

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
HEMATOLOJİ BİLİM DALI

**MYELODİSPLASTİK SENDROMDA
TELOMER DİNAMİĞİ ve
PROGNOSTİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

775902

YAN DAL
UZMANLIK TEZİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Fikri Başlamışlı

775902

Dr. Emel GÜRKAN

ADANA - 2002

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No.
İÇİNDEKİLER.....	I
TABLO LİSTESİ.....	III
ŞEKİL LİSTESİ.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
KISALTMALAR.....	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Telomer yapısı ve telomeraz.....	3
2.2. Normal hematopoietik hücrelerde telomer dinamiği.....	7
2.3. Myelodisplastik sendrom.....	7
2.3.1. Patogenez.....	9
2.3.2. Sitogenetik ve moleküler biyoloji.....	10
2.3.3. Klinik ve laboratuvar bulgular.....	11
2.3.4. Prognoz.....	13
2.4. Myelodisplastik sendrom ve klinik sendromlar.....	14
2.4.1. 5q- sendromu.....	15
2.4.2. Hipoplastik MDS.....	15
2.4.3. Çocuklukta MDS.....	15
2.4.4. Kemik iliğinde fibrozis ile birlikte MDS.....	15
2.4.5. Terapiye Bağlı MDS.....	16
2.5. Myelodisplastik sendromda tedavi.....	16
2.5.1. Kemoterapi.....	16
2.5.2. İmmünoterapi.....	17
2.5.3. Hematopoietik hormonlar ve sitokinler.....	17
2.5.4. Kök hücre transplantasyonu.....	18
2.5.5. Tedaviye genel yaklaşım.....	19
2.6. Myelodisplastik sendromlarda telomer dinamiği.....	19

2.7. Lösemiler ve Telomer.....	20
2.7.1. Akut myeloid lösemi.....	20
2.7.2. Akut myeloid lösemilerde telomer dinamiği.....	22
2.7.3. Kronik myeloid lösemi.....	23
2.7.4. Kronik myeloid lösemilerde telomer dinamiği.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. TRAP reaksiyonu.....	27
3.2. Hibridizasyon ve ELISA işlemi.....	27
3.3. Kromozom çalışma yöntemi.....	28
3.4. İstatiksel yöntemler.....	29
4. BULGULAR.....	30
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇLAR.....	47
7. KAYNAKLAR.....	48

TABLO LİSTESİ

	Sayfa no.
Tablo 1: FAB klasifikasyonuna göre morfolojik özellikler.....	6
Tablo 2. IPSS (International Prognostic Scoring System).....	2
Tablo 3: Primer elongasyon ve amplifikasyon işlemi.....	25
Tablo 4: Tüm hastaların demografik dağılımı.....	32
Tablo 5: Lösemik dönüşüm gelişen MDS'li hastalara ait veriler.....	33
Tablo 6: MDS'li hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri I.....	34
Tablo 7: MDS'li hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri II.....	35
Tablo 8: AML'li hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri.....	36
Tablo 9: KML'li hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri.....	36

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Hasta gruplarının dağılımı.....	28
Şekil 2: IPSS skorlarına göre telomeraz aktivitesi.....	29
Şekil 3: MDS'li hastalarda yaş-telomeraz aktivitesi ilişkisi.....	30
Şekil 4: MDS'li hastalarda IPSS skorlarına göre sağkalım.....	32

ÖZET

Son zamanlarda yapılan bilimsel atılımlar myelodisplastik sendromların etyoloji ve patogeneze yönelik yeni açılımlar sağlamıştır. Heterojen morfolojik, genetik, biyolojik ve klinik özellikler taşımasına rağmen myelodisplastik sendromların tüm formları inefektif hematopoiezis ve periferik sitopenilerle karakterize klonal hematopoietik kök hücre bozukluklarıdır.

Telomerler kromozomal bütünlüğün korunmasında kritik yapılardır. Bölünmekte olan hücrelerde telomer uzunluğunu muhafaza etmenin önemi şimdiye değin yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Telomer uzunluğu ile yaş arasında immatur ve matur hücrelerde dahil olmak üzere normal hematopoiezisde yavaş gelişen bir telomer erozyonunu işaret eden bir birliktelik mevcuttur. Telomerdeki kısalmanın erken dönemde tespiti prognostik olarak uzun vadede önem arzedebilir.

Prelösemik bir durum olan myelodisplastik sendromda da telomer stabilitesinin hastalığın patofizyolojisiyle yakın bir ilişkisi olabilir. Bu yüzden bizde çalışmamızda myelodisplastik sendromlu 27 hastanın periferik kanında ve 22'sinin kemik iliğinde PCR-tabanlı ELISA yöntemi ile telomeraz aktivitesi çalıştık. Kontrol grubu olarak 11 akut myeloid lösemi, 12 kronik myeloid lösemi, 11 sağlıklı olgu ve 10 nonlösemik normal kemik iliğinde enzimatik aktivite değerlendirildi. Myelodisplastik sendromlu hastalarda telomeraz aktivitesi periferik kanda 0.190 ± 9.24 , kemik iliğinde 0.261 ± 0.21 , akut myeloid lösemili hastalarda 0.495 ± 0.59 , kronik myeloid lösemi grubunda 0.1814 ± 0.47 , sağlıklı kontrollerde sırasıyla kanda ve kemik iliğinde 0.1814 ± 0.47 ve 0.2029 ± 0.86 olarak ölçüldü. Myelodisplastik sendromlu hastaların kan ve kemik iliklerinde çalışılan telomeraz aktiviteleri lösemik ve sağlıklı kontrollerden farklı bulunmadı. MDS'li hastalarda telomeraz aktivitesi ile yaş dışındaki klinik ve prognostik parametrelerde korrelasyon saptanmadı.

Sonuç olarak myelodisplastik sendromlu hastalarda telomer dinamiğinin prognostik öneminin daha güvenilir olması için enzimatik aktivitenin seri ölçümleri ile birlikte telomer uzunluğunun da çalışılmasının gerekli olduğunu düşünmekteyiz. Bunun yanında bizim çalışmamızda olduğu gibi erken dönemdeki myelodisplastik sendromlarda telomeraz aktivasyonu henüz gerçekleşmemiş olabilir.

Anahtar sözcükler: myelodisplastik sendrom, telomeraz, prognoz

ABSTRACT

TELOMERE DYNAMICS IN MYELOYDYSPLASTIC SYNDROMES AND ITS RELATION WITH PROGNOSTIC PARAMETERS

Recent scientific advances have provided new insights into the etiology and pathogenesis of the myelodysplastic syndromes. Despite heterogenous morphologic, genetic, biologic and clinical features, all forms of myelodysplastic syndromes are clonal hematopoietic stem cell disorders characterized by ineffective hematopoiesis and peripheral cytopenias.

Telomeres are thought to be critical in maintaining chromosomal integrity. The importance of preserving the length of telomeres in continuously dividing cells has been clearly demonstrated before. There is an association between the telomere length and age for both immature and mature hematopoietic cells, indicating a gradual telomere erosion for normal hematopoiesis. It will be important to know whether early measurements of telomere shortening could be of any long-term prognostic value.

As being a preleukemic condition telomere stability may be closely related to the pathophysiology of myelodysplastic syndromes. Therefore, by using PCR-ELISA assay we measured telomerase activity in peripheral blood mononuclear cells and bone marrow cells of 27 and 22 patients respectively. As control groups we have also studied enzymatic activity in 11 acute myeloid leukemia, 12 chronic myeloid leukemia patients besides 11 healthy blood donors and 10 nonleukemic normal bone marrow samples. Telomerase activity was found to be 0.190 ± 9.24 and 0.261 ± 0.21 in peripheral blood and bone marrow of patients with myelodysplastic syndromes respectively. Activity was 0.495 ± 0.59 in acute myeloid leukemia, 0.2530 ± 0.26 in chronic myeloid leukemia patients; 0.1814 ± 0.47 and 0.2029 ± 0.86 in healthy blood and bone marrow control group respectively. Telomerase activity in peripheral blood mononuclear cells and bone marrow samples were found insignificant compared with those of control groups. There were no correlation between the levels of telomerase activity and clinical and prognostic parameters of the patients with myelodysplastic syndromes except age.

As a conclusion we thought that serial measurements of enzymatic activity in association with telomere length studies should be performed in order to understand the prognostic role of telomere dynamics in patients with myelodysplastic syndromes more reliably. Besides these as in our study, in early forms of the disease telomerase activation may be insufficient to compensate for the telomere shortening.

Key words: myelodysplastic syndrome, telomerase, prognosis

Kisaltmalar:

MDS : Myelodisplastik sendrom
PCR : Polimerize zincir reaksiyonu
TRAP : Telomerik repeat amplifikasyon protokolü
TRF : Telomer restriksiyon fragment
FAB : Fransız-Amerikan-İngiliz grubu
FISH : Floresan in situ hibridizasyon
IPSS : Uluslararası skorlama sistemi



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Protoonkogenlerin aktivasyonu, tümör-supresor gen kayıpları gibi çeşitli genetik olaylar hücre bölünmesinin uyarılmasıyla sonlanabilir. Ancak memeli hücreleri kontrolsüz hücre proliferasyonuna karşı birtakım iç kontrol mekanizmaları geliştirmiştir. Bunlardan biri aberan büyüme sinyallerinin varlığında p53 geni ile tetiklenen hücre intiharı ya da apoptozdur. Bir diğeri ise normal hücre bölünmesine eşlik eden ve hücre yaşlanmaya katkıda bulunan kromozom uçlarının yani telomerlerin progresif kısalması olarak görünmektedir.

İnsan telomerleri genomik fonksiyonu ve bütünlüğü için önem arzeden G-den zengin basit tekrarlayan sekanslardan oluşan özelleşmiş kromozomal uç yapılarıdır. Konvansiyonel DNA polimerazları lineer kromozomların en uç kısımlarını tam olarak replike edemezler; böylece her hücre bölünmesi DNA kaybı ile sonuçlanır. Telomer kısalması bölünmekte olan somatik hücrelerde gözlenmiş olup telomerler kritik uzunluğa eriştiğinde hücre için artık yaşlanma süreci başlamıştır.

Telomeraz RNA altbirimlerini templat olarak kullanarak telomerik tekrarları ekleyen bir ribonükleoproteindir. Telomeraz ekspresyonu hücre bölünmesi sırasındaki telomerik kısalmayı önleyerek hücrelerin replikatif yaşlanma sürecine girmesi aşamasından kurtulmasını sağlar. Her ne kadar yüksek telomeraz aktivitesi tipik olarak değişik orijinli tümör hücrelerinde tespit edilmişse de insan primitif hematopoietik hücrelerinde ve telomeraz aktivitesinin sitokine bağlı ex vivo genişlemesi, hücre proliferasyonu ve hücre siklusü aktivasyonu sonucu belirgin olarak artış gösterebildiği uyarılmamış lenfositlerde de sınırda bir telomeraz aktivitesi mevcuttur.

Telomeraz geni insanda izole edilemediğinden genellikle hassas ve güvenilir bir yöntem olan PCR tabanlı telomeraz enzimatik aktivitesi çalışılmaktadır. Daha önce yapılan bazı çalışmalar telomeraz aktivitesi ekspresyonunun birçok solid tümör ve hematolojik malignansi ile olan birlikteliğini ortaya koymuştur. İnsan somatik hücrelerinin çoğu telomeraz ekspresyonunu baskılar ve her hücre bölünmesiyle kısalır. Çoğu insan tümör hücresinde ise bunun tam tersine telomeraz ekspresyonu olur, telomerler sabitlenir ve ölümsüzleşir. Teorik olarak tümör hücrelerindeki telomeraz inhibe edilebilirse bu hücrelerin proliferasyonunda sonlanabilir. Ancak son yedi yılda az sayıda telomeraz inhibitörü tanımlanmış olup birçok ajan henüz klinik deneme aşamasındadır.

Myelodisplastik sendromlar (MDS) pansitopeni ile karakterize displastik ve lösemik transformasyon eğilimi oluşturan klonal hematolojik bozukluklardır. MDS'de hematopoietik

progenitör hücrelerin intramedüller olarak aşırı apoptozu periferik kanda görülen sitopeniler ile ineffektif hematopoiezise katkıda bulunur. Bu konuda yapılan birçok çalışma lösemik dönüşümün programlı hücre ölümünde azalmayla birlikte olduğunu ortaya koymuştur. MDS gibi hematolojik bozukluklarda telomer dinamiğinin anlaşılması hastalığın altta yatan patogenezinde moleküler mekanizmalarla ilgili temel kavramların anlaşılmasını sağlayacaktır. Bizde çalışmamızda prelösemik potansiyel taşıyan MDS’de telomer dinamiğini inceleyerek bu parametrenin klinik ve prognostik önemini irdelemeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Telomer Yapısı ve Telomeraz

İnsan kromozomlarının en uç noktaları telomerler olarak adlandırılan basit heksamerik düzenli tekrarlayan (TTAGGG)_n dizinleri ile korunmuştur (1). Telomerler ökaryotik kromozomların ucunda yeralan ve kromozom korunması, pozisyon verilmesi, replikasyonu gibi görevleri olan özelleşmiş yapılardır (2). Omurgalılarda telomerler yüzlerce hatta binlerce TTAGG ve proteinlerinin sekanslarından oluşur. Kromozom terminal restriksiyon fragmanlarının analizi (TRF) bir hücre popülasyonundaki tüm telomerlerin bileşik uzunluğu hakkında bilgi verir. Bugüne kadar incelenen tüm normal somatik hücrelerde TRF analizi uygulandığında DNA polimerazın lineer uçlarının replikasyonundaki yetersizliğin bir sonucu olarak her hücre bölünmesinde kromozomlar yaklaşık 50 ile 200 kadar telomerik sekans nükleotidini kaybettiği görülmüştür. Telomerlerin kısalması olayı hücrelerin kendi bölünmelerini denetleyebildikleri mitotik bir saat gibi düşünülmekte olup yeteri kadar kısa telomer normal hücreler için replikasyonun sonu anlamına gelen bir uyarandır. Buna karşılık olarak bugüne kadar incelenen tüm ölümsüz hücrelerde telomerlerin uzunluğunda veya hücre bölünmesi dizisinde net bir kayıp gösterilmemiştir. Bu da telomerlerin muhafazasının replikasyonun sona ermesi sürecinden kurtulması ve sonsuz çoğalması için bir gereksinim olduğunu düşündürmektedir.

Telomeraz RNA komponentinin bir kısmını templat olarak kullanarak kromozom uçlarına telomerik DNA sentezleyen bir ribonükleoproteindir. Telomeraz aktivitesi invitro olarak primer ekstansiyon testi ile ölçülebilir. Bunun temeli telomerazın oligonükleotid primerleri üzerine telomerik eklentiler sentezlemesine dayanmaktadır. İnsan hücre ve dokularının ekstrelerinde telomeraz aktivitesi dokuz ölümsüz hücre zincirinde ve over karsinomada tanımlanmış olup aynı durum dört normal somatik hücre kültüründe veya karsinoma komşuluğundaki dokularda gösterilmemiştir. TRF analiziyle birlikte tüm bu sonuçlar telomeraz aktivitesinin telomer muhafazasında direkt olarak yer aldığını ve böylece bu enzimin hücre ölümsüzleşmesiyle bağlantısı olduğunu göstermektedir (2).

Yaşlanmayla birlikte kan hücrelerindeki ve fibroblastlardaki sekans uzunluğu kısalmaktadır. CD34⁺ CD38^{düşük} fenotipindeki insan kök hücrelerinde bile invivo ve invitro ortamda telomer kısalması görülmektedir. Bu bulgular hücre bölünmesi sırasında, normal

telomerik tekrarların kaybını telafi etmek üzere kendi integral RNAsını TTAGGG telomer tekrarlarını sentezlemek üzere bir templat olarak kullanan telomerazın aktivitesinin azalmasının bir sonucu olduğu şeklinde yorumlanmıştır (1). Son zamanlara kadar konvansiyonel telomeraz testlerinin duyarlılığının düşük olması nedeniyle telomerazın sadece ölümsüz hücrelerde veya germline hücrelerde olduğu, normal somatik hücrelerde bulunmadığı düşünülmekteydi . Yakın zamanda telomerik repeat amplifikasyon protokolü (TRAP) olarak adlandırılan telomeraz aktivitesini PCR-tabanlı bir metodla yüksek duyarlılıkla ölçebilen bir metod geliştirilmiş olup birçok araştırmacı sağlıklı kişilerde periferik kan mononükleer hücrelerinin çok düşük telomeraz aktivitesi gösterdiğini bulmuşlardır (1)

Hematopoiezisde yaşam boyu farklı çizgideki kan hücrelerinin üretilmesi hematopoietik kök hücrelerinin kendilerini yenileyebilmeleri, progenitor hücrelerin genişlemesi, programlanmış (committed) hücrelerin proliferasyonu, olgun hücre haline dönüşebilmeleri ve lenfositler için antijenle karşılaşıldığında klonal çoğalma potansiyelinin bulunması gerekmektedir (3). Tüm bu süreçler olağanüstü bir proliferatif kapasite gerektirir ve bazı hücre tipleri özellikle immün sistemde yeralanlar için çok fazla sayıda hücre döngüsünün gerçekleşmesi beklenir. Hematopoietik sisteme ait bu özellikler telomer idamesi ve telomeraz aktivasyonu için spesifik gereksinimlerin bulunduğunu göstermektedir (3).

