

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİLİ HASTALARDA XRCC1
(X-RAY CROSS COMPLEMENTING GROUP 1) GENİNDE
ARG399GLN VE ARG194TRP POLİMORFİZMLERİNİN
VE KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ SIKLIĞI İLE
KORELASYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

NİLGÜN DUMAN

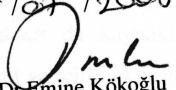
**DANIŞMAN
DOÇ.DR.KIVANÇ ÇEFLE**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

15/07/2008

 Prof. Dr. Emine Kökoğlu
 Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
 Program Adı : Genetik
 Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☐ Doktora ☒
 Anabilim Dalı : Genetik
 Tez Sahibi : Dr. Nilgün Duman
 Tez Başlığı : Kronik Lenfositik Lösemili hastalarda, XRCC1 (X-Ray Cross Complementing Group 1) geninde Arg399Gln ve Arg194Trp polimorfizmlerinin ve kardeş kromatid değişimi sıklığı ile korelasyonlarının araştırılması
 Sınav Yeri : İ.Ü. İstanbul Tıp Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kütüphanesi
 Sınav Tarihi : 10 / 07 / 2008

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Doç. Dr. Kıvanç ÇEFLE (Danışman) İ.Ü İstanbul Tıp Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı
2. Prof. Dr. Uğur ÖZBEK (Tez İzleme Komitesi Üyesi) İ.Ü. DETAE Genetik Anabilim Dalı
3. Prof. Dr. Meliha NALÇACI (Tez İzleme Komitesi Üyesi) İ.Ü İstanbul Tıp Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı
4. Prof. Dr. Melih Aktan İ.Ü İstanbul Tıp Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı
5. Prof. Dr. Ali Sazcı Kocaeli Üni. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



NİLGÜN DUMAN

AİLEME...

AİLEME....

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle olduğu kadar her konuda sonsuz destek veren, sıkıntılarımla paylaştan, her konuda örnek aldığım, kendisinden çok şey öğrendiğim çok sevgili hocam, tez danışmanım Doç.Dr. Kıvanç Çefle'ye,

Tezimin her aşamasında yanımda olan, 2 yıl boyunca büyük bir sabır ve özveriyle hasta profili oluşturmama yardım eden, çalışkanlığı, bilgisi ve hastaya yaklaşımıyla örnek aldığım, değerli hocam Prof.Dr.Melih Aktan'a,

Tez izleme jürimde bulunan, tezim süresince her türlü desteği veren değerli hocam Prof.Dr.Meliha Nalçacı'ya, tezimin moleküler bölümünü DETAE laboratuvarında tamamlamamda tüm imkanları sağlayan değerli hocam Prof.Dr.Uğur Özbek'e,

Doktora eğitimimde büyük katkıları olan, bilgi ve tecrübelerini, hastaya yaklaşımlarını örnek aldığım çok değerli hocalarım Prof.Dr.Şükrü Palanduz ve Prof.Dr.Şükrü Öztürk'e,

DETAE'de çalıştığım sürece içinde sonsuz yardım ve destekte bulunan, tezimin moleküler bölümünün tamamlanmasında büyük emek veren çok değerli arkadaşlarım Yard.Doç.Dr.Duran Üstek'e, Uz.Bio.Aris Çakiris'e, Bio.Ender Coşkunpınar ve dostluk sembolü arkadaşım Uz.Bio.Çağrı Güleç'e,

İstatistik bilgisiyle bana destek veren değerli hocam Doç.Dr.Hakan Çamlıca'ya,

Doktora eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, bilgi ve tecrübeleriyle, dostluklarıyla, yardımlarıyla, sonsuz moral desteğiyle hep yanımda olan çok sevdiğim dostlarım Uz.Bio.Haluk Erkal'a, Dr.Gülçin Tutkan'a, Dr.Ali Uçur, Uz.Bio.Ayşegül Bayrak'a ve tüm sitogenetik ekibine,

Hayattaki en büyük desteğim annem ve babama,

Genetik eğitimime başlamamda ve hayatım boyunca bana yol gösteren sevgili ablam Prof.Dr.İlknur Özcan'a

Teşekkür ve Şükranlarımı Sunarım...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 7-798/27122005

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN	İİ
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	X
ÖZET.....	XI
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ	3
2.1.1. KLİNİK ÖZELLİKLER.....	3
2.1.2. KLİNİK EVRELENDİRME	5
2.1.3. TEDAVİ	5
2.2. XRCC1 GENİ	7
2.2.1. GENİN YAPISI.....	7
2.2.2. GENİN FONKSİYONU	7
2.2.3. DNA TAMİR MEKANİZMALARI	9
2.2.4. BAZ EKSİZYON TAMİRİ.....	10
2.2.5. XRCC1 GENİ POLİMORFİZMLERİ	13
2.2.6. XRCC1 POLİMORFİZMLERİNİN HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ	15
2.3. KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. GEREÇLER	20
3.2. YÖNTEMLER	24
3.2.1. Periferik Kandan DNA izolasyonu.....	24
PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	25
Agaroz Jel Elektrophorezi.....	28
Restriksiyon Enzim Kesimi ile PolimorfizmTaraması.....	29

3.2.2. Kardeş Kromatid Değişimi Sıklığı Araştırılması	30
Periferik Kan Lenfosit Kültürü.....	30
4. BULGULAR	33
4.1. KKD Sıklıkları İle İlgili İstatistiksel Değerlendirmeler	33
4.2. XRCC1 Geni Analiz Sonuçları	37
4.3. XRCC1 Gen polimorfizmlerinin KLL’li hasta grubunda değerlendirilmesi	39
4.4. XRCC1 Gen Polimorfizmlerinin Sağlıklı Kontrol Grubunda Değerlendirilmesi .	40
4.5. Genotip Sıklıkları Kodon 194	40
4.6. Genotip Sıklıkları Kodon 399	41
4.7. Allel Sıklıkları	42
4.8. KLL’li Hastalarda XRCC1 Geni Kodon 194 Polimorfizmleri ile KKD Sıklığı Arasındaki İlişkinin Araştırılması	43
4.9. KLL’li Hastalarda XRCC1 Geni Kodon 399 Polimorfizmleri ile KKD Sıklığı Arasındaki İlişkinin Araştırılması	43
4.10. İstatistiksel Analiz	44
5. TARTIŞMA	45
KAYNAKLAR	54
FORMLAR	62
ETİK KURUL KARARI.....	64
ÖZGEÇMİŞ	66

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: KLL Tanı Kriterleri	4
Tablo 2-2: Rai Evrelendirmesi	5
Tablo 2-3: Binet Evrelendirmesi	5
Tablo 2-4: XRCC1 Polimorfizmleri.....	14
Tablo 3-1: Grupların Cinsiyet Dağılımı	20
Tablo 3-2: Gruplar Arası Yaş Dağılımı ve Ortalamalar.....	20
Tablo 3-3: Kullanılan Primer Dizileri	27
Tablo 3-4: XRCC1 Geni Kodon 194 ve Kodon 399 PZR Koşulları.....	27
Tablo 3-5: Hpa II Restriksiyon Enzim Kesim Şartları.....	29
Tablo 4-1: KLL'li Hasta ve Kontrol Grubunun Metafaz Başına KKD Sıklıkları	33
Tablo 4-2: KLL'li Hastalarda Arg194Trp ve Arg399Gln Polimorfizmlerinin Dağılımı	39
Tablo 4-3: Kontrol Grubunda Arg194Trp ve Arg399Gln Polimorfizmlerinin Dağılımı	40
Tablo 4-4: Arg194Trp Polimorfizmi için Genotip Sıklıkları.....	41
Tablo 4-5: Arg399Gln Polimorfizmi için Genotip Sıklıkları.....	41
Tablo 4-6: Arg194Trp Polimorfizmindeki Allel Sıklıkları.....	42
Tablo 4-7: Arg399Gln Polimorfizmindeki Allel Sıklıkları	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: XRCC1 Geni	7
Şekil 2-2: Genin Yapısı.....	7
Şekil 2-3: DNA Hasarı/ DNA Onarımı Arasındaki Dengenin Önemi	8
Şekil 2-4: DNA'da Hasar Oluşturan ajanlar, Hasar tipleri ve Tamir Mekanizmaları	9
Şekil 2-5: Baz Eksizyon Tamiri	11
Şekil 2-6: Baz Eksizyon Tamirinde XRCC1	12
Şekil 2-7: Baz Eksizyon Tamirinde XRCC1 ile Etkileşimde Bulunan Enzimlerin Gen Üzerindeki Lokalizasyonları	13
Şekil 3-1: Ekzon dizileri ve primer yerleşimleri	26
Şekil 3-2: Primer 194 F'in yerleşimi	26
Şekil 4-1: KLL'li Bir Hastanın Metafazında İzlenen Kardeş Kromatid Değişimleri.....	34
Şekil 4-2: KLL'li Bir Hastanın Metafazında İzlenen Kardeş Kromatid Değişimleri.....	35
Şekil 4-3: Sağlıklı Kontrol Grubundan Bireyin Metafazında İzlenen Kardeş Kromatid Değişimleri.....	36
Şekil 4-4: XRCC1 Geni 6. Ekzon ve 10. Ekzon PZR Ürünlerinin % 2 Agaroze Jel Elektroforezinin UV ile Görüntülenmesi	38
Şekil 4-5: XRCC1 Geni Kodon 194 Bölgesinin Kesimine Ait Örnek.....	38
Şekil 4-6: XRCC1 Geni Kodon 399 Bölgesinin Kesimine Ait Örnek.....	39

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

XRCC1	X-Ray Repair Cross Complementing Group 1
DNA	Deoksiribonükleik asit
BrdU	5-bromo-2-deoksiüridin
PZR	Polimerize zincir reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
KKD/ SCE	Kardeş Kromatid Değişimi/ Sister Chromatid Exchange
FCS	Fetal Calf Serum
RBL	Eritrosit Parçalama Solüsyonu
WBL	Lökosit Parçalama Solüsyonu
BER	Base Excision Repair (Baz eksizyon tamiri)
PARP	Poli (ADP- Riboz) Polimeraz
PNK	Polinükleotid Kinaz
Pol β	Polimeraz Beta
TPA	Forbol 12-miristat 13-asetat

ÖZET

Duman N.

Kronik Lenfositik Lösemili Hastalarda XRCC1 (X-Ray Cross Complementing Group 1) Geninde Arg399Gln ve Arg194Trp Polimorfizmlerinin ve Kardeş Kromatid Değişimi Sıklığı ile Korelasyonlarının Araştırılması

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2008

Giriş ve Amaç: XRCC1 geni DNA onarım genlerinden biri olup genom bütünlüğünün devamlılığında, kanser ve kalıtsal genetik hastalıkları oluşturan mutasyonlardan korunmada önemli rolü vardır. Diğer yandan genotoksik bir gösterge olan kardeş kromatid değişim (KKD) sıklığının çeşitli kanser tiplerinde arttığı bildirilmektedir. Bu çalışmanın temel amacı; KLL’li hastalarda XRCC1 geni Arg399Gln ve Arg194Trp polimorfizmlerin sıklığını araştırmak ve bunların KKD sıklığı ile ilişkili olup olmadığını belirlemektir.

Yöntemler: Çalışmada 73 KLL’li olgunun ve kontrol grubu olarak belirlenen sağlıklı 50 bireyin XRCC1 geninde Arg399Gln ve Arg194 Trp polimorfizmleri PZR ve RFLP yöntemleriyle belirlendi. Hasta ve kontrol grubunun periferik kan örneklerinden elde edilen lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi sıklıkları değerlendirildi.

Sonuçlar: Hasta ve kontrol grubunda kodon 399, Arg/Gln (sırasıyla %68.50 ve %52) ve Gln/Gln (sırasıyla %21.91 ve %10) genotip sıklıkları anlamlı olarak farklılık göstermiştir ($p=0.02$). 399Gln alleli sıklığı da (%90.41) hasta grubunda kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksektir. (O.R=1.46, % 95 CI:1.24-1.72, $p<0.001$). Kodon 194 polimorfizmi ise allel ya da genotip sıklığı açısından gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Metafaz başına ortalama KKD sıklıkları KLL’li hastalar için 9.2 ± 4 kontrol grubu bireyler için 7.5 ± 2 olarak bulunmuştur. KKD sıklığı hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0.02$). Hem kodon 399 hem de kodon 194 ile ilişkili genotiplere sahip hasta grupları KKD sıklığı açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Tartışma: Çalışmamız Arg399Gln polimorfizminin KLL etyolojisinde rolü olabileceğini, özellikle Gln/Gln homozigot mutant genotipin hatalı DNA tamirine ve dolayısıyla malignite gelişimine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Hasta grubumuzda KKD sıklığının kontrollere göre yüksek olması, genomik instabilitenin KLL gelişimi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler : KLL, XRCC1, Polimorfizm, KKD, DNA Tamiri

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 7-798/27122005

ABSTRACT

Duman N.

Investigation of Arg399Gln and Arg194Trp Polymorphisms of the XRCC1 (X-Ray Cross Complementing Group 1) Gene and its Correlation to Sister Chromatid Exchange Frequency in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia

Istanbul University, Institute of Health Science, Genetics Common Programme, İstanbul, 2008

Introduction : The X-ray repair cross-complementing (XRCC1) gene is one of the genes responsible for the DNA repair. It is involved in the protection of genomic integrity and in preventing the development of mutations which are responsible from hereditary diseases and cancer. Sister chromatid exchange (SCE) frequency, a marker of genotoxicity, is known to be increased in various types of cancer. The aim of this study was to investigate the frequency of XRCC1 gene Arg399Gln and Arg194Trp polymorphisms and their correlation to the SCE frequency.

Method : We investigated the Arg399Gln and Arg194Trp polymorphisms by PCR and RFLP and we assessed SCE frequency in CLL patients (n=73) and healthy controls (n=50).

Results : The frequencies of Arg/Gln (%68.50, %52 respectively) and Gln/Gln (%21.91, %10 respectively, $p=0.02$) genotypes and the frequency of the 399Gln allele (%90.41 O.R=1.46, % 95 CI, 1.24-1.72, $p<0.001$) were higher in the patient group. There was no difference in genotype distribution or allelic frequency with respect to Arg194Trp polymorphism. The SCE frequency was 9.2 ± 4 for CLL patients and 7.5 ± 2 for healthy controls per metaphase. The SCE frequency in CLL patients was higher than the controls ($p=0.02$). There was no difference in the SCE frequency among patients with genotypes related to the codon 399 or 194 polymorphisms ($p>0.05$).

Discussion : Our results suggest that the Arg399Gln polymorphism may play a role in CLL etiology and may lead to defective DNA repair and hence oncogenesis. The increased SCE frequency in the patient group implies that genomic instability may be associated with CLL development. Our data do not support a relation between these polymorphisms and SCE frequency.

Key Words: CLL, XRCC1, Polymorphism, SCE, DNA Repair

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No : 7-798/27122005

1. GİRİŞ VE AMAÇ

KLL küçük görünümlü, işlevsiz ve normalden uzun ömürlü lenfositlerin kanda, kemik iliğinde ve lenfoid dokularda birikmesi ile karakterize neoplastik bir hastalıktır (1). Sıklıkla ileri yaş grubunda görülür. 40 yaş altında nadir olarak bildirilmiştir. Batı toplumlarındaki yetişkinlerde en sık (% 24) görülen lösemi türüdür. Uzak Doğuda, özellikle Çin’de ve Japonya’da nadir görülür. Dünya üzerindeki bu farklı insidansın sebebi henüz bilinmemektedir. Erkeklerde daha sıktır (Erkek/Kadın = 1.7:1). Olguların %98’i B lenfosit kökenlidir. T hücreli KLL, olguların sadece %2’sini oluşturur (2,3,4,5,6).

KLL, heterojen seyirli bir hastalıktır. Prognozun belirlenmesinde Rai ve Binet klinik evreleme sistemleri kullanılmaktadır (7).

KLL etyolojisi kesin olarak aydınlatılamamıştır. Radyasyon, kimyasallar veya alkilleyici ajanlara maruziyetin hastalığa neden olduğuna dair bir kanıt saptanmamıştır. DNA ve retroviruslara bağlı enfeksiyonlar ile birlikte olan vakalar bildirilmiş ancak sonraki çalışmalarda bir neden sonuç ilişkisi bulunamamıştır (8).

“X-ray repair cross-complementing group 1” (XRCC1) geni DNA onarım genlerinden biri olup genom bütünlüğünün devamlılığında, kanser ve kalıtsal genetik hastalıkları oluşturan mutasyonlardan korunmada önemli rolü vardır. XRCC1 geninin kodladığı protein, serbest oksijen radikallerinin, iyonize radyasyonun, ultraviyole ve alkilleyici mutajenlerin neden olduğu DNA’nın tek zincirindeki kırıkların onarılmasında rol almaktadır. Bu gendeki fonksiyonel polimorfizmlerin, DNA tamir kapasitesinde azalmaya neden olarak kanser için bir risk oluşturduğu iddia edilmiştir (9).

Kardeş kromatid değişimi (KKD / SCE – Sister Chromatid Exchange), eş kromozom lokuslarında iki kromatid arasında meydana gelen ve kromozom morfolojisinde değişikliğe neden olmayan karşılıklı segment değişimi olarak tanımlanır (10). KKD sıklığının belirlenme yöntemi klastogenisitenin, genotoksisitenin veya genetik instabilitenin araştırıldığı çalışmalarda kullanılmaktadır. Artmış KKD sıklığı günümüzde mutajenik etkinin ve dolayısıyla artmış kanser riskinin biogöstergesi olarak kabul edilmektedir (11).

Kardeş Kromatid Değişim Sıklığı yöntemi kullanılarak çeşitli hastalıklarda genomik instabilite değerlendirilmeye çalışılmıştır. Genomik instabilitenin, hastalıkların

etyolojilerinde olduğu kadar malign transformasyonlarda da önemli rolü bulunmaktadır. Bu çalışmanın amaçlarından biri, birçok kanser türünde arttığı bildirilen ve genetik instabilitenin bir göstergesi olan artmış KKD sıklığını KLL hastaları ve sağlıklı kontrol grubu bireylerinin lenfositlerinde araştırmak, elde edilen KKD sıklıklarını istatistiksel olarak birbirleri ile karşılaştırmaktır.

DNA tamir genlerinde tespit edilen polimorfizmler, DNA tamir fonksiyonunu etkileyerek kişilerde genetik instabilite ve kanser yatkınlığına yol açabilmektedir. Dolayısıyla bu polimorfizmler malignite oluşumunda rol oynayabilir. Bu çalışmanın bir diğer amacı, KLL'li hastalarda DNA tamir geni olan XRCC1 geni kodon 194 ve kodon 399 polimorfizm sıklığını araştırmak ve bu gendeki fonksiyonel polimorfizmlerin, DNA tamir kapasitesinin değişmesine neden olarak kanser için bir risk oluşturan artmış KKD sıklığı ile arasında bir ilişki olup olmadığını aydınlatmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Kanser, normal hücre çoğalmasını kontrol eden mekanizmalardaki bozukluklardan kaynaklanan genetik bir hastalıktır (12). Tüm kanserlerin %3'ünü oluşturan lösemiler, kemik iliğindeki hematopoetik hücrelerin malign tümörleridir (13,14).

