

Aplastik Anemi Olgularında Gözlenen Sitogenetik Düzensizlikler

Cytogenetic Aberrations in Patients With Aplastic Anemia

Rahiye Dilhan KURU^a,
Ayşe ÇIRAKOĞLU^a,
Şükriye YILMAZ^a,
M. Cem AR^b,
Yelda TARKAN ARGÜDEN^a,
Ayhan DEVİREN^a,
Teoman SOYSAL^b

^aTıbbi Biyoloji AD,

^bHematoloji BD,

İstanbul Üniversitesi,

Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,

İstanbul, TÜRKİYE

Received: 01.03.2019

Received in revised form: 29.04.2019

Accepted: 06.05.2019

Available online: 09.05.2019

Correspondence:

R. Dilhan KURU

İstanbul Üniversitesi,

Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,

Tıbbi Biyoloji AD, İstanbul,

TÜRKİYE/TURKEY

dilhank@istanbul.edu.tr

ÖZET Amaç: Aplastik Anemi (AA), retikülün artışı ve patolojik bir infiltrasyonun eşlik etmediği hiposellüler kemik iliği ve çevresel kanda pansitopeni ile karakterize hematolojik bir hastalıktır. Hastalık kalıtsal ya da edinsel olarak ortaya çıkar. Edinsel AA hastalarının %15'inde immün baskılayıcı tedaviyle hematolojik remisyon elde edildikten yıllar sonra MDS, AML gibi maliniler görülmektedir. AA hastalarında yapılan konvensiyonel sitogenetik çalışmalarında olguların yaklaşık %12'sinde çeşitli kromozomları ilgilendiren sayısal ve yapısal anomaliler bildirilmiştir. En sık gözlenen sitogenetik bozukluklar; 7. kromozomda delesyon/monozomi ve +8'dir. Nadir de olsa 5. kromozomun uzun kolunda delesyon, +6, t(8;21), 13. kromozomda delesyon/monozomi ve Y kromozomunun kaybı gözlenmiştir. -7, tipik olarak dirençli sitopeni veya AML ile ilişkili bir kötü prognoz belirticidir. +8 tespit edilen AA hastalarında ise immün baskılayıcı tedaviye iyi yanıt alındığı bildirilmektedir. **Gereç ve Yöntemler:** AA tanılı 37 hastanın kemik iliği materyallerinde konvensiyonel sitogenetik yöntemiyle saptanan sitogenetik anomaliler sunulmaktadır. Çalışmada 24 ve 48 saatlik kültür yöntemleri uygulanmış ve GTL bant yöntemi ile incelenen kromozomlar ISCN 2016 kurallarına göre değerlendirilmiştir. **Bulgular:** Olgularımızın %32'sinde anormal karyotip saptanmıştır. Olgularımızda gözlenen kromozom anomalilerinden -17 iki olguda, -7,+8, -9, +10, -10, +11,-14,-16, del (17) (q11q21), -19, -20,-21, del(22) (q13), inv(X)(p11p23), X ve Y kromozomunun kaybı birer olguda saptanmıştır. Beş olguda ise tetraploid seviyesinde (92±) metafazlar tespit edilmiştir. **Sonuç:** Birer olgumuzda gözlediğimiz -7 ve +8 bulguları AA'da sık görüldüğü bilinen anomalilerdendir. Çalışmamızda saptadığımız diğer anomalilerden -16, 17. kromozom anomalileri, -20 ve X ve Y aneuploidileri de literatürde daha önce bildirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aplastik anemi; sitogenetik

