

40321

T.C.
Çukurova Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Ana Bilim Dalı

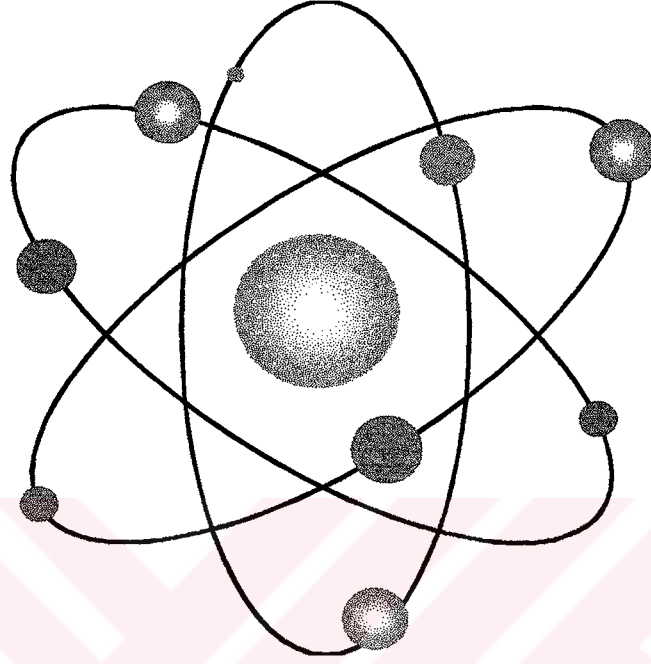
**HEMATOLOJİK MALİGNANSİLERDE
ERİTROSİTER PİRUVAT KİNAZ AKTİVİTESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. HAYRİ LEVENT YILMAZ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Atila Tanyeli

ADANA, 1995



İÇİNDEKİLER

Kısaltmalar	1
Giriş	4
Genel Bilgiler	6
Gereç ve Yöntem	52
Bulgular	57
Tartışma	72
Sonuçlar	83
Özet	85
Kaynaklar	87

KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ADA: Adenozin Deaminaz

ADP: Adenozindifosfat

Alb: Albümin

ALL: Akut Lenfoblastik Lösemi

ALP: Alkalen Fosfataz

ALT: Alanin Aminotransferaz

AMP: Adenozinmonofosfat

ANLL: Akut Nonlenfoblastik Lösemi

APRT: Adenozin Fosforibozil Transferaz

AST: Aspartat Aminotransferaz

ATP: Adenozintrifosfat

Bk: Beyaz Küre

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

BUN: Kan Üre Azotu

Bur.Len.: Burkitt Lenfoma

cAMP: Siklik Adenozinmonofosfat

CD: Cluster of Differentiation

CPK: Kreatinin Fosfokinaz

Cr: Kreatinin

Cyt: Sitoplazmik

Dağ: Dağılım (*en küçük* ve *en büyük* değerler)

DES: Dietil Stil Besterol

DHAP: Dihidroksiaseton Fosfat

DNA: Deoksiribonükleik Asit

DPG: Difosfo Gliserik Asit

DPGM: Difosfogliserat Mutaz

DPGP: Difosfogliserat Fosfataz

E-4-P: Eritroz-4-Fosfat

E: Koyun Eritrositleri

EBV: Epstein-Barr Virüsü

EDTA: Etilendiamin Tetra Asetat (divalan metalleri şelatlamada kullanılan bir reaktif)

EMY: Embden-Meyerhof Yolu

ePKA: Eritrositer Pirüvat Kinaz

F_{1,6}P₂: Früktoz-1,6-difosfat

F₆P: Früktoz-6-Fosfat

FAB: French-American-British(Fransız-Amerikan-İngiliz)

fl.: Femtolitre

G_{1,6}P: Glukoz-1,6-Fosfat

G₆PD: Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz
Ga-3-P: Gliseraldehid-3-Fosfat
GAPD: Gliseraldehid Fosfat Dehidrogenaz
GPI: Gliserofosfat İzomeraz
gr/dl: Gram/Desilitre
GSH-P: Glutatyon Peroksidaz
GSH: Redükte Glutatyon
GSSG: Glutatyon (okside)
GSSG-R: Glutatyon Redüktaz
Hb: Hemoglobin
HGPRT: Hipoksantin Guanin Fosforibozil Transferaz
HH: Hodgkin Hastalığı
HK: Heksokinaz
HLA: Histokompatibilite Antijeni
HMY: Heksoz Monofosfat Yolu
HpM: Hepatomegali
IU/gHb: Uluslararası Ünite/ Gram Hemoglobin
K₃Fe(CN)₆ : Potasyum ferrisiyanid
KB: Kemik İliğindeki Blast Yüzdesi
KCN: Potasyum siyanür
KLL: Kronik Lenfositik Lösemi
K_m : Yarı Maksimal Hız Üreten Substrat Konstrasyonu Sabitesi (Michaelis Sabitesi)
KML: Kronik Myelositik Lösemi
LAP: Lenfadenopati
LDH: Laktik Dehidrogenaz
MCH: Ortalama Eritrosit Hemoglobini
MCHC: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV: Ortalama Eritrosit Hacmi
MDS: Miyelodisplastik Sendrom
Med: Medyan
mg/dl: Miligram/Desilitre
MgCl₂ : Magnezyum Klorür
MOPS: 3-{N- morfolino} propansülfonik asit
MSS: Merkezi Sinir Sistemi
NAD: Nikotinamid Adenin Dinükleotid (okside)
NADH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid (redükte)
NADP: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (okside)
NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (redükte)
NCI(SEER): Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü ("Surveillance, Epidemiology and End Results" programme)
NHL: Nonhodgkin Lenfoma

PAS: Periodic Acid Schiff
PB: Periferik Yaymada Yüzde Blast Oranı
PEP: Fosfoenol Pirüvat
PFK: Fosfofrüktokinaz
pg: Pikogram
PG: Fosfogliserik Asit
PGK: Fosfogliserat Kinaz
pI: İzoelektrik nokta
Pi: İnorganik Fosfat
PK: Pirüvat Kinaz
PKA: Pirüvat Kinaz Aktivitesi
R-5-P: Riboz-5-Fosfat
Ret: Retikülosit Yüzdesi
RLD: Rapaport-Luebering Döngüsü
RNA: Ribonükleik Asit
RPK: Ribozfosfat Pirofosfokinaz
RS: Reed-Stenberg Hücresi
Ru-5-P: Ribüloz-5-Fosfat
S-7-P : Sedoheptüloz-7-Fosfat
SD: Standart Sapma
SLE: Sistemik Lupus Eritematosus
SmIg: Membrana Bağlı İmmünglobülin
SOD: Süperoksit Dismutaz
SpM: Splenomegali
Tdt: Terminal Deoksinükleotidil Transferaz
Tot.Pro.: Total Protein
TPI: Triozfosfat İzomeraz
Trom: Trombosit
U/L: Ünite/Litre
Ürik A: Ürik Asit
UV: Ultraviöle
X-5-P : Ksiloz-5-Fosfat

GİRİŞ

Malign hastalıklar ölüm nedeni olarak gelişmiş ülkelerde kaza ve travmalardan sonra ikinci sırada yer alırken gelişmekte olan ülkelere enfeksiyonlar gibi hastalıkların hem önlenme hem de tedavisinde henüz yeterince başarı sağlanamadığı için daha alt sıralarda yer almaktadır. Bunların arasında akut lösemiler ve lenfomalar çocukluk çağında en sık görülen malign hastalıklardır (yaklaşık %40-50'si). Gelişen tedavi olanaklarıyla malignansili çocukların yaşam süreleri belirgin olarak uzamıştır. Ancak halen malignansiler en önemli ölüm nedenleri arasında yer almaktadır. Bu nedenle uzun yıllardır malignansinin nasıl geliştiği, organizmada ne gibi değişikliklere neden olduğu, malignansi gelişiminin nasıl durdurulabileceği, kanser hücrelerine spesifik etki edebilecek antikanser ilaçlarının nasıl üretilebileceği konusunda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bunlar arasında da kanser hücresinin metabolizması ile ilgili çalışmalar önemli bir yer tutmaktadır.

Malign hastalıklarda hücre metabolizması normal hücrelerden daha farklı özelliklere sahiptir. Yapılan çalışmalar sonucunda malign değişim göstermiş hücrelerde enerji kazanımı işleminin Krebs siklusu ve elektron transport sisteminden ziyade glikolizis üzerinden gerçekleştiği saptanmıştır. Bu nedenle malign hücrelerde glikolitik enzimlerin üretim ve tüketimi artmaktadır^{115,116}. Bu metabolik değişiklikler sadece malign değişim göstermiş hücrelerde sınırlı kalmamakta malign değişimden dolayı olarak etkilenen bazı hücrelerde de (örneğin; eritrositler, trombositler, lökositler gibi...) meydana gelmektedir^{16,39,96,108,110,111}. Zaten lösemilerde kazanılmış eritrositer enzimopatilerin meydana geldiği yapılan bir çok çalışmada da gösterilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda eritrositlerde piruvat kinaz (PK)^{15,16,31,32,47,54,57,82,96,104,109-111}, fosfofrüktokinaz (PFK)^{16,55,60}, adenilat kinaz^{16,28,96}, pirimidin 5' nükleotidaz¹⁰⁹ ve 2,3 difosfogliserat mutaz^{16,28}, glutatyon redüktaz^{108,114} gibi enzimlerin aktivitelerinde azalma tespit edilirken; heksokinaz^{16,31,96,108}, aldolaz^{16,28,96}, enolaz^{16,31,96}, glukoz-3-fosfat dehidrogenaz²⁸, gliseraldehid-3-P dehidrogenaz^{31,102}, glukoz-6-P dehidrogenaz (G₆PD)^{16,31,96}, 6-fosfoglukonat dehidrogenaz^{16,28,96,108}, triozfosfat izomeraz^{16,31,96}, süperoksit dismutaz (SOD)³⁵, glutatyon peroksidaz^{16,40,108} ve adenozin deaminaz^{16,3,96} aktivitelerinde ise artış olduğu saptanmıştır. Bazı çalışmalarda ise bunlarla çelişen sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin; piruvat kinaz^{73,96} ile glukoz-3-fosfat dehidrogenazın¹⁶ arttığı; G₆PD^{32,73}, katalaz⁸¹ ile SOD⁸¹'in azaldığı rapor edilmiştir. Malign hastalıklarda

en belirgin değişiklikler G₆PD, PK ve PFK'da görölmektedir. Kazanılmış ePK eksikliği olan hastalarda da ilerde akut nonlenfoblastik lösemi (ANLL)'nin geliştiği^{8,9,39,43,54,77,95,104} ve kazanılmış eritrositer pirüvat kinaz eksikliğinin lösemilerin özellikle ANLL'nin erken bulgusu gibi görüldüğü iddia edilmiştir^{39,54,77,104}. Ayrıca konjenital eritrositer pirüvat kinaz (ePK) eksikliği olan hastalarda da normal popülasyondan daha fazla hematolojik malignansi (özellikle akut nonlenfoblastik lösemi) gelişme olasılığının olduğu bir kaç olgu sunumu ile ileri sürölmüştür^{34,69,108}. Sonuçta eritrositer pirüvat kinaz aktivitesinin azalmış olarak saptanmasının prelösemik fazın tanınmasında yararlı olabileceği öne sürölmüştür^{8,16,28,34,39,54,77,82,104}.

Sitostatik ilaçlarla tedavi uygulanan hastalarda akut lösemi olasılığının arttığı bilinmektedir^{4,19,20,21,28,77,100}. Sitostatik tedavi sadece malign hastalıklarda değil, kronik idiopatik trombositopeni, romatoid artrit, bazı böbrek hastalıkları gibi nonmalign hastalıklarda da uygulanmaktadır¹⁰. Bu nedenle sitostatik tedavinin en korkulan komplikasyonu olan akut lösemnin ortaya çıkmadan önce tespit edilebilmesi önem kazanmaktadır. Ancak günümüzde bu konuda henüz yeterli düzeyde araştırma olmaması bir çok araştırmacıyı kanserli hastalarda hücre biyokimyası ile ilgili çalışmalar yapmaya yöneltmektedir.

Bu çalışma akut lösemilerde ve lenfomalarda ilk tanı anındaki eritrositer pirüvat kinaz aktivitesi (ePKA) ile bu hastalıklarda kemoterapinin ePKA'si üzerine etkisini incelemek amacıyla planlandı. Ayrıca relaps ALL'de de ePKA ölçüldü. Bu sayede eritrositlerin tek enerji kaynağı olan glikolitik yolun anahtar enzimlerden biri olan PK'ın akut lösemi ve lenfomalarda tanı ve remisyonun takibi için kullanılabilirliği araştırıldı.

GENEL BİLGİLER

NEOPLASTİK HASTALIKLAR

Kanserin çok uzun süreden beri insanların en önemli sorunlarından biri olduğu Ebers papiruslarında tümörlere ait ilk kayıtların bulunmasıyla anlaşılmıştır. Tümörlere ait ilk tanımlamalar ise Hipokrat tarafından yapılmıştır. Hipokrat “yengeç” anlamına gelen “carcinus” sözcüğünü ülserler için kullanmış ve bunların malign olanlarına da “carcinoma” adını vermiştir. Orta çağda tümörler konusunda fazla bir gelişme olmamıştır. İbni Sina , kanser olgularına arsenik tedavisi uygulamış, İbni Zühr ise mide ve özefagus kanserleri hakkında tanımlamalar yapmıştır. kanser konusunda büyük ilerlemeler ancak 19. yüzyıl ikinci yarısından sonra gerçekleşmeye başlamıştır. Elektron mikroskopunun bulunması, bunun yanı sıra immünolojik, genetik, histokimyasal ve immünohistokimyasal çalışmalar ile moleküler düzeydeki çalışmalar kanser etyolojisi ve tedavisi hakkında bilgilerimizi hızla artırmaktadır²⁶.

Gelişmiş ülkelerde neoplastik hastalıklar 1-4 yaş arası grupta ölüm nedeni olarak üçüncü, 5-14 yaş arası grupta ise ikinci sırada yer alırken Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde 1-15 yaş grubunda hastalıkların sebep olduğu ölümlerin en sık sebebidir^{10,103,2}. Ülkemizde ise neoplastik hastalıklar çocuk ölümleri arasında en ön sırayı almamaktadır. Bu durumun sebebi henüz korunması olası hastalıkların tam olarak önlenememiş olması nedeniyle neoplastik hastalıklardan ölüm oranının bu tür hastalıklara göre daha alt sıralarda yer almasındandır².

ABD istatistiklerine göre 15 yaş altı çocuklarda malign hastalık insidansı 1986-87 yıllarında daha önceki 15 yıla göre akut lenfositik lösemi ve santral sinir sistemi tümörlerinde az bir artışla birlikte 14/100000/yıl olarak saptanmıştır¹⁰.Türkiyede ise yılda yaklaşık 19000-20000 arası yeni kanser olgusu görülmekte olup, bunların yaklaşık % 5’i 0-14 yaş grubunu kapsamaktadır¹⁷.

Çocukluk çağı malign hastalıklarının 0-14 yaş grubundaki dağılımı incelendiğinde yaşlara göre bazı farklılıklar göstermektedir Çocuklarda yaşlara göre görülen malign hastalıkların oranları Tablo-1’de görülmektedir¹⁰.

	<5 yaş(%)	5-9 yaş(%)	10-14 yaş(%)	15-19 yaş(%)
Akut Lösemi	36	31	18	12
Lenfoma	10	16	25	27
Beyin	13	25	18	10
Böbrek	10	5	-	-
Nöroblastoma	7	3	-	-
Yumuşak Doku	7	5	5	5
Göz	6	2	-	4
Over/Testis	2	-	3	11
Kemik	-	3	11	7
Tiroid	-	-	4	8
Melanoma	-	-	-	6
Diğer	9	10	16	10

Ülkemizde çocukluk yaş grubundaki kanser kayıt ve istatistik verilerinin yeterli olmaması nedeniyle tam olarak değerlendirme yapılamamaktadır. Ancak Hacettepe Üniversitesi kayıtlarına göre 1961-1990 tarihleri arasında izlenen 10548 olgunun değerlendirilmesinde lösemi %32,8, lenfoma %25,3, santral sinir sistemi tümörleri %10,6, Wilm's tümörü %6,5, nöroblastoma %6,1, yumuşak doku tümörleri %5,7, kemik tümörleri %3, retinoblastoma %1,3, diğerleri %9,5 olarak belirtilmiştir. 1987-1994 yılları arasında Ünivaersitemizde yapılan bir çalışmada ise 7 yıllık sürede izlenen 782 hastada malign hastalıkların oranı Tablo-2'de görülmektedir⁹⁸.

TANI	YÜZDE
Lösemi	45,3
Lenfoma	23,7
Wilm's Tümörü	6,7
Nöroblastoma	3,9
Retinoblastoma	2,9
Rabdomyosarkoma	2,5
Germ Hücreli Tümör	1,6
Santral Sinir Sistemi Tümörü	1,6
Kemik Tümörü	1,5
Hepatoblastoma	0,8
Histiositoz	1,6
Diğer Tümörler	5,6

Kanser görülme sıklığı coğrafi bölgelere ve etnik gruplara göre değişkenlik göstermektedir^{10,66}. Örneğin dünyadaki en yüksek kanser insidansı İbadan (Nijerya)'da 155,6/milyon kişi, en düşük insidansı Fiji'de 39,7/milyon kişi olarak tespit edilmiştir⁹⁸. Ayrıca kanserin türüne göre de görülme sıklığı yörelere bağlı olarak değişmektedir. Örneğin karaciğer kanserine Mozambik'te İngiltere'den 100 kat daha fazla rastlanmaktadır⁸⁵. Coğrafi konumun, sosyoekonomik ve etnik sebeplerin malign

hastalıkların dağılımını ne şekilde etkilediği Tablo-3'de daha açık bir şekilde görülmektedir¹⁸.

<i>Tablo-3*</i>	NCI(SEER) ABD 1973-1982 (5129 Olgu)	Manchester İngiltere 1954-1977 (2442 Olgu)	Torino İtalya 1967-1978 (870 Olgu)	Queenslend Avustralya 1973-1979 (454 Olgu)	Türkiye 1972-1990 (10548 Olgu)	HPOG Türkiye 1972-1989 (5464 Olgu)	Riyad S.Arab. 1972-1982 (600 Olgu)	İbadan Nijerya 1969-1972 (1325 Olgu)
Lösemi	30,9	33,1	33,4	31,7	32,0	27,7	25,2	4,5
SSS Tümörü	18,9	22,5	20,6	19,8	10,6	12,7	15,2	22
Lenfoma	12,7	8,4	10,6	11,9	25,3	24,2	27,7	58,8
Yum.doku tümörü	6,1	6,0	6,1	6,2	5,7	6,7	3,8 ^Φ	6,3
NRBL	8,1	6,5	7,0	7,7	6,1	6,4	4,6	2,6
Wilms tümörü	6,0	5,4	4,5	6,4	6,5	6,9	5,2	5,6
Kemik Tümörleri	4,8	4,7	4,3	4,8	3,0	3,6	3,8	2,5
RTBL	2,5	3,0	2,8	4,4	1,3	1,6	7,6	7,3
Diğer	10,0	10,4	10,7	7,1	9,5	10,2	6,8	10,2

*: Sonuçlar % olarak verilmiştir.

Φ: Sadece rabdomyosarkoma olguları dahil edilmiştir.

Kanser Etiyoloji ve Etiyopatogenezi

Kanser oluşumuyla ilgili iki ana faktör vardır¹⁰.

I- Çevresel Faktörler

a-Diethylstilbestrol (DES): Vaginada adenokarsinomaya yol açar. Erken yaş döneminde nadirdir. Gebelik döneminde DES kullanan annelerin kızlarında ise yüksek insidansla görülür¹⁰.

b-İmmünoşüpresif Ajanlar: Renal transplantasyon sonrası immünoşüpresif ajan kullanılmasıyla özellikle non-Hodgkin lenfoma artmış insidansla görülür¹⁰. Anabolik steroidler bir çok karaciğer tümörlerine neden olabilir. Kemoterapötik ilaçlar da sekonder neoplastik hastalıklar yönünden 25 yılda %12 gibi yükseklikte kümülatif riske neden olmaktadır. Alkilleyici ajanlar özellikle akut nonlenfoblastik lösemiye (ANLL) neden olabilmektedir^{10, 74,90}.

c-Benzen: Lösemiye neden olmaktadır.

d-Hidrokarbonlar

e-İyonize Radyasyon: Akut lenfoblastik lösemi (ALL), ANLL ve kronik granülositik lösemi insidansını artırmaktadır. Ayrıca tiroid kanseri, meme kanseri gibi malignansilere artmış insidansla rastlanmaktadır¹⁰.

f-Solar Radyasyon: Ultraviyole (UV) ışını deri kanserlerine neden olmaktadır. Kseroderma pigmentosumlu çocuklarda DNA onarım mekanizmasındaki bir defekt nedeniyle UV ışını karsinojenik etkiyi artırır ve squamoz hücreli karsinoma gelişebilir¹⁰.

g-Asbestoz: Erişkin çağda plevral mezotelyomaya neden olabilir¹⁰.

h-Diyet: Şişmanlık ve yüksek oranda yağlı beslenme ile erişkin çağda göğüs, kolon ve uterus kanser gelişimi arasında açıklanamayan bir ilişki vardır¹⁰. Ayrıca endüstriyel gıdalarda bulunan yapay tatlandırıcılar, gıdasal boyalar, nitrosaminler ile uygunsuz koşullarda saklanmış gıdalarda oluşan aflotoksin de malignansiye sebeb olabilmektedir¹⁰.

ı-Parazitler: Schistosoma haematobium enfestasyonu 10-20 yaş arası dönemde mesane kanserlerine neden olabilmektedir^{2,10,90}.

i-Viruslar: Retrovirus gibi RNA virusları, papova virusları ve Epstein-Barr virusu (EBV) gibi DNA virusları ve malignansiye ile ilgili olabileceği ileri sürülmüştür¹⁰.

II-Yapısal Faktörler

1-Genetik Bozukluklar

Genetik Faktörler üç grup altında incelenebilir.

a-Kromozomal: Çok sayıda kromozomal anomalide lösemiye normal populusyona göre daha fazla oranda rastlanmaktadır⁷⁴. Down sendromu'nda akut lösemi riski 10 misli artmaktadır. Fanconi anemisi ve Bloom sendromu gibi resesif kromozomal frajilite hastalıkları da lenforetiküler malignansilere yol açabilir^{10, 74,90}.

b-Tek gen bozuklukları: Dominant ve resesif geçişli çok sayıda tek gen bozuklukları tümör gelişimine yol açmaktadır^{10,74,90}. Duncan hastalığı, X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom, ataksi-telenjektazi ve Wiscott-Aldrich sendromlu hastalarda lenfomalar daha sık görülmektedir^{74,90}.

c-Polijenik veya mültifaktöriyel: Predominant rol oynayan tek bir faktör veya gen yerine bir çok gen çevresel faktörlerle hastalığa neden olabilir^{26,74}.

2- Bir çok malformasyon sendromlarında ve heterotopik veya persistan fetal kalıntı dokularda malignansiye artmış eğilim görülmektedir. Örneğin: genitoüriner anomaliler, ambigius genitelia, aniridia, hemihipertrofi ile birlikte Wilm's tümörü; kriptorşitizm, testiküler disgenezis ile testiküler kanser; Von Recklinghausen sendromu (nörofibromatozis), aganglionik megakolon (Hirschprung hastalığı) ile nöroblastoma; vertebral malformasyonlar, alt intestinal ve idrar yollarının duplikasyonları ile sakrokoksigeal teratomlar; Rubenstein-Taybi sendromu, Poland sendromu (pektoralis majör kasının yokluğu ve ipsilateral sindaktili), Schwachman's sendromu (ekzokrin pankreatik yetmezlik ve nötropeni), monozomi C ile birlikte ailevi ataksi de akut lösemnin görülme sıklığı artmaktadır^{2, 10,74,103}.

3-Ailesel Yatkınlık: Bazen bir ailenin birden çok ferdinde malign hastalıklara rastlanmaktadır. Bunlardan tıp literatürüne “kanseri aileleri” olarak geçmiş bir çok aile vardır. Bu durumun sebebi tam olarak bilinmemektedir, ancak genetik geçişle ilgili olabileceği gibi aynı çevresel faktörlerin etkisi altında kalmaya da bağlı olabilir⁷⁴. Ayrıca bir ailede çocuklardan birinde lösemi geliştiğinde diğer kardeşlerin lösemiye yakalanma riski normal popülasyondan 2-4 misli fazla olmaktadır^{10,74}.

4-İmmün yetmezlik hastalıklarında malignansi görülme riski artmaktadır. Bu hastalarda oluşan tümörler; en çok lenforetiküler tümörler olmak üzere epitelyal tümörler, lösemi, mezaşyal tümör ve santral sinir sistemi tümörleridir^{2,10,103}.

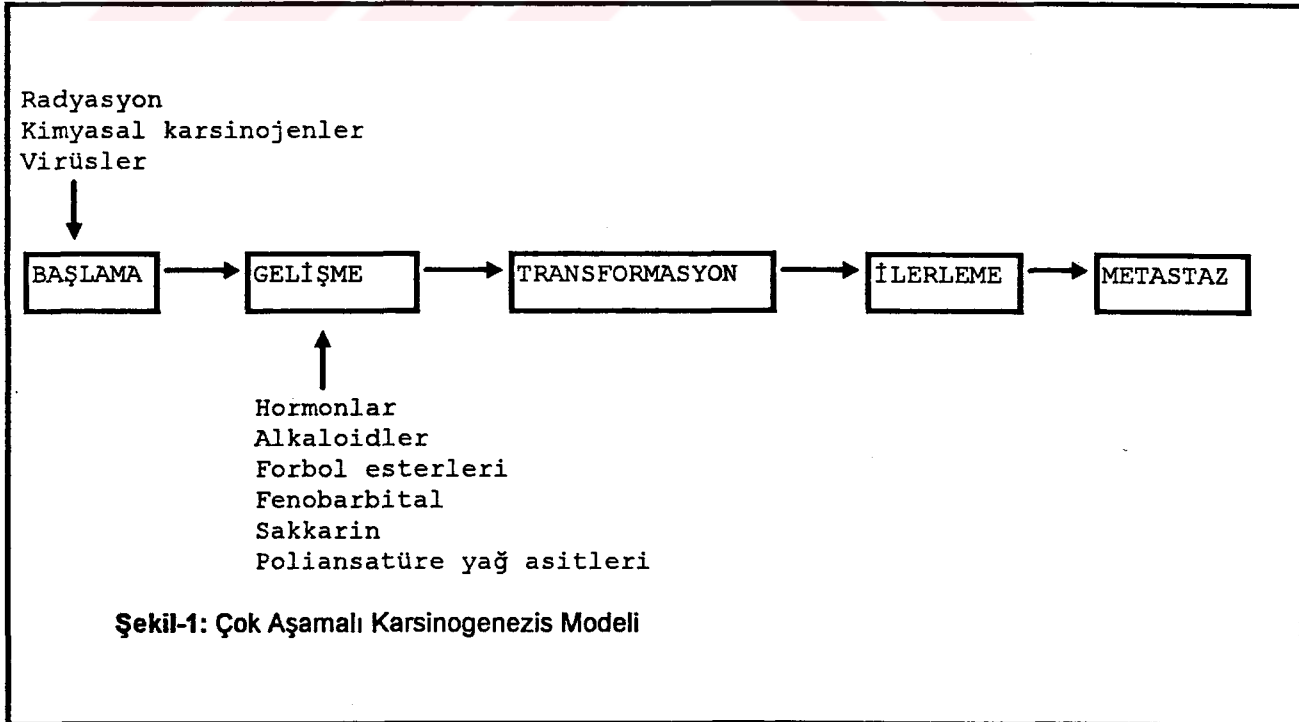
Sonuçta; kanserin asıl olarak ana hücrelerdeki genetik ve epigenetik değişimler sonucu oluştuğu kabul edilir. Kanseri gelişiminden sorumlu genetik değişimler; nokta mutasyonlarını, delesyonları, inversiyonları, amplifikasyonları, gen kaybını ve gen kazanımını kapsamaktadır. Epigenetik değişimler ise; hücrenin genetik içeriğinde ya da DNA diziliminde herhangi bir değişiklik oluşturmaksızın gen ekspresyonundaki değişimi açıklayan bir tanımdır. DNA metilasyonu veya RNA ya da protein gibi gen ürünlerindeki değişimler bu kapsama girmektedir²⁶.

İnsanda kansere yol açan değişimlere çevresel ve genetik faktörlerin kombinasyonu neden olmaktadır. Epidemiyolojik verilere göre kanseri sıklığı çevreden (kirlilik, kimyasal maddeler, virüsler vb), yaşama biçiminden (sigara ve alkol alışkanlığı, tiner koklama vb) ve beslenme biçiminden (antioksidan faktörler, vitaminler, liften fakir veya yağlı gıdalarla beslenme vb) etkilenmektedir²⁶.

Genetik hasarın kanseri asıl sorumlusu olduğu inancının kanıtları; 1-Kanseri kalıtsal eğilimin belirlenmesi, 2-Hücrelerde DNA onarım yeteneğinin azalması ile kanseri yatkınlık arasında bağlantının ortaya çıkartılması ve 3-Mutajenik maddelerle karsinojenite arasında bağlantının belirlenmesidir. Günümüzde moleküler biyolojik çalışmalarla, tümü onkogen olarak tanımlanan özel gen sınıflarının nitelik ve niceliksel ekspresyon değişimlerinin kanseri gelişiminde önemi vurgulanmakta ve daha önceki kanıtlar desteklemektedir. Tümör oluşumunda genetik hasarla ilgili çalışmalar üç gen sınıfının varlığını ortaya koymuştur: 1- **Onkogenler**: Huebner ve Todaro'nun⁴¹ ilk kez öne sürdükleri teoriye göre genel olarak kanseri gelişimini doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyen hücresel genlerdir. 2- **Mutasyona uğradıklarında kanseri eğilimi oluşturan genler** (asıl fonksiyonları DNA onarımı ile ilgilidir) 3- **Onkosupresör genler**: Ekspresyonları kanseri fenotipini inhibe etme özelliği olan genlerdir. Bu

genlerin her iki allelinin delesyonu ya da inaktivasyonu tümör oluşumunda bir basamak oluşturmaktadır^{10, 26,87}.

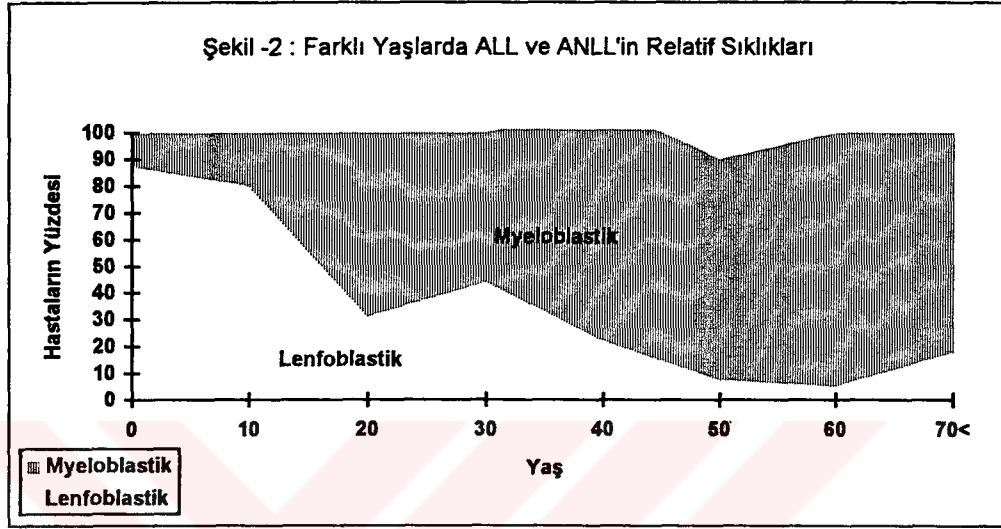
Kanser gelişimini açıklamak için çeşitli varsayımlar öne sürülmektedir. İn vitro transformasyon ya da in vivo karsinogenezis bazı farklı evrelerden oluşan karmaşık bir süreçtir. Çok evreli karsinogenezis modeline göre normal bir hücrenin tamamiyle malignan bir hücreye dönüşmesi ve metastazı için bu çok evreli metabolik yollardan geçmesi gerekmektedir (Şekil-1). Bu modelde ilk evre (başlama: initiation) hücrenin kimyasal karsinojenler, radyasyon, RNA ve DNA tümör virüsleri gibi mutajenlerle geri dönüşümü olmayan bir reaksiyonun indüklenmesidir. İkinci evrede (promotion) hormonlar, growth faktörler, forbol esterleri ve viruslar gibi tümör geliştirici ajanların etkisiyle normal hücrenin belirgin bir şekilde bir tümör hücresine dönüşmesi hızlandırılır. Daha sonra ilerleme (progression) ve metastaz evrelerinde tümör hücreleri malignan hücrelere dönüştürülür. Malignan tümörler öncü tümör hücrelerinden daha fazla sayıda mutasyon veya epigenetik değişim taşıyan heterojen hücrelerden oluşur^{26,90}.



HEMATOPOETİK SİSTEMİN NEOPLASTİK HASTALIKLARI

✓1-AKUT LÖSEMİLER

Akut lösemi çocukluk çağında en sık görülen neoplastik hastalıktır ve çocuklarda görülen neoplastik hastalıkların yaklaşık %35-40'ından sorumludur^{2,10}. Çocukluk çağı akut lösemilerinin % 78-86'sını akut lenfoblastik lösemiler, geri kalanı ise nonlenfoblastik lösemiler oluşturmaktadır⁵(Şekil-2)



Çocuklarda lösemisinin görülme sıklığı ABD'nde beyaz çocuklar için 42,1/milyon çocuk/yıl, zenci çocuklar için daha düşük olarak 24,3/milyon çocuk/yıl olarak saptanmıştır¹⁰. Bazı çocuklarda lösemi görülme sıklığı normal popülasyondan yüksektir (Tablo-4)^{2,58}. Lösemili çocukların tek yumurta ikiz eşlerinde ve kardeşlerinde, Konjenital agammaglobulinemi, Poland sendromu, Scwachman-Diamond sendromu, Kostmann hastalığı, nörofibromatozis, ataksi telenjektazi, Down sendromu, Bloom sendromu, Fanconi anemisi, ailevi monozomi 7 sendromu, Li-Fraumeni sendromu gibi kromozom bozuklukları olan bazı doğumsal anomali sendromlarında, Klinefelter sendromu gibi ekstra kromozomu olan hastalarda ve radyasyon ya da kimyasal karsinojenlerin etkisinde kalmış çocuklarda lösemi olasılığı daha fazladır^{2,58}.

Tablo-4:Lösemide Yüksek Risk Grupları ve Hastalığın Başlangıç Yaşı		
Grup	Yaklaşık Risk	Hastalığın Başlangıç Yaşı
Lösemili çocuğun tek yumurta ikizi	1/5	İlk 5 yıl içinde
Lösemili çocuğun kardeşi	1/720	
Bloom Sendromu	1/8	30 yaştan önce
Fanconi Anemisi	1/12	16 yaştan önce
Down Sendromu	1/95	10 yaştan önce
Radyoterapi uygulanmış politemia vera	1/6	

Not:10 yaştan küçük beyaz ırkın genel popülasyonda risk oranı 1/2880 olarak bildirilmiştir.

Bugün lösemilerin etyolojisi kesin olarak bilinmemekle beraber multifaktoriyel olduğu, hasta ile içinde bulunduğu çevresel etmenler arasındaki etkileşim sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir².

Akut lösemiler, önceleri sadece Romanowsky boyaları ile (Wright, Wright-Giemsa, May-Grunvald-Giemsa) ile boyanmış kemik iliği yaymalarındaki blast hücrelerinin morfolojik karakterleri esas alınarak sınıflandırılırlardı. Günümüzde ise artık spesifik immünolojik, histokimyasal, biyokimyasal, sitogenetik ve hücre kinetik karakterleriyle alt sınıflara ayrılmaya başlanılmıştır⁵.

1976 yılında ALL morfolojik kriterler gözönüne alınarak Fransız, Amerikan ve İngiliz (FAB) hematologlarının oluşturduğu grup tarafından sınıflandırılmıştır¹¹. Bu sınıflandırmada hücrelerin morfolojik özellikleri (hücrelerin büyüklüğü, kromatin şekilleri, nukleus sayıları, sitoplazmik karakterleri) esas alınarak ALL üç alt gruba ve akut nonlenfoblastik lösemi (ANLL) de yedi alt gruba (ek alt gruplarla birlikte 13 tip) ayrılmaktadır^{2, 5,10, 66, 74,90} (Tablo-5 ve 6).