Telomerler lineer kromozomların uçlarıdır. Lineer kromozomların uçları DNA kırıklarına benzerlik gösterir. Fakat tekrarlayan TTAGGG sekansları kromozom uçlarının DNA polimeraz ile onarımını engeller. Bu şekilde kromozom füzyonu, translokasyonu ya da nondisjunction gibi rekombinasyonların oluşmasını önleyerek genomik stabilite sağlanır. Telomerler aynı zamanda bir hücrenin kaç kez bölünebileceğini kontrol eden mekanizmalardır. Her hücre bölünmesiyle telomer uzunluğu kısalır ve belli bir telomer uzunluğunda hücre bölünmesi sonlanır, yaşlanma başlar (4). Telomeraz bir ribonükleoprotein enzimi olup kromozom uçlarına 'de novo' telomerik birimler ekleyerek telomerleri stabilize eder. Birçok somatik hücrede bulunmaz. Sadece normal embriyonik hücrelerde, germ hücrelerinde ve hızlı çoğalan dokularda (hematopoietik kök hücre, aktive lenfositler, epidermisin bazal hücreleri, intestinal mukozanın kriptik kök hücreleri) telomeraz aktivitesi gösterilmiştir. DNA replikasyonu sırasında geride kalan DNA ipliği RNA primerlerinin yardımıyla oluşan birçok küçük DNA parçasının birleşmesiyle sentez edilir. Geride kalan iplikteki son RNA primeri ile kromozom ucunda kalan DNA dizini sentez edilemez çünkü yeni bir RNA primerinin bağlanabileceği bir yer yoktur. Böylece kromozomlar 5' uçlarını kaybederler, Okazaki fragmanları oluşmaz ve DNA ipliği 3' uca doğru büyüyemez. Bu fenomen Watson tarafından ilk kez tanımlanmış olup 'uç replikasyon problemi' olarak

adlandırılmıştır. Böylece bu bölünmeyle telomerler kısalır. Telomerlerin uzunluğu belli bir seviyeye geldiği zaman (yaklaşık 2.5 kb) somatik hücrelerde proliferasyon durur. Telomerler bu nedenle hücrenin mitotik saati olarak adlandırılır. Bunun adı replikatif yaşlanmadır. Telomerdeki kısalma periferik kan hücrelerinde 40 bp/yıl ve kültür hücrelerinde 40-60 bp/yıl olarak bulunmuştur. Replikatif yaşlanmada proliferasyonun sonlanması iki fazlı bir mekanizmaya bağlıdır. Mortalite faz 1'de (Hayflick limit, M1) telomerler yeteri kadar kısa olmayıp yine de subtelomerik genlerin aktivasyonuna bağlı bölünme durur. Tümör süpresör genleri pRB ve p53 mediatörlerdir. Bu genlerin aktivitesi onkogenler veya virüsler tarafından suprese olursa hücreler bölünmeye devam eder. Mortalite faz 2'de (kriz fazı, M2) telomerdeki kısalma kritik uzunluğa erişmiştir ve artık kromozomların uçlarını koruyamazlar. Kromozom füzyonu, translokasyonu, nondisjunction gibi genetik rekombinasyonlar gözlenir. Sonuç olarak genomik stabilite kaybolur ve hücre ölür. Nadiren bir hücre M2 mortalite fazından kurtulur ve ölümsüzlük kazanır. Bunun olması için telomerazın reaktivasyonu veya aktivitesinde artış gereklidir.

Replikatif yaşlanma bazı kök hücreler, germ hücreleri ve tümör hücreleri hariç tüm somatik hücrelerin ortak özelliğidir. Telomeraz aktivitesi replikatif yaşlanma göstermeyen hücrelerde bulunur. Aktif olarak bölünen hücrelerde telomerik sekans telomeraz tarafından sentez edilir ve hücrenin replikasyon kapasitesi böylece korunur. Hücresel yaşlanma, tümör süpresif bir mekanizma olarak düşünülse de yaşlanmaya bağlı görülen bazı hastalıklarında nedenidir. Kontrolsüz proliferasyonu önlerken dokularda fonksiyonları değişikliğe uğramış yaşlı hücrelerin birikmesine neden olur. Örneğin yaşlanmayla birlikte dermiste kollajen üreten fibroblastlar karakter değiştirerek kollajen yapımını azaltırken proteaz yapımı artar ve yaşlılıkla birlikte cilt değişiklikleri ortaya çıkar. Bir başka bakış noktası da mikroçevrenin değişime uğramayarak bu şekilde karsinogeneze katkıda bulunmasıdır. Teorik olarak yaşlanma telomerlerin kaybının azalmasıyla ertelenebilir. Birçok tümörün ileri yaşlarda görüldüğü düşünüldüğünde yaşlanmanın ertelenmesiyle bu tümörlerin prevalansının da azalacağı tahmin edilmektedir. Telomeraz aktivitesi hematopoietik hücreler, kıl folikülleri ile barsak kript hücreleri dışında somatik hücrelerde gösterilmemiştir. Buna dayanarak hematopoietik sistemdekiler dışında kanser hücrelerindeki anormal telomeraz aktivitesinin tayini kolaydır. Ancak telomeraz aktivitesinin normal hematopoietik hücrelerde de bulunmasından dolayı telomeraz pozitif lösemi hücrelerinin belirlenmesi sırasında dikkat edilmeli ve kantitatif çalışmalar yapılmalıdır.

Telomeraz aktivitesinin tespiti iki şekilde yapılabilir: telomerazın biyokimyasal aktivitesinin tayini ve telomerazın RNA komponentinin tayini. PCR-tabanlı TRAP (telomerik

repeat amplification protocol) yönteminde telomerazın biyokimyasal özellikleri (telomerik tekrar birimlerinin bağlanması ve oligonükleotidlerin sentezi) PCR gibi nükleik asit amplifikasyonu yapılan bir metodla kombine edilmiştir. Bu yöntem bir hücredeki telomeraz aktivitesi tayini için şimdiye kadar bilinenlerin en hassas olanıdır. Isıya ya da fiksasyona maruz kalmış örnekler uygun olmayıp bu test ısıya duyarlı telomeraz aktivitesini ölçmektedir. Böyle örneklerde telomeraz aktivitesi tayini yapmak için RNA komponentinin klonlanması tercih edilir. Ancak dokularda varlığı gösterilen telomerazın RNA komponentinin telomeraz aktivitesine sahip olmadığı bilinmektedir. Telomeraz pozitif kanser hücrelerinin bu yolla tespiti için normal ve şüpheli dokudaki telomeraz aktivitesi arasındaki farkın tespiti gerekmektedir. TRAP ile telomeraz aktivitesi primer tümörlerin % 90'dan fazlasında ve hemen tüm kanser hücre dizisinde gösterilmiştir. Telomeraz aktivitesi yine birçok kök hücrede de(kıl folikülleri, hematopoietik hücreler, intestinal kript hücreler) gösterilmiştir. Ancak birçok primitif kök hücrede ve bölünmenin G0 fazındaki hücrelerde aktif bölünme olmadığı için telomeraz aktivitesi gösterilememiştir. Bu hücreler bölünmeye başladığında telomer kaybına uğrayıp telomeraz aktivitesinde artışa neden olurlar.

Telomer-telomeraz ilişkisinde telomeraz aktivitesini artıran bir kontrol mekanizması olduğuna inanılmaktadır. Solid tümörlerde telomeraz aktivitesi çevreleyen normal dokuyla kıyaslanarak kolayca tespit edilebilir. Fakat dokularda kan elemanlarının ya da inflammatuar hücrelerin bulunması ne kadar zayıf olursa olsun telomeraz pozitifliğine neden olabilir. Hematolojik malignansilerde normal hematolojik hücre dizinlerinde de bu aktivitenin bulunmasından dolayı telomeraz aktivitesini değerlendirmek güçtür. Bu nedenden ötürü normal insanlardaki telomer uzunluğunu ve aktivitesini belirlemek neoplazilerdeki değişiklikleri değerlendirmek açısından önemlidir; özellikle yaşa göre düzeltilmiş değerler değerlidir. Telomeraz aktivitesinin semikantitatif tayini sırasında ortaya çıkan en önemli problem sonuçların protein miktarı ile korrelasyon göstermesidir. Bir başka problem ise lösemi hücreleri gibi bazı hücrelerin PCR ve TRAP metodları için inhibitör taşırlar. Bu gibi nedenlerle farklı metodlar için araştırmalar devam etmektedir. Telomerik restriksiyon fragment (TRF) çalışması telomerlerin uzunluğunun tayini için kullanılan bir laboratuar tekniğidir. Genomik DNA nükleazlarla (TTAGG)_n sekansları ve subtelomerik bölgeler içeren parçalara ayrılır.

2.2 Normal Hematolojik Hücrelerde Telomer Dinamiği

Yaşlanmayla birlikte periferik lökositlerde telomerik restriksiyon fragmanlarında artan bir kayıp olmaktadır. 40 bp/yıl olarak bildirilmişse de Iwama ve ark. bunun genç bireylerde (<20 yaş) daha fazla (67 bp/yıl) olduğunu göstermişlerdir (5). Periferik kan lenfositleri ile karşılaştırıldığında tonsillere lokalize lenfositlerde telomeraz aktivitesi daha yüksektir. Telomeraz aktivitesi aktive lenfositlerde de daha yüksek bulunmuştur. Genç yaşlarda daha yüksek sayıda lenfosit bulunduğundan, mitojenlere maruz kalan immatur lenfositlerin dolaşıma girmesi ve dolaşımında daha fazla sayıda hematopoietik kök hücre bulunması sonucu gibi nedenlerden dolayı telomeraz aktivitesi daha yüksek bulunabilir. Bunun yanında yaşla birlikte lenfositlerdeki telomeraz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. 20 yaşın altındakilerde telomeraz aktivitesi beş kat daha fazla bulunmuştur. Yaşla birlikte TRF'nin kısalması her bölünmede telomerlerdeki kayıp ve/veya eksik ya da azalmış telomeraz aktivitesine bağlı olabilir.

2.3 Myelodisplastik Sendrom

Myelodisplastik sendromlar displastik inefektif kan yapımıyla karakterize olup akut lösemiye geçişte farklılık gösteren heterojen bir grup kök hücre malignitesidir (6,7,8). Bu bozukluklar genellikle denovo oluşur, fakat yıllar süren mutajenik kemoterapi sonrası da görülebilir. Her ne kadar MDS sınıflaması yeni olsa da hastalıkla ilgili tanımlar son 60 yıldır vardır. 1938'de Rhoades ve Barker 60 hastada başka bir durumla ilgisi olmayan refrakter anemi tarif etmişlerdir. Hamilton Paterson daha sonraları bu durumu ifade etmek üzere akut myeloid lösemi gelişiminden önce ortaya çıkan refrakter anemi vakalarını prelösemik anemi olarak tanımlanmıştır (8). Block ve ark. 1953 yılında doğal seyrinde lösemik transformasyon potansiyelini de içeren bir veya daha fazla refrakter sitopenisi bulunan hastaları tarif etmek üzere 'preleukemia' terimini kullanmışlardır (8). Bu referanslar günümüzde hala geçerliliğini korumakla birlikte vaka çalışmaları prelösemik durumların hematolojik prezentasyonu ve doğal seyrinin değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bjorkman kemik iliğinde halkalı sideroblastlarla birlikteliği olan refrakter anemi vakalarında lösemik değişimin nadir olduğunu yazmışlardır. 1963'de Rheingold ve arkadaşları smoldering akut lösemi olarak adlandırdıkları subakut klinik seyir ve değişik yüzdelerde kemik iliği blastlarıyla karakterize yeni bir lösemik varyant tarif etmişlerdir. 1970'lerde kronik myelomonositik lösemi tek başına bir prelösemik

sendrom olarak ortaya çıkmıştır (8). Dreyfusun normal kemik iliğinden daha fazla blast yüzdesi olan refrakter anemili hastaların daha hızlı hematolojik deteriorasyona gitmesiyle ilgili gözlemi hastalığın klinik davranış farklılıklarını ayırtetmede yararlı olmuştur . 1976'da ilk kez Fransız-Amerikan-İngiliz (FAB) grubu yüksek blast yüzdeli refrakter anemili prelösemik sendromlar ve kronik myelomonositik lösemi için tanı kriterleri tanımlamıştır (Tablo1). Daha sonra 1982'de bu sınıflandırma şemasına bir kategori daha eklenmiş olup myelodisplastik sendromların tasniflemesi tek bir referans haline gelmiştir (9).

Periferik kan ve kemik iliği bulgularına dayanan FAB sınıflaması MDS'i beş morfolojik alt gruba ayırmıştır. Bunlar refrakter anemi (RA), Ringed sideroblastlı refrakter anemi (RARS), blast artışlı RA (RAEB), transformasyonda blast artışlı RA (RAEB-t) ve kronik myelomonositler lösemi (KMML)' dir. Kemik iliğinde ringed sideroblastların % 15'den fazla olmasıyla karakterize, birlikte buna eşlik eden myeloblast oranındaki artış (>%5) veya monositoz sırasıyla RAEB ve KMML olarak bilinir. Bu hastaların klinik seyirleri daha kötü gidişli olup yaşam süreleride RARS'lı hastalardan daha kısadır. FAB klasifikasyonunun geçerliliği tartışılrsa da tekrarlanabilir olması ve vaka kıyaslamaları için referans özelliği taşıması nedeniyle halen kullanılmaktadır. Kullanışlı olmasına rağmen bazı MDS vakaları FAB kriterlerine göre kategorize edilememektedir. Bu özellikle terapiye bağlı MDS vakaları için geçerlidir. Bu gibi durumlarda sınıflandırılmayan MDS veya displaziyle birlikte RA terimleri kullanılmaktadır (8).

Tablo 1. FAB klasifikasyonuna göre morfolojik özellikler

FAB Tipi	Sıklık (%)	Kİ Blast (%)	Ringed Sideroblast (%)	Monositler	Dispoiezis derecesi
RA	35	<5	<15	nadir	+
RARS	20	<5	≥15	nadir	+
RAEB	20	≥5 >20	değişken	nadir	++
CMML	15	1-20	değişken	artmış	++
RAEB-T	15	21-30	değişken	değişken	++

Açıklanamayan sürekli sitopenisi veya monositozu olan özellikle ileri yaştaki hastalarda MDS tanısı akla gelmelidir. Periferik kan tablosunun ve kemik iliğinin dikkatle

incelenmesi bir ya da daha fazla displazik sitolojik bulguların ortaya konması açısından gerekmektedir. Psödo Pelger-Hüet anomalisi olarak bilinen granülositlerin nükleer hiposegmentasyonu, mononükleer veya mikromegakaryositler, makroovalositler ve akantositler görülebilir. Bu bulgular sadece MDS'ye özgü olmadığı için potansiyel olarak katkıda bulunabilecek nutrisyonel durum, alkol ve ilaç kullanımı, toksik kimyasal maddelere meslek gereği maruz kalma, daha önce antineoplastik veya radyoterapi almış olmak ve HIV enfeksiyonu için risk faktörleri taşınması gibi durumlar ekarte edilmelidir. MDS'de B12 ve folat eksikliğinin olmadığına gösterilmesi gerekmektedir. Özellikle morfolojik bulguların şüpheli olduğu durumlarda sitogenetik analiz, invitro kemik iliği progenitor kültürleri, kemik iliği biyopsileri, akım sitometrisi ve immünohistokimyasal çalışmalar yardımcı olabilir (8). Floresan insitu hibridizasyon (FISH) ve PCR teknikleri standart sitogenetik analizini geliştirmiş olmakla birlikte, sonuçların klinik bulgularla birleştirilmesi ve korrelasyonu gerekmektedir (10). Kemik iliği selüleritesinin değerlendirilmesinin yanısıra kemik iliği trefin biyopsileri tanıyı doğrulamak açısından yararlıdır. Normalde paratrabeküler lokalizasyonda bulunan granülopoiezis santral ilik boşluklarına kaymış bir yerleşim gösterebilir. Granülosit prekürsörlerinin bu yerdeğiştirmesi olayı immatür prekürsörlerin anormal lokalizasyonu (ALIP) olarak adlandırılmıştır (8). Her altgrupta görülebilmekle birlikte ilerlemiş FAB altgruplarında daha sık görülür. Ayrıca kemik iliği biyopsileri displastik hematopoiezis, retikülin fibrozis, lenfoid nodüllerin veya lenfositik infiltrasyonlarla ilgili fikir sahibi olunmasında yardımcı olur.

2.3.1 Patogenez

Myelodisplazide kemik iliği yetmezliği hematopoietik aktivitede eksiklikten ziyade inefektif hematopoiesis sonucudur (7,11). MDS'li hastalarda kemik iliğinin kinetik çalışmaları bu hastalardaki hücre bölünmesinin normalden fazla olduğunu, erken myelodisplazi aşıkâr lösemiye ilerledikçe de [3 H] thymidine'nin DNA'ya dahil edilme hızının azaldığını göstermiştir (12). Apoptoz veya programlanmış hücre ölümü myelodisplazide belirgin olarak artmış olup bu da kan hücre prekürsörlerinde matur kan hücrelerinin üretiminde bozukluğa yolaçar. Yapılan ilk çalışmalarda myelodisplazinin neoplastik klondaki hücrelerin intrinsik defektleri sonucu hücrel maturasyonda bozulma olması ile birlikte olduğu gözlenmiştir (11,12). AML'de olduğu gibi myelodisplazide de hücrel maturasyonun bozulması esas patofizyolojik anormalliktir.

Yakın zamanda MDS'li hastalarda yapılan bir çalışmada uyarı iletiminin başlangıç aşamasında eritrosit prekürsörlerde eritropoietine karşı hassasiyetin azaldığı gözlenmiş olup myelodisplazide düzenleyici hormonlara olan yanıtta değişikliklerin patogeneze katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (4). Myelodisplazide son evredeki farklılaşmış hücrelerin fonksiyonel defektleri vardır . Nötrofillerde myeloperoksidaz ve mikrobisidal aktivite azalmış olup dolayısıyla bu hastalıkta nötrofiller normal sayıda bile olsa hastalarda enfeksiyon için risk artmıştır (8).

2.3.2 Sitogenetik ve Moleküler Biyoloji

MDS kan tablosunda sitopenilere yolaçan inefektif hematopoiezis ile karakterize hematopoietik kök hücrelerin klonal bozukluklarıdır. De novo MDS'lerin % 30-50'sinde ve sekonder MDS'lerin % 80'inde klonal sitogenetik aberasyonlar bulunmaktadır (13,14). MDS'deki sitogenetik aberasyonların özelliklerinden biri de bu aberasyonların hiçbirinin MDSye özgü olmayışıdır; bunlar AML ya da diğer myeloid bozukluklarda da bulunabilirler. Bunun yanı sıra AML ve myeloproliferatif hastalıklarda görülen bazı rearanjmanlar, dengeli translokasyonlar veya inversiyonlar MDS'de görülmez. Bunlar t(9;22) (Ph1 kromozomu), t(15;17), t(8;21) ve inv(16) gibi aberasyonlardır. MDS'de görülen kromozomal anormalliklerin yaklaşık yarısı kromozom kayıplarıdır. Kısmi kromozom kayıpları arasında del 5q predominant olup bunu del 20q, del 11q, del 7q izler; del 13q en az görülenidir. Total kromozom kayıpları ise esas olarak monozomi 7 ve daha az sıklıkla diğer kromozomlarda (özellikle 5, 17, 21 ve X) görülür. Kromozom kazançları ise büyük bir oranda trizomi 8 olup bunu trizomi 11 ve akkiz trizomi 21 izler. Translokasyonlar MDS'de az olarak görülmekle birlikte daha çok kromozom 1,3,5,7 ve 17'yi ilgilendiren dengeli olmayan translokasyonlardır. Kompleks sitogenetik anormallikler MDS'lerin %15'inde görülür (14). Kromozomal aberasyonların görülme sıklığı MDS'de FAB tiplerine göre değişkenlik gösterir. Düşük risk MDS grubunda (RA-RARS) az görülmekte olup yüksek risk MDS'lerde (RAEB-RAEB-t) en fazla oranda, KMML'de ise orta sıklıkta görülür. İzole del 5q veya del 20q gibi iyi prognostik kromozomal aberasyonlar RA'de, monozomi 7 ve diğer kompleks anormallikler gibi kötü prognostik faktörler ise RAEB, RAEB-t'de görülür. Del 11q daha çok RARS'da (% 20) görülmekle birlikte diğer MDS gruplarında nadirdir.

