

FANCONİ APLASTİK ANEMİLİ KARDEŞ İKİ OLGUNUN KLİNİK VE SİTOGENETİK YÖNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

CLINICAL AND CYTOGENETIC ASPECTS OF TWO SIBLINGS WITH FANCONI'S APLASTIC ANEMIA

Sıtkı ÖZTAŞ, Haydar Ali TAŞDEMİR, Sinan SÖNMEZ, Mevlüt KORKMAZ
Hayrettin YILMAZ

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik (SÖ, SS, MK) ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları (HAT, HY) Anabilim Dalı, Erzurum

Özet

Bu çalışmada Fanconi aplastik anemili kardeş iki olgunun klinik ve sitogenetik bulguları incelendi. Klinik olarak motor ve mental gelişme geriliği, mikrosefali, deride kahverengi pigmentasyon, başparmak hipoplazisi ile pansitopeni ve fetal hemoglobin seviyelerinde artış tespit edilen kardeş iki olgunun standard metotla hazırlanmış metafaz plaklarının incelenmesinde sırasıyla %29, %27 ve mitomisin C ile indüklenerek hazırlanmış metafaz plaklarında da %73 ve %70 oranında gap, kromatid ve dikromatid kırıkları, endoreduplikasyon, yeniden düzenlenmeler, delesyonlar, disentrik, asentrik ve minute kromozomlar gibi kromozom anomalileri gözlemlendi. Kontrol grubunun metafaz plaklarında yapılan çalışmalarda ise anlamlı olabilecek kromozomal anomalilere rastlanamadı.

Anahtar kelimeler: *Fanconi Aplastik Anemisi, Kromozom kırıkları, Kromozom instabilite sendromları*

Summary

In this study, the clinical and cytogenetic findings in two siblings with Fanconi's aplastic anemia were investigated. Clinical findings of the siblings displayed growth and mental retardation, microcephaly, hyperpigmentation on skin, abnormal thumbs with pancytopenia and increased fetal hemoglobine. Chromosome analysis of the siblings showed 29% and 27% spontaneous chromosomal abnormalities, respectively. After treating the lymphocytes with mitomycin C, chromosomal abnormalities such as gaps, chromatid and dichromatid breaks, endoreduplications, chromosomal rearrangements, deletions, acentric, dicentric and minute chromosomes increased to 73% and 70%, respectively. Chromosomal investigations of the controls did not revealed chromosomal abnormalities at any significant levels.

Key words: *Fanconi's Aplastic Anemia, Chromosomal breakage, Chromosome instability syndromes*

