112. Divrik RT. Prostat kanserinin etiyolojisi, epidemiyolojisi ve risk faktörleri. Üroonkoloji'de. 1.Baskı. Ankara: Üroonkoloji Derneği;2007:s.523-548.
113. Dillioğlugil Ö, Çevik İ. Prostat kanserinde tanı ve evrelendirme. Üroonkoloji'de. 1.Baskı. Ankara: Üroonkoloji Derneği;2007:s.609-622.
114. Baltacı S. Prostat Tümörleri. Anafarta K, Bedük Y, Göğüş O, Arıkan N (Editörler). Temel Üroloji'de. 3.Baskı. Ankara: Güneş Kitabevleri;2007:p.740-765.
115. Reiter RE, deKernion JB. Epidemiology,etiology, and prevention of prostate cancer. In: Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (Eds.). Campbell's Urology.8 th ed. Philadelphia: New York;2002;4:3003-3024.
116. Chen YC, Page JH, ChenR, Giovannucci E. Family history of prostate and breast cancer the risk of prostate cancer inthe PSA Era. The Prostate 2008;68(14):1582-1591.
117. Quinones LA, Irarrazabal CE, Rojas CR, Orellana CE, Acevedo C, Huidobro C, et al. Joint effect among p53, CYP1A1, GSTM1 polymorphism com-binations and smoking on prostate cancer risk: an exploratory genotype-environment interaction study. Asian J Androl 2006;8(3):349-355.
118. Parent ME, Siemiatycki J. Occupation and prostate cancer. Epidemiol Rev. 2001;23(1):138-143.
119. Moorehead P.S, Nowel P.C, Hungerford D.A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exp Cell Res 1960;20:613-616.
120. Giemsa boya ile boyanmış MN görüntüsü. http://www.massey.ac.nz/~imbs/images/al_micronucleus.jpg 31.07.2010.
121. Thierens H, Vral A., Morthier R., Aousalah B. and Ridder de L.: Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus centromere assay. Mutagenesis 2000;15(3):245-249.
122. Tütkiye Kanser İstatistikleri. http://turkkanser.org.tr/newsfiles/60turkiye_kanser_istatistikleri-2.pdf.
123. http://www.saglik.gov.tr/TR/Genel/BelgeGoster.aspx6E10F8892433C FF71BE64510F6C8BC92747D9FFFE7A1226.

124. Kramer AA, Graham S, Burnett WS, Nasca P. Familial Aggregation of Bladder Cancer Stratified by Smoking Status. Epidemiology 1991;2(2):145-148.
125. Venkatachalam P, Paul SF, Mohankumar MN, Prabhu BK, Gajendiran N, Kathiresan A, Jeevanram RK. Higher frequency of dicentrics and micronuclei in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. Mutat Res 1999;425(1):1-8.
126. Başer D, Sunguroğlu A, Bökesoy I, Uysal A. Spontaneous micronuclei in cytokinesis-blocked bone marrow and peripheral blood lymphocytes of CML patients. Tr J Med Sci1999;29:125-128.
127. Baciuchka-Palmaro M, Orsière T, Duffaud F, Sari-Minodier I, Pompili J, Bellon L, De Méo M, Digue L, Favre R, Botta A. Acentromeric micronuclei are increased in peripheral blood lymphocytes of untreated cancer patients. Mutat Res 2002;520(1-2):189-198.
128. Murgia E, Ballardin M, Bonassi S, Rossi AM, Barale R. Validation of micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes as early cancer risk biomarker in a nested case-control study. Mutat Res 2008;639(1-2):27-34.
129. Milosevic-Djordjevic O, Grujicic D, Vaskovic Z, Marinkovic D. High micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes of untreated cancer patients irrespective of gender, smoking and cancer sites. Tohoku J Exp Med 2010;220(2):115-120.
130. Maffei F, Fimognari C, Castelli E, Stefanini GF, Forti GC, Hrelia P. Increased cytogenetic damage detected by FISH analysis on micronuclei in peripheral lymphocytes from alcoholics. Mutagenesis 2000;15(6):517-523.
131. Maluf SW, Erdtmann B. Genomic instability in Down syndrome and Fanconi anemia assessed by micronucleus analysis and single-cell gel electrophoresis. Cancer Genet Cytogenet 2001;124(1):71-75.
132. Pala FS, Moquet JE, Edwards AA, Lloyd DC. In vitro transmission of chromosomal aberrations through mitosis in human lymphocytes. Mutat Res 2001; 474(1-2):139-146