Tablo-5: FAB Sınıflamasına Göre ALL Alt Grupları ve Özellikleri^{2,5,10, 58,66,74,90}

Morfolojik Özellikler	L ₁	L ₂	L ₃
Hücre boyutu	Büyük çoğunluğu <i>küçük</i>	İrili ufaklı	Büyük, homojen görünümde
Çekirdek kromatini	Yoğun ve homojen	İnce ve heterojen	İnce ve homojen
Çekirdeğin görünümü	<i>Düzenli</i> ; nadiren çentikli ve yarı olabilir	<i>Düzensiz</i> ; çentik ve yarı siktir	<i>Düzenli</i> ; oval ve yuvarlak
Çekirdekçik	Belli belirsiz veya yok	Bir veya daha fazla; geniş ve belirgin	Bir veya daha fazla; geniş ve belirgin
Sitoplazma genişliği	Çok dar	Değişik boyutlarda	Daha geniş
Bazofilik boyanma	Genellikle hafif, nadiren belirgin	Değişken, bazen belirgin	Çarpıcı, belirgin
Sitoplazmik vakuoller	Genelde yok	Olabilir	Sıklıkla var
Görülme sıklığı ¹¹	Sık(%90)	Daha az(%5-15)	Nadir(%0-1)
Prognoz	İyi	Kötü	Kötü

Tablo-6: FAB Sınıflamasına Göre ANLL'in Alt Grupları ve Sitokimyasal Özellikleri^{5,66,74, 90}

Alt Gruplar	Yaygın İsmi	Auer Cisimciği	Sitokimyasal Özellikler			2 yaş altı	2 Yaş üstü
			Myeloperoksidaz veya Sudan black B	Klorasetat Esteraz	Nonspesifik Esteraz		
M ₀	Andifferansiye Myeloblastik ^Φ	-	-	-	-		
M ₁	Akut Myeloblastik Lösemi (İmmatüre)	+/-	+	+/-	-	%17	%25
M ₂	Akut Miyeloblastik Lösemi (Differansiye-Matür)	+	+	+/-	-		%27
M ₂ -Baso	M ₂ ile birlikte bazofil blastlar						
M ₃	Akut Promyelositik Lösemi	++	+	+	-		%4
M ₃ veyant	Mikro veya Hipogranüler promyelosit		+				
M ₄	Akut Myelomonositik Lösemi (hem granülositik hem monositik differansiyon)	+/-	+	+	+*	%30	%24
M ₄ -Eo	M ₄ ile birlikte kemik iliğinde eozinofili		+		+		
M ₅	Akut Monositik Lösemi	-	-	-	+	%52	%15
M _{5a}	Monoblastik Lösemi	-	-	-	+&		
M _{5b}	Promonositik-monositik Lösemi	-	-	-	+&		%2
M ₆	Eritrolösemi(eritroblastlar %50'den fazla)	+	+	-	+/-		%5
M ₇	Akut Megakaryoblastik Lösemi	-	-	+/-	+/-&		

Φ: Myeloid antikorlarla ve/veya ultrastrüktürel peroksidaz ile tanımlanmıştır.

*: Sodyum florid ile tam olmayan inhibisyon

&: Sodyum florid ile tam inhibisyon

Bugün ALL daha yaygın olarak monoklonal antikorlar ve bazı enzimler kullanılarak, immünolojik yüzey membran karakteristikleri ile immünolojik olarak alt gruplara ayrılmaktadır⁵. Bugün monoklonal antikorlarla yapılan son sınıflamada ALL; T-hücre kökenli ve B-hücre kökenli ALL olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Tablo-7). ANLL'de de aynı şekilde hücre orijini belirlenebilmektedir (Tablo-8).

Tablo-7: ALL'inin İmmünolojik-Sitogenetik Sınıflandırılması ve Hücre Markırları⁵

Reagent Tipi	Markır*	B-Kökenli				T-Kökenli	
		Null-ALL	cALL	pre-B	B-ALL	pre-T	T-ALL
Prekürsör Hücrelere Karşı	HLA-Dr	+	+	+	+	-/+	-
	Tdt	+	+	+	-/+	+	+
	CD ₃₄ (3C5)	+	+	+	-	-	-
	CD ₁₉ (B ₄)	+	+	+	+	-	-
	CD ₂₂ (Cyt)	+	+	+	+	-	-
B-hücre Antijenlerine Karşı	CD ₁₀ (J ₅)	-	+	+	-/+	-/+	-
	CD ₂₀ (B ₁)	-	-/+	+	+	-	-
	Cyt μ zinciri	-	-	+	+	-	-
	SmIg	-	-	-	+	-	-
	CD ₇ (3A ₁)	-	-	-	-	+	+
T-hücre Antijenlerine Karşı	CD ₃ (cyt)	-	-	-	-	+/+	+
	CD ₅ (VCHT ₂)	-	-	-	-	-/+	+
	E-Rozet(CD ₂)	-	-	-	-	-	+
	CD ₁ (OKT ₆)	-	-	-	-	-	-/+

*: Markırlar cluster of differentiation(CD) numarası ve ilk kullanan otorün laboratuvarında verdiği monoklonal antikor isimlendirmesine göre(parentez içindekiler) verilmiştir.

Kısaltmalar: Cyt: Sitoplazmik

E: Koyun eritrositleri hücreleri

Tdt: Terminal deoksinükleotidil transferaz

SmIg: Membrana bağlı immünglobülin

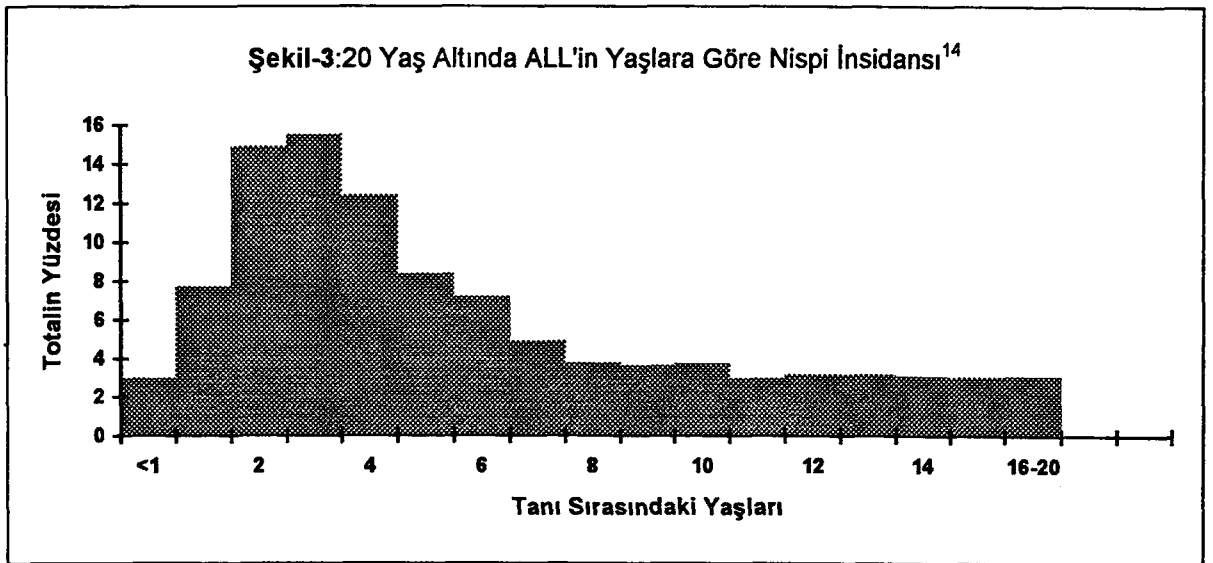
Tablo-8: ANLL'de Hücre Markırları^{5,58}

Monoklonal Antikorlar	M ₀ *	M ₁	M ₂ /M ₃	M ₄ /M ₅	M ₆	M ₇
CD ₃₄ (3C ₃)	+	+	±/-	±/-	-	±
CD ₁₃ (MCS ₂)	+	+	+	+	+	+
CD ₃₃ (MY ₉)	±	+	+	+	±	+
CD _{11b} (DKM ₁)	-	-	+	±	-	-
CD ₁₅	-	+	+	+	-	-
CD ₁₄ (fmc ₁₇)	-	-	-	+	-	-
CD ₆₁	-	-	-	-	-	+
Glycophorn	-	-	-	-	+	-
CD _{41/42}	-	-	-	-	-	+
HLA-DR	-	+	+/-	+	+	+
Tdt	-/+	-/+	-	-	-	-

*:Işık mikroskopunda sitokimyasal olarak negatif olan andifferansiye akut myeloblastik lösemi, lenfoid antijenleri yoktur fakat elektron mikroskopunda peroksidaz pozitifdir.

A-Akut Lenfoblastik Lösemi(ALL)

Çocukluk çağı akut lösemi olgularının %75-80'ını oluşturur^{2,10,90}. En sık 3-4 yaşları arasında görülür. Beyaz ırk ve erkek çocuklarda; zenci çocuklardan ve kız çocuklardan daha sık görülmektedir^{2,10}. Şekil-3'de 20 yaşından daha küçük ALL'lilerdeki nispi insidans görülmektedir⁸⁵. FAB sınıflandırmasına göre gruplandırılan serilerde ALL-L₁ %90, ALL-L₂ %5-15, ALL-L₃ %0-1 oranında bildirilmiştir⁵. İmmünolojik sınıflamaya göre gruplandırılan serilerde ise B-hücreli ALL %1-3, T-hücreli ALL %15-20, T-dışı hücreli ALL %75-80 oranında görüldüğü saptanmıştır¹⁰.



Klinik Bulgular

ALL sinsi olabileceği gibi dramatik bir seyir de gösterebilir. Bu hastalardaki bulgular; blastların kemik iliği ve organları infiltre etmesi ile ilgilidir. Eritrosit öncül hücrelerinin yokluğunun neden olduğu anemi çocuklarda solukluk, halsizlik, sinirlilik ve kronik yorgunluk yapabilir. Matür granülositlerin yokluğu çocukları enfeksiyonlara duyarlı kılar . Trombositopeniye bağlı olarak burun kanaması, peteşi, hematoma veya yaşamı tehdit eden kanamalar ortaya çıkabilir. Organlara infiltrasyon sonucu organ disfonksiyonları ve çevre dokulara basılar gelişebilir^{5,10,66,74,90,103}. Tablo-9'da klinik bulgular toplu halde gösterilmiştir⁹⁰.

Tablo-9: ALL'li Hastalarda Tanı Sırasındaki Klinik Semptom ve Bulgular	Semptom ve Bulgular
Semptom ve Bulgular	Hastaların Yüzdesi
Ateş	61
Kanamama(Peteşi, purpura vb)	48
Kemik Ağrısı	23
Lenfadenopati	50
Splenomegali	63
Hepatosplenomegali	68

Laboratuvar Bulguları

Başlangıçta hastaların 1/3'ünde beyaz küre sayımı normalin altındadır, diğer 1/3'ünde normaldir, geriye kalan 1/3 de ise yükselmiştir. Hastaların yaklaşık %85'inde trombositopeni vardır ve pek çoğunda çeşitli derecelerde anemi bildirilmiştir. Periferik kan yaymasında blastlar görülebilir. Kemik iliği incelemesinde % 25'den daha yüksek oranda blast saptanması tanı koydurucu bir kriter olarak kabul edilir. Yüksek serum ürik asit seviyesi dikkatli izlem ve tedavi gerektirir. Radyolojik incelemede vakaların % 8-10'unda mediastende kitle, %50'inde kemiklerde rarefaksiyon ve medüller kanalda genişleme, metafizlerde transvers çizgiler, patolojik kırıklar gibi bulgular verir^{2,10,66,74,90,103}.

Ekstramedüller Tutulum

ALL kemik iliğinden kaynaklanan bir neoplastik hastalık olmakla birlikte kemik iliği dışı bölgeleri de tutar. Bu ekstramedüller bölgeler arasında tedavi ve prognoz açısından en önemli yeri merkezi sinir sistemi (MSS) ve testisler oluşturur. Zaten bu organlar lenfoblastların sığınak bölgeleridir. MSS lösemisi özellikle iki yaşın altındaki çocuklar ile T hücreli tipte ve ilk gelişteki lökosit sayısı yüksek olan hastalarda görülür. Bu durum kemik iliği remisyona girmiş hastalarda nüklere neden olur. ALL'li çocukların %5'inden daha azında tanı sırasında MSS lösemisi mevcuttur^{74,58}. MSS

lösemisi belirtileri genellikle kafa içi basınç artışına bağlıdır. Kusma, baş ağrısı, papilla ödemi, letarji, konvülsiyon, ense sertliği, diplopi, strabismus, tek taraflı fasial paralizi, ve hemiparezi gibi bulgularla tüberküloz menenjitini taklit edebilir. Hipotalamusu infiltre ederse aşırı tartı artışı, davranış kusurları, hirsütizm, diabetes insipitus; serebellumu infiltre ederse ataksi, dismetri, hipotoni, hiperrefleksi saptanabilir. 1995 yılında yapılan 501 olguluk bir çalışmada nörolojik bulguları olan ve/veya MSS tutulumu gelişmiş 93 ALL'li olgu incelemeye alınmış. Tablo-10'da bu çalışmada saptanan nörolojik bulgu ve semptomlar görülmektedir⁹⁷. Tanı beyin omurilik sıvısında (BOS) basınç artışı, hücre artışı ile birlikte şeker azalışı yanısıra özellikle lenfoblastların görülmesiyle konur^{2,10,66,74,90,97}.

Tablo-10 : ALL'li Olgularda Nörolojik Semptom ve Bulgular	
Semptomlar	Hasta Sayısı ve Yüzdesi
Baş ağrısı	36(%38,7)
Bulantı-Kusma	19(%20,4)
Konvülsiyon	17(%18,3)
İştahsızlık	5(%5,4)
Yürüyememe	5(%5,4)
Baş Dönmesi	3(%3,2)
Diğerleri	9 (9,6)
Yakınması olmayanlar	24(%25,8)
Bulgular	
Şuur Değişikliği	26(%28)
Meningeal Bulgular	24(25,8)
Derin Tendon Reflekslerinde Azalma	29(%31,1)
Kranyal Sinir Tutulumu	25(%26,8)
Patolojik Refleks	19(%20,4)
Göz Dibi Bulguları	18(%19,3)
Hemiparezi	9(%9,6)
Hipotonisite	7(%7,5)
Anizokori	7(%7,5)
Parestezi	5(5,4)
Derin Tendon Refleksinde Artma	5(%5,4)
Diğerleri	24(%25,8)

Testisler de MSS gibi kemoterapetiklerin etkilerinden uzak kaldığı için lenfoblastların saklandıkları bölgelerdendir. ALL olgularının %5-40'ında testiküler lösemi tek veya çift taraflı ağrısız testis büyümesi şeklinde ortaya çıkar ve özellikle uzun süre tedavi görmüş olanlarda nüks nedeni olur. Testisler ve MSS dışında overler, böbrekler, sindirim sistemi ve akciğerlerde de ekstramedüller lösemi görülebilir^{2,10,66,74,90}.

Ayırıcı Tanı

Genellikle ALL tanısı koymada zorlukla karşılaşılmaz. Yine de bazı hastalıklar kliniği ve laboratuvar bulgularıyla ALL'yi andırabilir (Tablo-11)⁷⁴.

Tablo-11: ALL'de Ayırıcı Tanı

Nonmalignant Durumlar

Juvenil Romatoid Artrit
Enfeksiyöz Mononükleozis
İdiopatik Trombositopenik Purpura
Boğmaca; parapertussis
Aplastik Anemi

Malignansiler

Nöroblastoma
Lenfoma
Retinoblastoma
Rabdomiyosarkoma
Hipereozinofilik Sendrom

Prognostik Faktörler

ALL'de bir çok faktör hastalığın klinik yönünü iyi ya da kötü olarak etkilemektedir. Bunlar Tablo-12'de görülmektedir⁹⁰.

Tablo-12: ALL'de Prognostik Faktörler

	İYİ	KÖTÜ
Klinik Özellikler		
Beyaz küre sayısı	<10 x 10 ⁹ /L	>50 x10 ⁹ /L
Yaş	2-9 yaş	<2, >10 yaş
Cins	Kız	Erkek
İrk	Beyaz	Zenci
Remisyon zamanı	< 14 gün	>28 gün
Lenf nodu, karaciğer, dalak büyüklüğü	Yok	Belirgin
Mediastinal Kitle	Yok	Var
MSS Lösemisi	Yok	Var
FAB Sınıflaması	L ₁	L ₂ , L ₃
Hemoglobin	< 7 gr/dl	>10 gr/dl
Trombositler	> 100 x 10 ⁹ /L	< 30 x 10 ⁹ /L
Serum immünglobülinleri	Normal	Azalmış
İmmünofenotip	Early pre-B hücre	T-hücre B-hücre Karışık
Sitogenetik Markırlar	Hiperdiploidi 6q ⁻	Psödodiploidi t(9;22) t(8;14) t(4;11) t(14q ⁻)

Tedavi

Günümüzde ALL tedavisi 1- Remisyon indüksiyonu 2-MSS profilaksisi ve konsolidasyon 3- İdame tedavisi olmak üzere üç aşamada yapılır. Kemoterapide vinkristin, daunorubisin, metotreksat, L-asparaginaz, prednizolon, etoposit (VP-16), sitozin arabinozid, tioguanin, 6-merkaptopürin kullanılmaktadır. Ayrıca kemik iliği transplantasyonu ile de başarılı sonuçlar alınmaktadır.

B-Akut Nonlenfoblastik Lösemi(ANLL)

Çocukluk çağı lösemi olgularının %15-20'ni oluşturur. Her yaştaki erkek ve kız çocukta eşit oranda görülür^{2,10,74}. Yaşamın ilk dört haftasındaki lösemilerin büyük çoğunluğunu oluşturur⁷⁴. Akut lösemiler için 4 yaş civarındaki pik ALL'e bağlıdır. Onlu yaşlarda insidansında az miktarda artış olur ve sonra tedricen artış görülmeye başlanan 55 yaşa kadar stabil seyredir⁷⁴.

ANLL karakteristik olarak predispozan faktörlere sahip çocuklarda meydana gelir^{2,10,74}. ANLL insidansını artıran faktörler Tablo-13'nde görülmektedir⁷⁴.

Tablo-13: ANLL'de Artmış İnsidansla Birlikte Bulunan Durumlar

Down sendromu
Fanconi anemisi
Bloom sendromu
Kostman sendromu
Diamond-Blackfan anemisi
iyonize radyasyon
Mylodisplastik sendromlar
Aplastik anemi(immünosupresif tedaviden sonra)
Benzene maruz kalma
İlaçlar(alkilleyici ajanlar ve epipodophyllotoxinler)

ANLL bir çok alt gruptan oluşur. Görülme sıklığına göre sırasıyla $M_1 > M_4 > M_3 > M_5 > M_6$ şeklindedir. Bu alt gruplar değişik morfolojik özellikler göstermesine karşın genellikle belirtileri ve prognozları açısından büyük farklılık göstermezler. Bu nedenle tüm alt gruplarda aynı tedavi uygulanır².

Klinik Bulgular (Tablo-14)

Genellikle çok ani olarak başlar. Nadiren tanı konmasından 6 hafta öncesine kadar uzanan yakınmalar vardır. Bunlar sırasıyla halsizlik, tekrarlayan enfeksiyonlar, solukluk, ateş, kanamalar, kemik ağrıları, sindirim sistemi yakınmalarıdır. Dişeti hipertrofisi ve kanamaları da özellikle AML- M_3 'ü düşündürür^{2,10,66,74}.

Başlangıçta fizik muayene bulguları da ALL'den pek farklı değildir. ANLL olgularının %60'ında karaciğer ve dalak büyümüştür. %10-15'inde belirgin hepatosplenomegali %20'inde de belirgin lenfadenopati görülür. Nadiren MSS tutulumu bulguları ve proptozise neden olabilen lokalize tümör kitlesi (kloroma) saptanabilir. Daha yaşlı kızlarda menoraji belirgin olabilir¹⁰.

Semptom ve Bulgular	Hastaların Yüzdesi
Ateş	34
Solukluk	25
İştahsızlık, kilo kaybı	22
Halsizlik, düşkünlük	19
Boğaz ağrısı	18
Diğer solunum semptomları	23
Kanama	
Cilt	18
Mukozal	10
Menoraji	5
Kemik ve eklem ağrısı	18
Lenfadenopati	14
Gastrointestinal semptomlar	13
Nörolojik semptom ve bulgular	10
Dişeti hipertrofisi	8
Göğüs ağrısı	5
Sık tekrarlayan enfeksiyon	3

Choi SI, Simone JV: Med Pediatr Oncol 2:119, 1976'dan yararlanılmıştır.

Laboratuvar Bulguları

Tanı anındaki lökosit ve trombosit değerleri çok farklılık gösterir. Hemoglobin düzeyi genellikle 5-10 g/dl arasındadır. AML-M₃'de pıhtılaşma testleri yaygın damar içi pıhtılaşmasını (DIC) gösterir şekilde bozulmuş olabilir. Kromozomal anormallikler: örneğin; AML-M₂'de t(8;21)(q22,q22), AML-M₃'de t(15;17)(q22,q21,1), AML-M₄'de t(9;11)(q22;q23), AML-M_{4Eo}'da inv/del(16)(q22), AML-M₄₋₇'de inv(3)(q21,q23) veya t(3;3)(q21,q26), AML-M₇'de t(1;21)(p13;q13) saptanabilir^{74,90}.

Klinik ve laboratuvar olarak birbirine bu kadar benzeyen ALL ve ANLL'nin ayırıcı tanısı kemik iliği aspirasyon yaymalarında hücrelerin morfolojileri ve sitokimyasal boyalarla boyanma özelliklerinin farklılığı nedeniyle çoğu zaman kolaydır (Tablo-15).

Özellik	ALL	ANLL
Çekirdek kromatini	Yoğun, kümeleşmiş, bazen ince	Gevşek, süngerimsi
Çekirdek/sitoplazma oranı	Genellikle büyük	Küçük
Çekirdekçik sayısı	0-2	2-5
Auer cisimciği	Yok	+/-
Sitoplazmik granül	Yok	Genellikle +, bazen -
Sitoplazmik boyanma	Mavi	Mavi-Gri
Histokimyasal boyalar		
PAS(Periodic acide schiff)	+	-
Sudan-Black	-	+
Miyeloperoksidaz	-	+
Esterazlar		
α-Naftil asetat	-	+(AML-M ₄₋₅)
Naftol ASD kloroasetat	-	+(AML-M ₁₋₄)

Tedavi

Günümüzde ANLL tedavisinde vinkristin, doksorubisin, prednizolon, sitozin arabinosid, 6-tioguanin, amsakrin, 5-azasitidin, idarubisin gibi kemoterapetikler kullanılmaktadır. Ayrıca kemik iliği transplantasyonu ile de başarılı sonuçlar alınmaktadır.

Prognostik Faktörler

ALL'de olduğu gibi ANLL'de de hastalığın gidişini iyi ya da kötü yönde etkileyen durumlar mevcuttur. Bunlar Tablo-16'nde görülmektedir.

Prognostik Faktörler	İYİ	KÖTÜ
Klinik		
Yaş	<45 yaş	<2, >60 yaş
Lösemi	De-novo	Myelodisplaziye izleyerek
Lökositozis	<25000/mm ³	>100000/mm ³
MSS tutulumu	Yok	Var
Sitoredüksiyon	Hızlı	Yavaş
Morfoloji		
Auer cisimciği	+	-
Eozinofiller	+	-
Megaloblastik değişiklikler	-	+
FAB sınıflaması	AML-M ₃₋₄	AML-M ₅₋₆₋₇
Yüzey/enzim Markırları		
Myeloid	MY4-, MY7-	MY4+ (CD ₁₄), MY7+(CD ₁₃), MY10+(CD ₃₄)
HLA-DR	-	+
TdT	Yok	Var
Lenfoid	OKT ₁₁ (CD ₂), B ₄ (CD ₁₉)	Bifenotipik(≥2 lenfoid Markır)
Sitogenetik		
	t(15;17), t(8;21), inv(16)/del(16q)	-7, del(7q); -5, del(5q); 11q23 anormallikleri; 3q21 ve 3q26 anomallikleri

✓ II-LENFOMALAR

Lenfomalar; lenf bezleri veya tonsiller, timus veya Peyer plakları gibi lenfoid dokulardan kaynaklanan neoplastik hastalıklardır. ABD'inde 13,2/milyon çocuk/yıl insidansında görülen lenfoma çocukluk çağının üçüncü en sıklıkla görülen neoplastik hastalığıdır. 1-15 yaş arasındaki çocuklarda %10-25 oranında görülür (Tablo-1). Beyaz ve zencilerde aynı sıklıktadır. ABD'inde yapılan istatistiklerde 2 ayrı yaş grubunda pik yaptığı görülmüştür. Bunlar; 15-35 yaş ve 50 yaşın üstüdür. Lenfomalar klasik olarak birbirinden klinik bulgular, tedavi ve prognoz açısından farklılık gösteren iki ana gruba ayrılır: 1- Hodgkin hastalığı , 2-Non-Hodgkin lenfoma... Genel olarak lenfomaların %60'ı NHL, %40'ı HH'ıdır⁸⁶. Lenfomaların histolojik olarak ayrımı uzun bir zaman karmaşa içinde kalmıştır ve günümüze kadar çok sayıda terminoloji önerilmiştir. Bugün lenfomaların ayrımı basit ve daha anlaşılması kolay bir görünüme getirilmiştir

(Tablo-17)¹². Lenfomaların histolojik-immünojenik sınıflandırmaları da Lukes ve Collins tarafından önerilmiş ve lenfomalara immünojenik Markırları ve fonksiyonları açısından yeni bir anlatım getirilmeğe çalışılmıştır (Tablo-18)^{20,86}.

Tablo -17: Lenfomaların Sınıflandırılması

1- Hodgkin Hastalığı	
a- Lenfositten zengin tip	
b- Nodüler sklerozis	
c- Karışık hücre tipi	
d- Lenfositten fakir tip	
2- Non-Hodgkin Lenfoma	
<u>Eski Sınıflandırma</u>	<u>Yeni Sınıflandırma</u>
Lenfosarkom	Lenfoma, lenfositik tip, iyi farklılaşmış Lenfoma, lenfositik tip, az farklılaşmış Lenfoma, karışık lenfositik-histiositik tip
Retikülüm hücreli sarkoma	Lenfoma, histiositik tip Lenfoma, farklılaşma göstermeyen tip

Tablo-18: Lukes-Collins Sınıflandırılması

- U-hücresi(farklılaşmamış)
- T-hücresi
 - Küçük lenfositler
 - Helezoni lenfositler
 - Sezary hücreleri
 - İmmünojenik sarkoma
 - Lennert lenfoması
- B-hücresi
 - Küçük lenfositler
 - Plazmositoid lenfositler
 - Foliküler merkez hücreleri(FMH)
 - Foliküler veya diffüz, sklerozlu veya sklerozsuz
 - Küçük yarıklı
 - Büyük yarıklı
 - Büyük yarıksız
 - İmmünojenik sarkoma
 - Hairy cell lösemi
- Histiositik

Akut lösemilerde olduğu gibi lenfomalarda da immünojenotipik Markırlar çalışılmaktadır (Tablo 19 ve Tablo 20)⁵⁸.

Tablo 19: Çeşitli Lenfomalarda İmmünojenotipik Markırlar

	CD ₁₅	CD ₃₀	CD ₄₅	T Hücreli	B Hücreli	EMA
HH	+	+	-*	-/+	-/+*	-
Lenfomatojen Papulozis	+/-	+	+	+	-	-
Anaplastik(Ki-1) Lenfoma	-	+	+	+/-	+/-	+
İmmünojenik lenfoma	-	-/+	+	+	+	-

CD₁₅: Leu-M₁ , CD₃₀: Ki-1(Ber H₂), CD₄₅ : Lökosit common antijen, EMA: Epitelial membran antijeni
*: Nodüler lenfositten zengin tipte pozitifdir.

Tablo 20: HH’ında Histopatolojiye Göre İmmünofenotip Markırlar

	CD ₁₅	CD ₂₀	CD ₃₀	CD ₄₅	LN ₁	LN ₂
Nodüler lenfosit zengin tip	-	+	+/-	+	+	+
Diffüz lenfosit zengin tip	+	-	+	-	-	+
Nodüler sklerozis	+	-	+	-	-	+
Karışık hücreli tip	+	-	+	-	-	+
Lenfosit fakir tip	+	-	+	-	-	+

CD₁₅: Leu-M₁ , CD₂₀: pan B-hücresi, CD₃₀: Ki-1(Ber H₂), CD₄₅ : L₂₆ (Lökosit common antijen), LN₁: Follikül-center B-hücresi, LN₂ : Kortikal bölge B-hücresi

A- Hodgkin Hastalığı(HH)

Yaklaşık 450 yıldan beri bilinen bu hastalık bazı bilim adamları tarafından “histolojinin babası” olarak kabul edilen Malpighi tarafından “üzüm salkımı” şeklinde lenfoid dokunun bulunduğu bir hastalık olarak tarif edildi. Daha sonra 1832’de de Thomas Hodgkin yaygın lenf nodülü büyümesi, dalak büyüklüğü gibi benzer klinik yakınma ve bulguları saptadığı yedi olguyu yeni bir hastalık olarak bildirdi. 1872’de ise ilk kez Langhans tarafından mikroskopik tanımı yapıldı^{2,76,90}. O günden bugüne HH’nın tedavisinde önemli aşamalar kaydedildi ve bugün HH tanısı alanların %90’a varan kür şansı sözkonusudur. Yalnızca ilk tanıda değil, reapsesta da tedaviye iyi yanıt alınmaktadır⁸⁶.

HH bölgesel lenf bezlerinin genellikle unilateral, ağrısız, progresif büyümesi ile belirlenen malign lenfoma grubundan bir hastalıktır².

Dünyanın her yerinde rastlanan bu hastalık, daha çok erkeklerde görülmektedir^{2,10,59,66,74,90,103}. Erkek/kız oranı 2-3/1’dir. İki yaşın altında pek rastlanmaz, 5 yaş altında ise çok seyrek^{2,86}. İnsan popülasyonunda iki ayrı yaş grubunda pik yapar: biri 15-34 yaş diğeri 50 yaşın üzerindedir¹⁰. Ancak birinci pik yaş ülkeden ülkeye değişiklik gösterir; sosyoekonomik olarak ileri ülkelerde geç 20’li yıllara denk gelen bu pik, az gelişmiş ülkelerde adölesan öncesine kaymaktadır⁸⁶.

Hastalığın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak sistemik lupus eritematosus (SLE), romatoid artrit, enfeksiyöz mononükleozis ve immün yetersizlik sendromlarında görülme sıklığının yüksek olması, etyolojide enflamasyonun rolü olabileceğini düşündürmektedir. Hastalığın sıklığının düşük sosyoekonomik düzey, kalabalık yaşam koşulları ve tonsillektomi ile arttığını gösteren çalışmalar etyolojide enfeksiyona işaret etmekle beraber henüz herhangi bir etken saptanamamıştır. Ayrıca akraba evliliklerinde ve bazı HLA gruplarını taşıyanlarda daha sık olduğunu bildiren çalışmalar ve “kanser ailesi” serileri içinde HH’na da rastlanması genetik faktörün de

etkili olabileceğini göstermektedir. Bunların yanısıra hidantoin alanlarda da HH'na daha fazla rastlanmaktadır^{2,76}.

Patoloji

HH genelde tek bir lenf bezinde veya lenf bezi grubunda başlar ve diğer bölgelere yayılır. Yani bir tek lenf nodu grubunun monoklonal bir hastalığı olarak başlar. Hastalığın en önemli histolojik bulgusu dokularda neoplastik retikülüm hücrelerinin (Hodgkin hücreleri) varlığıdır. Bu hücreler arasında en kolay tanınanı Reed-Stenberg hücreleridir^{2,10,74,86}. Bir çok tekniğin uygulanmasına rağmen (hücre kültürü, immünohistokimyasal yöntemler, gen rearanjmanına ilişkin incelemeler⁵⁸ gibi) Reed-Stenberg hücresinin histogenezi hala tam anlamıyla netliğe kavuşmamıştır⁵⁹. Histolojik sınıflama hastalığın prognozunu belirler. Histolojik sınıflamaya göre HH; 1-Lenfositten zengin 2-Karışık hücreli 3-Nodüler sklerozan 4-Lenfositten fakir tip olmak üzere dört gruba ayrılır^{2,10,74} (Tablo-21). Ancak son zamanlarda yapılmış olan immünolojik ve klinik çalışmalar, lenfositten zengin HH'nın bir kez daha kendi içinde nodüler ve diffüz tip şeklinde iki alt gruba ayrılması gerektiğini düşündürmektedir⁷⁶. Nodüler tipi hemen hemen kesinlikle B hücreli lenfomadır ve diffüz tiptekinden farklı olarak nükseden bir klinik seyre sahiptir. Prognoz lenfositten zengin tipte en iyi, lenfositten fakir tipte ise en kötüdür^{2,10,13,90,103}.

Tablo -21: HH'nın Histopatolojik Sınıflandırılması

Tipi	Histopatolojisi	Görülme Sıklığı ^{&}
Lenfositten zengin	Bol küçük lenfosit ve/veya benign histiositler, <i>nekroz yok</i> . RS*	%10-20
Nodüler sklerozis	Belirgin lenfoid nodüller, anormal lenfoid dokuyu bağ dokusunun kollagen bantları ayırmıştır. RS hücreleri lenfoid nodüller içinde (laküner) belirgi olarak bulunur.	%20-50
Karışık hücreli	Daima çok sayıda çok sayıda RS ve atipik mononükleer hücreler ile plazma hücreleri, eozinofiller lenfositlerle pleomorfik bir yapı vardır. <i>Nekroz odağı sıklıkla görülür</i>	%20-40
Lenfositten fakir	Yaygın, düzensiz fibrozis vardır. Lenfosit sayısı çok azalmıştır. RS hücrelerinin ve malign mononükleer Hodgkin hücrelerinin sayısı çok artmıştır. <i>Nekroz alanları vardır.</i>	%5-15

*: Reed-Sternberg hücresi, &: Ülkemizde en sık karışık hücreli HH'ı görülmektedir⁸⁶.

ABD'inde yaş gruplarına Hodgkin hastalığının histopatolojik sınıflandırmaya göre nispi sıklıkları Tablo 22'de görülmektedir^{24,58}.

Tablo 22: Yaş Gruplarına Göre HH'nın Histopatolojik Sınıflandırılması

Yaş Grupları(Yıl)	LZ(%)	NS(%)	KH(%)	LF(%)	Sınıflandırmayan/IF(%)
≤ 10	14	45	32	0	9
11-16	7	77	11	1	3
≥ 17	5	72	17	1	5

LZ: Lenfositten zengin, NS: Nodüler sklerozis, KH: Karışık hücreli, LF: Lenfositten fakir, IF: İnterfolliküler HH

Klinik Bulgular

Hastalığın en sık görülen başlangıç belirtisi, servikal lenf bezlerinin tek taraflı ve ağrısız büyümesidir. Daha seyrek olarak aksiller, ingüinal, mediastinal ve retroperitoneal lenf bezleri ilk fokusu oluşturur^{2,10,74,90,103} (Tablo-23). Tablo-24’de ise 340 olguluk bir çalışmada çeşitli lenfoid dokuların tutulum sıklığı görülmektedir⁹⁰.

Bölge	Sıklık(%)
Üst servikal nodlar	%29
Supraklavikular nodlar	%41
Mediastinal lenf nodları	%11
Aksiller nodlar	%4
Abdominal nodlar	%13
Dalak	%1

Bölge	Sıklık(%)	Tek Bir Bölgede Lenf Nodu Tutulumu Olan Hastaların Yüzdesi(%)
Sol servikal ve/veya supraklavikular nodlar	71	43
Sağ servikal ve/veya supraklavikular nodlar	59	22
Mediastinal nodlar	62	9
Hiler nodlar	11	0
Sol aksiller nodlar	26	5
Sağ aksiller nodlar	23	9
Para-aortik nodlar	34	2
İliak, inguinal ve/veya femoral nodlar	16	9
Dalak	13	0

Tutulan nodlar sert veya lastik kıvamında olabilir ve dokunmakla hassas değildir. Mediastinal lenfadenopati çoğu kez ilaç tedavisine yanıt vermeyen kronik öksürük yakınmasına neden olurken bazen de semptom vermez^{2,10,103}. Retroperitoneal lenf nodlarının tutulması, nedeni belirlenemeyen karın ağrılarına neden olur. Sürekli febril ateş ya da Pel-Epstein tipi intermittant ateş, iştahsızlık, bulantı, zayıflama gibi sistemik belirtiler başlangıçta yoktur, ancak zamanla gelişir. Kaşıntı çocuklarda nadirdir. Ateş, terleme ve %10 tartı kaybı olan olgular *evre B*, bu semptomların bulunmadığı olgular ise *evre A* olarak değerlendirilir^{2,10,12,74,58,90}.