AÜTD 1996, 28:290-296

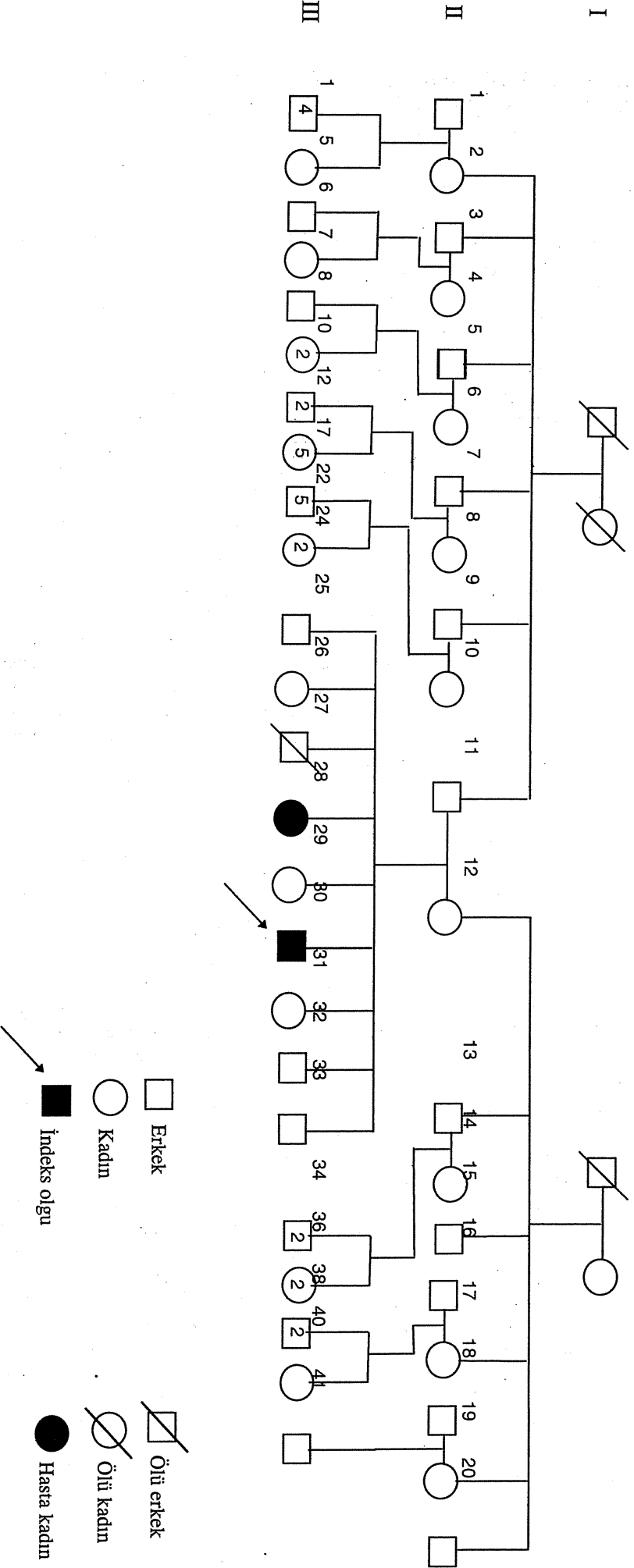
MJAU 1996, 28:290-296

Giriş

Fanconi aplastik anemisi, Bloom sendromu ve Ataksi telenjektazi gibi kromozom instabilite sendromlarından birisi olup ilk kez 1927 yılında Dr. Guido Fanconi tarafından 5 çocuklu bir ailenin 3 çocuğunda birden görülen anemi ile klinik olarak ortaya kondu. 1964'te Schroeder, Fanconi aplastik anemili hastaların periferik lenfosit kültürlerinde %20'lere varan kromozom kırıkları ve düzensizliklerini gözleyerek, artan kromozomal instabilite olayının hastalığa eşlik ettiğini ileri sürdü (1-5). Fanconi aplastik anemisi pansitopeni, motor ve mental gelişme geriliği, mikrosefali, deride kahverengi pigmentasyon, el başparmağı hipoplazisi, radial hipoplazi veya aplazi gibi ön kol iskelet anomalileri, hipogenitalizm, renal anomaliler, kulak anomalileri, akut miyelositer lösemi başta olmak üzere maligniteye yatkınlık ve artan spontan dikromatid kırıkları ile değişen oranlarda kromatid kırığı, endoreduplikasyon, triradial ve quadriradial şeklinde yeniden düzenlenmeler, minute, asentrik ve disentrik kromozom ile gap, delesyon gibi

kromozomal düzensizliklerle karakterize otozomal resessif bir hastalıktır(1-14). Hematolojik belirtiler genellikle 8-10 yaşından önce görülmezken, literatürde 17 ay ila 22 yaş arasında başlayan olgular da rapor edilmiştir. Genellikle ilk bulgu trombositopeni olup, lökopeni ve anemi tabloya daha sonra eklenir. (4-7). Fanconi aplastik anemili hastaların kromozomları mitomisin C, nitrojen mustard ve diepoksibütan gibi alkilleyici ajanların klastojenik etkilerine hassastır. Ayrıca gamma ışını ve yüksek dozda ultraviole gibi fiziksel mutajenler bu hastaların kromozomlarında kontrollere göre daha fazla hasar yapmaktadır. Fanconi aplastik anemili hastaların lenfosit kültürlerinin mitomisin C veya diepoksibütan gibi alkilleyici ajanlarla indüklenmesi ile standard teknikte gözlenen spontan kromozom anomalilerine oranla birkaç misli fazla kromozomal anomaliler tespit etmişlerdir. Fanconi aplastik anemisinin teşhisinde bu metod bir kriter olarak kullanılmaktadır. Kromozomal anomaliler

Şekil 1. Fanconi Aplastik Anemii Aileye Ait Pedigri



Şekil 2. Olgu 1'in El-bilek Grafisi

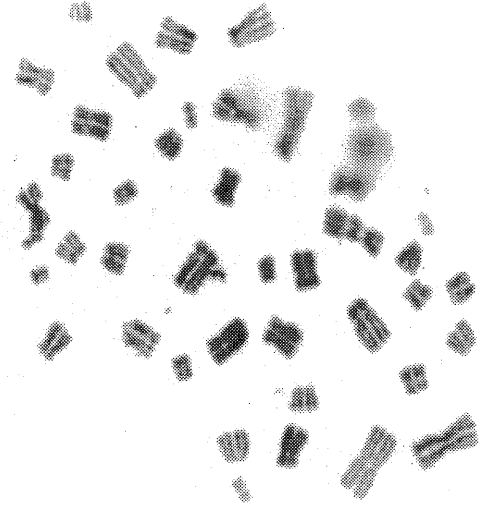


pansitopeninin başlangıcından önce de varolduğundan bu teknik, prenatal tanı ve erken tanıya olanak sağlamaktadır (2-14). Bu çalışmada Fanconi aplastik anemisi teşhis edilen kardeş iki olgunun klinik ve sitogenetik bulguları değerlendirilmiştir.