ABSTRACT Objective: Aplastic Anemia (AA) is a haematological disorder characterized by pancytopenia and hypocellular bone marrow without abnormal infiltration and no increase in reticulins. The disease may occur as congenital/inherited or acquired. In about 15% of patients with acquired AA, even after years of remission acquired with immunosuppressive therapies, bone marrow malignancies like MDS or AML appears. Cytogenetic studies on AA reveal structural and numerical abnormalities of different chromosomes in 12% of cases. The most common chromosomal abnormalities are deletion/monosomy of chromosome 7 and +8 in AA. 5q-,+6, t(8;21), deletion/monosomy of chromosome 13 and loss of Y chromosome are rarely observed. -7 is an indicator of poor prognosis, typically related with resistant cytopenia or AML. Good response to immunosuppressive therapies is reported with +8. **Material and Methods:** Cytogenetic abnormalities which were obtained by conventional karyotyping from bone marrow samples of 37 AA cases are presented. 24h and 48h culture and GTL banding were performed and, chromosomes were evaluated according to ISCN 2016. **Results:** 32% of the cases had abnormal karyotypes. Abnormalities observed in our cases were; only -17 in two cases each; -7,+8, -9, +10, -10, +11, -14, -16, del (17) (q11q21), -19, -20,-21, del (22) (q13), inv(X)(p11p23), and loss of chromosome X and Y in one case each. In 5 cases tetraploid (±92) metaphases were observed. **Conclusion:** -7 and +8 that we observed in one cases each are known abnormalities as frequently seen in AA cases. And, -16, chromosome 17 abnormalities, -20, aneuploidies of X and Y were reported in literature before.

Keywords: Aplastic anemia; cytogenetic

Aplastik Anemi (AA), retikülin artışı ve patolojik bir infiltrasyonun eşlik etmediği hiposellüler kemik iliği ve çevresel kanda pansitopeni ile karakterize hematolojik bir hastalıktır. Hastalık kalıtsal ya da edinsel olarak ortaya çıkabilir.^{1,2} Edinsel aplastik anemiler her yaş grubunda görülebilmekle beraber, olguların yarısı ilk 30 yaş içinde yer alır.^{3,4} Ergen ve 30 yaş üstü bireylerde sıklıkla daha ağır formu gözlenir. Edinsel aplastik anemi tedavisi yaş ve etyolojik nedenlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir.^{5,6} Aplastik aneminin görülme sıklığı yaşla birlikte coğrafi farklılıklar da göstermektedir. Örneğin Asya'da görülme sıklığı, batıya oranla neredeyse 2-3 kat daha fazladır. Hastaların yaklaşık %20'sinde ise hastalık, kalıtsal kemik iliği yetersizlikleri ile ilişkili bulunmuştur. Aplastik anemi ile en sık ilişkilendirilen çevresel etmenler arasında ilaçlar, virüsler (hepatit) ve kimyasal toksinler (benzen ve pestisitler) yer almaktadır.^{2,4}

Özellikle ağır aplastik anemi yaşamı tehdit eden çeşitli komplikasyonlara neden olur. Tedavi edilmeyen aplastik anemili hastalar genellikle, şiddetli bakteriyel ya da mantar enfeksiyonlarıyla veya kanama ile kaybedilmektedir. Hematopoetik kök hücre nakli yapılamayanlar için anti-timosit globulin (ATG) ve siklosporin (CsA) içeren immün baskılayıcı tedavi (IST) tercih edilmektedir.⁴ Edinsel AA hastalarının %15'inde IST ile hematolojik iyileşmeden birkaç yıl sonra MDS, AML gibi kemik iliği neoplazilerinin geliştiği görülmektedir. Bu nedenle, aplastik aneminin neoplazi potansiyeli ile birlikte bir enflamasyon hastalık modeli olabileceği düşünülmelidir.⁷