Dalak genellikle palpe edilebilir. Ancak dalakta metastaz oranı %38-40 olarak bildirilmiştir. Kemik iliği metastazları daha çok lenfositten zengin tipte ve bölge bölge görülür. Karaciğer başlangıçta metastazlardan uzak kalmakla beraber ileri dönemlerde hastalığın yerleşme bölgesidir².

Laboratuvar Bulguları

Hematolojik bulgular sıklıkla normal olmakla birlikte anemi, lökositlerde ve trombositlerde artma veya azalma ve bazen de eozinofili olabilir. Hastalığın aktif fazında lökosit alkalin fosfataz aktivitesinde artma saptanır. Sedimantasyon hızı ve serum bakır düzeyi yükselmiş olabilir. Serum protein elektroforezi sıklıkla patolojik sınırlardadır. α_2 globulin seviyesi yüksek saptanabilir. Ateşinin yüksek olduğu dönemlerde α_1 globülin de yükselir. C-reaktif protein, plazma hidrokspirolin seviyesi, serum çinkosu, haptoglobin, serum komplemanları hastalığın aktif dönemlerinde patolojik değişimler gösterir. Karaciğer tutulumunda serum alkalin fosfataz, AST(SGOT) ve ALT(SGPT) yükselebilir. Gecikmiş hipersensitivite yanıtı bozuktur. Aynı zamanda Coombs (+) hemolitik anemi ve anormal immünglobülin düzeyleri tanımlanmıştır. T-lenfosit fonksiyonları bozuktur. Buna karşın B-lenfosit fonksiyonları normal veya normale yakındır^{2,10,12,58,74,90,103}. HH'ndaki immün profil Tablo-25 görülmektedir⁵⁸.

Parametreler	Tedavi Edilmemiş Aktif Hasta	Hastaliksız Dönem
Antijenle indüklenen antikor üretimi	Normal	Geçici baskılanma
Polimorfonükleer lökosit fonksiyonları		
<i>Kemotaksi</i>	Azalmış	Azalmış
<i>Metabolik reaktivite</i>	Azalmış	Azalmış
Gecikmiş tipte hipersensitivite deri testleri		
<i>Recall antijen</i>	Anerjik	Reaktif
<i>Neoantijenler</i>	Anerjik	Anerjik
E-Rozet formasyon	Azalmış	Azalmış
Mitojenle indüklenen T-hücre proliferasyonu	Azalmış	Azalmış
Baskılayıcı monosite duyarlılık	Artmış	Artmış
Baskılayıcı T-hücresine duyarlılık	Artmış	Artmış
CD ₄ /CD ₈ oranı	Hafif azalmış	Azalmış

Evreleme

Kesin tanısı konulan hastada prognoza ışık tutmak ve tedavi programını düzenlemek amacıyla hastalığın anatomik-klinik evresi saptanmalıdır. Kullanılan bir çok yöntem yardımıyla Tablo-26'de görülen Ann Arbor evrelendirilmesi kabul görmüş bir yöntemdir^{2,10,58,59,74,103}.

Tablo -26: HH'nın Anatomo-klinik Evrelere Göre Sınıflandırılması(Ann-Arbor Sınıflandırılması)	
Evre I	Bir lenf nodu bölgesinin tutulumu(I) veya tek bir lenfatik organ veya bölge tutulumu(I _E)
Evre II	Diyafragma ile aynı tarafta iki veya daha fazla lenf nodu bölgesinin tutulumu(II) veya bir ekstralenfatik organ veya bölgede lokalize tutulum(II _E)
Evre III ₁	Diyafragmanın her iki tarafında lenf nodu bölgelerinin tutulumu(III ₁). Ek olarak Dalak(III ₁), bir ekstralenfatik organ veya bölge tutulumu(III _{1E}) veya her ikisinin birden tutulması(III _{1E2})
Evre III ₂	Ek olarak paraortik, mezenterik, iliak ve inguinal lenf bezlerinde de tutulum
Evre III ₃	Ek olarak pelvik lenf bezlerin tutulumu
Evre IV	Birden fazla ekstralenfatik organ tutulumu. Bu organlar, dalak, karaciğer, timus, Peyer plakları vb olabilir. <i>Karaciğer ve kemik iliği infiltrasyonu daima hastalığın IV. devrede olduğunu gösterir.</i>
A: Semptomsuz	
B: Ateş, terleme, son 6 ay içinde vücut ağırlığının %10'undan fazla kayıp	

Tablo-27'de HH'nda ilk başvurudaki evrelerin yaşlara göre göreceli yüzde değerleri görülmektedir²⁴.

Tablo 27: Yaşlara Göre HH'nın Evreleri				
Yaş(Yıl)	I	II	III	IV
≤ 10	18	42	36	3
11-16	7	51	28	13
≥ 17	11	47	31	11

Tedavi

Hastalığın evresinin saptanmasından itibaren tedavi onkolog ve radyoterapist tarafından planlanır. HH'nda agresif tedavi uygulanmasından bu yana yüksek oranda şifa söz konusudur. Evrelere göre önerilen tedavi şeması Tablo-28'de görülmektedir⁷⁴.

Tablo-28: HH'nda Önerilen Tedavi		
Evre	Hastanın Özellikleri	Önerilen tedavi
Evre IA, IB, IIA	Hafif büyüklükte kitle, rahatsız edici semptomlar yok	Tam doz radyoterapi*
	Devamlı büyüyen kitle, iri kitle veya ekstralenfatik organ tutulumu	Düşük doz radyoterapi + 6 kür multiajan kemoterapi (MOPP ve ABVD)
Evre IIB, IIIA ₁	Hafif büyüklükte kitle, rahatsız edici semptomlar yok	Kombine tedavi (radyoterapi + kemoterapi) veya tam doz radyoterapi
Evre IIIA ₂ , IIIB, IVA, IVB	Orta büyüklükte kitle	6-12 kür kemoterapi ± tam doz radyoterapi
	Devamlı büyüyen kitle	6-12 kür kemoterapi ± düşük doz lenfoid irradyasyon

*: Tam doz radyoterapi: 3500-4400 cGy; Düşük doz radyoterapi: ≤ 2500cGy
MOPP: Mekloreタミン (Mustargen), vinkristin, prokarbazin, prednizolon
ABVD: Adriamisin, bleomisin, vinblastin, dakarbazin

Prognoz

Prognozu belirleyen ana parametreler: 1- Tanı anındaki anatomiklinik evre 2- Sistemik belirtilerin varlığı 3- Histopatolojik özellik 4- Hastanın yaşı 5- Hastanın cinsi 6-Sedimentasyon hızı 7- HLA tipi gibi birçok faktör prognozu belirlemektedir².

Hastaların %90'ından fazlası erken tedavi ile tam klinik remisyona ulaşmaktadır¹⁰. Erken evrelerde 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık %90 iken, bu oran geç evrelerde %40'a düşmektedir. İleri evrede (evre III-IV) 15 yıla ulaşan hastalısız yaşam hızı %47-60 arasında değişir⁸⁶. Çocuklarda prognoz erişkine oranla iyidir. Tedaviye iyi yanıt veren ve nüks göstermeyen HH'ları 10 yaş etrafında toplanır. Kan sedimentasyon hızının tedaviye rağmen yüksek olarak devam etmesi kötü prognoz işaretidir. AW-19 tipi HLA antijenleri taşıyan hastalarda diğer antijenik gruplara oranla prognoz daha kötüdür².

Non-Hodgkin Lenfoma(NHL)

NHL; HH dışında kalan tüm lenfomaları ifade eden bir terimdir ve lenfoid sisteminin proliferatif malign bir hastalığıdır². HH'ndan farklı olarak kemik iliğine metastaz sıktır. Klinik görünüm bazen akut lösemiye çok benzer ancak dikkatli inceleme ve immünohistokimyasal tekniklerle kolaylıkla birbirinden ayrılabilir.

Çocuklarda HH'na göre 3-4 kat daha fazla görülmektedir (tüm çocukluk çağı lenfomalarının %60'sını NHL oluşturmaktadır)^{2,58}. Coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir⁵⁸. En yüksek insidans Orta Doğu, Nijerya ve Uganda'dır. Erkek/kız oranı 2,5-4/1'dir. Hastalık 5-15 yaş arasında pik yapar⁵⁸. Çocukluk çağında görülen NHL erişkinlerde görülenden bir çok yönden farklılık göstermektedir (Tablo-29)⁹⁰.

Tablo 29: Çocukluk Çağı ve Erişkin Tipi NHL Arasındaki Farklılıklar

Özellikler	Çocukluk Çağı	Erişkin Çağı
İnsidans	Ender	Sık
Median yaş	10-15 yaş	55-75 yaş
Geliş şekli	Ekstranodal	Nodal
Histolojisi	Diffüz	Sıklıkla nodüler
	Andifferansiye	Differansiye
	Yüksek mitotik hız	Yavaş mitotik hız
İmmünofenotipi	%50-70 B-hücresi	%70-90 B-hücresi
Paraprotein	Yok	Ender(< %5)
Klinik gidiş	Hızlı proliferasyon	Değişken(sıklıkla yavaş)
Düzelme olasılığı	%60-80	< %30

Bazı hastalıklarda lenfomaya artmış insidansla rastlanmaktadır (Tablo 30)⁹⁰.

Tablo 30: Prelenfomatöz Durumlar	
Konjenital	Kazanılmış
Ataksi Telenjektazi	Organ Transplantasyonu
Wiskott-Aldrich Sendromu	Kazanılmış İmmün Eksiklik Sendromları
Common Variable İmmündeficiency	Sjögren's Sendromu
Şiddetli Kombine İmmün Yetmezlik	Hashimoto Tiroiditi
X'e Bağlı Lenfoproliferatif Sendrom	Castleman Hastalığı
	Hodgkin Hastalığı

Etyoloji

NHL; Burkitt lenfoma dışında nedeni bilinmeyen neoplastik bir hastalıktır. Tablo-30 incelendiğinde etyolojide immün yetersizliğin rolü olabileceği görülmektedir. İmmün yetersizlik durumlarında NHL oluşması, B hücrelerinin proliferasyonunu ve antikor yapımını inhibe eden T hücrelerinin bu etkisinin ortadan kalkmasıyla B hücrelerinde kontrol edilemeyen bir proliferasyonun ortaya çıkması ve bu arada malign bir hücre klonunun aşırı proliferasyonu şeklinde açıklanabilir^{2,10}.

Patoloji

NHL çocuklarda genellikle diffüz olmakla birlikte %1 oranında nodülerdir. İyi farklılaşmamış tipleri ve karışık hücreli tipleri çocuklarda nadirdir. Çocuklarda görülen NHL histopatolojisi Tablo-31'de görülmektedir^{2,58}.

Tablo 31: NHL Histopatolojisi			
Histolojik Sınıflama	İmmünofenotip	Sıklıkla Tuttuğu Bölgeler	Sıklık(%)
Diffüz Lenfoblastik Lenfoma	Genellikle T, Nadiren pre-B veya Non-T, Non-B	Ön mediasten(%50-70), plevral effüzyon, bazen servikal, aksiller, lenfadenopati, bazen abdominal	%30-35
Diffüz Andifferansiye Lenfoma Burkitt Non-Burkitt	B	Abdominal(%90).Çocuklarda sıklıkla intussepsiyon nedeni olur.	%40-50
Diffüz Histiositik(İmmünoblastik) Lenfoma	Genellikle B, nadiren Non-T, Non-B veya post timik T veya çok nadiren fagositik kaynaklı	Genellikle abdomen ancak olağan olmayan bölgelerde de tutulum(mediastinum gibi). Sıklıkla deri, MSS, lenf nodları, akciğer, testis,kas, gastrointestinal kanal.	%15-20
Sınıflandırılmayanlar			

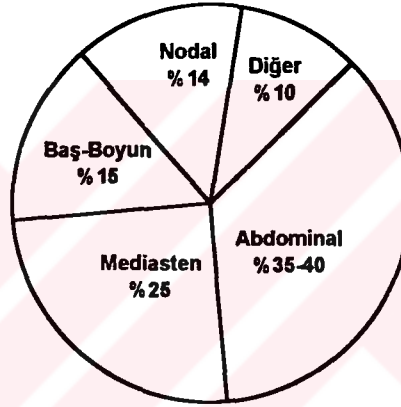
Lenfoblastik lenfomalar sitolojik olarak ALL'lerin L₁ ve L₂ tiplerine benzer ve genellikle non-T, non-B hücrelerinden oluşur. Hücrelerin çekirdekleri uniform, yuvarlak, oval ve çentiklidir. Çekirdek kromatini diffüz karakterdedir. İri lenfoblast içinde çekirdekçik dikkati çeker. Sitoplazma az veya orta miktardadır. PAS pozitifdir ve mitotik aktivite artmıştır. Farklılaşmamış lenfomaların Burkitt tipinde "yıldızlı gökyüzü manzarası" dikkati çeker, PAS negatif B hücrelerinden oluşur. Non-Burkitt tipinde pleomorfi ve L₃ tipi hücreler (FAB) vardır. Büyük hücreli (histiositik) lenfomada çekirdek oldukça iri görünümüdür ve genellikle B hücreli tiptedir^{10,2,58}. Mediastinal

lenfomaların genellikle timus veya T hücreli kaynaklı , abdominal lenfomalarının da kemik iliği veya B hücresi kaynaklı olabileceği yapılan bir çok çalışma ile ortaya konmuştur².

Klinik Bulgular

Çocuklarda NHL'in ortaya çıkışı genellikle çok değişik olabilir. Vücutta herhangi bir lenfoid dokuyu tutabilir. Tümörün başlangıç yeri en sık olarak karındır. Bunu sıklık sırasıyla mediasten, baş-boyun, periferik lenf nodları, MSS ve diğer bölgelerde görülür (Şekil-4)².Ancak tek odaktan başlayıp hızla yayıldığı için başladığı yeri belirlemek genellikle zor olabilir.

Şekil-4: NHL'da Topografik Dağılım



NHL karında başlamışsa karın ağrısı, kusma, ishal, distansiyon, palpabl kitle, intussepsiyon, peritonit, assit, akut gastrointestinal kanama, obstrüktif tip sarılık ve hepatosplenomegali; baş-boyunda başlamışsa nasal obstrüksiyon, rinore, hipoakuzi ve kranyal sinir palsileri; mediastende başlamışsa vena cava süperior sendromu (genişlemiş boyun venleri, boyun ve yüzde ödem, belirgin dispne, ortopne, baş dönmesi, baş ağrısı, disfazi, epistaksis, bilinç değişiklikleri ve senkop), inatçı öksürük, dispne, plevral mayi, perikardiyal effüzyon görülebilir^{10,58}.

Laboratuvar Bulguları

Kemik iliği tutulumu varsa lösemik tablo gelişir. LDH ve serum ürik asiti artışı olabilir. Bunun dışında laboratuvar bulguları genellikle normaldir. Başlangıçta yapılan lumbal ponksiyonda likörde hücre artışı, MSS tutulmasını gösteren malign hücreler tespit edilebilir. Periferik kan değerleri genellikle normaldir (kemik iliği tutulumu yoksa)^{10,74,90,103}.

Evrelendirme

Çocukluk çağı NHL'ında klinik evrelendirme Tablo 32'de görülmektedir¹⁰.

Evre I	Tek ektranodal tümör veya mediasten ve abdomen dışında tek nodal anatomik bölge
Evre II	Bölgesel lenf nodu tutulumu + tek ektranodal tutulum Diyafragmanın aynı tarafında iki veya daha fazla nodal bölge Diyafragmanın aynı tarafında iki ektranodal tutulum ± bölgesel lenf nodu tutulumu
Evre III	Diyafragmanın her iki tarafında iki ektranodal tümör Diyafragmanın her iki tarafında iki veya daha fazla nodal bölge İntratorasik tümör(mediastinal,plevral,timik) Geniş bir intraabdominal hastalık
Evre IV	Yukardakilerden herhangi biri ile birlikte tanı anında MSS ve/veya kemik iliği tutulumu

Tedavi

Hastalık lokalize de olsa yayılma olasılığı çok yüksek olduğu için bütün NHL'larda sistemik çok ilaçlı kombine kemoterapi ile ek radyoterapi en uygun tedavi disiplini. Diffüz lenfoblastik lenfomada LSA₂L₂ ve andifferansiye diffüz lenfomada (Burkitt ve non-Burkitt lenfoma) COMP protokolü başarılı gözükmemektedir. Acil tedavi gerektiren belirgin kitle bası bulguları olan hastalarda kortikosteroid verilmesi zorunlu olur^{2,10,103}.

Prognoz

NHL'lı çocuklarda prognoz geçen 10 yıl içinde dramatik olarak düzelmiştir. Erken evrede yakalanan hastaların yaklaşık %90'ı tedavi edilebilir dönemdedir. NHL'lı hastaların iki yıllık yaşam oranı yaklaşık %70'dir. Tedavideki başarısızlıklar genellikle kemik iliği ve MSS relapslarıyla sonuçlanır¹⁰³.

NHL'da prognostik faktörler Tablo-33'de görülmektedir.

Klinik Özellikler
Evre(I/II ile II/IV)
Yaş
B semptomları
Kitlenin boyutu(< 10 cm ile ≥ 10 cm)
Ektranodal bölgelerin sayısı(<2 ile ≥2)
Kemik iliği tutulumu
Laboratuvar Bulgular
Laktik dehidrogenaz(LDH)
β ₂ mikroglobulin
İnterlökin-2 reseptör düzeyi
Biyolojik Özellikler
Histoloji
Hücrenin orijini(B-hücresi ile T-hücresi)
Proliferasyon hızı
Tümör-infiltrating T-hücre yanıtı
Karyotip

B-hücreli NHL kötü, T-hücreli NHL orta ve non-T, non-B-hücreli NHL iyi prognoz gösterir.

NORMAL ERİTROSİT METABOLİZMASI

Eritrositler 3 ana komponentten oluşur: 1- Membran 2-Hemoglobin molekülü ve intrasellüler enzimler 3- Hücre metabolizması ara ürünleri... Herediter hemolitik anemiler de bu 3 ana komponentin herhangi birinin neden olduğu metabolizma hataları sonucudur⁶³.

Olgun, çoğalamayan eritrositlerin membran proteinlerini, hemoglobini, O₂-CO₂ taşıma ve değişimi görevini yapmada gerekli intrasellüler metabolizma enzimlerini yeniden sentez etme yeteneği yoktur^{63,64}.

Bu hücrelerin metabolik faaliyetleri ise⁶³.

1-Katyon gradientini sabit tutmak

2-Methemoglobinin indirgenmesinde kofaktör olarak görev yapan pürin nükleotidlerini üretmek

3-Allosterik olarak hemoglobinin oksijene affinitesini azaltan fosforile glikolitik ara ürünleri sağlamak

4-120 günlük yaşam süresince ve 175 millik intravasküler seyahati boyunca bikonkav şeklini korumak için gerekli enerjiyi sağlamak.

TARİHÇE

Eritrositlerin ilk tanımının 1674 yılında Van Leeuwenhoek tarafından yapıldığı gözönünde tutulduğunda, eritrosit metabolizması ile ilgili çalışmalar göreceli olarak yenidir⁶³.

17. YY. ın sonlarında Lavoisier, eritrositlerin oksijen ve aeriform kalsik asit veya CO₂ taşıdığını saptadı⁶³.

Eritrositlerin gösterilmesinden 200 yıl sonra yani 1876'da Bernard eritrositlerin glukoz kullandığını rapor etti. Glukoz kullanımının son ürünü olan laktik asid 1922'de Evans tarafından bulundu.Sonraki 10 yıl içinde Alman biyokimyacılar Embden ve Meyerhof ile Amerikalı Guest ve Rapoport anaerobik glikolizis'e (Embden-Meyerhof yoluna) ait ara ürünleri ve enzimatik basamakların bir çoğunu saptadılar. ATP ve 2,3 DPG ise sırasıyla 1924 ve 1925'de bulundular.Şimdi biz; 1 mol glukoz metabolize edildiğinde net 2 mol ATP kazancı ve 2 mol laktik asid üretilmesini sağlayan Embden-Meyerhof yolunun spesifik enzimler tarafından katalize edilen ardısıra gelişen 11 tepkimeden (reaksiyondan) oluştuğunu biliyoruz⁶³.

2,3 DPG veya Rapoport-Luebering döngüsü 1950'de keşfedilmiş olmasına rağmen, bu döngünün hemoglobinin O₂'ye affinitesini düzenleyen rolü 1967 de Chanutin ve Curnish ile Benesch ve Benesch'in eş-zamanlı raporlarında ortaya konabildi⁶³. Aerobik glikolizis (Heksoz monofosfat yolu) 1935 ve 1936'da Warburg ve Christian tarafından keşfedildi. Bu yolun enzimi olan G₆PD (Zwischenferment) enziminin eksikliği ise 1950'li yıllarda Şikago Üniversitesinde "Primakine duyarlı hemolitik anemiler" üzerine yapılan bir çalışmada saptandı⁶³.

Eritrosit metabolizmasının diğer iki anahtar fonksiyonu ise, 1- 1948'de Gibson'un keşfettiği NADH bağımlı methemoglobin redüktaz'ın katalize ettiği methemoglobin redüksiyonu 2- 1960'da Post ve arkadaşları, 1962 de Whittam tarafından keşfedilen ATP'ase tarafından sağlanan katyon transportudur⁶³. 1960'lı yılların başlarında bir çok doğumsal eritrosit metabolizma eksikliklerinin saptanması normal eritrosit metabolizmasının aydınlatılmasında önemli bir teşvik edici sebep oldu. 1950'li yılların sonları ve 1960'lı yılların başlarına kadar herediter hemolitik anemiler, hemoliz patogenezi yeterince anlaşılammış olduğu için ve *morfolojisine, *otohemoliz sonuçlarına göre sferositik ve nonsferositik hemolitik anemiler olarak ayrılıyordu. Nonsferositik hemolitik anemi(H.A.) terimi, unstabl hemoglobinler ve membran defektleri tarafından meydana geldiği bilinen bozuklukları da içerdiği için ve özellikle de nonsferositik H.A. grubuna dahil bazı hastalıklarda az da olsa sferositozis olduğundan bugün için yetersiz ve anlamını yitirmiş bir terimdir⁶³.

1962'de Tanaka ve arkadaşları Embden-Meyerhof yoluna ait kalıtsal enzimopatilerden ilk saptananı olan PK eksikliğine bağlı herediter H.A'ı buldular⁹⁴. Şu anda ise Embden-Meyerhof yolunun (EMY) diğer 7 enziminin, heksoz-monofosfat yolunun (HMY) 6 enziminin, nükleotid metabolizmasında rol alan 2 enzimin ve katyon transportunu sağlayan ATPase'in herediter hemolitik anemilerle birlikte olduğu bilinmektedir⁶³. Bununla birlikte herediter hemolitik anemilerin hepsi enzim eksikliklerine bağlı değildir, enzimlerin hiperaktivitesine bağlı H.A.'ler de vardır. Örneğin adenosan deaminaz'ın (ADA) hiperaktivitesine bağlı kronik hafif hemolitik anemi gibi⁶³ ...

Tablo-34'de eritrositteki 2 ana glikolizis yolunun fonksiyonları özet olarak gösterilmiştir⁶³.

ablo 34: Eritrositlerde 2 Ana Glikolizis Yolunun Karşılaştırılması

***Emden-Meyerhof
Yolu***

- G-6-P → Laktat
- ADP → ATP
(Na⁺, K⁺, Ca⁺ pompalar)
- NAD⁺ → NADH
(MetHb.i indirger)
- 1,3 DPG → 2,3 DPG
(O₂ dissosiyasyon eğrisini düzenler)

***Heksoz Monofosfat
Yolu***

- G-6-P → CO₂, pentoz, trioz, vs.
- NADP⁺ → NADPH
(GSSG ve Protein-GSH disülfidlerini indirger)
- Heksoz → Pentoz
(Nükleotid sentezi için substrat sağlar)

GELİŞİMSEL GÖRÜNÜSÜ

Eritrositer seride proeritroblasttan erken polikromatofilik normoblast'a kadar replikasyon, DNA ve RNA sentezi, protein, pürin, pirimidin, lipid ve K.H. sentezi için gerekli biyosentetik yeterlilik mevcuttur^{5,30,63,83}. (*Tablo -35*)

İlk biyosentetik fonksiyon kaybı geç polikromatofilik safhada mitokondri ve ribozomlar gibi ana organellerin kaybı ve degradasyonu ile gerçekleşir. Bu dönemde ilk kaybolan fonksiyon DNA sentezidir^{63,64}. Nukleusun kaybedilmesiyle retikülosit artık DNA ve RNA sentezi gerçekleştirememesine rağmen arta kalan mRNA, rRNA ve tRNA (fonksiyonel mitokondri ve ribozomlar gibi) nedeniyle özellikle hemoglobin(Hb) gibi protein sentezleyebilme yeteneğine sahiptir⁶³. Eritrositte ise artık mitokondri ve ribozomlar tam olarak bozulmuştur, diğer organeller ve sitosolde anahtar enzimlerin bazıları işlevlerini yitirmiştir ve membran yapısı da değişmiştir (Bozulan enzimlere örnekler; ribonükleaz, proteaz ve fosfolipaz...) ⁶³.

Tablo 35: Maturasyon Süresince Eritroid Hücrelerin Metabolik Yol ve Yeterliliklerinin Karşılaştırılması

	Nukleoluşlu Prekürsörler	Retikülositler	Eritrositler
Biyosentetik Yeterlilik			
Replikasyon	+	-	-
DNA/RNA Sentezi	+	-	-
Protein Sentezi	+	+	- [#]
Hem Sentezi	+	+	-
Lipid Sentezi	+	+	- ^{&}
Pürin/Pirimidin Sentezi	+	+	-
Salvage Yolu	+	+	+
Metabolik Yeterlilik			
Solunum (Elektron transfer ve sitokrom sistemi)	+	+	-
Krebs Siklusu	+	+	- ^é
EMY/HMY/Kasyon Transportu	+	+	+
AA Transportu/Lipid Exchange	+	+	+
Katabolik Yeterlilik			
Yağ Asidi Break down'u	+	+	-
AA Katabolizması	+	+	-

*: Geç polikromatofilik ve ortokromik normoblastlar hariç
#: Matur eritrositler glutatyon(Gamma glutamilsisteinilglisin) se ntezleyebilirler.
&: Zayıf
é: Rezidüel enzimler(Malat dehidrogenaz, fumaraz) mevcut.

Retikülositin metabolik kapasitesi eritrositlerden çok daha fazladır. Bu nedenle retikülositin O₂ tüketme hızı ve glukoz kullanımı eritrositten 7,5-60 kat artmıştır. Retikülosit oksidatif fosforilasyon yoluyla 120-200µmol/ml cells/sa. ATP üretebilir. Embden-Meyerhof yoluyla laktat üretme hızı eritrositinkinden 30 kez daha fazla olabilir(100 µmol/ml cells/sa) Embden-Meyerhof yolunun enzim aktiviteleri retikülositte ve genç eritrositlerde daha yaşlı eritrositlerden belirgin derecede fazladır. Bu nedenle bu enzim aktiviteleri hücre yaşı için gerçek bir indikatördür. Genç ve daha yaşlı hücrelerdeki metabolik farklılık ve değişim **Tablo -36'**da görülmektedir^{3,7,45,63,67,78,80}.

Tablo-37'de de retikülosit ve matür eritrositlerin içerikleri ve metabolik yeterliliklerinin karşılaştırılması görülmektedir⁶³.

Eritrositler, periferik kan dolaşımına salıverildiğinde nukleusunu, organellerini ve komplike biyosentetik ve metabolik yeterliliklerini kaybetmiş durumdadır. Ancak yine de yaşamını kısaltan endojen ve eksojen faktörlere karşı korumada etkili, gaz transport fonksiyonunu gerçekleştirmesine izin veren basitleşmiş metabolik yollara sahiptir. Eritrositlerin denatüre olmuş ve tükenmiş içerikleri yeniden üretmeye yarayan tamir edici bir sistemi yoktur. Bu nedenle eritrositlerde DNA sentez kapasitesi kaybolduğunda irreversibl yaşlanma süresi başlar⁶³.

Tablo 36 : Genç ve Yaşlı Eritrositlerin Metabolik Aktivitelerinin Karşılaştırılması

Metabolik Aktivite*	Eritrosit Yaşı İle Değişim
Metabolik Kapasite	
Glikolizis ^a	Azalmış
O ₂ Kullanımı ^a	//
Nükleosid Kullanımı ^a	//
Enzim Aktiviteleri	
HK ^b , GPI ^a , Aldolaz ^a , TPI ^a , PGK ^a , PK ^c , LDH ^a , ATP'ase ^a , G ₆ PD ^c , Katalaz ^a	//
NADH-Methemoglobin Redüktaz ^a , RPK ^a , Asetil Kolinesteraz ^a , Glioksalaz ^a	//
Glutamik Oksaloasetik Transaminaz ^d	//
PFK ^e , GSSG-R ^a	Değişiklik yok.
GAPD ^a	Çok küçük değişiklik
Intrasellüler Maddeler	
Su, Lipidler ^a	Azalmış
Methb. ^a	Artmış
Elektrolitler	
Sodyum ^a	Artmış
Potasyum, Magnezyum ^a	Azalmış
2-3 DPG ^a	//
GSH ^a	Değişiklik yok
Fonksiyonel Karakteristikler	
Oksijen Affinitesi, Osmotik Frajlite, Dansite ^a	Artmış
Katyon Transportu, Deformabilite ^a	Azalmış

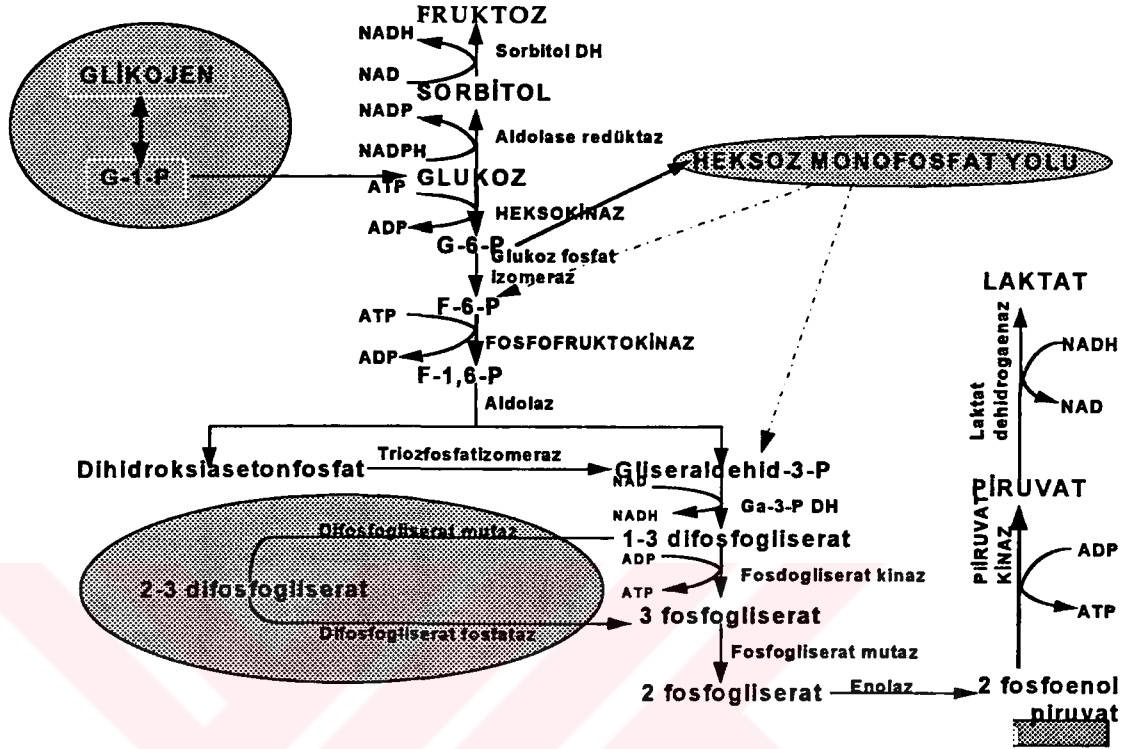
*: Üst indisler yararlanılan kaynakları simgelenmektedir. Aşağıda ise bunların kaynak numaraları gösterilmektedir:
a:63; b:37,45,63,67,71,78,80; c:37,45,63,67; d:37,63; e:63,67

Tablo 37 : Retikülosit ve eritrositlerin içerikleri ve metabolik aktivitelerinin karşılaştırılması

İçeriği	Retikülosit	Eritrosit
RNA (mg/ml)	4-25	0,3
Hb (mg/ml)	200-300	330
NonHb. Pro. (mg/ml)	45	15
Lipid (mg/ml)	9	5
ATP (umol/ml cells)	3,0	1,0-1,5
Metabolik Kapasitesi		
Oksijen Tüketimi (umol/ml cells/sa)	25-70	0,4-1,2
Glukoz Kullanımı (umol/ml cells/sa)	11-15	1,5-2,0
Laktat Üretimi (umol/ml cells/sa)		
Aerobik	30	0
Anaerobik	100	3-4
ATP Üretimi (mol/mol glukoz tüketimi)	38	2
Oksidatif Fosforilasyon (umol/ml cells/sa)	120-200	0
Aerobik Glikolizis (umol/ml cells/sa)	0-30	0

GLİKOLİZİS VE EMBDEN-MEYERHOF YOLU(EMY)

Şekil 5: İnsan Eritrositlerinde Glukoz Metabolizması



Olgun eritrositlerde glükolizisin %90'ı Embden-Meyerhof yoluyla sağlanır. Bu yol Şekil-5'de gösterilmiştir^{63,64,65,101}.

Kuramsal olarak; Embden-Meyerhof yoluna giren her bir molekül glukoz başına 2 mol laktat ve 2 mol net ATP kazancı meydana gelir^{63,64,65}.

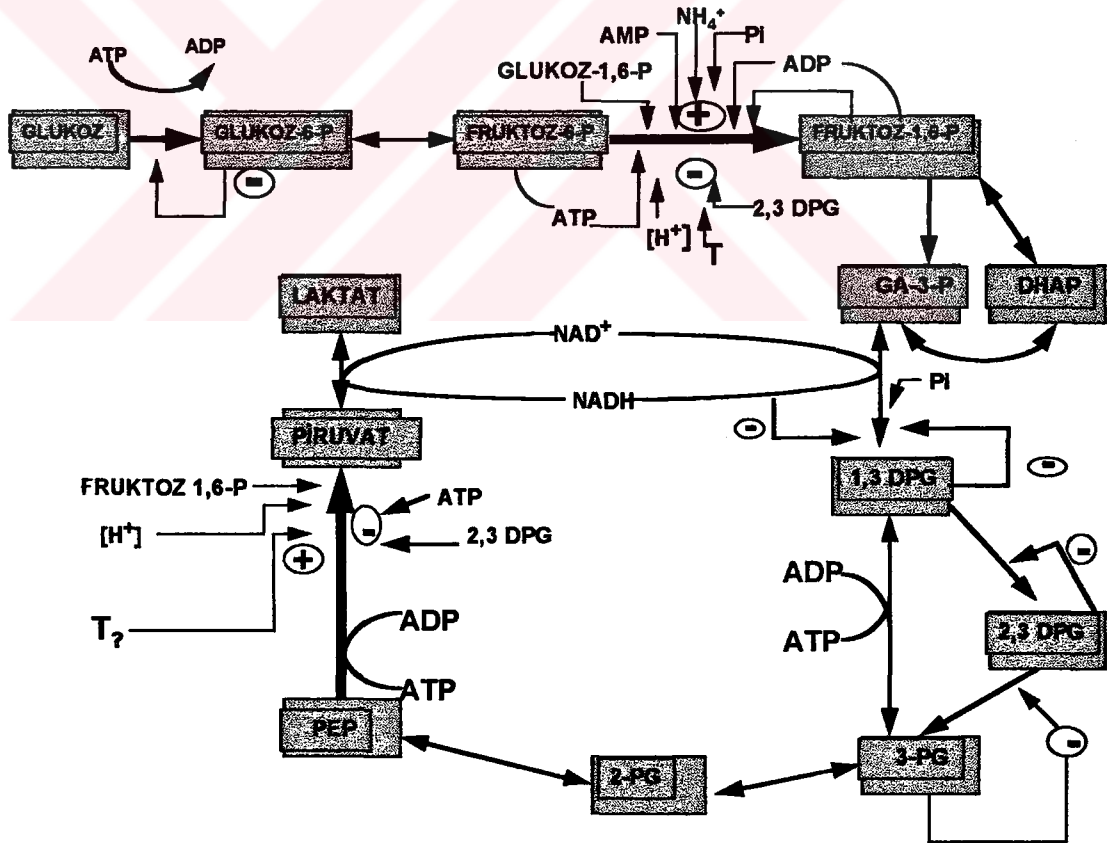
İlk etapta 2 mol ATP kullanılır. Birincisi HK tepkimesi ile glukozu fosforilemek, ikincisi de PFK tepkimesiyle F-6-P'ı FDP'a çevirmek için kullanılır. Daha sonra heksoz fosfatlar aldolaz tepkimesiyle 2 ayrı triozfosfata ayrılır : Ga-3-P ve DHAP... Bundan sonra ATP kazanılan dönem başlar. İlk PGK tepkimesiyle sonraki de PK tepkimesiyle 2'şer mol'den toplam 4 mol ATP elde edilir^{63,64,65}.