Moleküler genetik kriterlere malign hastalıklarla özdeşleştirilmesi amacıyla başvurulması gelecekte hastaya göre uyarlanmış tedavi stratejilerinin planlanmasında zorunluluk haline gelebilir. Bu anlamda MDS'de overt lösemi gelişmeden önce altta yatan

hematolojik bozuklukları oluşturan moleküler mekanizmaların çalışılması büyük fırsat oluşturmaktadır. Akut myeloid lösemide RAS mutasyonlarının göreceli olarak yüksek sıklıkta (% 25) bulunması MDS'li hastaların bu yönden irdelenmesine neden olmuştur. 282 vakalılık bir araştırmada mutasyonların daha çok N-Ras geninde oldukları, RAS mutasyonlarının tüm FAB subtiplerinde özellikle de % 60 gibi yüksek bir oranda KMML'de bulunduğu, ayrıca RAS mutasyon insidansının farklı laboratuvarlarda farklı insidanslar (% 9-40) gösterdiği gözlenmiştir (15). RAS mutasyonu lökomogenezin farklı evreleri sırasında kazanılabilir ve böylece bir hastanın tüm hematopoietik hücre dizinlerinde ya da granülositer seride sınırlı olmak üzere bulunabilir. Benzer şekilde kromozomal aberasyonlar da önce ya da takiben gelişmiş olabilir. RAS mutasyonlarının prognostik önemi tartışmalıdır. Bu konuda büyük hasta kohortlarına dayanan prospektif çalışmalar daha net bilgi verecektir. AML'de RAS mutasyonları kötü prognostik olmayıp tersine prognoza olumlu yönde katkıda bulunur (15). RAS mutasyonları gibi moleküler parametrelerden tedavinin monitorizasyonunda bir klonalite göstergesi olarak yararlanılabilir. FMS protoonkogeni, koloni-stimüle edici faktör I (CSF-1) için reseptör kodlamaktadır. Yapılan bir çalışmada MDS'de kodon 969'daki mutasyonların relatif olarak yüksek sıklıkta (% 15) olduğu, bunun yanında iki hastada ise kodon 3012'de amino asit substitüsyonu gözlemlendiği bildirilmiştir (15). FMS lokusu ile MDS gelişimi arasındaki bir başka bağlantıda CSF-1 reseptöründe azalma ya da total kaybın MDS'nin 5q-varyantındaki anormal hematopoiezise katkıda bulunduğu yönündedir (16).

MDS'li hastalarda %5-10 vakada daha çok missense mutasyon şeklinde p53 geninde değişiklikler bulunmuştur (15). P53 mutasyonları ileri evre MDS subtiplerinde (RAEB, RAEB-t, KMML) kötü prognostik karyotip ve kompleks sitogenetik anormalliklerle birlikte görülmektedir. Ancak p53 mutasyonlarının lösemiye geçişte bağımsız göstergeler olup olmadıkları henüz bilinmemektedir. Tüm bunlar gözönüne alındığında MDS grubu hastalıklar klinisyen ve araştırmacılar için hala önemli tanısal girişimlere açık bir alandır.

2.3.3 Klinik ve Laboratuar Bulgular

De novo MDS'nin insidansı tam olarak bilinmese de ileri yaşlarda AML insidansını geçtiği tahmin edilmektedir. Yaşla birlikte risk artmaktadır. Çocukluk çağında nadiren görülmekle birlikte MDS'nin medyan başlangıcı altı yaşındadır. Prezantasyon sırasındaki klinik bulgular ve semptomlar genelde periferik sitopenilerle ilgili olup mutlak olarak hastalığa özgü değildir. Birçok hasta asemptomatik olup şans eseri rutin laboratuar taramaları sırasında teşhis konur. Geri kalanlarda ise halsizlik, çabuk yorulma, egzersiz intoleransı,

anjina, baş dönmesi gibi henüz tespit edilmemiş anemi semptomları veya genel durumda bozulma görülür. Daha az sıklıkla enfeksiyon, kolay morarma veya kanamalar laboratuvar testlerinin yapılmasını sağlar. MDS’de enfeksiyonun yüksek insidansı daha çok nötropeniden olmakla birlikte kemotaksiste ve mikrobiyal savunma mekanizmalarındaki bozuklukta buna katkıda bulunur (8). Özellikle bakteriyel enfeksiyonlar sık görülür. Cilt, enfeksiyonun en sık görüldüğü organdır. MDS’li hastalarda en önemli mortalite nedenidir. Fungal, viral ve mikobakteriyel enfeksiyonlar görülse bile bunların immünsüpresif tedavi dışında görülmesi seyrek. Bazı hastalarda sık olmamakla birlikte otoimmün bozukluklar hastalığın seyri sırasında görülebilir. Hastaların yaklaşık yarısı tanı aşamasında asemptomatiktir. Detaylı bir anamnezle hastaların üçte biri reküren enfeksiyon tarif eder . % 10-20 hastada splenomegali koincidental bir bulgudur ve genellikle minimaldir. KMML’li hastalarda görülür. MDS’nin diğer alt gruplarında lösemiye progresyon gelişmeden pek görülmez. Monozomi 7 taşıyan hastalarda diabetes insipidus geliştiği bildirilmiştir (12). Diğer malign hastalıklara benzer bir şekilde MDS’li hastalarda da iştahsızlık ve kilo kaybı sık görülen nonspesifik semptomlardır. MDS’de hematolojik bozukluklar heterojendir. Bir veya daha fazla kan elemanlarının kantitatif eksikliği hastalığın mutad belirtilerinden biri olup hematolojik altgrupla bağlantılıdır.

Myelodisplazi teşhisi anemi, nötropeni, trombositopeni ya da sitopenilerin kombine görüldüğü klinik olarak hematopoieziste bozukluğu gösteren morfolojik bulgulara dayanır. Kemik iliği genellikle periferik yaymada görülen sitopeninin durumuna göre normal ya da artmış selülerite gösterir. Birden fazla nükleusa sahip megaloblastik eritroid prekürsör veya nükleus ve sitoplazmanın asenkronize maturasyonu görülebilen morfolojik bozukluklardır. Her ne kadar diğer benign ve malign hematolojik hastalıklarda da görülse halkalı sideroblastlar ve mitokondrilerinde demir yüklü eritroid prekürsörlerde myelodisplazide tanımlanmıştır. Sıklıkla immatür myeloid hücreler ağırlıkta olup granülositer seri prekürsörleri nükleus ve sitoplazmada asenkronize maturasyon gösterebilir. Matur granülositler sıklıkla hipogranüler ve hipolobüledir (psödo Pelger-Huet anomalisi). Megakaryositlerde az sayıda nükleer lob olup genellikle küçüktürler (mikromegakaryositler). Tüm serilerdeki displastik anormallikler, nükleer ve sitoplazmik çıkıntılar, karyoheksis ve şekilsiz nükleuslar olarak kendini gösterir. Myelodisplazinin periferik kan bulguları oval makrositer eritrositler, psödo Pelger-Huet anomalili hipogranüler granülositler ve dev trombositlerdir. Kemik iliğindeki displastik değişiklikler myelodisplazinin teşhisi için tek başına yeterli değildir. Vitamin B12 ve folik asit eksikliği, HIV enfeksiyonu gibi viral enfeksiyonlar, antibiyotik kullanımı, kemoterapetikler, etanol, benzen ve kurşun bu

displastik değişikliklerin bir kısmına ya da hepsine neden olabilir. Diğer nedenler dikkatli bir anamnez, fizik muayene ve laboratuvar değerlendirmeye ekarte edilmelidir.

Nutrisyonel eksikliklere ya da toksik durumlara bağlı myelosupresyon ve displazi genellikle geçici olup altta yatan nedene yönelik tedaviyle dzelmekle birlikte primer myelodisplazide bunlar kalıcıdır. MDS tanısı değerlendirmesinde kemik iliğinin sitogenetik bozukluklar yönünden incelenmesi kritik öneme sahiptir.

2.3.4 Prognoz

MDS'li hastalarda klinik gidişatı değerlendirebilmek amacıyla birçok farklı prognostik risk analiz sistemleri bulunmasına rağmen doğru bir öngörüde bulunmak güçtür. Bu sistemleri geliştirmek amacıyla International MDS Risk Analysis Workshop (IPSS) grubu yedi büyük çalışmadan elde edilen sitogenetik, morfolojik ve klinik verileri toparlayarak yeni bir prognostik sistem oluşturmuşlardır (17,35). Prognostik değişkenlik, hastaların büyük çoğunluğunun ileri yaşta olması ve günümüzde mevcut tedavi seçeneklerinin agresif tabiatta olması MDS'de tedavi planlamasını zorlaştırmaktadır. Her hasta birey için hastalığın doğal seyrini en iyi şekilde belirleyebilmek ve buna göre farklı tedavi seçeneklerinin kar/zarar oranı perspektifi içerisinde karar verebilmek açısından prognostik sınıflandırma büyük önem arz etmektedir.

FAB klasifikasyonu MDS'de risk değerlendirmesi için artık kullanılmamalıdır. Halen kemik iliğindeki blast yüzdesi, sitogenetik yapı ile sitopenilerin sayı ve şiddeti MDS'de en güçlü prognostik belirleyiciler olarak kabul görmektedir. Son yıllarda geliştirilen IPSS tüm bu değişkenleri kapsamakta, sağkalımı ve lösemiye geçiş riskini belirlemekte yararlı olmaktadır (Tablo 2). IPSS MDS'li hastaların çoğunda riske uyarlanmış tedavi stratejilerinin belirlenmesine olanak sağlar ve tedavi planlarken, klinik denemelere hazırlarken ve analiz sırasında tavsiye edilmektedir. Birçok araştırmacı intensif tedavi rejimlerini IPSS'e göre intermediate-2 ve yüksek risk grupları için saklamaktadır. Ancak IPSS'inde bazı sınırlamaları mevcuttur; yakın zamanda yayınlanan serilerde bile vakaların üçte birinin sitogenetik sonuçları yoktur, bazı sitogenetik anormallikler yanlış olarak intermediate risk grubuna katılmaktadır ve birçok klinisyen prognostik faktörler için belli tedavi rejimleri olduğu yaklaşımı içindedir.

Allogeneik kök hücre transplantasyonunda yaş ve tanıdan transplantasyona kadar geçen zaman sonucu belirleyen faktörlerdir. Multilineage displazi, onkogen mutasyonları, p15 metilasyonu, telomerde kısalma, daha düşük düzeyde apoptozis ve yüksek Fas ligand

ekspresyonu artık MDS'de kötü prognostik faktörler olarak kabul edilmektedir. Özetle 2001'de IPSS MDS tedavisini yönlendirmede güçlü bir araçtır.

Tablo 2. IPSS (International Prognostik Scoring System)

Risk grupları için	Düşük Risk : 0
skorlar	INT-1 : 0.5-1.0
	INT-2 : 1.5-2.0
	Yüksek risk : > 2.5

Prognostik değişken	Skor				
	0	0.5	1	1.5	2
KİBlastları (%)	<5	5-10	-	11-20	21-30
Karyotip	iyi	intermediate		kötü	
Sitopeniler*	0/1	2/3			

iyi: normal ya da -Y, del(5q) ve del (20q)

kötü: kompleks (3 anormallik) ya da kromozom 7 anomalisi

orta: diğer anormallikler

*Hemoglobin<100 g/dl, ANC(absolü nötrofil sayısı) <1.5 x 10⁹/l, plt< 100 x 10⁹/l

2.4 Myelodisplastik Sendrom ve Klinik Sendromlar

Myelodisplastik sendromlu hastalar enfeksiyon, kanama, morarma, gittikçe artan halsizlik, efor dispnesi gibi hematopoietik fonksiyon bozukluğuna bağlı semptomlar nedeniyle tıbbi yardıma başvursa da birçok hastada hiçbir semptom olmaksızın anemi, trombositopeni, lökopeni veya bunların kombinasyonları rutin laboratuvar değerlendirmeleri sırasında ortaya çıkabilir. MDS genellikle ileri yaştaki yetişkinleri etkiler. Medyan başlangıç yaşı 7.dekatta olup nadiren çocuklarda bildirilmiştir (12). Erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülür (vakaların ortalama % 60'ı). Hastaların büyük çoğunluğunda neden bilinmemekle birlikte radyasyona maruziyet, kemoterapetik ajanlar, benzen ve diğer organik bileşikler MDS ve AML'ye neden olabilmektedir. International Myelodysplastic Syndrome Risk Analysis Workshop (IPSS) tarafından vurgulandığı gibi MDS'nin gidişatı hastalığın evresine ve

neoplastik klonun biyolojisine göre farklılıklar gösterir (17). En az % 5 blastı olan hastalar genellikle kemik iliği yetmezliğinden veya overt AML'den kaybedilirler. % 30 kadar vakada AML gelişir. Kemik iliğinde % 5 altında blastı olan MDS hastaları da genellikle aynı yaş grubundaki hastalar gibi diğer nedenlerden kaybedilirler.

2.4.1 5q- Sendromu:

MDS'li hastalar arasında 5. kromozomun uzun kolunda izole delesyon kendine özgü bir klinik gösterir. 5q- sendromu hastaların sadece % 25'sinde overt löseminin geliştiği uzun bir klinik seyirle karakterizedir. Sendromun bulgularından biri anemidir. Nötropeni varsa hafif olup trombosit sayısı genellikle yüksektir. Vakaların % 70 kadarı kadındır. İzole 5q- delesyonu diğer kompleks sitogenetik bozukluklar gösteren bozukluklardan ayırımını iyi yapmak gerekir. Diğer kromozomal anomalilerin eşlik ettiği 5q- delesyonu genellikle hızlı lösemik progresyon gösterir.

2.4.2 Hipoplastik MDS:

Her ne kadar MDS'li birçok hastada kemik iliği hiperselüler veya normoselüler olsa da küçük bir kısmında hiposelülerite bulunabilir. Hiposelüler kemik iliği olanlarda klinik bulgular ve iliğe ait morfolojik özelliklerin aplastik anemili hastalarinkinden ayırılması zor olabilir. MDS'ye özgü sitogenetik anormalliklerin bulunması doğru teşhise imkan sağlar. Hiposelüler/hipoplastik MDS'lerin doğal seyri normo/hiperselüler MDS'li hastalar gibidir.

2.4.3 Çocuklukta MDS :

Çocukluk çağında MDS çok nadirdir, fakat geliştiği zaman klinik manifestasyonları erişkin MDS'lerdeki gibidir. MDS'li çocukların üçte birinde Down sendromu gibi konstitusyonel bozukluklar bulunur. MDS'li çocukların % 40'ından fazlasında AML'ye geçiş olur fakat yetişkin AML'dekinden farklı olarak kromozom 7'nin anomalileri çocuklarda kötü prognostik değildir.

2.4.4 Kemik İliğinde Fibrozis ile Birlikte MDS:

Bazen MDS'li hastalarda kemik iliğinde retikülin fibrozu bulunur. Primer myelofibrozdaki ayırımında her üç seride displazinin olması, hepatomegalinin ve belirgin

splenomegalinin olmaması MDS tanısına yaklaştırır. Bazı MDS ve myelofibrosis vakaları gelişmekte olan megakaryoblastik lösemiye temsil edebilir.

2.4.5 Terapiye Bağlı MDS:

İyonize radyasyona maruziyet veya bazı myelotoksik ilaçlar AML ya da MDS gelişimi için artmış risk teşkil ederler. Alkile edici ajanlar 5. ve 7. kromozomların delesyonu veya kaybına eipodophyllotoxin ve antrasiklin gibi DNA topoizomera II'yi etkileyen ilaç tedavisi ise sıklıkla 3q26, 11q23 ve 21q22 kromozomlarında bozukluklarda dengeli translokasyonlara neden olur. Bazı araştırmacılar terapiye bağlı MDS'nin diğer MDS'lerden ayrı bir klinik durum olduğunu göstermişlerse de sitogenetik stratifikasyon sonucu klinik seyrin toksik duruma maruziyetin varlığından çok sitogenetik anormalliklere bağlı olduğunu göstermiştir. Bunun yanında tedaviye bağlı MDS'li hastalar kötü prognostik anormallikler göstermeye daha meyillidirler.

2.5 Myelodisplastik Sendromda Tedavi

2.5.1 Kemoterapi

Tedavi yaklaşımı yeni tanı konmuş daha önce myelodisplazi tanısı bulunmayan akut lösemideki gibidir. Genel olarak daha önceden MDS olan hastalarda bu tür tedavilerin sonuçları düş kırıklığı yaratmıştır. Komplet remisyon daha az oranda olup remisyon süresi daha kısadır ve relaps oranı denovo akut lösemiden daha yüksektir. AML için sitarabin ve antrasiklin içeren standart indüksiyon tedavisi alan MDS'li hastalarda remisyon oranı % 50-60 olup relaps oranı % 90'dır. Buna karşın aynı rejimle tedavi edilen denovo AML'lerde remisyon %70-80 ve relaps oranı % 65-80'dir. Bazı araştırmacılar antededen myelodisplazinin kendisinin bir kötü prognostik faktör olduğunu fakat kromozom 7'nin delesyonu, trizomi 8 gibi sitogenetik anormallikleri olan ve oranı belli olmayan MDS'li hastaların da akut lösemi için kötü prognoz taşıdığını düşünmektedir.

Hastalar sitogenetik anormalliklerine göre sınıflandırıldığında MDS'li ve yeni teşhis edilmiş AML'li hastalar arasında kemoterapiye yanıtta çok az fark vardır (19). MDS'nin tedavisi hastalığın biyolojisine göre düzenlenmelidir. Standart tedavi rejimlerine olan yetersiz yanıt gözönüne alındığında sitogenetik anormallikleri olan minimal fonksiyon bozukluğu gösteren kötü prognozlu hastalarda yüksek doz kemoterapi ve kök hücre transplantasyonu gibi agresif araştırma yaklaşımları düşünülmelidir. İnsan lösemi hücre dizisi kültürlerinde yapılan gözlemde lösemik blastların diferansiye olabileceğini göstermiştir (8). Günlük düşük dozda

verilen sitarabinin diferansiye edici olarak etki ettiği ve bu rejimin efektif olduğu başlangıçta bildirilmiştir.(12). Fakat yapılan diğer araştırmalarda bu rejimdeki etkin olan etki mekanizmasının sitoredüksiyon olduğunu göstermiştir. Retinoidler ve kolekalsiferol gibi diğer potansiyel diferansiye edici ajanların aktiviteleri hayalkırıklığı yaratmış olup plasebo benzeri etki göstermişlerdir.