Marsh ve arkadaşları tarafından yayınlanan Guideline da önceleri sadece MDS için anlamlı olan sitogenetik anomalilerin tipik AA olgularında da gözleendiği rapor edilmiştir. AA olguların yaklaşık %12'sinde çeşitli kromozomları ilgilendiren sayısal ve yapısal anomaliler bildirilmiştir.¹ En sık gözlenen sitogenetik düzensizlikler; 7. kromozomdaki delesyon/monozomi ve trizomi 8'dir. Nadir de olsa 5. kromozomun uzun kolunda delesyon, trizomi 6, t (8;21), 13. kromozomdaki delesyon / monozomi ve Y kromozomunun kaybı gözlenmiştir.^{1,8} Monozomi 7, dirençli sitopeni veya AML ile ilişkili kötü

bir prognostik belirteçtir. Trizomi 8 tespit edilen AA hastalarında ise immün baskılayıcı tedaviye iyi yanıt alındığı bildirilmektedir.⁴

Bu çalışmada birimize gönderilen aplastik anemi tanılı 37 hastanın kemik iliği materyallerinin konvansiyonel sitogenetik sonuçları derlenerek, önceleri sadece MDS için bildirilen sitogenetik anomalilerin AA olgularında da anlamlı olabileceğinin gösterilmesi, bu konudaki az sayıda çalışmanın yer aldığı veri havuzuna katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Medyan yaşı 31 olan 22 kadın ve 15 erkek olmak üzere toplam 37 yetişkin, olgudan alınan kemik iliği örneklerinin sitogenetik sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Helsinki Deklerasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapılan bu çalışma için tüm hasta ve hasta yakınlarından gerekli onay alınmıştır. Aplastik anemi tanılı olgular Tablo 1'de yer almaktadır. Toplam 37 olguya ait kemik iliği örneğine 24 ve 48 saatlik kültür yöntemleri uygulanarak elde edilen metafazlar GTL bant yöntemi ile incelenerek, ISCN 2016 kurallarına göre değerlendirilmiştir.^{9,10} Bu çalışma için, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 83045809-604.01.02 sayılı karar ile 14/08/2018 tarihli "araştırma etik kurul onayı" alınmıştır.

BULGULAR

Toplam 33 örnekten (%92) sitogenetik sonuç alınmıştır. Bu olguların %32'inde anormal karyotip saptanmıştır. Olgularımızda gözlenen kromozom anomalileri; iki olguda -17; her biri birer olguda olmak üzere -7,+8, -9, +10, -10, +11, -14, -16, del(17) (q11q21), -19, -20, -21, del(22) (q13), inv(X) (p11p23), X ve Y kromozomunun kaybıdır. 5 olguda ise tetraploidi seviyesinde (92±) metafazlar gözlenmiştir. Çalışma grubumuzda gözlenen klonal kromozom anomalileri Tablo 2'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Sitogenetik anomaliler, hiposellüler MDS'nin aplastik anemiden ayırıcı tanısında önemlidir, has-

TABLO 1: Olguların klinik özellikleri.

Olgu	Yaş	Cinsiyet	Olgu	Yaş	Cinsiyet
1	16Y	E	21	23Y	K
2	15Y	K	22	38Y	K
3	23Y	K	23	59Y	E
4	27Y	E	24	36Y	K
5	43Y	K	25	42Y	E
6	58Y	K	26	55Y	K
7	66Y	E	27	20Y	K
8	26Y	K	28*	28Y	K
9	45Y	E	29	20Y	K
10	27Y	K	30	24Y	E
11	24Y	K	31	19Y	K
12	46Y	K	32*	25Y	E
13	64Y	K	33	31Y	E
14	19Y	E	34*	30Y	K
15	46Y	K	35	45Y	K
16	31Y	E	36*	28Y	E
17	47Y	K	37	24Y	E
18	47Y	K			
19	75Y	E			
20	43Y	E			

* Kemik iliği nakli yapılmıştır.

talarda analiz için yeterli hücre sayısı ve kalitesine ulaşmak zor olduğundan, aplastik anemilerle ilişkili sitogenetik sonuçlarını sunan çalışma sayısı azdır.^{1,2,6}