ATP kazancına ek olarak Embden-Meyerhof yolu sayesinde eritrosit için anahtar fonksiyon gören 2 ayrı tepkime daha gerçekleşir. Birincisi; Rapoport-Luebering döngüsüyle 1,3 DPG'den 2,3 DPG meydana getirilmesi, ikincisi; GAPD basamağında NADH meydana getirilmesi... Bu piridin nükleotidi (NADH), NADH'a bağlı metemoglobin redüktaz tarafından katalizlenen metemoglobini enzimatik indirgenmesinde primer kofaktör olarak görev alır^{63,64,65}.

EMY'undaki en düşük aktiviteli enzimler HK, aldolaz, 2,3DPGP, DPGM iken en yüksek aktiviteli enzim ise TPI'dir⁶³.

Çeşitli sabit şartlar altında spesifik glikolitik ara ürünlerin konsantrasyonundaki değişiklikler ölçülerek ve pH, ısı, inorganik fosfat(Pi), allosterik efektörler(2,3DPG ve adenin nükleotidler) gibi eksternal efektörlere "düzenleyici enzimlerin" yanıtları tespit edilerek glikolizis 2 ana bölüme ayrılabilir: *1-HK-PFK Sistemi* *2-PK-GAPD Sistemi*... Glikolizisin akışı HK-PFK tarafından kontrol edilirken, glikolizisin orta ve son bölümlerinin uyumlu bir şekilde çalışmasını PK-GAPD sistemi sağlamaktadır. Sonuçta glukozdan laktata "karşı konulamaz şekilde" ilerleyen bir multienzim dizisinden çok EMY.nu; glikolizis aktivitesini yöneten-yönlendiren benzer aksiyonlara, inhibitörlere ve efektörlere sahip fonksiyon bölümleri şeklinde işleten anahtar enzim dönemleri olarak düşünmek öğretici olması açısından daha iyi olacaktır(Şekil-6)⁶³.

Şekil 6: Glikolizis Kontrolünün Ayrıntılı Şeması



HK-PFK SİSTEMİ

HK'nın kontrol gücü glikolizisin ilk basamağını katalizlemesi ve düşük kapasitesi nedeniyle intrasellüler 7,2 pH'da PFK'dan 2 kat daha fazla etkin olmasıdır. Bununla birlikte aktivatör ve inhibitörlere en fazla duyarlılık gösteren enzim olması ve bu

effektörlerin de allosterik yapıda olmasından ötürü PFK glikolitik akış üzerinde en kuvvetli kontrolü gerçekleştiren enzimdir^{63,65}. PFK'nın pozitif efektörleri (aktivatörleri) substrat olarak F-6-P, ürün olarak FDP, kofaktör olarak ADP ve allosterik efektör olarak K^+ , NH_4 , Pi, G-1,6-P ve AMP'dir. Negatif efektörleri(inhibitörleri) ise H^+ , ısı, ATP-Mg⁺ kompleksi, 2,3DPG ve sitrat'tır. HK aktive olduğunda G-6-P ve F-6-P artar ve PFK aktive olduğunda bu metabolitler azalır. Glikolizisin aktivatör ve inhibitörleri olarak substrat ve ürünlerin karşılıklı ilişkileri en iyi örnek olarak HK-PFK sisteminde örnek olarak gösterilebilir. G-6-P HK'ı ATP ile birlikte kompetitif olarak inhibe eder. HK'nın ürünü olan F-6-P, ATP ile kompetitif olarak PFK'nın aktivitesini artırır. Sonuçta; anlaşıldığı üzere bir Mg⁺-ATP kompleksi olarak ATP, HK aktivitesini artırırken PFK'ı inhibe eder⁶³.

Glikolizis başlangıçta intrasellüler pH ve Pi daki değişiklikler tarafından etkilenir⁶³. pH'daki artma (alkaloz) glikolizisi hızlandırır, düşme(asidoz) ise yavaşlatır. H^+ iyon konsantrasyonlarına en hassas olan enzim PFK'dır ve pH 7,4 altında belirgin olarak inhibe olur⁶³. Pi'daki yüksek seviye ATP'in inhibitör etkisinin aksine PFK tepkimesini stimüle eder. Isı artışı ise PFK aktivitesini azaltıcı yönde etki eder⁶³.

HK-PFK sistemi üzerinde etkilerini gösteren son 2 eksternal efektör de Mg⁺ ve 2,3 DPG'tir. Mg⁺ eksikliği HK basamağında gerekli olan Mg⁺-ATP kompleksi oluşumunu ve sonuçta kullanılabilirliğini azaltarak glikolitik hızda düşmeye neden olur. 2,3 DPG ise direkt inhibitör etkisini hem HK hem de PFK üzerinde kullanır. Bu ara ürün intrasellüler pH'ı düşürerek ve PFK tepkimesini inhibe ederek glikolizis düzenlenmesinde rol alır⁶³.

PK-GAPD SİSTEMİ

Bu sistem; glikolizisin orta ve son bölümleri ile EMY'le Rapoport-Luebering döngüsü arasındaki glikolizis akışını düzenliyor gibi gözükmektedir. Bu sistem intrasellüler pH değişikliklerine çok hassastır. PK'ı PFK'ın bir çok kinetik özelliklerini paylaşır(taşır). ATP ve 2,3 DPG tarafından inhibe edilir. PK, PFK'dan farklı olarak pH ve Pi'nin artmasıyla inhibe edilir. Normalde PFK/PK oranı 1'dir, daha yüksek bir oran (PK eksikliğinde olduğu gibi) daha yüksek bir 2,3 DPG seviyelerini gösterir. Allosterik efektörü $F_{1,6}DP_2$, substratları olan PEP ve Mg⁺-ADP'ye daha duyarlı hale getirerek PK'ın aktivitesini artırır⁶³.

PK'in tepkimesinin ürünü olan pirüvat, NADH'ın kofaktör olarak rol aldığı LDH'ın katalize ettiği bu basamakta laktata çevrilir. Bu sırada elde edilen NAD⁺ ise GAPD tepkimesinde kofaktör rolü üstlenir. Eritrositlerde normalde NAD⁺/NADH oranı yaklaşık 1000'dir. NAD⁺ miktarında azalma GAPD tepkimesinde inhibisyona, bu da FDP ve triozfosfatlarda birikmeyle sonuçlanır⁶³.

İnsan eritrositlerinde metabolik kontrol üzerine etki eden fosforilasyon ve defosforilasyon tepkimeleri de vardır. Bir cAMP'ye bağımlı-membrana bağlı protein kinaz tarafından PK'ın fosforilasyonu PK'ın aktivitesini azaltır. Ancak bir sitosolik fosfoprotein fosfataz tarafından enzimin defosforilasyonu ise tam aktiviteyi kazanmasını sağlar. Ancak bu in-vitro reaksiyonların gerçek fizyolojik önemi tam olarak bilinmemektedir⁶³.

RAPOPORT-LUEBERING (2-3 DPG) DÖNGÜSÜ (RLD)

Glikolizisin önemli bir alternatif yolu olan RLD'unda 2,3 DPGM enzimi ile 1,3 DPG'den 2,3 DPG sentez edilir ve 2,3 DPGP enzimi ile de 3 PG'e katabolize edilir. Glikolizisin ihtiyaca göre 1/10-1/4'ü bu yol üzerinden gerçekleşir. Bu alternatif yol gerçekleştiğinde PGK basamağında oluşan ATP üretimi atlanmış ve eritrosit kardan kaybetmiş olur⁶³.

Bu yolun düzenlenmesi PFK/PK aktivite oranı ile tespit edilir. Daha yüksek PFK/PK oranı daha fazla 2,3 DPG şekillenmesini sağlar. Ayrıca intrasellüler pH'da ve 1,3 DPG konsantrasyonundaki artışlar da 2,3 DPG üretimi lehine artışa neden olur⁶³.

İnosine, pirüvat ve fosfat varlığında normal hücrelerde ve in-vitro 2,3 DPG'i tamamen tüketilmiş hücrelerde 2,3 DPG sentez edilebilir. İnosin HMY (Heksoz monofosfat yolu)'unda R-5-P'a çevrilir ve Ga-3-P'a ve F-6-P seviyesinde EMY'una katılır. Fosfat; R-5-P 'in şekillenmesini ve triozfosfatın 1,3 DPG'e çevrilmesini stimüle eder. Pirüvat ise GAPD tepkimesi için gerekli piridin kofaktörünü sağlayan ve 2,3 DPGM'nin substratının oluşumuna katkıda bulunan NAD⁺'in NADH'dan oksidasyonuna aracılık eder⁶³.

Serbest 2,3 DPG'in deoksihemoglobine bağlanması, böylece 2,3 DPGM üzerindeki feed-back inhibisyonunun kalkması (özellikle hipoksida) 2,3 DPG üretimi üzerinde göreceli olarak minör bir rol oynadığı sanılmaktadır. 2,3 DPG'in fizyolojik seviyelerinde 2,3 DPGM'in inhibisyonu % 99'dur. Yani enzim fizyolojik şartlarda potansiyel kapasitesinin sadece % 1'ini kullanmaktadır⁶³.

İntrasellüler 2,3 DPG konsantrasyonu genelde glikolizis üzerinde bir kontrol işlevi görür. 2,3 DPG konsantrasyonundaki artış intrasellüler negatif yükte artış meydana getirdiği için hücre içine H⁺ girişini kolaylaştırır ve intrasellüler pH'da azalmaya neden olur. Fizyolojik şartlar altında en azından 4 negatif yük taşıyan 2,3 DPG eritrosit membranına penetre olamaz. Hücre içine plazmadan H⁺ iyonu girer. Cl⁻ iyonu çıkar ve Donnan dengesi bozulur sonuçta intrasellüler pH düşer⁶³.

1 µmol 2,3 DPG pH'da 0,017'lik bir düşmeye neden olur. Aynı şekilde 2,3 DPG'in her 400 µmol'lük bir artış Hb. inin P₅₀'inde (oksijen affinitesinde) 1 mmHg kadar artışa ve

sonuçta oksijen dissosiasyon eğrisinde sağa kayma ile Hb. inin oksijene affinitesinde azalmaya neden olur⁶³.

2,3 DPG tarafından inhibe edilen eritrosit enzimleri şunlardır: 1- EMY'unda; HK^{13,63}, GPI⁶³, PFK^{63,99}, DPGM⁶³, PGK⁶³, PK⁶³, 2- HMY'unda transaldolaz⁶³, transketolaz⁶³; 3- Pürin nükleotid yolu'nda PRK⁶³, HGPRT⁶³, APRT⁶³, ADA⁶³...

2,3 DPG'in birinci fonksiyonu hemoglobinin oksijene affinitesini azaltmaktır. İntrasellüler pH'ı düzenleme ve glikolizisin düzenlenmesi işlevleri ikincil fonksiyonlardır. Birincil fonksiyonunu 3 ayrı mekanizma ile gerçekleştirir: ❶- 2,3 DPG'in hemoglobinin stabilize ve kombine olma özelliği üzerine direkt etkisi ❷- İntrasellüler pH'da düşme yapan etkisinden bağımsız olarak yaptığı Bohr katsayısına ($\Delta \log P_{50}/\Delta \text{pH}$) üzerine etkisi ❸- 2,3 DPG'in indüklediği intrasellüler pH'da düşme (bu durumda Bohr etkisinden ötürü Hb. inin oksijene affinitesinde azalma meydana gelir)⁶³.

2,3 DPG'in kontrolü degradatif (bozulma) basamaklarından çok sentez edici basamaklardan kontrol ediliyor gibi görünmektedir. Sadece fosfat belirgin şekilde aktive olduğunda ve sentez hızı azaldığında 2,3 DPG'in degradasyon hızı büyük önem taşır⁶³.

ATP VE ADENİN NÜKLEOTİDLER

1,5 μmol glukoz/L cells/saatte sabit şartlar altında 3 μmol ATP üretilmesine neden olur. Eritrositlerdeki adenin nükleotidlerin yaklaşık %90'ı ATP'e, %8'i ADP'e %2'si AMP'ye şekillenir⁶³.

ATP'nin yaklaşık 1/3'i aktif katyon transportunda, geriye kalanın 2/3 lik bölümü ise 2,3 DPG yolunda harcanır, ancak arta kalan bölümün nerede harcandığı kesin değildir⁶³.

ATP'nin $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ transportuna katılmasına ek olarak bir çok önemli rolleri vardır. Bunlar; ❶- Glikolizisin 3 düzenleyici tepkimesinde substrat ve efektör rolü ❷- Glukozun ilk fosforillenmesindeki rolü ❸- Eritrositin bikonkav yapısının korunmasına katkıda bulunma ❹- GSH sentezinde kofaktör rolü ❺- Hücreden kalsiyumun aktif olarak çıkartılmasını sağlayan $\text{Ca}^+ - \text{ATP'ase'a}$, bir enerji kaynağı olarak hizmet verip kalsiyum şelatının eritrositi deforme etme etkisinden korumak ❻- Deoksihemoglobine bağlanarak hemoglobinin oksijen affinitesini azaltmak ❼- Pürin-pirimidin sentezine katılma ❽- Lipid transportuna katılma^{61,63,101}

Glikolitik enzimlerin kalıtsal eksikliklerini patofizyolojisindeki son ortak yol ATP eksikliğinin oluşmasıdır. Sonuçta rijit ve şeklini değiştiremeyen eritrosit özellikle dalak, KC ve kemik iliğinde mikrosirkülasyonda monofaj-makrofajlar tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Ayrıca glikolitik enzim eksikliği olan hücrelerin strese dayanıklılıkları

yetersiz olduğu için staz, asidoz ve hipoksi membran disfonksiyonu gelişimini hızlandırarak anormal hücrelerin intrinsik olarak prematüre yıkılmalarına neden olurlar⁶³.

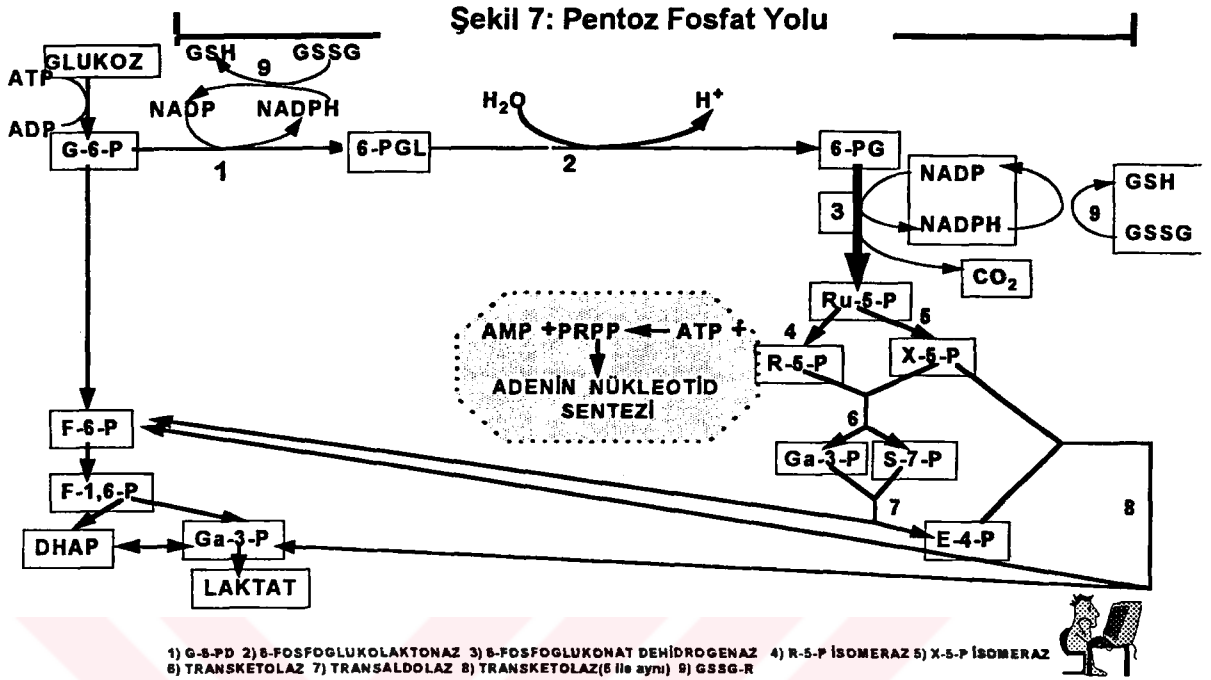
HEKSOZ MONOFOSFAT YOLU (HMY)

Fizyolojik şartlarda glikolizisin %10'u HMY'den ilerler^{63,64,101}. HMY'unun primer fonksiyonları ①GSSG'in redüksiyonunu sağlayan NADPH'nin üretimi ②Adenine nükleotidlerin sentezi için gerekli blokların oluşturulmasıdır. Üretilen GSH da sülfidril grubu içeren proteinleri (Hb, enzimler, eritrosit membranı) oksidatif denetürasyona karşı korur⁶³. HMY'nun anahtar enzim reaksiyonları *Şekil-7*de gösterilmiştir⁶³. NADP redüksiyonu HMY'unun 2 ayrı basamağında meydana gelir. Birincisi, G-6-PD'in etkin olduğu ilk ve en önemli basamağında ikincisi ise 6-PGD'in etkin olduğu 6-PG'ın Ru-5-P'a dönüştürüldüğü basamaklardır. Bu tepkime O₂ gerektirip CO₂ üreten bir tepkimedir⁶³.

Pentoz fosfatlar; pentoz izomeraz, epimeraz, transaldolaz ve transketolazın etkin olduğu bir dizi tepkime aracılığıyla Ga-3-P ve F-6-P'a çevrilip, tekrar HMY'na girerler. Transketolaz ve transaldolaz tepkimelerinden geçerek HMY'unda metabolize edilen her 3 mol pentoz şekere karşılık 2 mol F-6-P, 1 mol Ga-3-P ve net 5 mol ATP kazancı edilecektir⁶³. Alternatif olarak F-6-P, GPI tarafından G-6-P'a çevrilerek HMY'una başından tekrar katılır⁶³.

HMY'unda üretilen NADPH eritrosit tarafından GSSG-R basamağında GSSG'u indirgemek için kullanılır. Normal metabolik aktivite sırasında süperoksit ve hidrojen peroksit şekillenir. Süperoksit dismutaz süperoksit anyonu hidrojen peroksit (H₂O₂) haline çevirir ve hidrojen peroksit GSH-P'in katalize ettiği bir tepkimeyle GSH tarafından H₂O'ya çevrilir ve GSH da kendi kendine GSSG'a okside olur. Daha önce bahsedildiği gibi G-6-PD ve 6-PGD tepkimelerinde üretilen NADPH eritrositler tarafından GSSG-R basamağında GSSG'u redüklemek için kullanılır. Bu tepkimenin ürünü olan NADP sırayla HMY'nu stimüle eder. GSH-P'den başka katalaz da H₂O₂'i katabolize eder. Ancak GSH-P katalazdan farklı olarak lipid peroksidlerle de tepkime verir. Ayrıca otooksidasyon ürünlerinin indirgenmesinde dominant olan GSH-P'dir. Katalazın minör koruyucu olduğunun en güzel kanıtı, akatalazyalı hastalarda ne hemolitik anemi ne de artmış peroksid sensitivitesi bulunmaması gösterilebilir. Katalaz kompleks oluşturduktan ve hidrojen peroksiti redükledikten sonra, tekrar aktive olabilmesi için NADPH gereklidir. G-6-PD eksikliğinde NADPH'nin azalmasına sekonder katalaz inaktivasyonu; GSH-P tarafından peroksidlerin şanta geri dönmesini sağlayacaktır. Bu G-6-PD eksikliği olan eritrositleri azalmış

NADPH'nın GSH'un üretimi ve katalazın reaktivasyonunu geciktirdiği için çift yönden nasıl etkilediğini gösterir.



HMY'yu düzenleyen diğer faktörler *Tablo-38*'de listelenmiştir. HK'ı inhibe eden durumlar (G-6-P'da artma ve ATP'de azalma gibi...) stimulatördür. HMY'nun optimum pH'sı EMY'ununkinden (pH 7,4) daha düşüktür⁶³. EMY ile HMY arasında bağlantılar mevcuttur. DPG sadece HK'ı değil aynı zamanda transaldolaz ve transketolazı da inhibe eder. HMY EMY'nun yarısından fazlasını by-pass eder (özellikle de kontrol basamaklarını örneğin, PFK ve 2,3 DPG sentezi için substratları sağlayan basamakları...)⁶³.

Azalmış HMY aktivitesi; 1) Artmış methemoglobin formasyonu 2) NADH-Methemoglobin redüktaz tarafından artmış NADH kullanımı 3) Artmış GAPD aktivitesi 4) Artmış 1,3 DPG ve 5) Sonuçta artmış 2,3 DPG sentezi ile birlikte dir⁶³.

ERİTROSİTLERDEKİ DİĞER ENZİMLER VE ENZİM YOLLARI⁶³

Glutatyon (GSH) Metabolizması

Pürin ve Pirimidin Nükleotidlerinin Metabolizması

Galaktoz Yolu

Poliol (Sorbitol) Yolu

ATP'az

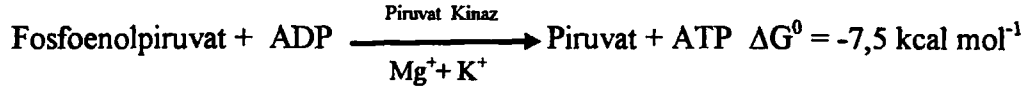
Karbonik Anhidraz

Asetil-Kolinesteraz

Süperoksit Dismutaz (SOD)

PİRUVAT KİNAZ

Glikolitik yoldaki üç tersinmez tepkimeden biri olan “fosfoenol piruvattan(PEP) pirüvik asitin şekillenmesini” katalizleyen piruvat kinazın(PK), memeli canlılarda dokulara özgü birden çok izozim ve formları bulunmaktadır^{53, 85...}.



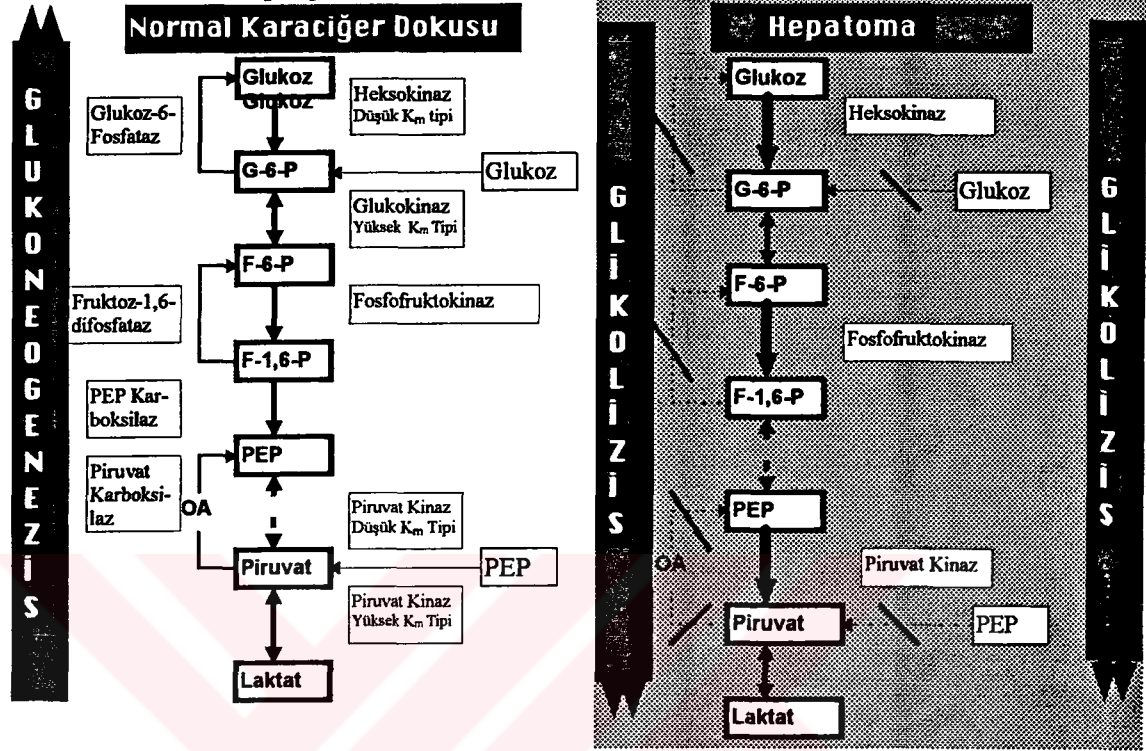
Rat ve insan dokularında yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda ilk kez 1960'lı yıllarda piruvat kinazın birden fazla moleküler formda bulunması gerektiği öne sürülmüş⁴² ve daha sonraki çalışmalarda da bu enzimin en azından iki farklı tipi olduğu saptanmıştır⁴². Bu çalışmalar sonucunda birinin karaciğer ve eritrositlerle diğerinin böbrek dışındaki diğer dokularla ilişkili olduğu saptanmıştır. Böbrekte ise bunların hibrid formu kabul edilen bir enzimin olduğu iddia edilmiştir. Ancak ilerleyen çalışmalar sonucunda bir çok dokuda bu majör böbrek enzimi ile ortak özellik gösteren enzimler saptanmıştır^{70,89}. Sonuçta memeli canlılarda PK'nın üç izoenzimi olduğu ileri sürülmüştür. Daha sonraları eritrositlerdeki PK'nın önceden sanıldığından farklı olarak bazı özelliklerle karaciğer tipi PK'dan farklı olduğunun saptanmasıyla^{36,52} artık günümüzde dört tip PK izoenziminin bulunduğu kabul edilmektedir.^{52,53} Bunlar: 1- L tipi PK: Majör olarak hepatositlerin izoenzimidir^{42,52,53,85}. Ayrıca böbrek korteksi, intestinal yapılar ve tahminen eritrositlerin minör izoenzimidir⁴². 2- M₁ tipi PK: Çizgili kas, kalp kası ve beyinde majör izoenzimidir^{42,52,53,85}. 3- M₂(K) tipi PK: Fetal gelişim süresince ilk gözlenen PK tipidir^{53,92}. Doğum öncesinden başlayarak bu tip yerini diğer PK izoenzimlerine bırakmaktadır⁵³. Ancak erişkinde yine tüm dokularda özellikle böbrekte olmak üzere belirli oranlarda bulunur^{42,85} (Lökosit, trombosit, karaciğer, yağ dokusu gibi...). Ayrıca çeşitli tümör dokularında M₂ tip PK'a artmış oranda rastlanmaktadır^{92,42,A...}. 4- R tipi PK: Eritrositlere spesifiktir^{36,85}.

Bu değişmez gibi görünen izoenzimler değişik varyantlarda ortaya çıkabilir ve birlikte hibrid formları oluşturabilir⁴².

Neoplastik gelişim sırasında bazı izoenzimlerin anahtar rol oynadığı ileri sürülmüştür. Bunların arasında “PK sistemi” de bulunmaktadır⁴². Yapılan çalışmalar sonucunda bu sistemin differansiyasyon-dedifferansiyasyonda bir model olarak kullanılabileceği iddia edilmiştir⁴² (Şekil-7a). Hatta bir çok yayında tümör doku hücrelerinde artmış PK aktivitesinin malign değişim için objektif bir kriter olduğu ve bu

konuda tamamıyla subjektif bir karar olan malignite tanısı koymada patolglara çok yararlı olabileceği ileri sürülmüştür^{27,111}.

Şekil 7a: Normal Karaciğer Dokusu ile Hepatoma Hücresindeki Karbonhidrat Metabolizmasının Karşılaştırılması



İsmlendirme:

İzoenzimlerin pleomorfizmi, hibrid formlarının varlığı ve izoenzimler hakkındaki değişik fikirler çok sayıda isimlendirme kullanılmasına neden olmuştur.

Tablo-39'da değişik yayınlarda PK'ın farklı isimlendirilmeleri görülmektedir.

Tablo 39: Dört majör PK izoenziminin isimlendirilmesi⁴²

<i>Kas ve Beyin</i>	<i>Karaciğer parenkimi, böbrek korteksi ve bazı durumlarda eritrosit</i>	<i>Bir çok adult doku (böbreği içeren) ve fetus ile tümör dokularında predominant</i>	<i>Eritrosit</i>
M	L	LM veya M	
A	B	C	D
III	2	1	
Kas	I	II ^a	
II	I	III	
	V	I	
	II	I	
M ₁	L	M ₂	
M	L	K	
M	L	S,K ve M ₂ ^b	
3	1	4	
M	L	A	
	1	5	

a:Böbrek izoenzimi için spesifik olarak kullanılmıştır.

b:K izoenziminin varyant formları

Bu çalışmada genel olarak kullanılan K(M₂), L, M(M₁), R isimlendirilmesi kullanılmıştır ve izoenzimlerle hibrid formları da buna göre adlandırılmıştır. Örneğin; M₄=tetramerik form, K₂M₂=K ve M prototiplerinin ikişer subünitini içeren hibrid form.

PİRUVAT KİNAZ İZOENZİMLERİ

M₁ (KAS) TİPİ PİRUVAT KİNAZ

Dört PK izoenzimi arasında en stabil olanı ve en kolay saflaştırılabilinenidir³⁶.

Genel olarak M₁ tipi PK, ADP için 0,3 mM'lık bir Km değerine sahiptir ve ATP için inhibisyon sabiti 3,0-3,7 mM'dır³⁶. M₁ izoenzimi F_{1,6}P₂'a duyarlıdır ve Km değeri 0,04-0,09 mM olarak rapor edilen fosfoenol piruvatla(PEP) Michaelis-Menten kinetiği sergiler ve Hill katsayısı 1,0'dır¹⁰⁶. Optimum pH'sı yaklaşık 7,5'dir¹⁰⁶.

M₁ izoenzimi sodyum dodecyl sulfate acrylamid jel veya guanidine HCl veya üre ile ultrasantrifügasyonla tespit edilen eşit moleküler ağırlıklı dört subünitten ibarettir. Bu subünitler 53-63000 moleküler ağırlıkta rapor edilmiştir¹⁰⁶.

PEP ile univalan ve divalan katyonlar için PK'ın her molekülünde (ya da molünde) dört bağlanma noktası vardır. her subünit üç alandan oluşur (A,B ve C)³⁶. Mn⁺², ATP ve PEP A ile B arasına, ADP ise A ile C arasındaki bir bölgeye bağlanır³⁶.

L (KARACİĞER) TİPİ PİRUVAT KİNAZ

Karaciğer glukoz homeostazında merkezi bir rol oynarken L tipi PK da glikoliz ve glukoneogenezde önemli bir rol oynamaktadır³⁶.

Karaciğerde PK'ın iki izoenzimi bulunmaktadır. Majör formu L tip izoenzim(sadece karaciğer parenkim hücrelerinde), minör formu M₂ tip izoenzim(karaciğer stroma hücrelerinde) bulunur³⁶.

L tip izoenzim allosterik bir enzimdir ve PEP konsantrasyonuna göre kinetiğini ayarlar³⁶. PEP için K_{0,5} değerini azaltan F_{1,6}P₂ L tipi PK'ı aktive eder ve kinetiğini sigmoidalden hiperboliğe kaydırır³⁶. ATP ve alanin tarafından allosterik olarak inhibe edilir, F_{1,6}P₂ eklenmesiyle inhibitör etkiler önlenir. F_{1,6}P₂ yokluğunda L tipi PK'ın PEP için K_{0,5} değeri 0,3-0,96 mM ve Hill katsayısı 1,6-2,9'luk bir değere sahiptir³⁶.

Enzim molekülünün her molünde F_{1,6}P₂ için dört bağlanma noktası vardır³⁶. F_{1,6}P₂'nin enzime bağlanması optimum pH'ı düşürür ve böylece enzimin izoelektrik noktası da düşer³⁶. F_{1,6}P₂ varlığında izoelektrik nokta genelde 5,3 civarında, insan enzimi için 5,85 civarındadır. F_{1,6}P₂ yokluğunda izoelektrik nokta 6,0-6,3 arasında olur³⁶.

Moleküler ağırlığı 193-265000'dir ve sedimentasyon katsayısı 9,5-10,05 arasındadır. Tetramerik yapıda olan L tipi PK eş moleküler ağırlıkta(50-60000 dalton) protomerlerden oluşmaktadır³⁶.

L tipi PK dört temel subünitten meydana gelmektedir. Bu subünitler sodyum dodecyl sülfat varlığında poliakrilamid jel elektroforezi ya da guanidine hidroklorid equilibrium sedimentasyon ile ayrılmazlar³⁶.

R(ERİTROSİT) TİPİ PİRUVAT KİNAZ

İnsan eritrositlerinde sadece tek tip PK vardır. L ve R tip PK'lar arasındaki ilişki halen tartışma konusudur. Bu iki enzim kinetik ve immunolojik olarak benzerdir ama elektroforezle ayrılabilir¹⁰⁶. Elektroforez sırasında eritrositlerin yıkımı L izoenziminden daha yavaş ilerleyen bir PK bandı ortaya çıkmasına neden olmuştur⁴². Bu aktif band her ne kadar hibrid veya L izoenziminin varyantı gibi görünse de başka bir izoenzim olduğu ve D veya R olarak isimlendirildiği bildirilmiştir⁴². Hibrid olabileceği fikri elektroforetik davranışına bakılarak karar verilmiştir. Ayrıca R izoenzimi dondurma ile L formuna döndürülebilir⁴². R ve L izoenzimleri arasında immünolojik olarak cross reaksiyon varken bu tip bir cross reaksiyon R ile K ve M izoenzimleri arasında yoktur. Bu durum hibrid fikri ile uyumlu değildir⁴².

Aşağıdaki bulgular L ve R izoenzimlerinin aynı gen ürünü olduğunu göstermektedir⁴²:

1-R izoenzimi karaciğer ekstreleri eklenmiş ortamda L formuna dönüşür.

2-Hepatiti olan hastalardan elde edilen R izoenzimi elektroforezde L izoenzimi gibi hareket eder.

3-R ve L izoenzimleri insülin ile indirekt olarak indüklenebilir.

4-Klasik eritrosit PK eksikliğine bağlı hemolitik anemilerde karaciğerde L izoenzimi de eksik bulunmuştur.

5-PK yokluğu ile birlikte olan hemolitik anemili hastalarda L ve R izoenzimlerinin her ikisi de elektroforezde normale göre yavaş gider.

R tipi PK; $F_{1,6}P_2$ ile allosterik aktivatör ve ATP ile allosterik inhibitör olarak davranan bir allosterik bir enzimdir³⁶.

R tipi PK için bildirilen kinetik değerler L tipi izoenzim için bildirilen değerler arasındadır. R tipi izoenzimin PEP için $K_{0,5}$ değeri 0,48-0,63 mM'dır ve $F_{1,6}P_2$ varlığında 0,006 mM'a düşer³⁶. Garreau ve arkadaşları R izoenziminde izoelektrik noktayı 7,1 olarak tespit ettiler ve bu da L tipine göre yüksek bir değerdir³⁶.

R tipi izoenzimin aminoasit bileşimi triptofan ve arginin dışında L tipi izoenzimle aynıdır. R tipi PK L tipine göre her 55000 gr enzim proteini başına daha fazla arginine residüsü içerir. Bu durum R tipi izoenzimin izoelektrik noktasının daha alkali olmasını açıklayabilir³⁶.

R tipi izoenzim için sedimantasyon katsayısı 9,8 ve molekül ağırlığı 200-240000'dir. Bu izoenzim de bir tetramerdir(iki tip monomerdan oluşur)³⁶. Bu monomerler sodyum dodecyl sulfate akrilamide jelde ayrılabilir. Sonuçta her bir monomerin birbirine benzediği ve yaklaşık 60000 molekül ağırlığında olduğu saptanabilir³⁶.

M₂ (K) TİPİ PİRUVAT KİNAZ

M₂ tipi PK, fetal dokularda dominant izoenzim iken gelişim süresince giderek miktarı azalır. Ayrıca yetişkin akciğerinde, böbrekte, yağ dokusunda, fetal dokularda ve çoğu tümörlerde de mevcuttur³⁶.

M₂ izoenzim allosteriktir, kinetik özellikleri L tipi izoenzimden farklıdır. F_{1,6}P₂ yokluğunda PEP'in K_{0,5} değeri 0,2-0,4 mM'dır ve eklendiğinde azalır. ADP için Km değeri 0,2-0,4 mM, ATP ve alanin için K₁ 2,5 mM ve 6 mM'dır³⁶.