2.1. KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ

KLL batı ülkelerinde en sık görülen lösemi tipidir. Bu ülkelerde yaşayan 65 yaşın üstündeki kişilerde gelişen lösemilerin %40'ını oluşturur (15). 30 yaşın altında çok nadir olmasına rağmen KLL'ye yakalanan kişilerin %20-30 kadarı 55 yaşın altındadır (16). Total senelik insidansın yaklaşık 100.000'de 3 olduğu saptanmıştır. Irk ve coğrafi bilgilere dayalı olarak yapılan çalışmalarda Kuzey Amerika, Avustralya ve Avrupa ülkelerinde yaşayan beyaz ve siyah ırkın, Çin, Japonya ve Hindistan'da yaşayan toplumlara göre bu lösemiye 20-30 kat daha fazla yakalandığı gösterilmiştir (17). Erkek/Kadın oranı : 2/1'dir (18).

Vaka-kontrollü olarak yapılan etyolojik çalışmalarda kimyasal, radyasyon, diyet, virus enfeksiyonu ve otoimmün hastalıkların KLL gelişmesinde önemli bir risk olduğu kesin olarak bugüne kadar gösterilememiştir (19). Fakat KLL'ye yakalanan kişilerin birinci ve ikinci derecedeki akrabalarında bu lösemi gelişme ihtimalinin yüksek olduğu bilinmektedir (20,21). Literatürde KLL'ye yakalanan ailelere ait detaylı çalışmalar olmasına rağmen, bu kişilerin genetik yapılarında bir bozukluk bulunamamıştır ve genetik geçiş mekanizması tam olarak tanımlanamamıştır (22).

2.1.1. KLİNİK ÖZELLİKLER

Kronik lenfositik lösemi yetişkin popülasyonda en sık görülen lösemi tipidir. Hastalar halsizlik, çabuk yorulma, gece terlemesi, ateş, kilo kaybı, tekrarlayan bakteriyel ve viral enfeksiyonlar gibi özgün olmayan semptomlar ile başvurabilirler. Bazı asemptomatik hastalara tanı rutin bir kan sayımı sırasında tesadüfen konmaktadır. En önemli fizik muayene bulgusu lenfadenopatidir. Lenfadenopatiler genelde lastik kıvamında, ağrısız, birbirinden bağımsız ve hareketlidirler. Sayı ve büyüklükleri değişkenlik gösterir. Hastaların yaklaşık yarısında düzgün kenarlı splenomegali vardır. Bazen hipersplenizm ortaya çıkar ve anemi ve/veya trombositopeni gözlenebilir (23).

Hepatomegali daha nadirdir (24).

Tanı için birçok kriter geliştirilmiştir. 1988’de “National Cancer Institute-sponsored Working Group” ve “International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia – IWCLL” tarafından tanı kriterleri, evreleme ve tedavi yöntemleri ortaya konulmuştur (25).

NCI-WG tanı kriterleri; lenfosit sayısının $5000/\text{mm}^3$ ’ün üzerinde olması ve CD5 pozitifliği ile birlikte en az bir B lenfosit yüzey antijeninin pozitif bulunması (CD19, CD20, CD23), prolenfosit sayısının %55’den az olması ve kemik iliği infiltrasyonunun %30’dan fazla bulunmasıdır (25).

IWCLL tanı kriterleri; lenfosit sayısının $10.000/\text{mm}^3$ ’den fazla olması, kemik iliği biopsi incelemesinde hücrelerin %30’undan fazlasını lenfositlerin oluşturması ve CD5 pozitif B-lenfositlerin tipik fenotipik özelliklerinin saptanması olarak tespit edilmiştir. Buna göre KLL tanısı için kandaki lenfosit sayısı $10.000/\text{mm}^3$ ’den fazla ise diğer iki kriterden birinin varlığı veya lenfosit sayısı $10.000/\text{mm}^3$ ’den az ise diğer iki kriterin de pozitif olması tanı için yeterli görülmüştür (25). KLL tanı kriterleri Tablo 2-1’de gösterilmiştir (26).

Tablo 2-1: KLL Tanı Kriterleri

NCI	IWCLL
$> 5.000/\text{mm}^3$ lenfositoz; en az 1 adet B hücre işareti (CD19,CD20,CD23)+CD5	$\geq 10.000/\text{mm}^3$ lenfositoz + B fenotipi veya kemik iliği tutulumu
$< \%55$ atipik hücre oranı	$< 10.000/\text{mm}^3$ lenfositoz + B fenotipi +kemik iliği tutulumu
$\geq \% 30$ kemik iliği lenfosit oranı	$> \% 30$ kemik iliği lenfosit oranı

2.1.2. KLİNİK EVRELENDİRME

Günümüzde kullanılan iki farklı evreleme sistemi vardır: (27-28).

1. Rai Evrelendirmesi
2. Binet Evrelendirmesi

Tablo 2-2: Rai Evrelendirmesi

Evre	Klinik-Hematolojik Özellikler
0	Lenfositoz
1	Lenfositoz + Lenfadenomegali
2	Lenfositoz+ Splenomegali ve/veya hepatomegali
3	Lenfositoz+ Anemi (Hb<11g/dl)
4	Lenfositoz+ Trombositopeni (Trombosit<100.000/ mm ³)

Tablo 2-3: Binet Evrelendirmesi

Evre	Klinik-Hematolojik Özellikler
A	3'ten az lenfoid bölge* tutulumu
B	3 ya da daha fazla lenfoid bölge* tutulumu
C	Anemi (Hb<10g/dl) ya da Trombositopeni (Trombosit<100.000/ mm ³)

*Tek veya iki taraflı servikal, aksiler ve inguinal bölgeler, dalak ve karaciğer lenfoid alanlardır.

2.1.3. TEDAVİ

KLL tanısı konduktan sonra, hastalığın nasıl takip edileceği, hangi durumlarda ne tür tedavi uygulanması gerektiği çok önemlidir. Bu amaçla klinik ve biyolojik parametreler kullanılmaktadır. Hastalık aktivitesi düşük olgular (Rai evre 0-1 ve/veya Binet A, kemik iliği tutulumu diffüz olmayan, anemi ve trombositopeni olmayan, lenfosit sayısı $<30 \times 10^9/L$ olan ve LKZ (Lökosit katlanma zamanı – tedavi almayan hastalarda kandaki lenfosit sayısının iki katına çıktığı süre) ≥ 12 ay olan hastalar hastalık progresyonu gözlenene kadar tedavisiz takip edilir. Erken evre hastalarda yapılan

çalışmalarda, tedavi verilmesinin böyle hastalarda sağkalım süresini uzatmadığı gösterilmiştir (29).

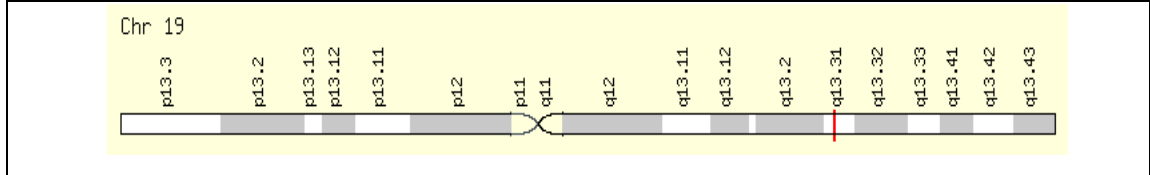
Tedavide alkilleyici ajanlar, kortikosteroidler, fludarabin, 2-klorodeoksiadenozin, pentostatin (2'- deoksikoformisin), interferon-alfa, yüksek doz immünglobulin ve radyoterapi kullanılmaktadır. Otoimmün hemolitik anemi ve/veya trombositopeni geliştiğinde splenektomi uygulanabilir. Kemik iliği transplantasyonu genç olgularda uygulanabilir (30,31).

Gen Tedavisi: KLL'de gen tedavisinin amacı KLL fenotipini değiştirmek olacaktır. Böylece KLL hücreleri sunulan antijenlere cevap verecek olan T hücrelerini uyarabilecek kapasitede olacaktır. CD40 ve ligandının (CD40L veya CD154) aktive T hücreleri üzerindeki ekspresyonu B-hücre aktivasyonu, sağkalımı ve farklılaşmasında anahtar rol oynar (32).

2.2. XRCC1 GENİ

XRCC1, baz eksizyon tamiri ve tek sarmal kırıklarının tamirinden sorumlu bir gendir (33). Şekil 2-1 (34).

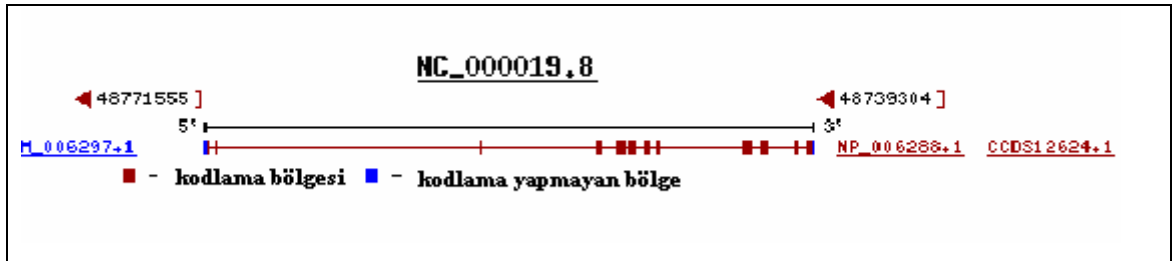
Şekil 2-1: XRCC1 Geni



2.2.1. GENİN YAPISI

XRCC1 geni 17 ekzon içerir ve yaklaşık 31,9 kb. uzunluğundadır. Gen ürünü 19q13.2-19q13.3 de lokalize olan gen bölgesi tarafından kodlanır (35). 633 aminoasit uzunluğunda olup 69,5 kDa ağırlığındadır (36).

Şekil 2-2: Genin Yapısı



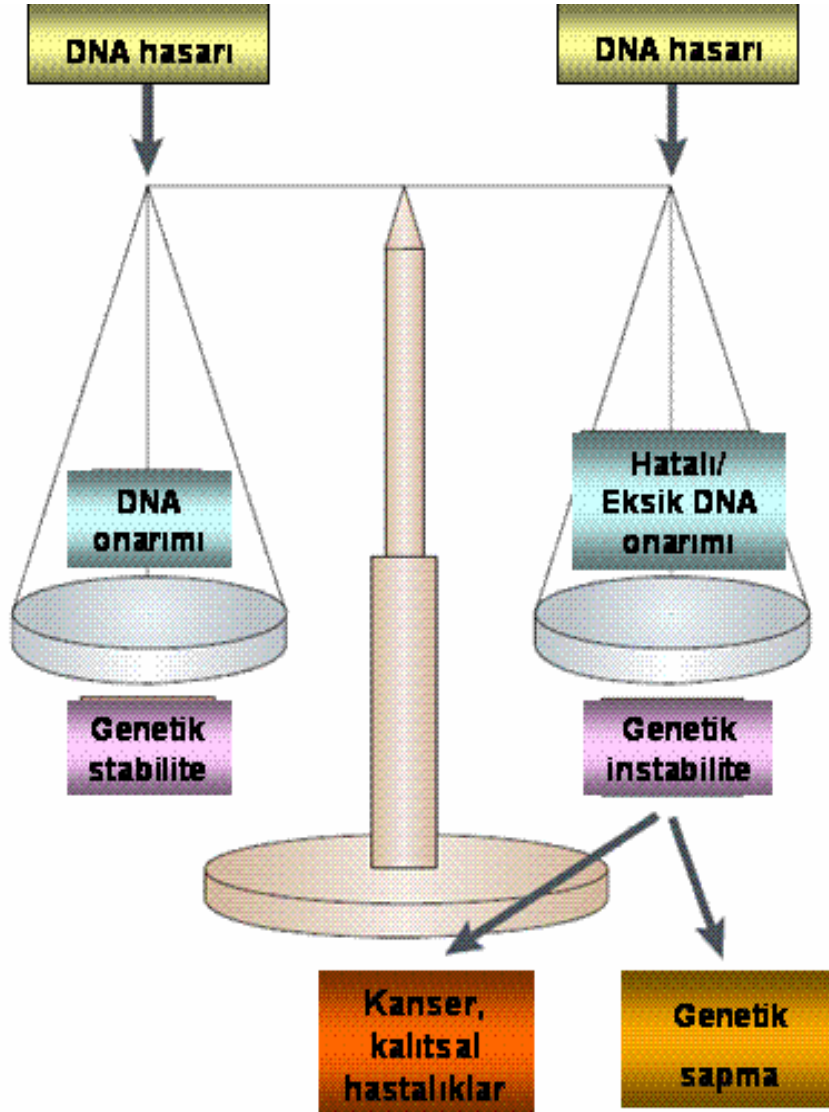
Kromozom 19, Loküs 19q 13.2

2.2.2. GENİN FONKSİYONU

XRCC1, DNA onarım genlerinden biri olup genom bütünlüğünün devamlılığında; kanser ve kalıtsal genetik hastalıkları oluşturan mutasyonlardan korunmada önemli rol oynamaktadır. DNA onarım genlerinin kodladığı proteinler veya enzimler genetik olarak polimorfiktir. Bu genlerdeki fonksiyonel polimorfizmlerin, oluşan proteinlerin yüksek ya da düşük aktivite göstermesi sonucu DNA tamir kapasitesinde değişmeye neden olarak çeşitli kanser tiplerine yakalanma riskini arttırabileceği veya azaltabileceği üzerinde durulmaktadır (35). Farelerde XRCC1

genindeki delesyonun embriyonun ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (37).

Şekil 2-3: DNA Hasarı/ DNA Onarımı Arasındaki Dengenin Önemi

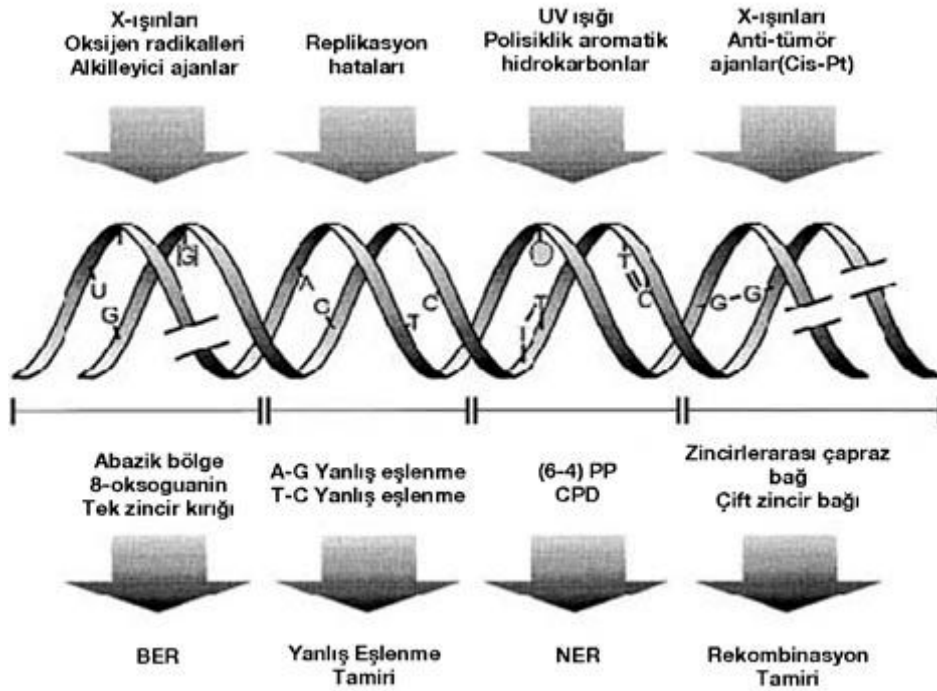


XRCC1 serbest oksijen radikallerinin, iyonize radyasyonun, ultraviyole ve alkilleyici mutajenlerin yaptığı baz değişimi sonucu oluşan, DNA tek zincir kırılmalarının onarılmasında rol alan proteinleri kodlar (38).

2.2.3. DNA TAMİR MEKANİZMALARI

Prokaryotik ve ökaryotik organizmalar DNA'larını korumak için çeşitli DNA tamir mekanizmalarına sahiptir. Memeli hücrelerinde farklı DNA hasarları farklı DNA tamir yolları ile tamir edilmektedir. Eksizyon tamiri sırasında kimyasal olarak değişmiş, yanlış eşleşmiş veya uygun olmayan (DNA'daki urasil gibi) bazlar genomdan kesilerek yerlerine doğru dizideki bazlar konur. Eksizyon tamiri, BER ve NER olmak üzere ikiye ayrılır. BER sırasında hasarlı bazlar serbest baz olarak kesilir ve çıkartılır, NER'de ise hasarlı bazlar oligonükleotid fragmanları olarak kesilir. BER ile iyonize edici radyasyon, reaktif oksijen türleri ve monofonksiyonel alkilleyici ajanlar ile oluşan baz hasarları tamir edilir (39). DNA'da hasar oluşturan ajanlar, hasar tipleri ve tamir mekanizmaları Şekil 2-4'te gösterilmiştir.

Şekil 2-4: DNA'da Hasar Oluşturan ajanlar, Hasar tipleri ve Tamir Mekanizmaları

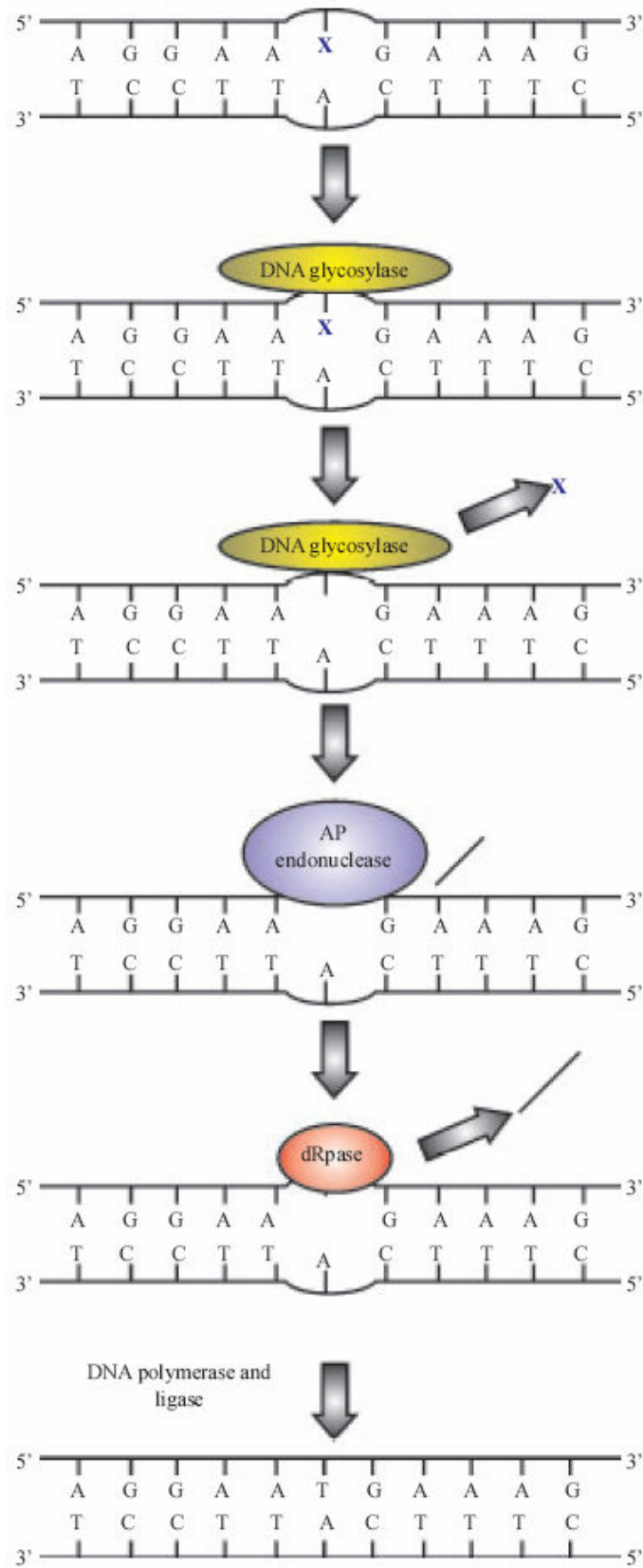


2.2.4. BAZ EKSİZYON TAMİRİ

Baz Eksizyon Tamiri (BER) iyonize radyasyonun indüklediği oksidatif baz hasarı ve zincir kırıklarının tamirinde rol alan bir DNA tamir mekanizmasıdır. İyonize radyasyona maruziyet sonucu hücre DNA'sında meydana gelen hasar, birbiriyle ilişkili birçok DNA tamir enzimini genomik bütünlüğü korumak üzere harekete geçirir (40).