ŞEKİLLER VE TABLOLAR

ŞEKİLLER LİSTESİ **Sayfa**

Şekil 1	Karsinogenez	4
Şekil 2	Hücre döngüsünün evreleri	5
Şekil 3	Hücre döngüsü kontrol noktaları	6
Şekil 4	Kromozom tipi aberasyonlar	15
Şekil 5	Kromatid tipi aberasyonlar	15
Şekil 6	Kardeş kromatid değişimi	16
Şekil 7	Kan hücrelerinin olgunlaşma evreleri	19
Şekil 8	Mesane duvarının katmanları	26
Şekil 9	Mesane kanseri	27
Şekil 10	Normal prostat ve kanserli prostat	29
Şekil 11	Giemsa ile boyanmış MN'nin genel görüntüsü	35
Şekil 12	Pansentomerik FISH probu ile boyanmış MN'nin görüntüsü	35
Şekil 13	Olgu ve kontrol gruplarının mesleklere göre yüzde dağılımı	38
Şekil 14	Olgu ve kontrol gruplarının beslenme tercihleri	39
Şekil 15	Olgu-kontrol gruplarının sigara, çay kahve ve alkol tüketimi yüzdeleri	40
Şekil 16	Olgu ve kontrol gruplarının mesleki olarak kimyasal ajanlara maruz kalma yüzde dağılımı	40
Şekil 17	Olgu ve kontrol gruplarının ailesel kanser öyküsü	41
Şekil 18	Olgu ve kontrol gruplarının toplam MN ve BNMN sıklıkları	52
Şekil 19	Olgu ve kontrol gruplarının BNMN açısından değerlendirilmesi	52
Şekil 20	Olgu ve kontrol gruplarında gözlemlenen mikronukleuslarda MNC+ ve MNC- yüzdelerinin karşılaştırılması	53
Şekil 21	Olgu ve kontrol grubunda MN sıklıklarının yaşla değişimi	55

TABLOLAR LİSTESİ **Sayfa**

Tablo 1	Protoonkogenler ve tümör baskılayıcı genlerden bazılarında görülen mutasyonlar ve karsinogenezle ilişkisi	8
Tablo 2	Biyoindikatör olarak kullanılabilen DNA hasarları	12
Tablo 3	Anöploidi ve kanserin indüklenme mekanizması ile ilgili görüşler	14
Tablo 4	Mikronukleus oluşum mekanizmaları	17
Tablo 5	FAB sınıflandırmasına göre AML alt tipleri ve görülme sıklıkları	21
Tablo 6	AML'de görülen kromozom aberasyonların bazıları	22
Tablo 7	FAB sınıflandırmasına göre ALL alt tipleri	22
Tablo 8	ALL'de görülen kromozom aberasyonların bazıları	23
Tablo 9	KLL'de görülen kromozom aberasyonların bazıları	25
Tablo 10	Olgu ve kontrol grubu yaş aralığı-cinsiyet dağılımları	37
Tablo 11	Olgu ve kontrol grubu bireylerinin yaş aralığı ve normal dağılıma uygunluk p değeri	38
Tablo 12	Kontrol grubu MN'larının binukleatlara göre dağılımları	42-43
Tablo 13	Kontrol grubunda MN sıklığı ve MNC+ ve MNC- yüzde dağılımları	43-44
Tablo 14	Hematolojik olgu grubu MN'larının binukleatlara göre dağılımları	45-46
Tablo 15	Hematolojik olgularda MN sıklığı ve MNC+ ve MNC- yüzde dağılımları	47
Tablo 16	Lösemi tiplerine göre MN sıklığı ve MNC+/MNC- oranları	48
Tablo 17	Ürolojik olgu grubu MN'larının binukleatlara göre dağılımları	49
Tablo 18	Ürolojik olgularda MN sıklığı ve MNC+ ve MNC-dağılımları	50
Tablo 19	Mesane kanserli ve prostat kanserli olgularda MN sıklığı MNC+/MNC- oranlarının karşılaştırılması	51
Tablo 20	Olgu ve kontrol gruplarının toplam MN ve BNMN sıklıklarının karşılaştırılması	51
Tablo 21	Olgu ve kontrol gruplarında gözlemlenen mikronukleuslarda MNC+ ve MNC- yüzdelerinin karşılaştırılması	53
Tablo 22	Olgu-kontrol gruplarının yaş aralıklarına ait standart hataları	54
Tablo 23	Olgu ve kontrol gruplarında MN sıklıklarıve MNC+ ve MNC- yüzdelerin yaş aralıklarına göre dağılımı	55
Tablo 24	Olgu ve kontrol grubunda MN sıklıklarının cinsiyetle değişimi	56
Tablo 25	Kanserli olgularda MN sıklıkları	60