Saflaştırılmış M₂ izoenzimlerinin izoelektrik noktaları farklılık gösterir ancak sonuçta M₁ tip izoenziminden ve L tip izoenziminden yüksektir³⁶. Sedimantasyon katsayısı 9,3-9,8 arası ve molekül ağırlığı 190-250000 arasındadır³⁶.

M₂ tipi PK eş moleküler ağırlıklı ve benzer yapıda dört monomerdan oluşur³⁶.

İzoenzimler Arasındaki İlişki:

İzoenzimler farklı kinetik ve fiziksel özelliklere sahiptir. M izoenziminin ve L izoenziminin saf tetramer olduğu bilinmektedir. Yapılan in-vitro hibridleştirme deneyleri sonucu iki enzim ve üç hibrid form saptanmıştır. Ayrıca dört temel izoenzimden hiçbirinin diğerlerinin hibrid formu olmadığı da saptanmıştır⁴².

Yapılan çalışmalarda PK izoenzimlerinin her birinin birden çok varyantı olduğu saptanmıştır^{42,106}. Aynı hücre türünde simültane olarak en fazla iki izoenzim bulunabilir^{27,42,106}. K(M₂) ve M(M₁) ile K(M₂) ve L arasında hibrid formlar meydana gelebilirken M ve L arasında hibrid formlar meydana gelmemektedir^{27,42,106}.

Dokulardaki izoenzim bileşimi elektroforez yöntemiyle kinetik ve immünolojik çalışmalarla tespit edilebilir. M ve K tipi PK'lar çok homologdur. M ve K tipinin aminoasit dizilimi sadece 45 residü bölümünde farklıdır¹⁰⁶. Ayrıca aynı immünolojik özelliklere sahip olmaları nedeniyle 1988 yılına kadar K ve M tipi PK'ları birbirinden

ayırtetmede güçlük çekilmekteydi¹⁰⁶. Ancak Van Erp ve arkadaşlarının¹⁰⁵ tanımladığı şekilde insan K tipi PK'a karşı monoklonal antikorlar üretilmeye başlandıktan sonra artık immünohistokimyasal olarak bu iki izoenzim de birbirinden ayrılabilir. Tablo-40'da görüldüğü gibi^{3,42,107,112} değişik durumlarda dokulardaki izoenzim bileşimi değişmektedir. Örneğin; malign değişim ile birlikte K izoenziminin lehine bir artış olmaktadır.

Ergin doku PK'larından M ve L tipleri arasında fonksiyonel açıdan büyük farklılıklar gözlenmektedir. Bu farklılıklar organlar arası iş bölümü ve karaciğerin homeostatik işlevi çerçevesinde anlamlıdır. Kas tipi PK denetime kapalı, glikolitik hızın belirlenmesinde rolü olmayan bir enzimdir. Pasif bir enzim olarak da kinetik davranışı Michaelis-Menten modeline uyar⁵³. Enzimin kristal yapısının M₂ ve L tiplerinin aktivatörü olan Fruktoz-1,6-difosfat(F_{1,6}P₂) tarafından etkilendiği, dolayısıyla M tipi ile F_{1,6}P₂ arasında bir ilişki olması gerektiği bulunmuşsa da bu etkileşim kinetik davranışa yansımamaktadır⁵³. M₁ tipi PK'ın klasik davranışına karşılık L tipi PK allosterik özellikler gösterir. F_{1,6}P₂, alt birimler arasındaki kooperasyonu azaltır ya da yokeder⁵³. Yani F_{1,6}P₂, L tipi PK'ın allosterik aktivatörüdür. ATP ve Bazı aminoasitler ise allosterik inhibitörüdür⁵³. L tipi PK'ın F_{1,6}P₂ ve fosforilasyona olan yanıtını, karaciğerde glikoliz ile glukoneogenez arasındaki dengenin sağlanması amacıyla gerçekleştirdiğini düşünmek daha doğru olacaktır⁵³. Çeşitli durumlarda dokulardaki PK düzeyleri ve izoenzim oranları değişebilmektedir. Tablo-40'da rat karaciğerinde ve hepatomalarda farklı şartlarda PK izoenzim düzeyinde meydana gelen değişiklikler görülmektedir⁴².

Tablo 40: Çeşitli fizyolojik durumlarda hepatoma ve rat karaciğerinde rapor edilen izoenzim düzeyindeki değişiklikler

Durum	İzoenzimlerin Relatif Aktiviteleri ^a		
	K İzoenzimi	L İzoenzimi	Diğerleri
Yetişkin			
<i>Yüksek Karbonhidratlı diyet</i>	0,9-1,3	1,8-3,5	1,0 ^b
<i>Rejimde</i>	0,8-1,2	0,4-0,5	
<i>Diabetiklerde</i>	1,0	0,3	
<i>İnsülin verildiğinde</i>	1,2	5,8	
<i>Rejenerasyonda</i>	1,3-5,0	0,2-0,4	
<i>Tümör külesinde</i>	5,4-10,2	0,3-1,0	1,4 ^c
Fetal(19-21 günler)	2,5	0,3	
Preneoplastiknodüler hiperplazi	2,1	0,7	
Hepatoma			
<i>Yüksek differansiye</i>	1,1-4,8	0,2-1,6	
<i>İyi differansiye</i>	1,7-2,1	0,3-0,7	
<i>Zayıf differansiye</i>	14,7-46,7	0,0-0,4	

a:Elde edilen spesifik aktivite/normal kontrollerin spesifik aktivitesi

b:M izoenzimi olarak rapor edilmiştir.

SONUÇ

Dört tip PK'in herbirinin farklı karakteristik özellikleri vardır(Tablo-41).

M₁ tip PK Michaelis-Menten kinetiği gösterir.

L ve R tip PK'lar allosteriktir. M₂ tip PK da allosteriktir ancak kinetik değeri L ve R tip PK'dan farklıdır.

L,R ve M₂ Tipi PK'ın K_{0,5} değeri PEP için F_{1,6}P₂ yokluğunda aynıdır. F_{1,6}P₂ eklenmesiyle L ve R tip PK'ın PEP için K_{0,5} değeri M₁ için bildirilen K_m değeri sınırlarına dek düşer. M₂ izoenzim için ise F_{1,6}P₂'ın eklenmesi K_{0,5} değerini bu kadar etkilemez.

M₁ ve M₂ tip PK'lar ATP tarafından eşit olarak inhibe edilirler. L tipi PK ATP ile inhibisyona daha duyarlıdır. Fakat F_{1,6}P₂ eklenmesi ile bu inhibisyon geri döner.

L,R ve M₂ izoenzimleri alanin tarafından allosterik olarak inhibe edilirken M₁ izoenzimini inhibe etmez.

Tüm izoenzimler için ADP K_m değeri aynıdır.

L izoenziminin optimum pH'sı M₁ izoenziminden düşüktür. Bu nedenle M₁ izoenziminin izoelektrik noktası L tipine göre daha alkalidir. R izoenziminin izoelektrik noktası da L ve M₁ izoenzimleri arasındadır.

Tablo 41: Piruvat Kinaz İzoenzimlerinin Genel Özelliklerinin Karşılaştırılması

Özellikler	M ₁	L	R	M ₂
K _m (PEP)-F _{1,6} P ₂ (mM)	0,04-0,09	0,3-1,0	0,5-0,6	0,2-0,4
Eğrinin Tipi	Hiperbolik	Sigmoidal	Sigmoidal	Hiperbolik ^a
K _m (PEP)-F _{1,6} P ₂ (mM)	-	0,03-0,15	0,06	-
Eğrinin Tipi	Hiperbolik	Hiperbolik	Hiperbolik	Hiperbolik
F _{1,6} P ₂ ile Aktivasyon	Yok	Var	Var	Var
K _i (ATP) (mM)	3-4	0,1-0,2	-	2,5
L-Alanin ile İnhibisyon	Yok	Var	Var	Var
K _m (ADP)(mM)	0,3-0,4	0,1-0,4	0,4-0,6	0,2-0,4
Molekül Ağırlığı(K Daltons)	210-250	200-240	200-240	190-250
Subünit Sayısı	4	4	4	4
Monomerler	İdentikal	İdentikal	2 Tür	İdentikal
Subünitlerin Molekül Ağırlığı(KDalton)	53-63	50-62	59-60	50-62
Optimum pH -F _{1,6} P ₂	7,1-7,5	6,5	-	-
+F _{1,6} P ₂	7,1-7,5	6,8-7,0	-	-
pI -F _{1,6} P ₂	8,5-8,9	5,8-6,3	7,1	5,6-8,3
+F _{1,6} P ₂	8,5-8,9	5,2-5,3	-	6,7
Karbonhidrat	-	Yok	-	Yok
Amino Terminus	Bloke	Bloke	-	Bloke

a:Hepatoma hücrelerinde sigmoidaldır

İzoenzimlerin moleküler ağırlıkları birbirine yakındır. Her biri 50-60000 daltonluk subünitlerden oluşan tetramerik yapıya sahiptir. R izoenzimi dışında diğer izoenzimlerin dört subüniti de birbirine benzerdir. Ancak R izoenziminde iki farklı tür subünit mevcuttur. Marie ve arkadaşları bu iki tür subünitin hacim olarak farklı olduğunu ve büyük hacimli olanın sınırlı tripsin hidrolizi ile diğerine çevrilebileceğini gösterdiler⁴².

R ve L izoenzimleri immünolojik olarak cross reaksiyon gösterirler ama M_1 ve M_2 PK ile cross reaksiyon göstermezler(Tablo-42).

Tablo 42: Piruvat Kinaz İzoenzimleri arasındaki Cross Reaksiyonlar

<i>Antiserum</i>	<i>M₁</i>	<i>L</i>	<i>R</i>	<i>M₂</i>
<i>Anti-M₁</i>	+	-	-	+
<i>Anti-L</i>	-	+	+	-
<i>Anti-R</i>	-	+	+	-
<i>Anti-M₂</i>	+	-	-	+

L ve R PK'ları aynı gen üzerinde şifrelenmiştir²². Onceleri M_1 ve M_2 subünitlerinin aynı gende veya farklı genlerde şifrelandikleri tartışma konusu iken Peters ve arkadaşları⁷² ile Naguchi ve arkadaşlarının⁶⁸ yaptıkları çalışmalarda aynı gende şifrelandikleri gösterilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastaların Seçimi:

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji kliniğine Eylül 1994 - Temmuz 1995 tarihleri arasında başvuran ve yeni tanı konulmuş 68 hematolojik malignansili olgu çalışma grubuna dahil edildi. Bu çalışmaya alınan olgular dört ayrı grupta incelendi. Birinci grup ANLL'li (11 olgu), ikinci grup relaps ALL'li (10 olgu), üçüncü grup ALL'li (32 olgu) ve dördüncü grup ise lenfomalı olgulardan (15 olgu) oluşturuldu.

Çalışma grubunu oluşturan hematolojik malignansili olgulara daha önceden herhangi bir tedavi başlanmamış ve kan transfüzyonu yapılmamış olmasına dikkat edildi. Tüm olguların hastalık öyküleri alındıktan sonra dikkatli fizik muayeneleri yapıldı; lenfadenopati, karaciğer, dalak büyüklükleri kaydedildi. Tam kan sayımı ve periferik yaymaları standart metodlar ile yapıldı. Kemik iliği aspirasyon materyalleri ve periferik yaymaları önce Wright-Giemsa ile boyandı ve akut lösemili olgular için %25 veya daha fazla blast saptanması tanı kriteri olarak alındı ve ayrıca monoklonal antikorlarla immünolojik sınıflandırma yapıldı. Akut lösemilerinin kendi aralarında ayırımını yapmak amacıyla da kemik iliği aspirasyon materyalleri PAS, Sudan-Black, peroksidaz, naftol AS-D klorasetat esteraz ve α -naftil esteraz boyaları ile boyandı. Lenfoma şüphesi olan olgularda ise lenf nodu biopsisi yapıldı ve elde edilen histopatolojik bulgular değerlendirilerek tanı konuldu. Ayrıca hastalardan ultrasonografi ve bilgisayarlı tomografi çektirilerek evreleri tespit edildi. Bunların dışında tüm hastalardan akciğer ve yan mediasten grafileri, böbrek fonksiyon testleri (tam idrar tetkiki, ürik asit, BUN, kreatinin, elektrolitler, total protein, albümin ve globülin), karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT, ALP, total protein, albümin, globülin, protein elektroforezi), kalsiyum, fosfor ve laktik dehidrogenaz tetkikleri yapıldı.

Kontrol Grubunun Seçimi

Kontrol grubu olarak yaşları 1-14 arasında değişen 42 sağlıklı çocuk alındı. Kanlar gönüllü sağlıklı çocuklardan ve ilkokullardan taramalar sırasında toplandı. Kontrol grubu olarak hastalarla benzer yaş grubundan olan sağlıklı çocukların

seçiminde alınan öykü ve yapılan fizik muayenede çalışmamızı etkileyecek herhangi bir hastalık geçirmemiş olmalarına özen gösterildi.

Kanların Alınması

Çalışma grubuna dahil olan hastalardan ilk kan örnekleri herhangi bir tedavi başlanmadan ve kan transfüzyonu yapılmadan önce 5 cc venöz kan steril koşullarda EDTA'lı cam tüplere alındı. Daha sonra yaklaşık 1,5 ay ara ile (eğer bu süre içinde kan transfüzyonu yapılmışsa transfüzyon tarihinden üç ay sonra) dört kez daha örnek kan alındı. Bu kanlar mümkün olduğunda hemen çalışıldı, eğer hemen çalışmak mümkün olmamışsa test gününe kadar (en çok üç gün) +4-8°C'de saklandı.

Araştırma Sırasında Kullanılan Cihazlar

- Coulter Counter (1987 Coulter Electronics Ltd. Luton, Beds.)
- Santrifüj (Soğutmalı) (Sorvall RC-2B. 20.000 rpm)
- UV Spektrofotometre (Schimatsu-UV260)
- Spektrofotometre (Bausch and Lomb. Spectronic 20)
- Su banyosu (Kotterman)
- pH metre (Beckman Centoury SS-1)
- Elektrikli hassas terazi (Mettler H 10)
- Elektrikli hassas terazi (Mettler p 1210)
- 0-20 mikrolitre otomatik pipet (Gilson p-20)
- 0-200 mikrolitre otomatik pipet (Gilson p-200)
- 0-1000 mikrolitre otomatik pipet (Gilson p-1000)
- Buz makinası (Scotsman AF-10)

Kullanılan Kimyasal Maddeler

- (MOPS)
- Potasyum korür (KCl)
- Magnezyum klorür (MgCl₂)
- Fruktoz-1,6-difosfat (F_{1,6}P₂)
- Adenozindifosfat (ADP)
- Fosfoenolpiruvat (PEP)
- Nikotinamid adenin dinükleotit (NADH)
- Laktik dehidrogenaz (LDH)

Tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, BDH (İngiltere), Merck (Almanya) ve Sigma (A.B.D) firmalarından temin edilmiştir.

Kan Örneklerinin Hematolojik Parametrelerinin Ölçülmesi

Laboratuara gelen, EDTA içeren kanlar yavaşça alt üst edilerek Coulter Counter aletinde kan örneklerinin hematolojik parametreleri ölçüldü.

Eritrositlerin Yıkanması

EDTA içeren tüplere alınan hasta kanlarından yaklaşık 1 ml santrifüj tüplerine alındı. Bunun üzerine yaklaşık 3 ml soğuk serum fizyolojik ilave edildi. Tüplerin ağzı kapatıldı ve eritrositlerin parçalanmamasına dikkat edilerek tüpler yavaşça birkaç kez alt üst edildi. Tüpler santrifüje yerleştirilerek 8000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Bu zaman sonunda üste kalan süpernatant atıldı. Sonra tüpün içine tekrar yaklaşık 3 ml soğuk serum fizyolojik ilave edildi ve yine 8000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Bu işlemler üstte kalan süpernatant berrak (serum fizyolojik ile aynı renk) oluncaya kadar devam edildi.

Hemolizat Hazırlama

Eritrositleri yıkanan hasta kanlarından 60 µl alındı ve 1.5 ml saf su içeren tüpün içine kondu ve sallamak suretiyle karıştırıldı. Böylece hemolizat hazırlandı. Aynı işlemler kontrol grubu için de yapıldı.

Ayıracıların Hazırlanması

a) BIM (Esas İnkübasyon Karışımı)

i) 50 mM MOPS: 1.046 g MOPS,

ii) 100 mM KCl: 0.746 g KCl ve

iii) 10 mM 2-merkaptetanol: 0.071 ml 2-merkaptetanol

alınır 40 ml saf suda çözülerek pH 7.5 olacak şekilde NaOH ile ayarlanır. Daha sonra çözelti 50 ml'ye saf su ile tamamlanır (-20°C'de dondurularak saklanır).

b) 10 mM MgCl₂:

Molekül ağırlığı 203.3 olan MgCl₂'den 0.4066 g alınır bir miktar suda çözülerek hacim 20 ml'ye tamamlanır (-20°C'de dondurularak saklanır).

c) 0.2 mM F_{1,6}DP₂:

0.1624 g F_{1,6}DP₂ bir miktar suda çözülür ve hacim 20 ml'ye tamamlanır (-20°C'de dondurularak saklanır).

d) 0.2 mM ADP:

0.0854 g ADP bir miktar suda çözülür ve hacim 10 ml'ye tamamlanır (-20°C'de dondurularak saklanır).

e) 4 mM PEP (trisodyum tuzlu):

0.0468 g PEP bir miktar suda çözülür ve hacim 5 ml'ye tamamlanır (-20°C'de dondurularak saklanır).

f) 0.18 mM NADH:

3 mg NADH 1 ml saf suda çözülür (+4°C'de uzun süre saklanır).

g) 2.4 ü LDH:

10 ml LDH 2 ml suda çözülür (+4°C'de uzun süre saklanır).

h) % 0.9 NaCl:

9 g NaCl bir miktar saf suda eritilir ve saf su ile litreye tamamlanır (+4°C'de uzun süre saklanır).

i) Drapkin:

NaHCO₃ 1.000 g

K₃Fe(CN)₆ 0.198 9

KCN 0.052 g

Bir miktar saf suda eritilir ve saf su ile litreye tamamlanır (Koyu renkli şişede +4°C'de uzun süre saklanır).

Hemolizatta Hemoglobin Tayini

Hemolizatta hemoglobin tayini siyanomethemoglobin yöntemi ile yapıldı¹¹³.

Prensip:

Hemolizat potasyum siyanür ve potasyum ferrisiyanür ile muamele edildiğinde, ferrisiyanür hemoglobindeki demiri oksitler ve hemoglobini methemoglobine dönüştürür. Siyanür ise 540 nm'de absorpsiyon piki veren stabil siyanmethemoglobine dönüştürür. Siyanmethemoglobinle tüm methemoglobin türevleri ölçülebilir

Yapılışı:

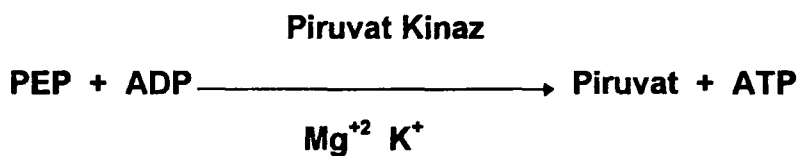
5 ml drapkin içine hazırlanan hemolizattan 20 ml konur ve karıştırılır. 15 dakika beklenir. 540 nm'ye ayarlı spektrofotometrede transmittans (%T) değeri okunur. İlgili cetvelden %T değerine karşılık gelen % Hg miktarı bulunur.

Kantitatif Piruvat Kinaz Aktivite Tayini

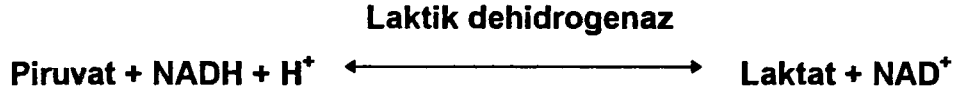
Piruvat kinaz aktivitesi International Committee for Standardization in Haematology (ICSH) metodlarına göre 37 °C'de ölçülmüştür⁶⁴.

Prensip:

Piruvat kinaz fosfoenolpiruvat (PEP)'in piruvata çevrimini katalizler ve sübstrat seviyesinde fosforilasyon yoluyla fosfoenolpiruvat fosfatını adenzin difosfat (ADP)'a transfer ederek adenzin trifosfat (ATP) oluşumunu sağlar:



Oluşan piruvat, laktik dehidrogenaz reaksiyonunda NADH'ın oksidasyonuna bağlı olarak ölçülür:



Aktivite 340 nm dalga boyunda absorbands düşüşü üzerinden izlenir.

İnkübasyon ortamının bileşimi toplam 600 ml hacim içinde; 50 mM MOPS-NaOH (pH 7.5), 100 mM KCl, 10 mM 2-merkaptoetanol, 10 mM MgCl₂, 0.18 mM NADH, 2.4 ü Laktik dehidrogenaz (LDH), 0.2 mM fruktoz-1,6-difosfat (F_{1,6}DP₂), 2 mM ADP, 4 mM PEP ve 15 ml hemolizat idi. Reaksiyon başlatılmadan önce inkübasyon ortamının bileşim sıcaklığı 37°C'ye getirilmiştir. İnkübasyon ortamı 37°C'ye geldiğinde enzim ilavesi ile reaksiyon başlatılmış ve aktivite 340 nm dalga boyunda absorbands düşüşü üzerinden izlenmiştir. İlk hız değerleri A₃₄₀'ın zamana göre değişim eğrisinin ilk lineer kısmından hesaplanmıştır. Hesaplama için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$A = e * c * l$$

A: Absorbans

e: 6.22 (NADH için)

c: Konsantrasyon

l: Işık yolu çapı (= 1 mm)

(1 mM NADH 1 cm ışık yolunda 6.22 optik dansite verir)

(İnkübasyon Hacmi/Hemolizat hacmi= 600/15= 40 (Sulandırma Oranı)

$$A = 6.22 * c * l$$

$$[A / 6.22] * 40 * 100$$

$$c = \frac{[A / 6.22] * 40 * 100}{\%Hb} = \dots \text{IU/gHb}$$

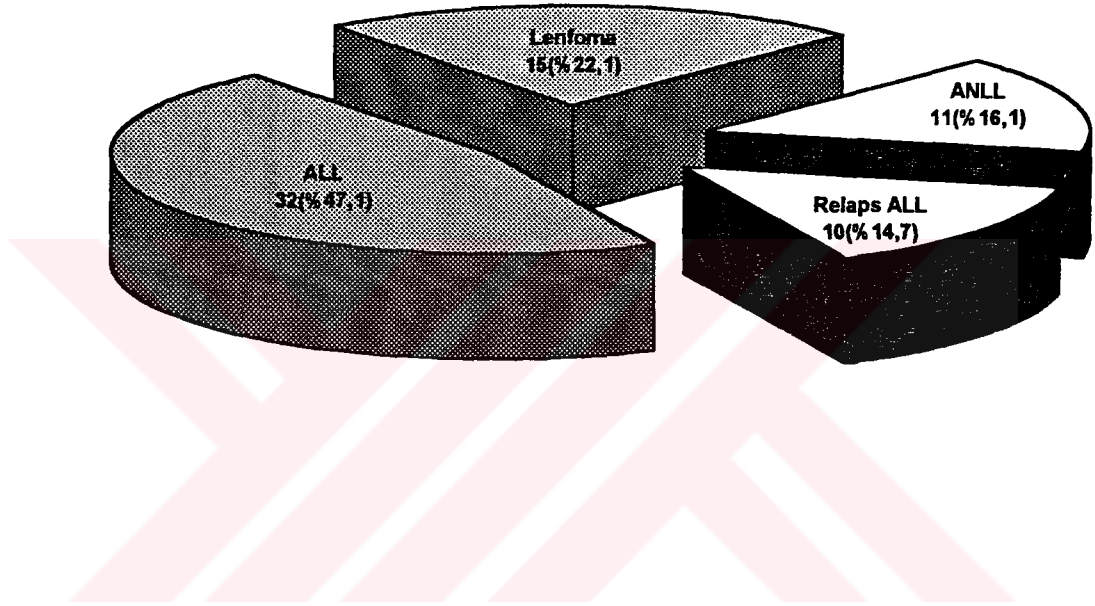
İstatistiksel Yöntem:

Bulunan verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde “Mann-Whitney U Testi” ve “Wilcoxon'un Eşleştirilmiş İki Örnek Testi” ve “Pearson'un Bağını (Korelasyon) Analizi” kullanıldı^{38,87,90}.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 68 çocukluk çağı malignansi olgusunun 48(%70) 'i erkek, 20(%30)'si kız çocuğu idi. Yaşları 1 ile 21 yaş arasında değişiyordu(ortalama $7,2\pm 3,9$ ve medyan 6 yaş). Bunların 11'i ANLL, 10'u relaps ALL, 32'si ALL ve 15'si lenfoma tanısı almıştı (Şekil-8 ve Tablo-43).

Şekil 8: Olguların Tanılarına Göre Dağılımı



Tablo 43: Hastalıkların Altgruplarına Göre Dağılımı

Tanı	Olgu Sayısı
ANLL	11
AML-M ₁	3
AML-M ₃	2
AML-M ₄	4
AML-M ₅	2
Relaps ALL	10
ALL	32
ALL-L ₁	22
ALL-L ₂	7
ALL-L ₃	3
Lenfoma	15
HH	6
NHL	9
TOPLAM	68

• **Kontrol Grubu**

Kontrol grubunu oluşturan 42 sağlıklı çocuğun 24(%57,1)'ü erkek, 18(%42,9)'i kız çocuğu idi. Kontrol grubunun yaş, cins, ePKA değerleri, hematolojik parametreleri ve tanımlayıcı istatistikleri Tablo-44'de görülmektedir.

Tablo 44: Kontrol Grubunun Yaş, Cins, ePKA, Hematolojik Parametreleri ve Tanımlayıcı İstatistikleri									
İsim	Yaş (Yıl)	Cins	ePKA (IU/gHb)	Bk ($\times 10^3/mm^3$)	Hb (gr/dl)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (gr/dl)	Trom ($\times 10^3/mm^3$)
TG	1	Erkek	12,45	11,0	12,60	84,90	27,50	32,40	541
SD	3	Kız	13,67	14,0	11,70	80,20	26,60	32,70	391
OÖ	7	Erkek	12,86	10,9	11,70	83,30	26,20	31,60	479
SU	5	Kız	14,37	10,8	13,00	84,80	30,10	35,40	253
AA	12	Kız	18,76	8,0	13,90	86,30	29,30	33,90	283
FÖ	8	Erkek	16,25	6,9	10,50	79,90	25,70	32,20	325
MH	11	Erkek	20,06	8,6	12,10	83,10	26,40	31,70	323
ÇÖ	8	Erkek	13,59	10,0	10,90	77,30	25,20	32,60	742
EA	8	Kız	25,19	9,6	11,30	85,70	28,10	32,80	151
SH	7	Kız	26,27	9,2	12,30	77,30	24,30	31,40	270
İS	13	Erkek	17,89	9,2	13,20	82,70	27,10	32,00	401
EV	9	Erkek	17,81	7,8	12,20	85,70	27,90	32,50	392
BÖ	5	Erkek	15,34	7,1	12,60	74,40	24,00	32,30	283
AÖ	4	Erkek	15,34	6,7	12,40	83,10	27,20	32,80	286
MK	4	Erkek	15,86	11,4	10,70	85,50	28,20	33,00	324
KR	3	Kız	20,25	6,9	13,90	82,60	27,70	33,60	410
ÖG	8	Kız	18,37	9,6	13,20	90,30	29,90	33,10	294
AK	4	Kız	14,44	12,1	12,10	79,50	26,00	32,70	364
FÖ	12	Kız	15,43	8,5	13,20	78,70	25,90	33,00	409
ÖK	10	Kız	15,16	5,4	12,40	89,80	29,40	32,80	232
MG	12	Erkek	13,09	8,9	12,60	81,40	26,60	32,70	374
HK	14	Kız	21,97	5,2	11,10	91,40	30,10	33,00	157
UE	12	Erkek	14,23	5,5	13,00	86,20	28,50	33,10	193
SK	3	Kız	21,44	10,2	10,50	74,90	27,50	32,60	331
AÖ	5	Erkek	14,41	8,4	13,00	85,30	28,20	33,10	423
AA	11	Erkek	18,45	10,8	12,50	74,50	24,40	32,70	367
BH	5	Erkek	15,66	10,4	11,40	83,40	27,80	33,30	273
AEB	5	Erkek	20,25	8,1	10,80	76,80	25,20	32,80	330
AŞ	5,5	Kız	14,84	11,0	12,50	84,00	27,80	33,10	200
İS	14	Erkek	18,85	9,7	12,80	85,70	27,90	32,50	346
EG	2,5	Erkek	16,95	10,2	13,90	83,40	27,50	33,00	345
GG	2,5	Kız	23,58	11,7	11,40	79,00	25,40	32,10	287
YE	4	Erkek	25,72	11,4	11,60	85,30	30,70	35,10	156
FA	7	Erkek	18,27	7,6	14,30	82,20	26,70	32,50	280
FG	9	Erkek	23,67	7,4	13,20	81,80	26,10	31,90	155
KP	11	Erkek	19,91	5,3	12,90	81,80	26,90	32,90	194
EŞ	5	Kız	17,52	11,1	12,40	89,80	28,20	31,40	210
GD	4,5	Kız	19,48	10,0	12,40	81,30	25,60	31,50	300
AK	6	Erkek	18,56	10,0	12,60	82,00	25,70	31,30	190
SK	7	Erkek	25,38	9,2	13,60	83,30	26,50	31,80	195
FA	8	Kız	19,71	7,5	14,00	81,80	25,70	31,40	168
ZT	12	Kız	15,15	7,8	12,40	81,90	26,70	32,60	401
Ort.	7,31	-	18,01	9,1	12,40	82,67	27,10	32,64	310,19
SD	3,55	-	3,77	2,0	0,99	4,05	1,62	0,85	116,32
Dağ.	1,0-14,0	-	12,4-26,2	5,2-14,0	10,5-14,3	74,4-91,4	24,0-30,7	31,3-35,4	151-742
Med.	7,0	-	17,85	9,2	12,45	82,9	27,00	32,7	297

• **Grup I**

I. grubu oluşturan 11 ANLL'li olgunun 7'si(%63,6) erkek ve 4'ü((%35,4)kız çocuğu idi. Olguların yaş, cins, tanı anındaki ePKA, hematolojik parametreleri, FAB morfolojik sınıflandırılması Tablo-3'de, klinik ve diğer laboratuvar bulguları ise Tablo-4'de görülmektedir.

Tablo 45: ANLL'li Olguların FAB ve İmmünohistogenetik Sınıflaması ile Yaş, Cins, Tanı Anındaki ePKA, Hematolojik Parametreleri ve Tanımlayıcı İstatistikleri

İsim	Yaş (Yıl)	FAB	Cins	ePKA (IU/gHb)	Hb (gr/dl)	Ret (%)	Bk ($\times 10^3/mm^3$)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (gr/dl)	Trom ($\times 10^3/mm^3$)	PB (%)	KB (%)
RB	7	M ₃	E	11,04	7,2	0,4	2,7	87,3	30,5	33,9	33,0	56	95
ÖD	4,5	M ₁	K	35,12	4,9	1,4	135,8	116,9	30,0	32,0	66,0	70	95
ÇK	13,5	M ₅	K	8,60	5,0	0,6	2,7	92,7	26,6	28,7	53,0	0	75
AS	9	M ₁	E	36,37	10,1	0,4	5,0	120,0	37,1	30,8	109,0	98	100
MS	10	M ₄	E	7,2	4,8	0,6	21,9	89,1	28,40	31,9	180,0	84	90
AÖT	10	M ₄	E	11,43	6,5	0,6	2,0	92,0	31,3	34,0	55,0	40	100
AK	11	M ₄	E	8,43	11,2	1,8	11,5	109,6	35,5	32,3	49,0	20	60
CA	13	M ₄	E	13,9	3,0	2,2	9,9	122,8	41,4	33,7	18,0	40	80
HS	6	M ₅	K	9,89	8,3	0,8	9,8	86,2	28,7	33,3	46,0	40	85
RA	5,5	M ₃	E	12,63	9,9	0,8	5,1	90,3	29,1	32,2	76,0	20	57
SV	7	M ₁	K	13,63	9,0	0,6	9,0	99,2	-	-	40,0	12	45
Ort.	8,7	-	-	15,3	7,2	0,9	19,5	100,5	31,8	32,2	65,9	-	-
SD	3,0	-	-	10,3	2,6	0,6	38,9	14,1	4,6	1,6	44,7	-	-
Dağ.	4,5-13,5	-	-	7,2-36,3	3,0-11,2	0,4-2,2	2,0-135,8	86,2-122,8	26,6-41,4	28,7-34,0	18,0-180,0	-	-
Med.	9,0	-	-	11,4	7,2	0,6	9,0	92,7	30,2	32,2	53,0	-	-

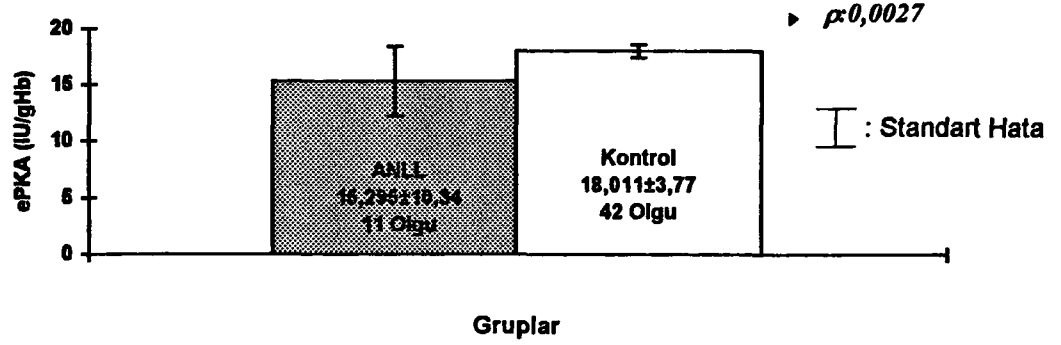
Tablo 46: ANLL'li Olguların Laboratuvar ve Klinik bulguları

İsim	LDH (U/L)	ALP (U/L)	CPK (U/L)	Ca/P (mg/dl)	BUN/Cr/Ürik A (mg/dl)	Na/K (mEq/L)	AST/ALT (Ü)	Tot.pro/Alb (gr/dl)	LAP	HpM (cm)	SpM (cm)	Peteşi/Purpura
RB	410	438	41	9,5/4,5	11/1,0/4,2	136/3,7	18/10	7,6/3,5	+	7	-	+
ÖD	780	234	105	8,6/4,5	14/1,1/3,4	134/3,9	35/39	6,6/3,8	+	3	-	-
ÇK	151	101	85	8,5/4,7	11/1,0/2,6	141/4,0	17/15	5,6/2,9	+	2	1	-
AS	9235	511	27	-	9/0,8/5,5	132/2,7	66/61	-	+	4	-	+
MS	536	249	20	7,2/5,3	16/1,1/6,3	141/4,9	30/17	8,5/4,4	+	-	-	+
AÖT	1401	305	38	8,3/5,6	18/0,8/3,0	147/4,2	27/17	8,0/4,1	-	-	-	+
AK	480	350	35	-	14/0,8/3,5	145/4,3	25/16	-	+	3	-	-
CA	245	236	24	10,3/4,8	21/0,9/5,6	146/3,2	40/10	7,5/4,4	+	2	-	-
HS	840	450	90	-	16/1,0/4,3	137/3,9	32/24	-	+	2	1	+
RA	1297	290	50	-	8/0,6/4,8	140/3,7	60/17	-	+	1	2	-
SV	639	277	32	8,7/4,6	12/0,8/3,0	144/4,3	28/24	6,9/3,2	-	-	-	+

Grup I'de olguların tümünden orjinal kan örnekleri alınabildi. Ancak 2 olgu eksitus olduğu ve 7 olguda ise ara ara kan transfüzyonu yapıldığından kemoterapi sonrası ePKA için örnekler alınamadı (iki olgu dışında).

Bu sonuçlara göre olguların tanı anındaki ePKA değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p: 0,0027$). Şekil-9'da ANLL'li olgularla kontrol grubunun ortalamalarının karşılaştırılması görülmektedir.

Şekil 9: ANLL ve Kontrol Grubunun ePKA Ortalamalarının Karşılaştırılması



Tanı anındaki ePKA ile yaş, cins, retikülosit, hemoglobin, MCH, MCHC, trombosit, periferik yaymadaki ve kemik iliğindeki blast yüzdesi arasında pozitif veya negatif yönde bir ilişki yokken; MCV ve laktik dehidrogenaz (LDH) ile pozitif yönde bir ilişki bulundu (sırasıyla $r: 0,676$, $p: 0,022$ ve $r: 0,685$, $p: 0,020$) (Tablo-5).

