

**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**AKUT VE KRONİK LÖSEMİLERDE
TELOMERAZ AKTİVİTESİ**

**TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Semra Paydaş**

UZMANLIK TEZİ

88553

Dr. Sinan Yavuz

ADANA - 1999

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Bu çalışma TF-98U17 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Dr.Sinan Yavuz
Adana-1999



İÇİNDEKİLER

Teşekkür.....	ii
İçindekiler.....	III
Tablo listesi.....	IV
Özet.....	V
Abstract.....	VI
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Telomerin yapısı.....	3
2.2.Telomeraz enziminin yapısı ve fonksiyonları.....	4
2.3.Telomeraz enziminin klinik önemi.....	7
2.4.Akut lösemiler.....	9
2.4.1.Epidemiyoloji ve etiyoloji.....	10
2.4.2.Akut lösemi tanısı.....	12
2.4.3.Akut lösemilerin sınıflandırılması.....	14
2.4.4.Akut lösemilerde tedavi prensipleri.....	15
2.5.Kronik miyeloid lösemi.....	16
2.6.Kronik lenfositik lösemi.....	18
2.7.Lösemilerde telomeraz aktivitesi.....	19
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1.TRAP reaksiyonu.....	22
3.2.Hibridizasyon ve ELISA.....	22
3.3.İstatistiksel yöntemler.....	23
4.BULGULAR.....	24
5.TARTIŞMA.....	41
6.SONUÇ.....	46
7.KAYNAKLAR	47

TABLO LİSTESİ

<u>Tablolar</u>	<u>Sayfa no</u>
Tablo I	19
Tablo II	22
Tablo III-a	26-28
TabloIII-b	29-31
Tablo III-c	32-33
TabloIV-a	34
TabloIV-b	35
TabloIV-c	35
TabloV-a	36
TabloV-b	37
TabloVI-a	38
TabloVI-b	39
TabloVII	40

ÖZET

Kromozomların uç kısımlarında bulunan, genomik stabiliteyi sağlayan yapıya telomer adı verilir. Telomerler tekrarlayan TTAGGG dizilerinden oluşur ve replikasyon esnasında gelişebilecek kromozomal anomalileri engeller. Hücrenin yaşlanmasıyla telomer kısalır ve hücre ölür. Embriyonik yaşamda aktif olarak fonksiyon gören, doğumdan sonra inaktive olan telomeraz enzimi replikasyon sonrası gelişen telomerik erozyonu engeller. Buna bağlı olarak hücreler sınırsız bölünme yeteneği kazanır. Karsinogenezde telomeraz reaktivasyonu önemli rol oynar. Lösemilerde telomeraz aktivitesi ile klinik prezentasyon, tedaviye yanıt, prognoz arasında yakın ilişki vardır. Ayrıca sitogenetik anomaliler ile telomeraz aktivitesi arasında korelasyon mevcuttur. Hastaların takiplerinde ve prognozun belirlenmesinde kullanılabilecek önemli bir parametredir. Bu çalışmada 70 lösemi hastasının (35 akut miyeloid lösemi (AML), 7 akut lenfoblastik lösemi (ALL), 18 kronik lenfositik lösemi (KLL), 10 kronik miyeloid lösemi (KML)) periferik kan örneğinde telomeraz aktivitesi, PCR tabanlı bir yöntem ile araştırıldı. Yirmi sağlıklı kişiden alınan kan örnekleri kontrol olarak kullanıldı. Ortalama telomeraz aktivitesi çalışma grubunda 0.729 ± 0.031 (0.305-1.763) iken kontrol grubunda 0.190 ± 0.031 (0.148-0.265) olarak saptandı ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). En yüksek telomeraz aktivitesi AML grubunda, özellikle refrakter ve/veya erken relaps olgularında bulundu. Telomeraz aktivitesi ile yaş, cinsiyet, organomegali, lenfadenopati, beyaz küre ve trombosit sayısı, hematokrit düzeyi gibi klinik parametreler arasında anlamlı ilişki bulunmadı. Bunun nedeni her gruba düşen hasta sayısının sınırlı olması ile ilişkili olabilir. Her ne kadar telomeraz aktivitesinin prognostik önemi bu çalışmada tam olarak gösterilemedi ise de bu enzim akut lösemilerde önemli bir prognoz belirleyicisidir ve daha geniş hasta gruplarında yapılacak çalışmalar daha fazla yol gösterici olacaktır.

Anahtar sözcükler: lösemi, telomer, telomeraz aktivitesi, kanser.

ABSTRACT

Telomere is the structure, which is present at the chromosomal ends and provides the genomic stability. Telomeres are consist of TTAGGG tandem repeats and they prevent the chromosomal abnormalities which may develop during replication. When the cells become older, telomere becomes shorter and the cell dies. Telomerase which is inactive after birth is actively functional in embryonic period and it prevents the telomeric erosion occurring after replication. By this way, the cells gain the capacity of unlimited division. The telomerase reactivation has an important role in carcinogenesis. In leukemias there is a relationship between telomerase activity with clinical presentation, outcome and prognosis. Also there is a correlation between cytogenetic abnormalities with telomerase activity. It is an important parameter that can be used in the patient's follow-up and in determining the prognosis. In this study the telomerase activity was investigated by a PCR-based method in the peripheral blood. Seventy blood samples taken from patients with leukemia were used for study group. Twenty samples taken from age-matched healthy subjects were used as control. In this study group, 35 cases had acute myeloid leukemia (AML), 7 had acute lymphoblastic leukemia (ALL), 18 had chronic lymphocytic leukemia (CLL), 10 had chronic myeloid leukemia (CML). Mean telomerase activity was 0.729 ± 0.411 (0.305-1.763) in the study group and was 0.190 ± 0.031 (0.148-0.265) in the control group. Telomerase activity in patients was found to be higher than controls. The highest telomerase activity was found in patients with AML, especially in refractory and/or early relapse cases. There was no relationship between telomerase activity and clinical parameters such as organomegaly, lymphadenopathy, white blood cell count, hematocrit, platelet count, and response to therapy. We could not detect an important association between telomerase vity and clinical presentation and outcome. This was due to the limited number of patients. Although we could not shall the prognostic value of telomerase activity, this enzyme is an important prognostic indicator in acute leukemias and we need larger patients group.

Key words: leukemia, telomere, telomerase activity, cancer

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Ökaryotik kromozomların uç kısımlarında yer alan ve tekrarlayan heksamerik DNA dizilerinin bir araya gelmesi ile oluşan yapıya telomer adı verilir (4,29,30). Genomik stabilitenin korunmasını sağlar. Kromozomlarda replikasyon esnasında ortaya çıkabilecek degradasyon, füzyon, translokasyon, rekombinasyon gibi anomalileri engelleyerek bu görevini yerine getirir. Her telomer ortalama 5-20 kb (kilo baz) uzunluğundadır. 1986 yılında Cooke ve Smith, normal somatik hücrelerde her hücre bölünmesini takiben, telomerik DNA'nın bir miktar kısaldığını farketmişlerdir (50-200 baz çifti) (40). Telomer uzunluğunun belirli bir düzeye kadar kısılması sonucu, hücreler proliferasyon yeteneğini kaybederek yaşlanma sürecine girerler. Sonuçta hücre ölümü kaçınılmazdır. Bu durum normal büyüme, gelişme ve yaşlanma için oldukça önemlidir. Aksi takdirde telomerik kısılmanın olmaması, hücrelere ölümsüzlük yeteneği kazandırır ki bu karsinogenezin önemli bir köşe taşıdır.

Hücrelerin yaşam sürelerini ve mitotik aktivitelerini belirleyen telomerler, moleküler saat olarak da adlandırılırlar. Replikasyon sırasında normal somatik hücrelerde belirli miktarda telomerik DNA kaybı kaçınılmazdır. İşte bu noktada telomer uzunluğunun sabit halde tutulmasını sağlayan önemli bir enzim gündeme gelir. Telomeraz adı verilen bu enzim, DNA'nın 3' ucuna TTAGGG heksamerlerini ekleyen, özelleşmiş bir DNA polimeraz'dır. Normal erişkinde somatik hücrelerde inaktif olan bu enzim, sadece kemik iliği kök hücreleri, kolonik kript epitel hücresi, erkeklerde germ hücreleri, epidermin bazal hücreleri, endometrium epitel hücreleri, aktive T ve B lenfositleri ile embriyonik yaşamdaki somatik hücrelerde pozitifdir. Telomeraz ribonükleoprotein yapısında bir 'reverse transcriptase' dir (20,26). Amacı fonksiyonel telomer uzunluğunun korunmasını sağlamaktır. Yapılan araştırmalarda, insanlardaki kanserlerin %80-90'ında telomeraz enzim aktivitesi belirgin olarak yüksek bulunmuştur (11,12,38,50). Bu özelliğinden dolayı kanserlerin tanı, tedavi ve takibinde kullanılabilecek spesifik bir belirleyici olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmanın amacı, akut ve kronik lösemilerde telomeraz enzim aktivitesiyle, hastalığın klinik prezentasyonu, seyri, tedaviye verdiği yanıt ve prognoz arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Telomerin Yapısı

Normal hücrelerin proliferasyon kapasitesini belirleyen, kromozomların ucunda yer alan, tekrarlayan TTAGGG heksamerlerinden oluşan özelleşmiş DNA parçasına telomer adı verilir (4). Ortalama uzunluğu 5-15 kb kadardır. Moleküler replikometre veya endojen jenerasyonel saat olarak da adlandırılır (34). İnsan vücudunda kromozom yapısını ve fonksiyonlarını idame ettiren 92 adet telomer olduğu düşünülmektedir. Konvansiyonel DNA replikasyonundaki bazı yetersizlikler nedeniyle (uç replikasyon problemi olarak tanımlanan olaydır) lineer DNA replikasyonu tam olarak sonuçlanamaz ve 3' ucundan her hücre bölünmesi sırasında belirli oranda telomerik DNA kaybı gerçekleşir (yaklaşık olarak her bölünme sonucu ortalama 50-200 baz çifti). Bölünmelerin devamı ile belirli bir kısalığa erişen telomer, hücreyi yaşlanma sürecine iter. Hücreler artık proliferasyon yeteneklerini kaybederek G₀-G₁ fazına geçer ve sonuçta ölürler. Bu mekanizma tümör süpresör mekanizmadır. Yaşlı kişilerin telomer uzunluğunun gençlerden daha kısa olması bu teoriyi desteklemektedir (28,40).

Normal somatik hücrelerin belirli bir replikatif limiti vardır. Bu "Hayflick limiti" olarak tanımlanmıştır. Fibroblast için 50-80 bölünme olarak belirlenmiştir. Telomer uzunluğu kritik bir noktaya ulaştıkça hücre siklsten çıkarak, istirahat fazına geçer. Bölünme yeteneğini yitirir. Yaşlanma sürecine girer. Kritik bir noktaya kadar kısalan telomer, beraberinde genomik instabilitayı getirecektir. Bu durumda kromozomal anomalilere olan eğilim, aktif olarak çoğalan hücrelerde artar. Onkogen aktivasyonu, antionkogen inaktivasyonu bunların sonucu olarak ortaya çıkabilir. Hayflick limiti ortadan kalkar. Bu aşamada çok büyük bir olasılıkla telomeraz reaktivasyonu gerçekleşir. Bu olayın meydana gelmesiyle hücreler yüksek bir mitotik aktiviteye sahip olarak malign proliferasyon yeteneği kazanırlar (29).

Normal somatik hücrelerin yaşlanmadan önce ne kadar bölüneceğini belirleyen esas faktör, telomer uzunluğudur. Hücrelerin proliferasyon yeteneğini sınırlayan süreç, replikatif veya hücresel yaşlanma süreci olarak adlandırılır (40).

Devamlı replikasyon gözlenen somatik hücreler arasında, kemik iliği kök hücreleri, erkeklerde germ hücreleri, kolonik kript epitel hücreleri, endometrium epitel hücreleri sayılabilir. Bu hücrelerde telomer uzunluğu yaşam boyu sabittir. Çünkü normal erişkinlerde telomerik DNA kayıplarını yerine koyan ve telomer bütünlüğünü sağlayan, ribonükleoprotein yapısındaki telomeraz enzimi, sadece bu hücrelerde aktif olarak görev yapmaktadır.

Telomerik DNA'ya bağlanan ve büyük ölçüde görevi telomeraz enzim aktivitesinin regülasyonu olan iki tip protein tanımlanmıştır (telomeric repeat factor1 ve 2 ; TRF1-TRF2). TRF1 telomeraz enziminin negatif düzenleyicisidir. Hipotetik olarak TRF1'in telomeraz ekspresyonunu azalttığı düşünülmektedir. Bunu destekleyen bulgu, TRF1'in aşırı ekspresyonu sonucunda telomeraz enziminin genetik ekspresyonunun belirgin olarak azalmasıdır. TRF1 telomerik kısalmayı teşvik eder. Tümör oluşumunda sadece telomeraz reaktivasyonunun gerçekleşmesi yeterli görünmemektedir. Ayrıca TRF1 düzeyinde de birtakım yeni düzenlemelerin ortaya çıkması gerekmektedir. TRF1 telomerik DNA'ya bağlanarak uzunluğu kontrol eder. Uzun telomerler daha fazla sayıda TRF1 bağlayacağından, bu hücrelerde telomeraz enzimi inaktiftir. Her replikasyondan sonra telomerler belirli oranda kısaltıldıkları için bir süre sonra TRF1 telomere bağlanamaz ve telomeraz enzimi üzerindeki inhibitör etki ortadan kalkar. Neticede telomer uzunluğunun regülasyonu, telomer üzerindeki TRF1 miktarı ve telomeraz enzim aktivitesi arasındaki dengeyle sağlanır (40).