MDS'nin tedavisinde hekzametilen bisacetemide ve türevleri diferansiyasyonu indükte edici ajan olarak yararlı olabilirler . MDS'li 24 ileri yaştaki hastanın kapsandığı bir çalışmada DNA metilasyonunu inhibe eden 5-aza-2'deoxycytidine kullanımı sırasında hastaların sekizinde komplet yanıt olmak üzere 15 hastada sitopeni kaybolmuştur (20). Bir başka klinik çalışmada bir organik thiofosfat olan ve normal hücreleri kemoterapi ve radyoterapinin etkilerinden korumak amacıyla geliştirilen amifostine tedavisi alan 18 hastanın 15'inde sitopeninin düzelmesiyle sonuçlanmıştır (21).

2.5.2 İmmünoterapi

Bazı çalışmalardan elde edilen ipuçları MDS tedavisinde immün yanıtın modülasyonunun yararlı olabileceğini düşündürmüştür. Örneğin aplastik anemi için kullanılan immünsupresif tedavi rejimleri ile tedavi görmüş bazı hipoplastik MDS'li hastalarda komplet ve uzun süreli remisyonlar elde edilmiştir. Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada normoselüler ya da hiperselüler transfüzyon bağımlı 25 hastada ATG uygulaması ile hastaların % 44'nde bir daha transfüzyon ihtiyacı olmamıştır (22).

Çoğunluğu erken evre MDS olan 17 hastalık başka bir çalışmada 14 hasta siklosporin ile klinik düzelme göstermiştir (23). Böylece immünmodulasyon gelecek vadeden bir tedavi şekli olmuştur. Başka bir immünoterapi yöntemi olarak blast hücreleri üzerinde yeralan proteinlere karşı monoklonal antikorlar kullanılmıştır (24). Örneğin erken myeloid progenitörlerde bulunan ve genellikle lösemik blastlar da bulunan CD33'e karşı antikorların kullanımı % 10 dan daha az blast oranı olan hastalarda aktivite göstermiştir (25).

2.5.3 Hematopoietik Hormonlar ve Sitokinler:

MDS'nin destekleyici tedavisinde hematopoietik hormonlar ve sitokinler önemli bir yer tutmuştur. Hem G-CSF hemde GM-CSF hastaların % 80-90'nında dolaşan nötrofil sayısını artırır ve enfeksiyon riskini azaltır (26,27). Bunun yanında plasebo kontrollü MDS'li hastalarda G-CSF kullanımıyla ilgili yapılan bir çalışma planlanandan önce sonuçlandırılmıştır. Bu çalışmada G-CSF alan RAEB grubu hastalarda plaseboya göre

medyan sağkalım azalmış bulunmuştur (28). Bu farkın G-CSF alan grupta orantısız bir derecede fazla sayıda kötü prognostik özellikleri taşıyan hastalarda bulunması nedeniyle olabileceği düşünülmüştür. Epoetin (Epo) tedavisi verilen hastaların yaklaşık % 25’inde hematokritte artışa ve transfüzyon ihtiyacında azalmaya neden olmuştur. Epo aktivitesi en çok düşük transfüzyon ihtiyacı olan hastalarda ve serum eritropoietin düzeyi bazalin altında olanlarda gözlenmiştir. Yüksek epo düzeyi olup transfüzyona bağımlı olan hastalarda da yanıt alınabilmektedir (29).

IL-6 veya IFN- α ile yapılan çalışmalarda hastaların küçük bir kısmında sitopenide düzelme görülmüş olup birçoğunda ise trombositopenide bir düzelme gözlenmemiştir (30). IL-3 tedavisi hastaların % 60’ında nötrofil sayısını, % 20’sinde trombosit sayısını düzeltmiş fakat ateş, halsizlik, myalji ve eosinofiliye neden olmuştur. Platelet sentezini stimüle eden IL-11 ve trombopoietin- megakaryosit büyüme faktörü- gibi sitokinlerin bulunması trombositopeni tedavisi için yararlı olabilir. IL-11’in sıvı retansiyonu ve diğer yan etkileri MDS’li hastalarda kullanımı sınırlayabilir. Son çalışmalarda Epo ve G-CSF kombinasyonunun hastaların % 38-48’inde eritropoezisi stimüle ettiği, hemen hepsinde ise dolaşımdaki nötrofil sayısını artırdığı gösterilmiştir (31). Hematopoietik hormonların bu kombinasyonu nötrofil ve eritrosit yapımında MDS’li hastalarda oldukça efektif bulunmuştur. Diğer sitokin kombinasyonlarının sinerjistik terapetik etkileri vardır. Hematopoietik sitokinlerle tedavide başlangıçta korkulan overt lösemiye geçişi hızlandıracağı endişesinden her ne kadar uzaklaşmış olsa da tedavi sırasında blast sayısında artış gözlenmiştir (27,30). Bu potansiyel toksik etkilerin dışında sitokinlerin yüksek maliyeti, subkütan verilmesi zorunluluğu, idameye ihtiyaç duyulması, bu ajanların MDS’de kullanımını sınırlamıştır.

2.5.4 Kök Hücre Transplantasyonu

MDS’li hastalarda primer küratif tedavi şekli kök hücre transplantasyonu olup RAEB veya RAEB-t grubunda bazı hastalar yüksek doz kemoterapiden fayda görmektedirler (20). MDS’li hastalarda, öncesinde myelodisplazi tanısı olmayan AML’li hastalara göre kemik iliği transplantasyonundan daha az yanıt alınmıştır (32). 40 yaş altı hastalık yükü düşük olan genç hastalarda uzun dönemde hastalıksız yaşam HLA uyumlu vericiden yapılan allogeneik transplantdan sonra % 75 kadar yüksek bir düzeydedir. IPSS’ye göre sitogenetik anormallikleri olan hastalarda da prognoz kötüdür. Bunun yanında sitoredüktif kemoterapiye rezistan hastalığı olanlarda allogeneik transplanttan sonra sağkalım oranı % 30’dan azdır (33). Buna rağmen allogeneik kök hücre transplantasyonu yeteri kadar genç olanlarda (60 yaş altı), işlemi tolere edebilecek kadar sağlıklı olanlarda ve uygun donorü olanlarda iyi bir seçenektir.

Bazı MDS'li hastalarda kemoterapiden sonra sitogenetik olarak normal poliklonal hematopoiezis gözlenmesi otolog kök hücre transplantasyonu fikrini cesaretlendirmiştir (34).

2.5.5 Tedaviye Genel Yaklaşım

Hastalığın seyrinin ve tedaviye yanıtın yaşa, eşlik eden durumlara ve hematopoietik yetmezliğin derecesine göre değişkenlik göstermesinden dolayı IPSS tarafından ortaya atılan kriterlere göre doğru tanı ve prognostik göstergelerin belirlenmesi tedavi planının oluşturulması için esastır. Küratif potansiyeli yüksek olmasından dolayı HLA-uyumlu donörü bulunan ve tıbbi anlamda uygun olan hastalarda allogeneik kök hücre transplantasyonu düşünülmelidir. Diğer hastalarda ise yaklaşım destek tedavisi ve neoplastik klon üzerinde yoğunlaşmış tedavi olarak yer almaktadır. IPSS kullanımı için hangi hastaların daha iyi bir seyir izleyeceğinin belirlenmesinde yararlanılmalı ve buna göre destek tedavisi yapılmalıdır.

Epo ve G-CSF kullanımının anemi ve nötropeni ortadan kaldırdığı verilerle desteklenmiştir (31,35). Diğer düşük toksisiteye sahip araştırma aşamasında olan ajanlar klinik çalışma zemininde denenebilir. Seçilmiş hastalarda tedavi kemik iliği yetmezliği müdahale gerektirene kadar ertelenebilir. Progresif MDS sendromlarının tedavisi ise AML'de olduğu gibidir. 5q- sendromu gibi MDS sendromları spesifiye tedavi gerektirir.

2.6 Myelodisplastik Sendromlarda Telomer Dinamiği

MDS'li hastaların kemik iliği örneklerinde değişik uzunluklarda telomerler gözlenmiştir. MDS'li 16 hastalık bir çalışmada hastalar kısa ya da uzun telomerlere sahip olanlar olarak gruplara ayrılmış fakat bu telomerler uzunluklarını hastalığın ilerleyen safhalarında da korumuşlardır. Üçüncü bir grup olarak ise hastalığın ilerlemesiyle birlikte telomerlerde kısalma vardır (36). Lösemik transformasyona neden olabilecek genetik mutasyonlara eğilim göstermelerinden dolayı MDS'de kısa telomerler kötü prognostik belirti olarak kabul edilmektedir. Normal kemik iliği ile karşılaştırıldığında MDS'li hastalarda telomeraz aktivitesi iki kat daha yüksek olup lösemiye geçiş ile bu aktivite dörde katlanmaktadır. MDS'de hastalığın seyri telomerlerin kısalmasıyla değişir. Hastalığın ilerlemesi sırasında gözlenen genetik değişikliklerin genetik istikrarsızlığa bağlı olduğu düşünülmektedir. Ancak sitogenetik değişiklikler ve telomerdeki kısalma arasındaki ilişki henüz netlik kazanmamıştır. Bunun hastalığın heterojen bir seyir göstermesiyle ilgili olduğu ortadadır (36).

2.7 Lösemiler ve Telomer

2.7.1 Akut Myeloid Lösemi

Akut myeloid lösemi tek bir hastalık olmayıp immatur hematopoietik hücrelerin kanda ve kemik iliğinde çoğalması ile karakterize neoplastik bozukluklar grubudur. Bu malign hücreler progresif olarak yer değiştirir ve normal eritroid, myeloid, megakaryositik önhücrelerin büyüme ve gelişmesini baskılar. Tedavi edilmediğinde AML genellikle haftalar ve aylar içinde ölümcül seyreder. Çocuklarda ve erişkinde genetik yatkınlık, ilaçlara ve çevresel faktörlere maruziyet, mesleki faktörler lökomogenik ajanlar olarak gösterilmişlerdir. AML'nin en yüksek insidansı Amerika, Batı Avrupa ve Avustralya da, en düşük ise Asya ve Latin Amerika'da saptanmıştır. İyonize radyasyon ve bazı kimyasallara maruziyet akut lösemi gelişimi ile bağıntılı bulunmuştur. Akut lösemi gelişme insidansı malign ve nonmalign nedenlerle kemoterapi alan hastalarda artmış olarak bulunmuştur. Kemoterapiye maruz kalma sonrası AML gelişimi genellikle myelodisplastik sendromu takibeder. Sıklıkla kullanılan alkilleyici ajanların (siklofosamid, meklorethan, klorambusil, busulfan, lomustin) AML insidansını artırdıkları bilinmektedir. Bazı kazanılmış hastalıklarda AML'ye geçiş için risk teşkil eder. Polisitemia vera, primer trombositemi, agnojenik myeloid metaplazi gibi myeloproliferatif hastalıklarda lösemiye geçiş insidansı artmıştır.

AML'de bulgu ve belirtiler genellikle nonspesifik olup normal hematopoietik hücrelerin yapımındaki azalmaya ve diğer organların lösemik hücreler tarafından infiltrate olmasına bağlı gelişir. Hastalar genellikle kısa süren halsizlik ve grip benzeri viral bir hastalık tarifler. Hastaların % 25'inde uzun kemiklerde, sternum ve kaburgalarda yaygın hassasiyet vardır. Diğer semptomların gelişiminden haftalar önce eklemlerde ağrı ve şişlik gelişebilir. Tipik olarak her üç seride etkilenmiştir. Anemi nedeniyle solukluk ve kardiyovasküler semptomlar başlayabilir. Trombositopeni peteşi, ekimoz gibi ciltte kanamalara yolaçar. Hastaların % 50'sinde splenomegali vardır. Lenfadenopati nadirdir. Cilt tutulumu olan leukemia cutis deriden kabarık, morumsu, hassas olmayan plak veya nodüler tarzda olup hastaların %10'unda görülür. Akut nötrofilik dermatoz olarak da bilinen Sweet's sendromu AML ve diğer hematolojik hastalıklarda görülebilen kütanöz paraneoplastik bir sendromdur. Hassas kırmızı plak ve nodüller ile karakterize olup sıklıkla üst ve alt ekstremitelerde hastaların % 10'unda görülebilir. AML tanısından aylar önce ortaya çıkabilir. Blastların lokal kolleksiyonu olan kloromalar izole subkütan kitleler şeklinde ortaya çıkabilir, primer ya da metastatik karsinomlar ile karışır. Kloromalar , granülositik sarkomalar blast

formlarının ekstramedüller solid agregatlarıdır. Ekstramedüller lösemnin varlığı genellikle tedaviye kötü yanıt ve kısa sağkalımla birlikteedir.

AML'de santral sinir sistemi tutulumu sık görülmeyen bir bulgu olup % 5-7 hastada ancak BOS incelemesi ile tespit edilebilen asemptomatik tutulum vardır. SSS lösemisi gelişimi için en çok risk altında bulunan hastalar dolaşımda yüksek blast sayısı olanlar, LDH aktivitesi yüksek ve monositik subtiplerden birine dahil olan hastalardır. AML'li hastalarda metabolik ve elektrolit bozuklukları sıklıkla görülür. En sık görülen lösemiye bağlı biyokimyasal anormallik hiperürisemi olup lösemik klonun dolayısıyla purin katabolizmasının hızlı proliferasyonundan kaynaklanır. Ayrıca hiperkalsemi ve lösemik hücrelerin hızlı lizisi sonrası intraselüler fosfat, potasyum ve üratın ortaya çıkmasına bağlı akut ciddi metabolik problemler ortaya çıkabilir. AML'de olası tanı genellikle hastanın muayenesi ve periferik kan incelemesinden sonra konulur. Çoğu hastada dolaşımda blastlarla birlikte pansitopeni tablosu vardır. Kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi tedaviyle ilgili girişimler başlanmadan önce yapılmalıdır. Hücre yüzey belirleyicileri, moleküler çalışmalar ve enzim çalışmaları eğer lenfoid ya da bifenotipik lösemi şüphesi varsa yararlıdır. FAB grubu morfolojik, immünofenotipik ve sitokimyasal kriterlere dayanarak akut nonlenfositik lösemileri sekiz altgruba ayırmıştır (M0-M7). Bu sınıflandırma yapılırken amaç myeloid lösemileri predominant olan hücre tipine ve lösemik hücrenin ait olduğu spesifik dizedeki olgunlaşma sırasına göre tanımlamaktadır.

AML'de tedavinin amacı komplet remisyonu sağlamak ve remisyunun idamesidir. Komplet remisyon için kriterler kemoterapi sonrası platelet sayısının $>100000/\mu\text{l}$, nötrofil sayısının $>1000-1500/\mu\text{l}$ ve kemik iliğinde $< \%5$ blast olması olarak kabul edilmektedir. AML'de remisyon indüksiyonu için sitosin arabinoside (ara-c) ve bir antrasiklin kombinasyonu genellikle kullanılan kemoterapi rejimidir. Geleneksel olarak bir kere 3+7 rejimi ile tedavi edildiklerinde hastalara indüksiyonda kullanılan ajanlarla idame tedavisi verilir. Bu yaklaşımla medyan remisyon süresi yaklaşık 1-1.5 yıldır. Postremisyon tedavisinin bir parçası olarak konsolidasyon tedavisi uygulanır. Postremisyon tedavisindeki amaç relapsların önlenmesi ve kür sağlamaktır. Standart postremisyon tedavisinin bir kolu da intensifikasyon olup bu sırada kullanılan ajanların dozları indüksiyon sırasında kullanılan dozları hayli geride bırakır. Amaç minimal rezidüel hastalığın ortadan kaldırılmasıdır. (37)

2.7.2 Akut Lösemilerde Telomer Dinamiği

Birçok akut lösemi olgusunda telomer uzunlukları kısalmış olarak bulunmuştur. Bu hücrelerin hızlı proliferasyonuna bağlı olabilir. Teşhis sırasında telomerlerin kısa olduğu, komplet remisyonda ise normal uzunluklarına döndükleri tespit edilmiştir. Akut lösemide lösemik hücreler ve periferik mononükleer hücreler arasında telomeraz aktivitesinde örtüşme görülür. Bazı akut lösemi hastalarında telomerler kısalma ile birlikte bu telomeraz aktivitesinde yeterli artışa neden olacak kadar değildir. Öte yandan bir başka grup hastada ise telomeraz aktivasyonuna bağlı TRF uzunlukları normaldir. Bu nedenle bu grup hastalarda telomeraz aktivitelerinin ve TRF uzunluklarının birlikte değerlendirilmesi esastır. Tanı sırasında akut lösemili hastaların % 70'inde telomeraz aktivitesi artmış olup geri kalanı normal aktivite gösterir. Ancak hastaların çoğunda TRF'ler kısalmıştır. Bu da belki telomerdeki kısalmanın henüz telomerazı aktive edecek kadar olmadığından kaynaklanabilir. Telomeraz aktivitesinin myeloid hücrelerin farklılaşması sırasında azaldığı gösterilmiştir.

Akut myeloid lösemi M0'dan M7'ye dek morfolojik ve sitolojik karakteristiklerine dayanılarak sınıflandırılmaktadır. Hücrelerin farklılaşma kapasiteleri gözönüne alındığında bu hücrelerdeki telomeraz aktivitesinde azalma görülebileceği düşünülmektedir. Telomeraz aktivitesi aynı zamanda hücre siklusu tarafından da düzenlenmektedir. Hücre siklusunun G0 fazına giren hücrelerde, primitif kök hücrelerde ve latent hücrelerde telomeraz aktivitesi azalmıştır. Bazı yeni lösemi hücrelerinin G0 fazına girdikleri bilinmektedir. Bunlarda göstermektedir ki telomeraz aktivitesi hücrenin hücre siklusunun hangi fazında yer aldığına ve hücrenin farklılaşma evrelerinin hangi aşamasında olduğuna bağlıdır. Zhang ve ark 7/7q ve 11q23 transformasyonları olan akut lösemili hastalarda telomeraz aktivitesini daha yüksek bulmuşlardır (38). Bu transformasyonlar kötü prognostik belirti olup artmış telomeraz aktivitesi de kötü prognostik bir belirtidir. Nöroblastomada yüksek telomeraz aktivitesinin kötü prognoza, düşük telomeraz aktivitesinin hastalığın ileri evrelerinde bile iyi prognoza işaret ettiği bildirilmiştir; bu hastalarda aktivitede telomerik azalmayla birlikte spontan regresyonlar görülebilir (36). Bu bilgiler bazı kesin olmayan şu sonuçlara götürmektedir: 1- Bazı tümörlerde telomeraz aktivitesini artıran mekanizmalar eksiktir 2- Düşük telomeraz aktivitesine bağlı bazı tümörlerde spontan remisyonlar görülebilir 3- Bazı hasta gruplarında telomeraz aktivitesi prognostik bir faktör olarak kullanılabilir.