Çalışmamızdaki yer alan olguların yarısının literatürde de bildirildiği gibi ilk 30 yaş içinde olduğu belirlenmiştir.^{3,4} Retrospektif taraması yapılan 37 olgunun 33'ünde (%92) sitogenetik sonuç elde edilmiştir. Sitogenetik sonuç elde edilen olguların 12'sinde sayı ya da yapı anomalileri saptanmıştır. Tespit ettiğimiz -7, +8, -20 bulguları, literatürde aplastik anemi hastalarında görülen kromozom düzensizlikleri olarak bildirilmiştir.¹¹⁻¹⁴ Özellikle monozomi 7 ve trizomi 8 en sık gözlenen kromozom sayı düzensizlikleri olduğu çeşitli çalışma grupları tarafından bildirilmiştir.^{14,18} Monozomi 7, G-CSF'nin eksojen kullanımıyla ilişkilendirilerek immün baskılayıcı tedavide kötü prognoz belirteci olarak kabul edilip dirençli sitopeni ve AML ile ilişkilendirilmektedir. Trizomi 8 taşıyan aplastik anemi hastalarında IST'e yanıt geliştiği ve bu sitogenetik bulgunun iyi prognoz belirteci olduğu bil-

dirilmektedir. Biz de bir olgumuzda trizomi 8 bulgusu saptadık. Hastaların küçük bir kısmında uzun süre uygulanan IST'e bağlı olarak anöplodilerin, özellikle de -7 ve +8'in geliştiği de bildirilmektedir. +8 bulgusu daha çok FAB sınıflamasında orta dereceli risk grubu hastalarda gözlenmektedir.^{4,14-17} Bazı +8'li ağır seyreden AA hastalarında da IST'e cevap alındığı bildirilmektedir. Bununla birlikte aplastik anemiden gelişen sekonder MDS ve AML hastalarında da en fazla gözlenen anomalidir.¹⁹ Monozomi 7 bulgusu daha çok MDS tanısını düşündürmekle birlikte aplastik anemi hastalarının yaklaşık %12'sinde de bildirilmiştir.¹ Monozomi 7 taşıyan Fanconi hastalarının lösemi ya da MDS dönüşüm risklerinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir.¹² Monozomi 16, del (17) (q11q21) ve 17. kromozomun karıştığı yeniden düzenlenmeleri bildiren çalışmalar bulunmaktadır.^{15,16} Biz de bir olgumuzda -16 tespit ettik. Anöplodilerin aplastik anemi olgularının MDS ya da AML'ye dönüşümünde önemli bir parametre olabileceği bildirilmektedir.¹⁸ Ayrıca olgu 6 ve 36'da da monozomi 17 tespit edilmiştir. Bir olgumuzda delesyon saptadığımız (17) (q11q21) bölgesinde, NF1 ve ERBB2

TABLO 2: Olgularda gözlenen kromozom sayı ve yapı anomalileri.

Anomaliler	Gözlenen toplam olgu sayısı
-7	1
+8	1
-9	1
-10	1
+10	1
+11	1
-14	1
-16	1
-17	2
del(17)(q11q21)	1
-19	1
-20	1
-21	1
del(22q13)	1
-X	1
inv(X)(p11p23)	1
-Y	1
Tetraploidi	5