Tablo 47: ANLL'li Olguların Tanı Anındaki ePKA ile Beyaz küre, MCV, LDH Arasındaki İlişki

	Beyaz Küre	MCV	LDH	ePKA
r Değeri	0,598	0,676	0,685	
p Değeri	0,052	0,022	0,020	

r: Korelasyon Katsayısı
p: Anlamlılık Derecesi

• Grup II

II. grubu oluşturan 10 relaps ALL'li olgunun 6'sı (%60) erkek ve 4'ü (%40) kız çocuğu idi. Olguların yaş, cins, tanı anındaki ePKA, hematolojik parametreleri ve tanımlayıcı istatistikleri Tablo-6'da, klinik ve diğer laboratuvar bulguları Tablo-7'de görülmektedir.

Tablo 48: Relaps ALL'li Olguların ePKA, Hematolojik Parametreleri ve Tanımlayıcı İstatistikleri

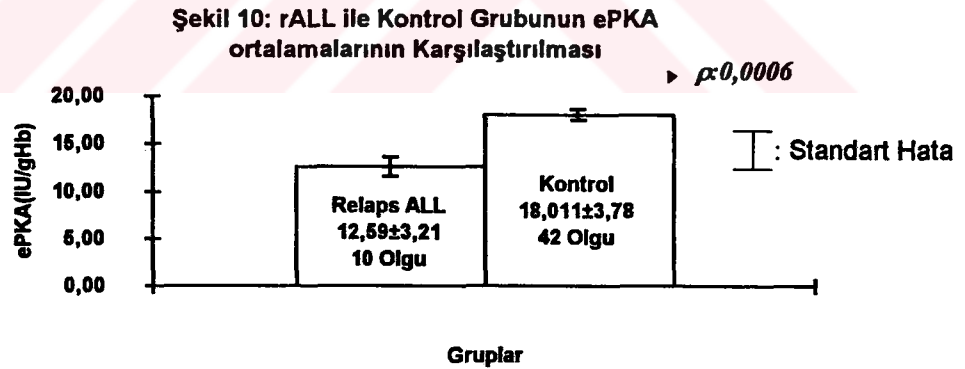
İsim	Yaş (Yıl)	Cins	ePKA (IU/gHb)	Hb (gr/dl)	Ret (%)	Bk ($\times 10^3/mm^3$)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (gr/dl)	Trom. ($\times 10^3/mm^3$)	PB (%)	KB (%)
KA	21	K	10,8	7,3	0,8	21,9	109	34,2	31,4	21,0	25	65
FA	15	E	14,62	11,8	0,2	7,6	96	33,2	33,1	380	0	82
FA	14	K	15,01	8,7	0,2	31,0	76	31,7	32,9	166	20	85
İB	11	E	15,78	10,2	0,1	2,8	94,2	32,2	34,1	55	24	70
İF	6	E	13,4	11,5	-	30,1	85,7	29,1	34	25	25	95
MÖ	13	K	15,09	8,5	0,1	64,0	92,2	29,7	32,2	100	90	83
TS	4,5	K	8,15	11,3	0,1	28,1	88,5	29,2	33	128	10	55
İŞ	4	E	15,53	9,2	0,1	8,1	89,5	28	31,2	322	0	14
YY	6	E	7,27	7,9	0,1	6,0	81,4	27,4	33,7	40	10	96
EZ	13	E	10,2	8,1	0,1	1,4	85,1	29,7	34,9	180	0	45
Ort.	10,7	-	12,6	9,4	0,2	20,1	89,7	30,4	33,1	141,7	-	-
SD	5,5	-	3,2	1,6	0,2	19,3	9,0	2,2	1,2	124,4	-	-
Dağ.	4-21	-	7,2-15,8	7,3-11,8	0,1-0,8	1,4-64,0	76,0-109,0	27,4-34,2	31,2-34,9	21,0-380,0	-	-
Med	12,0	-	14,0	8,9	0,1	15,0	89,0	29,7	33,1	114,0	-	-

Tablo 49: Relaps ALL'li Olgularda Laboratuvar ve Klinik Bulgular

ISIM	ALP (U/L)	CPK (U/L)	LDH (U/L)	Ca/P (mg/dl)	BUN/Cr/Ürik A (mg/dl)	Na/K (mEq/L)	AST/ALT (Ü)	Tot.pro/Alb (gr/dl)	LAP	HpM (cm)	SpM (cm)	Peteşi/ purpura
KA	-	-	-	-	13/1,1/5,6	136/4,3	36/27	-	+	-	-	-
FA	177	35	465	9,2/3,7	14/1,0/4,9	145/4,0	44/49	-	-	-	-	-
FA	-	-	-	-	21/0,9/6,7	138/3,9	56/29	-	+	2	1	+
İB	279	48	3400	8,5/5,1	12/0,8/7,1	144/4,8	490/160	6,9/4,0	-	-	-	-
İF	273	-	-	11/3,6	11/0,8/5,1	145/4,3	65/56	7,1/3,7	+	-	-	+
MÖ	259	96	1454	12/6,2	10/1,0/10	140/4,3	19/41	8,0/3,8	+	1	12	-
TS	-	-	-	-	26/1,2/6,7	137/4,5	75/62	-	-	-	-	+
İŞ	304	55	1254	9,2/4,1	10/0,8/3,3	141/3,4	95/485	-	+	1	-	-
YY	283	42	108	10/4,2	8/0,7/3,3	136/3,7	85/158	7,4/3,6	+	2	10	-
EZ	570	76	4500	9,9/4,6	20/0,7/7,5	147/4,0	67/75	6,5/4,2	-	-	-	-

Grup II'de olguların tümünden orijinal kan örnekleri alınabildi. Ancak 6 olgu eksitus olduğu ve 1 olguda ise sık kan transfüzyonu yapıldığından kemoterapi sonrası ePKA için örnekler alınamadı (üç olgu dışında).

Bu sonuçlara göre relaps ALL'li olguların tanı anındaki ePKA değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p: 0.0006$). Şekil-10'da relaps ALL'li olgularla kontrol grubunun ortalamalarının karşılaştırılması görülmektedir.



Relaps ALL'li olguların tanı anındaki ePKA ile yaş, cins, hematolojik parametreler ve LDH arasında bir ilişki bulunamadı.

• **Grup III**

III. grubu oluşturan 32 ALL'li olgunun 21'i (%65,6) erkek ve 11'i (%34,4) kız çocuğu idi. Olguların yaş, cins, tanı anındaki ePKA, hematolojik parametreleri, tanımlayıcı istatistikleri Tablo-8'de, klinik ve diğer laboratuvar bulguları ise Tablo-9'da görülmektedir.

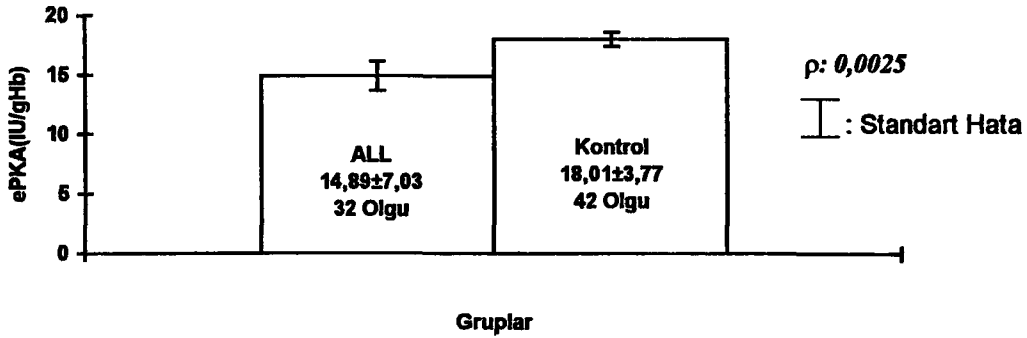
Tablo 50: ALL'li Olguların FAB ve İmmünojenetik Sınıflaması ile Tanı Anındaki ePKA, Hematolojik Parametreleri ve Tanımlayıcı İstatistikleri

İsim	Yaş (Yıl)	Cins	FAB*	İF ^a	ePKA (IU/gHb)	Hb (gr/dl)	Ret (%)	Bk (x10 ³ /mm ³)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (gr/dl)	Trom (x10 ³ /mm ³)	PB (%)	KB (%)
HB	4	E	L1		7,67	5,0	2,4	9,0	93,2	29,1	31,3	80,0	99	100
DB	3	K	L1		17,53	9,5	0,1	8,7	89,6	27,9	31,1	98,0	5	94
ACB	3	E	L1		24,5	8,5	0,4	8,0	96,0	30,5	31,7	45,0	48	60
ZÇ	3	K	L1	B	8,57	9,1	0,1	86,5	84,2	30,5	34,7	53,0	88	90
FÇ	6	E	L1		31,7	3,5	1,4	300,0	124,8	29,9	24	30,0	98	100
HÇ	10	K	L1		17,31	7,0	0,2	48,8	85,9	27,1	31,6	33,0	100	100
ÖE	2	K	L1		7,3	7,2	0,6	5,2	87,2	27,6	31,7	160,0	100	90
MG	4	K	L1	T	18,37	6,2	0,2	8,0	80,9	25,1	31,1	100,0	90	95
FK	6	E	L1		9,74	7,0	0,8	30,0	93,1	29,7	31,9	90,0	90	95
İK	10	E	L1	T	16,46	13,9	0,1	70,0	91,9	29,5	32	85,0	100	95
KK	6	E	L1	T	13,8	7,0	1,4	485,0	121,9	31,2	28,7	52,0	100	90
ÖK	10	E	L1		10,66	12,5	0,4	288,0	79,2	23,4	29,6	95,0	96	100
HÖ	2,5	K	L1		9,74	10	0,1	15,0	82,9	26,9	32,4	20,0	100	99
EÖ	3	E	L1	B	29,3	4,0	0,1	100,5	99,8	-	33,8	20,0	70	92
MCÖ	7	E	L1		9,85	5,6	0,4	32,4	93,7	29,9	31,9	12,0	28	94
MÖ	9	E	L1		30,87	3,7	1,6	400,0	143,4	35,3	24,7	40,0	100	89
MŞ	4	K	L1		9,39	9,2	0,6	4,8	85,5	27,4	32	50,0	40	95
MR	3	E	L1		24	8,2	0,8	42,0	90,7	28,5	31,4	55,0	40	75
ET	6	E	L1	B	12,86	3,1	0,6	5,9	94,8	36,8	37,3	49,0	20	96
SÜ	2,5	E	L1	T	15,34	2,2	0,6	116,3	100,6	26	26,5	7,0	96	95
FK	3,5	K	L1		17,47	4,3	0,8	2,1	95,9	29,1	30,3	32,0	65	90
ARK	4	E	L1		15,53	6,1	0,1	96,8	99,5	29	29,1	28,0	32	85
RA	5	E	L2	cALL	15,06	5,3	0,2	81,0	107,9	32,5	29,9	31,0	100	96
SD	13	K	L2	T	15,08	11	0,6	2,0	-	-	-	215,0	8	100
AG	2,5	E	L2		9,85	6,4	0,2	67,0	89,0	28,5	32,1	17,0	100	90
RÖ	5,5	E	L2		7,72	5,4	0,4	53,8	90,0	28	31,8	70,0	80	91
Hİ	10	K	L2	B	22,4	3,9	1,4	15,0	104,0	29,6	28,5	20,0	76	95
Mİ	1	E	L2		7,7	6,3	0,4	10,0	87,5	25,5	45,6	30,0	12	70
PT	5	K	L2		13,34	5,9	1,2	55,0	112,4	34,5	30,7	24,0	40	80
MA	9	E	L3	B	8,14	8,9	0,1	0,9	82,8	25,8	31,2	31,0	84	80
MD	6	E	L3	T	10,94	4,5	0,2	10,8	68,3	23,9	35,1	26,0	100	88
SY	13	E	L3		8,15	8,0	1,2	13,7	85,7	28,8	33,6	32,0	60	90
Ort.	5,6	-	-	-	14,8	6,8	0,8	77,2	94,9	28,9	31,5	54,1	-	-
SD	3,2	-	-	-	7,0	2,7	0,8	120,1	14,9	3,1	3,7	44,4	-	-
Dağ.	1-13	-	-	-	7,3-31,7	2,2-13,9	0,1-4,0	0,9-485,0	68,3-143,4	23,4-36,8	24-45,6	7-215	-	-
Med.	5,0	-	-	-	13,6	6,3	0,6	31,2	91,9	28,9	31,6	36,5	-	-

Tablo 51: ALL'lı Olguların Laboratuvar ve Klinik Bulguları

İsim	ALP (U/L)	CPK (U/L)	LDH (U/L)	Ca/P (mg/dl)	BUN/Cr/Ürik A (mg/dl)	Na/K (mEq/L)	AST/ALT (Ü)	Tot.pro/Alb (gr/dl)	LAP	HpM (cm)	SpM (cm)	Peteşi/ Purpura
HB	411	25	280	7,8-4,5	33/1,3/7,3	138/3,7	33/29	8,1-3,7	-	3	2	-
DB	570	56	1540	8,6/4,9	36/0,7/4,9	133/3,9	46/16	4,4/2,8	-	-	-	-
ACB	277	56	254	9,2/4,1	17/0,7/6,4	146/4,5	25/29	6,2/4,2	+	4	-	-
ZÇ	-	68	154	-	17/0,9/7,2	148/4,2	73/19	-	-	6	11	-
FÇ	270	60	4520	9,3/6,2	16/0,9/6,5	142/4,5	37/25	8,3/4,0	-	7	5	+
HÇ	963	52	574	9,3/4,0	9/0,6/7,7	145/4,1	87/49	7,8/4,2	+	-	0,5	-
ÖE	147	32	702	10,2/3,1	7/0,8/4,0	150/4,5	61/59	5,6/3,2	+	5	-	-
MG	525	35	612	9,2/2,9	11/0,8/10,6	148/4,9	27/14	7,8/3,5	+	9	3	-
FK	177	60	5558	8,9/3,6	16/0,7/8,6	146/4,1	41/23	6,9/2,9	+	10	10	-
İK	285	130	3310	10,6/4,7	8/1,0/11,2	151/4,0	36/50	7,2/3,8	+	-	3	-
KK	274	45	265	9,6/3,0	16/0,9/8,2	123/4,6	36/49	-	+	3	-	-
ÖK	796	106	531	10,3/3,2	20/1,1/7,0	145/5,7	66/52	7,5/3,6	+	3	5	-
HÖ	287	66	3840	7,6/6,3	18/0,8/12,3	142/4,6	19/14	6,6/3,5	+	1	3	+
EÖ	260	65	885	9,0/3,6	7/0,6/7,8	147/4,6	60/29	7,8/4,0	+	6	10	+
MCÖ	378	198	1074	9,9/5,4	9/0,8/5,1	134/5,2	58/30	6,4/3,2	+	6	5	+
MÖ	366	140	2245	10,2/4,2	12/0,9/11,3	141/5,5	94/35	5,9/3,6	+	10	15	-
MŞ	-	25	704	-	11/0,8/3,0	144/4,8	41/47	-	+	1	-	-
MR	552	45	9450	10,1/3,8	10/0,9/15,1	142/3,2	22/12	6,7/3,5	-	8	6	-
ET	171	31	260	11,7/4,9	15/0,1/5,2	145/4,0	30/32	9,9/4,3	-	5	5	+
SÜ	470	55	503	8,0/3,0	15/0,7/12,2	142/4,5	55/16	7,4/3,7	+	5	4	-
FK	144	-	624	8,2/4,4	13/0,6/5,6	141/3,5	29/17	-	+	5	7	-
ARK	284	35	443	8,6-/6,3	13/0,7/4,7	141/5,2	57/48	6,3/3,8	+	4	6	+
RA	277	64	437	9,6/3,0	55/0,8/12,5	135/4,2	163/41	6,4/3,4	+	3	4	-
SD	224	30	548	9,2/4,2	10/0,8/3,0	153/3,0	23/27	7,2/3,5	+	-	-	-
AG	218	411	821	10,5/6,7	13/0,9/4,3	153/5,5	50/29	6,7/3,8	+	5	2	-
RÖ	311	101	1104	10,2/4,9	10/1,0/7,0	147/4,6	37/74	7,2/3,7	+	4	6	-
Hİ	222	20	373	9,4/4,0	19/0,8/7,0	142/3,7	16/14	6,9/3,6	+	1	7	+
Mİ	171	49	244	9,5/3,3	8/0,8/14,8	140/4,0	45/24	-	-	5	1	-
PT	365	26	645	-	15/0,9/7,1	135/4,3	37/26	-	+	3	6	+
MA	155	35	455	9,7/5,2	16/0,8/8,7	143/4,2	40/22	6,1/3,0	+	8	5	-
MD	-	60	1389	-	8/0,7/4,8	144/6,3	83/87	-	+	3	-	-
SY	175	75	650	8,4-5,6	17/0,7/3,4	144/3,0	62/31	6,5/4,2	+	3	-	-

Bu sonuçlara göre ALL'li olguların tanı anındaki ePKA değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p: 0,0025$). Şekil-11'de ALL'li olgularla kontrol grubunun ePKA ortalama değerlerinin karşılaştırılması görülmektedir.

Şekil 11: ALL ve Kontrol Grubunun ePKA Ortalamalarının Karşılaştırılması

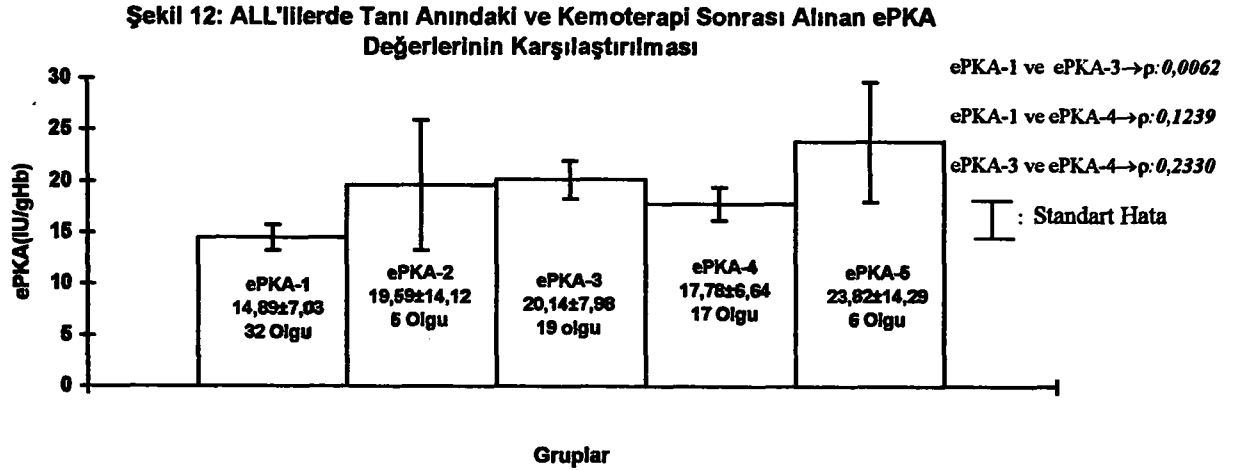
Tanı anındaki ePKA ile yaş, cins, retikülosit, hemoglobin, trombosit, periferik yaymadaki ve kemik iliğindeki blast yüzdesi ve laktik dehidrogenaz arasında herhangi bir ilişki yoktu, buna karşın beyaz küre sayısı ve MCV ile pozitif yönde (sırasıyla $\rho:0,030$ ve $\rho<0,0001$), MCHC ile negatif yönde ($\rho:0,005$) bir ilişki vardı (Tablo-52).

	Beyaz Küre	MCV	MCHC	ePKA
r Değeri	0,383	0,612	-0,489	
ρ Değeri	0,030	<0,0001	0,005	

r: Korelasyon Katsayısı
 ρ : Anlamlılık Derecesi

ALL'li olguların tümünden orjinal kan örnekleri alındı. Ancak kemoterapi sonrası alınan ikinci örnek sadece beş olgudan, üçüncü örnek 19 olgudan, dördüncü örnek 17 olgudan ve beşinci örnek altı olgudan alınabildi. ALL'li hastaların büyük çoğunluğunun tanıdan sonra kan transfüzyonu almış olmaları ikinci örnek sayısının düşük olmasına neden oldu.

ALL'li olgularda tanı anındaki ePKA ortalaması $14,89\pm7,03$ IU/gHb, ikinci örnekte $19,59\pm14,12$ IU/gHb, üçüncü örnekte $20,14\pm7,98$ IU/gHb, dördüncü örnekte $17,78\pm6,64$ IU/gHb ve beşinci örnekte ise $23,82\pm14,29$ IU/gHb idi. Şekil-12 ve 13 'de ALL'li olguların tanı anındaki ve kemoterapiden sonraki ePKA değerlerinin karşılaştırılması görülmektedir.



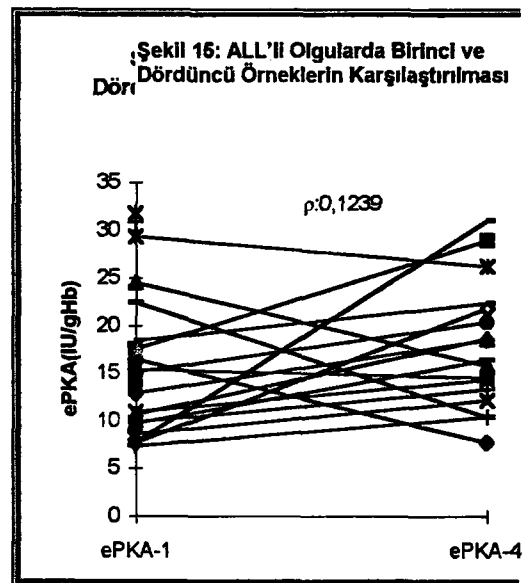
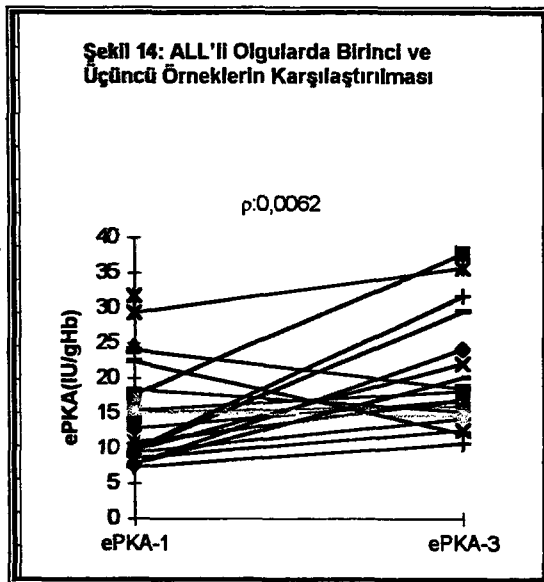
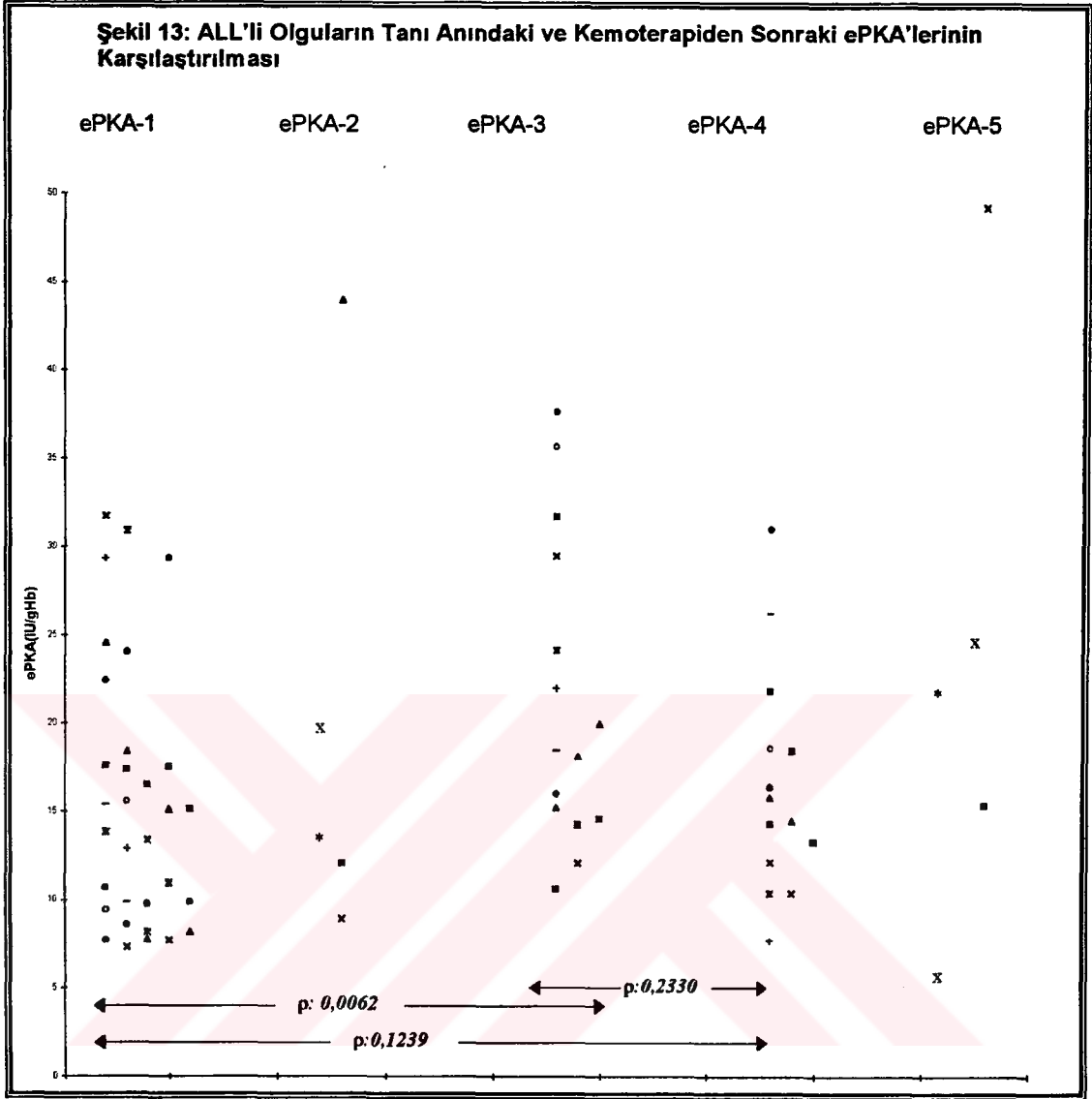
Tablo-53'de ALL'li olgularda tanı anında ve yaklaşık 1,5 ay ara ile alınan kemoterapi sonrası ePKA değerleri ve tanımlayıcı istatistikleri görülmektedir.

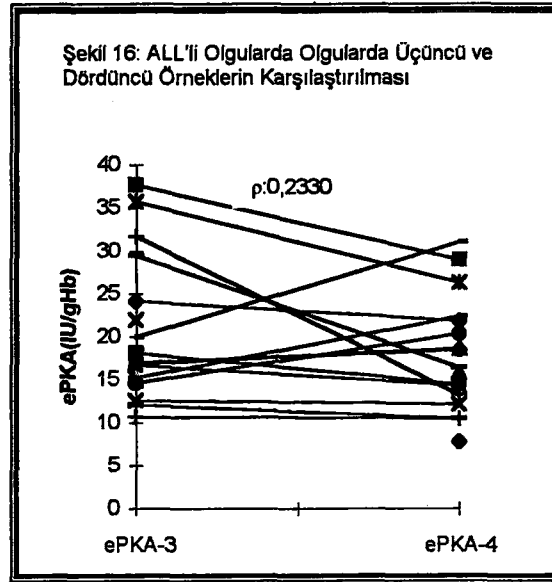
İsim	ePKA-1 (IU/gHb)	ePKA-2 (IU/gHb)	ePKA-3 (IU/gHb)	ePKA-4 (IU/gHb)	ePKA-5 (IU/gHb)
HB	7,67	-	24,12	21,80	6,43
DB	17,53	19,29	37,62	28,90	-
ACB	24,50	-	-	15,78	-
ZÇ	8,57	-	12,58	12,13	-
FÇ	31,70	-	-	-	-
HÇ	17,31	-	-	-	-
ÖE	7,30	-	10,60	10,38	15,33
MG	18,37	-	15,20	22,30	-
FK	9,74	-	29,47	16,36	24,80
İK	16,46	12,04	-	7,70	-
KK	13,80	-	-	-	-
ÖK	10,66	13,80	16,95	18,60	-
HÖ	9,74	43,94	21,96	-	-
EÖ	29,30	-	35,66	26,21	24,66
MCÖ	9,85	-	-	-	-
MÖ	30,87	-	-	-	-
MŞ	9,39	-	14,22	-	-
MR	24,00	-	18,44	-	-
ET	12,86	-	16,81	18,44	-
SÜ	15,34	-	18,10	14,46	22,50
FK	17,47	-	-	-	-
ARK	15,53	-	-	-	-
RA	15,06	-	16,01	-	-
ŞD	15,08	8,90	14,56	20,30	-
AG	9,85	-	31,65	13,26	-
RÖ	7,72	-	19,96	31,00	-
Hİ	22,40	-	12,06	10,38	49,20
Mİ	7,70	-	-	-	-
PT	13,34	-	-	-	-
MA	8,14	-	-	-	-
MD	10,94	-	16,69	14,29	-
SY	8,15	-	-	-	-
Ort	14,89	19,59	20,14	17,78	23,82
SD	7,03	14,12	7,98	6,64	14,29
Dağ.	7,30-31,70	8,90-43,94	10,60-37,62	7,70-31,00	6,43-49,2
Med.	13,57	13,80	16,95	16,36	23,58

Bu sonuçlara göre olgu sayısı yetersiz olduğu için ikinci ve beşinci örnekler diğerleriyle istatistiksel olarak karşılaştırılmadı. Karşılaştırma yapılabilen birinci örnekle üçüncü örnek arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artma saptandı ($p: 0,0062$) (Şekil-14). Birinci örnekle dördüncü örnek arasında ise 17 olgudan 12'sinde artma, sadece beşinde azalma mevcut olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p: 0,1239$) (Şekil-15). Üçüncü örnekle dördüncü örnek arasında da 15 olgudan onunda azalma, beşinde artma mevcut olmasına rağmen yine anlamlı bir değişiklik yoktu ($p: 0,2330$) (Şekil-16). Tablo-54'de aynı olgulardan belirli aralıklarla alınan ePKA değerlerinin kaçının arttığı veya azaldığı, birbirleriyle karşılaştırıldığında elde edilen “p değerleri” toplu olarak görülmektedir. Şekil-13'de ALL'li olgularda ePKA profili görülmektedir.

Tablo 54: ALL'li Olgularda Kemoterapi Öncesi ve Sonrası Alınan ePKA Değerlerinin Karşılaştırılması					
	ePKA-1	ePKA-2	ePKA-3	ePKA-4	ePKA-5
ePKA-1	Ø	2 olgu -, 3 olgu +	4 olgu -, 15 olgu + $p:0,0062$	5 olgu -, 12 olgu + $p: 0,1239$	2 olgu -, 4 olgu +
ePKA-2	2 olgu -*, 3 olgu +*	Ø	1 olgu -, 3 olgu +	1 olgu -, 3 olgu +	Ø
ePKA-3	4 olgu -, 15 olgu + $p:0,0062$	1 olgu -, 3 olgu +	Ø	10 olgu -, 5 olgu + $p: 0,2330$	3 olgu -, 3 olgu +
ePKA-4	5 olgu -, 12 olgu + $p: 0,1239$	1 olgu -, 3 olgu +	10 olgu -, 5 olgu + $p: 0,2330$	Ø	2 olgu -, 4 olgu +
ePKA-5	2 olgu -, 4 olgu +	Ø	3 olgu -, 3 olgu +	2 olgu -, 4 olgu +	Ø

*: (-) işareti ile gösterilenler iki örnek arasında bir azalma, (+) işareti ise artma olduğunu göstermektedir





• **Grup IV**

IV. grubu oluşturan 15 lenfomalı olgunun 13'ü (%86,6) erkek ve ikisi (%13,4) kız çocuğu idi. Olguların yaş, cins, tanı, tanı anındaki ePKA, hematolojik parametreleri ve tanımlayıcı istatistikleri Tablo-55'de, klinik ve diğer laboratuvar bulguları ise Tablo-56'da görülmektedir.

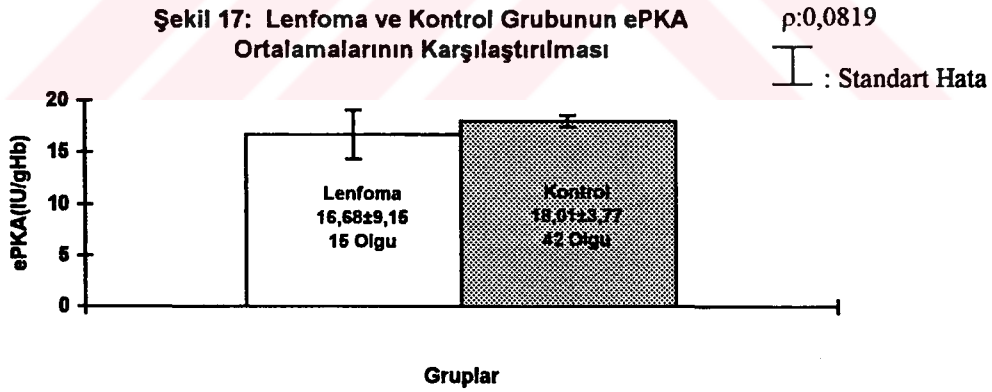
Tablo 55: Lenfomalı Olguların Tanı, Evre, Tanı Anındaki ePKA, Hematolojik Parametreleri ve Tanımlayıcı İstatistikleri

İsim	Yaş (Yıl)	Cins	Tanı-Evre	ePKA (IU/gHb)	Hb (gr/dl)	Ret (%)	Bk ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (gr/dl)	Trom ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	KB (%)
SA	6	E	Bur.Len-3	43,29	10,7	-	8,5	-	21,2	-	342	0
SA	4	E	NHL-3	8,7	10,8	-	8,0	94	29,2	31	180	0
İÇ	6	K	NHL-4	10,6	11,5	0,2	10,9	71,4	22,4	31,4	137	0
SE	4	E	Bur.Len-4	22,8	10,7	0,1	8,2	76	24,7	32,5	85	0
AK	5,5	E	Bur.Len-3	22,29	8,9	0,6	5,8	67	22	30,5	1.000	0
NÖ	5	E	Bur.Len-4	13,93	11,7	-	9,9	84,2	27,1	32,2	44	10
MS	4	E	NHL-3	11,2	8,7	0,1	12,6	72,3	22,1	30,6	345	0
İÜ	4	E	Bur.Len-4	7,01	11	0,1	8,4	84,9	24,3	28,6	200	0
CY	5	E	NHL-3	13,98	8,1	-	7,4	69,5	21,4	30,8	340	0
SB	10	E	HH-3	21,44	11,3	-	8,9	66,9	21,5	32,2	551	0
CÇ	12	E	HH-3	11,16	7,0	1,2	11,4	69,3	19,6	28,3	555	0
Sİ	13	E	HH-3	9,76	10	0,4	2,6	83,8	25,8	30,9	136	0
İOG	8	E	HH-3s	23,67	9,4	0,1	8,8	59,9	17,51	28,5	230	0
DK	10	K	HH-3	14,29	11,6	0,1	4,8	88,7	14,3	32,5	150	0
HY	8,5	E	HH-3s	16,2	10,8	0,1	4,6	70,4	22,5	32	190	0
Ort	7,0	-	-	16,7	10,2	0,3	8,05	75,6	22,4	30,8	299	-
SD	3,0	-	-	9,1	1,4	0,36	2,7	9,8	3,7	1,4	246,7	-
Dağ.	4-13	-	-	7-43,3	7-11,7	0,1-1,2	14,3-29,2	59,9-94	14,3-29,2	28,3-32,5	44-1000	-
Med.	6,0	-	-	13,98	10,7	0,1	22,1	71,4	22,1	22,1	200	-

Tablo 56: Lenfomalı Olguların Klinik ve Diğer Laboratuvar Bulguları

İsim	ALP (U/L)	CPK (U/L)	LDH (U/L)	Ca/P (mg/dl)	BUN/Cr/Ürik A (mg/dl)	Na/K (mEq/L)	AST/ALT (Ü)	Tot.pro/Alb (gr/dl)	LAP	HpM (cm)	SpM (cm)	Kitle
SA	-	-	1532	-	19/1,2/3,5	138/4,6	68/47	-	+	-	-	+
SA	140	89	520	7,7/3,7	10/1,4/8,4	141/4,8	43/20	6,3/2,8	+	-	-	+
İÇ	362	37	925	9,9/3,7	5/0,8/7,6	148/4,4	42/12	7,2/3,2	+	3	-	+
SE	191	263	878	9,3/5,8	33/1,1/11,1	147/5,2	11/20	7,6/3,8	+	5	-	+
AK	235	68	1144	8,8/4,8	8/0,6/4,7	138/3,5	39/15	7,0/3,0	+	-	-	+
NÖ	355	115	1315	10,0/4,2	8/0,8/12,0	136/3,9	41/15	6,3/3,5	+	-	-	+
MS	160	86	377	9,9/4,6	11/0,5/4,9	135/4,2	56/43	7,3/3,3	+	10	9	+
İÜ	1689	56	859	11,8/2,3	18/0,4/4,7	145/4,2	380/260	-	-	7	4	+
CY	-	56	226	-	8/0,9/6,5	147/5,0	28/10	5,7/2,7	+	-	-	+
SB	470	105	1240	-	7/0,8/3,5	147/4,5	37/25	-	+	-	-	-
CC	223	45	1275	8,5/4,0	10/0,8/1,2	143/4,4	31/13	6,7/2,6	+	3	2	+
Sİ	1251	403	3400	9,4/3,5	15/0,9/3,5	139/4,4	96/150	5,6/2,4	+	8	12	+
İOG	350	35	1275	-	18/0,6/4,1	136/4,5	29/31	-	+	3	2	-
DK	709	90	569	10,2/5,0	13/0,9/1,0	138/3,8	76/116	7,5/3,8	+	6	5	-
HY	588	42	1145	-	15/0,6/3,7	140/4,1	46/37	8,0/4,2	+	-	-	+

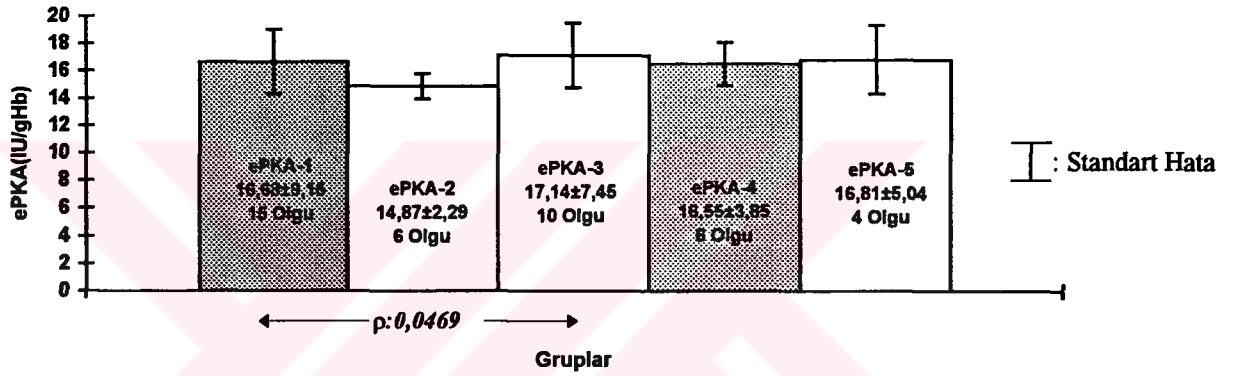
Bu sonuçlarla lenfomalı olguların tanı anındaki ePKA değerleri ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p: 0.0819$). Şekil-17'de lenfomalı olgularla kontrol grubunun ePKA ortalama değerlerinin karşılaştırılması görülmektedir.