2.7.3 Kronik Myeloid Lösemi

Kronik myeloid lösemi klinik olarak myeloid hiperplazi, bazofili ile birlikte lökositoz ve splenomegali ile karakterize hematopoietik progenitor hücrelerin klonal olarak çoğalması sonucu gelişen bir hematopoietik sistem bozukluğudur. Başlangıç klonal myelopoiezisin kronik fazını takiben akselere faza kaçınılmaz olarak geçiş olur ve fatal blastik krizle sonlanır. Karakteristik Philadelphia kromozomu translokasyonu, t(9;22)(q34;q11) 9. kromozomdan c-abl onkogeninin 22. kromozom üzerindeki bcr (breakpoint cluster region) komşuluğuna gelerek aberan bcr/abl tirozin kinaz gen ürünü olup KML'nin patogenezinde esas rolü oynadığına inanılmaktadır. KML insidansı 1/100000 olup erişkin lösemilerin %15-20'sini oluşturur. İnsidans en çok 5. ve 6. dekatlarda görülmekte olup E / K oranı 1.4:1'dir. KML'nin etyolojisinde radyasyon potansiyel bir etkidir. Ancak genellikle KML ile başvuran hastalarda predispozan bir faktör bulunmaz.

Klasik olarak KML fazik bir hastalık olup hastaların çoğu medyan süresi 3-4 yıl olan kronik stabil fazdadır. Kronik faz daha sonra akselere faza ve son olarakda blastik krize dönüşür. Kronik fazdaki semptomatik hastalar en çok anemi, splenomegali, kanama ve halsizlik, çabuk yorulma, kilo kaybı, subfebril ateş gibi yakınmalarla başvurur. Hastaların %20-40'ında KML asemptomatik lökositoz, trombositoz ya da splenomegali ile rutin incelemeler sırasında tesadüfen ortaya çıkar. Tanı sırasında splenomegali %85-90 hastada mevcuttur. Kronik faz KML'de periferik kanda lökositoz karakteristiktir. Beyaz kürenin diferansiyel sayımında tüm maturasyon evrelerinde granulositler ve bazofili ve/veya eosinofili görülür. Kemik iliği aşırı myeloid hiperplaziye bağlı hiperselülerdir. M/E oranı 10-30/1 artmıştır. Kemik iliğinde blast yüzdesi %10'un altında olup morfolojik olarak myeloid maturasyon normal ya da çok az displazi gösterir. Lökosit alkalen fosfataz KML'de mutlak olarak kronik fazda düşüktür ancak tedavi ya da hastalığın progresyon göstermesiyle pozitifleşebilir. Serum laktik dehidrogenaz ve ürik asit düzeyleri yükselmiş olabilir. Akselere faz ise progresif myeloid maturasyonda duraklama, tedaviye artan direnç, kemik iliği ve periferik kan blastlarında ve bazofillerde artış, klonal sitogenetik değişim, ekstramedüller hastalık, trombositoz ya da trombositopeni, myelofibrosis ve tedaviye rağmen artan splenomegali ile karakterizedir. Blastik kriz KML'li hastaların % 75-85'inde gelişir, akut lösemiye benzer ve çok kötü bir prognoza sahiptir. Sağkalım oranı ortalama olarak 3-6 aydır.

Yeni tanı konulmuş kronik fazdaki KML'ye tek bir ajan olarak hidroksiüre kullanımından hastalık ilerleyince yapılabilecek olan bir allogeneik transplantasyon gibi sayısız tedavi yaklaşımları vardır. İnterferon-alfa kullanımı düşük erken mortalite ve uzamış sağkalımla seyretmekte olup yapılabilecek olan bir allogeneik kök hücre naklini tehlikeye

atabilir. Öte yandan hematopoietik kök hücre nakli uygulamasının erken yapılması küratif olabilir. Bu işlem hospitalizasyon gerektirdiği gibi erken morbidite ve mortalite insidansı yüksektir (39) .

2.7.4 Kronik Lösemilerde Telomer Dinamiği

Kronik lenfositik löseminin (KLL) kronik fazında telomer aktivitesi görülmemekle birlikte blastik faz sırasında aktivitede artış gözlenir. Burada üzerinde önemle durulması gereken nokta hastalığın kronik fazı sırasında telomer aktivitesinin ölçülemeyecek kadar düşük yani normal periferik kan hücrelerinden düşük olmasıdır. Bu da telomeraz aktivitesinin hücre yüküyle ilgili olmayıp aktif olarak bölünen hücre sayısına baktığı gibi bir sonuca götürmektedir. KLL’de hücrelerin proliferasyonu varolmasına rağmen birçok hücre telomeraz aktivitesini yitirmiştir. Çünkü bu hücreler sessiz dönemdedir. Bu da telomeraz aktivitesinin tümör hücrelerinde azalabildiğini göstermektedir. Blastik faz sırasında telomeraz aktivitesi hücrelerin hızlı proliferasyonu ile birlikte artış gösterir. Ancak ortalama telomeraz aktivitesi normal kanda kıyaslanabilir düzeydedir. Bireyin kendinde ve aynı tümör içinde telomeraz zamanla değişiklikler gösterebilir. Counter ve ark yaptığı bir çalışmada uzunluklarda heterojenite gösterse bile yaşa göre düzeltilmiş TRF uzunluğu ölçümlerinin erken KLL’li hastalarda benzerlik gösterdiğini bulmuşlardır (40). Fakat KLL’nin ileri evresinde TRF uzunluklarında homojen kısalmalar görülmektedir. AML’ye kıyasla düşük telomeraz aktivitesi bulunması KLL’de aktif olarak bölünme gösteren hücre sayısının daha az olmasıyla açıklanmaktadır.

Kronik myeloid lösemi (KML) bcr/abl chimerik proteinin oluşumuyla sonuçlanan t(9;22)(q22;q23) kromozomal translokasyonu ile karakterizedir. Bu translokasyon lösemik hücre proliferasyonunu sağlayan uyarının iletimi için önemlidir. KML’nin kronik fazında telomerler kısalmıştır. Kronik faz sırasında telomer uzunluğunun kaybının telomer kaybı hızının telomerazın onarım hızından daha yüksek olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. KML’nin kronik fazındaki hücrelerdeki telomeraz aktivitesi normal periferik mononükleer hücrelerdeki gibidir. KML hücrelerindeki telomeraz aktivitesi granülositik farklılaşma sırasında azalır. Bu yüzden KML’li hastalarda periferik granülositlerdeki telomeraz aktivitesi kök hücredekinden az olabilir. KML hücrelerinin hızlı çoğalma kapasitesi progresif telomer kısalmasına yol açar.

Sonuç olarak neoplastik klondaki telomerler çok kısalırlar ve bu da genetik istikrarsızlığa zemin hazırlayan hastalığın ilerlemesini presipite eder. Bazı hastalarda blastik kriz sırasında yeni sitogenetik anormallikler dökümente edilmiştir. Blastik transformasyonun

bu genetik mutasyonlara ve klonal seleksiyona bağılı olduğu düşünölmektedir. Kronik fazdaki hücrelerle karşılaştırıldığında telomeraz aktivitesi blastik krizde daha yüksektir. Telomeraz aktivitesindeki bu artışın blastik fazdaki klonun bir özelliğine mi ya da kısalmış telomerler nedeniyle gelişen telomeraz aktivasyonuna mı bağılı olduğu kesinlik kazanmamıştır. Artmış telomeraz aktivitesi olan Ph⁺ hücrelerin selektif büyüme avantajlarının genomik istikrarsızlığa sahip hücrelerin seleksiyonunu takiben blastik krizin oluşmasıyla sonuçlandığı düşünölmektedir. Ohyashiki ve ark'nın yaptıkları bir çalışmada blastik kriz sırasında orta ve en yüksek telomeraz aktivitesine sahip olan hastalarda daha fazla sitogenetik mutasyonlar görölmüştür (41). Kronik fazda telomerlerde kısalma blastik krizde telomeraz aktivitesinde artış gözlenir. Eğer kısa telomerler ve artmış telomeraz aktivitesi kronik fazda blastik hücrelere işaret ediyorsa blastik fazdaki çok kısa TRF'ler nasıl açıklanabilir? Philadelphia kromozomu kronik ve blastik fazdaki hücrelerde bulunur ve transformasyon belkide Ph kromozomuna bağılıdır. Ph⁺ hücrelerin hızlı çoğalabilme kapasiteleri olup bu, telomeraz aktivitesini geride bırakmaktadır; böylece telomer kaybı olur. Blastik krize neden olan kök hücreler kronik fazda inaktif kalabilirler. Telomeraz aktivitesi olmaksızın telomer uzunluklarını koruyabilirler. Fakat blastik krize girinceye dek blastik hücrelerin kronik fazda sessiz kaldıklarına dair bir kanıt yoktur. Kronik fazda oluşan yeni genetik anormallikler hücrenin yüksek hızla proliferere olabilme kapasitesini aktive edebilir ve telomer uzunluğunda azalmaya yolaçabilir. Bu durumda telomeraz aktivitesini artırabilir. Bu hipoteze göre kronik ve blastik fazlarda telomer dinamiğı farklı olmaktadır, ancak bu dinamikleri açıklayacak çalışmalar henüz yoktur. Iwama ve ark yaptıkları bir çalışmada TRF uzunluğunun tedaviye yanıtı izlemeye yardımcı olduğu sonucuna varılmıştır (42). Çalışmada tanı sırasında normal TRF uzunluğuna sahip KML hastalarının alfa interferona yanıtlarının ve sağkalım oranlarının daha iyi olduğu ayrıca bu grup hastalarda sitogenetik düzelmenin sıklıkla göröldüğü gösterilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Ekim 1998 ile Haziran 1999 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Polikliniğine başvuran 50 hasta dahil edildi. Hastaların 27'si (% 54) myelodisplastik sendrom, 11'i (% 22) akut myeloid lösemi ve 12'si (% 24) kronik myeloid lösemi idi. FAB (French-American-British) grubu sınıflamasına göre MDS'li hastalardan 19'u refrakter anemi (RA), biri ringed sideroblastlı refrakter anemi (RARS), dördü blast artışlı refrakter anemi (RAEB) ve üçü transformasyonda blast artışlı refrakter anemi (RAEB-t) grubunda idi. AML'li hastalar ise morfolojik ve sitolojik özelliklerine göre beşi M2 ve altısı M4 olarak sınıflandırılmıştı. Kronik myeloid lösemili hastaların tümü kronik fazdaydı. MDS'de tanı hastalarda klinik olarak hematopoieziste bozukluk olduğunu düşündürecek anemi, nötropeni, trombositopeni veya kombine sitopenilerin bulunması gibi morfolojik bulgulara dayanmaktaydı.

Tüm hastalarda tam kan sayımı, periferik kan incelemesi, kemik iliği aspirasyonu ve kemik iliği biyopsisi yapıldı. Kemik iliği incelemelerinde ilik selüleritesi, blast yüzdesi, morfolojik anormallikler, fibrozis mevcudiyeti, halkalı sideroblastların varlığı değerlendirildi. Kemik iliğinde displastik anormallikler yapabilecek diğer nedenler ekarte edildi. MDS'li ve AML'li hastaların tümünde 'de novo' hastalık tespit edildi. Hastalar farklı kemoterapi rejimlerine göre tedavi edildiler. KML'li hastalar hidroksiüre ya da IFN- α , RAEB ve AML'de indüksiyon kemoterapisi, MDS'lerde ise destek tedavisi uygulandı. Tedaviye bağlı MDS ya da lösemi hastaların hiçbirinde mevcut değildi. MDS'li hastaların 23'nün periferik kanlarında sitogenetik anormallikleri tespit amacıyla karyotipik inceleme yapılabilirdi Bu hastalar daha sonra IPSS'ye göre sınıflandırıldı. Akut ve kronik lösemilerde tanı periferik kan ile kemik iliği incelemeleri ve klinik bulgularla konuldu. AML tanısı için kemik iliğinde % 30'dan fazla blast bulunmasına dikkat edildi. Ayrıca AML'de Sudan Black, KML hastalarında ise Lökosit alkalen fosfataz (LAP) değerlendirildi. AML'li hastalarda immünofenotipik inceleme yapıldı. Çalışmaya alınan hastalardan ve kontrollerden alınan periferik kan ve kemik iliği örneklerinde Coulter cihazı ile hücre sayımı yapıldı. Her örnek için ortalama 2×10^6 hücre olacak şekilde Eppendorf tüpe yerleştirilerek 3000xg'de 10 dakika 4 °C'de soğuk santrifüj yapılarak -80 °C'de kullanıma dek saklandı. Telomerase PCR Elisa kiti (Boehringer Mannheim, katalog no:1854666) ile örnekler test edildi.

3.1 TRAP Reaksiyonu:

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' cihazına transfer edildi. Daha sonra aşağıdaki protokole göre primer elongasyon /amplifikasyon reaksiyonu gerçekleştirildi. (Tablo.3)

Tablo 3. Primer elongasyon ve amplifikasyon işlemi

BASAMAK	SÜRE	ISI	SİKLUS SAYISI
1.Primer elongasyon	10-30 dk	25°C	1
2.Telomeraz inaktivasyonu	5 dk	94°C	2
3.Amplifikasyon			3-32
Denaturasyon	30 sn	94°C	
Soğutma	30 sn	50°C	
Polimerizasyon	90 sn	72°C	
	10 dk	72°C	33
4.Sonlandırma		4°C	

3.2 Hibridizasyon ve ELISA İşlemi

Her örnek için uygun reaksiyon tüpüne 20 µl denaturasyon 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 37°C'de ve 300 rpmde karıştırıldı. Daha sonra hibridizasyon tamamen uzaklaştırıldı. 250 µl yıkama tamponu ile toplam 3 kez ve minimum her seansta 30 saniye yıkandı. İşlemden sonra yıkama tamponunda uzaklaştırıldı. Her örneğe 100 µl Anti-DIG-POD solüsyonu eklendi. Sonra MTP modülü yine alüminyum kağıda sarıldı. Oda ısısında (18-22 °C) 300 rpmde 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 (tetramethylbenzidine) 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). Telomeraz PCR ELISA kitinde iki 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 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, telomeraz pozitif tanımını kullanmak için çalışılan hasta örneklerinde absorbans değerinin (A) $0.2 A_{450nm} - A_{690nm}$ 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 Kromozom Çalışma Yöntemi

Kolay elde edilebilen bol ve kaliteli mitotik hücreye sahip doku olduğundan çalışmamızda periferik venöz kan kullanıldı. Periferik kandan karyotip çalışmasında değer taşıyan hücre lenfositlerdir. Sağlıklı bir erişkinde lökositlerin tam diferansiye formları hiçbir zaman aktif üreme göstermezken sadece lenfositler uygun koşullar sağlandığında bölünebilirler ve bu yüzden genetik açıdan önem taşırlar. Periferik kan kullanarak yaptığımız kromozom analizinde ilk kez 1960 yılında Nowell tarafından uygulanan ve Moorhead ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntem uygulanmıştır. Deneklerden 1 cc heparinize venöz kan alınarak hava akımının olmadığı bir ortamda 2.5 cc besi yerine 3 damla olacak şekilde bek arkasında ekim yapıldı. Deneylerde RPMI 1640 (Sigma R 5632) ile hazırlanan besi yeri kullanıldı. 37 °C' de 71 saat inkübe edilen kültürlerle 10 µg/ml olacak şekilde colcemid (Seromed L 6211) ilave edildi. 1 saat 37 °C'de inkübe edilen kültür, 10 dakika (800-1000 rpm/dk) santrifüj edildi. Çökeltinin üzerinde 0.5 cc solüsyon kalacak şekilde üstteki süpernatant uzaklaştırıldı. Karışım süspanse edilerek üzerine hipotonik solüsyon olarak 0.075M KCL (Merck K

18855556) ile hazırlanan soğuk fiksatif ilave edildi. +4°C’de 10 dakika bekletilen kültür tüplerinin santrifüjü sonrası süpernatant atıldı ve hazırlanan fiksatiften 6 cc eklenerek (fiksasyon işlemi) tekrarlandı. En az 2 saat, ortalama 1 gece +4°C’de bekletilerek santrifüj sonrası fiksasyon işlemi tekrarlandı. 30 dakika daha fiksatifte bekletme sonucu santrifüj sonrası süpernatant atılarak soğuk ve ıslak lamlara yayma yapıldı. İki gün 37 °C’de bekletilen preparatlar boyanarak değerlendirildi.