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İstanbul'da doğdum. 1995 yılında İstanbul Sağmalcılar Lisesinden mezun oldum. 1997 yılında Edirne Trakya Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Ön Lisans Eğitimi Protez Ortez bölümünü kazandım. Bu eğitimi tamamladıktan sonra 2002 yılında Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandım. 2002-2007 yıllarında lisans eğitimimi tamamlayarak 2007 Eylül ayında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladım.

EKLER

Ek 1

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı **"Kanserli Olgularda Mikronukleus Sıklığının Belirlenmesi ve Mikronukleusların Orijininin MN+FISH Yöntemi İle Değerlendirilmesi"**dir.

Bu araştırmanın amacı, yeni tanı konulmuş Hematolojik kanserli ve Ürolojik kanserli olgularda ve kontrol grubunda MN sıklıklarını ve MN'ların orijinlerini belirleyerek MN-Kanser ilişkisini ortaya koymaktır. Araştırmaya katılmaya karar verdiğiniz takdirde sosyo-demografik bilgilerinizi içeren anket formu uygulanacak ve kolunuzdan 1 kez 5 ml kan alınacaktır. Bu araştırmada yer almanız öngörülen süre 15 dakika olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 125 kişi olacaktır.

Bu araştırma ile ilgili olarak size hiçbir sorumluluk yüklenmemektedir.

Bu araştırmada kan alınırken iğnenin batmasına bağlı olarak hafif bir acı duyabilirsiniz. Çok düşük bir olasılıkla kan alınırken kanamanın uzaması ya da cilt altına kanama riski olabilir, sizin için beklenen bireysel bir yarar söz konusu değildir. Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu değildir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek, herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen bir etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0284 236 76 41-1448 no.lu telefondan Yrd.Doç.Dr. Funda S.PALA'ya başvurabilirsiniz.

Bu araştırma projesi Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından desteklenmektedir.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırıcı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında sonradan ortaya çıkabilecek, araştırmaya katılmanıza engel bir durumla karşılaştıklarında sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilecektir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Ek 2

Sosyodemografik Bilgi Formları**:** (A) Kanserli olgu grubu, (B) Kontrol grubu için

(A) OLGU GRUBU MİKRONÜKLEUS ANALİZİ İÇİN BİLGİ ANKETİ

Hastanın Adı Soyadı :
Protokol No :
Doğum yeri ve tarihi :
Cinsiyet :
Kilo :
Tel :
Tanı :
Eğitim durumu :
Meslek :
Aylık Geliri :
Yaşadığı Şehir :
Son 3 yıldır kilonuzda ani bir değişiklik oldu mu?