Baz Eksizyon Tamiri, DNA bazlarının doğal hidrolizi veya kimyasal ajanlar nedeni ile oluşan uygun olmayan bazların tamiri ile ilgilidir. BER'de görev alan enzim DNA glikozilazdır. Spontan veya kimyasallarla olan deaminasyon veya iyonize radyasyon ve oksidatif hasar sonucu oluşan baz değişikliklerine spesifiktir (urasil, hipoksantin, 3-metiladenin vb.). DNA glikozilaz, uygun olmayan bazı tanıır. Deoksiriboz şeker ve baz arasındaki N-glikozidik bağın hidrolizi ile uzaklaştırır. Lezyona spesifik glikozilaz enzim formu kullanılır (Örn: Urasil-DNA glikozilaz). Abazik (apirimidinik ya da apürinik) bölge oluşur (AP bölge). AP bölgeyi spesifik AP endonükleaz enzimleri tanıır ve bu zincirde bir çentik açar. Ekzonükleaz enzimi fosfat ve şekeri ayırır. Oluşan boşluk DNA polimeraz ile doldurulur ve ligaz ile fosfodiester bağlantı sağlanır (Glikozilaz, metillenmiş sitozinden amino grubunun uzaklaşmasıyla oluşan timini DNA'dan çıkartamaz, çünkü timin DNA için normal bir bazdır (41). Baz eksizyon tamir mekanizması Şekil 2-5'te gösterilmiştir.

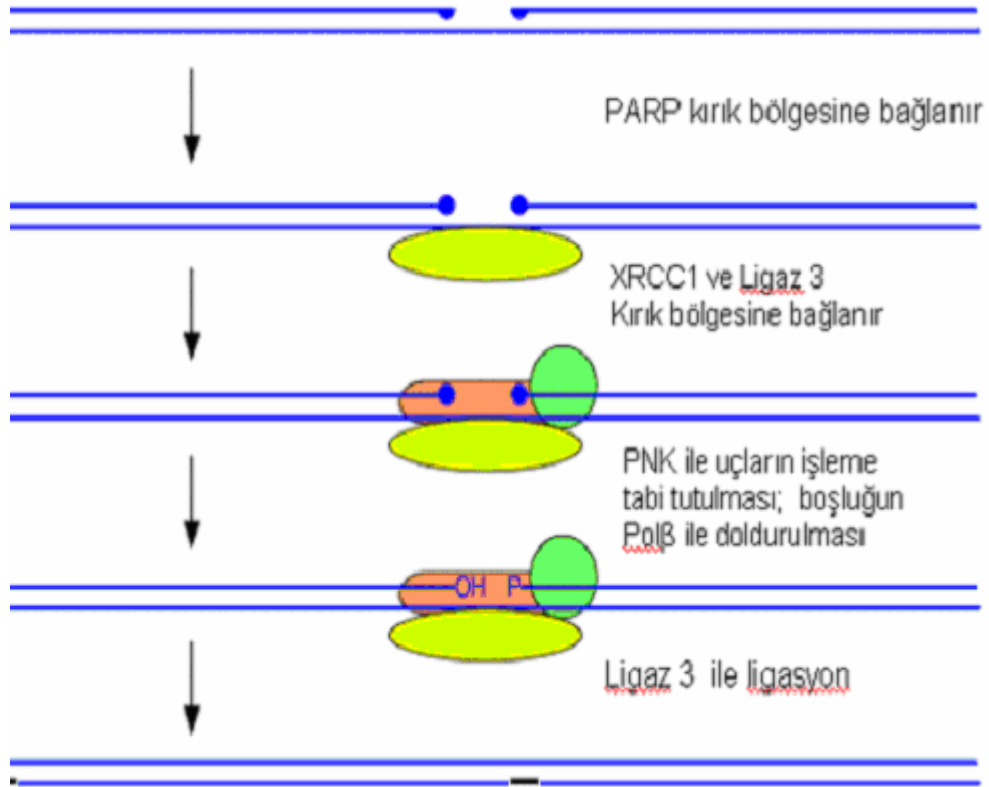
Şekil 2-5: Baz Eksizyon Tamiri



XRCC1'in DNA ligaz III, DNA polimeraz beta ve (PARP) poli-(ADP-riboz) polimeraz ile etkileşerek spesifik olarak baz eksizyon tamirinde önemli yeri olduğu düşünülmektedir (42).

Baz eksizyon tamirinde XRCC1'in rolü Şekil 2-6'da gösterilmiştir..

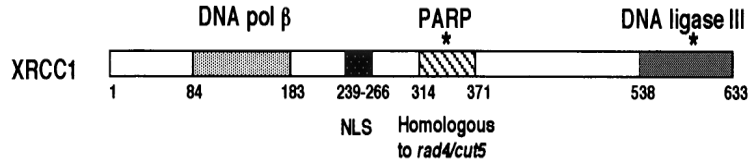
Şekil 2-6: Baz Eksizyon Tamirinde XRCC1



DNA zincir tamirinde ilk basamak zarar görmüş olan bazın veya moleküldeki yapısal değişimin PARP (sarı renkli) tarafından tanınmasıdır. PARP'ın bağlanması kırık tamirinde rol oynayan proteinler olan XRCC1 (turuncu renkli) ve DNA Ligaz III'ü de (yeşil renkli) harekete geçirir. Ardından polinükleotidkinaz (PNK) ile kırık uçları işleme tabi tutulur ve boşluklar polimeraz beta (Pol β) tarafından doldurulur. DNA ligaz ile de uçlar birleştirilir (42).

XRCC1 geni ile etkileşimde bulunan enzimlerin gen üzerindeki lokalizasyonları Şekil 2-7’de görülmektedir (43).

Şekil 2-7: Baz Eksizyon Tamirinde XRCC1 ile Etkileşimde Bulunan Enzimlerin Gen Üzerindeki Lokalizasyonları



2.2.5. XRCC1 GENİ POLİMORFİZMLERİ

XRCC1'in endojenik ve ekzojenik DNA hasarlarının giderilmesinde anahtar bir role sahip olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda XRCC1'in kodlayıcı bölgesinde kodon 194 (Arg-Trp), kodon 280 (Arg-His) ve kodon 399 (Arg-Gln) olarak adlandırılan üç adet polimorfizm tanımlanmıştır. Bu polimorfizmler evrimsel olarak korunmuş bölgelerde bir aminoasit değişimini içerir ve XRCC1'in fonksiyonunda azalmaya sebep olabilmektedir (38).

XRCC1 geni ekzon 6 kodon 194'te 26304. pozisyonda Sitozin/Timin (C/T) değişiminin neden olduğu polimorfizm, protein yapısında Arginin/Triptofan (Arg-Trp) değişimine neden olmaktadır. XRCC1 geni ekzon 9, kodon 280 (Arg/His) polimorfizmi de, protein yapısında (Arg/His) aminoasit değişimine neden olmaktadır. XRCC1 geni ekzon 10, kodon 399'da 28152. pozisyonda Guanin/Adenin (G/A) dönüşümünün neden olduğu bir başka polimorfizm ise, protein yapısında Arg/Gln aminoasit değişimine neden olmaktadır. Arg399Gln polimorfizminde PARP bağlanma bölgesindeki baz değişiminden dolayı, genin kodladığı protein fonksiyonel değişime uğramaktadır (35).

XRCC1 genine ait 44 adet Single Nucleotide Polymorphisms-Tek nükleotid polimorfizm (SNP) tanımlanmıştır. Tablo 2-4 XRCC1 genine ait SNP'leri göstermektedir.

Tablo 2-4: XRCC1 Polimorfizmleri

(www.atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_XRCC1)

SNP yeri	No	Aminoasit pozisyonu
Ekzon 17	rs3547	632
	rs61083190	632
Ekzon 16	rs2307177	576
	rs2682557	576
	rs58813860	576
	rs2307182	571
Ekzon 15	rs2307181	562
	rs2307166	560
	rs2307167	559
Ekzon 14	rs41561817	528
	rs25474	514
Ekzon 13	rs2307184	485
Ekzon 11	rs2293035	418
	rs2307179	407
Ekzon 10	rs25487	399
	rs11553658	399
	rs17435395	399
	rs57378728	399
	rs2271980	381
Ekzon 9	rs2307173	326
	rs25491	309
	rs25490	304
	rs3213366	300
	rs2307188	298
	rs25489	280
Ekzon 7	rs915927	206
	rs57689566	206

SNP yeri	No	Aminoasit pozisyonu
Ekzon 6	rs2307192	199
	rs1799782	194
	rs2307170	190
	rs56357789	183
Ekzon 5	rs2397191	161
	rs2307168	158
	rs2307180	157
Ekzon 4	rs2228487	107
Ekzon 3	rs41558313	78
	rs25496	72
	rs2307185	56
	rs25495	51
	rs2307174	50
Ekzon 2	rs2307189	42
Ekzon 1	rs2307171	10
	rs2307186	7
	rs11553659	5

2.2.6. XRCC1 POLİMORFİZMLERİNİN HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

Jeon ve ark. Güney Kore’li kadınlar üzerinde yaptıkları bir araştırmada, Arg399Gln polimorfizminin artmış uterin leiomyoma riski ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. (44).

Chacko P.ve ark, kodon 194 ve kodon 399 polimorfizmlerinin Güney Hindistan kadın popülasyonunda meme kanseri risk artışıyla beraber olduğunu göstermiştir (45).

Xu Z ve ark. Güney Çin’de yaptıkları bir çalışmada, erkeklerde XRCC1 polimorfizmlerinin (kodon 194, 280 ve 399) prostat kanseri riskini arttırdığını saptamışlardır (46).

Saadat M ve ark.nın yaptığı çalışmanın sonuçları XRCC1 genindeki polimorfizmlerin şizofreniye yakınlıkta aday gen olabileceği yönündedir (47).

Mahabir S ve ark. XRCC1 polimorfizmlerinin inme etyolojisinde etkili olabileceğini göstermiştir (48).

Doğru-Abbasoğlu ve ark. XRCC1 geni Arg194Trp polimorfizminin geç başlangıçlı Alzheimer Hastalığı gelişiminde rolü olabileceğini bildirmişlerdir (49).

Wang Z. ve ark. XRCC1 geni kodon 399 için (Arg399Gln) için en az bir varyant allel taşıyan sisplatin ile tedavi görmüş hastaların 2.5 kat artmış grade 3 veya 4 gastrointestinal toksisite riski ile karşı karşıya oldukları sonucuna ulaşmışlardır (50).

Liu B ve ark. XRCC1 geni kodon 399 için homozigot bireylerde (Gln399Gln) prognoz çok kötü olduğunu göstermişlerdir (51).

Gu ve ark. idiyopatik azospermisi olan bir grup Çin popülasyonunda yaptıkları araştırmada, XRCC1 polimorfizmlerinin idiyopatik azospermi gelişiminde rolü olduğunu göstermişlerdir (52).

Loizidou ve ark. 2008 yılında yayınladıkları bir çalışmada, XRCC1'de SNP'lerdeki varyasyonların meme kanserine yatkınlığı etkileyebileceğini bildirmişlerdir (53).

Silva ve ark.nın 241 meme kanserli hasta üzerinde yaptığı çalışma, menapozal yaştaki kadınlarda XRCC1 Arg194Trp and Arg399Gln polimorfizmlerinin meme kanseri riskini bireysel olarak etkileyebileceğini düşündürmüştür (54).

Pachouri ve arkadaşları kuzey Hindistan popülasyonunda XRCC1 Arg399Gln ve Arg194Trp polimorfizmlerinin bu popülasyonda akciğer kanseri riskini etkileyebileceği görüşüne varmışlardır (55).

Diğer yandan, bu polimorfizmlerin kanser riskini azalttığını bildiren çalışmalar da vardır. Üst gastrointestinal sistem kanseri için yüksek riskli Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada, XRCC1 Arg399Gln varyant genotipinin üst gastrointestinal sistem kanseri riskini azalttığı, hem Arg194Trp hem de Arg399Gln varyant genotipini taşıyan bireylerde riskin daha da azaldığı bildirilmiştir (56).

Pakakasama ve ark. XRCC1 kodon194 Trp/Trp genotipinin çocukluk çağı ALL riskini önemli ölçüde azattığını, XRCC1 399Gln allelinin ise önemli derecede arttırdığını göstermişlerdir (57).

Bunların dışında, bazı araştırmacılar XRCC1 gen polimorfizmleri ile bazı kanserler arasında kayda değer bir fark bulamamışlardır. Kipikasova ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada, XRCC1 geni ekzon 10'da (Arg399Gln, G/A) tek nükleotid polimorfizmi açısından meme kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farka rastlamamışlardır (58).

Wang C ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir meta analizde, XRCC1 geni Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln polimorfizmleri ile mesane kanserine yatkınlık arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (59).

Ferguson ve ark. 2008 yılında yayınladıkları bir makalede, XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi ile reflü özofajit, Barret özofagusu ve özofagus adenokarsinoması arasında bir birliktelik olmadığı sonucuna varmışlardır (60).

Romanowicz-Makowska ve ark. XRCC1 Arg194Trp and Arg399Gln polimorfizmleri ile meme kanseri arasında bir ilişki bulamamışlardır (61).

2.3. KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ

KKD (Kardeş kromatid değişimi), eş kromozom lokuslarında iki kromatid arasında meydana gelen ve kromozom morfolojisinde değişikliğe neden olmayan karşılıklı segment değişimi olarak tanımlanır. KKD sıklığının belirlenmesi sitogenetik bir teknik olup, klastogenisitenin, genotoksisitenin veya genetik instabilitenin araştırıldığı çalışmalarda kullanılmaktadır. Günümüzde KKD sıklığında artış kanser riskinde artışın ve mutajen etkisinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (62).

KKD sürecinde, DNA'nın duplikasyonu sırasında kromatidler arasında parça değişimi olurken, DNA sarmalında kırıklar oluşur. Bu olay, hücre siklusunun S fazında normal olarak da meydana gelebilmekte ancak DNA replikasyonunu engelleyen mutajenlerin etkisi altında daha sık olmaktadır. KKD onarım ile nokta mutasyonlarının, gen amplifikasyonlarının ve sitotoksisitenin indüksiyonu ile yakın ilişkilidir (62).

KKD ilk defa 1957 yılında J.H. Taylor tarafından gözlenmiştir. Taylor, H3 Timidin bağlanmasını müteakip non-radyoaktif ortamda kromozomların kardeş kromatidleri arasındaki parça değişimini tarif etmiştir. Ancak yöntem çok zaman alıcı ve radyoaktivite içermesi dolayısıyla yaygın olarak kullanılmamıştır. 1972 yılında Zacharov ve Egolina timidin analogu olan 5-bromodeoksiüridin (BrdU)'i kardeş kromatidleri göstermek amacıyla Çin hamster hücre kültürlerinde kullanmışlardır. BrdU replikasyon sırasında yeni yapılan DNA molekülünün yapısına girmekte ve bunu takiben Giemsa ile boyamada iki kardeş kromatid farklı olarak boyanmaktadır. Yapısında BrdU bulunan DNA, Hoechst 33258 boyasına diğer kromatiden daha sıkı bağlanmakta ve ışığa maruz kaldığında boyayı kolay bırakmamaktadır. Bu nedenle daha sonra preparat Giemsa ile boyandığında BrdU içeren DNA daha açık boyanmakta ve floresan mikroskopta mavi yeşil renk vermektedir. KKD sıklığının araştırılması yöntemi, en sık olarak periferik kanda lenfositler üzerinde uygulanır. Lenfositlerin aspesifik bir antijen olan fitohemaglutinin ile stimule edilerek bölünmeleri sağlanır (62).

KKD sıklığının araştırılması yöntemi, kullanılan tekniğin özelliği nedeniyle hassasiyet gerektirmektedir. Kültüre ilave edilen BrdU konsantrasyonlarındaki minör değişimlerin, sonuçları anlamlı derecede etkilediği bildirilmiştir. KKD, bir kromozomun kardeş kromatidleri arasındaki değişimi ifade eder. Kardeş kromatidler arasındaki parça değişimleri ışık mikroskobu altında metafaz plaklarında kolaylıkla tespit edilebilir ve sayılabilir. KKD sıklığı, sayılan kardeş kromatid değişimi sayısının incelenen metafaz

sayısına (en az 30, ideal olarak 50 metafaz plağı) bölünmesiyle elde edilmektedir. Artan kardeş kromatid değişimi sıklığı mutajenik etkinin varlığını gösterebilir. Sağlıklı kişilerin periferik kan lenfosit kültürlerinde KKD sıklığı laboratuardan laboratuara farklılık göstermektedir. Ayrıca sağlıklı insan B ve T hücreleri KKD sıklığı yönünden değerlendirilmiş, anlamlı farklar elde edilmemiştir. Bronşiyal epitel hücrelerinin çevresel etkenler ile daha fazla etkileşimlerinin olmasından yola çıkılarak, bu hücreler KKD sıklığı yönünden değerlendirilmiş, akciğer kanseri riskine yol açan genetik hasarın bu yöntem ile belirlenebileceği bildirilmiştir (62).

Viral enfeksiyonlar, malign hastalıklar, kimyasal maddeler ve ultraviyole ışığına maruz kalmanın KKD sıklığını artırdığı gösterilmiştir (62).

KKD hücre bölünmesinin normal bir özelliği olarak da meydana gelebilmekle birlikte, kromozom morfolojisinde değişikliğe neden olmamakta; fakat hücre DNA'sı genotoksik ajanlar tarafından zarar gördüğünde sıklığı artmaktadır (63).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

Çalışmamızda 2006-2008 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı'nda takip ve tedavisi yapılan Kronik Lenfositik Lösemili 31'i kadın (ortalama yaş 60 ± 7 , yaş aralığı 44-73) 42'si erkek (ortalama yaş 62 ± 9 , yaş aralığı 43-81) 73 olgunun ve kontrol grubu olarak belirlenen sağlıklı 25'i kadın (ortalama yaş 62 ± 9 , yaş aralığı 46-82) ve 25'i erkek (ortalama yaş 58 ± 8 , yaş aralığı 44-74) 50 bireyin alınan periferik kan örnekleri gereç olarak kullanıldı.

Tablo 3-1: Grupların Cinsiyet Dağılımı

	CİNSİYET	SIKLIK	YÜZDE (%)
KLL	K	31	42,5
	E	42	57,5
	TOPLAM	73	100
KONTROL	K	25	50
	E	25	50
	TOPLAM	50	100

Tablo 3-2: Gruplar Arası Yaş Dağılımı ve Ortalamalar

	Sayı	Cinsiyet	Aritmetik Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Hasta	73					
	31	K	60	7	44	73
	42	E	62	9	43	81
Kontrol	50					
	25	K	62	9	46	82
	25	E	58	8	44	74

Hastaların Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Ulusal Sağlık Enstitüsü desteğindeki Uluslararası çalışma grubunun 1996 yılında belirlediği tanı kriterleri esas alınarak teşhisi konmuş KLL'li hastalar çalışmaya dahil edildi.