2.2. Telomeraz Enziminin Yapısı Ve Fonksiyonları

Telomeraz enzimi ribonükleoprotein yapısında özelleşmiş bir 'reverse transcriptase'dır (20). Fonksiyonel telomer devamlılığını sağlar. Bu enzim, her hücre bölünmesi sırasında, uç replikasyon problemi nedeniyle kaybedilen hekzamerik yapıdaki nükleotid zincirlerini (TTAGGG), telomerin 3' ucuna ekleyen spesifik bir DNA polimerazdır. Telomerik DNA dizilerini kodlamak için kendi yapısında bulunan internal RNA'yı kalıp olarak kullanır (bu özelliği nedeniyle 'reverse transcriptase' denilmektedir).

İnsanlarda telomeraz iki ana komponentten oluşur. İlki, kalıp olarak kullanılan RNA subünitidir. Telomeraz, 500 nükleotidden oluşan bir RNA'ya sahiptir (hTR=human telomeric RNA). Bu komponent, TTAGGG heksamerlerini kodlamakla yükümlüdür. İkincisi ise, protein-enzimatik subünittir (katalitik protein). Bu komponentin 'reverse transcriptase' aktivitesi vardır. Telomerin 3' ucuna TTAGGG dizilerini ekler (40).

Normal erişkinlerdeki somatik hücrelerde telomeraz aktivitesine rastlanmaz. Sadece yüksek proliferasyon kapasitesine sahip olan, kemik iliği kök hücreleri, kolonik kript epitel hücreleri, endometrium epitel hücreleri, epidermis bazal hücreleri, erkekte germ hücreleri, aktive T ve B lenfositlerde düşük düzeyde saptanmaktadır. Nitekim, bu saydığımız hücrelerin telomer uzunluğu, diğer somatik hücrelerin telomerlerinden daha uzundur. Embriyonik yaşamda tüm hücrelerde pozitif olan telomeraz enzim aktivitesi, doğumdan sonra regresyona uğrar ve normal gelişim esnasında reaktivasyon gözlenmez. Böylece, belirli sayıda bölünme sonucunda somatik hücrelerde telomer kısalır, o hücre yaşlanma sürecine girer ve ölür. İnsanlarda tanımlanan tüm kanserlerin %80-90'ında tümör hücrelerinde telomeraz aktivitesi yüksek bulunmuştur. Bu durum bilim adamlarını telomeraz reaktivasyonu ve karsinogenez arasında ne gibi bir ilişkinin olduğunu araştırmaya yöneltmiştir (5,13,41,55).

Telomeraz enzimi, telomer uzunluğunu sabit halde tutarak, hücrelerin ölümsüzlük yeteneği kazanmasına neden olur. Birçok kanser türünde bu enzimin yüksek düzeylerde aktivite göstermesi, karsinogenezde telomeraz reaktivasyonunun kritik bir evre olması, anti-telomeraz yaklaşımları kanser tedavisi alanında anti-telomeraz yaklaşımları güncel hale getirmiştir. Ancak bu durum bazı kuşkuları gündeme getirmiştir. Birincisi, çoğu tümörde ortalama telomer uzunluğu 6-10 kb'dır. Her hücre bölünmesinde yaklaşık olarak 100 baz çiftinin kaybedildiği düşünülürse, telomeraz enziminin bloke edilmesine rağmen, hedef telomer uzunluğuna ulaşabilmek için ortalama 60 kez hücre bölünmesinin gerçekleşmesi gerekmektedir. Eğer hücrenin ölümüne neden olan telomer uzunluğu 1kb ise 7 kb'lık bir telomere sahip tümörle mücadele uzun zaman alacaktır. Bu durumda anti-telomeraz tedavi seçeneği akut kemoterapi amaçlı

değil, idame tedavi amacıyla kullanılabilir. Bir diğer problem, hedeflenen telomerik kısalma elde edildiğinde karşımıza yeni bir takım sorunların çıkma olasılığıdır. Bilindiği gibi telomerin asıl fonksiyonu, genomik stabilitenin korunmasıdır. Eğer telomer yeterli uzunluğa sahip değilse, replikasyon sırasında gelişebilecek füzyon, degradasyon, translokasyon, rekombinasyon gibi potansiyel tehlike arz eden kromozomal anomalilerin gelişmesini önleyemez. Sonuçta onkogen aktivasyonu, antionkogen inaktivasyonu, anaploidi, heterozigosite kaybı gibi karsinogenez için gerekli bozukluklar ortaya çıkar. Hücreler ölümsüzlük yeteneği kazanabilir. Hücre siklusunun üzerindeki pozitif regülatör mekanizmalar geçerliliğini yitirir ve sonuçta kanser oluşur. O halde, acaba anti-telomeraz tedavi yaklaşımları bu riskleri beraberinde getirebilir mi? Bu sorunun yanıtı şu anda açık değildir (1,41).

Önemli bir başka husus, telomeraz reaktivasyonunun karsinogenezin hangi aşamasında gerçekleştiğinin saptanmasıdır. Hücre siklusunda G1 fazından S fazına geçişte telomeraz aktivasyonu ortaya çıkar. Bazı tümörlerde erken evrede enzim inaktif, geç evrede aktiftir. Telomerik kısalma sonucu ortaya çıkan kromozomal anomalilerin, telomeraz reaktivasyonuna yol açma ihtimalinin olması ayrı bir tartışma konusudur. Açıklanamayan oldukça fazla mekanizma olmasına rağmen genel kanı, telomeraz reaktivasyonunun karsinogenezin son aşaması olduğudur. Bunu destekleyen bazı deliller mevcuttur. Telomeraz aktivitesi tümör hücrelerinin proliferasyonu için başlangıçta gerekli değildir. Oluşan tümör hücrelerinin uzun dönemde ölümsüzlük yeteneğine sahip olabilmeleri için gereklidir. Telomeraz her zaman telomer uzunluğunu sabit halde tutamaz. Karsinogenezin başlangıcından belirli bir süre sonra telomerik kısalma kritik bir noktaya ulaştığında telomeraz inhibitörü TRF1 telomere daha az oranda bağlanacağından telomeraz aktivasyonu gerçekleşir. Daha sonra mevcut aktive haldeki enzim telomer uzunluğunu stabil hale getirerek o hücreye sınırsız proliferasyon yeteneği kazandırır. Tümör progresyonunda hız sınırlayan aşama, telomeraz reaktivasyonudur (29,34,40).

Telomerik kısalma kritik bir noktaya ulaştığı halde telomeraz reaktivasyonu gerçekleşmeyen tümörlerde spontan remisyonlar gözlenebilir (6). Sonuçta

telomeraz reaktivasyonu karsinogenezde kritik bir öneme sahiptir ancak mutlaka gerekli değildir. Çünkü telomer uzunluğunun stabilitesinden sorumlu olan tek faktör telomeraz enzimi değildir. Telomerazdan bağımsız olan bu mekanizmalar şu anda tam olarak bilinmemektedir.

2.3. Telomeraz Enziminin Klinik Önemi

Son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda bir çok malign hastalıkta yüksek telomeraz aktivitesinin varlığı, bu enzimin tümör belirleyicisi olarak kullanılabileceğini gündeme getirmiştir. Kanser hücrelerinde belirgin olarak yüksek düzeyde mevcut olmasına rağmen normal hücrelerin bir kısmında da düşük aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir.

Klinik onkolojide, karsinogenezin erken evrelerde teşhis edilmesi, etkin tedavi alternatiflerinin geliştirilmesi, tedaviye yanıtın belirlenmesinde kullanılacak güvenilir bir testin keşfedilmesi önemlidir. Bu anlamda, telomerazın ilk bakışta tümöre spesifik bir enzim niteliğinde olması, onkoloji alanında yeni bir umut ışığı olarak algılanmaktadır.

Doku invazyonu başlamadan önce lezyonların saptanması, telomeraz taramalarının temel amacıdır. Asemptomatik bireylerin vücut sıvılarında enzim araştırması erken tanı açısından önemlidir. Telomeraz enziminin tespit edilmesi için 1994 yılında TRAP (telomeric repeat amplification protocol) yöntemi geliştirilmiştir (9,38). Polymerase chain reaction (PCR) tabanlı bir yöntemdir. Parafin blok biopsi materyallerinde insitu hibridizasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Ayrıca son zamanlarda daha sensitif ve spesifik olduğu anlaşılan "reverse transcriptase-PCR (RT-PCR)" yöntemiyle enzim tespit olanağı elde edilmiştir. Özellikle mesane kanserlilerin idrar örneklerinin incelenmesi sonucu RT-PCR'ın TRAP'a göre belirgin üstünlüğü ortaya konmuştur (33). Ağız çalkantı suyu, kolonik yıkama suyu, idrar, meme ve tiroid dokularından alınan ince iğne aspirasyon materyallerinde telomeraz enzimi tespiti yaygın olarak kullanılmaktadır. Telomerazın yanı sıra telomer uzunluğunun da saptanması mümkündür. Bu amaçla "southern blot" yöntemi kullanılır (2,3,8,21,24,25,45,48,53,54).

Tümör dokusu ile etrafındaki normal dokunun sınırlarının belirlenmesinde telomeraz aktivitesinin tespiti önemli bir bulgudur. Ancak bazen tümöre komşu normal alanda inflamatuvar yanıt sonucu lenfosit infiltrasyonu olmuşsa, buna bağlı yalancı pozitiflik yanıltıcı olabilir (3,5,7,18,19,27,42,47,48,56).

Metastatik kanser ve lenfoma olgularında lenf nodunun histopatolojik incelenmesi esnasında patologun normal olarak değerlendirdiği dokularda immünohistokimyasal ve moleküler analizlerle telomeraz aktivitesinin yüksek oranda pozitif olması, mikrometastazların ortaya konulmasında oldukça güvenilir bir metod olmuştur. Yapılan çalışmalarda, bütün malign ve benign lenf nodlarında telomeraz aktivitesi pozitif bulunmuştur. Ancak benign lenf nodlarında aktivite major olarak germinal merkezlerdedir (aktive B ve T lenfositlerinden dolayı). Malign lenf nodlarındaki aktivite, benign form ile karşılaştırılamayacak kadar yüksektir. Bu nedenle ayırımları kolaydır. Ancak bazı çalışmalarda lenfoma olgularındaki lenf noduyla reaktif lenf nodlarındaki telomeraz aktivitelerinin birbirine eşit olduğu gösterilmiştir (3,5,7,17,55).

Mesane kanserlerinde, idrar sedimentindeki hücrelerde telomeraz aktivitesinin araştırılması klinik anlamda önemli imkanlar sağlamıştır. Erken tanı, nüksün daha çabuk tespit edilmesi bu yöntemle mümkün olmaktadır. Mesane kanserinde erken evrede idrar örneğinin sitopatolojik incelenmesi ile pozitif sonuç elde etme olasılığı düşüktür. Ayrıca burada önemli olan bir başka husus, incelemeyi yapan sitopatoloji uzmanının klinik tecrübesinin, sonucu doğrudan etkiliyor olmasıdır. Oysa telomeraz araştırmaları bu konuda hem daha erken sonuç verir hem de kişisel tecrübeden bağımsız olarak doğru sonuç elde edilmesini sağlar. Düşük dereceli mesane kanserlerinde yapılan patolojik incelemelerle tanı koyma olasılığı %20 iken telomeraz bakılarak yapılan çalışmalarda bu oran %80'e çıkmaktadır (22,24,25,33,52,54).

Meme kanserinde yapılan çalışmalarda, telomeraz aktivasyonunun meme kanseri gelişiminin erken evrelerinde ortaya çıktığı yönünde bulgular elde edilmiştir. Normal meme dokusunda enzim aktivitesinin sıklığı %17'dir. Ancak malign dokuda bu oran %85-95'e yükselmektedir. Fibroadenomlarda %20 olarak belirlenmiştir. Telomeraz, insitu karsinom aşamasında tanı koyma imkanı

sağlayan bir belirleyicidir. Metastatik meme kanserlerinde periferik kanda dolaşan epitelyal hücreler, telomeraz aktivitesini belirleyen yöntemler kullanılarak tespit edilebilir. Böylece klinik olarak sessiz seyirli mikrometastazların bu şekilde saptanması hasta yönetimi açısından avantaj sağlamaktadır (3,7,28,43,48,51).

Telomeraz enziminin erken tanıda önemli bir belirleyici olmasının yanısıra antikanser tedavide yeni bir hedef olması sürpriz değildir. Daha önce belirttiğimiz gibi, şu anki bilgilerimize göre antitelomeraz tedavi akut tedavinin bir parçası değil, kronik idame tedavinin bir kolu olma yolundadır. Ayrıca normal somatik hücrelerin bir çoğunda telomeraz inaktif olduğu için tedavinin yan etki spektrumu şimdilik oldukça dar görünmektedir.

2.4. Akut Lösemiler

Lösemiler, hematopoietik sisteme ait immatür hücrelerin klonal, neoplastik proliferasyonu sonucu gelişirler. Hücre diferansiasyonunun herhangi bir aşamasında ortaya çıkan arrest nedeniyle aberan bir transformasyon oluşur ve hücrenin niteliği değişir. Lösemik hücreler kısa sürede kemik iliği boşluğunu doldurur ve normal hematopoietik hücrelerin yerini alır. Sonuçta hastalığa ait semptom ve bulgular ortaya çıkar. Bunlar kemik iliği yetersizliğinin bulgularıdır (anemi, hemoraji, infeksiyon). Lösemik hücreler kemik iliğini işgal ettikten sonra periferik dolaşıma katılırlar. Vücudun tüm dokularına yayılma özelliğine sahiptirler. Löseminin tipine göre dominant infiltre ettikleri dokular farklılık gösterir. Akut lösemiler temel olarak lenfoblastik ve miyeloblastik olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar (AML,ALL). Oldukça hızlı klinik seyir göstermeleri ve acil tedavi gerektirmeleri önemli özelliklerindendir.