HASTA VE AİLE HİKAYESİ HAKKINDA BİLGİ:

Sorular	Evet	Hayır	Yorum
Sigara kullanıyor musunuz? Kullanıyorsanız ne sıklıkla olduğunu belirtiniz?			
Pipo kullanıyor musunuz? Kullanıyorsanız ne sıklıkla olduğunu belirtiniz?			
Puro kullanıyor musunuz? Kullanıyorsanız ne sıklıkla olduğunu belirtiniz?			
Alkol kullanıyor musunuz? Kullanıyorsanız ne sıklıkla olduğunu belirtiniz?			
Günlük çay-kahve tüketiminiz ne kadardır?			
Günlük çikolata, şeker tüketiminiz ne kadardır?			
Sürekli kullanmak zorunda olduğunuz bir ilaç\ilaçlar var mı?			
Hangi sıklıkla ilaç kullanırsınız? Son 1 yıldır kullandığınız ilaçlar nelerdir?			
En son antibiyotik kullandığınız tarih			

nedir?			
Son 3 yıldır yaptırdığınız radyolojik uygulamalar(tomografi, röntgen filmi, MR, ultrason, sintigrafi,diş filmi, çene filmi vb.)oldu mu?			
En son ne zaman çektirdiniz?			
İşiniz gereği kimyasal maddelere maruz kaldınız mı?			
İşiniz gereği radyasyona maruz kaldınız mı?			
Düzenli 3 öğün yemek yer misiniz?			
Et ağırlıklı mı beslenirsiniz?			
Sebze ağırlıklı mı beslenirsiniz?			
Hamur işi tüketiminiz ne sıklıkta?			
Haftada kaç kez kızartma yersiniz?			
Katkı maddeli gıdalar tüketir misiniz?			
Gıda boyalı yiyecekler tüketir misiniz?			
Saç boyası kullanır mısınız?			
Ailede kanser tanısı konulan başka bir birey var mı? Var ise yakınlık derecesi nedir?			
Konulan tanı nedir?			

YORUMLAR:

(B) KONTROL GRUBU MİKRONÜKLEUS ANALİZİ İÇİN BİLGİ ANKETİ

Hastanın Adı Soyadı :
Doğum yeri ve tarihi :
Cinsiyet :
Kilo :
Tel :
Eğitim durumu :
Meslek :
Aylık Geliri :
Yaşadığı Şehir :

KONTROL GRUBU VE AİLE HİKAYESİ HAKKINDA BİLGİ:

Sorular	Evet	Hayır	Yorum
Sigara kullanıyor musunuz? Kullanıyorsanız ne sıklıkla olduğunu belirtiniz?			
Alkol kullanıyor musunuz? Kullanıyorsanız ne sıklıkla olduğunu belirtiniz?			
Günlük çay-kahve tüketiminiz ne kadardır?			
Kronik bir hastalığınız var mı?			
Sürekli kullanmak zorunda olduğunuz bir ilaç\ilaçlar var mı?			
Hangi sıklıkla ilaç kullanırsınız? Son 1 yıldır kullandığınız ilaçlar nelerdir?			
En son antibiyotik kullandığınız tarih nedir?			
Son bir ay içinde bir hastalık ya da enfeksiyon geçirdiniz mi?			
Son bir ayda ilaç kullandınız mı?			
Son 3 yıldır yaptırdığınız radyolojik uygulamalar(tomografi, röntgen filmi, MR, ultrason, sintigrafi,diş filmi, çene filmi vb.)oldu mu?			

En son ne zaman çektirdiniz?			
İşiniz gereği kimyasal maddelere maruz kaldınız mı?			
İşiniz gereği radyasyona maruz kaldınız mı?			
Düzenli 3 öğün yemek yer misiniz?			
Et ağırlıklı mı beslenirsiniz?			
Sebze ağırlıklı mı beslenirsiniz?			
Hamur işi tüketiminiz ne sıklıkta?			
Haftada kaç kez kızartma yersiniz?			
Katkı maddeli gıdalar tüketir misiniz?			
Gıda boyalı yiyecekler tüketir misiniz?			
Saç boyası kullanır mısınız?			
Ailede kanser tanısı konulan başka bir birey var mı? Var ise yakınlık derecesi nedir?			
Konulan tanı nedir?			