Tanı anındaki ePKA ile yaş, cins, retikülosit, hemoglobin, MCH, MCHC, trombosit, laktik dehidrogenaz arasında pozitif veya negatif yönde anlamlı bir ilişki yoktu, buna karşın MCV ile negatif yönde bir ilişki vardı ($r: -0,6193$, $p: 0,018$).

Grup IV’de olguların tümünden orjinal kan örnekleri alındı. Ancak ikinci örnek altı, üçüncü örnek on, dördüncü örnek altı ve beşinci örnek 4 olgudan alınabildi. Alınan örneklerden tanı anındaki ePKA ortalaması $16,68 \pm 9,15$ IU/gHb, ikinci örnekte $14,87 \pm 2,29$ IU/gHb, üçüncü örnekte $17,14 \pm 7,45$ IU/gHb, dördüncü örnekte $16,55 \pm 3,85$ IU/gHb ve beşinci örnekte ise $16,81 \pm 5,04$ IU/gHb idi. Şekil-18’de lenfomalı olguların tanı anındaki ve kemoterapiden sonraki ePKA değerlerinin karşılaştırılması görülmektedir.

Şekil 18: Lenfomalı Olgularda Kemoterapi Öncesi ve Sonrası ePKA Değerlerinin Karşılaştırılması



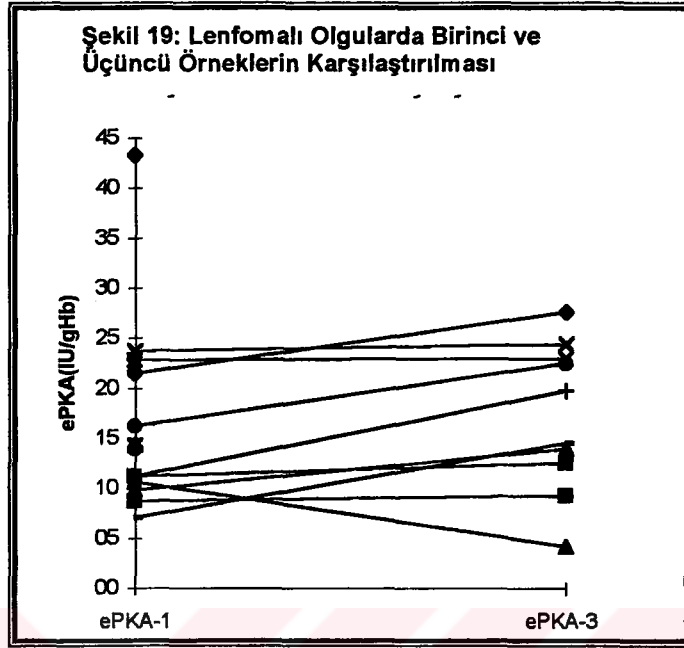
IV. grupta yeterli sayıda olgu bulunmadığı için ePKA değerlerinin karşılaştırılması sadece birinci ve üçüncü örnekler arasında yapılabildi (Şekil-19). Bu örnekler arasında Tablo-57’de görüldüğü gibi istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttu

Tablo 57: Lenfomalı Olgularda Kemoterapi Öncesi ve Sonrası Alınan ePKA Değerlerinin Karşılaştırılması*

	ePKA-1	ePKA-2	ePKA-3	ePKA-4	ePKA-5
ePKA-1	Ø	3 olgu -, 3 olgu +	1 olgu -, 9 olgu + $p:0,0469$	2 olgu -, 4 olgu +	2 olgu -, 2 olgu +
ePKA-2	3 olgu -, 3 olgu +	Ø	1 olgu -, 4 olgu +	0 olgu -, 3 olgu +	0 olgu -, 2 olgu +
ePKA-3	1 olgu -, 9 olgu + $p:0,0469$	1 olgu -, 4 olgu +	Ø	3 olgu -, 3 olgu +	3 olgu -, 1 olgu +
ePKA-4	2 olgu -, 4 olgu +	0 olgu -, 3 olgu +	3 olgu -, 3 olgu +	Ø	1 olgu -, 3 olgu +
ePKA-5	2 olgu -, 2 olgu +	0 olgu -, 2 olgu +	3 olgu -, 1 olgu +	1 olgu -, 3 olgu +	Ø

*:Tablo da (-) işareti ile gösterilenler iki örnek arasında bir azalma, (+) işareti ise artma olduğunu göstermektedir.

Şekil 19: Lenfomalı Olgularda Birinci ve Üçüncü Örneklerin Karşılaştırılması



TARTIŞMA

Olgun eritrositlerin çekirdek, mitokondri, ribozom ve diğer organellerden yoksun oluşu nedeniyle enerji gereksinimi sadece Embden-Meyerhof Yolu (EMY) ile sağlanır. Eritrositlerin tek enerji kaynağı adenzin trifosfat (ATP)'dir. Eritrositler glukozun yaklaşık %90'ını EMY ile anaerobik olarak metabolize eder ve ATP, 2,3 difosfogliserik asit (2,3 DPG), laktat, piruvat gibi ürünleri oluşturur⁸². Bu metabolik yolun üç anahtar enziminden biri olan piruvat kinaz (PK; ATP; Pyruvate 2-0-phosphotransferase EC 2.7.1.40)'ın memeli canlılarda dokulara özgü dört ayrı izoenzimi bulunmaktadır (M₁, M₂, L ve R)⁵³. M₂ tip PK fetal dokularda dominant izoenzim olduğu için prototip enzim olarak da kabul edilmektedir^{53,92,96}. Yapılan bir çok çalışmada konjenital ePK eksikliklerinin yanısıra bazı hastalıklara (örneğin; refrakter anemiler) sekonder kazanılmış ePK eksikliklerinin de olduğu rapor edilmiştir^{1,15,16,32,39,46,49,96,104,108,109,110,111}. Bazı çalışmalarda ise ePKA'nde artış saptanmıştır^{73,96}. Eritrositlerde ePKA defekti yapan primer nedenler arasında refrakter anemi gibi doğrudan eritrositer seri üzerinde etkili olan hastalıklar olduğu gibi; prelösemi, akut lösemiler ve kronik lösemiler gibi doğrudan eritrositer seriyi etkilemeyen hastalıklar da bulunmaktadır^{1,16,31,43,96,109,110,111}.

Kanser gelişiminin nasıl oluştuğunun ve kanserli dokularda ne gibi değişiklikler olduğunun anlaşılabilmesi için immünositogenetik çalışmaların yanısıra uzun süredir kanser hücrelerinin metabolizması üzerinde de yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Böylece neoplastik hastalıkların moleküler biyolojisi daha iyi anlaşılakta ve sitostatik tedavinin hedeflerini oluşturan anahtar enzimler saptanmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda malign hücrelerde enzimler; normal hücrelerden kalitatif ve kantitatif olarak farklı olduğu saptanmış ve bu sayede malign hücrelerin normal hücrelerden kolaylıkla ayrılabilceği öne sürülmüştür¹. Malign hücrelerdeki enzimatik dengesizliğin de neoplastik özelliğe ve malign transformasyona bağlı olduğu iddia edilmiştir¹. Bu metabolik değişiklikler doğal olarak malign hücrelere bir takım biyolojik avantajları da beraberinde getirmektedir¹. Hepatoma modellerinde yapılan bir çok çalışma sonucunda hızlı büyüyen ve kötü differansiye tümörlerde glikolizisin artıp hücre solunumun azaldığı gösterilmiştir. Aynı zamanda yapılmış çalışmalarda yavaş büyüme gösteren ve iyi differansiye hepatomalarda hücre metabolizmasında belirgin bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Ayrıca glikolizisin hızının artmasının yanısıra pentoz fosfat, pürin-

pirimidin, RNA ve DNA biyosentez artışını sağlayan biyosentetik prekürsör dönüşümünde de artış görüldüğü ve üre siklusu ile glukoneogenez hızında ise azalma olduğu gösterilmiştir^{115,116}. Malign değişimden doğrudan etkilenmeyen hücrelerde de biyokimyasal değişikliklerin olup olmadığı yoğun bir şekilde araştırılmış ve sonuçta bu hücrelerde bir çok biyokimyasal değişikliğin olduğu gösterilmiştir^{4,8,15,18,24,28,31-33,39,55,57,73,77,81,82,102,104,108-111}.

Lösemi ve Lenfomalarda Tanı Anında Saptanan ePKA

Voravarn ve arkadaşları¹¹¹ 34'ü tedavi edilmemiş ANLL, 13'ü ALL (yedisi tedavi öncesinde, üçü tedavi edilmekte olan remisyonda, üçü relapsta ALL), yedisi kronik myelositik lösemi (KML), 13'ü kronik lenfositik lösemi (KLL), yedisi lenfoma, altısı polisitemia vera'lı 80 olgu ve kontrol grubu olarak da hematolojik hastalık dışında hastalığı olan veya sağlıklı 58 olgu üzerinde yaptıkları bir çalışmada ANLL, ALL, lenfomalı ve polisitemia vera'lı olgularda kontrollere göre daha düşük, KML'li olgularda daha yüksek ePKA saptanmışken, KLL'li olgularda anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Aynı çalışmada ePKA'nın hastalığın seyri, şiddeti ve remisyon durumu ile ilişkisi de incelenmiştir. ANLL'li üç olguda, KLL ve lenfomalı iki olguda klinik izlem sırasında ardışık olarak örnek alınmış, ANLL'li bir olguda beşinci ay sonunda görülen artış dışında diğerlerinde değişiklik saptanmamıştır. Ayrıca ANLL'li hastalar hafif, orta ve şiddetli olarak üç ayrı gruba ayrılmış, ancak ePKA açısından aralarında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Bu sonuçlar Voravarn ve arkadaşlarının¹¹⁰ yaptıkları bir başka çalışmanın bulgularıyla da hemen hemen uyumlu idi. Bu çalışmada ePKA ANLL'de belirgin, ALL'de orta derecede düşme gösterirken kronik lösemilerde bir değişiklik saptanmamıştır.

Vives Corrons ve arkadaşları¹⁰⁹ 30'u ALL, 50'si ANLL (13'ü M₁ veya M₂, 10'u M₃, 12'si M₄, 15'i M₅), 38'i B-KLL ve sekizi lenfosarkomatöz hücreli lösemili 126 olgu üzerinde yaptıkları bir çalışmada sadece ANLL'nin tüm morfolojik formlarında benzer düzeyde olmak üzere ePKA'nde düşüklük saptanırken diğerlerinde ePKA normal olarak bulunmuştur. Fakat lenfosarkomatöz hücreli lösemili olgularda ePK'ın kinetik çalışmaları anormal bulunmuştur.

Boivin ve arkadaşları¹⁶ 25'i akut myeloblastik lösemi ve 20'si miyelodisplastik sendromlu (MDS), dokuzu akut myelomonositik lösemili, üçü akut eritrolösemili, dördü ALL, altısı KML, dördü KLL, ikisi myelomalı ve 97'si kemik iliği yetmezliği olan 200

olgu üzerinde kazanılmış eritroenzimopatileri araştırmışlardır. Bu alışmada ANLL’li ve MDS’li olgularda ePKA düşük ve hatta bazılarında eksiklik düzeyinde iken ALL ve KLL’li olgularda normal, akut myelomonositik lösemili olgularda ise artmış olarak saptanmıştır.

Labar ve arkadaşları⁵⁷ akut lösemili olgularda ePKA ve ePK’ın kinetiği ile ilgili yaptıkları çalışmada ALL’de enzim aktivitesi ve kinetik testleri normal olarak bulunmuşken; ANLL’li 17 hastada PK aktivitesinde bozulma, 15’inde azalmış enzim termostabilitesi ve 11 olguda ADP’ye karşı “değişmiş PK affinitesi” bulunmuştur.

Kahn ve arkadaşları³² altı ANLL’li olguda ePK, glukoz fosfat izomeraz ve fosfofruktokinaz aktivitelerini araştırmışlar ve altı ANLL olgusunda da ePKA’ini düşük saptamışlardır.

Boivin ve arkadaşları’nın¹⁵ yaptıkları çeşitli kan hastalıklarına sahip 202 olguyu içeren bir çalışmada ANLL’li olguların %39’unda orta derecede düşük ePKA saptanmıştır.

Renoux ve arkadaşlarının⁷⁷ kemoterapi ve radyoterapi sonucu gelişebilecek eritrositer anormallikleri saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada 33 nonhematolojik malignansili hastada kemoterapi öncesi ölçüm yapılan 12 olgunun (bunların altısı daha önce radyoterapi almış) sadece ikisinde ePKA’inde az miktarda düşüklük saptanmıştır.

Etiemble ve arkadaşlarının²⁸ kemoterapi ile tedavi edilmiş hastalarda eritrositer enzim anormalliklerini incelemek amacıyla yaptıkları kontrol grubu olarak kullandıkları yedisi HH, altısı NHL, yedisi nonhematolojik malignansili olguda tedavi öncesi alınan ePKA örneklerinde bir değişiklik saptanmamıştır.

Gekova ve arkadaşları³², Waller ve arkadaşları¹¹⁴, Labar ve arkadaşları⁵⁶, Arnold ve arkadaşlarının⁵² yaptıkları çalışmalarda da akut lösemilerde ePKA’sini azalmış olarak saptamışlardır.

Bizim alışmamızda ise; önceki çalışmaların sonuçlarına uygun olarak ANLL’li olgularda ePKA kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p:0,0027$). Ayrıca Kayrın ve Yüreğir’in⁵¹ Çukurova bölgesinde sağlıklı kişilerde ePKA’nin referans değerlerini saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada ortalama $13,08\pm4,79$ IU/gHb olarak bulunmuştur. Bu değerlerle sonuçlarımız kıyaslandığında dört olguda düşük olduğu ve iki olguda ise çok yüksek enzim aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Yüksek ePKA olan olguların AML-M₁ alt grubundan olması da dikkat çekici idi. Bu olgulardaki yüksek ePKA saptanmasının

nedeninin her iki olguda da MCV değerleri çok yüksek olduğu için mevcut anemiye kompanse etmek amacıyla kemik iliğinin aşırı çalışması sonucu “yüksek ePKA’ne sahip genç eritrositlerin” periferik kanda sayıca çoğalmalarına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak iki AML-M₄ olgusunda MCV’nin artmış olmasına rağmen ePKA’nin yüksek olmaması bu görüşü tartışmalı hale getirmektedir.

Relaps ALL’li olgularda da ePKA kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p:0,0006$). Bu sonuç Voravarn ve arkadaşlarının yetersiz sayıda olgu (sadece üç relaps ALL olgusu) içeren çalışmasıyla da uyumludur. Relaps ALL’li olguların ikisinde ePKA normalin altında saptanırken hiçbirinde normalin üstünde ePKA’ne rastlanmamıştır.

ALL’li olguların ePKA de yine sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p:0,0025$). Olguların 12’inde ePKA düşük veya normalin en alt sınırında iken altı olguda normalin üstünde olduğu saptanmıştır. Yüksek ePKA’ne sahip olgularda ANLL’de olduğu gibi MCV değerlerinin yüksek oluşu ANLL’de açıklandığı şekilde periferik kanda genç eritrositlerin artmasına bağlanmıştır. ALL’li olgularda saptanan bulgular Voravarn ve arkadaşlarının iki ayrı çalışmasıyla^{110,111} ve Labar ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumludur. Ancak Vives Corrons ve arkadaşları¹⁰⁹, Boivin ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumlu değildir. Boivin ve arkadaşlarının çalışması sadece dört ALL’li olgudan ibaret olması nedeniyle istatistiksel bir değer taşımamaktadır. Bu nedenle bizim çalışmamızla karşılaştırılması doğru olmayacaktır. Buna karşın 30 ALL’li olgu içeren Vives Corrons ve arkadaşlarının¹⁰⁹ çalışmasında ise ALL’lilerde ePKA kontrol grubuna göre farklı bulunmamıştır. Ancak bu çalışmada kontrol grubu olarak sağlıklı olguların mı yoksa Voravarn ve arkadaşları¹¹¹ ile Etienne ve arkadaşlarının²⁸ çalışmasında olduğu gibi sağlıklı olmayan olguların da kullanılıp kullanılmadığı belirtilmediği gibi kontrol grubunu oluşturan olguların hematolojik parametrelerinin hangi değerlerde olduğu da yayında verilmemiş olması ALL ve kontrol grubunun karşılaştırılması işlemini sağlıklı olarak değerlendirmemizi engellemiştir.

Lösemilerde ePKA’nin neden düştüğünü anlatan bir çok varsayım ileri sürülmüştür. Bunlar ; 1- Eritropoiezinin fetal formuna parsiyel reversiyonu: İlk kez Rochant ve arkadaşlarının⁷⁹ ileri sürdükleri bu varsayıma gerekçe olarak ePKA eksikliği olan olgularda M₂ tipi PK düzeyinde artış olması^{92,96}, HbF’nin artması⁵⁴ ve i-antijeninin varlığının saptanması gösterilmiştir^{7,47,54,77,99}. Ancak fetal eritrositlerde PKA yüksek

olduğu için bu varsayımının doğruluğu tartışmalıdır. 2- Eritrositlerin erken yaşlanması⁷⁷ Bazı eritrositer enzim aktivitelerinde artış bazılarında azalış olmasını açıklayamayacağı gibi, enzim anormalliklerinin hem hemoglobinin hem de retikülosit yüzdesi ile ilişkili olmamasını da izah edemez. 3- Stem hücre hasarı^{28,109} 4- Bir enzimin bir aktivatör kofaktörünün yokluğu^{16,39} veya bir enzim inhibitörünün malign hücreler tarafından salınabileceği varsayımı³⁹: Bu konuda Arnold ve arkadaşları^{6,7,39} ile Kahn ve arkadaşlarının^{47,49} yaptıkları çalışmalarda hasta serumları dializ edilmiş ve dializ sonucunda enzim aktivitesinde artış olduğu görülmüştür. Ancak bu varsayım da eritrositlerde bazı enzim aktivitelerinin artmasını açıklayamaz. 5- Gen ekspresyonunda bir çok kalitatif ve kantitatif bozuklukların meydana gelmesi^{6,16,28,39,54} 6- Enzim moleküllerinin sentez sürecinde herhangi bir dönemde değişime uğraması^{6,16,28,47,54,96} Bu konuda araştırma yapanların büyük çoğunluğunun benimsediği bu görüş; enzim proteininin üretimi sürecinde malign hücreler tarafından salınan maddelerle replikasyon, transkripsiyon, translasyon veya sentez sonrası dönemde değişikliğe uğratılması esasına dayanır. Bu varsayımların bir çoğu eritrositlerde meydana gelen enzimopatilerin bir kısmını açıklayabilir, ancak tümünü birden açıklayabilen en olası varsayım enzim molekülünün sentezi sürecinde meydana gelen modifikasyon olduğunu ileri süren altıncı varsayımdır.

Lenfomalı olgularımızda ise diğer gruplardaki sonuçlardan farklı olarak kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu sonuç; Etienne ve arkadaşlarının²⁸, Renoux ve arkadaşlarının⁷⁷ çalışmalarıyla uyumlu iken Voravarn ve arkadaşlarının¹¹¹ çalışması ile uyumlu değildir. Ancak Voravarn ve arkadaşlarının¹¹¹ çalışmasında sadece yedi lenfoma olgusunun bulunması bu sonucun tesadüfi olabileceğini düşündürmektedir. Zaten genel olarak literatürde lenfomalı olgularda ePKA'nin değişmediği ileri sürülmektedir.

Lösemi ve Lenfomalarda Tanı Anında Saptanan ePKA ile Diğer Laboratuvar Bulgularının İlişkileri

Etienne ve arkadaşlarının²⁸ kemoterapi ile tedavi edilmiş hastalarda eritrositer enzim anormalliklerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada ePKA ile hemoglobin ve retikülosit sayısı arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Ancak makrositozu (MCV > 95) olan 27 hastanın 13'ünde enzim eksikliği ve MCV'si normal olan 33 hastanın yedisinde enzim eksikliği olmasını dikkat çekici bulmuşlardır.

Renoux ve arkadaşlarının⁷⁷ kemoterapi ve radyoterapinin indüklediği eritrositer anormallikleri saptamak amacıyla 33 nonhematolojik malignansili hastada yaptıkları çalışmada eritrositlerdeki biyokimyasal anormalliklerin derecesi ile mono veya polikemoterapi, hemoglobin, retikülosit, lökosit ve trombosit sayısı arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Boivin ve arkadaşlarının¹⁶ hematolojik malignansili ve kemik iliği yetmezliği olan 200 olgu üzerinde yaptıkları çalışmada saptanan eritrositer enzim eksiklikleri ile hemoglobin, retikülosit sayısı ve MCV ile herhangi bir ilişki bulunmamıştır.

Üniversitemizde yapılan bir çalışmada şimdiki çalışmaya benzer şekilde solid tümörlü olgularda ePKA ve tedavinin ePKA üzerine etkisi incelenmiş ve bu olgularda ePKA'nin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde değişmediği, ancak tedavi sonrası ePKA'nin artma gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca hematolojik parametrelerle ePKA arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır¹¹⁸.

Bizim çalışmamızda ise; ANLL'li olgularda ePKA ile MCV ve LDH arasında pozitif yönde bir ilişki mevcutken yaş, cins, hemoglobin, retikülosit sayısı, beyaz küre sayısı (beyaz küre sayısı ile ePKA arasında $r: 0,598$ ve $p:0,052$ gibi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da anlamlılığa yakın bir ilişki vardı), MCH, MCHC, trombosit sayısı, periferik kandaki blast yüzdesi ve kemik iliğindeki blast yüzdesi arasında herhangi bir ilişki mevcut değildi.

Relaps ALL'li olgularda ePKA ile yaş, cins ve hematolojik parametreler arasında bir ilişki bulunmadı.

ALL'li olgularda ePKA'nin beyaz küre sayısı ve MCV ile pozitif yönde bir ilişkisi varken MCHC ile negatif yönde bir ilişkisi vardı. Buna karşın yaş, cins, hemoglobin, retikülosit sayısı, MCH, trombosit sayısı, periferik kandaki blast yüzdesi, kemik iliğindeki blast yüzdesi ve LDH arasında herhangi bir yönde ilişki yoktu.

Lenfomalı olgularda ise ePKA ile MCV arasında ANLL ve ALL'li olgulardakinden farklı olarak negatif yönde bir ilişki bulundu, diğer laboratuvar bulguları arasında ise herhangi bir yönde ilişki yoktu. Bu çalışma nedeniyle inceleyebildiğimiz ve üzerinde tartışma yapabildiğimiz çalışmalarda ANLL, ALL ve lenfoma ayrı ayrı gruplar halinde değerlendirip "korelasyon testleri" yapılmamış olması bizim çalışmamızla sağlıklı bir karşılaştırma yapılmasını ve tartışılmasını engellemektedir. Bu çalışmada ANLL ve ALL'li gruplarda saptadığımız ePKA ile MCV arasındaki pozitif yöndeki ilişki; lösemilerde ortaya çıkan anemiyi kompanse

etmek amacıyla kemik iliğinin aşırı çalışmasına bağlı olarak periferik yeni salıverilen çok sayıdaki genç eritrositlerin enzim aktivitelerinin yüksek olduğu bilgisi ile uyumludur. Ancak lenfomalarda genellikle anemi oluşmadığı için bu düşünce geçerli olamaz zaten MCV ile ePKA arasında lösemilerin aksine negatif yönde bir ilişki bulundu. Lenfomalı hastalardaki bu negatif ilişkinin bizim çalışmamızda araştırmadığımız başka parametrelerin de etki etmesi nedeniyle ortaya çıktığını düşünmek daha uygun olacaktır. ANLL'de saptanan ePKA ile LDH arasındaki ilişkiye LDH'nın birçok çalışmada ANLL için prognostik bir öneme sahip olduğunun gösterilmiş olması nedeniyle bakıldı. Ancak bu çalışmanın süresinin ve olgu sayısının yetersizliği nedeniyle bu pozitif yöndeki ilişkinin değerlendirilmesi doğru olmayacaktır.

Akut lösemi ve Lenfomalarda Tedavinin ePKA Üzerine Etkisi

Bakteri ve protozoon enfeksiyonlarında kemoterapinin başarılı sonuçlar vermesi, memeli hücrelerinin kontrolsüz, aşırı ve istilacı bir şekilde patolojik proliferasyonuna bağlı olan neoplazmların da kimyasal ajanlar tarafından tedavi edilebileceği olasılığını düşündürmüştür. Gerek antimikrobik ve gerekse antineoplastik tedavinin ana ilkesi, hastanın veya konakçının normal hücrelerine zarar vermeksizin mikrop veya tümör hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya onları yok etmektir. Bakteri hücrelerinin yapısı ve kimyasal özellikleri yönünden, normal memeli hücrelerinden çok farklı olması nedeniyle, hastalık etkeni olan bakterilerin vücutta ilaçlar tarafından selektif olarak inhibisyonu veya yok edilmesi nispeten kolay olmaktadır. Oysa ki antineoplastik ilaçların kanser hücrelerine karşı olan selektiflikleri, antibiyotiklerin bakteriye karşı olan selektifliklerinden çok daha azdır. Bu nedenle antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik bir şekilde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı bir biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de (örneğin kemik iliğinin hematopoetik hücreleri, testisin germinatif epiteli, barsak ve ağız mukoza hücreleri, fetüs hücreleri ve kıl follikülü hücreleri gibi...) yok edebilirler⁵⁰. Zaten uzun süredir yapılan çalışmalar sonucunda gerek kemoterapi gerekse radyoterapinin çeşitli kanser hastalıklarında eritrositlerde bir çok biyokimyasal anormalliklere (bazı enzim aktivitelerinde artma veya azalma, bazı enzim aktivitelerinde ise kantitatif değişiklikler) neden olduğu gösterilmiştir^{29,28,77,23,75,55}. Bu durumun nedenleri konusunda bir çok varsayım ileri sürülmüş olmasına rağmen halen tam kabul görmüş bir görüş yoktur.

Etiemble ve arkadaşları²⁸ kemoterapi ile tedavi edilmiş 23 HH, 19 NHL, dokuz akciğer kanseri, üç Ewing sarkomu, üç sindirim sistemi karsinomu, iki over kanseri, bir

uterus kanserine sahip hastalarda kemoterapi sonucu ortaya çıkan eritrositer enzimopatileri araştırmışlardır. Kontrol çalışması olarak da iki ayrı grup (bunlardan birincisi 30 gönüllü kan donöründen oluşan grup diğeri ise yeni tanı konmuş yedisi HH'ı, altısı NHL, yedisi nonhematolojik malignansili hastadan oluşan grup) kullanmışlardır. 26 olgu üç ay-bir yıl, 31 olgu bir-beş yıl, üç olgu ise yedi-onbir yıl tedavi gördükten sonra örnek alınmış ve 20 olguda enzim eksikliği saptanmıştır. Bunların 12'inde G₆PD, yedisinde PK, altısında fosfofrüktokinaz ve üçünde adenilat kinaz eksikliği saptanmıştır. Ancak bu çalışmada olguların ilk tanı anındaki enzim örneklerinin alınmamış olması ve enzim eksikliği saptanmamış olgularda eritrositer enzimlerde "normal, normalin altı veya normalin üstünde olup olmadığının" belirtilmemesi nedeniyle eritrositer enzim eksikliklerinin görülmediği 40 olguda eritrositer enzimlerin hangi yönde değiştiği ya da değişmediğini öğrenemiyoruz.

Etiemble ve arkadaşlarının²⁹ yaptıkları bir başka çalışmada ise altı olguda (bu çalışmada olguların tanıları, yaşları, cinsleri gibi konularda bilgi verilmemiştir) kemoterapi ile indüklenen PK ve fosfofrüktokinaz eksiklikleri immünolojik yönden incelenmiştir. Bunlardan enzim aktivitesi için kan örnekleri bir önceki kür sonlandıktan en az üç hafta sonra ve yeni bir küre başlamadan önce alınmıştır. Sonuçta olguların hepsinde PK eksikliği ile bunların üçünde fosfofrüktokinaz eksikliği saptanmıştır. ePKA normal değerlerin %60-69'u arasında ve ePK'ın kinetiği, termostabilitesi ve elektroforetik mobilitesi bozulmuş olarak bulunmuştur. Bu çalışmada enzim aktiviteleri kontrol grubunun ortalama değerinin yüzde değişimi olarak verilmiş olmasına rağmen 15 kişiden oluşan kontrol grubu ile ilgili hiç bir bilgi olmaması, olguların tanı ve diğer bilgilerinin bulunmaması ve örneklerin tanı konduktan ne kadar süre sonra alındığı gibi konularda bilgi verilmemiş olması sonuçları tam anlamıyla değerlendirmemizi güçleştirmektedir.

Renoux ve arkadaşları⁷⁷ 31 myelomatozisli ve 33 nonhematolojik malignansili hastada kemoterapi ve radyoterapinin eritrosit üzerindeki etkilerini incelemişler. 50 kişilik kan donörlerinden bir grubu da kontrol grubu olarak incelemişlerdir. Sağlıklı kabul ettikleri kontrol grubundaki en düşük seviyenin altındaki değerleri enzim aktivite eksikliği olarak kabul etmişlerdir. Solid tümörleri olan 33 hastanın altısında ilk tedaviden önce, altısında sadece radyoterapi aldıktan sonra, 30 hastada da üç veya daha fazla kemoterapi küründen sonra ilk kan örnekleri alınmıştır. 33 hastanın 14'ü ise önceden radyoterapi de almıştır. Bu hastalardan 23'ünde ikinci çalışma birincisinden üç

ay sonra alınmıştır. Sonuçta myelomatozisli olguların %58'inde, solid tümörlü olguların %50'inde eritrositer enzim eksikliği bulmuşlardır. Solid tümörlü olgularda 15 olguda tedavi öncesi ortalama ePKA değeri 23,06 IU/gHb, sadece radyoterapi almış altı olguda 20,50 IU/gHb, kemoterapi uygulanmış 24 olguda 21,79 IU/gHb, hem radyoterapi hem de kemoterapi uygulanmış 22 olguda 18,60 IU/gHb olarak bulmuşlardır. Bunların 16'ında ePKA azalmış olarak bulunmuş ve bunların altısı en az üç kür kemoterapi almıştı.

Tanaka ve Paglia⁹³ ise 23 kronik lösemili olgudan sadece birinde düşük ePKA saptamış ve kemoterapi sonrası ePKA normal değerine yükselmiştir.

Bizim çalışmamızda ise;ANLL'de ve relaps ALL'de eksitus ve kan transfüzyonu gerektiren olgular nedeniyle tedaviden sonra yorum yapmaya yetecek sayıda örnek alınamamıştır.

Lenfomalı olgularda tedavi öncesi yani ilk tanı anında alınan ve tedavi sonrası yaklaşık birbuçuk ay ara ile alınan örneklerde ePKA değerleri incelendiğinde (Şekil-18) ikinci örnek dışında ePKA değerleri birbirine çok yakın ve sanki ePKA'sinde bir değişiklik olmamış gibi görünmektedir. Tablo-14 incelendiğinde ise ePKA ortalamalarında büyük bir farklılık olmamasına rağmen birinci örnekle üçüncü örnek arasında olgulardan sadece birinde azalma olup diğer dokuzunda artma olması önemli bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır.

ALL'li olgularda ise tedavi öncesi yani ilk tanı anında alınan ve tedavi sonrası yaklaşık birbuçuk ay ara ile alınan örneklerde ePKA değerleri incelendiğinde (Şekil-12) birinci örnekten üçüncü örneğe geçerken ePKA'nde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüş, ancak diğer örnekler arasında anlamlı bir artış görülmemiştir. Bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu değildir. Ancak inceleyebildiğimiz ve tartıştığımız daha önceki çalışmalarda hem araştırılan olgular hem de kontrol grupları açısından bizim çalışmamızdan büyük farklılıklar göstermektedir. Önceki çalışmalarda tedavi sonrası alınan örneklerle karşılaştırma yapmak için seçilen kontrol gruplarındaki kişiler birbirlerinden bağımsız, farklı hastalardır. Bunların bir kısmı ilk tanı anında, tedavi yapılmadan hemen önce, bir kısmı radyoterapiden sonra, bir kısmı bir kaç kür kemoterapiden sonra çalışılmış ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Oysa ki bir tedavinin herhangi bir parametreye etkisini incelemek için yapılacak araştırmalarda sağlıklı bir sonuç alabilmek, aynı olguyu kendi kendine kontrol grubu olarak seçmekle mümkündür. Bu tarzda yapılmayan araştırmalarda olgular arasındaki kişisel

farklılıkların sonucu etkilemeyeceği düşünülemez. Araştırdığımız kadarıyla bu çalışma neoplastik tedavinin ePKA üzerine etkilerini inceleyen araştırmalar arasında bu konuya özen gösteren ilk çalışmadır. Yine de kemoterapinin bir çok metabolik yolun anahtar enzimlerini ve protein sentezini inhibe ederek etki ettiği bilindiğine göre tedavi sonrası ePKA'nin azalması veya en azından artmaması beklenmektedir. Bizim çalışmamızda yaklaşık ilk dört aylık dönemde ePKA'nin artmış olmasını olguların remisyona girmiş olmasının eritrosit metabolizmasındaki anormalliği bir ölçüde düzeltmesine bağlıyoruz, bundan sonraki dönemde ise kemoterapinin eritrosit metabolizması üzerinde uzun dönem etkilerinin başlayabileceği varsayımını düşünmekteyiz. Bu varsayımın doğruluğu çalışmamızın devamı ile tespit edilebilecektir. Daha önceki yapılan çalışmalarda neoplastik tedavi ile ePKA'nin düştüğünü, ancak bu durumun ne zaman meydana geldiğinin bilinmediği belirtilmiştir. Bu konuda Etienne ve arkadaşları²⁸ ile Renoux ve arkadaşları⁷⁷ kemoterapiden sonra eritrosit popülasyonunun kendini yenileyebilmesi için gerekli zaman olan üç ay sonunda eritrositer enzimlerde değişikliklerin meydana gelebileceği varsayımını öne sürmüşlerdir. Ancak Tablo-53 ve 54 incelendiğinde dördüncü ePKA örneğine gelinceye kadar (tedaviye başlandıktan yaklaşık beş ay sonra) enzim aktivitesinde artış gösteren olgu sayısı azalanlarınkinden çok daha fazla iken üçüncü örnekten dördüncü örneğe geçme döneminde azalanlar artarlardan daha fazla duruma geçmiştir. Bu durum sanki kemoterapiden sonraki beşinci aydan itibaren ePKA'nde azalmaya gidişin başladığı izlemine vermektedir. Fakat böyle bir sonucun ortaya çıkartılabilmesi için bu çalışmanın süresi yeterli değildir. En azından bu çalışma ile Etienne ve arkadaşları²⁸ ile Renoux ve arkadaşlarının varsayımının tartışmalı olduğu, sonuçta en az ilk dört ay içinde ePKA'inde azalma görülmediği gösterilmiştir.