Akut lösemilerde blastlar, primitif progenitor hücrelere benzerler ve bu hücrelerden köken alırlar. Oysa kronik lösemiler fenotip olarak oldukça matür görünen hücrelerden köken almaktadır. Kronik myeloid lösemi zaman içerisinde blastik faza transforme olabilir. Neticede klinik gidiş ve tedavi ihtiyacı bakımından akut lösemiye dönüşebilir.

Lösemi ("beyaz kan" anlamında) ilk olarak 1845 yılında Virchow tarafından tanımlanmıştır. Akut lösemiler, üzerinde en çok çalışılan ve oldukça iyi karakterize edilmiş bir hastalık grubudur. Morfolojik, genetik, immünojenotipik özellikleri ve biyolojik davranışlarına göre birçok alt gruba ayrılırlar. Lökogenozden sorumlu olan onkogenler tanımlanmıştır. Lösemik hücrelerin büyümelerini ve fonksiyonlarını düzenleyen faktörler ile ilgili oldukça geniş bilgi birikimi mevcuttur. Lösemik hücreleri öldürebilme yeteneğine sahip birçok ilaç keşfedilmiştir. Erişkinlerdeki lösemilerde tam remisyon ve bazen kür ile sonuçlanan terapötik stratejiler geliştirilmiştir. Tüm bu avantajlara rağmen, halen akut lösemiler birçok hasta için fulminan ve tam kür sağlanamayan hastalık olarak yerini korumaktadır.

2.4.1. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Akut lösemiler tüm kanserlerin %3'ünden daha az bir kısmını oluşturur. ABD'nde 35 yaş altında kanser nedeniyle ölümlerin birinci nedenidir. Akut miyeloblastik lösemi insidansı, 100000'de 2.5, ALL insidansı ise 100000'de 1.3'dür. AML'de hafif bir erkek baskınlığı vardır (erkek/kadın: 1.5/1). AML, ABD'nde bir yılda yaklaşık olarak 9000 kişiyi etkilemektedir. ALL'de bu sayı 4000'dir. Son 20 yılda akut lösemi insidansında belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. Yalnız, ALL tanısı alan hastaların sayısında hafif bir artış, AML tanısı alanlarda da hafif bir düşüş görülmüştür. Akut lösemilerin insidansı tüm dünyada hemen hemen aynıdır. ALL insidansı zencilerde beyazlara göre iki kat daha yüksektir. AML'de böyle bir farklılık yoktur. Yaşa spesifik insidans göz önüne alındığında, ALL'de tanı anında ortalama yaş 10 iken, AML'de 65 dir. Yaşla beraber AML insidansında belirgin artış dikkati çeker (40 yaş ve üzerinde 100000 kişide 1 iken, 75 yaş ve üstündekilerde 100000 kişide 15'e yükselir). ALL insidansında en belirgin artış 10 taş altı ve 70 yaş üstünde görülür.

Birçok akut lösemi olgusunda hastalığın nedeni bilinmemektedir. Lösemi, klonojenik hücrelerdeki genetik değişikliklerin sonucu gelişir. Bu genetik anomaliler (kromozomal translokasyon, delesyon, mutasyon v.b.) bazı karsinojenlerin etkileriyle ortaya çıkabilir. Löseminin esas nedeni çok sınırlı

sayıdaki hasta grubunda bilinir. Bunların geçmişinde radyoterapi veya kemoterapi öyküsü mevcuttur. Bu grup; sekonder lösemi grubudur. Sekonder lösemilerin %90'ı miyeloid orijinlidir ve sıklıkla tedavileri güçtür. Bu hastalarda genellikle kötü prognostik işaret olarak kabul edilen özel kromozom anomalileri mevcuttur.

Sekonder miyeloid lösemiler ilk kez, erken yaşta tanı alıp tedavi gören Hodgkin hastalarında görülmüştür. Bu konu üzerinde yapılan çalışmalar, nitrojen mustard gibi alkilleyici ajanların yüksek risk oluşturduğunu telkin etmekteydi. Tek başına radyoterapi, kemoterapi veya kemoterapi + radyoterapi kombinasyonlarıyla lökomogenez arasındaki ilişki, dozla ilişkili bulunmuştur. Son yapılan araştırmalarda tek başına radyoterapinin risk faktörü olmadığı anlaşılmıştır. Mekloretamin (nitrojen mustard), prokarbazin, siklofosfamid ve klorambusil en önemli risk faktörleridir. Sekonder lösemi riski tedaviden sonraki 2 ile 9 yıl arasında en fazladır. Olguların %85'i tedaviden sonraki 10 yılda ortaya çıkar.

Çocukluk çağı ALL'lerin tedavisinden sonra sekonder AML gelişme riski de vardır. Bu risk ilk 6 yılda en fazladır. En sık T hücreli ALL'de ve epipodofilotoksin (etoposid veya teniposid) veya alkilleyici ajan kullanımı sonucu görülür. Epipodofilotoksin kullanılmayan ALL'lerde AML riski artmamaktadır.

Hem erişkinlerde hem de çocuklarda epipodofilotoksin kullanımıyla sekonder AML arasındaki ilişki, yapılan çalışmalarda tam olarak ortaya konmuştur (özellikle 11q23 kromozomal anomaliyle karakterize monositik lösemi gibi). Ayrıca, etoposid ve doksorubisin gibi kemoterapötiklerin kullanımı sonrası t(15;17) ile karakterize promyelositik lösemilerin de geliştiği gözlemlenmiştir.

Sekonder AML için doz bağımlı risk, over ve meme kanseri olgularında radyoterapi ve alkilleyici ajan kullanılması hallerinde de ortaya konmuştur. Ayrıca yüksek doz radyoterapi ve alkilleyici ajan tedavisi sonrasında yapılan otolog kemik iliği transplantasyonları sonucunda da AML sıklığı artmaktadır.

Lökomogenezden sorumlu tutulabilecek diğer nedenler arasında atom bombası, mesleki olarak maruz kalınan düşük doz radyasyon sayılabilir.

Elektromanyetik alanların etkisi henüz tartışmalıdır. Sigara, 60 yaş üzeridekilerde spesifik kromozomal değişikliklere yol aarak, doz bağımlı bir kimyasal mutajen gibi davranabilir. AML olgularının %20'si belki sigarayla ilişkili bulunabilir.

Benzen'e maruziyet AML gelişimi için ciddi bir mesleki risk faktörüdür. Ayakkabı ve kauçuk endüstrisinde kullanılan toluen ve butadien gibi solventler de önemli risk faktörleridir.

Bir diğer etiyolojik faktör de virüslerdir. Özellikle RNA retrovirüsleri üzerinde yoğun deneysel çalışmalar yapılmıştır. HTLV-1, bir insan retrovirüsüdür ve insanlarda T-hücreli lösemi/lenfoma'ların nedenidir. Epstein Barr Virus (EBV) bir DNA virüsüdür. Akut B hücreli lösemi, Burkitt lenfoma ve HIV ile ilişkili lenfomalardan sorumlu tutulmaktadır. EBV, lenfoid proliferasyonu artırır. Bu durum "myc" onkogen aktivasyonuna yol aar. Sonuçta klonal neoplastik proliferasyon ortaya çıkar.

Lösemiler, sonradan kazanılmış hastalık gibi görünse de ciddi genetik ve immünolojik predispozisyonlar yadsınamaz. İdentik ikizlerde yüksek konkordans gözlenir. Bazı genetik sendromlar lösemi riskini artırır. Bunların arasında Down sendromu, Bloom sendromu, Fankoni anemisi, ataksi telenjektazi sayılabilir. Down sendromunda lösemi görülme sıklığı, normal popülasyona göre 20 kat daha fazladır. Bunlarda tipik olarak 3 yaşın altında megakaryoblastik lösemi, çocuklarda ve erişkinlerde ise pre-B ALL görülme sıklığı oldukça yüksektir.

2.4.2. Akut Lösemi Tanısı

Semptom ve bulgular her ne kadar nonspesifik olsa da akut lösemi tanısı hikaye, periferik kan ve kemik iliği aspirasyon örneğinin incelenmesiyle kolaylıkla konulur. Hastalığın yönetimi açısından diğer laboratuvar ve radyolojik görüntüleme yöntemlerinin kullanılması önemlidir (koagulasyon profili, biyokimyasal profil, akciğer grafisi, abdominal ultrasonografi gibi). Akut lösemi olgularında, hastalık bulgu ve belirtileri ortalama 1-3 ay içinde oturur. Yorgunluk, halsizlik, aşıkar kanama odakları, nefes darlığı, ateş, kilo kaybı, kemik ağrısı veya

karın ağrısı, klinik belirtiler arasında sayılabilir. Minör dental girişim sonrası aşırı kanama veya ciddi burun kanaması hastayı doktora getiren ilk semptom olabilir.

Fizik muayenede tipik olarak solukluk, mukozal ve ciltaltı kanama odakları dikkati çeker. Daha az sıklıkla hepatosplenomegali, lenfadenopati saptanır. Ateş ve respiratuar enfeksiyonlar nadir değildir. Nörolojik semptom ve bulgulara az sıklıkta rastlanır. Özellikle ALL'de kranial nöropatiler görülebilir. Baş ağrısı, bulantı ve kusma olabilir.

Laboratuvar incelemelerinde anemi ve trombositopeni en önemli bulgulardandır. Olguların yarısından çoğunda ciddi trombositopeni vardır ($PLT < 50000/mm^3$). Beyaz küre sayısı normal, düşük veya yüksek olabilir. Hastaların %20'sinden azında beyaz küre sayısı $100000/mm^3$ 'den fazladır. Yine aynı orandaki hasta grubunda beyaz küre sayısı $5000/mm^3$ 'den az bulunmuştur. Akut monositik lösemiler ve T hücreli lösemilerde yüksek beyaz küre sayısına rastlanır. Periferik yaymanın incelenmesi halinde tüm olgularda blastik hücreler görülür. Periferik kandaki miyeloblast sayısının $100000/mm^3$ 'ün üzerinde olması tıbbi bir acildir (lökostazis). Hızlı davranıp bu sayıyı düşürmek için çaba gösterilmelidir. PTZ ve APTT uzayabilir. Akut promiyelositik lösemilerde dissemine intravasküler koagülasyon (DİK) tablosu gelişebilir. Subklinik DİK ise tüm akut lösemi alt gruplarında ortaya çıkabilir.

Biyokimyasal incelemeler sonucunda sıklıkla normal değerler elde edilir. Özellikle akut monositik lösemili bazı olgularda renal disfonksiyon ortaya çıkabilir. Ultrasonografik olarak renal infiltrasyon gösterilebilir. Hücre devriminin ve hücre ölümünün oldukça fazla olduğu olgularda (örneğin matür B hücreli, L3 ALL) tümör lizis sendromu ilk başvuruda saptanabilir. ALL hücrelerinin süratli yıkılması sonucu gelişir. AML'de daha nadir olup, en sık kemoterapi esnasında karşılaşılır. Tümör lizis sendromunun laboratuvar bulguları arasında hipokalsemi, hiperkalemi, hiperürisemi ve böbrek yetersizliği sayılabilir. Bu sendrom tedavi edilmezse fatal seyir gösterir.

Klinik bulgulara bakarak AML ile ALL arasında ayırım yapmak mümkün değildir. Periferik blast morfolojisi ve immünofenotiplendirme, bu konuda yardımcı yöntemlerdir. Bununla beraber değişik akut lösemi gruplarına has çeşitli

bulgu ve belirtiler de vardır. Kemik ağrısı ve santral sinir sistemi infiltrasyonuna ait bulgu ve belirtiler, lenf nodu ve organomegali ALL'de daha sıktır. Dişeti infiltrasyonu monositik AML'de (M5) daha fazla görülür. T hücreli ALL olgularının %50'sinden fazlasında mediastinel kitle vardır. Tüm hastalara kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisi uygulanmalı, bu örneklerde immünohistokimyasal ve genetik değerlendirmeler yapılmalıdır.

Akut lösemiler ile diğer hematopoietik hastalıklar arasında (lenfoma, miyelodisplastik sendrom, aplastik anemi, multipl myelom, ciddi megaloblastik anemi, EBV enfeksiyonuna bağlı ciddi lenfositoz, tüberküloza bağlı ciddi monositoz, karsinom metastazına bağlı gelişmiş myelofizmi) ayırım mutlaka yapılmalıdır. Kemik iliği incelemesiyle hemen hemen tüm olgularda lösemiler ile hematopoietik olmayan hastalıklar birbirinden ayrılır.

2.4.3. Akut Lösemilerin Sınıflandırılması

French-American-British (FAB) grubu AML'yi 8 (M0-M7), ALL'yi de 3 (L1-L3) gruba ayırmaktadır. Bu ayırmada morfolojik ve sitokimyasal incelemeler temeldir. Son zamanlarda immünofenotiplendirme M0'da, elektron mikroskopisi de M7'de kullanılmaya başlanmıştır. AML ve ALL olgularının yönetimi ve tedavi protokolleri farklı olduğu için, FAB sınıflandırması bu açıdan klinisyene yardımcıdır. Ayrıca bazı alt grupların yönetiminin diğerlerinden farklı özelliklere sahip olması nedeniyle (M3-AML'de all-trans retinoic acid tedavisi gibi) bu sınıflandırma önemli bir kılavuzdur. Fakat buna rağmen %10-15 oranındaki bir grupta altgrup tayin edilemeyebilir. Bu durumda morfolojik ve sitokimyasal yöntemlere ilave olarak immünofenotiplendirme, sitogenetik analiz, moleküler genetik çalışmalara da başvurulmalıdır.

Sitogenetik çalışmalar akut lösemilerde birtakım anlamlı kromozomal anomalilerin varlığına dikkati çekmiştir. Erişkinlerde görülen ALL'de t(9;22), olguların %30'undan fazlasında pozitifdir. Matür B hücreli ALL (L3-ALL) için t(8;14) diagnostiktir ve kötü prognostik faktör olarak kabul edilir. AML'de t(15;17), t(8;21), inv(16) iyi prognostik işaret iken, t(9;11), +8, del 5q,-7,del 7q, 12p'de delesyon ve translokasyon kötü prognostik faktörlerdir.