Hastalar gönüllü bilgilendirme formunu dikkatlice okuduktan sonra ve araştırmaya katılmayı kabul ettiklerine dair imzaları alındıktan sonra araştırmaya dahil edildiler.

Kontrol Grubu Bireylerin Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Herhangi bir sistemik hastalığı olmayan yaşları 18'den fazla sağlıklı bireyler gönüllü bilgilendirme formunu dikkatlice okuduktan sonra ve araştırmaya katılmayı kabul ettiklerine dair imza attıktan sonra araştırmaya dahil edildiler.

Kimyasallar

Agaroz

Bromo fenol mavisi

Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)

Etidium bromid

Etil alkol

Mineral yağ (Sigma)

Tris – HCl (Sigma)

Kullanılan Cihazlar

Termal döngü cihazı	(Techne, Biorad)
Yatay elektroforez	(Bio-Rad)
Güç kaynağı	(EC Appatus corporation)
CCD kamera- bilgisayar donanımı	(Mitsubishi, Macintosh centis 650)
UV-transilluminatör	(Bio-Rad)
Spektrofotometre	(Nanodrop)
Çalkalamalı su banyosu	(Memmert)

Çeker ocak	(Kermanlar)
Hassas Terazı	(Shimadzu)
Mikropipetler	(Gilson, Eppendorf)
Vorteks	(Kermanlar)
Masaüstü mini santrifüj	(Eppendorf)
Buzdolapları ve dondurucular (+40C ve -200C)	(Uğur, arçelik)
Distile su cihazı	(Milipore)
Hibridizasyon fırını	(Techne)
Soğutmalı santrifüj	(Heraus)

Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

DNA İzolasyonu için kullanılan çözeltiler

EDTA 0,5 M (1000 ml)

186,1g EDTA distile su ile 1000ml'ye tamamlanarak otoklavlandı ve oda ısısında muhafaza edildi.

Tris-HCl 1 M (1000 ml, pH 8.0)

121,1 g Tris-HCl distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. pH HCl ile 8.0'a ayarlandı ve otoklavlanarak oda ısısında muhafaza edildi.

Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) Stok Çözeltisi %10 (50 ml)

5 g SDS distile su ile 50 ml'ye tamamlandı. Sterilizasyon, 0.2-0.45 µm'lik membran ile filtre edilerek yapıldı. Oda ısısında muhafaza edildi.

Sodyum Klorür – NaCl 5M (100 ml)

29,22 g NaCl distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak otoklavlandı ve oda ısısında muhafaza edildi.

Amonyum asetat - NH₄Ac 9.5 M (1000 ml)

770 g NH₄Ac distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. 0.2-0.45 µm membran ile filtre edilerek oda ısısında muhafaza edildi.

Tris-EDTA (TE) Tamponu

(100 ml, pH 8.0)

1 ml 1M Tris-HCl ve 2 ml 0,5 M EDTA distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavlanarak oda ısısında muhafaza edildi.

Proteinaz K

(1ml, 20 mg/ml)

0,02 g proteinaz K 1 ml'ye steril distile su ile tamamlandı ve -20 °C'de saklandı.

Eritrosit parçalama solüsyonu (RBL)

(1000 ml, pH 7.4)

1 g KHCO₃, 200 µl 0,5 M EDTA, 8,74 g NH₄Cl distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. pH NaOH ile 7.4'a ayarlandı ve otoklavlanarak oda ısısında muhafaza edildi.

Lökosit parçalama solüsyonu (WBL)

(400 ml)

10 ml 4M NaCl, 20 ml 0,5 M EDTA distile su ile 400 ml'ye tamamlanarak otoklavlandı ve oda ısısında muhafaza edildi.

Agaroz Jel Elektroforez Çözeltileri**Etidium Bromür**

Steril distile su ile 10 mg/ml olacak şekilde stok hazırlandı.

6X Agaroz Jel Yükleme Tamponu

(10 ml)

10 ml steril distile su içinde %0,25 bromofenol mavisi, %30 Gliserol olacak şekilde 6X konsantrasyonda hazırlandı ve oda ısısından muhafaza edildi.

50X TAE (Tris-asetat EDTA)

(1000 ml)

292 gr Tris base, 57,1 ml glasiyal asetik asit ve 100 ml 0,5 M EDTA distile su ile 1000 ml'ye tamamlanarak otoklavlandı ve oda ısısında muhafaza edildi.

PZR Tepkimesi için Kullanılan Çözeltiler

Taq DNA polimeraz (rekombinant) (5U/ µl) MBI Fermantas. -20 °C'de muhafaza edilir.

PZR Tampon (10X)

100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, %0,8 nonidet P40. -20 °C'de muhafaza edilir.

MgCl₂ (25 mM) -20 °C'de muhafaza edilir.

dNTP 100 mM'lık deoksi-nükleotid trifosfatların her birinden 10 mM içerecek şekilde stok karışım hazırlanır. -20 °C'de muhafaza edilir.

Primerler: Hazır liyofilize şekildeki primerler, 100 µM stok çözelti hazırlanacak şekilde otoklavlanmış filtreden geçirilmiş distile su içerisinde vorteks ile çözülür.

-20 °C'de muhafaza edilir.

Kullanılan Kitler

1) DNA izolasyon kiti (Roche Maxi Kit)

Eritrosit parçalama solüsyonu (RBL)

1 g KHCO₃, 200 µl 0,5 M EDTA, 8,74 g NH₄Cl pH 7.4

Lökosit parçalama solüsyonu (WBL)

10 ml 4M NaCl, 20 ml 0,5 M EDTA

Protein Çökeltme çözeltisi

Etanol

TE (Tris-EDTA) tamponu; 1 ml 1M Tris-HCl ve 2 ml 0,5 M EDTA

Bağlama tamponu (Binding Buffer)

3M guanidine-thiocyanate, 10 mM Tris-HCl, % 5 Etanol, pH 6,6

Yıkama tamponu (Wash Buffer)

% 20 Etanol, 20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7,5

Elisyon tamponu (Elution Buffer)

10 mM Tris-HCl, pH 8,5

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Periferik Kandan DNA izolasyonu

10 ml periferik kan 50 ml'lik falkon tüpüne aktarılarak üzerine 30 ml RBL eklendi. 10 dk oda ısısında tüpler çalkalandıktan sonra + 4°C'de 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı atıldı ve pellet kısmı vortekslendi. 37°C'de 15 dk kristalizasyonu engellemek için pelletin üzerine, 5 ml bekletilmiş WBL

eklendi, karışım kırmızı/kahverengi olana kadar vortekslendi, RBL eritrosit hücre zarının parçalanmasını hızlandırmak için 37°C'de 15-30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 2.6 ml protein presipitasyon solüsyonu eklendi ve her bir örnek yaklaşık 25 sn vortekslendi. 4500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

Santrifüj sonrası süpernatant kısmı steril 50 ml'lik Falcon tüpe alınarak üzerine 1:2 oranında %100 etanol eklendi ve DNA'nın toplanması beklendi. Toplanan DNA steril 1.5'luk Eppendorf tüpe aktararak 56°C' de ısıtıcı bloklara konularak kalan alkolün uçması sağlandı.

Elde edilen DNA'nın miktarına göre 100-300 µl TE (Tris-EDTA) tamponu eklenerek DNA'nın çözünmesi için 56 °C'de 1 saat bekletildi ve DNA +4°C'de saklandı 10 ml periferik kan 50 ml'lik Falcon tüpüne aktararak üzerine 30 ml RBL eklendi. 10 dk tüpler ters yüz edildi. +4°C'de 1500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

DNA Konsantrasyonu ve Saflığının Ölçümü

İzole edilen DNA'ların konsantrasyon ve saflıkları ölçüldü. Stok DNA örneğinden 1 µl örnek Nanodrop'a konuldu. Hazırlanan örneğin spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boylarındaki absorpsiyon değerleri ölçüldü.

DNA konsantrasyonu ve saflığı aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

Konsantrasyon = 20 (sulandırma oranı) x 50 (sabit) x OD 260=ng/µl DNA

DNA'nın saflığı;

OD 260/280 > 1.8 RNA,

OD 260/280 < 1.8 protein, kontaminasyonu olarak değerlendirildi.

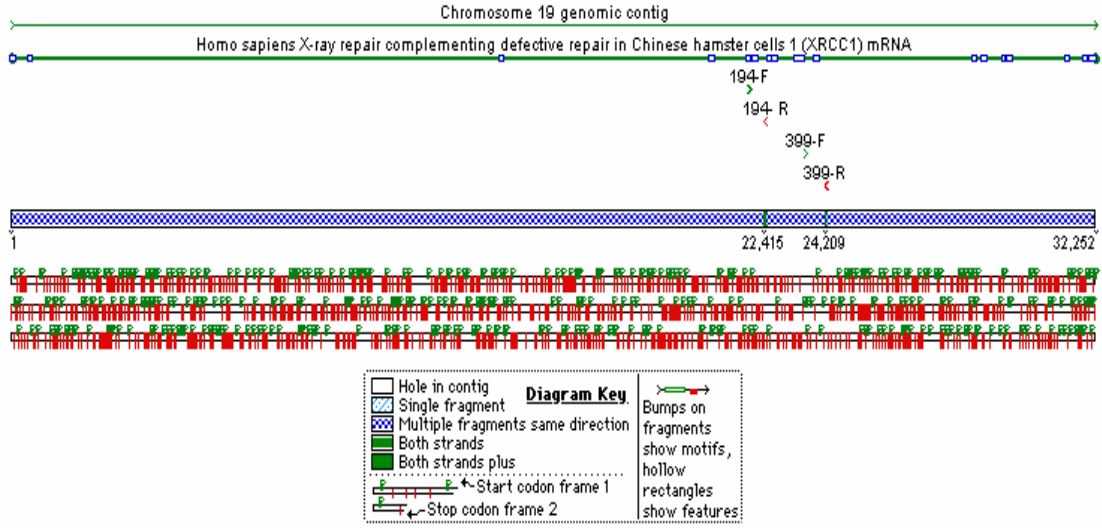
PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

XRCC1 geninin (NC_000019, GI: 42406306) Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizminin bulunduğu 6. ve 10. ekzon bölgelerini amplifiye etmek için "FastPCR" (Microsoft Visual Studio 6.0, Visual Basic 6.0 SP6) primer dizayn programı kullanılarak "forward" ve "reverse" primer çiftleri dizayn edildi. Dizayn edilen primerlerin "BLAST" programı ile Gen Bankasındaki insana ait diğer genlerdeki homolojisi araştırıldı ve başka genlere uymadığı saptandı.

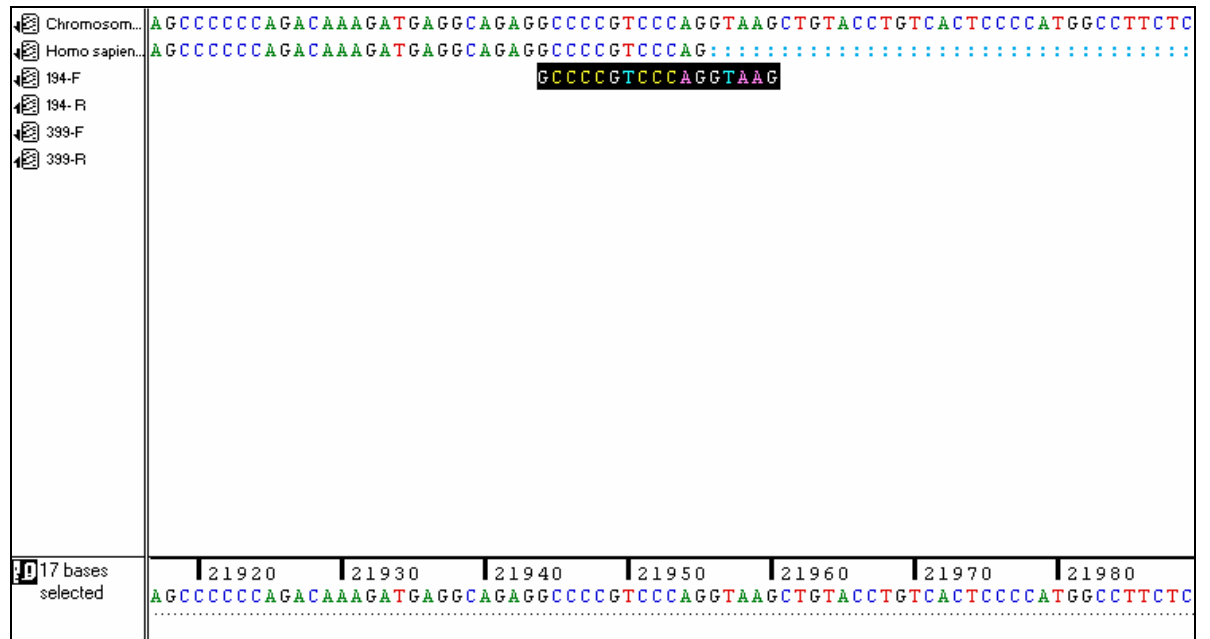
Hasta ve kontrol örneklerine ait genomik DNA'lar XRCC1 geninin 6. ve 10.

ekzon bölgesi PZR ile çoğaltıldı. Her reaksiyon için forward ve reverse olmak üzere iki çift primer kullanıldı.

Şekil 3-1: Ekzon dizileri ve primer yerleşimleri



Şekil 3-2: Primer 194 F'in yerleşimi



Tablo 3-3: Kullanılan Primer Dizileri

Primerler 5' → 3'
XRCC1 Kodon 194 (Ekzon 6) PZR forward: 5' - GCCCCGTCCCAGGTAAG - 3' PZR reverse: 5' - AGCCCCAAGACCCTTTCACT - 3'
XRCC1 Kodon 399 (Ekzon 10) PZR forward: 5' - TGTGCTTTCTCTGTGTCCA - 3' PZR reverse: 5' - TCCTCCAGCCTTTTCTGATA – 3'

Tablo 3-4: XRCC1 Geni Kodon 194 ve Kodon 399 PZR Koşulları

PZR Reaksiyon içeriği	Miktar	PZR reaksiyon koşulları		
Ekzon 6				
10X tampon	2.5 µl	Predenatürasyon	95 °C	5'
dNTP (2mM)	2 µl	Denatürasyon	94 °C	30''
Primerler (10pmol)	0.5 µl	Bağlanma (Annealing)	58 °C	50''
MgCl ₂ (25mM)	1,5 µl	Uzama (Elongasyon)	72 °C	40''
Taq polimeraz (MBI)	0,2 µl	Tamamlanma	72 °C	10'
DNA (100ng)	1 µl	Döngü sayısı	35	
Ekzon 10				
10X tampon	2.5 µl	Predenatürasyon	95 °C	5'
dNTP (2mM)	2 µl	Denatürasyon	94 °C	30''
Primerler (10pmol)	0,5 µl	Bağlanma (Annealing)	58 °C	50''
MgCl ₂ (25mM)	1.5 µl	Uzama (Elongasyon)	72 °C	40''
Taq polimeraz (MBI)	0,2 µl	Tamamlanma	72 °C	10'
DNA (100ng)	1 µl	Döngü sayısı	35	

Agaroz Jel Elektforezi

Toplam 25 µl hacimde gerçekleştirilen PZR sonunda elde edilen üründen kontrol amacı ile 10 µl örnek alınarak 6X agaroz yükleme tamponu ile karıştırıldı. %2'lik agaroz jele Puc-Mix (MBI) size marker ile birlikte yüklenen PZR ürünleri, 95 miliamper akımda yaklaşık 1 saat yürütüldü. UV ışık altında CCD kamera ile elde edilen görüntüler bilgisayara aktarıldı.

Agaroz Jelin Hazırlanması

% 2'lik konsantrasyonda agaroz jel hazırlanması için 1g agaroz tartılarak 50 ml TAE solüsyonu içinde bir beherde çözündürüldü. Karışım mikrodalga fırında homojenize olana dek kaynatıldı. Takiben 56⁰C'ye kadar soğutularak içerisine 10mg/ml stok olarak hazırlanmış etidyum bromür solüsyonundan 1 µl çeker ocak altında eklendi. Sıvı haldeki agaroz elektroforez tepsisine döküldü. Taraklar yerleştirildi ve jelin polimerizasyonu için beklendi. Tepsi 1XTAE solüsyonu içeren yatay elektroforez tankına yerleştirildi.

Agaroz Jelin Yüklenmesi- Elektforezi- Görüntülenmesi

Daha önce hazırlanan agaroz jeli, içinde TAE yürütme tamponu bulunan tanka, kuyular negatif elektroda yakın olacak şekilde yerleştirildi. PZR ürünlerinin jeldeki kuyucuklara çökmesini sağlamak amacıyla 6X brom fenol mavisi içeren yükleme tamponundan 1µl, PZR ürününden 6 µl örnek karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi. Bütün örnekler ve Puc-Mix (MBI) boyut belirteci (DNA size marker) yüklenmesini takiben tankın elektrotları güç kaynağına bağlandı ve 80-90 V doğru akımda örnekler yaklaşık 15-30 dakika yürütüldü. İşlem sonunda jel UV ışığı altında CCD kamera ile görüntülendi ve görüntüler bilgisayara aktarıldı.

Restriksiyon Enzim Kesimi ile Polimorfizm Taraması

XRCC1 geni Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizmi için Hpa II restriksiyon enzimi tanıma bölgesi içermektedir. XRCC1 geni ekzon 6, kodon 194'te 26304. pozisyonda Sitozin/Timin (C/T) değişiminin neden olduğu polimorfizm protein yapısında Arginin/Triptofan (Arg-Trp) değişimine neden olmaktadır. XRCC1 geni ekzon 10, kodon 399'da 28152. pozisyonda Guanin/Adenin (G/A) değişiminin neden olduğu polimorfizm ise, protein yapısında Arginin/Glutamin (Arg/Gln) aminoasit değişimine neden olmakta ve bu dönüşüm tanıma bölgesinin değişimine neden olmaktadır. Böylece nükleotid değişimi olan örneklerde restriksiyon kesimi meydana gelmemektedir. Polimorfizmlerin taranması amacı ile çoğaltılan örnekler tablo 3-5'te belirtilen şartlarda Hpa II restriksiyon enzim kesimi yapıldı

Tablo 3-5: Hpa II Restriksiyon Enzim Kesim Şartları

Reaksiyon karışımı	Miktarı
10 X Buffer	2,0 µl
ddH ₂ O	7 µl
Enzim (5u/µl)	1 µl
PZR ürünü	10,0 µl
Toplam hacim	20,0 µl

37⁰C'de 4 saat inkübe edildi.

İnkübasyon sonrasında örnekler reaksiyonun sonlanması için -20⁰C'ye konuldu. Kesim ürünlerinin bant boyutlarının birbirine yakın olması nedeni ile örnekler % 4 agaroz jel elektroforezinde “size markerla” kontrol edildi.

3.2.2. Kardeş Kromatid Değişimi Sıklığı Araştırılması

Periferik Kan Lenfosit Kültürü

KLL’li hastalardan ve kontrol grubundan 2 ml kan alınarak, Moorhead ve ark. geliştirdiği periferik kan lenfosit kültürü metodu uygulandı (64).

Kültür medyumunu olarak RPMI–1640 kullanıldı. Periferik kan lenfosit kültürü için RPMI–1640 içine %20 FCS (Fetal calf serumu), %1 L-glutamin, %1 penisilin, 1.5 ml fitohemaglutinin, 1% TPA (forbol 12-miristat 13-asetat.), %1 *Phytolacca americana* lectini “pokeweed” ilave edildi.