genleri lokalize olduğu için bu bulgunun hastalığın prognozu bakımından önemli olabileceği düşünülmektedir.^{20,21} Değişik çalışma grupları AA ve Fanconi anemisi hastalarında 20q delesyonu ya da kromozom 20'nin karıştığı yeniden düzenlenmeler bildirmiştir.^{11,17,18,22,23} Bizim çalışmamızda 20q delesyonu rastlanmamasına rağmen bir olgumuzda monozomi 20 tespit edilmiştir. Değişik çalışma grupları -7, +8, delY ve bu anomalilerin katıldığı kompleks karyotipleri hastalık sürecinde gözlediklerini, özellikle 7 ve 8 numaralı kromozomları içeren anomalilerin hastalığın seyri sırasında klinik tabloda ortaya çıkan patolojik bulgularla birlikte yer aldığını bildirmişlerdir.^{18,24} Bizim de rastladığımız -7, +8 bulguları kompleks karyotipler içinde yer almaktadır. Trizomi 8'in WT1 peptidlerine T-cell cevabını indükleyen WT1 antijenlerinin yüksek seviyede ekspres olmasında etkili olduğu, trizomi 8 saptanmayan hastalarda ise bu cevabın ortaya çıkmadığı rapor edilmiştir.²⁴ X ve Y kromozomunun anöploidileri özellikle AML ve MDS hastalarında bildirilmekle birlikte, aplastik anemi hastalarında da rapor edilmiştir.^{11,22} Bizim de birer olgumuzda X ve Y kromozomunun kaybı tespit edilmiştir.

SONUÇ

Aplastik anemi olgularımızda gözlemlediğimiz bu sitogenetik bulguların hastalığın seyri sırasında ve immün cevabın oluşmasında etkili olduğu çeşitli çalışma grupları tarafından da bildirilmiştir.

Önceleri sadece MDS hastaları için anlamlı bulunan sitogenetik anomalilerin aplastik anemi hastaları içinde önemli olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmayla diğer hematolojik kanserlerde olduğu gibi aplastik anemi hastalarında da konvansiyonel sitogenetik yönteminin önemi vurgulanmıştır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: R. Dilhan Kuru; **Tasarım:** R. Dilhan Kuru, Ayşe Çırakoğlu, Şükriye Yılmaz, Yelda Tarkan Argüden; **Denetleme/Danışmanlık:** R. Dilhan Kuru, **Veri Toplama ve/veya İşleme:** R. Dilhan Kuru, Ayşe Çırakoğlu, Şükriye Yılmaz, M. Cem Ar, Yelda Tarkan Argüden; **Analiz ve/veya Yorum:** R. Dilhan Kuru, Ayhan Deviren; **Kaynak Taraması:** R. Dilhan Kuru; **Makalenin Yazımı:** R. Dilhan Kuru, Yelda Tarkan Argüden, M. Cem Ar; **Eleştirel İnceleme:** Teoman Soysal; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Ayhan Deviren; **Malzemeler:** M. Cem Ar.

KAYNAKLAR

1. Marsh CDW, Ball SE, Cavenagh J, Darbyshire P, Dokal, Gordon-Smith EC et al. [Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia]. British Journal of Haematology. 2009;147:43-70.
2. Gupta V, Kumar A, Saini I and Kumar Saxena A [Cytogenetic profile of aplastic anaemia in Indian children]. Indian Journal of Medical Research 2013; 137(3): 502-506.
3. Dolberg OJ and Levy Y. [Idiopathic aplastic anemia: Diagnosis and classification]. Autoimmunity Reviews 2014; 13; 569-573.
4. Young NS., Scheinberg P, and Calado RT. [Aplastic Anemia]. Curr Opin Hematol 2008; 15(3): 162-168.
5. Xue HM, Xu HG, Huang K, Guo H.-X, Li Y, D.-H et al. [Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with aplastic anemia]. Genetics and Molecular Research 2015; 14(2); 5234-5245.
6. Zerna AE and Guinan EC. [Aplastic Anemia in Adolescents and Young Adults] Acta Haematol 2014; 132(0): 331-339
7. Calado RT, Cooper JN, Padilla-Nash HM, Sloand EM, Wu C O, Scheinberg P et al. [Short telomeres result in chromosomal instability in hematopoietic cells and precede malignant evolution in human aplastic anemia]. Leukemia 2012;26(4):700-707. doi:10.1038/leu.2011.272.
8. Purev E, Dumitriu B, Hourigan CS. [Translocation (8;21) acute myeloid leukemia presenting as severe aplastic anemia]. Leukemia Research Reports 2014; 3; 46-48.
9. Gustashaw KM. Chromosome Stains. The AGT Cytogenetics Laboratory Manual. Barch MJ, Knutsen T, Spurbeck JL.(eds); 3rd. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997.p. 259-326