2.4.4. Akut Lösemilerde Tedavi Prensipleri

Akut lösemilerde tedavinin amacı, lösemik klonun ortadan kaldırılması, normal hematopoiezin yeniden yapılandırılmasıdır. Birçok olgu başlangıç tedavisine yanıt vermekle beraber, bazı istisnalar dışında nüksler kaçınılmazdır. Tedavi amacıyla mielosüpresif kemoterapi uygulanmaktadır. Bununla lösemik hücre sayısı hızla azaltılırken bir yandan da kemik iliği aplazisi geliştirilmektedir. Bu aplastik dönem, normal hematopoietik progenitor hücrelerin yeniden proliferasyon yeteneği kazanıp, poliklonal olarak çoğalması ile atlatılır. Normal hematopoiez yeniden başlar.

Tanı esnasında vücuttaki toplam lösemik hücre sayısı 10^{12} 'dir. Standart kemoterapi rejimleri bu sayıyı ancak 10^9 - 10^{10} 'a indirebilmektedir. Bu sayıya ulaşıldığında, yapılan incelemelerde lösemik hücre saptanamaz. Bu döneme tam remisyon dönemi adı verilir. Morfolojik incelemelerde rezidüel lösemiye rastlanmaz. Ancak minimal rezidüel hastalık mevcuttur. Minimal rezidüel hastalık aşamasında hücrelerin ortaya çıkarılabilmesi için bazı laboratuvar yöntemleri geliştirilmektedir. Ancak şu ana kadar ideal bir yöntem bulunamamıştır.

Güncel tedavi stratejileri temelde ikiye ayrılır; indüksiyon ve postremisyon tedavisi. Remisyon-indüksiyon tedavisinin amacı tam remisyon elde etmektir. Postremisyon tedavisinin amacı ise nükslerin önlenmesi ve kür sağlanmasıdır. Postremisyon tedavisinde farklı yaklaşımlar sergilenmektedir. Konsolidasyon tedavisi, postremisyon tedavisinin bir parçasıdır. Remisyon-indüksiyon tedavisinden bir süre sonra uygulanır ve doz olarak hemen hemen aynıdır. İntensifikasyon tedavisi, postremisyon tedavisinin bir başka koludur. Amaç minimal rezidüel hastalığı ortadan kaldırmaktır. Bu basamakta aktif kemoterapötik ajanlar yüksek dozlarda kullanılırlar. İdame tedavisi ise uzun bir zaman dilimine yayılarak düşük dozda ilaç vermekten ibarettir. Nüks, daha önce normal olan hemogramın değişmesi ile kendini belli eder. Periferik kanda blastik hücrelere sıklıkla rastlanır. Nadiren izole ekstramedüller nüksler görülür (10).

2.5. Kronik Miyeloid Lösemi

Kromozom 9 ve 22 arasında resiprokal translokasyon ile karakterize hematopoietik kök hücrelerin klonal ekspansiyonu sonucu ortaya çıkan, hematolojik malignitedir. Translokasyon sonucu 22. kromozomdaki BCR (breakpoint cluster region) geni ile 9. kromozomdaki ABL geni arasında füzyon gerçekleşir.

Etiyoloji net olarak aydınlatılamamıştır. Direkt viral ajan veya sitotoksik ilaç ile ilişki bildirilmemiştir. Sigara içiciliği, kronik fazdan blastik faza geçişi hızlandırarak yaşam sürecine olumsuz katkıda bulunur. Radyasyon ile KML arasında bir ilişkinin olabileceğini destekleyen bulgular mevcuttur. Atom bombasından sonra hayatta kalanlarda insidansında hafif artış görülmüştür.

Bcr-abl füzyon geninin ürünü KML gelişiminin başlangıç döneminde merkezi görev üstlenmektedir. Bcr-abl füzyon proteini ($p^{210bcr-abl}$) onkojenik potansiyele sahiptir. $p^{210bcr-abl}$, hematopoietik hücreleri benign formdan malign forma çevirmektedir. Mekanizma açık değildir. Yalnız bcr-abl füzyonundan sonra üç fonksiyonel değişiklik gerçekleşmektedir: 1) Abl proteini aktif tirozin kinaz enzimi haline gelir, 2) Abl'nin DNA proteini bağlama aktivitesi azalır, 3) Abl'nin hücre iskeletinde yer alan aktin mikofilamanlarına bağlanma yeteneği artar. Sonuçta hücreler negatif regülatör sinyallerden etkilenmeyerek, kontrolsüz olarak klonal ekspansiyon gösterirler.

Halen kronik fazdan blastik faza geçişin nedeni belli değildir. Kromozomal dengesizliğin rolü olabileceğinin üzerinde durulmaktadır (bilinen t(9;22)'ye ilaveten, trizomi 8 veya 17p- gibi anomalilerin eklenmesi gibi). Fenotipik transformasyon için genetik ve moleküler anomalilerin kritik önemi vardır. P53 ve retinoblastoma gibi tümör süpresör genlerde disfonksiyon, myc, ras gibi onkogenlerde aktivasyon progresyona neden olabilir. Bcr-abl lokusunda progressif denovo DNA metilasyonu blastik transformasyon habercisi olabilir.

Hastalık kronik fazda sessiz bir seyir gösterir. Bazı olgular, rutin taramalar sırasında tesadüfen teşhis edilir. Bir başka hasta grubunda ise yorgunluk, halsizlik, kilo kaybı veya splenomegaliye bağlı erken doyma ve sol üst kadranda ağrısı, kitle hissi, ön planda olabilir. Daha az sıklıkla granülosit veya trombosit

disfonksiyonuna bağlı infeksiyon, tromboz veya kanama görülebilir. Bazen ciddi lökositoz sonucu vazookluzif hastalık, serebrovasküler olay, miyokard infarktüsü, venöz tromboz, priapizm, görme bozuklukları ve pulmoner yetersizlik ortaya çıkabilir.

KML progresyonu semptomların şiddetlenmesine neden olur. Açıklanamayan ateş, ciddi kilo kaybı, kronik fazda kullanılan ilaç dozunda artışa gidilmesi, kemik ve eklem ağrıları, kanama, tromboz, infeksiyonlar, akselerasyon ve blastik transformasyonun belirtileri olabilir.

Hastaların çoğunun fizik muayenelerinde rastlanılan patolojik bulgu, hafif-orta derecede splenomegali ve bazen hafif hepatomegalidir. Tedaviye rağmen splenomegalinin devamı akselerasyon lehine yorumlanabilir. Lenfadenopati ve ekstrameduller lösemik depozisyon (kloroma) nadirdir. Bunların varlığı hastalığın geç evrede olduğunu gösterir ve kötü prognostik işaretlerdir.

Laboratuvar incelemelerinde lökositoz dikkati çeker. Granülositik serinin değişik evrelerine ait elemanlar periferik kanda göze çarpar. Periferik kandaki blast oranı genellikle %5'in altındadır. Tanı anında trombosit sayısı hemen her zaman yüksektir. Hafif normokrom normositer anemi eşlik edebilir. KML hücrelerinde karakteristik olarak lökosit alkale fosfataz enzimi düşüktür. Tanı esnasında ve kronik fazda fagositik fonksiyonlar genellikle normaldir. Geç evrelerde bazofili nedeniyle histamin üretimi artar ve ishal, yüzde kızarma atakları görülebilir.

Tanı aşamasında kemik iliği sellülaritesi artmış olup primer olarak miyeloid ve megakaryositer seride artış görülür. Kemik iliği blast oranı normal ya da hafif yüksektir. İlikte veya kanda bazofili, eozinofili, monositoz görülebilir. Başlangıçta miyelofibroz nadirdir.

Hastalığın akselerasyon aşamasında aneminin derinliği artar, sitogenetik klonal gelişim olur. Promiyelosit oranı %30'dan fazladır. Bazofil %20'den yüksektir. Trombositler 100000/mm³'ün altına düşer. Blastik kriz, akut lösemi olarak tanımlanabilir. Periferik kan ve kemik iliğinde blast oranı %30'u geçmiştir. Hiposegmente lökositler (Pelger-Huet anomalisi) görülebilir. Blastik hücreler miyeloid, lenfoid, eritroid veya farklılaşmamış hücre karakterinde

olabilir. Bu ayrım morfolojik, sitokimyasal ve immünofenotipik çalışmalarla yapılabilir. Olguların yarısı AML, üçte biri ALL, %10'u akut eritrolösemi ve geri kalanı da sınıflandırılmayan grup lösemilerdir.

Tanıdan sonraki ilk 2 yılda vakaların %10'u ölür. Daha sonraki her yıl %20'den azı ölür. Ortalama yaşam süresi yaklaşık 4 yıldır. Farklı risk grupları oluşturarak prognozu tayin etmek amacıyla Sokal indeksi kullanılabilir. Burada, periferik kandaki blast oranı, dalak boyutu, trombosit sayısı, sitogenetik anomaliler ve yaş en önemli prognostik belirleyicilerdir. Altmış yaşın üstünde olmak, dalağın kosta kenarından 10 cm'den daha aşağıda olması, trombosit sayısının 700000/mm³'ün üzerinde olması, periferik kandaki blast oranının %3'ün , kemik iliğindeki blast oranının ise %5'in üzerinde olması, akselerasyon fazına ait semptom ve bulguların olması kötü prognostik faktörlerdir (49).

2.6. Kronik Lenfositik Lösemi

Kronik lenfositik lösemi (KLL) sıklıkla B hücrelerinden köken alır. Ortalama görülme sıklığı 60 yaş civarındadır. Asemptomatik lenfositoz şeklinde seyreder. Olguların %40'ında anemi, lenfadenopati, organomegali olmaksızın sadece lenfositoz mevcuttur. Araya giren infeksiyon yoksa, yaygın hastalık şeklinde değilse, ağırsif lenfomaya (diffüz büyük hücreli lenfoma= Richter sendromu) histolojik transformasyon gerçekleşmemişse konstitusyonel semptomlar sık değildir. Tüm KLL olgularının %5'ini oluşturan Richter sendromuna sahip hastalarda hızlı büyüyen nodal ve ektranodal kitleler olabilir. Yaygın kemik iliği infiltrasyonu ve/veya dalak tutulumuna bağlı olarak sitopeniler ve immunsupresyon gelişir. Periferde beyaz küre sayısı 10000-200000/mm³ civarındadır. Bunların %70-95'i olgun lenfositlerdir. KLL tanısı koymak için gerekli olan minimum lenfosit sayısı 5000/mm³ dir. Mutlak nötrofil sayısı genellikle normaldir. Trombosit ve eritrosit sayıları hafif azalabilir. Kemik iliği tamamen infiltre olabilir ve bu tutulumun derecesi yaşam süresini belirler. Kemik iliğinde nodüler tutulumun prognozu diffüz tutulumla göre daha iyidir. Çoğu hastanın serum immünooglobülin düzeyleri düşüktür ve hastalık ilerleyince daha belirgin hale gelir. Olguların %20'sinde otoimmün fenomenlere rastlamak

mümkündür. Bunların arasında en sık olarak otoimmün hemolitik anemiler ve daha az sıklıkta trombositopeni veya saf kırmızı küre aplazisi dikkati çeker. B hücreli KLL’de hastaların klinik olarak evrelendirilmesi prognostik önem taşır (Tablo I). Bunun dışındaki prognostik belirleyiciler arasında lenfosit ikilenme zamanının 12 aydan kısa olması, başlangıç mutlak lenfosit sayısının 50000/mm³’ün üzerinde olması ve anormal karyotip (trizomi 12) sayılabilir. Bütün bunlar kötü prognostik faktörlerdir (16).

Tablo I. B- Hücreli KLL’nin Evrelendirilmesi

Evre	Klinik Özellikler	Ortalama Yaşam Süresi
------	-------------------	-----------------------

RAI

0	Lenfositoz	12 yıl
1	Lenfositoz +LAP*	9 yıl
2	Lenfositoz +SM**	7 yıl
3	Anemi	1-2 yıl
4	Trombositopeni	1-2 yıl

* Lenfadenopati = LAP

**Splenomegali = SM

2.7. Lösemilerde Telomeraz Aktivitesi

Telomeraz enzim aktivasyonu ile lösemiler arasındaki ilişki hakkında yapılmış çok geniş çalışmalar yoktur. Mevcut araştırmalar daha çok akut lösemilerle ilgilidir. Özellikle akut miyeloid lösemilerde telomeraz aktivitesiyle değişik klinik, laboratuvar parametreleri arasında yakın bir ilişki saptanmıştır. Telomeraz enzim aktivitesinin en çok sitogenetik anomalilerle paralellik gösterdiği anlaşılmıştır. 11q ve -5/-7 kromozomal anomalisi olan olguların enzim aktivitesi, diğerlerine göre belirgin yüksek bulunmuştur (37).

Telomeraz aktivitesinin yüksek olduğu hastalarda tedaviye direnç (kemorezistans) dikkat çekicidir. Telomer genomik stabilizeyi muhafaza eden en önemli yapı olduğu için, etki mekanizması kromozomal fragmentasyon şeklinde

olan antineoplastik ajanların bu olgularda kullanılması, tedaviye yanıt olumlu yönde etkileyebilir. Diferansiyasyon indükleyicilerinin hücre kültürlerinde kullanılması sonucu lösemik hücrelerde tedavi öncesi yüksek düzeyde saptanan enzim aktivitesinin, tedavi sonrası belirgin bir şekilde azaldığı dikkati çekmiştir. Bunun sonucunda lösemi tedavisinde bu tür ajanların öneminin giderek artacağına inanılmaktadır (14,15,57).