Onbeş ml’lik steril polistiren tüplere periferik kan kültür medyumundan 5 ml ilave edildi ve inkübatörde 37°C’ye getirilip 5 damla kan ilave edildi. Yirmidördüncü saatte 0.5 mikrogram/ml stok bromodeoksiüridin (BrdU) ilave edilerek hafifçe karıştırıldı ve ışık geçirmeyen folyo kağıdı ile sarılıp etüve kondu. Yetmişiki saatlik inkübasyondan sonra harvest işlemine geçildi.

Stok Bromodeoxyuridine Solüsyonu Hazırlanması: 0.025 g BrdU tartılıp 50 ml distile suda eritildi. 0.22 mikrometrelik Millex steril filtre ile sterilize edilip derin dondurucuda saklandı.

Harvest İşlemi :

Kültürlerin 70. saatinde kültür tüpü etüvden çıkarılarak 0.1 ml Colcemid (1 ml distile suda 4 mg eritilmiş) ilave edildi, karıştırıldı, tekrar kapağı kapatılarak etüve kaldırıldı. Tüpler 72. saatte çıkarılarak 5 dakika 1500 rpm’de santrifüj edildi ve süpernatant atıldı, Önce 1 cc 0.075 M KCl (1.398 g KCl 250 ml distile suda eritilmiş) ilave edilip hafifçe çalkalandı. Daha sonra 0.075 M KCl ile 10 ml’ye tamamlandı (hipotonik ile muamele). Oda ısısında 10 dakika bekletildi. 1500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Tüplerin diplerinde yaklaşık 1 cc kalacak şekilde süpernatant atıldı. Kalan hücre kümesi hafifçe çalkalanarak dağıtıldı. Daha sonra taze hazırlanmış fiksatif (3 kısım metanol + 1 kısım glasiyal asetik asit) damla damla damlatılarak mikserle karıştırıldı. Ardından fiksatif 10 ml’ye tamamlanarak kuvvetlice çalkalandı. Yaklaşık 30 dakika oda ısısında bekletildi. Tüpler 5 dakika 1500 rpm’de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. 8 ml fiksatif kondu. Tekrar 5 dakika 1500 rpm’de santrifüj edilip, süpernatant atıldı. Dipteki çökeltiye 1-1.5 ml fiksatif ilave edilerek hücre süspansiyonu hazırlandı.

Preparatların Hazırlanması :

Her olgu için 5'er lam iyice temizlendi. Hastanın adı, soyadı yazıldı. Üzerine pipetle 5-6 damla hücre süspansiyonu damlatılarak hafifçe üflendi. Hazırlanan preparatlar havada kurutuldu.

Solüsyonlar :

Buffer solüsyonu : 1 tablet buffer (Gurr's tablet) 1 lt distile suda eritildi

Stok Leishman boyası: 40°C'de Benmaride ısıtılan metanolde (Merck 6009) 0.2 g Leishman (Sigma) boyası eritildi.

Leishman çalışma solüsyonu :1 kısım stok Leishman + 4 kısım buffer solusyonu

PBS solüsyonu 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 0.92 g Na₂HPO₄, 0.2 g KH₂PO₄ tartılıp 1 lt distile suda çözündürüldü.

KKD İncelemesi İçin Floresan + Giemsa Tekniği (FPG) Gerekli Solüsyonlar :

Hoechst 33258 stok solüsyonu: 0.05 gr. Hoechst 33258 tartılıp 10 ml PBS'de eritildi. Hoechst 33258 çalışma solüsyonu: 0.1 ml stok Hoechst 33258 solüsyonu 99.9 ml PBS ile dilüe edildi.

2xSSC solüsyonu: 17.5 g. NaCl, 8.82 g Na₃C₆H₅O₇. 2H₂O tartılıp 1000 ml distile suda çözündürüldü.

İşlem Basamakları

BrdU ilave edilen kültürden elde edilen preparatlar 5 dakika PBS'de tutuldu.

10 dakika Hoechst 33258 çalışma solüsyonunda bekletildi.

Çıkarılan preparatların üzerine 3-4 damla Hoechst 33258-PBS (1 kısım stok Hoechst 33258 + 1 kısım PBS) konup üzeri 24x50 mm lamelle kapatıldı.

30 dakika 30 cm mesafeden siyah ışığa (GE Black light, F20 T12-BLB) maruz bırakıldı.

Preparatlar distile suda iyice yıkandı.

60-65°C'deki 2xSSC'de 30 dakika tutuldu.

Distile suda iyice yıkandı.

Leishman çalışma solüsyonunda 3.5 dakika boyandı.

Distile suyla yıkanan preparatlar mikroskopta incelendi.

Mikroskopta İnceleme

Kardeş Kromatid Değişimi FPG (Fluoresan + Giemsa tekniği) ile boyanan preparatlarda kardeş kromatid değişimi sayıları ve kromozomlara dağılımı ışık mikroskobunda düzgün metafazlar seçilerek incelendi. Terminal değişimler bir, interstisyel değişimler iki değişiklik olarak sayıldı. Bir olguda sayılan toplam KKD sayısı incelenen metafaz sayısına bölünerek bir hastanın metafaz başına düşen ortalama KKD sayısı tespit edildi. Hasta ve kontrollerde ortalama 20 metafaz sayıldı.

İstatistiksel Analiz

Sıklık tabloları ve istatistiksel karşılaştırmalar “SPSS 11,0 istatistiksel paket programı” ile hesaplandı. Allel sıklıkları ve gen sıklıklarının hasta ve kontrol grupları arasında anlamlılık ve O.R.ları (Odds Ratio) Ki-Kare (χ^2) testleri ile belirlendi.

Kardeş kromatid değişiminin hasta ve kontrol grupları arası değer farklılıkları nonparametrik Mann-Whitney U testi ile hesaplandı. $p=0,05$ istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

Kardeş Kromatid Değişimi ve XRCC1 Polimorfizmleri arasındaki ilişki Krunkal-Wallis ve Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda 2006-2008 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı tarafından takip ve tedavisi yapılan KKL'li 31'i kadın (ortalama yaş 60 ± 7 , yaş aralığı 44-73) 42'si erkek (ortalama yaş 62 ± 9 , yaş aralığı 43-81) 73 olgunun ve kontrol grubu olarak belirlenen sağlıklı 25'i kadın (ortalama yaş 62 ± 9 , yaş aralığı 46-82) ve 25'i erkek (ortalama yaş 58 ± 8 , yaş aralığı 44-74) 50 bireyin periferik kan örneklerinden elde edilen lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi sıklıkları değerlendirilmiş ve XRCC1 geninde Arg399Gln ve Arg194 Trp polimorfizmleri açısından genotip analizi yapılmıştır.

4.1. KKD Sıklıkları İle İlgili İstatistiksel Değerlendirmeler

KLL'li hastalar ve sağlıklı kontrol grubu bireylerin KKD sıklıkları değerlendirildiğinde, metafaz başına ortalama KKD sıklıkları KLL'li hastalar için 9.2 ± 4 sağlıklı kontrol grubu bireyler için 7.5 ± 2 olarak bulunmuştur. KKD sıklıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde KLL'li hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.02$) fark bulunmuştur (Tablo 4-1).

Tablo 4-1: KLL'li Hasta ve Kontrol Grubunun Metafaz Başına KKD Sıklıkları

KKD	Aritmetik Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maksimum	Toplam
Hasta	9.2	4	5	22	73
Kontrol	7.5	2	5	16	50

Şekil 4-1: KLL'li Bir Hastanın Metafazında İzlenen Kardeş Kromatid Değişimleri



Şekil 4-2: KLL'li Bir Hastanın Metafazında İzlenen Kardeş Kromatid Değişimleri



Şekil 4-3: Sağlıklı Kontrol Grubundan Bireyin Metafazında İzlenen Kardeş Kromatid Değişimleri



4.2. XRCC1 Geni Analiz Sonuçları

XRCC1 geni kodon 194 ve kodon 399 polimorfizmleri; Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemleriyle belirlendi.

XRCC1 geni Arp194Trp polimorfizminin tespiti için;

F 5'-GCCCCGTCCCAGGTAAG-3' ve R 5'-AGCCCCAAGACCCTTTCACT-3' primerleri,

XRCC1 geni Arg399Gln polimorfizminin tespiti için de

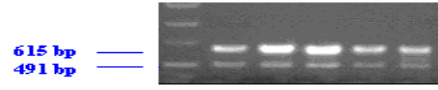
F 5'-TTGTGCTTTCTCTGTGTCCA-3' ve R 5'-TCCTCCAGCCTTTTCTGATA-3' primerleri kullanıldı.

PZR işlemi; toplam 25 µl hacminde, 1 µl DNA örneği, 2 µl dNTP's (2.5Mm), her primerden (10pmol) 0,5 µl , 1,5 µl MgCl (25mM), 2,5 µl 10xTampon, 0,2 µl Taq polimeraz enzimi içerecek şekilde distile su eklenerek gerçekleştirildi.

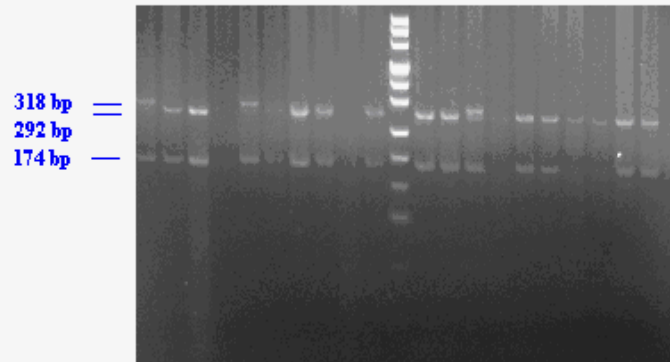
Başlangıç denatürasyonu olarak 95 °C'de 5 dk. sonra; 35 siklus; 94 °C'de 30 sn denatürasyon, 58 °C'de 50 sn primer bağlanma (annealing), 72 °C'de 40 sn uzama (elongasyon) ve 72 °C'de 10 dk bekletilerek amplifikasyon tamamlandı.

PZR ürünlerinin yatay elektroforezde %2 agaroz jel kullanılarak UV altında görüntülenmesi sağlandı. Kodon 194 için 491 bp uzunluğunda, kodon 399 için ise 615 bp uzunluğunda fragman amplifiye edildi (Şekil 4-4). Amplifiye olan PZR ürünlerine restriksiyon enzim kesimi Hpa II ile yapıldı. Enzim kesimi su banyosunda 37 °C'de gece boyunca bekletildikten sonra %4 agaroz jel kullanılarak yapıldı. Kodon 194'te, WT (Wild Type, Homozigot Normal) alleli için (194Arg) HpaII'nin 2 kesim bölgesi vardır, Arg/Arg genotipinde 292, 174, 24 bp lik fragmanlar görülür. Trp/Trp genotipinde ise enzimin tek kesim bölgesi olacağından 318 ve 174 bp'lik 2 fragman ve Arg/Trp genotipinde 318, 292, 174, 24 bp'lik 4 fragman meydana gelmektedir (Şekil4-5). Kodon 399'da WT (Wild Type, Homozigot Normal) allel (Arg/Arg) için tek kesim noktası vardır. Arg/Arg genotipinde 374 ve 241 bp'lik fragmanlar, Gln/Gln genotipinde kesim bölgesi ortadan kalktığı için 615 bp'lik tek bir fragman oluşur ve Arg/Gln genotipinde ise 615, 374, 241 bp'lik 3 fragman oluşmaktadır (Şekil4-6).

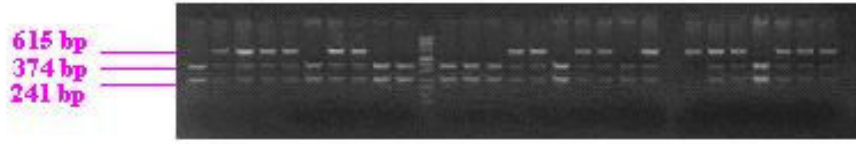
Şekil 4-4: XRCC1 Geni 6. Ekzon ve 10. Ekzon PZR Ürünlerinin % 2 Agaroz Jel Elektroforezinin UV ile Görüntülenmesi



Şekil 4-5: XRCC1 Geni Kodon 194 Bölgesinin Kesimine Ait Örnek



Şekil 4-6: XRCC1 Geni Kodon 399 Bölgesinin Kesimine Ait Örnek



4.3. XRCC1 Gen polimorfizmlerinin KLL'li hasta grubunda değerlendirilmesi

KLL'li 73 hastanın kodon 194 için; 64'ü homozigot normal (Arg/Arg), 8'i heterozigot mutant (Arg/Trp), 1'i homozigot mutant (Trp/Trp) bulunmuştur. Kodon 399 için ise, 7'si homozigot normal (Arg/Arg), 50'si heterozigot mutant (Arg/Gln), 16'sı homozigot mutant (Gln/Gln) bulunmuştur (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: KLL'li Hastalarda Arg194Trp ve Arg399Gln Polimorfizmlerinin Dağılımı

(HOMOZİGOT NORMAL)	(HETEROZİGOT MUTANT)	(HOMOZİGOT MUTANT)
Arg 194 Arg	Arg194 Trp	Trp194 Trp
64	8	1
Arg 399 Arg	Arg 399 Gln	Gln 399 Gln
7	50	16

4.4. XRCC1 Gen Polimorfizmlerinin Sağlıklı Kontrol Grubunda Değerlendirilmesi

Sağlıklı kontrol grubu 50 bireyin kodon 194 için; 41'i homozigot normal (Arg/Arg), 9'u heterozigot mutant (Arg/Trp) bulunmuş, bu grupta homozigot mutant (Trp/Trp) bireye rastlanmamıştır. Kodon 399 için ise, 19'u homozigot normal (Arg/Arg), 26'sı heterozigot mutant (Arg/Gln), 5'i homozigot mutant (Gln/Gln) bulunmuştur (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: Kontrol Grubunda Arg194Trp ve Arg399Gln Polimorfizmlerinin Dağılımı

(HOMOZİGOT NORMAL)	(HETEROZİGOT MUTANT)	(HOMOZİGOT MUTANT)
Arg 194 Arg	Arg194 Trp	Trp194 Trp
41	9	0
Arg 399 Arg	Arg 399 Gln	Gln 399 Gln
19	26	5

4.5. Genotip Sıklıkları Arg194Trp

KLL'li hastaların DNA'ları XRCC1 kodon 194 Arg194Trp polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde, Arg/Arg genotipini taşıyanların sıklığı %87.67, Arg/Trp taşıyanların sıklığı %10.96 ve Trp/Trp taşıyanların sıklığı %1.37 olarak saptanmıştır. Sağlıklı bireylerin DNA'ları XRCC1 kodon194 Arg194Trp polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde, Arg/Arg genotipini taşıyanların sıklığı %82, Arg/Trp taşıyanların sıklığı %18 bulunmuş, ancak sağlıklı bireylerde Trp/Trp genotipi taşıyan bireye rastlanmamıştır (Tablo 4-4).

Arg194Trp polimorfizmi için genotip dağılımının hasta ve kontrol grubunda farklılık göstermediği bulunmuştur (p=0.394).

Tablo 4-4: Arg194Trp Polimorfizmi için Genotip Sıklıkları

	Arg/Arg sıklığı (%) (n)	Arg/Trp sıklığı (%) (n)	Trp/Trp sıklığı (%) (n)	Toplam (n)	p
Hasta	87.67 (64)	10.96 (8)	1.37 (1)	73	0.394
Kontrol	82 (41)	18 (9)	0 (0)	50	

4.6. Genotip Sıklıkları Arg399Gln

KLL'li hastaların DNA'ları XRCC1 kodon 399, Arg399Gln polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde, Arg/Arg genotipini taşıyanların sıklığı %9.59, Arg/Gln taşıyanların sıklığı %68.50 ve Gln/Gln taşıyanların sıklığı %21.91 olarak saptanmıştır. Sağlıklı bireylerin DNA'ları XRCC1 kodon 399, Arg399Gln polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde, Arg/Arg genotipini taşıyanların sıklığı %38, Arg/Gln taşıyanların sıklığı %52 ve Gln/Gln taşıyanların sıklığı %10 olarak saptanmıştır (Tablo 4-5).

Genotip sıklığı açısından XRCC1 geni Arg399Gln polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p=0.02).

Tablo 4-5: Arg399Gln Polimorfizmi için Genotip Sıklıkları

	Arg/Arg sıklığı (%) (n)	Arg/Gln sıklığı (%) (n)	Gln/Gln sıklığı (%) (n)	Toplam	P
Hasta	9.59 (7)	68.50(50)	21.91 (16)	73	0.02
Kontrol	38 (19)	52 (26)	10 (5)	50	

4.7. Allel Sıklıkları

Arg194Trp Polimorfizmi

KLL’li hastalarda 194Arg allel sıklığı %93.15 ve 194Trp allel sıklığı %6.85 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise aynı sıklıklar sırasıyla %91 ve %9 bulunmuştur (Tablo 4-6). İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde Arg194Trp polimorfizmi için KLL’li hastalar ve kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0.535$).

Tablo 4-6: Arg194Trp Polimorfizmindeki Allel Sıklıkları

	194Arg Alleli Sıklığı % , (n)	194Trp Alleli Sıklığı % , (n)	Toplam	O.R CI %95	p
Hasta	93.15 (136)	6.85 (10)	146	1.345	0.535
Kontrol	91 (91)	9 (9)	100	(0.526-3.439)	

Arg399Gln Polimorfizmi

KLL’li hastalarda 399Arg allel sıklığı %9.59 ve 399Gln allel sıklığı %90.41 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise aynı sıklıklar sırasıyla %38 ve %62 bulunmuştur. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde KLL’li hastalar ve kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

Tablo 4-7: Arg399Gln Polimorfizmindeki Allel Sıklıkları

	399Arg Alleli Sıklığı %, (n)	399Gln Alleli sıklığı %, (n)	Toplam	O.R CI %95	p
Hasta	9.59 (14)	90.41 (132)	146	1.46	<0.001
Kontrol	38 (38)	62 (62)	100	(1.24-1.72)	

399Gln alleli sıklığı hasta grubunda (%90.41) kontrol grubundan (%62) anlamlı şekilde yüksektir. (O.R=1.46, % 95 CI, 1.24-1.72, $p<0.001$).

4.8. KLL'li Hastalarda XRCC1 Geni Arg194Trp Polimorfizmleri ile KKD Sıklığı Arasındaki İlişkinin Araştırılması

XRCC1 geni Arg194Trp polimorfizmi için Arg/Arg, Arg/Trp ve Trp/Trp genotipi taşıyan hastalar KKD sıklıkları açısından karşılaştırıldığında bu üç genotip arasında Kruskal Wallis testi ile KKD açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (metafaz ortalamaları: Arg/Arg genotipi taşıyanlarda 9.18 ± 3.93 , Arg/Trp genotipi taşıyanlarda 9.48 ± 5.03 ve Trp/Trp genotipini taşıyanlarda 7.2 ± 0.00 , $p = 0.43$).

İkili genotip karşılaştırmaları ise Mann Whitney U testi ile yapıldı.

Arg/Arg ve Arg/Trp genotipi taşıyan hastalar (metafaz ortalamaları: sırasıyla 9.18 ± 3.93 ve 9.48 ± 5.03) KKD sıklıkları açısından karşılaştırıldığında bu iki genotip arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p = 0.24$).

Arg/Arg ve Trp/Trp genotipine sahip hastalar (metafaz ortalamaları: sırasıyla 9.18 ± 3.93 ve 7.2 ± 0.00) KKD sıklıkları açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p = 0.56$).

Arg/Trp ve Trp/Trp genotipine sahip bireyler (metafaz ortalamaları: sırasıyla 9.48 ± 5.03 ve 7.2 ± 0.00) KKD sıklıkları açısından karşılaştırıldığında bu iki genotip arasında yine anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p = 0.81$).