YORUMLAR:

Ek 3

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
YEREL ETİK KURULU
Edirne, Türkiye
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTFEK 2008 /191
	PROTOKOL ADI	Kanserli Olgularda Mikronukleus Sıklığının Belirlenmesi ve Mikronukleusların Orijininin MN+FISH Yöntemi İle Değerlendirilmesi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Yrd. Doç. Dr. Funda S. PALA
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	T.Ü.T.F. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	T.Ü.T.F. Yerel Etik Kurulu
	DESTEKLEYİCİ FİRMA	T.Ü. Araştırma Projeleri (TÜBAP)
	FAZI	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	☒ Tek Merkez ☐ Çok Merkez ☒ Ulusal ☐ Uluslararası

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	**Belge Adı**	**Tarihi**	**Değişiklik No.su**	**Dili**	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	04.12.2008		☒ Türkçe	☐ İngilizce
	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ			☐ Türkçe	☐ İngilizce
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ	04.12.2008		☒ Türkçe	☐ İngilizce
	OLGU RAPOR FORMU			☐ Türkçe	☐ İngilizce

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: 23 / 20**	**Tarih: 25.12.2008**
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Funda S. PALA'nın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencisi Mehtap TAŞ'ın tezinin başvuru dosyası ve ilgili belgeleri araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş **araştırmaya ilişkin giderlerin T.Ü. Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından karşılanması koşuluyla** gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına uygun olduğuna mevcudun oybirliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI · Helsinki Bildirgesi, İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF Etik Kurul Yönergesi

ÜYELER

Ünvanı / Adı / Soyadı Ek Üyeliği	**Uzmanlık Dalı**	**Kurumu**	**Cinsiyeti**	**İlişki (*)**	**Katılım (**)**	**İmza**
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F Farmakoloji A.D.	K	E ~~H~~	~~E~~ H	
Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	E H	E H	İzinli
Prof.Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	E ~~H~~	~~E~~ H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	E ~~H~~	~~E~~ H	
Doç. Dr. Ömer Nuri PAMUK Üye	Romatoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	E	E ~~H~~	~~E~~ H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	E H	E H	İzinli
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	E ~~H~~	~~E~~ H	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Deontoloji ve Tıp Tarihi	T.Ü.T.F. Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.	K	E ~~H~~	~~E~~ H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	E ~~H~~	~~E~~ H	
Avukat Barış DEMİREL Üye	Hukuk	T.Ü. Rektörlüğü	E	E ~~H~~	~~E~~ H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Murat DİKMENGİL
Dekan

Ek 4

Kültür İçin Kullanılan Cihazlar

Laminar air flow kabini (Heraeus)

Soğutmalı santrifüj (Heraeus)

Vorteks (Yellow line)

Etüv (Heraeus)

Hassas dijital terazi (Scaltec)

FISH İçin Kullanılan Cihazlar

Su banyosu (Memmert)

Hotplate (VWS)

Hibridizer (Techne)

Buzdolabı (Arçelik) (+4 ºC)

Derin dondurucu (Arçelik) (-20 ºC)

Faz-kontrast mikroskobu (Olympus)

Floresan mikroskobu (Olympus BX51 Floresan Ataçmanlı, yeşil FITC, kırmızı RHODAMINE filtre)

Kültür İçin Kullanılan Malzemeler

Flask (Cellstar)

0,45 µm siteril mini filtre

Falkon tüpü (15 ml)

Steril enjektörler (5cc, 10cc'lik)

Pastör pipeti

Kültür İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

RPMI-164O Medyum (Sigma-Kat.No:R8758)

Fetal Calf Serum (Sigma-Kat.No:A11-144)

Penisilin-Streptomisin (Sigma-Kat.No:P4333)

Ficoll-Histopaque (Lymphoprep-Hypaque)

Heparin (Panpharma)

Fitohemaglutinin (PHA) (stok 1mg/ml) (Sigma-Kat.No:L-8902)

Cytochalasin-B (DMSO içinde) (stok 0.1 mg/ml) (Sigma-Kat.No:C6762-1MG)

Etil alkol (%96'lık Tekel)

FISH İçin Kullanılan Malzemeler

Otomatik pipet (Eppendorf 10, 100,ve 1000 µl'lik)

Otomatik pipet ucu (10, 100,ve 1000 µl'lik)

Traşlı lam (SuperFrost 76x26mm)

Lamel (Menzel-Gläser 24x32)

Cam şale

FISH İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

Formamid (Merc-Kat.No:K37624708 742)

Formaldehid (Sigma-Aldrich-Kat.No:15512)