Akut miyeloid lösemilerde (AML) telomeraz aktivitesi %81.8 olarak belirlenirken, ALL'lerde bu oran %68.6 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca AML'lerde yüksek telomeraz aktivitesine eşlik eden diğer bulgular arasında ekstrameduller tutulum sıklığında artış, yüksek lökosit sayısı, FAB sınıflandırması, tedaviye yanıt, nüks sıklığı, iyileşme ile nüks arasında geçen sürenin uzunluğu yer almaktadır. Akut tedavi ile tam iyileşme sağlanan olgularda enzim aktivitesinin normale döndüğü, nüks esnasında ise tekrar tedavi öncesi değerlere ulaştığı gösterilmiştir (37).

Kronik lösemilerde yapılmış çok sayıda çalışma olmamakla beraber, kronik miyeloid lösemilerde kronik fazda telomeraz aktivitesinin yüksek olduğu, ancak blastik fazda bu aktivitenin belirgin olarak daha da arttığı dikkati çekmiştir (39).

Miyelodisplastik sendrom (MDS) etiyopatogenezinde genom yapısındaki bozukluk önemli rol oynamaktadır. MDS olgularında telomer uzunluğu ölçümlerinde bu hastaların telomer uzunluklarının belirgin olarak kısa olduğu göze çarpmıştır. Kısalan telomerlerin varlığı kromozomal anomalilerin gelişimine eğilimi arttırmaktadır. MDS'de hücrelerin hızlı bölünmeleri ve genellikle telomeraz aktivitesinin düşük olması nedeniyle, telomerik kısalma kısa sürede gerçekleşir ve sonuçta genom yapısında ciddi, tehlikeli değişiklikler ortaya çıkar. Terminal restriction fragment (TRF)'nin ölçülmesiyle telomer uzunluğu saptanır. TRF'si kısa olanlarda hemoglobin düzeylerinin daha düşük ve lösemik transformasyon gelişme riskinin daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Sonuçta, MDS'de TRF'nin kısa olması kötü prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (35,36).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Ekim 1998 ile Mayıs 1999 arasında toplam 70 hasta çalışmaya alındı. Bunların 42'si (%60) akut lösemi (35(%50) akut miyeloid lösemi, 7 (%10) akut lenfoblastik lösemi), geri kalan 28 (%40) hasta ise kronik lösemi idi (18 (%25.7) kronik lenfositik lösemi, 10 (%14.3) kronik miyeloid lösemi). Akut ve kronik lösemilerde tanı hikaye ve fizik muayene yanısıra periferik kan ve kemik iliği örneklerinde morfolojik inceleme ile kondu. Akut lösemiler için sudan black (SB), PAS, peroksidaz'dan oluşan histokimyasal panel uygulandı. KML olgularında lökosit alkalin fosfataz (LAP) değerlendirildi (Tablo III-b, IV-b).

İmmunfenotipik inceleme için flow cytometric yöntem uygulandı. Akut lösemi panelinde CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD13, CD14, CD33, CD34, HLA-DR değerlendirildi. KML-blastik transformasyon olgularında aynı panel kullanıldı. KLL olgularında özellikle CD5, CD19 ile bazı miyeloid belirleyiciler test edildi. KLL olgularının evrelendirilmesinde Rai klasifikasyonu kullanıldı. Yirmi sağlıklı kişiden alınan kan örnekleri kontrol grubu olarak kullanıldı (Tablo III-b, IV-b, V-b, VI-b).

Çalışmaya alınan akut lösemi hastalarında, periferik kandaki blast oranının %80'in üzerinde olmasına dikkat edildi. Kan örnekleri alındıktan sonra "coulter" ile hemogram tayini yapıldı. Ficoll-Hypaque gradienti ile blastik hücreler ayrıldı. Tekrar sayım yapıldı. Her örnek için ortalama 2×10^6 hücre olacak şekilde Eppendorf tüplerine hücre ekstratları transfer edildi. Telomerase PCR ELISA kit (Boehringer Mannheim, katalog no: 1 854 666) ile çalışma yapılana kadar örnekler sıvı nitrojende -80^0 C'de muhafaza edildi. Çalışma için gerekli olan hasta sayısına ulaşıldıktan sonra deney aşamasına geçildi.

3.1. TRAP İşlemi

Test edilecek her tüp için PCR amplifikasyonuna uygun olan tüplere 25 µl reaksiyon karışımı ilave edildi. Üzerine 1-3 µl hücre ekstresi eklenerek final hacim olan 50 µl'ye ulaşmak için steril su konuldu. Bütün bu işlemler buzlu ortamda kullanılan pipetlerle gerçekleştirildi. Tüpler " thermal cycler "a transfer edildi. Daha sonra aşağıdaki protokole göre primer elongasyon/amplifikasyon reaksiyonu gerçekleştirildi.

Tablo II. Primer elongasyon ve amplifikasyon işlemi (PCR)

BASAMAK	SÜRE	ISI	SİKLUS SAYISI
1.primer elongasyon	10-30 dk	25 ⁰ C	1
2.telomeraz inaktivasyonu	5 dk	94 ⁰ C	2
3.amplifikasyon			3-32
Denatürasyon	30 sn	94 ⁰ C	
Soğutma	30 sn	50 ⁰ C	
Polimerizasyon	90 sn	72 ⁰ C	
	10 dk	72 ⁰ C	33
4.sonlandırma		4 ⁰ C	

3.2.Hibridizasyon ve ELISA İşlemi

Her örnek için uygun reaksiyon tüpüne 20 µl denatürasyon ajanı transfer edildi. Üzerine 5 µl amplifikasyon ürünü eklendi ve 10 dk oda ısısında inkübe edildi. Her tüpe 225 µl hibridizasyon tamponu konuldu ve karıştırıldı. Bu karışımdan 100 µl, MTP (microtiter plate) modülüne aktarıldı. Buharlaşmayı önlemek amacıyla üzeri alüminyum kağıt ile sarıldı. MTP modülü 2 saat boyunca 37⁰C'de ve 300 rpm'de karıştırıldı. Daha sonra hibridizasyon solüsyonu tamamen uzaklaştırıldı. 250 µl yıkama tamponu ile toplam 3 kez ve minimum her seansta 30 saniye yıkandı. İşlemden sonra yıkama tamponu da uzaklaştırıldı. Her örneğe 100 µl Anti-DIG-POD solüsyonu eklendi. Sonra MTP modülü yine alüminyum kağıtla sarıldı. Oda ısısında (18-22⁰C), 300 rpm'de 30 dk karıştırıldı. Anti-DIG-POD solüsyonu sonra dikkatli bir biçimde uzaklaştırılarak 250 µl yıkama tamponuyla örnekler 5 kez ve her birinde 30 saniye çalkalandı. Sonra yine yıkama tamponu uzaklaştırıldı. Bundan sonra 100 µl TMB (tetramethyl

benzidine) solüsyonu eklendi. Oda ısısında renk gelişimi için bekletildi. Bu esnada 300 rpm'de 10-20 dk karıştırıldı. Ardından, üzerine 100 µl "stop-reagent" ilave edilerek renk gelişimi durduruldu. MCT-ELISA okuyucusu, stop-reagent eklenmesinden 30 dk sonra kullanıldı. Örneklerin absorbansları ölçüldü (450 nm dalga boyundaki absorbanslar okundu ve referans dalga boyu A_{690nm} olarak belirlendi). Telomerase PCR ELISA kitinde 2 adet pozitif kontrol ve 10 adet negatif kontrol örneği bulunmaktaydı. Bunlarda da aynı çalışma basamakları uygulandı.

Testin güvenilirliğini belirleyen, kit içerisindeki pozitif ve negatif kontrol gruplarından elde edilen sonuçlardır. Negatif kontrol grubunda absorbans değeri $0.25 A_{450nm}-A_{690nm}$ ünite olmalıdır. Eğer bu değer daha yüksek çıkarsa bütün deneyin tekrarlanması gerekmektedir. Pozitif kontrol grubunda absorbans değerinin $1.5 A_{450nm}-A_{690nm}$ ünitenin üzerinde olması gerekir. Bu değer altında sonuç elde edilirse yine test tekrarlanmalıdır. Negatif kontrol grubundaki değeri gözönünde bulundurduğunda, telomerase pozitif tanımını kullanmak için çalışılan hasta örneklerinde absorbans değerinin (ΔA) $0.2 A_{450nm}-A_{690nm}$ ünitenin üzerinde olması gerekmektedir. Pozitif ve negatif kontrollerde elde edilen absorbans değerleri yukarıda sözü edilen rakamlarla uyumlu bulunduğu için çalışma materyalinin sonuçları güvenilir olarak yorumlandı.

3.3. İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel yöntemler için SPSS 6.0 paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin analizinde, ikili grup karşılaştırmalarında t-testi ve gerekli yerlerde Mann-Whitney U testi uygulandı. Çoklu grupların karşılaştırılmasında ise Oneway ANOVA ve Kruskal-Wallis testleri kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya toplam 70 hasta alındı. Bunların 42'si (%60) akut, 28'i (%40) kronik lösemi idi. Ayrıca 20 adet sağlıklı kişiden alınan kan örnekleri kontrol grubu olarak değerlendirildi. Hastaların yaş ortalaması 50.83 ± 18.48 (14-85) idi. Kırkiki akut löseminin 35'i AML, 7'si ALL; 28 kronik löseminin ise 18'i KLL, 10'u KML idi. Akut miyeloid lösemi hastalarının 12'si (%17.4) relaps, 23'ü (%34.9) de novo akut lösemi idi. Akut lenfoblastik lösemilerin 2'si (%2.9) relaps, 5'i (%7.1) de novo lösemi idi. Kronik miyeloid lösemi hastalarının sadece 1 tanesi blastik fazdaydı. Hastaların yaşları 14-85 arasındaydı. Kırkaltı (%65.7) olgu erkek, 24 (%34.3) olgu kadındı. Erkek/kadın oranı, 1.9 idi (E/K=1.9/1) (Tablo III-a, IV-a, V-a, VI-a).

Hasta grubunda telomeraz aktivitesi (0.730 ± 0.411), kontrol grubuna göre (0.190 ± 0.031) anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.001$) (Tablo VII).

Akut lösemilerde (AML, ALL) telomeraz aktivitesi (0.881 ± 0.466), kronik lösemilerden (0.502 ± 0.114) daha yüksekti ($p < 0.001$). AML'de telomeraz aktivitesi 0.953 ± 0.474 , ALL'de 0.525 ± 0.171 , KLL'de 0.461 ± 0.089 , KML'de 0.557 ± 0.119 bulundu. AML'de telomeraz aktivitesi istatistiksel incelemeler sonucunda diğer 3 grup lösemiden daha yüksek bulundu ($p < 0.001$). ALL, KLL ve KML arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo VII).

Çalışmaya alınan 42 akut löseminin 27'si (%64.29) de novo, 15'i (%35.71) relaps idi. De novo lösemilerdeki telomeraz aktivitesi (0.901 ± 0.487) ile relaps olgulardaki telomeraz aktivitesi (0.812 ± 0.405) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo VII).

Yaş ve cins ile telomeraz aktivitesi arasında ilişki saptanmadı ($p > 0.05$). Beyaz küre, hematokrit, trombosit, lenfadenopati, hepatosplenomegali ile telomeraz aktivitesi arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p > 0.05$, $r = 0.497$).

Tam remisyon sağlanan olgularda telomeraz aktivitesi, refrakter hastalık grubundakinden daha düşük olmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (tam remisyon olgularında 0.636 ± 0.290 , parsiyel remisyonunda 0.719 ± 0.437 , refrakter hastalıkta 0.756 ± 0.442 , kemoterapiden sonra tam remisyon giren, ancak kısa sürede relaps gelişen olgulardaysa 0.981 ± 0.401 olarak saptandı ($p > 0.05$))(Tablo VII). Bu sonuçlara bakıldığında, tanı anındaki yüksek telomeraz aktivitesinin tedavi sonrası erken relapsın bir habercisi olabileceği akla gelmektedir.

AML'de ekstrameduller tutulum ile seyreden 10 hastada telomeraz aktivitesi 1.106 ± 0.441 , ekstrameduller tutulum olmayan 25 hastanın enzim aktivitesi ise 0.891 ± 0.482 idi. İlk grupta telomeraz aktivitesi daha yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$) (Tablo VII).

ALL'de ekstrameduller tutulum saptanan 3 olguda enzim aktivitesi 0.487 ± 0.197 iken, ekstrameduller tutulum olmayan 4 olguda 0.553 ± 0.174 olarak bulundu. Bu iki değer arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo VII).

Akut lösemilerde FAB sınıflandırmasına göre belirlenen alt gruplar arasında telomeraz enzim aktivitesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamadı ($p>0.05$).

KLL'de RAI sınıflandırmasına göre yapılan evrelendirme göz önüne alındığında, telomeraz aktivitesinin çeşitli evrelerdeki hasta grupları arasında değişiklik göstermediği belirlendi ve istatistiksel farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo III-a. Akut miyeloid lösemi olgularının demografik özellikleri.

Hasta	Yaş	Cins	FAB	BK ¹ x10 ⁹ /L	Plt x10 ⁹ /L	Hb g/dl	EMT ²	LAP ³	Relaps(R) De novo(D)	Organomegali
1.	64	E	M2	16100	20000	4	-	+	R	HM ^a + SM ^b
2.	24	E	M1	15300	50000	9	-	+	D	HM + SM
3.	44	E	M1	57600	66000	11	-	+	R	-
4.	30	E	M1	26000	32000	7	-	+	D	SM
5.	50	K	M2	14200	3000	12	-	-	R	-
6.	43	E	M4	100000	22000	10	-	-	R	-
7.	67	K	M2	185000	206000	6.5	-	-	D	HM + SM
8.	20	K	M2	89200	37000	10	Cilt	-	D	HM + SM
9.	62	E	M4	20000	80000	13	-	+	D	HM + SM
10.	23	K	M2	52600	81000	6	Cilt	-	D	HM + SM
11.	49	E	M5	84200	430000	7	Cilt	+	D	-
12.	55	K	M1	10000	33000	7	Cilt	-	D	-
13.	29	K	M2	51000	123000	6.9	GS ^c	-	R	HM + SM
14.	70	K	M2	32000	14000	9	-	-	D	HM + SM
15.	60	E		36000	8000	5	-	-	D	HM + SM

1; Beyaz küre, 2; Ekstrameduller tutulum, 3; Lenfadenopati, a;Hepatomegali, b; Splenomegali, c;Granulositik sarkom d; Epidural kitle, e; Cilt ve akciğer, f; Perikard ve plevra

Tablo III-a'nın devamı.