4.9. KLL'li Hastalarda XRCC1 Geni Arg399Gln Polimorfizmleri ile KKD Sıklığı Arasındaki İlişkinin Araştırılması

XRCC1 geni Arg399Gln polimorfizmi için Arg/Arg, Arg/Gln ve Gln/Gln genotipi taşıyan hastalar KKD sıklıkları açısından karşılaştırıldığında Kruskal Wallis testi ile KKD açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (metafaz ortalamaları: Arg/Arg genotipi taşıyanlarda 8.64 ± 2.36 , Arg/Gln genotipi taşıyanlarda 9.53 ± 4.43 ve Gln/Gln taşıyanlarda 8.34 ± 3.05 , $p = 0.22$).

İkili genotip karşılaştırmaları ise Mann Whitney U testi ile yapıldı.

Arg/Arg ve Arg/Gln genotipi taşıyan hastalar KKD sıklıkları açısından karşılaştırıldığında (sırasıyla 8.64 ± 2.36 ve 9.53 ± 4.43) anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p = 0.25$).

Arg/Arg ve Gln/Gln genotipi taşıyan hastalar KKD sıklıkları açısından karşılaştırıldığında ise (sırasıyla 8.64 ± 2.36 ve 8.34 ± 3.05) aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p = 0.05$).

Arg/Gln ve Gln/Gln genotipi taşıyan hastalar KKD sıklıkları açısından karşılaştırıldığında (sırasıyla 9.53 ± 4.43 ve 8.34 ± 3.05) aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.41$).

4.10. İstatistiksel Analiz

Sıklık tabloları ve istatistiksel karşılaştırmalar “SPSS 11.0 istatistiksel paket programı” ile hesaplandı. Allel sıklıkları ve genotip sıklıklarının hasta ve kontrol grupları arasında anlamlılık ve O.R.ları Ki-Kare (χ^2) testleri ile sınıandı.

Kardeş kromatid değişiminin hasta ve kontrol grupları arası değer farklılıkları nonparametrik Mann-Whitney U testi ile hesaplandı. $p=0.05$ istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

Polimorfizm ve KKD sıklığı karşılaştırmaları Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi ile yapıldı. $p=0.05$ istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

5. TARTIŞMA

KLL batı ülkelerinde en sık görülen lösemi tipidir. Bu ülkelerde yaşayan 65 yaşın üstündeki kişilerde gelişen lösemilerin %40'ını oluşturur (15). 30 yaşın altında çok nadir olmasına rağmen KLL'ye yakalanan kişilerin %20-30 kadarı 55 yaşın altındadır (16). Total senelik insidansın yaklaşık 100.000'de 3 olduğu saptanmıştır. Irk ve coğrafi bilgilere dayalı olarak yapılan çalışmalarda Kuzey Amerika, Avustralya ve Avrupa ülkelerinde yaşayan beyaz ve siyah ırkın, Çin, Japonya ve Hindistan'da yaşayan toplumlara göre bu lösemiye 20-30 kat daha fazla yakalandığı gösterilmiştir (17). Erkek/Kadın oranı : 2/1 dir (18).

Çalışma grubumuzdaki hastaların %57,5'i erkek, %42,5'i kadındır. Erkek:Kadın oranı 1.35'dir. Çalışmamızdaki erkek popülasyonu literatürde bildirilen oranlara göre daha düşüktür. Hastalarımızın yaşları 43-81 arasında değişmektedir. Yaş ortalamaları 62'dir. Literatürde 40 yaş altında nadir olgu bildirilmiştir. Hastaların yaş ortalamaları farklı çalışmalarda 63 ile 65 arasında değişmektedir (65, 66, 67, 68). Olgularımızın yaş dağılımı ve ortalamaları da buna uygunluk göstermektedir.

Vaka-kontrollü olarak yapılan etyolojik çalışmalarda kimyasal, radyasyon, diyet, viral enfeksiyon ve otoimmün hastalıkların KLL gelişmesinde önemli bir risk olduğu bugüne kadar kesin olarak gösterilememiştir (19). Fakat KLL'ye yakalanan kişilerin birinci ve ikinci derecedeki akrabalarında bu lösemi gelişme ihtimalinin yüksek olduğu bilinmektedir (20,21). Gunz F.W. ve ark. nın 909 farklı lösemi türleri olan hastalar üzerinde yaptığı bir çalışmada 72 hastanın, lösemili 1 veya daha fazla akrabası olduğunu ve 1. derece akrabalarında lösemi görülme insidansının yaklaşık 3 kat, uzak akrabalarında ise 2.3 kat arttığı gösterilmiştir (69). Literatürde ailesel KLL olgularına ait detaylı çalışmalar olmasına rağmen, bu kişilerin genel olarak genetik yapılarında bir bozukluk bulunamamıştır ve genetik geçiş mekanizması tam olarak tanımlanamamıştır (22).

XRCC1, DNA onarım genlerinden biri olup genom bütünlüğünün devamlılığında; kanser ve kalıtsal genetik hastalıkları oluşturan mutasyonlardan korunmada önemli rol oynamaktadır. DNA onarım genlerinin kodladığı proteinler veya enzimler genetik olarak polimorfiktir. Bu genlerdeki fonksiyonel polimorfizmlerin, oluşan proteinlerin yüksek ya da düşük aktivite göstermesi sonucu DNA tamir

kapasitesinde değişmeye neden olarak çeşitli kanser tiplerine yakalanma riskini arttırabileceği veya azaltabileceği üzerinde durulmaktadır (35).

XRCC1 geninin bir çok kanser türüyle ilişkisine dair yapılmış çalışmalar vardır. Buna karşılık XRCC1 gen polimorfizmlerinin KLL ile ilişkisi üzerinde durulmamıştır. Bu çalışmada, söz konusu polimorfizmler ile KLL arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmayı ve KLL patogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunmayı amaçladık. Bu hedefe yönelik olarak KLL hastaları ve sağlıklı kontrollerde XRCC1 geni Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizmleri değerlendirmeye alınmıştır.

Çalışmamıza dahil edilen 73 KLL’li hasta ve 50 sağlıklı bireyin kanlarından elde edilen DNA rneklerinde XRCC1 Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizmleri PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ve RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemleriyle araştırıldı.

KLL’li 73 hastadan Arg194Trp polimorfizmi için; Arg/Arg genotipini taşıyanların sıklığı %87.67, Arg/Trp genotipini taşıyanların sıklığı %10.96 ve Trp/Trp genotipini taşıyanların sıklığı %1.37 bulunmuştur. Arg399Gln polimorfizmi için ise Arg/Arg genotipini taşıyanların sıklığı %9.59 , Arg/Gln genotipini taşıyanların sıklığı %68.50 ve Gln/Gln genotipini taşıyanların sıklığı %21.91 bulunmuştur.

Sağlıklı kontrol grubunu oluşturan 50 bireyden Arg194Trp polimorfizmi için Arg/Arg genotipini taşıyanların sıklığı %82 ve Arg/Trp genotipini taşıyanların sıklığı %18 bulunmuş, ancak Trp/Trp genotipini taşıyan bireye rastlanmamıştır. Arg399Gln polimorfizmi için ise Arg/Arg genotipini taşıyanların sıklığı %38, Arg/Gln genotipini taşıyanların sıklığı %52 ve Gln/Gln genotipini taşıyanların sıklığı %10 bulunmuştur.

Arg194Trp polimorfizmi için genotip dağılımının hasta ve kontrol grubunda farklılık göstermediği bulunmuştur ($p=0.394$).

Genotip sıklığı açısından XRCC1 geni Arg399Gln polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.02$). Arg/Gln ve Gln/Gln genotipinin KLL gelişiminde sağlıklı kontrol grubuna göre risk artışı oluşturduğu saptanmıştır.

KLL’li hastalarda Arg194Trp polimorfizmi için; 194Arg allel sıklığı %93.15 ve 194Trp allel sıklığı %6.85 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise 194Arg allel sıklığı %91 ve 194Trp allel sıklığı ise %9 bulunmuştur. İstatistiksel olarak

değerlendirildiğinde Arg194Trp polimorfizmi için KLL'li hastalar ve kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p = 0.535$).

KLL'li hastalarda Arg399Gln polimorfizmi için; 399Arg allel sıklığı %9.59 ve 399Gln allel sıklığı %90.41 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise aynı sıklıklar sırasıyla %38 ve %62 bulunmuştur. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde KLL'li hastalar ve kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$).

399Gln allel sıklığı hasta grubunda (%90.41) kontrol grubundan (%62) anlamlı şekilde yüksektir. (O.R=1.46, % 95 CI, 1.24-1.72, $p<0.001$).

Bizim bulgularımıza benzer şekilde, ancak KLL dışında değişik kanser türlerinde yapılmış, XRCC1 polimorfizmlerinin kanser gelişiminde rol oynadığını düşündüren bulguların saptandığı çalışmalar vardır:

Xu ve ark. 2007 yılında yayınladıkları bir makalede 207 prostat kanserli olguda ve 235 sağlıklı kontrol grubunda yaptıkları araştırmada; Arg194Arg, Arg280His ve Arg399Gln genotipini taşıyan bireylerde prostat kanseri riskinin önemli derecede yüksek olduğunu, Arg194Trp polimorfizminin ise riski azalttığını bildirmişlerdir (46). Chen ve ark.nın prostat kanserli hastalarda yaptıkları bir diğer çalışmada da, Arg399Gln polimorfizmi açısından Arg/Gln genotipini taşıyan erkeklerde kanser riskinin artmış olduğu belirtilmiştir (70).

Li ve ark.nın sigara içmeyen 50 akciğer kanserli ve 50 sağlıklı kadın arasında yaptığı bir çalışma Arg399Gln polimorfizmi açısından Gln/Gln genotipini taşıyan kadınların, Arg/Arg genotipini taşıyan kadınlara göre akciğer adenokarsinoması yönünden artmış riske sahip oldukları gösterilmiştir (OR: 14.12; 95% CI: 2.14-92.95). Bu bulgu bizim çalışmamızla uyumludur (71).

Park ve ark. XRCC1 geni Arg399Gln polimorfizmi ile sigara içen erkeklerde akciğer kanseri ilişkisini araştırmak amaçlı, 192 akciğer kanserli hasta ve 135 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada, iki grup arasında XRCC1 genotip dağılımı açısından önemli bir fark bulamamışlardır, ancak hastalar kanserin histolojik tipine göre kategorize edildiklerinde, en az bir Gln alleli varlığının skuamöz hücreli karsinoma riskini önemli derecede arttırdığını, Gln allel sayısının artışının hastalık riskinde artışla birlikte olduğunu, Gln allelinin sadece yılda 40 paket veya daha az sigara içen skuamöz

hücreli kanser grubunda artmış riski gösterdiğini, Arg399Gln polimorfizminin, düşük düzeyde sigara içen skuamöz hücreli kanser tipinde önemli bir genetik determinant olduğunu bildirmişlerdir. (72).

Duell ve ark. XRCC1 Arg399Gln polimorfizminin, çevresel etkenlere maruziyetin de etkisiyle meme kanseri riskini etkileyebileceğini, ancak XRCC1 allellerinin biyolojik fonksiyonu konusundaki bilgilerin yetersizliği nedeniyle kesin bir yorum yapamadıklarını belirtmektedirler (73).

Niwa ve ark.nın 2005 yılında Japonya’da 131 servikal kanserli ve 320 sağlıklı kadın üzerinde yaptığı bir çalışma XRCC1 geni Arg399Gln polimorfizmi açısından Gln/Gln genotipinin adenokarsinoma/adenosquamöz karsinomalı kadınlarda sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek bir frekansta (OR=2.98, 95% CI=1.11-8.01, p=0.030) olduğunu ve Arg399Gln polimorfizminin serviks adenokarsinoma/adenosquamöz karsinoma riskinde önemli bir rolü olabileceğini göstermiştir (74). Bu çalışma bizim bulgularımızla uyumludur.

Shen ve ark. genetik polimorfizmler ve akciğer kanseri ilişkisini araştırmak üzere Çin’de akciğer kanseri mortalitesinin en yüksek olduğu Xuan Wei’de, 122 akciğer kanserli hasta ve 122 sağlıklı kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada XRCC1 geni Arg399Gln polimorfizmi açısından Arg/Gln genotipi taşıyanlarda Arg/Arg genotipi taşıyanlara göre akciğer kanseri riskinin azalmış olduğunu (OR, 2.13; 95% CI, 0.96-4.74) gözlemlemişler, Arg/Arg genotipinin akciğer kanseri riskiyle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışma bizim bulgularımızla uyumlu değildir (75).

Deligezer ve ark. Türk populasyonunda meme kanserli kadınlar ile sağlıklı kadınlar arasında Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizmlerinin etkilerini araştırmak amaçlı yaptıkları çalışmada, her iki allel sıklığının hasta ve kontrol grubunda benzerlik göstermesi nedeniyle XRCC1 polimorfizmleri ve meme kanseri gelişimi açısından bir ilişki olmadığı sonucuna varmışlardır. Arg194Trp polimorfizmi açısından 194Trp allel frekansı sırasıyla hasta ve kontrollerde %5.3 ve %3.9, Arg399Gln polimorfizmi açısından 399Gln allel frekansı sırasıyla %39.7 ve %37.4 bulunmuştur. Bu çalışmada her iki polimorfizmle ilişkili genotip sıklıkları açısından da iki grup arasında fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar meme kanseri gelişiminde, XRCC1 polimorfizmlerinin rolü olduğu görüşünü desteklememektedir (76). Bizim çalışmamızda da Arg194Trp polimorfizmi için genotip dağılımı ve allel frekansı iki grup arasında farklılık

göstermemektedir. Buna karşılık Arg399Gln polimorfizmi açısından hem 399Gln allel frekansı (hasta ve kontrollerde sırasıyla % 90.41 ve % 62; $p<0.001$) hem de Arg/Gln genotip frekansı (hasta ve kontrollerde sırasıyla %68.50 ve %52; $p=0.02$) ve Gln/Gln genotip frekansı (sırasıyla %21.91 ve %10; $p=0.02$) daha yüksektir.

Demokan ve ark. baş ve boyun kanserli 95 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada XRCC1 geni, Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizmlerini araştırmışlardır. Her iki polimorfizm için de baş ve boyun kanseri arasında bir ilişki bulamamışlardır. Allel dağılımı açısından da hasta ve kontrol grubunda önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Yalnızca 194Trp alleli ile sigara içen bireyler arasında önemli bir ilişki saptanmıştır. Bu çalışma Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizmlerinin baş ve boyun kanserlerinde önemli bir risk faktörü olmadığına işaret etmektedir (77).

XRCC1 gen polimorfizmlerinin kemoterapiye cevabın değerlendirilmesinde ve kısa dönem survi hesaplanmasında önemli bir prognostik faktör olduğunu gösteren çalışmalar da yapılmıştır. Suh ve ark. 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada XRCC1 geni Arg399Gln polimorfizmi için Arg-->Gln substitüsyonunun metastatik kolon kanserinde başarılı bir tedavi olan FOLFOX'a (5-fluorouracil and folinic acid) yanıtın değerlendirilmesinde önemli bir prognostik faktör olduğunu göstermişlerdir (78).

Chung ve ark. da yaptıkları bir çalışmada XRCC1 R399Q polimorfizminin servikal kanserde platinuma dayalı neoadjuvan kemoterapiye tümör yanıtının değerlendirilmesinde önemli bir faktör ($p<0.0001$) olduğunu belirtmişlerdir (79).

Bütün bu çalışmalara genel olarak bakıldığında Arg194Trp polimorfizmi ile ilgili verilerin yetersiz olduğu görülmektedir. Bu polimorfizmin kanser gelişiminde rolü olmadığı, hatta koruyucu etkisi olabileceği bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda da Arg194Trp polimorfizminin KLL ile ilişkili olmadığı görülmüştür. Önceki çalışmalarda Arg399Gln polimorfizmi üzerinde daha çok durulduğu dikkati çekmektedir. Bu polimorfizmin kanser gelişimi ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar olmakla birlikte, çelişkili sonuç veren çalışmalar da vardır. Yakınlarda, Arg399Gln polimorfizminin meme kanseri ile ilişkisine dair yapılmış çalışmaların topluca değerlendirdiği bir meta-analiz yapılmıştır (80). Toplam 36 çalışmadan (20837 hasta, 22879 kontrol) elde edilen verilerin analizi, ilk başta XRCC1 polimorfizminin meme kanseri ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Ancak, çalışmalar Asya ya da Batı ülkelerinde yapıldıklarına göre stratifiye edildiklerinde, Asya ülkelerinde Arg399Gln polimorfizmi açısından Gln/Gln

genotipinin hem Arg/Arg hem de Arg/Arg +Arg/Gln genotiplerine göre artmış meme kanseri riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Buradan, XRCC1 polimorfizminin muhtemelen başka polimorfizmler ve çevresel faktörlerle etkileşim halinde olduğu ve başka kanser tiplerindeki rolüne dair bir yargıya varabilmek için çok daha geniş ve iyi stratifiye edilmiş hasta serilerine gereksinim olduğu sonucu çıkmaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamızda XRCC1 geni Arg399Gln polimorfizmi (gerek Arg/Gln genotipinin gerekse Gln/Gln genotipinin ve 399Gln allel sıklığının hasta grubunda anlamlı olarak yüksek oluşu dikkate alınarak) KLL gelişimi ile ilişkili görünmektedir. Hasta sayısının yeterince yüksek olmaması kesin bir yargıyı güçleştirmektedir.

Çalışmamızın bir diğer aşamasını KLL’li hastalardaki KKD değişikliği ve bunun Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizmleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi oluşturmaktadır.

KLL’li hastalar ve sağlıklı kontrol grubu bireylerin KKD sıklıkları değerlendirildiğinde, metafaz başına ortalama KKD sıklıkları KLL’li hastalar için 9.2 ± 4 sağlıklı kontrol grubu bireyler için 7.5 ± 2 olarak bulunmuştur. KKD sıklıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde KLL’li hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.02$) fark bulunmuştur.

Daha önce de ifade edildiği gibi, artmış KKD sıklığı genotoksik bir etkinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. KKD sıklığında artışın kanser riskini ifade eden ve genotoksik bir maruziyetin göstergesi olduğunu kabul eden çalışmalar yapılmıştır (62). Genotoksik bir etkinin KKD üzerindeki etkisine örnek olarak sigara kullanımı verilebilir: Rowland ve Harding, yaş aralığı 16 ile 25 arasında değişen, sigara kullanan 15 sağlıklı kadın ve sigara kullanmayan sağlıklı kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada, sigara kullanımının KKD sıklığını anlamlı derecede artırdığını ve bunun da genetik instabilitenin bir göstergesi olmasından yola çıkarak KKD artışının tümörigenezis riski ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir (81).

Husgafvel-Pursiainen sigara kullanmayan ancak bulundukları ortamda sigara içilmesi nedeniyle pasif içici durumunda bulunan bireylerde KKD sıklığını araştırmış, pasif içicilerde sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek değerlere rastlamıştır (82). İyonizan radyasyon, ultraviyole ışık, ve alkileyici ajanların da KKD oluşumunu uyardığını bildiren yayınlar vardır (83, 84, 85).