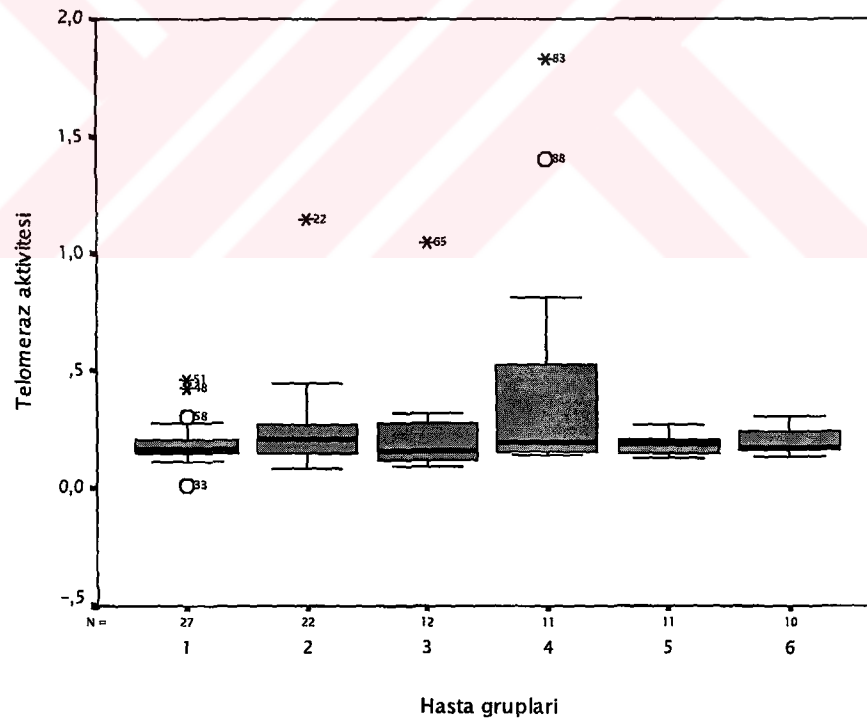
3.4 İstatiksel Yöntemler

Hematolojik veriler ortalama $\pm$ SD olarak verilmiştir. Gruplar arası kıyaslama için Mann-Whitney U testi ve Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi testi uygulandı. Faktörler arasındaki bağıntı analizi için Pearson ve Spearman bağıntı analizinden yararlanıldı. P’nin 0.05 altındaki değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sağkalım analizleri için Kaplan-Meier metodu kullanıldı. İstatistiksel testler SPSS 10.0 paket programı üzerinde gerçekleştirildi



4. BULGULAR

Çalışmamızda toplam 50 hastada telomeraz tayini yapıldı. Hastaların 27'si (% 54) MDS, 23'ü (% 46) ise lösemi olgularından oluşmaktaydı. Ayrıca 11 adet sağlıklı kişiden alınan kan örnekleri kontrol grubu olarak değerlendirildi. MDS'li 22 hastadan aynı zamanda kemik iliği örnekleri alındı. Hematolojik hastalık dışı başka bir nedenle araştırılırken kemik iliği aspirasyonları normal olarak değerlendirilen toplam 10 olgudan ise kontrol grubu olarak kemik iliği örneği alındı. Lösemili hastaların 11'i akut myeloid lösemi (AML), 12'si ise kronik myeloid lösemi vakasıydı (Şekil 1). MDS'li hastaların 18'i (% 67) erkek, dokuzu kadın (% 33) idi. MDS'li hastaların yaşları 33-82 arasındaydı. AML'li hastaların altısı (% 55) erkek beşi (% 45) kadındı. KML'li hasta grubunda yedi erkek (% 58), beş (% 42) kadın bulunmaktaydı. Kontrol kan alınan 11 sağlıklı olgunun dördü (% 36) erkek yedisi (% 64) kadındı (Tablo 4). Kontrol kemik iliği alınan grupta olguların tamamı kadındı. Hastaların yaş ortalamaları MDS grubunda 57.93 ± 13.13 , AML hastalarında 46.36 ± 14.49 , KML grubunda 50.83 ± 8.58 kontrol kan örneği alınan grupta 34.91 ± 3.24 ve kontrol kemik iliği alınan grupta 55.7 ± 14.95 olarak bulundu.



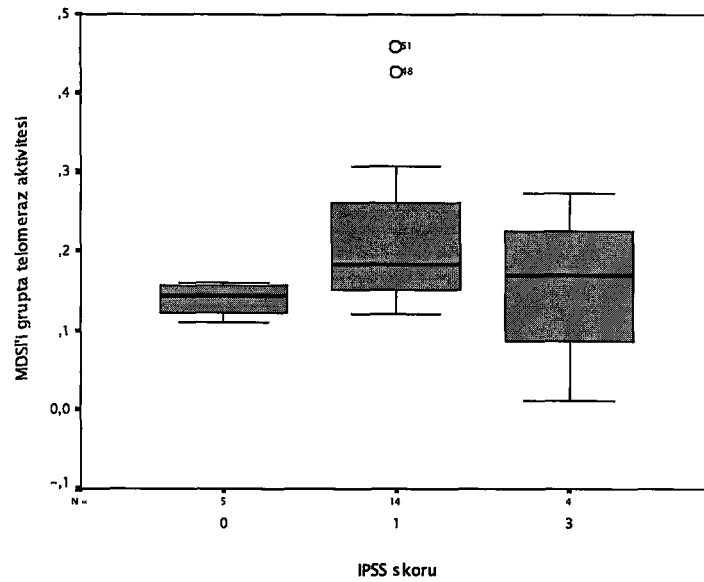
Şekil 1: Hasta gruplarının dağılımı

(1:Mds kan,2: Mds ki, 3:Kml,4:Aml,5:K kan,6:K ki)

MDS'li hastalar IPSS skorlarına göre dört gruba ayrıldı: düşük risk, orta risk-1, orta risk-2 ve yüksek riskli grup. MDS'li hastaların IPSS skorlarına göre telomeraz aktiviteleri şekil 2'de görülmektedir. Hastalarımızdan dördünün yüksek risk, 14'ünün orta risk-1 ve

beşinin düşük risk grubunda oldukları tespit edildi. Daha sonra lösemiye dönüşüm gözlenen MDS'li hastalara ait veriler karşılaştırmalı olarak Tablo 5'de verilmiştir. MDS'li hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri Tablo 6 ve 7'de görülmektedir.

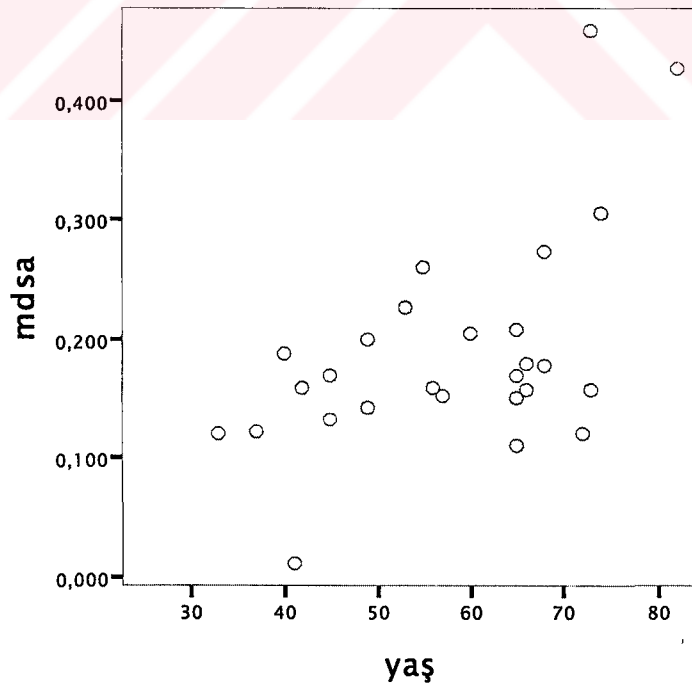
MDS, AML, KML ve kontrol grubunda bakılan telomeraz aktiviteleri yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0.533$). MDS'li hastaların kan örneklerinde bakılan telomeraz aktivitesi 0.190 ± 9.24 pg/ml aynı gruptaki hastaların kemik iliklerinde bakılan telomeraz aktivitesi 0.2611 ± 0.21 pg/ml olarak saptandı. MDS'li hastaların kanları ile kemik iliklerindeki telomeraz aktivitesi açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.181$). Telomeraz aktivitesi AML hasta grubunda 0.495 ± 0.59 pg/ml , KML grubunda 0.2530 ± 0.26 pg/ml sağlıklı kontrol grubu kanlarında 0.1814 ± 0.473 pg/ml ve kemik iliği kontrollerinde 0.2029 ± 0.86 pg/ml olarak bulundu. MDS'li hastalardaki telomeraz aktivitesi ile AML'li hastalardaki telomeraz aktivitesi yönünden iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0.176$). MDS'li hastalar ile KML grubundaki hastalar arasında telomeraz aktiviteleri yönünden anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0.867$). MDS grubu ile sağlıklı kontrol kanlarında bakılan telomeraz aktiviteleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0.910$). AML hasta grubu ile KML grubu arasında telomeraz aktivitesi yönünden bir farklılık bulunmadı ($p=0.218$). Yapılan istatistiksel analizde AML ve KML grubunun sağlıklı kontrol grubunun kan örneklerinde bakılan telomeraz aktivitesi ile karşılaştırılmasında her iki grupta da istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0.293$, $p=0.805$). MDS'li hastaların kemik iliği örnekleri ile normal kemik iliği grubunun telomeraz aktiviteleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0.760$).



Şekil 2: IPSS skorlarına göre telomeraz aktivitesi

Cinsiyete göre istatistiksel analiz yapıldığında MDS, AML, KML ve kontrol grubu kanlarında telomeraz aktivitesi yönünden kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmazken ($p=0.097$), erkekler arasındaki fark anlamlı olarak bulundu ($p=0.023$). MDS'li erkeklerde telomeraz aktivitesi AML, KML ve kontrol grubu erkeklerdekinden farklı bulunmadı . AML grubundaki erkek hastalarda telomeraz aktivitesi kontrol grubundakilerden farklı bulunmazken , KML grubundakilerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösteriyordu. AML grubunda erkek hastalarda çalışılan telomeraz aktivitesi (0.7568 ± 0.72 pg/ml) KML grubu erkeklere (0.1341 ± 4.68 pg/ml) oranla artmış olarak bulundu ($p=0.008$, $p<0.05$). KML grubu erkek hastaların telomeraz aktiviteleri kontrol grubundakilerden farklı bulunmadı ($p=0.058$). MDS'li erkek hasta grubunda kemik iliğinde bakılan telomeraz aktiviteleri aynı grup hastaların kanlarında bakılan telomeraz aktivitesinden farklılık göstermiyordu .

MDS'li hastalarda telomeraz aktivitesi ile toplam hastalık süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korrelasyon gözlenmedi . MDS'lerde telomeraz aktivitesi ile hemoglobin düzeyi, beyaz küre sayısı, platelet sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Fakat yaş ilerledikçe telomeraz aktivitesi artıyordu ($p=0.003$) (Şekil.3)



Şekil 3: MDS'li hastalarda yaş-telomeraz aktivitesi ilişkisi

Telomeraz aktivitesi ile FAB düzeyi ve IPSS skoru arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. MDS'lerde toplam hastalık süresi ile IPSS skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korrelasyon saptandı ($p=0.019$, $p<0.05$). Buna göre IPSS skoru düştükçe toplam hastalık süresi uzuyordu. MDS'li hastalarda FAB gruplarına göre IPSS skoru arasında pozitif yönde anlamlı bir korrelasyon tespit edildi ($p=0.003$, $p<0.01$). Buna göre FAB grubu evresi yükseldikçe MDS'li hastalarda IPSS skoruna göre prognoz da kötüleşmekteydi. MDS'li hastalarda FAB sınıflandırması ile hemogloblin konsantrasyonu arasında negatif bir korrelasyon ($p=0.003$, $p<0.01$) bulunurken beyaz küre sayısı ile FAB arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. IPSS skoru ile beyaz küre sayısı arasında negatif korrelasyon ($p=0.001$, $p<0.01$) ve IPSS skoru ile platelet sayısı arasında negatif bir korrelasyon bulundu ($p=0.047$, $p<0.05$). IPSS ile hemogloblin düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. MDS'li kemik iliği fibrozisi bulunan hastalarda fibrozisin varlığı ile toplam hastalık süresi, IPSS skoru, organomegali, splenomegali, ve FAB grubu arasında anlamlı bir ilişki tespit edilemedi. MDS'lerde telomeraz aktivitesi ile cinsiyet, karyotip, kemik iliği fibrozisi, organomegali ve splenomegali arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. MDS'li olgularda toplam hastalık süresi ile yaş ve IPSS skoru arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Tüm hasta grubunda cinsiyet ile telomeraz aktivitesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Cinsiyet ile IPSS skoru arasında bir ilişki bulunmadı. MDS'li hastalarda toplam hastalık süresi ile cinsiyet arasında, FAB grupları ile cinsiyet arasında bir korrelasyon bulunamadı. MDS'li hastalarda IPSS skorlarına göre sağkalım analizleri karşılaştırıldı. Buna göre MDS'li hastalarda medyan sağkalım süresi 48 ay olarak bulundu (Şekil 4).

AML'de FAB sınıflandırmasına göre yapılan evrelendirme gözönüne alındığında telomeraz aktivitesinin farklı evrelerdeki hasta grupları arasında değişiklik göstermediği görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. AML grubunda telomeraz aktivitesi ile yaş, beyaz küre sayısı, hemogloblin düzeyi ve platelet sayısı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. AML'li hastalara ait klinik ve laboratuvar veriler tablo 8'de görülmektedir.

Tablo 5. Lösemik dönüşüm gelişen MDS'li hastalara ait veriler

Hasta	Cinsiyet	Yaş	FAB	Telomeraz aktivitesi	
				Kan	Kemik iliği
1	M	41	RAEB-t	0.011	0.147
2	F	68	RAEB	0.273	0.233
3	F	73	RAEB	0.158	-
4	M	60	RAEB	0.205	0.177
5	M	56	RAEB-t	0.160	0.129
6	M	68	RAEB-t	0.178	0.135
7	F	74	RAEB	0.306	1.143
Kontrol*	-	-		0.181±0.47	0.203±0.86
AML*	-	-		0.495±0.59	
KML*	-	-		0.253±0.26	

*ortalama değerler±SD (pg/ml)

Tablo 6. MDS'li hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri I

Hasta	Yaş	Cins	BK	Hb	Plt	Organom egali	İzlem süresi	Son * durumu
1	41	M	2600	6.4	64000	-	4	0
2	73	F	3400	5.4	38000	SM	8	0
3	55	M	3600	7.7	12000	HM	48	0
4	66	M	4600	8.0	303000	HSM	18	0
5	45	F	3800	10.5	23000	-	60	0
6	37	F	9800	6.0	154000	HSM	84	0
7	65	M	5100	5.9	285000	-	134	0
8	42	M	6200	6.2	185000	-	38	0
9	72	M	2400	5.6	27000	SM	15	1
10	65	F	2800	5.4	109000	-	2	1
11	49	M	4800	8.9	173000	-	72	0
12	65	M	3900	6.0	13000	-	16	1
13	57	M	1000	7.0	2000	HSM	42	1
14	49	M	6600	10.2	165000	-	16	0
15	45	M	2700	6.8	29000	-	48	0
16	82	M	3700	7.5	343000	HSM	3	0
17	68	F	4600	6.8	56000	SM	1	1
18	65	M	2800	8.8	248000	SM	84	0
19	73	F	900	8.7	146000	SM	2	1
20	60	M	3200	3.1	11000	-	48	1
21	66	F	2240	6.8	19600	HSM	96	0
22	56	M	1100	6.3	25000	-	6	0
23	40	M	2200	8.5	81000	SM	24	1
24	33	M	1900	6.8	5000	HM	14	1
25	68	M	1400	4.2	28000	SM	8	1
26	74	F	4300	5.8	6400	-	4	1
27	53	F	6700	7.5	202000	-	3	1

*:0: yaşıyor, 1:exitus

Tablo 7. MDS'li hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri II

Hasta	Telomeraz aktivitesi	Karyotip	IPSS	FAB	Kİ Blast yüzdesi
1	0.11	46 XY	2.5	RAEB-t	21
2	0.158	-	2	RAEB	15
3	0.260	46 XY	0.5	RA	<5
4	0.157	46 XY	0	RA	<5
5	0.133	46 XX	0.5	RA	<5
6	0.123	46 XX	0	RA	<5
7	0.110	46 XY	0	RARS	<5
8	0.160	46 XY	0	RA	<5
9	0.120	-	-	RA	<5
10	0.208	-	-	RA	<5
11	0.199	46 XY del(11)(q2,3)	1	RA	<5
12	0.169	46 XY	1	RA	<5
13	0.152	46 XY	1	RA	<5
14	0.143	46 XY	0	RA	<5
15	0.169	46 XY	1	RA	<5
16	0.427	46 XY	1	RA	<5
17	0.273	46 XX aneuploidi	3	RAEB	15
18	0.150	-	1	RA	<5
19	0.459	-	1	RA	<5
20	0.205	46 XY	1	RAEB	10
21	0.180	46 XX	1	RA	<5
22	0.160	46 XY; 7q-	3	RAEB-t	21
23	0.187	-	1	RA	<5
24	0.121	46 XY	1	RA	<5
25	0.178	-	3	RAEB-t	21
26	0.306	46 XX	1	RAEB	10
27	0.227	-	-	RA	<5

Tablo 8. AML’li hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri

Hasta	Yaş	Cins	BK	Hb	Plt	Organom egali	FAB	Telomeraz aktivitesi
1	65	M	24000	8.4	20000	HSM	M4	1.832
2	34	F	14500	11.0	3000	-	M2	0.233
3	56	M	170000	6.4	84000	SM	M2	0.205
4	32	F	100000	9.7	35000	-	M4	0.162
5	46	M	16000	10.0	14500	-	M2	0.144
6	53	M	43900	5.9	30000	HM	M2	2.40
7	26	F	7500	11.8	7000	-	M4	0.194
8	60	F	120000	8.0	11000	HSM	M4	0.153
9	65	M	72800	5.2	52000	-	M4	0.147
10	29	M	16000	4.6	23000	-	M4	0.813
11	44	F	13700	11.3	3000	-	M2	0.169

Tablo 9. KML’li hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri

Hasta	Yaş	Cins	BK	Hb	Plt	Organom egali	Evre	Telomeraz aktivitesi
1	49	E	8400	15.0	20000	-	Kronik faz	0.117
2	52	E	7800	14.0	158000	-	Kronik faz	0.234
3	42	E	4500	8.1	242000	-	Kronik faz	0.134
4	55	E	8900	13.0	320000	-	Kronik faz	0.134
5	40	E	7200	14.0	156000	-	Kronik faz	0.107
6	46	K	8400	9.5	154000	HSM	Kronik faz	1.048
7	65	K	6500	12.2	238000	-	Kronik faz	0.178
8	48	E	7600	16.0	290000	-	Kronik faz	0.089
9	55	K	7700	11.0	244000	-	Kronik faz	0.300
10	49	K	6800	10.0	198000	HSM	Kronik faz	0.316
11	67	E	6200	13.2	201000	-	Kronik faz	0.124
12	42	K	8400	12.0	230000	SM	Kronik faz	0.255

5. TARTIŞMA

Myelodisplastik sendromlar klinisyen ve araştırmacılar için tanısal açıdan hala incelemeye açık bir alan oluşturmaktadır. Teşhis esas olarak standart morfolojik kriterlere dayansa bile bu hastaları kategorize etmede ve teşhis sırasında biyolojik ve moleküler değişkenler önemli rol oynamaktadır (43).