16.	72	K	M2	7800	24000	8	-	-	R	-
17.	37	E		16800	72000	13	-	+	R	HM
18.	64	E	M6	38000	107000	6	-	-	D	SM
19.	29	E		50400	10000	11	EK ^d	+	R	HM + SM
20.	34	K	M2	16000	9000	10	-	-	D	-
21.	61	E	M2	9600	8000	6.8	Cilt	-	D	-
22.	46	E	M3	580000	32000	5	-	+	D	-
23.	36	E		120000	21000	14	-	+	R	-
24.	25	E	M5	20000	8000	9	C+AC ^e	+	R	HM + SM
25.	28	E	M2	110000	18000	8	P.P. ^f	+	D	HM + SM
26.	67	E	M1	99200	101000	7.1	-	-	R	-
27.	39	K	M4	11700	13000	5	-	+	D	-
28.	24	E	M4	152000	13000	8	-	+	D	HM + SM
29.	16	K	M4	15000	23000	9.2	-	+	D	HM + SM
30.	29	E	M3	10000	6000	8	-	+	D	SM

1;Beyaz küre, 2;Ekstrameduller tutulum, 3;Lenfadenopati, a;Hepatomegali, b;Splenomegali, c;Granulositik sarkom, d;Epidural kitle, e;Cilt ve akciğer, f;Perikard ve plevra

Tablo III-a'nın devamı.

31.	62	E	M4	10000	24000	9.5	-	+	D	HM + SM
32.	61	E	M5	66000	164000	9	-	-	D	-
33.	44	E	M2	12000	47000	5	-	-	D	-
34.	53	E	M2	18000	13000	3	-	-	R	-
35.	31	K	M4	54000	24000	8	-	+	D	HM + SM

1;Beyaz küre, 2;Ekstrameduller tutulum, 3;Lenfadenopati, a;Hepatomegali, b;Splenomegali, c;Granulositik sarkom d;Epidural kitle, e;Cilt ve akciğer, f;Perikard ve plevra.

Tablo III-b. Akut miyeloid lösemi olgularının histokimyasal ve 'flow cytometric' analizleri.

Hasta	SB	PAS	MPO	CD3	CD4	CD5	CD7	CD8	CD13	CD14	CD33	CD34	HLADR	Telomeraz aktivitesi	Tedaviye yanıt
1.	+	-	+											0.552	KR ¹
2.	+	-	+	16.9	10.2	28.2	15.2	3.5	51.2	0.3	49.2	0.4		0.563	KR
3.	+	-	+	1.5	1.6	27.7	79.3	0.6	6.5	0.4	47.3	7.7		0.825	KR-ER ²
4.	+	+	+	10.4	14.9	22.3	86	15.1	14.2		0.6	46.4		1.204	KR-ER
5.				10.1	2.4	24	8.1	2.9	3.6	0.1	0.2	55	92.6	0.547	PR ³
6.				4.3	36.6	68.6	3.1	1.4	88.2	68.3	81.2	7.9		1.437	Refrakter
7.	+	-	+											1.694	KR
8.	+	-	+	0.8	2	22.1	0.7	0.3	66.2	0.2	1	19.3	61.2	1.622	Refrakter
9.	+	-	+	3.2					37.1		0			1.253	Ted.almadı
10.	+	-	+											1.565	Ted.almadı
11.	+	-	-	52.7	62.4	5		17.4	52.7					1.034	KR-ER
12.	+	-												1.219	Refrakter
13.														1.484	Ted.almadı
14.	+	-		6.4	12		5.8	2.7	73.8		9	47.4		0.685	KR-ER
15.	+	-												0.928	Ted.almadı

1;Komplet remisyon, 2;Erken relaps, 3;Parsiyel remisyon.

Tablo III-b'nin devamı.

16.																				1.226	Refrakter
17.																				0.484	Refrakter
18.	+	-				34.1	9.4	43.5	24.3	10.4	0.2	1.4	0.5							0.323	Ted.almadı
19.																				0.975	Refrakter
20.	+	±	+					41.5	2.8			0.3	0.5	2.2						0.342	Ted.almadı
21.	+	-	+					33.3	6.8			0.3	0.5	37.4						0.435	KR
22.	+	-	+					27.3	88.5			0.6	0.4	7.6						1.763	PR
23.																				1.396	Refrakter
24.						86.9	46.6		65.1	15.6	0	0		0.6	41.5					0.664	KR
25.	+	±	+			3.7	2.3	39	58.4	1.1	17.9	0.3	0.3	12.9	84.7					1.503	KR
26.	+	±	+						8.1		47.8	27	2.5	33.3	85.5					1.427	PR
27.	+	-																		0.342	KR
28.	+	-	±			2.6	2	29.4	3.2	0.9	46.8	0.6	3.9	1.3	90.6					0.562	KR
29.	+	-				26.6	17.8		20.6	7.3	24.4	1.4	55.7	0.8	63.8					0.338	Refrakter
30.	+	+	+								7.2	0	61	38.8	87.1					0.486	KR

1:Komplet remisyon, 2:Erken relaps, 3:Parsiyel remisyon.

Tablo III-b'nin devamı.

31.	+	-	+	17.3	18.8	13.1	7.1	52.1	13.4	20.8	4.4	56.9	0.675	KR
32.	+	-		1.7	22.8	1.7	0.7	92.8	82.4	73		76.9	0.994	KR
33.	+	-	+	12.8	9	57.6	17.3	41.7	0.2	27.9	54.9	77.4	0.631	PR
34.													0.438	Ted.almadı
35.	+	-	+										0.897	KR

1:Komplet remisyon, 2;Erken relaps, 3;Parsiyel remisyon

Tablo III-c.AML’lerde uygulanan tedavi protokolleri ve tedaviye alınan yanıt.

Hasta no	Uygulanan tedavi	Tedaviye yanıt	Telomeraz aktivitesi
1.	Ara.C + Idarubicin	KR	0.552
2.	Ara.C + Idarubicin	KR	0.563
3.	Ara.C + Idarubicin	KR-ER	0.825
4.	Ara.C + Idarubicin	KR-ER	1.204
5.	Ara.C + Idarubicin	PR	0.547
6.	Ara.C + Idarubicin	Refrakter	1.437
7.	Ara.C + Idarubicin	KR	1.694
8.	Ara.C + Idarubicin	Refrakter	1.622
9.	Tedavi almadan öldü		1.253
10.	Tedavi almadan öldü		1.565
11.	Ara.C + Idarubicin	KR-ER	1.034
12.	Ara.C + Idarubicin	Refrakter	1.219
13.	Tedavi almadı ¹		1.484
14.	Ara.C + Idarubicin	KR-ER	0.685
15.	Tedavi almadan öldü		0.928
16.	Ara.C + Idarubicin	Refrakter	1.226
17.	Ara.C+Idarubicin+Vepesid	Refrakter	0.484
18.	Tedavi almadan öldü		0.323
19.	FLAG ²	Refrakter	0.975
20.	Tedavi almadan öldü		0.342
21.	Ara.C + Idarubicin	KR	0.435
22.	Ara.C + Idarubicin	PR	1.763
23.	Ara.C+Mitoxantrone+Vepesid	Refrakter	1.396
24.	Ara.C + Idarubicin	KR	0.664

1; Hasta tedaviyi kabul etmedi ve taburcu edildi

2; Fludarabin + Ara.C + G-CSF

Tablo III-c'nin devamı.

Hasta no	Uygulanan tedavi	Tedaviye yanıt	Telomeraz aktivitesi
25.	Ara.C + Idarubicin	KR	1.503
26.	Ara.C + Mitoxantron	PR	1.427
27.	Ara.C + Idarubicin	KR	0.342
28.	Ara.C + Idarubicin	KR	0.562
29.	Ara.C + Idarubicin	Refrakter	0.338
30.	Ara.C+Idarubicin+ATRA	KR	0.486
31.	Ara.C + Idarubicin	KR	0.675
32.	Ara.C + Idarubicin	KR	0.994
33.	Ara.C + Idarubicin	PR	0.631
34.	Tedavi almadan öldü		0.438
35.	Ara.C + Idarubicin	KR	0.897

1; Hasta tedaviyi kabul etmedi ve taburcu edildi.

2; Fludarabin + Ara.C + G-CSF.

Tablo IV-a. Akut lenfoblastik lösemi olgularının demografik özellikleri.

Hasta	Yaş	Cins	FAB	BK x 10 ⁹ /L	Plt x 10 ⁹ /L	Hb (g/dl)	EMT	LAP	Relaps(R) De novo(D)	Organomegali
1.	58	K	L2	105000	45000	8	-	+	D	HM + SM
2.	36	E	L2	23000	8000	2.4	KC ¹	+	D	HM + SM
3.	17	K	L2	14600	324000	13	SSS ²	-	R	-
4.	29	E	L1	7100	104000	7	-	+	D	HM + SM
5.	19	E	L2	34000	130000	10	-	+	R	HM + SM
6.	14	E	L2	270000	49000	10	Plörezi ve asit	+	D	SM
7.	17	E	L2	21000	54000	8	-	+	D	HM + SM

1; Karaciğer, 2; Santral sinir sistemi

Tablo IV-b: Akut lenfoblastik lösemi olgularının histokimyasal ve 'flow cytometric' analizleri.

Hasta	SB	PAS	MPO	CD3	CD4	CD5	CD7	CD8	CD13	CD14	CD33	CD34	HLADR	Telomeraz aktivitesi	Tedaviye Yanıt
1.	-	+	-	3.3	2.5	5.7	3.1	1	2.3	3.2	2.3	48.2		0.706	Ted. almadı
2.	-	+	-	4.6	22.3	37.4	29	20.4	0.2	0.1	1.5			0.459	Ted. almadı
3.														0.305	Ted. almadı
4.	-	+	-	20.2	9.2	32.9	15.6	0	8.6	0.8	5.3	81.2	93.8	0.575	KR
5.									13	0.1	4.6	78.6	91.9	0.626	Ted. almadı
6.	-	+	-	3.3	75.5	84.9	85.8	16.4	15.1	0.2	4.9	1.4	40.2	0.697	KR-ER
7.	-	+		2.1	65	48.1	47.4	8.9						0.544	KR

Tablo IV-c: ALL'lerde uygulanan tedavi protokolleri ve tedaviye alınan yanıt.

Hasta no	Uygulanan tedavi	Tedaviye yanıt	Telomeraz aktivitesi
1.	Tedavi almadan öldü		0.706
2.	Tedavi almadan öldü		0.459
3.	Tedaviyi kabul etmedi		0.305
4.	TLG-Faz 1 ¹	KR	0.575
5.	Tedavi almadan öldü		0.626
6.	TLG-Faz 1	KR - ER ²	0.697
7.	TLG-Faz 1	KR	0.544

1;Türk lösemi grubu-Faz 1 protokolü; Siklofosamid + Daunorubisin + Vinkristin + L-Asparajinaz + Prednizolon

2;Erken santral sinir sistemi relapsı.

Tablo V-a: Kronik lenfositik lösemilerin demografik özellikleri.

Hasta	Yaş	Cins	Evre	BK($\times 10^9/L$)	Plt($\times 10^9/L$)	Hb(g/dl)	LAP	EMT	Organomegali
1.	74	E	I	63200	152000	14	+	-	-
2.	53	E	IV	300000	107000	11	+	Plörezi ve asit	HM + SM
3.	73	E	III	28400	201000	10	-	-	SM
4.	68	K	I	42000	198000	13	-	-	-
5.	43	E	II	3800	210000	13.4	+	-	SM
6.	73	E	II	60000	254000	14	+	-	SM
7.	70	E	III	24000	154000	11	+	-	HM + SM
8.	55	K	III	380000	149000	9	-	-	HM + SM
9.	68	K	II	280000	135000	13	+	-	-
10.	50	E	II	47300	218000	15	+	-	SM
11.	72	E	I	60000	302000	14	-	-	-
12.	85	E	0	18800	267000	13	-	-	-
13.	67	E	IV	30000	96000	10	+	Plörezi, asit	HM + SM
14.	68	K	IV	40000	21000	9	+	-	HM + SM
15.	67	K	III	30000	135000	10	-	Akciğer tutulumu	HM + SM
16.	65	E	IV	100000	25000	11	+	-	SM
17.	55	K	III	16000	238000	9	-	Perikardial tutulum	-
18.	64	E	0	18000	163000	14	-	-	-

Tablo V-b. KLL olgularında tedaviye yanıt ve telomeraz aktivitesi

Hastano	CD5	CD19	Telomeraz aktivitesi	Uygulanan tedavi	Tedaviye yanıt
1.	82.9	89.5	0.338	İlaçsız takip	–
2.	73.7	94.8	0.458	CVP ¹	Refrakter hast.
3.		87.7	0.425	CVP	Refrakter hast.
4.			0.448	İlaçsız takip	–
5.	89.3	8.9	0.672	CNOP ²	Stabil hastalık
6.			0.604	CVP	Stabil hastalık
7.			0.514	Prednizolon ve klorambusil	Stabil hastalık
8.		85.2	0.432	CVP	Progresif hastalık
9.		74.7	0.474	CVP	Stabil hastalık
10.		58.8	0.573	İlaçsız takip	–
11.	90.29	93.9	0.504	İlaçsız takip	–
12.	10	62.8	0.449	İlaçsız takip	–
13.			0.428	CVP	Progresif hastalık
14.	93.1	72.7	0.412	CVP	Stabil hastalık
15.	35.1	87.5	0.476	CVP	Stabil hastalık
16.			0.387	CVP	Progresif hastalık
17.			0.305	Prednizolon ve klorambusil	Progresif hastalık
18.	76	89.5	0.396	İlaçsız takip	–

1; Siklofosamid+ Vinkristin+ Prednizolon, 2; Siklofosamid+ Adriam

Tablo VI-a. Kronik miyeloid lösemilerin demografik özellikleri.