KKD sıklığındaki artışın, kanser gelişiminde rol oynadığı düşünülen genomik instabilitenin de bir göstergesi olabileceğini düşündüren çalışmalar da mevcuttur:

Karaman ve ark. gastrik kanserli ve atrofik gastritli H.pylori taşıyan ve taşımayan hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında yaptıkları çalışmada hasta grubunda (H.pylori pozitif ve negatif olanlarda) KKD sıklığının kontrollere göre önemli derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir. (sırasıyla 7.41 ± 1.36 ve 6.92 ± 1.20 , 5.54 ± 0.8 , $p < 0.001$). Ayrıca H.pylori taşımayan gastrik kanserli ve atrofik gastritli grup arasında KKD sıklığı açısından anlamlı bir fark bulamamışlardır ($p > 0.05$). Diğer taraftan H.pylori pozitif gastrik kanser hastalarında H.pylori pozitif atrofik gastritli hastalara göre KKD sıklığı yüksek bulunmuştur (sırasıyla 9.20 ± 0.94 ve 7.93 ± 0.81 , $p < 0.01$). Bu çalışma artmış KKD sıklığının gastrik karsinogenezisde genomik instabilitenin göstergesi olabileceğini göstermektedir (86).

Strom ve ark. tedavisi tamamlanmış Hodgkin hastalarında çok sayıda sekonder kanser gelişimine yatkınlığın bildirilmesi ve tedavi sonrasında bu hasta grubunda ciddi bir nüks olasılığının bulunmasından hareketle, toplam 105 Hodgkin hastasını KKD sıklığı, sitogenetik biomarkerlar ve kromozom anomalileri açısından değerlendirmişler ve takipleri sırasında 7 Hodgkin hastasında sekonder kanser gelişimi gözlemlemişlerdir. Değerlendirme parametrelerinden, bu 7 hasta için, sadece KKD sıklığının artışı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Daha uzun takip süreli çalışmaların yapılması gerekliliğini belirtmekle beraber yüksek KKD sıklığının artmış sekonder kanser gelişiminin bir göstergesi olduğunu vurgulamışlardır (87).

KKD sıklığının başka kanser türlerinde de (prostat, over, larenks, nazofarenks) artmış olduğunu bildiren çeşitli yayınlar vardır (88, 89, 90, 91).

KLL'li hastalardaki KKD sıklığına dair veriler ise sınırlıdır: McDonald ve ark. tedavi almış KLL hastalarında tedavi almamış olanlara ve kontrollere göre KKD sıklığının anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir. Artmış KKD sıklığının löseminin değil, tedavinin bir sonucu olduğunu ifade etmişlerdir (92).

Öztürk ve ark.nın KLL'li hastalar üzerinde yaptığı bir çalışmada, bu hastalarda KKD sıklığı artışı (8.24 ± 1.36) sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında (7.25 ± 1.42) önemli derecede anlamlı bulunmuştur ($p = 0.02$). TPA ile stimüle edilmiş B hücrelerinde, KKD sıklığı artışının bu hastalarda genomik instabilitenin ve defektif DNA tamirinin bir göstergesi olabileceğini bildirmişlerdir (93).

Bulgularımız, yukarıda özetlenen KLL ve diğer kanserlerde yapılmış çalışma sonuçları ile genel olarak uyumlu olup KKD sıklığı artışının KLL patogenezinde rolü olabileceğini düşündürmektedir

DNA tamir mekanizmasının bozuk olduğu otozomal resesif geçişli ve kromozomal instabilite ile karakterize hastalıklarda, belirgin bir genotoksik maruziyet olmadan da KKD değişiminin arttığı –özellikle Bloom Sendromunda olduğu gibi- ve bu hastalıklarda çeşitli kanserlere yatkınlığın söz konusu olduğu bilinmektedir (94).

DNA onarım genlerindeki polimorfizmlerin, oluşan proteinlerin yüksek ya da düşük aktivite göstermesi sonucu DNA tamir kapasitesinde değişmeye neden olarak çeşitli kanser tiplerine yakalanma riskini arttırabileceği veya azaltabileceği ifade edilmiştir (35). Bu polimorfizmlerin, kansere yatkınlık oluşturmaktan başka bir diğer biyolojik yansımasının da KKD sıklığında artış olabileceği ileri sürülebilir. Dolayısıyla, genomik stabilite veya instabilite; çevresel faktörlerden de etkilenen poligenik kalıtmı bir özellik olabilir. Bu görüşü destekleyen ve Çefle ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, kemoterapi almayan meme kanseri hastaları ve bunların birinci derece akrabalarında KKD sıklığının kontrol grubuna göre artmış olduğu bildirilmiştir (95). Bu da kanser hastalarında çeşitli çalışmalarda artmış olduğu bildirilen KKD sıklığının kemoterapiden bağımsız ve genomik instabilitenin de kalıtsal olarak belirlenen bir özellik olabileceğini düşündürmekte ve yukarıdaki görüşü desteklemektedir. Bu gözlemlerden yola çıkarak, hasta grubunda XRCC1 gen polimorfizmi ile KKD sıklığı arasındaki ilişki de incelenmiştir:

KLL’li hastalar genotiplerine göre ayrıldığında Arg194Trp polimorfizmi için Arg/Arg, Arg/Trp ve Trp/Trp genotipini taşıyan üç grup arasında Kruskal-Wallis testi ile KKD açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0.43$). Gruplar ikişer ikişer (Arg/Arg ile Arg/Trp; Arg/Arg ile Trp/Trp ve Arg/Trp ile Trp/Trp) karşılaştırıldığında da KKD sıklığı anlamlı bir fark göstermemektedir (sırasıyla $p=0.24$, $p=0.56$, ve $p=0.81$)

Aynı şekilde, Arg399Gln polimorfizmi için Arg/Arg, Arg/Gln ve Gln/Gln genotipi taşıyan hastalar KKD sıklıkları açısından Kruskal-Wallis testi ile KKD sıklığı açısından anlamlı bir fark göstermemiştir ($p=0.22$). Gruplar ikişer ikişer karşılaştırıldığında da (Arg/Arg ile Arg/Gln; Arg/Gln ile Gln/Gln, ve Arg/Arg ile Gln/Gln genotipini taşıyan gruplar) KKD sıklığında anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.25$, $p=0.41$ ve $p=0.05$).

Buna göre, Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizmleri artmış KKD sıklığı ile ilişkili görünmemektedir. Hasta grubumuzda 194Trp allel sıklığı artmamıştır ve Arg/Trp ve Trp/Trp genotip sıklığı da kontrollerden anlamlı olarak yüksek bulunmamıştır. Dolayısı ile söz konusu polimorfizmin KLL etyolojisinde rolü olmadığı gibi, bir in vitro genomik instabilite testi olan KKD değişimi üzerinde de etkisi olmadığı söylenebilir. Diğer yandan, hasta grubunda Arg399Gln polimorfizmi açısından Arg/Gln ve Gln/Gln genotip sıklıklarının kontrollere göre yüksek olmasına karşılık bunların KKD sıklığını etkilemiyor görünmesi, birbirleriyle uyumlu sonuçlar değildir. Burada, Arg399Gln polimorfizminin genomik instabilite dışı bir mekanizma ile KLL gelişiminde rol oynadığı düşünülebilir. Ayrıca Arg/Arg ve Gln/Gln genotiplerini taşıyan hasta sayısının çok az oluşu (sırasıyla 7 ve 16 hasta) KKD sıklığı yönünden bir yargıya varmayı güçleştirmektedir.

Sonuç olarak çalışmamız bir DNA onarım geni olan XRCC1'in Arg399Gln polimorfizminin KLL etyolojisinde rolü olabileceğini göstermektedir. Hasta grubumuzda KKD sıklığının kontrollere göre yüksek olması, başka kanser türlerinde olduğu gibi KLL'de genomik instabilitenin rolü olduğunu düşündürmektedir. Arg194Trp ve Arg399Gln polimorfizmleri ile KKD sıklığı arasında bir yargıya varabilmek için ise daha büyük hasta sayılarına gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Chronic lymphocytic leukemia: recommendations for diagnosis, staging, and response criteria. International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. *Annals of Internal Medicine* 110(3): 236-238, 1989.
2. Foucar MK. (2001): B-Cell Chronic lymphocytic leukemia and Prolymphocytic leukemia. In: *Neoplastic Hematopathology* Ed DM Knowles 2nd ed, Lipincott, Williams &Wilkins, USA, pp.1505-1528
3. Patel DV, Rai KR. (2005) Chronic lymphocytic leukemia. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al (eds): *Hematology basic Principles and Practice*, Elsevier, USA, pp.1437-154
4. Mler-Hermelink HK, Montserrat E, Catovsky D, Haris NL. (2001) Chronic lymphocytic leukemia/ small lymphocytic leukemia. In: Jaffe ES, Haris NL, Stein H, Vardiman JW, (eds): *World Health Organization Classification of tumors. Pathology&Genetics Tumors of Haemapoietic and Lymphoid Tissues*, IARC Pres, Lyon, pp.127-130.
5. Ben-Ezra J. (2001): Small lymphocytic leukemia In: *Neoplastic Hematopathology* Ed DM Knowles 2nd ed, Lipincott, Williams &Wilkins, USA, pp.773-785
6. Malignant Lymphoma, Small lymphocytic and Diffuse Small Cleaved Cell (Centrocytic). (1994) In: Warnk RA, Weiss LA, Chan JKC, et al (eds): *Atlas of Tumor Pathology Tumors of the Lymph Nodes and Spleen*, Washington, D.C., pp. 119-140
7. Panayitidis P, Kotsi P. Genetics of small lymphocyte disorders. *Semin Hematol* 1999; 36: 171-177.
8. Hendriks J. A possible association between HTLV-I and. B-cell chronic lymphocytic leukemia in Jamaica. *Acta Haematol.* 1985;74(1):55-7.
9. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2004, 24:573-578.
10. Evans HJ. What are the sister chromatid exchanges? *Chromosomes Today* 1977; 6: 315.
11. Hagmar L, Bonassi S, Stromberg U, Mikoczy Z, Lando C, Hansteen IL, Montagud AH, Knudsen L, Norppa H, Reuterwall C, Tinnerberg H, Brogger A, Forni A, Hogstedt B, Lambert B, Mitelman F, Nordenson I, Salomaa S, Skerfving S. Cancer predictive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs: a report from an ongoing study by the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Mutat Res.* 1998 Sep 20;405(2):171-8.
12. Cooper. *The Cell, a molecular approach*. Second edition. Asım Press, Sinaver, 2001; 612-613.
13. Kuby J. *Immunology*. Third Edition, 2001. US Press. 2001;574.
14. Karahan G.E. Kronik Lenfositik Lösemili Hastalarda 11Q22-23 ve 13Q14 Delesyonlarının Floresan İn Situ Hibridizasyon Yöntemi ile Tespiti, İstanbul

Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İstanbul, 2003.

15. Redaelli A, Laskin BL, Stephens JM, Botteman MF, Pashos CL. Eur J. The clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukaemia. *Cancer Care*. 2004;13(3):279-87.
16. Call TG, Philyik RL, Noel P, Habermann TM, Beard CM, O'Fallon WM, Kurland LT. Incidence of chronic lymphocytic leukemia in Olmsted County, Minnesota, 1935 through 1989, with emphasis on changes in initial stage at diagnosis. *Mayo Clin Proc*.1994;69(4):323-8.
17. Sgambati, M.T., Linet, M.S. & Devesa, S.S. (2001) Chronic Lymphocytic Leukemia: Epidemiological, Familial, and Genetic Aspects. In: *Chronic Lymphoid Leukemias* (ed. by B.D. Cheson), pp. 33-62. Marcel Dekker, New York.
18. Johnson LE. Chronic lymphocytic leukemia. *Practical Therapeutics* 1988;38(suppl 6):167-76
19. Sgambati, M., Devesa, S.S., and Linet, M.S. Chronic lymphocytic leukemia: epidemiologic, familial and genetic aspects. In: Chelson B (ed) *Chronic lymphoid leukemia: Scientific Advances and Clinical Developments* New York:Marcel Dekker, Inc. 2001; 33-62.
20. Pottern LM, Linet M, Blair A, Dick F, Burmeister LF, Gibson R, Schuman LM, Fraumeni JF Jr. Familial cancers associated with subtypes of leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Res*.1991;15(5):305-14.
21. Radovanovic Z, Markovic-Denic L, Jankovic S. Cancer mortality of family members of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Epidemiol*.1994;10(2):211-3.
22. Capalbo S, Trerotoli P, Ciancio A, Battista C, Serio G, Liso V. Increased risk of lymphoproliferative disorders in relatives of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: relevance of the degree of familial linkage. *Eur J Haematol*. 2000;65(2):114-7.
23. Kipps, T.J. (1995) Chronic lymphocytic leukemia and related diseases. in *William's Hematology* 1017–1039
24. Kanti R. Rai, Dilip V. Patel. *Chronic Lymphocytic Leukemia*. *Hoffman Hematology* 72: 1350-1363
25. Cheson BD, Bennett JM, Grever M et al.(1996) National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 87: 4990–4997.
26. International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia: Recommendations for diagnosis, stage and response criteria.(1989) *Ann Intern Med* 110:236.
27. Rai KR, Savitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. (1975) Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 46:219-34.
28. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguët H, Goasguen J, Vaugier G, Potron G, Colona P, Oberling F, Thomas M, Tchernia G, Jacquillat C, Boivin P, Lesty C, Duault MT, Monconduit M, Belabbes S, Gremy F. A new prognostic

- classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981 Jul 1;48(1):198-206.
29. Saka B. Bhücreli Kronik Lenfositik Lösemide solubl CD23'ün prognostik önemi. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, uzmanlık tezi, İstanbul 2002.
 30. Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U. Williams Hematology. 6th ed. New York: McGraw-Hill;1997; 1163-1190.
 31. Dighiero G, Travade P, Chevret S, Fenaux P, Chastang C, Binet J., and The French Cooperative Group on CLL B-cell chronic lymphocytic leukemia: present status and future directions. *Blood* 1991;1901-1914
 32. Kipps T.J. Immune gene therapy of chronic lymphocytic leukemia. (www.hematology.org) American Society of Hematology Educational Material, Hematology 1999, 259-261.
 33. Ünal Ş., Türsen Ü. Melanom dışı deri tümörlerinin moleküler analizi. *Dermatose* 2004; 3(3): 149-152
 34. www.genecards.org
 35. Erdal N., Erdal Emin . Savaşoğlu K, Gökdoğan T. DNA onarım geni X-ray repair cross-complementing Arg194Trp ve Arg399Gln Polimorfizmleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2004, 24:573-578
 36. Keith W. Caldecott, Catherine K. Mckeown, James D. Tucker, Siv Ljungquist, And Larry H. Thompson. An interaction between the mammalian DNA repair protein XRCC1 and DNA Ligase III. *Molecular and cellular biology* ;1994; 68-76.
 37. Tebbs RS, Flannery ML, Meneses JJ. Requirement for the XRCC1 DNA base excision repair gene during early mouse development. *Dev Biol* 1999;208:513-529.
 38. Shen MR, Jones IM, Mohrenweiser H. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans. *Cancer Res* 1998;58:604-608
 39. Müftüoğlu M. DNA Repair and Premature Aging Syndromes. *Turkish Journal of Biochemistry* 2003; 28 (1); 20-24.
 40. Jennifer J. Hu, Tasha R. Smith, Mark Steven Miller, Harvey W. Mohrenweiser, Andrea Golden and L. Douglas Case. Amino acid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. *Carcinogenesis* 2001; 917-922.
 41. Luiz Augusto-Pinto, Carlos Gustavo Regis da Silva, Débora de Oliveira Lopes, Alice Machado-Silva and Carlos Renato Machado. *Escherichia coli* as a model system to study DNA repair genes of eukaryotic organisms. *Genet. Mol. Res.* 2003; 77-91.
 42. asajj.roswellpark.org/huberman/DNA_Repair/dsbreak.html
 43. Masson M, Niedergang C, Schreiber V, Muller S, Murcia J, And Murcia G. XRCC1 Is Specifically Associated with Poly(ADP-Ribose) Polymerase and Negatively Regulates Its Activity following DNA Damage. *Molecular and*

Cellular Biology 1998; 3563–3571.

44. Jeon YT, Kim JW, Park NH, Song YS, Kang SB, Lee HP. DNA repair gene XRCC1 Arg399Gln polymorphism is associated with increased risk of uterine leiomyoma. *Hum Reprod.* 2005 Jun;20(6):1586-9.
45. Chacko P, Rajan B, Joseph T, Mathew BS, Pillai MR (2005). Polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 and increased genetic susceptibility to breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2005 ;89(1):15-21.
46. Xu Z, Hua LX, Qian LX, Yang J, Wang XR, Zhang W, Wu HF. Relationship between XRCC1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer in men from Han, Southern China. *Asian J Androl.* 2007 ;9(3):331-8.
47. Saadat M, Pakyari N, Farrashbandi H. Genetic polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 and susceptibility to schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2008 15;157(1-3):241-5.
48. Somdat Mahabir, Christian C Abnet, You-Lin Qiao, Luke D Ratnasinghe, Sanford M Dawsey, Zhi-Wei Dong, Philip R Taylor, Steven D Mark A prospective study of polymorphisms of DNA repair genes XRCC1, XPD23 and APE/ref-1 and risk of stroke in Linxian. *J Epidemiol Community Health.* 2007 Aug;61(8):737-41.
49. Doğru-Abbasoğlu S, Aykaç-Toker G, Hanagasi HA, Gürvit H, Emre M, Uysal M. The Arg194Trp polymorphism in DNA repair gene XRCC1 and the risk for sporadic late-onset Alzheimer's disease. *Neurol Sci.* 2007 Mar;28(1):31-4
50. Wang Z, Xu B, Lin D, Tan W, Leaw S, Hong X, Hu X. XRCC1 polymorphisms and severe toxicity in lung cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy in Chinese population. *Lung Cancer.* 2008 Apr 7.
51. Liu B, Wei J, Zou Z, Qian X, Nakamura T, Zhang W, Ding Y, Feng J, Yu L. Eur J. Polymorphism of XRCC1 predicts overall survival of gastric cancer patients receiving oxaliplatin-based chemotherapy in Chinese population. *Hum Genet* 2007 Oct;115(10):1049-53.
52. Gu A, Ji G, Liang J, Xia Y, Lu N, Wu B, Wang W, Song L, Wang S, Wang X. DNA repair gene XRCC1 and XPD polymorphisms and the risk of idiopathic azoospermia in a Chinese population. *Int J Mol Med.* 2007 Nov;20(5):743-7.
53. Loizidou MA, Michael T, Neuhausen SL, Newbold RF, Marcou Y, Kakouri E, Daniel M Papadopoulos P, Malas S, Kyriacou K, Hadjisavvas A. Genetic polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1, XRCC2 and XRCC3 and risk of breast cancer in Cyprus. *Breast Cancer Res Treat.* 2008 Jan 10.
54. Silva SN, Moita R, Azevedo AP, Gouveia R, Manita I, Pina JE, Rueff J, Gaspar J. Menopausal age and XRCC1 gene polymorphisms: role in breast cancer risk. *Cancer Detect Prev.* 2007;31(4):303-9.
55. Pachouri SS, Sobti RC, Kaur P, Singh J. Contrasting impact of DNA repair gene XRCC1 polymorphisms Arg399Gln and Arg194Trp on the risk of lung cancer in the north-Indian population. *DNA Cell Biol.* 2007 Mar;26(3):186-91.
56. Ratnasinghe LD, Abnet C, Qiao YL, Modali R, Stolzenberg-Solomon R, Dong ZW, Dawsey SM, Mark SD, Taylor PR. Polymorphisms of XRCC1 and risk of esophageal and gastric cardia cancer. *Cancer Lett.* 2004 Dec 28;216(2):157-64