RNAz (Sigma-Kat:No:R-6513)

Sodyum Hidroksit (Merck)

Hidroklorik Asit (1M) (Merck)

Sodyum Klorür (Sigma)

Potasyum Klorür (Riedel-de Haën)

Asetik Asit (Sigma-Aldrich)

Metanol (Sigma-Aldrich)

Etanol (Sigma-Aldrich)

DAPI (Cambio-Kat.No:1124-MD)

Pansentromerik Prob (Cambio-Kat.No:1695-FITC/1695-Cy3)

Tween 20 (Merck)

Giemsa (Merck 044546)

Yapıştırıcı (Rubber Gum)

İmmersiyon yağı

Kültür İçin Kullanılan Solüsyonlar

Hücre kültür medyumu

L-Glutaminli RPMI-1640 medyuma %10 Fetal Calf Serum ve %1Penisilin/Streptomisin ilave edilerek flasklara 9,5 ml olacak şeklinde konur. Her bir flask içine kültür ekimi yapılırken 150 µl (1mg/ml) PHA eklenir.

Sitokalazin-B çözeltisi

1mg Sitokalazin-B stoğu (Final konsantrasyon yaklaşık 6µg/ml)

0,85 gr Sodyum klorür(NaCl) 100 ml distile su içinde çözülür ve 0,2 mikronluk filtreden geçirilir. Filtrelenmiş NaCl çözeltisinden 9 ml alınarak 1 ml Dimetil Sülfoksit (DMSO) karıştırılır ve 1mg Sitokalazin -B üzerine eklenir. Partiküller çözülene kadar iyice karıştırılır. Son olarak bu çözeltinin üzerine 5 ml steril distile su eklenir ve tüplere bölünerek -20 °C'de saklanır.

0,075 M KCL çözeltisi

5,590 gr.KCL (potasyum klorür) 1L steril distile suda çözülür.

Fiksatif Çözelti

Metanol /asetik asit (3:1) oranında karıştırılır. Çalışma esnasında, taze hazırlanır.

FISH İçin Kullanılan Solüsyonlar

20xSSC (pH:5.3) Tampon Çözeltisi

175.3 gr NaCl ve 88.23 gr Na sitrat tartılır. Steril distile su ile 1L'ye tamamlanır. pH ölçülür ve ayarlanır.+4ºC'de 6 ay saklanabilir.

2xSSC Tampon Çözeltisi

100ml 20xSSC, 900 ml distile su ile karıştırılır.

HCL Çözeltisi

500 ml distile su üzerine 430 µl %37'lik HCL ekle ve karıştır.

PBS (pH:7)

8 gr NaCl, 0.2 gr KCL, 1 gr $NaHPO_4$, 0.2 gr KH_2PO_4 tartılır. 1L distile suda çözülür.

Denatürasyon Çözeltisi (%70 formamid/2xSSC) (pH:7)

70 ml formamid üzerine 30 ml 2xSSC eklenir.

Alkol serileri

%70, 90, 100'lük etanol solüsyonları hazırlanır.

RNAz solüsyonu

Stok 10 mg/ml 2xSSC içinde

Konsantrasyonu 100µg/ml olacak şekilde 2xSSC ile çözülerek hazırlanır. -20ºC'de saklanır.

Pepsin solüsyonu

Stok pepsin solüsyonu (% 10'luk) (7,5 mM HCL içinde), -20ºC'de saklanır.

Formamid yıkama solüsyonu (pH:7)

50 ml formamid, 50 ml 2xSSC (% 50)

70 ml formamid, 30 ml 2xSSC (% 70)

Ek 5

Sayım Kağıdı

Sayılan Preparat:

Sayım Tarihi :

Sayan Kişi :

	Koordinatlar		**MN**							
	X	**Y**	1	2	3	4	5	6	7	8
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										
TOPLAM:										

Ek 6

Sayım Kağıdı

Sayılan Preparat:

Sayım Tarihi :

Sayımı Yapan Kişi :

	MN sentromer(+) dağılımı					
	1	2	3	4	5	6+
Toplam						

	MN sentromer(-) dağılımı					
	1	2	3	4	5	6+
Toplam						