Hasta	Yaş	Cins	Evre	BK($\times 10^9/L$)	Plt($\times 10^9/L$)	Hb(g/dl)	LAP ¹	EMT	Organomegali
1.	57	E	Kronik faz	60000	300000	14	—	—	SM
2.	70	K	Kronik faz	200000	241000	12	—	—	SM + HM
3.	75	E	Kronik faz	60000	135000	6	—	—	—
4.	59	E	Kronik faz	580000	300000	14	—	—	SM
5.	58	E	Kronik faz	240000	240000	9	—	—	HM + SM
6.	67	K	Kronik faz	80000	198000	13	—	—	SM
7.	39	E	Blastik faz	64400	16000	8	—	Submandibuler kitle	HM + SM
8.	49	K	Kronik faz	240000	256000	9.8	—	—	SM
9.	65	E	Kronik faz	62000	321000	14	—	—	HM + SM
10.	32	K	Kronik faz	58000	138000	4	—	—	SM

1; Lökosit alkalen fosfataz.

Tablo VI-b. KML'lerde tedaviye yanıt ve telomeraz aktivitesi.

Hasta no	LAP	Uygulanan tedavi	Tedaviye yanıt	Telomeraz aktivitesi
1.	-	Hidroksiüre + İnterferon	Refrakter	0.460
2.	-	Hidroksiüre + İnterferon	Hematolojik remisyon	0.496
3.	-	Hidroksiüre	Stabil hastalık	0.538
4.	-	Hidroksiüre + İnterferon	Hematolojik remisyon	0.637
5.	-	İnterferon	Refrakter	0.736
6.	-	Hidroksiüre	Refrakter	0.659
7.	-	Ara.C+Vepesid+Mitoksantron	Tedavi esnasında öldü	0.578
8.	-	İnterferon	Hematolojik remisyon	0.768
9.	-	Hidroksiüre	Hematolojik remisyon	0.478
10.	-	Hidroksiüre	Hematolojik remisyon	0.423

Tablo VII: Çeşitli değişkenlerle serum telomeraz aktivitesi arasındaki ilişki

Değişken	Hasta Sayısı	Telomeraz Aktivitesi		P
Lösemiler	70	0.729 ± 0.411	(0.305-1.763)	< 0.001
Kontrol	20	0.190 ± 0.031	(0.148-0.265)	
Akut lösemi	42	0.881 ± 0.466	(0.305-1.763)	< 0.001
Kronik lösemi	28	0.502 ± 0.114	(0.305-0.768)	
AML	35	0.953 ± 0.474*	(0.323-1.763)	< 0.001
ALL	7	0.525 ± 0.171	(0.305-0.768)	
KLL	18	0.461 ± 0.09	(0.305-0.672)	
KML	10	0.730 ± 0.411	(0.423-0.768)	
Denovoakutlösemi	28	0.901 ± 0.487	(0.323-1.763)	>0.05
Relaps akut lösemi	14	0.812 ± 0.405	(0.305-1.484)	
<u>Tedaviye yanıt:</u>				> 0.05
Tam remisyon	12	0.636 ± 0.290	(0.342-1.699)	
Parsiyel remisyon	8	0.719 ± 0.437	(0.547-1.763)	
Refrakter hastalık	17	0.756 ± 0.442	(0.338-1.622)	
Kısa sürede relaps	7	0.981 ± 0.401	(0.685-1.204)	
Tedavisirasındaölüm	6	0.812 ± 0.596	(0.304-1.565)	
Tedavi almamış	5	0.580 ± 0.250	(0.323-1.484)	
<u>AML :</u>				> 0.05
Ekstrameduller tutulum (+)	10	1.106 ± 0.441	(0.435-1.622)	
Ekstrameduller tutulum (-)	25	0.891 ± 0.482	(0.323-1.763)	
<u>ALL :</u>				> 0.05
Ekstrameduller tutulum (+)	3	0.487 ± 0.197	(0.305-0.697)	
Ekstrameduller tutulum (-)	4	0.553 ± 0.174	(0.544-0.706)	

*:AML diğer 3 gruptan farklı; ancak ALL, KLL, KML arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

5. TARTIŞMA

Telomer, kromozomların uç kısımlarında yer alan, tekrarlayan TTAGGG hegzamerlerinden oluşan özelleşmiş bir yapıdır. Amacı, genomik kararlılığı muhafaza etmektir (4). Ancak, her hücre bölünmesini takiben belirli miktarlarda telomerik erozyon gerçekleşir. Normal somatik hücrelerde bulunmayan, tüm kanserlerin %80-90'ında yüksek aktivitede saptanan telomeraz enzimi, telomerik erozyonu önler. Belirli bir düzeye kadar kısalan telomer, hücre siklusunu durdurur ve o hücre ölür. Bu nedenle telomeraz enziminin aktivasyonu, karsinogenezde önemli bir yere sahiptir. Normal somatik hücrelerden, sadece yüksek proliferasyon kapasitesine sahip olanlarda enzim aktivitesine rastlanır (kemik iliği kök hücreleri gibi). Embriyonik yaşamda telomeraz enzimi aktif halde iken, doğumdan sonra inaktif hale geçer. Daha sonraki yaşamda enzimin yeniden aktivasyonu kanser gelişiminde önemli rol oynamaktadır (31,32,41,44).

Tüm kanserlerin %80-90'ında saptanan telomeraz enzimi, lösemi oluşumunda da önemli rol oynar. En sık akut lösemilerde ve yüksek histolojik dereceli non Hodgkin lenfoma 'da görülür (34). Çalışmalar özellikle akut lösemilerde yoğunlaşmıştır. Hastalığın biyolojik davranışıyla telomeraz enzim aktivitesi arasında belirgin bir korelasyon mevcuttur. Normal kemik iliği kök hücreleri genelde istirahat halinde olup, stimüle edildiklerinde yüksek proliferasyon kapasitesine sahiptir. Proliferasiyona giren normal hücrelerde telomeraz aktivitesi artar. Hücreler olgunlaştıktan sonra enzim aktivitesi düşer. Buradan hareketle, lösemilerde neden yüksek telomeraz aktivitesi olduğu kolaylıkla anlaşılmaktadır. Yüksek proliferasyon yeteneğine sahip lösemik hücreler doğal olarak yüksek enzim aktivitesine de sahip olacaklardır. Diferansiyasyon indükleyici ajanların kullanılması sonucu matürasyona zorlanan lösemik hücrelerde telomeraz aktivitesinin azalması bunun kanıtıdır (15,57). Olgularımızda telomeraz aktivitesi kontrollerden belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Daha fazla proliferasyon kapasitesine sahip akut lösemilerde, kronik lösemilerdendaha yüksek telomeraz aktivitesi bulunmuş olması da proliferasyon kapasitesi ile telomeraz aktivitesi arasındaki direkt

ilişkiyi destekler niteliktedir. Akut lösemilerde yapılan araştırmalarda, telomeraz aktivitesi ile çeşitli klinik değişkenler arasında korelasyonlar gözlenmiştir. Özellikle Ohyashiki ve ark. tarafından 78 akut lösemi (55 AML, 23 ALL) olgusu ile yapılan araştırmada, AML'de beyaz küre sayısı, ekstramedüller tutulum, kemoterapiye alınan yanıt, sitogenetik anomaliler ile telomeraz aktivitesi arasında ilişki bulunmuştur (37). Bu çalışmaya göre, yüksek beyaz küre sayısı ile seyreden olgularda enzim aktivitesi fazladır. Aynı şekilde, ekstramedüller tutulumu olan (özellikle santral sinir sistemi infiltrasyonu ve miyeloblastom ile seyreden olgularda), kemoterapiye direnç gösteren ve değişik kromozomal anomalilerin eşlik ettiği olgularda telomeraz aktivitesi yüksek bulunmuştur. Aynı araştırmada dikkati çeken bir başka husus, remisyon-indüksiyon tedavisinden sonra telomeraz aktivitesinin normal düzeylere inmiş olmasıdır. Bu çalışmada, kemoterapi sonrası tam remisyon elde edilen, ancak telomeraz enzim aktivitesi normalden hafif yüksek seyreden 2 olguda, erken dönemde relaps ortaya çıkmıştır. Relaps olguların telomeraz aktiviteleri, kemoterapi öncesi düzeylere yükselmektedir. Zhang ve ark.'nın 56 AML vakasından oluşan bir serisinde, 11q ve -5/-7 (5. ve 7. kromozomun monozomik delesyonu) anomalilerinin kötü prognostik işaret olduğu ortaya konmuştur. Bu anomalilerin bulunduğu hastalarda telomeraz aktivitesi yüksektir; ayrıca kemoterapiye yanıt oranı da düşüktür (37). Olgularımızın toplam sayısı analiz için yeterli olmakla beraber, her alt gruptaki hastaların heterojen nitelikleri nedeniyle, klinik parametreler ve tedaviye yanıt ile telomeraz aktivitesi arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Örneğin, tedavi verilmeden veya verilirken kaybedilen hastaların varlığı, tedaviye yanıt ile telomeraz aktivitesi ilişkisinin analizini güçleştirmiştir. Erken relaps gösteren AML olgularımızda telomeraz aktivitesinin yüksekliği (olgu sayısı az olmakla birlikte), yüksek telomeraz aktivitesinin tedaviye cevabın belirlenmesinde bir indikatör olabileceğini telkin edebilir.

Lösemi oluşumunda erken evrede kromozomal translokasyonlar gerçekleşir (t(6;9) (p21;p34), t(17;19) (q21;p13), t(9;22) (q34;q11) gibi). Bunun sonucunda telomeraz reaktivasyonu ortaya çıkar ve hastalık progresyon

safhasına girer. Akut promiyelositer lösemi'lerde (APL=M₃-AML) t(15;17) ile telomeraz arasında negatif bir korelasyon mevcuttur. Ancak, APL'de t(15;17)'ye rağmen eğer telomeraz aktivitesi yüksek ise kemoterapi başarısızlıkla sonuçlanmaktadır (10).

Lösemilerde tanı ve relaps anında enzim aktivitesi yüksektir. Kemoterapi ile tam remisyon sağlanan hastalarda telomeraz enzim aktivitesinde çok anlamlı düşüşler gözlenmektedir. Tespit edilen bu enzim aktiviteleri periferik kanda bulunan normal mononükleer hücrelere aittir. Dikkati çeken bir başka husus, tedavi sonrası enzim düzeyinde belirgin azalma gerçekleşmeyen hastalarda erken relapsların görülmesidir. Bu durumda telomeraz enzimi klinik pratikte oldukça değerli bir prognostik faktör olarak kullanılabilir. Kemoterapi ile, saptanamayacak düzeylere inen telomeraz enzimi, relaps esnasında yeniden ilk tanı anındaki düzeylere yükselir (37).

Akut lösemilerde, periferik kan ve kemik iliği örneklerinde ayrı ayrı bakılan telomeraz düzeyleri incelendiğinde, kemik iliğinde daha yüksek aktiviteye rastlanmıştır. Bunun nedeni, kemik iliğindeki lösemik hücre yükünün ve proliferatif kapasitenin periferik kana göre daha fazla olmasıdır (14).

KML'de kronik faza göre, blastik fazda daha yüksek telomeraz aktivitesine rastlanmaktadır. Ayrıca sitogenetik anomalilerle enzim düzeyleri arasında pozitif korelasyon mevcuttur. Iwama ve ark., 44 ph(+) KML (kronik faz) hastası üzerinde yaptıkları çalışmada, "southern blot" yöntemiyle telomer uzunluğunu (TRF = telomeric restriction fragment) incelemişlerdir. Hastaların 19'unda TRF normal olarak saptanırken, 25'inde TRF'nin kısa olduğu görülmüştür. TRF'nin normal olduğu hastalar, alfa-interferon tedavisine iyi yanıt verirken, diğer grupta benzer sonuçlar alınamamıştır. TRF'nin kısa olduğu grupta telomeraz aktivitesi yüksek bulunmuş ve bu hastaların prognozunun iyi olmadığı görülmüştür..Alfa-interferona iyi yanıt veren ilk grupta blastik kriz görülme sıklığı çok düşüktür. Telomer uzunluğunun normal olduğu hastalarda sitogenetik remisyon olasılığı yüksektir (23).

Normal B-lenfositlerinde telomeraz aktivitesi düşüktür. Germinal merkezdeki B-hücrelerinde (sentrosit,sentroblast) daha yüksek, hafıza B-

hücrelerinde daha düşüktür. IL-4 gibi sitokinler tarafından bu hücrelerin in vitro koşullarda stimülasyonu sonrasında B-lenfositler aktive olarak proliferasyon fazına geçerler. Bu aşamada telomeraz aktivitesi artar. Trentin ve ark.'nın yaptığı bir araştırmada, toplam 33 hastada (15 B-hücreli kronik lenfositik lösemi(KLL), 13 saçlı hücreli lösemi (Hairy cell leukemia=HCL), 5 mantle cell lymphoma(MCL)) telomeraz aktivitesi incelenmiştir. HCL'lerde telomeraz aktivitesi en yüksek bulunmuştur. KLL ve MCL'da enzim daha düşük aktivite göstermektedir. Araştırmacılar bunun açıklamasını şu şekilde yapmaktadır; HCL'de, telomeraz aktivitesi yüksek ölçülen B-lenfositler, normal fizyolojik koşullardaki aktive lenfositlerin malign karşılığıdır. Oysa KLL hücreleri, normal istirahat halindeki matür B-lenfositlerinden orijin alır. Bu nedenle KLL'de telomeraz aktivitesi HCL'ye göre daha düşüktür. Bu çalışmaya dahil edilen KLL olgularının çoğu (15 olgunun 13'ü), Rai sınıflamasına göre evrel-II'dir. Ancak 1 yıllık takip sonrasında hastalığın seyri izlendiğinde, 6 hastada progresif hastalığın geliştiği görülmüştür. Bunların telomeraz aktiviteleri, stabil hastalık olarak kabul edilen gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Benzer sonuçlar HCL olgularında da dikkati çekmiştir. B-hücreli kronik lenfoproliferatif hastalıklarda telomeraz aktivitesi önemli bir prognostik faktördür. Progresif hastalık grubunda enzim düzeyinin yüksek olması, telomeraz enzim aktivasyonunun lenfoproliferatif hastalıklarda hastalık progresyonunu belirleyen bir parametre olabileceğini düşündürmektedir (46).