Yaşlanma sürecinde zihinlerde ortaya çıkan soru nasıl olupta bir hücrenin kendi yaşının farkına varabildiği ile ilgilidir. Bu soruya yanıtın en azından bir kısmı her kromozomun ucunda yeralan telomerlerin uzunluklarında yatmaktadır. Telomerler hücre replikasyonunun her dönüsünde azalmakta olan tekrarlayan sekanslardır. Böylece telomerler her hücre bölünmesi için mitotik bir saat gibi çalışmakta ve benzetmek gerekirse replikasyonun süregelen durumuyla ilgili kayıt sağlamaktadır. Telomerik saat teorisinin en önemli tezi her hücrenin kendisine tahsis edilmiş telomerik sekans ile doğduğu gerçeğine dayanmaktadır. (44). Hücre için ayrılmış sekanslar tükendiğinde ve telomerler kritik düzeye eriştiğinde (Hayflick sınırı) hücre siklustan çıkar. Bu gelişme ya da doku yenilenmesi sırasında farklılık göstermekte olan tüm hücreler için geçerlidir. Aslında bu aşırı çoğalmayı önleyen bir güvenlik mekanizması olup aynı zamanda maturasyona teşvik eder. Fakat kendini sürekli yenilemesi ve yüksek çoğalma potansiyelini muhafaza etmesi gereken germ hücreleri ya da diğer kök hücreler için uygun değildir. Bu hücreler telomeraz enzimi ile desteklenmiş olup telomerik tekrarlayan birimlere yeni uzantılar eklemekte ve replikasyon sırasında ortaya çıkan kayıpları telafi edebilmektedir. Net telomerik kayıp replikasyon hızı ve telomeraz aktivitesi arasında kurulmuş olan dengenin sonucudur.

Son yıllarda kemik iliği transplant alıcılarında invivo telomerik kayıpları inceleyen iki araştırma sonucunda transplant alıcılarında hemopoiezisin rekonstitüsyonu sırasında telomer uzunluklarında 0-1000 bp arasında ekstra azalmalar görülmüştür (45,46). Her iki çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde bazı varsayımlar öne sürülmüştür. Buna göre ileri yaşlarda klonal hematopoietik bozuklukların artmış sıklıkla görülmesi kök hücre yaşlanması sonucudur. Ayrıca rekonstitüsyon sırasında telomer uzunluğunda azalma olması gerçekte 15 yıla eşdeğer bir yaşlanma süreci etkisine sahiptir.

Periferik kan hücrelerinde progresif kısalma olması bazı güçlü sinyaller taşımaktadır. Hematopoietik yenilenme sürecinde telomer kaybı hızı yaşla birlikte ivme kazanmakta ve hematopoietik kök hücrelerinin kendisi telomerik sekans kaybına uğramaktadır. Bu durumda kök hücre kompartmanında telomer uzunluğunu muhafaza etmeye çalışan sistemler

(telomeraz dahil) hücrenin yenilenmesi sırasında oluşan replikatif kayıpları karşılayamamaktadır (44). Normal somatik hücrelerde bulunmazken primer kanser hücrelerinde tespit edilmesi dikkate alındığında telomeraz aktivitesi malign hastalık teşhisinde önemli role sahiptir. Ancak hematolojik hastalıklarda durum farklıdır. Normal periferik kan hücrelerinde de telomeraz aktivitesinin bulunması ve antijenik uyarılar sonucu aktivitede artış gözlenebilmesi bu tip örneklerin değerlendirilmesinde yaşa göre düzeltilmiş standart ölçümlerin yapılmasını zorunlu kılmaktadır (36).

Myelodisplastik sendromlu hastalarda hızlı hücre bölünmesinin bulunması telomerde kısalmanın akselerasyonuna ve artmış telomeraz aktivitesine yolaçabilir. Telomeraz aktivitesi bu hastalarda heterojen bir patern göstermektedir. Her ne kadar telomerazın reaktivasyonu MDS'nin seyri sırasında geç bir olay olarak gerçekleşmekte olsa da bu refrakter anemide (RA) bile görülebilmektedir. Bizde çalışmamızda MDS'li hastalarda telomeraz aktivitesinin klinik ve prognostik önemini araştırmayı amaçladık.

Telomeraz aktivitesinin farklılaşma ile ilgili olduğu daha önceki çalışmalarda açık bir şekilde gösterilmiştir. Örneğin retinoid tedavisi almakta olan promyelositik lösemili bir hastada izlem sırasında telomeraz aktivitesi önem kazanır. Telomeraz aktivitesindeki azalma farklılaşmanın bir işareti olarak yorumlanabilir (36). Zhang ve ark'nın yaptıkları bir çalışmada lösemik hücrelerin farklılaşmasına katkıda bulunan kemoterapetik ajanların telomeraz aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (38). Bu yüzden akut lösemili hastalarda tedavi öncesi ve sonrası telomeraz aktivitesi tayini yapılarak tedaviye yanıt hastalığın ilerlemesi ve erken relapslar tespit edilebilir (47).

MDS'nin adım adım genetik progresyon ile karakterize klonal bir hematopoietik kök hücre bozukluğu olduğu iyi bilinmektedir (48). Eritroid, granulositik ve megakaryositik serilerde displazi MDS'de tanı koydurucudur. Kemik iliğindeki artmış proliferasyona rağmen programlı hücre ölüm hızında bir artış vardır (48). Hatta bazı displastik görünümüler apoptotik değişikliklerle açıklanmaktadır. Kinetik olarak apoptoz proliferasyondaki artış üzerinde etkisini göstererek periferik sitopenilere neden olur. MDS hızlı hücre bölünmesinden dolayı ineffektif hematopoiezisle karakterizedir.

Çoğu kanser hücresi -% 90'ı- telomeraz reaktivasyonu yapar (49). Böylece malign klonun büyümesi saati ters yönde çevirerek devam etmektedir. Solid tümörlerde durum böyleyken aynı olay hematolojik kökenli malignansiler için söz konusu değildir. Çalışmamızda MDS'li hastalarda periferik kan mononükleer hücrelerde (PBMC) bakılan telomeraz aktivitesi AML, KML ve sağlıklı kontrol grubunda ölçülen telomeraz aktivitesinden farklı değildi. Myelodisplastik sendromlar genelde bir ileri yaş hastalığıdır.

MDS'li grupta hem periferik kan hemde kemik iliği hücrelerinde telomeraz aktivitesi sağlıklı kontrol grubundan farklı bulunmadı. Yine bir klonal hematopoietik bozukluk olan AML ve KML hastalarında da telomeraz aktivitesi gerek MDS'li hasta grubundan gerekse sağlıklı kontrol grubundan farklı bulunmamıştır. Tüm bu sonuçlar klonal hematopoietik hastalıklar için öne sürülen telomerazın hücrenin kendini yenilemesi sırasında oluşan replikatif kayıpları karşılamaya ayak uyduramadığı hipotezini desteklemektedir (44).

Kanserli hastalarda yapılan çalışmalar kanserli hücrelerde telomerazın yaygın bir şekilde ekspresyonu olduğunu bu sayede telomer dengesinin kanserin ilerlemesi için kritik öneme sahip olduğuna işaret etmektedir. Telomeraz geni insanda izole edilemediğinden Kim ve ark hassas ve güvenilir bir yöntem olan PCR tekniğini kullanarak telomeraz enzimatik aktivitesini ölçmüşlerdir. Bu çalışmada telomeraz ekspresyonunun kansere kadar giden ortak yolda bulunduğu dair çarpıcı bir korrelasyon ortaya konmuştur (2). Bu ve bunun gibi çalışmalara dayanarak telomeraz aktivitesinin potansiyel tanısal ve terapetik seçenekler yarattığı düşünülebilir. Telomerazın kendisinin olağandışı özelliklerinin olması ayrıca somatik dokularda bulunmaması nedeniyle kanser kemoterapisi için mükemmel bir hedef olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında germ hücreleri, hematopoietik ve gastrointestinal kök hücreleride sonsuz rejeneratif potansiyellerini muhafaza edebilmek için telomeraza gereksinimleri vardır.

Telomeraz aktivitesi normal somatik hücrelerde yokken primer kanser hücrelerinde bulunmasından dolayı teşhiste önemli bir role sahiptir. Bunun yanında insitu akciğer ve meme kanseri gibi premalign durumlarda tespit edilebilmesi klinik önemini artırmıştır. Fakat hematolojik hastalıklarda durum biraz farklıdır. MDS prelösemik bir bozukluk olup % 30 kadar vaka lösemiye progresyon gösterir. Bu nedenle telomeraz aktivitesinin tayini lösemiye transformasyon ve prognozla ilgili değerli ipuçları verebilir. Normal periferik kan hücrelerinde telomeraz aktivitesi bulunması ve antijenik uyarılar sonucu aktivitede artış görülebilmesi bu gibi örnekleri değerlendirirken yaşa göre düzeltilmiş standart ölçümlerin yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Bizim çalışmamızda hasta gruplarının telomeraz aktiviteleri kontrol grubundan farklı bulunmadı. Çalışma öncesindeki beklentimiz prelösemik bir hematolojik bozukluk olan MDS grubundaki hastaların telomeraz aktivitelerinin hastalığın prelösemik tabiatı nedeniyle prognozla ilgili bilgi verip vermeyeceği ile ilgili idi. MDS'li tüm hastalar ele alındığında ve akut-kronik lösemi grubunun telomeraz aktiviteleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Ohyshiki ve ark'nın yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar göze çarpmaktadır (50). Bu çalışmaya alınan MDS'li periferik kan ve kemik iliği hücrelerinde bakılan TRF

(telomer uzunluğu) ve telomerase aktivitesi aynı yaş grubundaki sağlıklı gönüllülerden farklı bulunmamıştır. Ancak TRF'lerde ilerleyen yaşla birlikte kısalma görülmüştür. MDS'li hastalarda TRF uzunluğu ile yaş arasında belli bir ilişki saptanmamıştır (51). Bizim çalışmamızda MDS'li hastalarda yaş ilerledikçe telomerase aktivitesi artıyordu ($p < 0.003$). Bu korelasyon şu ana kadar yapılan çalışmalarda gösterildiği gibi normal insanlarda hematopoietik hücrelerde olması beklenen bulgularla uyumludur. Bizim MDS'li hastalarımızın çoğunluğunun nispeten MDS'nin erken evresi olan refrakter anemi aşamasında bulunması telomerase aktivasyonunun normal paterninin korunmuş olduğunu düşündürmektedir. Sağlıklı kontrol grubunda aynı ilişkiyi gösteremedik. Sağlıklı kontrol grubu sayısının yeterli bir analiz yapmak için sınırlı olduğu düşünülebilir. Bunun yanında sağlıklı kontrol grubumuzun yaş ortalaması homojen dar bir aralıkta yer almakta olup çoğunluğu genç popülasyon oluşturmaktaydı.

Normalde TRF uzunluğunda yaşlanmayla birlikte kısalma olur. Ancak telomerase aktivitesi genç erişkinlerde ileri yaştakilere oranla daha yüksek bulunmuştur. Buna neden olarak dolaşımda daha fazla telomerase aktivitesine sahip yüksek sayıda hematopoietik kök hücre ve lenfosit bulunması, ayrıca dolaşıma yeni girmiş mitojenlere maruz kalan immatur lenfositlerin varlığı gösterilmektedir (36). Kısaca TRF'deki yaşla olan kısaltmalar her bölünmede oluşan telomer kaybı ve/veya azalmış ya da tamamen yokolmuş telomerase aktivitesinin bir sonucudur. Sonuçta bizim hastalarımızda da benzer çalışmalarla uyumlu veriler elde edilmiştir. MDS'li hastalarda bu konuda yapılan çalışmalarda farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Solid tümörlerin displastik lezyonlarında gösterildiği gibi yüksek telomerase aktivitesi hematolojik malignansiler için premalign bir durum sayılan MDS'de gösterilememiştir. Ohyashiki ve ark yaptıkları çalışmada insitu telomerase aktivitesi tekniği kullanarak MDS'li hastaların kemik iliği incelemesinde telomerase-pozitif hücreler bulamamıştır (51). Bu yüzden çoğu MDS hücresinde hızlı hücre bölünmesi sonucu ivme kazanan telomer erozyonunun telafi edilemediği, bu hastalarda telomerase aktivitesinin telomerase-telomer uzunluğunun korunması için yeterli olmadığı düşünülmektedir. Bazı araştırmacılar MDS'li hastaların kemik iliği hematopoietik hücrelerinde normal kemik iliği hücreleriyle karşılaştırıldığında apoptozun arttığını göstermişlerdir (52,53). Tüm bu sonuçlara dayanılarak MDS patogenezinde telomerase aktivitesinden çok telomer uzunluğunun önemli rol oynadığı görülmektedir (51).

Akut lösemili hastaların çoğunluğunda telomer uzunluğu kısa olarak bulunmuştur. Bu olay hücrelerin hızlı proliferasyonuna bağlı olabilir. Telomerlerin tanı sırasında kısa olduğu fakat komplet remisyonla birlikte normal uzunluklarına döndükleri gösterilmiştir.

Akut lösemilerde lösemik hücreler ve periferik mononükleer hücrelerin telomeraz aktiviteleri arasında örtüşme yaşanır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi bazı akut lösemi hastalarında telomerler kısalmış olmakla birlikte bu kısalma telomeraz aktivitesini yeteri kadar artıracak düzeyde olmayabilir. Bazı akut lösemilerde ise TRF uzunlukları telomeraz aktivasyonuna bağlı normal bulunabilir. Bu nedenlerden dolayı bu grup hastalarda telomeraz aktivitesinin ve TRF uzunluklarının eş zamanlı değerlendirilmesi kritik öneme sahiptir. Bizim çalışmamızda akut lösemilerde telomeraz aktivitesi değerlendirilmiş olup TRF uzunlukları çalışılmamıştır. AML grubunda erkek hastalarda çalışılan telomeraz aktivitesi KML grubu erkeklere oranla artmış olarak bulundu. Akut ve kronik lösemiler arasındaki bu varyans proliferasyon hızındaki ve diferansiyasyon derecesindeki farklılığa bağlı olabilir. Ancak hasta sayımız bu konuda yeterli veri elde edebilmek için sınırlı olmuştur. Aynı durum kronik myeloid lösemili hastalarımız içinde geçerlidir. Kronik lösemili hastalarımızın tamamının kronik fazda olması nedeniyle telomeraz aktivitesinin sağlıklı gönüllülerden farklı bulunmaması bizim için şaşırtıcı olmamıştır. Çünkü bu konuda yapılan diğer çalışmalarda KML'nin kronik fazındaki hücrelerde çalışılan telomeraz aktivitesi normal periferik mononükleer hücrelerdekinden farklı bulunmamıştır (36).

KML t(9;22) (q22;q23) kromozomal translokasyonu sonucu bcr/abl kimerik proteini oluşumuyla karakterizedir. Bu translokasyon lösemik hücrelerin proliferasyonuna yol açan önemli bir uyarandır. KML'nin kronik fazında telomerler kısalır. KML hücrelerinde telomeraz aktivitesi granulositik diferansiyasyon sırasında azalır. Bu yüzden KML'li hastalarda periferik granulositlerdeki TA kök hücrelerdekinden az olabilir. KML hücrelerinin hızlı bölünme kapasiteleri telomerdeki kısalmanın progresyonuyla sonuçlanır. Giderek neoplastik klondaki telomerler çok kısa olur ve bu da genetik instabilite yaratarak hastalığın progresyonunu presipite edebilir. Bazı hastalarda blastik kriz sırasında yeni sitogenetik anormallikler dökümente edilmiştir.

Yaşlanma sürecinde ilerleyen yaş ile birlikte telomerde kısalma ve telomeraz aktivitesinde buna paralel bir artış olduğu ortaya konmuştur (44). Yaşamın ilerleyen dönemlerinde normalde yaşa bağlı klonalitenin varlığının kanıtlanması hematopoietik sistemin zamanla yavaşladığını düşündürmektedir (44). Çalışmamızda MDS'li hastalarda benzer bir ilişkiyi ortaya koymamız MDS'nin klonal bir hematopoietik sistem bozukluğu olduğunu da hatırlarsak kabul edilebilir bir sonuçtur. MDS'li hastalarda uzun süreli kemik iliği kültürleri kullanılarak sitogenetik çalışmalar yapılmış ve bunun prognoz ile tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde yararlı ve yol gösterici nitelikte olduğu öne sürülmüştür (54). MDS hastalarında benzer yöntemle yapılacak telomer ve telomeraz çalışmalarının daha

nitelikli sonuçlar verebileceğini düşünürsek çalışmaların birazda bu yöne kaydırılmasının yararlı olacağına inanmaktayız.

Myelodisplastik sendromlarda telomeraz ekspresyonu seviyesinin klinik sonuçlar özellikle de kemik iliğindeki blast miktarı ile korrelasyon gösterdiği öne sürülmektedir. Sieglova ve ark MDS'li hastalarda kemik iliğinde mononükleer hücreler üzerinde yaptıkları çalışmada RA veya RARS subtiplerindeki vakaların yaklaşık yarısında telomeraz aktivitesini artmış olarak bulmuşlardır. Sieglovanın çalışmasındaki sonuçlara bakıldığında telomeraz aktivitesinin kemik iliği blastlarıyla sınırlı olmadığı görülmüştür (54). Bu nedenle MDS'nin prelösemik evreden blastik subtiplere hatta sekonder lösemiye dönüşümü ile ilgili gelişiminde artmış telomeraz aktivitesinin rolü MDS'li hastalarda ekspresyon paterninin daha ileri düzeyde longitudinal monitorizasyon ile ancak mümkün olacaktır. Bir başka deyişle daha uzun vadeli çalışmalara gereksinim vardır.

Prelösemik hücrelerde telomer dinamiğinin açığa kavuşması ve bunun MDS'nin lösemiye geçişindeki rolünün anlaşılması MDS'li hastalarda risk faktörlerinin ortaya konmasını sağlayacaktır. Bu amaçla kendi çalışmamızda MDS'li hasta grubunun verilerinden elde ettiğimiz sonuçları değerlendirdiğimizde hastaların IPSS skorları ile hemoglobin düzeyi ve beyaz küre sayısı arasında negatif bir korrelasyon gözlenmiştir. MDS'li grupta sitopeni derinleştikçe prognozda bozulmaktadır. MDS'li hasta grubunda daha sonra lösemik transformasyon olduğunu gördüğümüz yedi RAEB ve RAEB-t'li hastanın telomeraz aktiviteleri Tablo 5'de görülmektedir. Buradan da anlaşıldığı gibi bu hastalarda sonuçlar kontrol grubunun periferik kan ve kemik iliği değerlerinden farklı bulunmamıştır. Benzer çalışmalarda MDS hastalarının çoğunluğunda normal-düşük aktivite düzeyleri olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle tek başına telomeraz aktivitesinden çok birlikte çalışılan TRF uzunluğu MDS'nin patofizyolojisini yansıtmaları hakkında daha doğru bilgi verecektir. Ayrıca telomeraz aktivitesinin zaman içinde seri olarak tekrarlanan ölçümleri prognostik açıdan daha yararlı olabilir.