-
10. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, McGowan-Jordan J, Simon A, Schmid M (eds); S. Karger AG, Basel 2016
 11. Lee JH, Kwon KA, Lee S, Oh S Y, Kim S-H, Kwo H-C et al. [Incidence and clinical characteristics of clonal cytogenetic abnormalities of acquired aplastic anemia in adults]. *Korean J Hematol* 2010;45:242-6.
 12. Borges MLR, Capela de Matos RR, Amaral B.A.S, Soares-Ventura EM, Leite EP, Silva M O et al. [Molecular Cytogenetic Approach to Characterize Novel and Cryptic Chromosome Abnormalities in Childhood Myeloid Malignancies of Fanconi Anemia]. *J Pediatr Hematol Oncol* 2017;39:85–91
 13. Williams DA., Bennett C, Bertuch A, Bessler M, Coates T, Corey S, et al. [Diagnosis and Treatment of Pediatric Acquired Aplastic Anemia (AAA): an Initial Survey of the North American Pediatric Aplastic Anemia Consortium (NAPAAC)] *Pediatr Blood Cancer* 2014; 61(5): 869–874.
 14. Pezeshki A, Podder S, Kamel R, Corey S J. [Monosomy 7/del (7q) in inherited bone marrow failure syndromes: A systematic review]. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64:e26714
 15. Maciejewski JP, Risitano A, Sloand EM, Nunez O and Young NS [Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia]. *Blood*. 2002 May; 99(9); 3129-3135.
 16. Mikhailova N, Sessarego M, Fugazza G, Caimo A, Filippi S De, Lint M T van et al. [Cytogenetic abnormalities in patients with severe aplastic anemia]. *Haematologica* 1996; 81: 418-422
 17. Cada M, Segbefia CI, Klaassen R, Fernandez C V, Yanofsky R A, et al. [The impact of category, cytopathology and cytogenetics on development and progression of clonal and malignant myeloid transformation in inherited bone marrow failure syndromes]. *Haematologica* 2015;100(5);633-42
 18. Grover S, Dhiman AK, Garg B, Sood N, Narang V. [Acquired aplastic anemia associated with trisomy eight converting into acute myeloid leukemia]. *J Lab Physicians* 2017;9: 207-9
 19. Tripathi P, Tripathi AK, Kumar A, Ahmad R, Balapure AK, Vishwakarma AL [Diagnostic and prognostic values of S-phase fraction and aneuploidy in patients with bone marrow aplasia] *Indian J Hematol Blood Transfus* 2009; 25(1):10–16
 20. Piñán MA, Balerdi A, Iglesias A, Dueñas M, Olazabal I, Puente M et al. [Acute Myeloid Leukemia with t(11;17)(q23;q21)]. *Annals of Hematology & Oncology*. 2(6): id1050 (2015), 01– 04.
 21. http://atlasgeneticsoncology.org/Indexby-chrom/idxa_17.html
 22. Dutta A, De R, Dolai T K, Mitra P K, Halder A. [Cytogenetic study is not essential in patients with aplastic anemia]. *Am J Blood Res* 2017; 7(5):49-58
 23. Rochowski A, Olson S B, Alonzo T A, Gerbing R B, Lange B J, and Alter B P, [Patients with Fanconi Anemia and AML have Different Cytogenetic Clones than de novo Cases of AML]. *Pediatr Blood Cancer*. 2012 November ; 59(5): 922–924.
 24. Boddu PC, Kadia TM. Molecular pathogenesis of acquired aplastic anemia. *Eur J Haematol*. 2019;102:103–110.

ARTICLE IN PRESS