57. Pakakasama S, Sirirat T, Kanchanachumpol S, Udomsubpayakul U, Mahasirimongkol S, Kitpoka P, Thithapandha A, Hongeng S. Genetic polymorphisms and haplotypes of DNA repair genes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2007 Jan;48(1):16-20.
58. Kipikašová L, Wolaschka T, Bohuš P, Baumohlová H, Bober J, Blažejová J, Mirossay L, Sarišský M, Miroššay A, Cižmáriková M, Potočková D, Mojžiš J. Polymorphisms of the XRCC1 and XPD Genes and Breast Cancer Risk: A Case-Control Study. *Pathol Oncol Res*. 2008 .
59. Wang C, Sun Y, Han R. XRCC1 Genetic Polymorphisms and Bladder Cancer Susceptibility: A Meta-analysis. *Urology*. 2008.
60. Ferguson HR, Wild CP, Anderson LA, Murphy SJ, Johnston BT, Murray LJ, Watson RG, McGuigan J, Reynolds JV, Hardie LJ. No association between hOGG1, XRCC1, and XPD polymorphisms and risk of reflux esophagitis, Barrett's esophagus, or esophageal adenocarcinoma: results from the factors influencing the Barrett's adenocarcinoma relationship case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008 Mar;17(3):736-9.
61. Romanowicz-Makowska H, Smolarz B, Kulig A. Polymorphisms in XRCC1 and ERCC4/XPF DNA repair genes and associations with breast cancer risk in women. *Pol Merkur Lekarski*. 2007 Mar;22(129):200-3.
62. Ergun S. Sjögren Sendromlu hastalarda genomik instabilitenin sitogenetik bir biomarker olan kardeş kromatid değişim sıklığı yöntemiyle araştırılması. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, doktora tezi, İstanbul 2005.
63. Altıntaş N., Örenay S., Aşçı M., Reyhan E., Türk M., Yolaşığmaz A. , Altıntaş Nazmiye. Karaciger Kist Hidatigi Tedavisinde Albendazol Kullanan Hastalarda Kardes Kromatid Degisimi (KKD) Çalışması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2005, 29 (4): 235-237.
64. Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, et al. Chromosomes preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960;20:613.
65. Pangalis GA, Roussou PA, Kittas C, Kokkinou S, Fessas P. B-chronic lymphocytic leukemia: prognostic implication of bone marrow histology in 120 patients. Experience from a single hematology unit. *Cancer*1987;59:767-71.
66. Montserrat E, Rozman C. Bone marrow biopsy in chronic lymphocytic leukemia: a review of its prognostic importance. *Blood Cells*. 1987;12(2):315–326.
67. Rozman C, Montserrat E, Rodríguez-Fernández JM, Ayats R, Vallespí T, Parody R, Ríos A, Prados D, Morey M, Gomis F, et al. Bone marrow histologic pattern--the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 329 cases. *Blood*. 1984 Sep; 64 (3):642–648.
68. Herishanu Y, Polliack A. Chronic lymphocytic leukemia: a review of some new aspects of the biology, factors influencing prognosis and therapeutic options. *Transfus Apher Sci*. 2005 Feb;32(1):85-97.
69. Gunz, F. W.; Gunz, J. P.; Veale, A. M. O.; Chapman, C. J.; Houston, I. B. :Familial leukaemia: a study of 909 families. *Scand. J. Haemat*.1975; 15: 117-

131.

70. Chen L, Ambrosone CB, Lee J, Sellers TA, Pow-Sang J, Park JY. Association between polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and APE1, and the risk of prostate cancer in white and black Americans. *J Urol*. 2006 Jan;175(1):108-12.
71. Li MC, Cui ZS, He QC, Zhou BS. Association of genetic polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 with susceptibility to lung cancer in non-smoking women. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2005 Dec;27(12):713-6.
72. Park JY, Lee SY, Jeon HS, Bae NC, Chae SC, Joo S, Kim CH, Park JH, Kam S, Kim IS, Jung TH. Polymorphism of the DNA repair gene XRCC1 and risk of primary lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Jan;11(1):23-7.
73. Duell EJ, Millikan RC, Pittman GS, Winkel S, Lunn RM, Tse CK, Eaton A, Mohrenweiser HW, Newman B, Bell DA. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001 Mar;10(3):217-22.
74. Niwa Y, Matsuo K, Ito H, Hirose K, Tajima K, Nakanishi T, Nawa A, Kuzuya K, Tamakoshi A, Hamajima N. Association of XRCC1 Arg399Gln and OGG1 Ser326Cys polymorphisms with the risk of cervical cancer in Japanese subjects. *Gynecol Oncol*. 2005 Oct;99(1):43-9.
75. Shen M, Berndt SI, Rothman N, Mumford JL, He X, Yeager M, Welch R, Chanock S, Keohavong P, Donahue M, Zheng T, Caporaso N, Lan Q. Polymorphisms in the DNA base excision repair genes APEX1 and XRCC1 and lung cancer risk in Xuan Wei, China. *Anticancer Res*. 2005 Jan-Feb;25(1B):537-42.
76. Deligezer U, Dalay N. Association of the XRCC1 gene polymorphisms with cancer risk in Turkish breast cancer patients. *Exp Mol Med*. 2004 Dec 31;36(6):572-5.
77. Demokan S, Demir D, Suoglu Y, Kiyak E, Akar U, Dalay N. Polymorphisms of the XRCC1 DNA repair gene in head and neck cancer. *Pathol Oncol Res*. 2005;11(1):22-5. Epub 2005 Mar 31.
78. Suh KW, Kim JH, Kim do Y, Kim YB, Lee C, Choi S. Which gene is a dominant predictor of response during FOLFOX chemotherapy for the treatment of metastatic colorectal cancer, the MTHFR or XRCC1 gene? *Ann Surg Oncol*. 2006 Nov;13(11):1379-85. Epub 2006 Sep 29.
79. Chung HH, Kim MK, Kim JW, Park NH, Song YS, Kang SB, Lee HP. XRCC1 R399Q polymorphism is associated with response to platinum-based neoadjuvant chemotherapy in bulky cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2006 Dec;103(3):1031-7. Epub 2006 Jul 27.
80. Saadat M, Ansari-Lari M. Polymorphism of XRCC1 (at codon 399) and susceptibility to breast cancer, a meta-analysis of the literatures. *Breast Cancer Res Treat*. 2008.
81. Rowland RE, Harding KM. Increased sister chromatid exchange in the peripheral blood lymphocytes of young women who smoke cigarettes. *Hereditas*. 1999;131(2):143-6.

82. Husgafvel-Pursiainen K. Genotoxicity of environmental tobacco smoke: a review. *Mutat Res.* 2004 Nov;567(2-3):427-45.
83. Mrdjanović J, Jakimov D, Tursijan S, Bogdanović G. Evaluation of sister chromatid exchanges, micronuclei, and proliferating rate index in hospital workers chronically exposed to ionizing radiation. *J BUON.* 2005 Jan-Mar;10(1):99-103.
84. Gundy S, Varga L, Bender MA. Sister chromatid exchange frequency in human lymphocytes exposed to ionizing radiation in vivo and in vitro. *Radiat Res.* 1984 Oct;100(1):47-54.
85. Morimoto K, Sato-Mizuno M, Koizumi A. Sister-chromatid exchanges and cell-cycle kinetics in human lymphocyte cultures exposed to alkylating mutagens: apparent deformity in dose-response relationships. *Mutat Res.* 1985 Nov-Dec;152(2-3):187-96.
86. Karaman A, Binici DN, Kabalar ME, Dursun H, Kurt A. Alteration of sister chromatid exchange frequencies in gastric cancer and chronic atrophic gastritis patients with and without H pylori infection. *World J Gastroenterol.* 2008 Apr 28;14(16):2534-9.
87. Strom SS, Gu Y, Sigurdson AJ, Bailey NM, Amos CI, Spitz MR, Rodriguez MA, Liang JC. Chromosome breaks and sister chromatid exchange as predictors of second cancers in Hodgkin's disease. *Leuk Lymphoma.* 1998 Feb;28(5-6):561-6.
88. Dhillon VS, Dhillon IK. Chromosome aberrations and sister chromatid exchange studies in patients with prostate cancer: possible evidence of chromosome instability. *Cancer Genet Cytogenet.* 1998 Jan 15;100(2):143-7.
89. Dhar PK, Devi S, Rao TR, Kumari U, Joseph A, Kumar MR, Nayak S, Shreemati Y, Bhat SM, Bhat KR. Significance of lymphocytic sister chromatid exchange frequencies in ovarian cancer patients. *Cancer Genet Cytogenet.* 1996 Jul 15;89(2):105-8.
90. Nohutcu RM, Emre S, Sakizli M, Gürsel B, Eratalay YK, Hosal N. Sister chromatid exchange in lymphocytes of patients with cancer of the larynx. *Am J Otolaryngol.* 1991 Mar-Apr;12(2):101-3.
91. Wang LY, Lai MS, Huang SJ, Hsieh CY, Hsu MM, Chen CJ. Increased sister chromatid exchange frequency in peripheral lymphocytes of nasopharyngeal carcinoma and cervical cancer patients. *Anticancer Res.* 1994 Jan-Feb;14(1A):105-7.
92. McDonald MA, Fitzgerald PH. Sister chromatid exchange and cell cycle progression in cultured lymphocytes from patients with chronic lymphatic leukemia. *J Natl Cancer Inst.* 1979 May;62(5):1169-71.
93. Oztürk S, Palanduz S, Aktan M, Cefle K, Serakinci N, Perkçelen Y. Sister chromatid exchange frequency in B-cells stimulated by TPA in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2000 Nov;123(1):49-51.
94. Shiraishi Y. Nature and role of high sister chromatid exchanges in Bloom syndrome cells. Some cytogenetic and immunological aspects. *Cancer Genet Cytogenet.* 1990 Dec;50(2):175-87.

95. Cefle K, Ucur A, Guney N, Ozturk S, Palanduz S, Tas F, Asoglu O, Bayrak A, Muslumanoglu M, Aydiner A. Increased sister chromatid exchange frequency in young women with breast cancer and in their first-degree relatives. *Cancer Genet Cytogenet.* 2006 Nov;171(1):65-7.

FORMLAR

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU VE OLUR (RIZA) BELGESİ

Sayın Hastamız,

Bildiğiniz gibi sizde kronik lenfositik lösemi denen bir kan hastalığı mevcuttur. Yani kanınızdaki akyuvarların bir grubunun sayısı artmıştır. Farkında olduğunuz üzere hastalığınızın takibi için çeşitli tetkikler yapılmakta ve buna göre size en uygun tedavi tatbik edilmektedir.

Hastalığın oluş mekanizmasını anlayabilmek için dünyada yeni araştırmalar yapılmaktadır. Bunların en önemlilerinden biri de DNA ve kromozomlar üzerinde yapılan araştırmalardır. DNA, hücre çekirdeklerinde bulunan ve kalıtsal (ırsi) bilginin saklı olduğu moleküldür. Kromozomlar ise, vücudun her hücresinde ve dolayısıyla kan hücrelerinde bulunan, DNA moleküllerini içeren ve temel genetik bilgiyi taşıyan yapılardır.

Bir çok lösemi tipinde DNA molekülünde ve kromozomlarda değişiklikler ortaya çıkmakta ve bunların lösemi gelişiminde rol oynadığı bildirilmektedir. Diğer yandan bazı bireylerde bu değişikliklerin daha kolay oluştuğu ve bu “yatkınlık” durumunun lösemi riskini arttırdığı düşünülmektedir. Bu araştırmada hem DNA, hem de kromozomlar üzerinde yapılacak araştırma ile KLL’li hastalarda bu tür bir yatkınlık olup olmadığı incelenecektir.

Sizlerden 8-10 ml kan almak suretiyle bu araştırmayı hastanemizde yapmak istiyoruz. Bu çalışma için en az 100 hasta seçeceğiz. Bildiğiniz gibi kan almanın neredeyse hiçbir yan etkisi yoktur. Olası yan etkileri arasında baş dönmesi, tansiyon düşmesine bağlı hafif baygınlık hissi sayılabilir. Böyle bir durumda kişi ferah ve düz bir ortamda birkaç dakika uzanarak, gerekirse ayakları havaya kaldırılarak bu hali atlatabilir. Alınan kanda yukarıda bahsedilen tetkikler fakültemiz DETAE Laboratuvarında ve İç Hastalıkları Anabilimdalı Genetik Bilim Dalı Laboratuvarında yapılacaktır. Araştırmamızın sonucunda elde edeceğimiz bilgilerle , hastalığınızın oluş mekanizması hakkında bilgi edineceğiz. Bu araştırma için hiçbir şekilde normal tedavinizin dışına çıkmamız gerekmemektedir. Bu çalışmanın sizin için hiçbir masrafı

yoktur. Kimliğiniz ile ilgili bilgiler gizli tutulacaktır. Ancak Etik kurullar ve resmi makamlar bu tıbbi bilgilere ulaşabilecektir.

Verdiğiniz kan örneği bağış olup, kanı verenin ve çalışmayı yapanın ticari bir kazanç beklentisi yoktur. Bu çalışmaya katılmayı kabul etmeseniz bile, klinikte yürütülen tedavinizde herhangi bir aksama olmayacaktır, yazılı onay vermiş olsanız bile araştırmanın herhangi bir döneminde araştırmadan vazgeçmekte özgürsünüz. Herhangi bir zamanda çalışmadan ayrıldığınız taktirde de tedavinizde herhangi bir aksama olmayacaktır. Ayrıca size ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, başka merkezlere yollanması ve işlenmesi konusunda bu çalışmayı yapan kişilere yetki veriyorsunuz. Yürütmekte olduğumuz bu çalışmanın sonuçları hakkında Dr. Nilgün Duman'dan bilgi alabilirsiniz. Cep Tel : 0 532 741 41 01

Yukarıdaki metni okudum. Çalışma hakkında bana sözlü bilgi de verildi. Bu durumda, söz konusu çalışmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum ve bu formun bir kopyasını alıyorum.

	Adı Soyadı	İmzası	Tarih	Tel no
Gönüllü veya yasal temsilci				
Olur alan kişi				
Tanık				

Kopyası verilecekler

Hasta

Araştırmacı

Hastane kayıtları

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI
Yerel Etik Kurulu



Sayı : 1914

Tarih : 19/12/2005

Konu : Doç.Dr.Kıvanç Çefle hk.

Sayın Doç.Dr.Kıvanç Çefle
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Bilim Dalı
Öğretim Üyesi
İlgi : 25.10.2005 tarih ve 295 sayılı yazınıza cevaben.

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz Dr.Nilgün Duman'ın yürüteceği 2005/1733 protokol numaralı "Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda XRCC1 geninde Arg399Gln ve Arg194Trp polimorfizmlerinin ve bunların kardeş kromatid değişimi sıklığı ile korelasyonlarının araştırılması" başlıklı tez çalışması kurulumuzun 15.12.2005 tarihli, 12 sayılı toplantısında onaylandığına ilişkin tutanağımız ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr. Zafer ARI
İstanbul Tıp Fakültesi
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak



İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

Toplantı Tarihi : 15/12/2005

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Pembe Salon

Toplantı Sayısı : 12

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Bilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Kıvanç Çefle'nin, üstlendiği Dr.Nilgün Duman'ın yürütmeye 2005/1733 protokol numaralı "Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda XRCC1 geninde Arg399Gln ve Arg194Trp polimorfizmlerinin ve bunların kardeş kromatid değişimi sıklığı ile korelasyonlarının araştırılması" başlıklı tez çalışması kurulumuzda incelendi etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. Zafer ARI

Etik Kurul Başkanı (Dekan Yardımcısı)

X Prof.Dr. Aykan CANBERK

Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Prof.Dr. Berrin UMMAN

Kardiyoloji Anabilim Dalı

Y Prof.Dr. Beyhan ÖMER

Biyokimya A.D

X Prof.Dr. Cahide GÖKKUŞU

Biokimya A.D

Prof.Dr. Kamil PEMBEÇİ

Anesteziyoloji A.D.

Prof.Dr. Mübeccel DEMİRKOL

Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D

X Prof.Dr. Nuran YILDIRIM

Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN

Nöroloji A.D.

X Prof.Dr. Pınar SAİP

I.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Selim BADUR

Mikrobiyoloji ve Kli.Mik. A.D

Prof.Dr. Veli UYSAL

Patoloji A.D

Prof.Dr. Yeşim ERBİL

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Nilgün	Soyadı	Duman
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	1968
Uyruğu	TC	TC Kim No	16094349512
Email	drnilgunduman@hotmail.com	Tel	0 532 7414101

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü DETAE ABD Genetik Bd	2008
Yük.Lis.		
Lisans	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi	1995
Lise	Beşiktaş Atatürk Lisesi	1985

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Şube Tabibi	İSM AÇS/AP Şube Müdürlüğü	2003-2008
2.	Sağlık Ocağı Tabibi	Harmandere Sağlık Ocağı /Pendik-İst.	1997-2003
3.	Sağlık Ocağı Tabibi	Söğütlü Sağlık Ocağı / Sakarya	1995-1997

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi	61.250	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	57.415	58.491	59.567
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word	İyi
Power Point	İyi
Excel	Orta

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Uluslararası Yayınlar

1-Lens opacities in Bloom syndrome: case report and review of the literature.

Cefle K, Ozturk S, Gozum N, **Duman N**, Mantar F, Guler K, Palanduz S. Ophthalmic Genet. 2007 Sep;28(3):175-8.

Ulusal Kongre Bildirileri

1-Erişkin yaşta tanı konan progressif psödotumoroid artritli bir olgu. Öztürk Ş, Çefle K, **Duman N**, Pehlivan D, Palanduz Ş. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi 17-20 Mayıs 2006 Kayseri. P:164.

2-5p ve 9p'de önkromatik varyasyon saptanan iki yeni olgu. Öztürk Ş, Bayrak A., Çefle K, **Duman N**, Pehlivan D, Karaman B, Başaran Ş, Palanduz Ş. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi 17-20 Mayıs 2006 Kayseri. P:37.

3-t (5;22)(p11,q11) variant translocation in a case of chronic myeloid leukemia refractory to treatment. Erkal H, Öztürk Ş, Yücel S, Çefle K, Bağatır G, Uçur A, **Duman N**, Aydın D, Bayrak A, Palanduz Ş. ECA kongresi

4-Prader Willi Sendromlu Bir Olgu. Ozturk S., Satman I., Pehlivan D., Cefle K., Palanduz S., **Duman N** 7. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, 16-20 Eylül 2005, Belek, Antalya, kongre özeti kitabı P:112

5-Y Kromozom Anomalisi saptanan ambigius genitelyalı bir olgu.

Ş Öztürk , G Tutkan , K Çefle , O Uyguner , B Wolnick , B Karaman , **N Aslan** , A Uçur, A Bayrak , Ş Palanduz .VI . Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi. 21-24 Nisan 2004 Belek . Antalya Kongre Özet Kitabı p 151.

Uluslararası kongre bildirileri

1-Investigation of genomic instability patients with Sjögren's syndrome by using sister chromatid Exchange analysis. S Ergun, H Tanyeri, Ş Öztürk, **N Duman**, S Kamalı, A Gül, K Çefle, Ş Palanduz. Oral Disease Head and Neck Sciences Biennial Congress of the European Association of Oral Medicine Zagreb, Croatia, August 31-Sept 2, 2006. P: 59.

2- Stickler syndrome. Pehlivan D, Ozturk S, Cefle K, **Duman N**, Palanduz S. 7th Balkan Meeting on Human Genetics 2006.

3- Prader-Willi syndrome. Ozturk S., Satman I., Pehlivan D., Cefle K., Palanduz S., **Duman N**. 7th Balkan Meeting on Human Genetics 2006.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Kitap okumak, fotoğraf çekmek, kayak yapmak, yüzmek ,sinema, tiyatro, müzik.