Primitif hematopoietik hücrelerde somatik hücrelerde görülmemesine rağmen düşük seviyede telomeraz aktivitesi bulunduğu daha önce gösterilmiştir (40). Telomeraz aktivitesine rağmen periferik kan lökositlerinde yaşla birlikte ve invitro hematopoietik progenitör kültürlerde telomer kısalması görülür (55). Engelhardt ve ark insan fetal karaciğer, kord kanı, periferik kan ve kemik iliği örneklerinden alınan hematopoietik progenitör hücre örneklerinde proliferasyon sırasında oluşan telomeraz aktivitesinin telomer kısalmasını azalttığını ancak tamamen önleyemediğini göstermişlerdir (55). Daha önce yapılan çalışmalarda telomeraz aktivitesine rağmen proliferasyon sırasında telomerde kısalma olduğu gösterilmiştir. Hassas

bir yöntem olan TRAP kullanılarak çalışılan telomeraz aktiviteleri çekirdekli kemik iliği hücrelerinde düşük aktivite düzeyleri olduğunu ortaya koymuştur (40,55). Kemik iliği hücreleri gibi periferik kandaki hücrelerde de düşük telomeraz düzeyleri tespit edilmiştir (40). Farklı hücre popülasyonları tespit edilebilir telomeraz aktivitesi bulunmasına rağmen telomer erozyonuna uğrar. Normal kök hücreler ve lenfositler telomeraz kompetan ve mortaldır. Spesifik durumlarda örneğin lenfositlerin antijenik uyarılması sonrası geçici telomeraz aktivasyonu olabilir.

İlerleyen yaşla birlikte gittikçe artan telomer kaybı ve spesifik durumlarda ivme kazanan telomer erozyonu immünoşenesans, immünyetmezlik, hematopoieziste azalma ve malign transformasyona geçişte artışa katkıda bulunabilir. MDS'li kemik iliği örneklerinde değişen telomer uzunlukları tespit edilmiştir (51,55). Ohyashiki ve ark 16 MDS'li hastada yaptıkları çalışmada kısa ya da uzun telomerlere sahip iki grup hastada lösemik transformasyon sırasında telomer uzunluklarının değişmediğini bunun yanında bir üçüncü hasta grubunda ise hastalığın ilerlemesiyle birlikte telomerde kısalma olduğunu gözlemişlerdir (51). Bizim çalışmamızda sonradan lösemik transformasyon gelişen yedi hastanın gerek periferik gerekse kemik iliği örneklerinde çalışılan telomeraz aktivitesi normal ortalamalardan farklı değildi. Bu tür vaka sayımız az olmakla birlikte lösemik transformasyon gelişen bu hastalarda normal sınırlarda tespit edilen telomeraz aktivitesi hızlı dönüye giren hücrelerdeki telomer kısalmasını telafi edememiş olabilir.

Tüm AML hastalarımızın de novo lösemi olduğu gözönüne alındığında lösemiye geçişte altta yatan ya da kolaylaştırıcı nedenlerden biri olarak artmamış telomeraz aktivitesi suçlanabilir. Bu konuda yorum yapmak için tek başına telomeraz aktivitesi çalışılmasının yeterli olmadığını düşünmekteyiz. Telomer uzunluklarında bilinmesi doğru değerlendirme yapılmasını sağlayacaktır. Görüldüğü gibi MDS'li hastalarda telomeraz aktiviteleri değişkenlik gösterebilmektedir. Counter ve ark ise yaptıkları çalışmada MDS'li hastaların kemik iliğinde normallerle kıyaslandığında telomeraz aktivitesinin artmış olduğunu bu artışın AML gelişmesi durumunda daha da belirgin olduğunu bildirmişlerdir (40). AML'li hastalarda MDS'li hastalar ve kontrol örneklerine oranla telomerler kısadır. Zhang ve ark AML'li olguların periferik hücrelerinde telomer pozitifliğini % 73 oranında olduğunu göstermiş ve telomeraz düzeylerinin kemorezistansı gösteren bir prognostik gösterge olduğunu öne sürmüşlerdir (56).

KML'de ise yeterli telomeraz aktivitesi ile ilgili veriler az olmakla birlikte 12 hastalık bir çalışmada telomeraz aktivitesi ile hastalığın evresi arasında bir ilişki bulunamamıştır (1,57). Gerek myeloid gerekse lenfoid seri elemanları karşılaştırıldığında akut lösemiler

kronik lösemilere oranla daha yüksek telomeraz düzeyine sahiptir (40,57). Bizim çalışmamızda ise lösemili hastalarda telomeraz aktivitesi arasındaki fark sadece erkek hasta grupları karşılaştırıldığında gösterilebilmiştir. Kontrol grubu olarak aldığımız akut ve kronik lösemili hastaların sayılarının artırılması ile sonuçlar hakkında değerlendirme yapmanın daha sağlıklı olacağı düşüncesindeyiz.

Kemik iliği ve periferik lenfositlerde telomeraz aktivitesinin regülasyonu TRF uzunluğundan bağımsız bir olay olup her hücre siklusüne eşlik eder, dolayısıyla birçok hematolojik malignansi yeterli telomeraz aktivitesine sahip olmalarına rağmen telomeraz-kompetan hücrelerden gelişebilmektedir. Bunun yanında kritik düzeyde telomer kısalması sinerjistik olarak telomeraz düzeylerinde artışa yolaçar. Buradan da anlaşıldığı gibi hematopoietik malignansilerde telomeraz aktivitesi düzeylerini yorumlarken birkaç faktörü gözönünde bulundurmak gerekmektedir. Artmış telomeraz aktivitesini bir örnekte yüksek fraksiyonda tümör hücresi bulunmasına, tümörün ilerlemesiyle artmış telomeraz aktivitesinin geriye çekilmesine gibi faktörlere bağlı olarak yorumlamak gerekir.

Lösemi tedavisinde gelecekteki senaryolardan biri de sitotoksik ajanlarla tedaviyi takiben antitelomeraz ilaçların verilmesi böylece progresif telomer erozyonu ve senesansın aktivasyonu bunun sonucu olarak tümör hücresinde hücre ölümünün gerçekleşmesidir. Her ne kadar progresif non-Hodgkin lenfomalı hastalarda relaps görülen subklonlarda telomer uzunluklarında heterojenite görülmüşse de hematolojik maligniteler gelecekte antitelomeraz teknolojinin kullanılabileceği cazip bir alan olarak gözükmektedir.

6. SONUÇLAR

- Çalışmamızda toplam 50 hasta olmak üzere MDS'li 27 hastadan kan, MDS'li 22 hastadan kemik iliği AML'li 11, KML'si olan 12 hastadan ve 11'i sağlıklı kontrol kan, 10 kontrolda kemik iliği örneği alınarak PCR-tabanlı ELISA yöntemiyle telomeraz aktivitesi çalışıldı.
- MDS grubunun periferik kanlarında bakılan telomeraz aktivitesi AML, KML ve sağlıklı kontrol grubunun kanlarından farklı bulunmadı.
- MDS grubunun kemik iliğinde çalışılan telomeraz aktivitesi kontrol grubundan farklı bulunmadı.
- AML grubunda erkek hastalarda çalışılan telomeraz aktivitesi KML grubu erkeklere oranla artmış olarak bulundu.
- MDS'lerde telomeraz aktivitesi ile toplam hastalık süresi, hemoglobin düzeyi, beyaz küre sayısı, karyotip, FAB sınıflaması, IPSS skoru, cinsiyet, organomegali varlığı ve kemik iliği fibrozu arasında anlamlı bir korrelasyon bulunmadı.
- MDS'li hastalarda telomeraz aktivitesi ile yaş arasında pozitif yönde bir korrelasyon saptandı.
- MDS'lerde IPSS skoru ile telomeraz aktivitesi, kemik iliği fibrozis, organomegali arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.
- Telomeraz aktiviteleri MDS'li hastalarda heterojenite gösterebilmektedir.
- Bu nedenle hastalığın farklı evrelerinde seri ölçümlerin yapılması ve beraberinde telomer uzunluğunun çalışılması hastalık patogenezi açısından sağlıklı bilgi verecektir.
- MDS'li hastalarımızın çoğunluğunun erken evre yani refrakter anemi döneminde olması ölçülebilir telomeraz aktivasyonunun henüz olmamasının bir nedeni olabilir.
- Telomerazın varlığı her zaman telomer uzunluğunun sabit kaldığını anlamına gelmez.
- Gelecekte antitelomeraz tedaviler hemaolojik malignansilerde özellikle AML için risk taşıyan MDS grubu bozukluklarda umut vaatetmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Hiyama K, Hirai Y, Kyaizumi S, et al. Activation of telomerase in human lymphocytes and hematopoietic progenitor cells. *J Immunol*, 1995;155: 3711-3715
2. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*, 1994; 266: 2011-2014
3. Norrback KF, Roos G. Telomeres and telomerase in normal and malignant hematopoietic cells. *Eur J Cancer*, 1997; 33 (5): 774-780
4. Hoefsloot LH, van Amelsvoort MP, Broeders LC, et al. Erythropoietin-induced activation of STAT5 is impaired in the myelodysplastic syndrome. *Blood*, 1997; 89: 1690-1700
5. Iwama H, Ohyashiki K, Ohyashiki JH, et al. Telomeric length and telomerase activity vary with age in peripheral blood cells obtained from normal individuals. *Hum Genet*, 1998; 102: 397-402
6. Greenberg PL. The smoldering myeloid leukemic states: clinical and biologic features. *Blood*, 1983; 61: 1035-1044
7. Koeffler HP, Golde DW. Human preleukemia. *Ann Intern Med*, 1980; 93: 347-353
8. List AF, Doll DC. The myelodysplastic syndromes. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J. Eds. *Wintröbe's Clinical Hematology*. 10th edition, Egypt: Mass Publishing Co; 1999: 2320-2341
9. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*, 1982; 51: 189-199
10. Kusec R, Laczika K, Knobl P, et al. AML1/ETO fusion mRNA can be detected in remission blood samples of all patients with t(8;21) acute myeloid leukemia after chemotherapy or autologous bone marrow transplantation. *Leukemia*, 1994; 8: 735-739
11. Golde DW, Cline MJ. Human preleukemia: identification of a maturation defect in vitro. *NEJM*, 1973; 288: 1083-1086
12. Heaney ML, Golde DW. Medical progress: myelodysplasia. *NEJM*, 1999; 340: 1649-1660
13. Nowell PC. Chromosome abnormalities in myelodysplastic syndromes. *Semin Oncol*, 1992; 19: 25-33
14. Fenaux P, Morel M, Luc Lai J. Cytogenetics in myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol*, 1996; 33: 127-138

15. Bartram CR. Molecular genetic aspects of myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol*, 1996; 33: 139-149
16. Boulton J, Louis S, Wainscoat JS. The 5q- syndrome. *Blood*, 1994; 84: 3253-3260
17. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*, 1997; 89: 2079-2088
18. Sanz GF. Estimation of prognosis in myelodysplastic syndromes. What is relevant in 2001? 6th International Symposium on myelodysplastic syndromes. Stockholm-Sweden, 14-17 June 2001:9-12
19. Estey E, Thall P, Beran M, et al. Effect of diagnosis (refractory anemia with excess blasts, refractory anemia with excess blasts in transformation, or acute myeloid leukemia (AML) on outcome of AML-type chemotherapy. *Blood*, 1997; 90: 2969-2977
20. Wijermans PW, Krulder JW, Huijgens PC, et al. Continuous infusion of low-dose 5-aza-2' deoxycytidine in elderly patients with high-risk myelodysplastic syndrome. *Leukemia*, 1997; 11: S19-S23
21. List AF, Brasfield F, Heaton R, et al. Stimulation of hematopoiesis by amifostine in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood*, 1997; 9: 3364-3369
22. Molldrem JJ, Caples M, Mavroudis D, et al. Antithymocyte globulin for patients with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol*, 1997; 99: 699-705
23. Jonasova A, Neuwirtova R, Cermak J, et al. Cyclosporin A therapy in hypoplastic MDS patients and certain refractory anemias without hypoplastic bone marrow. *Br J Haematol*, 1998; 100: 304-309
24. Matthews DC. Immunotherapy in acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Leukemia*, 1998, 12: S33-S36
25. Caron PC, Dumont L, Scheinberg DA. Supersaturating infusional humanized anti-CD33 monoclonal antibody HuM195 in myelogenous leukemia. *Clin Cancer Res*, 1998; 4: 1421-1428
26. Negrin RS, Haeuber DH, Nagler A, et al. Treatment of myelodysplastic syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: a phase I-II trial. *Ann Intern Med* 1989; 110: 976-984
27. Vadhan-Raj S, Keating M, LeMaistre A, et al. Effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes. *NEJM*, 1987. 317: 1545-1552
28. Greenberg P, Taylor K, Larson R, et al. Phase III randomized multicenter trial of G-

CSF vs observation for myelodysplastic syndromes (MDS). *Blood*, 1993; 82 : S196

29. Rose EH, Abels RI, Nelson RA, et al. The use of r-HuEpo in the treatment of anemia related to myelodysplasia (MDS). *Br J Haematol*, 1995; 89: 831-837

30. Gordon MS, Nemunaitis J, Hoffman R, et al. A phase I trial of recombinant human interleukin-6 in patients with myelodysplastic syndromes and thrombocytopenia. *Blood*, 1995; 85: 3066-3076

31. Negrin RS, Stein R, Doherty K, et al. Maintenance treatment of anemia of myelodysplastic syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and erythropoietin: evidence for invivo synergy. *Blood*, 1996; 87: 4076-4081

32. Appelbaum FR, Storb R, Ramberg RE, et al. Treatment of preleukemic syndromes with marrow transplantation. *Blood*, 1987; 69: 92-96

33. De Witte T, Zwaan F, Hermans FZ, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for secondary leukemia and myelodysplastic syndrome: a survey by the Leukemia Working Party of the European bone Marrow Transplantation Group. *Br J Haematol*, 1990; 74: 151-155

34. Perker JE, Pagliuca A, Mijovic A, et al. Fludarabine, cytarabine, G-CSF and idarubicin (FLAG-IDA) for the treatment of poor-risk myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Br J Haematol*, 1997; 99: 939-944

35. Hellström-Lindberg E, Ahlgren T, Beguin Y, et al. Treatment of anemia in myelodysplastic syndromes with granulocyte colony-stimulating factor plus erythropoietin: results from a randomized phase II study and long-term follow-up of 71 patients. *Blood*, 1998; 92: 68-75

36. Beksaç M, Ötür ND. Telomerase activity in hematologic malignancies and predisposing diseases. *Turk J Haematol*, 2001; 18: 5-17

37. Miller KB, Daoust PR. Clinical manifestations of acute myeloid leukemia. In: Hoffman R. Ed. *Hematology basic principles and practice*. 3rd Ed, Philadelphia: Churchill Livingstone: 2000: 999-1024

38. Zhang W, Piatyszek MA, Kobayashi T, et al. Telomerase activity in human acute myelogenous leukemia: inhibition of telomerase activity by differentiation inducing agents. *Clin Cancer Res*, 1996; 2: 799-803

39. Enright H, McGlave P. Chronic myelogenous leukemia. In: Hoffman R. Ed. *Hematology basic principles and practice*. 3rd Ed, Philadelphia: Churchill Livingstone: 2000:1155-1171

40. Counter CM, Gupta J, Harley CB, et al. Telomerase activity in normal leucocytes and in hematological malignancies. *Blood*, 1995; 85: 2315-2320

41. Ohyashiki K, Ohyashiki JH, Iwama H, et al. Telomerase activity and cytogenetic changes in chronic myeloid leukemia with disease progression. *Leukemia*, 1997; 11: 190-194
42. 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: 1552-1560
43. Hokland P. Molecular biology of MDS. 6th International Symposium on myelodysplastic syndromes. Stockholm-Sweden, 14- 17 June 2001:5-6
44. Wynn FR, Cross MA, Nydia GT. Telomeres and haemopoiesis. *Br J Haematol*, 1998; 103: 591-593
45. Notaro R, Cimmino A, Tabarini D, et al. In vivo telomere dynamics of human haematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997; 94: 13782-13785
46. Wynn RE, Cross MA, Hatton C, et al. Accelerated telomere shortening in young recipients of allogeneic bone marrow transplants. *Lancet*, 1998; 351: 178-181
47. Zhang W, Piatyszek MA, Kobayashi T, et al. Telomerase activity in human acute myelogenous leukemia: inhibition of telomerase activity by differentiation inducing agents. *Clin Cancer Res*, 1996; 2: 799-803
48. Hellström-Lindberg E, Willman CL, Barrett AJ. Achievements in understanding and treatment of myelodysplastic syndromes. Erişim: (<http://www.hematology.org/education/hema00/hellstrom.pdf>) 2001. Erişim tarihi: 20.09.2001
49. Buys CHCM. Telomeres, telomerase and cancer. *NEJM*, 2000; 342: 1282-1283
50. Ohyashiki JH, Iwama H, Yahata N, et al. Telomere stability is frequently impaired in high-risk groups of patients with myelodysplastic syndromes. *Clin Cancer Res*, 1999; 5: 1155-1160
51. Ohyashiki JH, Ohyashiki K, Fujimura T, et al. Telomere shortening associated with disease evolution patterns in myelodysplastic syndromes. *Cancer Res*, 1994; 54: 3557-3560
52. Bouscary D, De Vos J, Guesnu M, et al. Fas/Apo1(CD95) expression and apoptosis in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*, 1997; 11: 839-845
53. Raza A, Gezer S, Mundle S, et al. Apoptosis in bone marrow biopsy samples involving stromal and hematopoietic cells in 50 patients with myelodysplastic syndromes. *Blood*, 1995; 86: 268-276
54. Siegllová Z, Őihová H, Dvořáková R, et al. Telomerase activity in seperated bone marrow cell subpopulations obtained from the patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia Research*, 2001; 25: S62
55. Engelhardt M, Kumar R, Albanell J, et al. Telomerase regulation, cell cycle, and telomere stability in primitive hematopoietic cells. *Blood*, 1997; 90: 182-193

56.Lansdorp PM. Telomere length and proliferation potential of hematopoietic stem cells.
J Cell Sci, 1995; 108: 1-6

57.Hiyama KE, Hiyama S, Ishioka M, et al. Telomerase activity in small-cell and non-small-cell lung cancers.
J Natl Cancer Inst, 1995; 87: 895-902



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emel Gürkan
Doğum Tarihi ve Yeri : 13.04.1967, Adana
Medeni Durumu : Bekar
Adres : Adana
E-mail : egurkan@mail.cu.edu.tr
Mezun Olduğu Fakülte : Hacettepe Üniv Tıp Fak-İng (1991)
Dernek üyelikleri : Türk Hematoloji Derneği
Yabancı Dil(ler) : İngilizce, Almanca