Bizim çalışmamızda, hasta gruplarının telomeraz aktiviteleri, kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulundu. Hastalar 4 alt gruptan oluşuyordu (AML, ALL, KLL, KML). Yapılan incelemede AML'de telomeraz aktivitesinin diğer 3 gruptan anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görüldü. Ancak beyaz küre, tedaviye alınan yanıt, ekstramedüller tutulum, FAB sınıflandırması, lenfadenopati, hepatosplenomegali ile telomeraz aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamadı. De novo olguların relaps olgulardan farklı olmadığı görüldü. Yine akut lösemilerle kronik lösemiler arasında farklılık bulunmadı (AML hariç). Hastalarımızın sitogenetik

analizleri ile ilgili kayıt yetersizliği olduğu için, bu parametre ile enzim arasındaki ilişkiye yönelik araştırmalar yapılamadı.

Çalışmamızın bu şekilde sonuçlar vermesinin nedeni, hasta sayısının sınırlı ve hasta grubunun oldukça heterojen olmasıdır. Bu nedenle, lösemilerdeki telomeraz enzim aktivitesinin klinik önemi ile ilgili daha somut veriler elde etmek için bundan daha geniş hasta gruplarıyla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ

1. Akut ve kronik lösemilerde telomeraz enzim aktivitesi belirgin olarak yüksektir.
2. AML'de telomeraz aktivitesi en yüksek bulunmuştur, ancak akut ve kronik lösemiler arasında telomeraz enzim aktivitesi bakımından farklılık bulunamamıştır.
3. De novo akut lösemiler ile relaps akut lösemiler arasında telomeraz enzim aktivitesi açısından farklılık saptanamamıştır. Ancak relaps olgu azlığı bu sonuçtan sorumlu olabilir.
4. Tedaviye alınan yanıt ile telomeraz enzim aktivitesi arasında ilişki saptanamamıştır. Olgu sayısının kısıtlılığı ve olguların tedavi verilemeden kaybedilmiş olması bu sonuca neden olmuştur.
5. Akut lösemilerde ekstrameduller tutulum ile telomeraz enzim aktivitesi arasında ilişki bulunamamıştır.
6. Beyaz küre sayısı, hepatosplenomegali, lenfadenopati, FAB sınıflandırması, yaş ve cins ile telomeraz aktivitesi arasında ilişki saptanamamıştır. Ancak bu veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamasının nedeni, seçilen gruplardaki olgu sayısının azlığıdır. Daha fazla olgu ile yapılması halinde telomeraz aktivitesinin lösemi biyolojisi için önemli bir belirleyici olacağı kanısındayız.

7.KAYNAKLAR

1. Albonell J, Han W, Mellado B: Telomerase activity is repressed during differentiation of maturation-sensitive but not resistant human tumor cell lines. **Cancer Res** 1996; 56: 1503-1508
2. Aori K, Kitahara K, Buley I: Telomerase activity in lesions of the thyroid: Application to diagnosis of clinical samples including fine-needle aspirates. **Clin Cancer Res** 1998; 4: 1965-1970
3. Bednarek A, Şahin A, Brenner A: Analysis of telomerase activity levels in breast cancer: Positive detection at the in situ breast carcinoma stage. **Clin Cancer Res** 1997; 3: 11-16
4. Blackburn E: Structure and function of telomeres. **Nature** 1991; 350: 569-573
5. Brousset P, Al Saati T, Chaache N: Telomerase activity in reactive and neoplastic lymphoid tissues: Infrequent detection of activity in Hodgkin's disease. **Blood** 1997; 89: 26-31
6. Burger A, Bibby M, Double J: Telomerase activity in normal and malignant mammalian tissues; feasibility of telomerase as a target for cancer chemotherapy. **Br J Cancer** 1997; 75(4): 516-522
7. Carey L, Hedicon C, Henderson G : Careful histological confirmation and microdissection reveal telomerase activity in otherwise telomerase-negative breast cancer. **Clin Cancer Res** 1998; 4: 435-440
8. Chang A, Tang R, Wang J: Possible role of telomerase activation in the cancer predisposition of patients with hereditary non-polyposis colorectal cancers. **J Natl Cancer Inst** 1998; 90: 316-321
9. Dalbangi G, Han W, Zhang Z: Evaluation of telomeric repeat amplification protocol (TRAP) assay for telomerase as a diagnostic modality in recurrent bladder cancer. **Clin Cancer Res** 1997; 3: 1593-1598
10. DeVita V T: Acute leukemias. **Cancer:Principles and practice of oncology**. 5th edition,Lippincott-Raven, New York 1997; 2293-2321.
11. Duggan B, Wan M, Yu M: Detection of ovarian cancer cells: Comparison of telomerase assay and cytologic examination. **J Natl Cancer Inst** 1998; 90: 238-242
12. Engelhardt M, Drullinsky P, Guillens J: Telomerase and telomere length in the development and progression of premalignant lesions to colorectal cancer. **Clin Cancer Res** 1997; 3: 1931-1941

13. Engelhardt M, Kumar R, Albanell J: Telomerase regulation, cell cycle, and telomere stability in primitive hematopoietic cells. **Blood** 1997; 90: 182-193
14. Engelhardt M, Özkaynak MF, Prullinsky P, et al: Telomerase activity and telomere length in pediatric patients with malignancies undergoing chemotherapy. **Leukemia** 1998; 12(1): 13-29
15. Faraoni I, Turriziani M, Masci G: Decline in telomerase activity as a measure of tumor cell killing by antineoplastic agents in vitro. **Clin Cancer Res** 1997; 3: 579-585
16. Freedman A: Malignancies of lymphoid cells. **Harrison's principles of internal medicine**. Harrison T R, 14.Edition, McGraw-Hill,International edition,1998;695-712.
17. Hiyama E, Gollahan L, Kataoka T: Telomerase activity in human breast tumors. **J Natl Cancer Inst** 1996;88: 116-122
18. Hiyama H, Kodama T, Shinbara K: Telomerase activity is detected in pancreatic cancer but not in benign tumors. **Cancer Res** 1997; 57: 326-331
19. Hohauser S, Cavallo S, Bellacosa A: Telomerase activity in human laryngeal squamous cell carcinomas. **Clin Cancer Res** 1996; 2: 1895-1900
20. Horikawa I, Cable L, Afshari C: Cloning and characterization of the promoter region of human telomerase reverse transcriptase gene. **Cancer Res** 1999; 59: 826-830
21. Hua-li Z, Salovaara R, Aaltoren L: Telomerase activity is commonly detected in hereditary non-polyposis colorectal cancers. **Am J Pathol** 1996; 148: 1075-1079
22. Ito H, Kyo S, Kanaya T: Expression of human telomerase subunits and correlation with telomerase activity in urothelial cancer. **Clin Cancer Res** 1998; 4: 1603-1608
23. Iwama H, Ohyashiki K, Ohyashiki JH, et al: The relationship between telomere length and therapy-associated cytogenetic responses in patients with chronic myeloid leukemia. **Cancer** 1997; 79(8): 1552-1560
24. Kavalier E, Landman J, Chang Y: Detecting human bladder carcinoma cells in voided urine samples by assaying for the presence of telomerase activity. **Cancer** 1998; 82: 708-714

25. Kinoshita H, Ogawa O, Kakelin Y: Detection of telomerase activity in exfoliated cells in urine from patients with bladder cancer. **J Natl Cancer Inst** 1997; 89: 724-730
26. Kyo S, Takakura M, Kohama T: Telomerase activity in human endometrium. **Cancer Res** 1997; 57: 610-614
27. Kyo S, Takakura M, Taraka M: Quantitative differences in telomerase activity among malignant, premalignant, and benign ovarian lesions. **Clin Cancer Res** 1998; 4: 399-405
28. Landberg G, Nielsen N, Nilsson P: Telomerase activity is associated with cell cycle deregulation in human breast cancer. **Cancer Res** 1997; 57: 549-554
29. Lange T: Length control of human telomeres. **The Cancer J Sceintific American** 1998; 4: 22-25
30. Luderus E, Steensel B, Chang L: Structure, subnuclear distribution, and nuclear matrix association of the mammalian telomeric complex. **J Cell Biology** 1996; 135: 867-881
31. Mehle C, Ljungberg B, Roos G: Telomere shortening in renal cell carcinoma. **Cancer Res** 1994; 54: 236-241
32. Murakami J, Nagai N, Ohama K: Telomerase activity in ovarian tumors. **Cancer** 1997; 80: 1085-1092
33. Müller M, Krause H, Heicappell R: Comparison of human telomerase RNA and telomerase activity in urine for diagnosis of bladder cancer. **Clin Cancer Res** 1998; 4: 1949-1954
34. Norrback F, Roos G: Telomeres and telomerase in normal and malignant haematopoietic cells. **Eur J Cancer** 1997; 33(5): 774-780
35. Ohyashiki J, Iwama H, Yahata N: Telomere stability is frequently impaired in high risk groups of patients with myelodysplastic syndromes. **Clin Cancer Res** 1999; 5: 1155-1160
36. Ohyashiki J, Ohyashiki K, Fujimura T: Telomere shortening associated with disease evolution patterns in myelodysplastic syndromes. **Cancer Res** 1994; 54: 3557-3560
37. Ohyashiki J, Ohyashiki K, Iwama H: Clinical implications of telomerase activity levels in acute leukemia. **Clin Cancer Res** 1997; 3: 619-625

38. Ohyashiki K, Ohyashiki J, Nishimaki J: Cytological detection of telomerase activity using an in situ telomeric repeat amplification protocol assay. **Cancer Res** 1997; 57: 2100-2103
39. Ohyashiki K, Ohyashiki JH, Iwama H, et al: Telomerase activity and cytogenetic changes in chronic myeloid leukemia with disease progression. **Leukemia** 1997; 12(2): 190-194
40. Shay J: Telomerase in cancer: Diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. **The Cancer J Scientific American** 1998;4: 26-34
41. Shay W, Gozdar A: Telomerase in the early detection of cancer. **J Clin Pathol** 1997; 50: 106-109
42. Sommerfeld H, Meeker A, Piatyszek A: Telomerase activity: A prevalent marker of malignant human prostate tissue. **Cancer Res** 1996; 56: 218-222
43. Soria J, Gauthier L, Raymond E: Molecular detection of telomerase-positive circulating epithelial cells in metastatic breast cancer patients. **Clin Cancer Res** 1999; 5: 971-975
44. Suehara N, Mizumoto K, Muta T: Telomerase elevation in pancreatic ductal carcinoma compared to nonmalignant pathological states. **Clin Cancer Res** 1997; 3: 993-998
45. Ta-Yang C, Hsia Lee M, Shee Lan R: Telomerase activity in pleural effusions: Diagnostic significance. **J Clin Oncol** 1998; 16: 567-573
46. Trentin L, Ballon G, Omelto L et al : Telomerase activity in chronic lymphoproliferative disorders of B-cell origin. **Br J Haematol** 1999; 106: 662-668
47. Tsao J, Zhao Y, Lukas J: Telomerase activity in normal and neoplastic breast. **Clin Cancer Res** 1997; 3: 627-631
48. Villa R, Zaffaroni N, Folini M: Telomerase activity in benign and malignant breast lesions: a Pilot prospective study of fine-needle aspirates. **J Natl Cancer Inst** 1998; 90: 537-539
49. Wetzler M: Acute and chronic myeloid leukemia. **Harrison's principles of internal medicine**. Harrison T R, 14.Edition, McGraw-Hill, International edition, 1998;684-694.
50. Yashima K, Ashfag R, Nowak I: Telomerase activity and expression of its RNA component in cervical lesions. **Cancer** 1998; 82: 1319-1327

51. Yashima K, Milchgrub S, Gollahan L: Telomerase enzyme activity and RNA expression during the multistage pathogenesis of breast carcinoma. **Clin Cancer Res** 1998; 4: 229-234
52. Yoshida K, Sakamoto S, Sumi S: Telomerase activity in renal cell carcinoma. **Cancer** 1998; 83: 760-766
53. Yoshida K, Sugina T, Goodison S: Detection of telomerase activity in exfoliated cancer cells in colonic luminal washings and its related clinical implications. **Br J Cancer** 1997; 75(4): 548-553
54. Yoshida K, Sugiuro T, Tahara H: Telomerase activity in bladder carcinoma and its implication for noninvasive diagnosis by detection of exfoliated cancer cells in urine. **Cancer** 1997; 79: 362-369
55. Yoshima K, Piatyszek M, Saboorian H: Telomerase activity and in situ telomerase RNA expression in malignant and non-malignant lymph nodes. **J Clin Pathol** 1997; 50: 110-117
56. Zhang W, Kapusta L, Slingerland J: Telomerase activity in prostate cancer prostatic intraepithelial neoplasia, and benign prostatic epithelium. **Cancer Res** 1998; 58: 619-621
57. Zhang W, Piatyszek M, Kobayashi T: Telomerase activity in human acute myelogenous leukemia: Inhibition of telomerase activity by differentiation-inducing agents. **Clin Cancer Res** 1996; 2:799-803