Neoplastik tedavinin eritrositer enzim aktivitelerinde değişiklik yapmasının nedeni olarak bir çok yazar tarafından değişik görüşler ileri sürülmüştür. Bunlar sırasıyla; kemoterapi ve radyoterapinin hücrel replikasyona, transkripsiyona ve translasyona yani protein sentezi sürecinde herhangi bir döneme etki ederek, sonuçta gen ekspresyonunda değişikliklere yol açacağı, hücrelerin anahtar enzimlerini bloke edici özellikleri ve mutajenik etkisi nedeniyle enzim aktivitelerinde değişikliklerin ortaya çıkacağı yönündedir^{28,29,77}. Yapılan çalışmalarda ePKA düşük saptanmış olgularda eritrositlerde M₂ PK'ın arttığının saptanması üzerine eritropoiesisin fetal forma reversiyonunun enzim aktivitesindeki düşüklüğün sebebi olabileceği iddia edilmiştir^{77,79}. Ancak fetal eritrositlerde fosfofrüktokinaz azalmış olarak bulunmasına

rağmen PK'ın artmış aktivitede bulunması bu görüşün doğruluğunu tartışmalı hale getirmektedir⁷⁷. Bazıları ise kemoterapetiklerin; normal klon üretimini sağlayan bir kemik iliği stem hücrelerine zarar vermesi sonucu enzim aktivitelerinde azalma olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bunlar arasında en olası mekanizmanın kemoterapinin etkisiyle enzim proteinlerinde değişiklik meydana getirdiği şeklindeki (posttranskripsiyonel, posttranslasyonel veya postsentetik) varsayım olduğunu düşünüyoruz. Ancak kemoterapetiklerin farklı etki mekanizmaları nedeniyle daha önce anlatılan varsayımlardan herhangi biri ile de ePKA'inde değişiklik meydana gelebilir.

Sonuç olarak; lösemilerde ve relaps ALL'de ePKA'nin düşük, tedavi sonrası ise normal değerlerde saptanması nedeniyle neoplastik tedavinin takibinde ePKA ölçümünün yararlı olabileceği kanısındayız. Ancak kemoterapetiklerin komplikasyonları içinde en tehlikelilerinden biri olan sekonder akut lösemilerin erken tanısında (prelösemik fazda) kullanılabileceği varsayımının doğruluğunun kanıtlanabilmesi için daha uzun süreli ve daha fazla olgu içeren çalışmaların yapılması gerekmektedir.

SONUÇLAR

1- Çalışmaya alınan ANLL'li olguların ePKA sağlıklı kontrol grubunun ortalama ePKA'ndan düşük olup aradaki fark istatistiksel yönden anlamlı bulundu ($p: 0,0027$).

2- Relaps ALL'li olguların ePKA sağlıklı kontrol grubunun ortalama ePKA'ndan düşük olup aradaki fark istatistiksel yönden anlamlı bulundu ($p: 0,0006$).

3- ALL'li olguların ePKA sağlıklı kontrol grubunun ortalama ePKA'ndan düşük olup aradaki fark istatistiksel yönden anlamlı bulundu ($p: 0,0025$).

4- Lenfomalı olguların ePKA sağlıklı kontrol grubunun ortalama ePKA'ndan düşük olup aradaki fark istatistiksel yönden anlamlı bulunmadı ($p: 0,0819$).

5- ANLL'li olgularda ePKA ile yaş, cins, retikülosit yüzdesi, hemoglobin, MCH, MCHC, beyaz küre sayısı, trombosit sayısı, periferik yaymadaki ve kemik iliğindeki blast yüzdesi arasında pozitif veya negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcut değilken; MCV ve LDH ile pozitif yönde bir ilişki mevcuttu (sırasıyla $r: 0,676$, $p: 0,022$ ve $r: 0,685$, $p: 0,020$).

6- Relaps ALL'li olgularda ePKA ile yaş, cins, LDH, hematolojik parametreler, periferik yaymadaki ve kemik iliğindeki blast yüzdesi arasında pozitif veya negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcut değildi.

7- ALL'li olgularda ePKA ile yaş, cins, LDH, retikülosit yüzdesi, hemoglobin, MCH, , trombosit sayısı, periferik yaymadaki ve kemik iliğindeki blast yüzdesi arasında pozitif veya negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcut değilken; beyaz küre sayısı ve MCV ile pozitif yönde ve MCHC ile negatif yönde bir ilişki mevcuttu (sırasıyla $r: 0,383$, $p: 0,022$, $r: 0,612$, $p < 0,0001$ ve $r: -0,489$, $p: 0,005$).

8- Lenfomalı olgularda ePKA ile yaş, cins, LDH, hematolojik parametreler, periferik yaymadaki ve kemik iliğindeki blast yüzdesi arasında pozitif veya negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcut değilken, MCV ile negatif yönde bir ilişki mevcuttu ($r: -0,619$ $p: 0,018$).

9- ALL'li olgularda tanı anındaki (birinci örnek) ePKA ile yaklaşık 3 ay sonra alınan (üçüncü örnek) ePKA arasında istatistiksel yönden anlamlı bir artış mevcuttu ($p: 0,0062$). Ancak birinci örnekle dördüncü örnek (tanı anından yaklaşık 4,5 ay sonra alınan) arasında istatistiksel yönden anlamlı olmayan bir artış mevcutken, üçüncü örnekle

dördüncü örnek arasında ise yine istatistiksel yönden anlamlı olmayan bir azalma mevcuttu (sırasıyla $\rho: 0,124$ ve $\rho: 0,233$).

10- Lenfomalı olgularda tanı anındaki (birinci örnek) ePKA ile yaklaşık 3 ay sonra alınan (üçüncü örnek) ePKA arasında istatistiksel yönden anlamlı bir artış mevcuttu ($\rho:0,0469$).



ÖZET

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı'nda yapılan bu çalışmaya yeni tanı konmuş hematolojik malignansisi olan 68 olgu ve benzer yaş grubunda olan 42 sağlıklı çocuk (kontrol grubu) alındı. Hematolojik malignansili olgular dört ayrı grupta incelendi. Birinci grup 11 ANLL'li, ikinci grup 10 relaps ALL'li, üçüncü grup 32 ALL'li ve dördüncü grup ise 15 lenfomalı olgudan oluşturuldu. Olguların öykü, fizik muayene, rutin laboratuvar tetkikleri, kemik iliği aspirasyon yaymaları, gerektiğinde lenf nodu biyopsisi, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi gibi tetkiklerin yanısıra tanı anındaki ve antineoplastik tedavi başladıktan sonraki ePKA aktiviteleri yaklaşık 1,5 ay ara ile spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Böylece hematolojik malignansili olgularda ePKA ve antineoplastik tedavinin eritrositer pirüvat kinaz aktivitesi üzerine etkisi saptanmak suretiyle tanı ve takip sırasında kullanılabilirliği araştırıldı.

Çalışmaya alınan ANLL'li, relaps ALL'li ve ALL'li olguların ePKA sağlıklı kontrol grubunun ortalama ePKA'ndan düşük olup aradaki fark istatistiksel yönden anlamlı bulundu (sırasıyla $p: 0,0027$, $p:0,0006$ ve $p: 0,0025$). Buna karşın lenfomalı olguların ePKA sağlıklı kontrol grubunun ortalama ePKA'ndan düşük olmasına rağmen istatistiksel yönden anlamlı bulunmadı ($p: 0,0819$).

ANLL'li, relaps ALL'li, ALL'li ve lenfomalı olgularda ePKA ile yaş, cins, retikülosit yüzdesi, hemoglobin, MCH, trombosit sayısı, periferik yaymadaki ve kemik iliğindeki blast yüzdesi arasında pozitif veya negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcut değildi. Ancak ANLL'li olgularda ePKA ile MCV ve LDH arasında pozitif yönde bir ilişki (sırasıyla $r: 0,676$, $p: 0,022$ ve $r: 0,685$, $p: 0,020$), ALL'li olgularda ePKA ile beyaz küre sayısı ve MCV arasında pozitif yönde ve MCHC arasında negatif yönde bir ilişki (sırasıyla $r: 0,383$, $p:0,022$; $r: 0,612$, $p<0,0001$ ve $r: -0,489$, $p: 0,005$), lenfomalı olgularda ePKA ile MCV arasında negatif yönde bir ilişki saptandı ($r: -0,619$ $p:0,018$).

ALL'li olgularda tanı anındaki (birinci örnek) ePKA ile yaklaşık 3 ay sonra alınan (üçüncü örnek) ePKA arasında istatistiksel yönden anlamlı bir artış bulundu ($p:0,0062$). Ancak birinci örnekle dördüncü örnek (tanı anından yaklaşık 4,5 ay sonra alınan) arasında istatistiksel yönden anlamlı olmayan bir artış saptanmışken, üçüncü örnekle dördüncü örnek arasında ise istatistiksel yönden anlamlı olmayan bir azalma saptandı (sırasıyla $p: 0,124$ ve

$p: 0,233$). Lenfomalı olgularda da tanı anındaki (birinci örnek) ePKA ile yaklaşık 3 ay sonra alınan (üçüncü örnek) ePKA arasında istatistiksel yönden anlamlı bir artış bulundu ($p:0,0469$).

Sonuçta; akut lösemili ve relaps ALL'li olgularda ePKA'nin düşük bulunması, tedavi sonrası ise yükselerek normal değerlerde saptanması nedeniyle tanı ve neoplastik tedavinin takibinde kullanılabileceğini düşündürmesine karşın bu düşüncenin doğruluğunun kanıtlanabilmesi için daha uzun süreli ve daha çok olgu içeren çalışmaların yapılması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- 1-*Abe S*: Secondary red cell pyruvate kinase deficiency. II. Biochemical studies for the mechanism of pyruvate kinase deficiency in erythroleukemia. *Nippon Ketsueki Gakkai Zasshi*. 1976; 39(3): 255-62
- 2-*Ağaoğlu L*, *Gedikoğlu G*, *Anak S*. In: *Neyzi O*, *Ertuğrul T*(eds). *Pediatrici*, Birinci baskı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 1990: 1141-72
- 3-*Alarcon AL*, *Ruiz P*, *Gosalvez M*: Quantitative determination of the degree of differentiation of mammary tumors by pyruvate kinase kinetic analysis. *Cancer Research*. 1981; 41: 2019-20
- 4-*Allen WSA*: Acute myeloid leukemia after treatment with cytostatic agents. (letter). *Lancet*, 1970 ; ii: 775-80
- 5-*Antmen B*: Çocukluk Çağı Akut Lenfoblastik Lösemilerinde Herpes Grubu Virüs Enfeksiyonları (Uzmanlık Tezi), ÇÜTF, Adana, 1993.
- 6-*Arnold H*, *Blume KG*, *Löhr GW*, *Boulard M*, *Najeau Y*: "Acquired" red cell enzyme defects in hematological diseases. *Clin Chim Acta*. 1974; 57: 187-9
- 7-*Arnold H*, *Blume KG*, *Löhr GW*: Mechanism for acquired red cell enzyme defects. *Blood* 1977; 49: 1022
- 8-*Balasubramanian R*, *Aroor AR*, *Gopalakrishnan K*, *Shenoy UD*, *Rao AV*, *Rao BK*: A case of preleukemia masquerading as haemolytic anemia due to multienzymopathy of the red cell. *J Assoc Physicians India*. 1989; 37(3): 239-40
- 9-*Barretto OC*, *Nonoyama K*, *Colletto GM*: Acquired erythroenzymopathy in a monozygotic twin with acute myeloid leukemia. *Braz J Med Biol Res*. 1986; 19(1): 63-7
- 10-*Behrman RE*, *Kliegman RM*, *Nelson WE*, *Vaughan III VC*(eds): Neoplasms and neoplasm-like structures. In *Nelson Textbook of Pediatrics*, Fourteenth edition, W.B. Saunders Com. Philadelphia, 1992: 1291-322
- 11-*Bennet JM*, *Catovsky D*, *Daniel MT*: Proposals for the classification of the acute leukemias. French-American-British (FAB) Co-operative group. *Br J Haemat*. 1976; 33: 451-8
- 12-*Berk AÖ*: Atlaslı Kan Hastalıkları. Tanı ve Tedavi İlkeleri. Birinci Baskı. Türkiye Klinikleri Yayınevi. Ankara. 1989.
- 13-*Beutler E*: 2,3-diphosphoglycerate affects enzymes of glucose metabolism in red blood cells. *Nature (New Biol.)*. 1971; 232: 20-5
- 14-*Bilir N*: Dünyada ve Türkiye'de Kanser Epidemiyolojisi. In: *Tuncer İ*, *Burgut R*, *Bozdemir N*, *Coşar E*: Türkiye'de Kanser Sıklığı, Çukurova Üniversitesi Basımevi, Adana, 1994: 1-6
- 15-*Boivin P*, *Galand C*, *Hakim J*, *Kahn A*: Acquired red cell pyruvate kinase deficiency in leukemias and related disorders. *Enzyme*. 1975; 19: 294-9
- 16-*Boivin P*, *Galand C*, *Hakim J*, *Kahn A*: Acquired erythroenzymopathies in blood disorders: Study of 200 cases. *Br J Haemat*. 1975; 31: 531

- 17-*Brinker MGL*, Popene S, Burys CHM, Tinens W, Osinga J, Visser L: Clonal immunoglobulin gene rearrangement in tissues involved by Hodgkin disease. *Blood* 1987; 70: 186-91
- 18-*Büyükpamukçu M*: Hacettepe Çocuk Hastanesi Sonuçları. In: VIII. Pediatrik Tümörler ve Tıpta Yenilikler '95 Kongresi, Mersin, Türkiye, 1-5 Mayıs 1995, pp 93-4
- 19-*Cadman EC*, Capizzi RL, Bertino JR., Acute non lymphocytic leukemia: a delayed complication of Hodgkin's disease therapy. Analysis of 109 cases. *Cancer*. 1977; 40: 1280-96
- 20-*Casciato DA*, Scott JL. Acute leukemia following prolonged cytotoxic agent therapy. *Medicine* 1979; 58: 32-47
- 21-*Cobau CD*, Sheon RP, Kirsner AB. Immunosuppressives drugs and acute leukemia. (Letter). *Annals of Internal Medicine*. 1973; 79: 131-2
- 22-*Cottreau D*, Rousseau MF, Nezelof C, Kahn A: Pyruvate kinase and phosphofructokinase isozymes in childhood cancers. *Pediatr res*. 1982; 16: 199-202
- 23-*Desoize B*, Carpentier Y, Jardillier JC: Methotrexate induced alteration of glycolysis in L1210 cells in vitro. *Biomedicine*. 1978; 29: 58-60
- 24-*Donaldson SS*, Link MP. Hodgkin disease-treatment of young child. *Pediatr Clin N Am* 1991; 38: 457-61
- 25-*Dreyfus B*, Rochant H, Salomon C, Boivin P, Sultan C, Mannoni P, Galand C, Cartron JP: Anemies refractaires, etats preleucemiques et anomalies enzymatiques multiples. C. r. hebd. Seanc Acad Sci. 1968; 266: 1627-29 (English abstracts)
- 26-*Ekmekçi A*, Erbaş D: Kanserin Moleküler Mekanizması-Onkogenler ve Büyüme Faktörleri. Birinci Baskı, 72 TDFO, Ankara, 1991
- 27-*Elbers JRJ*, Van Unnik AM, Rijksen G, Van Oirschot BA, Rohol PJM, Oosting J, Staal GEJ: Pyruvate kinase activity and isozyme composition in normal fibrous tissue and fibroblastic proliferations. *Cancer*. 1991; 67: 2552-9
- 28-*Etiemble J*, Bernard JF, Pıcat CH, Belpomme D, Boivin P. Red Blood Cell Enzyme Abnormalities in Patients Treated with Chemotherapy. *Br J Haemat*. 1979; 42: 391-8
- 29-*Etiemble J*, Pıcat C, Boivin P. İmmunological studies of PK and PFK deficiencies induced by chemotherapy. *Scand J Hametol*. 1983; 31: 215-20
- 30-*Fantoni A*, De La Chapelle A, Rifkind RA, Marks PA: Erythroid cell development in fetal mice: synthetic capacity for different proteins. *J Mol Biol* 1988; 33:79-85
- 31-*Gahr M*, Jentsch E, Schröter W: Fetal erythropoiesis in juvenile chronic myeloid leukemia. *Acta Haemat*. 1976; 56: 39-46
- 32-*Gekova K*, Arsov TS, Georgieva B: Glucose-6-phosphatase dehydrogenase and pyruvate kinase activity and the content of adenosine triphosphate in erythrocytes of leukemic patients. *Vutr Boles*. 1979; 18(4): 74-8 (English abstracts)
- 33-*Glader BE*, Backer K, Diamond LK: Elevated erythrocyte adenosine deaminase activity in congenital hypoplastic anemia. *N Engl J Med*. 1983; 309: 1486-90

- 34-*Goebel KM, Goebel FD, Janzen R, Kaffarnik H*: Haemolytic anemia with hereditary pyruvate kinase instability developing acute leukemia. 1975; 14: 249-57
- 35-*Gonzales R, Auclair C, Voisin E, Gautero H, Dhermy D, Boivin P*: Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. *Cancer Res.* 1984; 44: 4137-39
- 36-*Hall ER, Gottam GL*: Isozymes of pyruvate kinase in vertebrates: Their physical, chemical, kinetic and immunological properties. *Int J Biochem.* 1978; 9: 785-93
- 37-*Haram S, Carriero D, Seaman C, Piomelli S*: The Mechanism of decline of age-dependent enzymes in the red blood cell. *Enzyme* 1991; 45: 47-53
- 38-*Hayran M, Özdemir O*: Bilgisayar İstatistik ve Tıp. Birinci Baskı. Hekimler Yayın Birliği, Ankara. 1995.
- 39-*Helmstadter V, Arnold H, Blume KG, Uhl N, Hunstein W*: Acquired pyruvate kinase deficiency with hemolysis in preleukemia. *Acta Haemat.* 1977; 57: 339-43
- 40-*Hopkins J, Tudhope GR*: Glutathione- peroxidase in human red cells in health and in disease. *Br J Haemat.* 1973; 25: 563-75
- 41-*Huebner RM, Todaro GJ*: Oncogenes or RNA tumor viruses as determinants of cancer. *Proc Natl Acad Sci.* 1969; 64: 1087-94
- 42-*Ibsen KH*: Interrelationships and functions of the pyruvate kinase isozymes and their variant forms: A review. 1977; 37: 341-53
- 43-*Ieki R, Miwa S, Fujii H, Kudoh S, Kimura H, Takaku F*: Patient with pyruvate kinase deficiency developed acute myelogenous leukemia. *Am J Hem.* 1990; 34: 64-8
- 44-*International Committee for Standardization In Hematology*. Recommended methods for red cell enzyme analysis. 1979; 35: 331-40
- 45-*Jansen G, Koenderman L, Rijksen G, Cats BP, Staal GEJ*: Characteristics of hexokinase, pyruvate kinase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase during adult and neonatal reticulocyte maturation. *Am J Hematol* 1985; 20: 203-15
- 46-*Kahn A, Cottreau D, Boyer C, Marie J, Boivin P*. Causal Mechanism of multiple acquired red cell enzyme defects in a Patient with acquired dyserythropoiesis. *Blood.* 1976; 48: 653-62
- 47-*Kahn A, Marie J, Bernard JF, Cottreau D, Boivin P*. Mechanisms of the acquired erythrocyte enzyme deficiencies in blood diseases. *Clin Chim Acta.* 1976; 71: 379-87
- 48-*Kahn A*: Abnormalities of erythrocyte enzymes in dyserythropoiesis and malignancies. *Clin Haematol.* 1981; 10(1): 123-38
- 49-*Kahn A*: Mechanism for acquired red cell enzyme defects: Reply. *Blood.* 1977; 49: 1023
- 50-*Kayaalp O*: Tibbi Farmakoloji. Üçüncü Baskı. Ulucan Matbaası, Ankara. 1984
- 51-*Kayrın L, Yüreğir GT*: Reference values for erythrocyte pyruvate kinase in Çukurova Turkey. *Biochimica Clinica.* 1993; 17: 225-30
- 52-*Kayrın L*: Koyun Karaciğer L-Tipi Piruvat Kinazının Gliserol Etkisiyle Oluşan Konformorleri ve Kinetik Özellikleri. *Doğa Bilim Dergisi.* 1985; 9(2): 165-72

- 53-*Kayrin L*: Purification of sheep liver pyruvate kinase and the effect of storage on the kinetic properties (Doktora Tezi). 1984, ODTÜ, Ankara.
- 54-*Kornberg A*, Goldfarb A: Preleukemia manifested by hemolytic anemia with pyruvate kinase deficiency. *Arch Intern Med*. 1986; 146: 785-6
- 55-*Kwiatkowska J*, Boguslawska JJ: Modifications of erythrocyte phosphofructokinase in children with acute lymphoblastic leukemia. Acute stage and remission. *Arch Immunol Ther Exp Warsz*. 1979; 27: 339-44
- 56-*Labar B*, Jaksic B, Nazor A: Acquired red cell pyruvate kinase deficiency in acute leukemias. *Haematologica*. 1978; 63: 555-60
- 57-*Labar B*, Stavljenic A, Jusufhodzic L: Red cell pyruvate kinase in acute leukemia. *Enzyme*. 1984; 32(3): 178-83
- 58-*Lanzkowsky P*: Manuel of Pediatric Hematology and Oncology. Second edition. Churchill Livingstone, New York, 1995.
- 59-*Mead GM*, Whitehouse JMA: Clinical aspects of Hodgkin disease. *BMJ*. 1988; 297: 1562-4
- 60-*Meienhofer MC*, Lagrange JL, Cottreau D, Lenoir G, Dreyfus JC, Kahn A: Phosphofructokinase in human blood cells. *Bichim Biophys Acta*. 1980; 68: 389-400
- 61-*Mentzer WC*, Glader BE: Disorders of erythrocyte metabolism. In: *Mentzer WC, Wagner MG*(eds). *The Hereditary Hemolytic Anemias*. First edition, Churchill Livingstone, New York, 1989: 267-317
- 62-*Mentzer WC*: Pyruvate Kinase Deficiency and Disorders of Glycolysis. In: *Nathan DG, Oski FA*(eds). *Hematology of Infancy and Childhood*, Fourth edition. WB Saunders Com., Philadelphia, 1993: 634-73
- 63-*Miller DR*: Hemolytic anemias: metabolic defects. In: *Miller DR, Baehner L*(eds). *Blood Disease of Infancy and Childhood*. Sixth edition, CV Mosby Company, St Louis, 1989:291-367
- 64-*Moya CE*, Shah S, Sodeman TM: Erythrocyte. In: *Sodeman WA, Sodeman TM* (eds). *Sodeman's Pathologic Physiology, Mechanism of Disease*. Seventh edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1985: 710-67
- 65-*Murray RK*, Mayes P, Granner DK, Rodwell VR(eds): *Harper's Biochemistry*. Twentythird edition. Appleton & Lange Inc, Norwalk, 1993
- 66-*Nathan DG*, Oski FA: *Hematology of Infancy and Childhood*. Fourth edition. WB Saunders Com. Philadelphia, 1993.
- 67-*Nijhof W*, Wierenga PK, Staal GEJ, Jansen G: Changes in activities and isozyme patterns of glycolytic enzymes during erythroid differentiation in vitro. *Blood*. 1984; 64(3): 607-13
- 68-*Noguchi T*, Inoue H, Tanaka T: The M₁ ve M₂ -type isozymes of rat pyruvate kinase are produced from the same gene by alternative RNA splicing. *J Biol Chem*. 1986; 261: 13807-12
- 69-*Ohta C*, Katayama N, Uno N, Minami N, Karitani Y, Shirakawa S: A case of famial pyruvate kinase deficiency associated with acute myelomonocytic leukemia. *Rinsho Ketsueki*. 1984; 25: 75-81

- 70-*Osterman J, Fritz PJ, Wuntch T*: Pyruvate kinase isozymes from rat tissues. Developmental studies. *J Biol Chem.* 1973; 248: 1011-8
- 71-*Paglia DE, Shende A, Lanzkowsky P, Valentine WN*: Hexokinase "New Hyde Park": A low activity erythrocyte isozyme in a Chinese kindred. *Am J Hematol* 1981; 10: 107-17
- 72-*Peters J, Nash HR, Eicher EM, Bulfield G*: Polymorphism of kidney pyruvate kinase in the mouse is determined by a gene, PK-3, on chromosome 9. *Biochem Genet.* 1981; 19: 757-69
- 73-*Pietschmann H, Sinzinger H, Schneider K*: The question of the diagnostic value of increased erythrocyte enzymes in leukemia. *Folia Hematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch.* 1978; 105: 96-101 (English abstracts)
- 74-*Pizzo PA, Poplack DG*: Principles and Practice of Pediatric Oncology, Second edition. J.B. Lippincott Com, Philadelphia, 1993.
- 75-*Purzyc L, Pielichowski J, Kwiatkowska J, Boguslawska JJ*: ATPase activity and lipid content of erythrocytes in treatment of acute lymphoblastic leukemia in children. *Arch Immunol Ther Exp Warsz.* 1979; 27: 861-6
- 76-*Regula DP, Hoppe RT, Weiss LM*: Nodular and diffuse types of lymphocyte predominance Hodgkin's disease. *N Eng J Med.* 1988; 318: 214-5
- 77-*Renoux M, Bernard JF, Torres M, Schlegel N, Amar M, Lopez M, Boivin P*. Erythrocyte abnormalities induced by chemotherapy and radiotherapy: Induction of preleukaemic states? *Scand J Haematol.* 1978; 21: 323-32
- 78-*Rijksen G, Staal GEJ*: Properties of human erythrocyte hexokinase related to cell age. *Clin Chim Acta* 1977; 80: 193-202
- 79-*Rochant H, Dreyfus B, Bouguerra M, Hoi Tant-Hat*: Hypothesis: refractory anemias, preleukemic conditions and fetal erythropoies. *Blood* 1972; 39: 721-6
- 80-*Rogers PA, Fischer RA, Harris H*: An examination of the age related patterns of decay of the hexokinases of human red cells. *Clin Chim Acta.* 1975; 65: 291-8
- 81-*Saito T, Kurasaki M, Kaji H, Saito K*: Deficiency of erythrocyte superoxide dismutase and catalase activities in patients with malignant lymphoma and acute myeloid leukemia. *Cancer Lett.* 1984; 24(2): 141-6
- 82-*Samuel SP, Miale TD*: Diagnosis of red cell enzymopathies in infants, children and adolescents. *Indian J Pediatr.* 1987; 54: 355-67
- 83-*Sass MD, Caruso CJ, Axelrod DR*: Rapid screening for D-glucose-6-phosphate: NADP oxidoreductase deficiency with methylene blue. *J Lab Clin Med.* 1978; 68:156-60
- 84-*Satar M*: Hiperbilirubinemili Yenidoğan Bebeklerde Piruvat Kinaz Enzim Aktivitesi (Yan Dal Uzmanlık Tezi). ÇÜTF, Adana, 1994.
- 85-*Sather HN*: Age at diagnosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol.* 1986; 14: 166-70
- 86-*Sevinir B, Büyükpamukçu M*: Çocukluk Çağı Lenfomaları. *Katkı Pediatri Dergisi.* 1995; 16: 476-96
- 87-*Sikora K*: Current issues in cancer: Genes, dreams, and cancer. *BMJ.* 1994; 308: 1217-21

- 88-*SPSS User's Guide*, SPSS Inc., Mc Graw Hill Bolli Co, San Francisco. 1986.
- 89-*Strandholm JJ*, Dyson Rd, Cardenas JM: Bovine pyruvate kinase isozymes and hybrid isozymes: Electroforetic studies and tissue distribution. *Arch Biochem Biophys*. 1976; 173: 125-31
- 90-*Sullivan AK*, Athens JW, Ward JH, Lukens JN, Greer JP, Kinney MC, Deiss Andrew, Etre HJ, Macon WR, List AF: Malignant neoplastic Disorders of the hematopoietic system. In: Lee GR, Bithell TC, Foerster, Athens JW, Lukens JN(eds). *Wintrobe's Clinical Hematology*, Ninth edition. Lea & Febiger Malvern, Pennsylvania, 1993: 1725-2170
- 91-*Sümbüloğlu K*, Sümbüloğlu V: Biyoistatistik. Üçüncü Baskı. Hatipoğlu Yayınevi, Ankara. 1987.
- 92-*Takegawa S*, Fujii H, Miwa S: Change of pyruvate kinase isozymes from M₂- to L-type during development of the red cell. *Br J Haemat*. 1983; 54: 467-74
- 93-*Tanaka KR*, Paglia DE: Pyruvate kinase deficiency. *Seminars Hematol* 1971; 8: 367-96
- 94-*Tanaka KR*, Valentine WN, Miwa S: Pyruvate kinase deficiency hereditary nonspherocytic hemolytic anemia. *Blood*. 1972;19: 267-74
- 95-*Tanaka R*, Fujimura K, Okada K, Kamada N, Kuramoto A, Uchino H, Iwamoto T, Yamashita K, Miwa S: A case of acute granulocytic leukemia with erythrocyte pyruvate kinase deficiency and bone marrow chromosome aberration. *Rinsho Ketsueki*. 1979; 20(2): 187-95 (English abstracts)
- 96-*Tani K*, Fujii H, Takahashi K, Kodo Hideki, Asano S, Takaku F, Miwa S. Erythrocyte Enzyme activities in myelodysplastic syndromes: Elevated pyruvate kinase activity. *Am J Hem*. 1989; 30: 97-103
- 97-*Tanyeli A*, Kılınç Y, Yılmaz L, Antmen B, Erkman H, Serbest M, Şaşmaz İ, Öngel S, Yavuz G: Son On Yılda İzlenen Nörolojik Bulgusu Olan ALL'li Olguların Değerlendirilmesi (Bildiri). VIII. Pediatrik Tümörler Kongresi ve Tıpta Yenilikler '95 Kongresi, Mersin, 1-5 Mayıs 1995; I-6: 39
- 98-*Tanyeli A*, Kılınç Y, Erkman H, Antmen B, Serbest M, Karabay A, Kümi M.: Çukurova bölgesindeki çocukluk çağı malignansileri. *ÇÜ Tıp Fak Der (Baskıda)*.
- 99-*Tarui N*, Kono N, Uyeda K: Purification and properties of rabbit erythrocyte phosphofructokinase. *J Biol Chem*. 1972; 247: 1138-44
- 100-*Tchernia G*, Mielot F, Subtil E, Parmentier C. Acute myeloblastik leukemia after immunodepressive therapy of primary nonmalignant disease. *Blood Cells*, 1976; 2: 67-80
- 101-*Telen MJ*: The mature erythrocyte. In: Lee GR, Bithell Ct, Foerster J, Athens JW, Lukens JN(eds): *Wintrobe's Clinical Hematology*. Ninth edition. Lea & Febiger. Philadelphia-London. 1993; 101-33
- 102-*Travis S*: Fetal erythropoiesis in juvenile chronic myelocytic leukemia. *Blood*. 1983; 62: 602-5

- 103-*Tubergen DG*: Neoplasms. In:Hathaway WE, Groothuis JR, Hay WW, Paisley JW(eds). Current Pediatric Diagnosis and Treatment, Tenth edition. Appleton & Lange Inc,1991: 580-91
- 104-*Valentine WN*, Konrad PN, Paglia DE: Dyserythropoiesis, refractory anemia, and "preleukemia:" metabolic features of the erythrocytes. *Blood*. 1973; 41: 857-75
- 105-*Van Erp HE*, Roholl PJM, Rijksen G, Sprengers ED, Van Veelen CWM, Staal GEJ: Production and characterization of monoclonal antibodies against human type K pyruvate kinase. *Eur J Cell Bio*. 1988; 47: 388-94
- 106-*Van Erp HE*, Van Unnik JAM, Rijksen G, Smits JG, Staal GEJ: Cellular expression of K-type pyruvate kinase in normal and neoplastic human tissues. *Cancer* 1991; 68: 2595-601
- 107-*Van Veelen CWM*, Verbiest H, Vlug AMC, Rijksen G, Staal GEJ: Isozymes of pyruvate kinase from human brain, meningiomas, and malignant gliomas. *Cancer Res*. 1978; 38: 4681-7
- 108-*Vives Corrons JL*, Florensa L, Muncunill J, Nomdedeu B, Rozman C: Chronic Myelomonocytic leukemia associated with hereditary pyruvate kinase deficiency and multiple acquired erthrocyte abnormalities. *Acta Haemat*. 1979; 61: 168-74
- 109-*Vives Corrons JL*, Pujades MA, Sierra J, Ribera JM. Characteristics of Red Cell Pyruvate Kinase(PK) and Pyrimidine 5' Nucleotidase(P5N) Abnormalities in Acute Leukemia and Chronic Lymphoid Diseases with Leukaemic Expression. *Br J Haem*. 1987; 66: 173-7
- 110-*Voravarn S*, Tanphaichitr MD, Jan Van Eys MD. Erythrocyte Pyruvate Kinase(PK) Activity in Leukemia. *Ped Res*. 1972a; 6: 373
- 111-*Voravarn S*, Tanphaichitr MD, Jan Van MD. Erythrocyte Pyruvate Kinase Activity in Patients with Haematological Malignancies. *Scand J Haematol*. 1975; 15: 10-6
- 112-*Vrehaagen JN*, Van Der Heijden MCM, De Jong-Van Dijken J, Rijksen G, Der Kinderen PJ, Van Unnik JAM, Staal GEJ: Pyruvate kinase in normal human thyroid tissue and thyroid neoplasms. *Cancer*. 1985; 55: 142-8
- 113-*Vulliamy T*, D'urso M, Battistuzzi G: Diverse point mutasion in the human glucose-6-phosphate dehydrogenase gene cause enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 114: 85-9
- 114-*Waller HD*, Benohr HC: Enzyme deficiencies of blood cells in bone marrow insufficiency. *Klin Wochenschr*. 1978; 56: 483-91
- 115-*Weber G*: Enzymology of cancer cells. *N Engl J Med*. 1977; 296: 486-93
- 116-*Weber G*: Enzymology of cancer cells. *N Engl J Med*. 1977; 296: 541-51
- 117-*Yıldız İ*: Çocuklarda Tümör Tanısı. *Sendrom*. 1991; 3: 29-31
- 118-*Yılmaz HL*, Tanyeli A, Özusağlam H, Kayrın L, Antmen B, Sönmez A: Solid Tümörlü Olgularda Eritrositer Pirüvat Kinaz Aktivitesi (Bildiri).XXXIX. Milli Pediatri Kongresi, Ankara, 4-8 Haziran 1995: 136.

ANNE ve BABA'na

Tez çalışmam sırasında hiç bir zaman yardımını esirgemeyen ve hep destek olan Doç.Dr.Atila Tanyeli'ye, tez çalışmama katkılarından dolayı Prof.Dr.Yurdanur Kiling ve Doç.Dr.Levent Kayrın'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

DÜZELTME

<i>Sayfa</i>	<i>Paragraf</i>	<i>Satır</i>	<i>Yanlış</i>	<i>Doğru</i>
4	2	16	deaminaz ^{16,5,36}	deaminaz ^{16,51,56}
55	4	2	ölçülmüştür ⁶⁴	ölçülmüştür ⁴⁴
59	1	3	Tablo-3'de	Tablo-45'de
59	1	3-4	Tablo-4'de	Tablo-46'da
60	1	4	(Tablo-5)	(Tablo-47)
60	2	3	Tablo-6'da	Tablo-48'de
60	2	3	Tablo-7'de	Tablo-49'da
61	Şekil-10(Başlıkta)		rALL	Relaps ALL
62	1	3	Tablo-8'de	Tablo-50'de
62	1	3	Tablo-9'da	Tablo-51'de