Olgu Sunusu

Olgu I (Ç.S.): Büyüme ve gelişme geriliği, karın ağrısı, hematemez şikayetleri ile Tıp Fakültesi çocuk servisine yatırılan 9 yaşındaki erkek hasta, aralarında akrabalık olmayan, 40 ve 45 yaşlarındaki sağlıklı anne ve babanın 6. çocuklarıdır (Şekil 1: Pedigri III.30). Babadan alınan bilgiye göre, olgumuzun doğumu, miadında, evde, ebe yardımıyla ve komplikasyonsuz olmuştur. İki yaşına kadar motor ve mental gelişimde herhangi bir anormallik tespit edilmemiş, fakat 2 yaşından itibaren akranlarına göre gelişme geriliği dikkati çekmiştir. Gelişme geriliği, anemik bir görünüm, mikrosefali, mikroftalmi ve deride kahverengi pigmentasyon ilk anda göze çarpan olgunun yapılan fizik muayenesinde; ağırlığı 15 kg (3 persantilin altında), boyu 114 cm (3 persantilin altında) ve baş çevresi 47 cm (3 persantilin altında) olarak ölçülmüştür. Hafif derecede mental geriliği dikkati çeken olgunun her iki el başparmakta hipoplazik bir görünüm vardı. Diğer sistem muayenelerinde herhangi bir anomali tespit edilemedi. Yapılan laboratuvar incelemelerde, A grubu Rh pozitif kan grubuna sahip olgunun periferik kan incelemesinde ileri derecede anemi, lökopeni ve trombositopeni ile %12 oranında fetal hemoglobin tespit edildi. El bilek grafisinde 3 yaşa uygun kemik gelişimi ve başparmak hipoplazisi görüldü (Şekil 2). İntravenöz piyelografi ve batin ultrasonografisi normaldi.

Şekil 3. Endoreduplikasyon



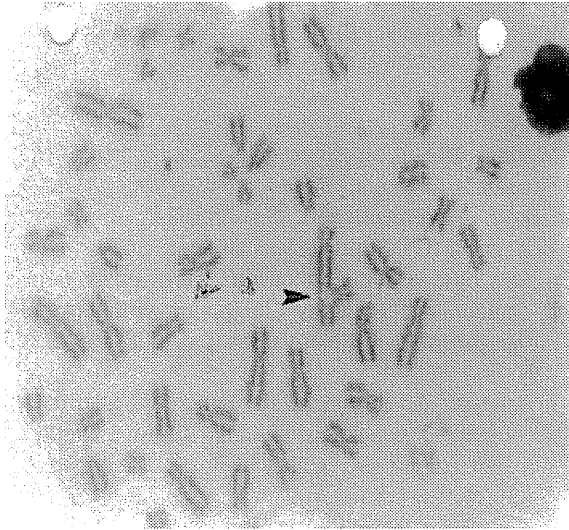
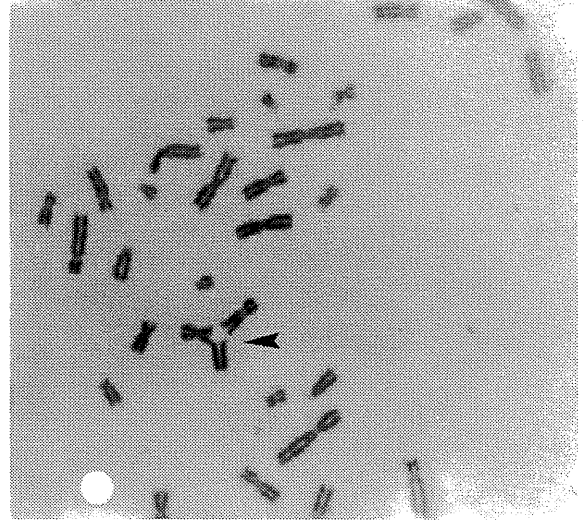
Olgu 2 (Ş.S.): Gelişme geriliği, kanama diyatezi şikayetleri ile Tıp Fakültesi Çocuk servisine yatırılan, 12 yaşındaki olgumuz aynı ailenin 4. çocuğu olup, ilk olgunun kız kardeşidir (Şekil 1: Pedigri III.28). Babadan alınan bilgiye göre, olgu 2'nin doğumu normal yolla, miadında, ebe yardımı ile ve komplikasyonsuz olmuş ve 2-3 yaşlarına kadar herhangi bir anormal durum gözlenmemiştir. Daha sonraları akranlarına ve diğer kardeşlerine göre gelişme geriliği görülmüştür. Gelişme geriliği, solukluk, mikrosefali görünüm ve deride kahverengi pigmentasyonu olan olgunun, ağırlığı 26 kg (3 persantilin altında), boyu 132 cm (3 persantilin altında) ve baş çevresi 49 cm (3 persantilin altında) idi. Olgu 1'deki gibi hafif derecede mental gerilik dikkati çekti. Yapılan laboratuvar incelemelerde, O grubu Rh pozitif kan grubuna sahip olgunun periferik kan incelemesinde ileri derecede anemi, lökopeni ve trombositopeni ile %10 oranında fetal hemoglobin tespit edildi. El bilek grafisinde 5-6 yaşa uygun kemik gelişimi ve olgu 1'e göre daha hafif başparmak hipoplazisi görüldü. İntravenöz piyelografi ve batin ultrasonografisinde patoloji saptanamadı.

Sitogenetik İncelemeler

Her ki olgudan, biri spontan diğeri de klastojenik bir ajan olan mitomisin C ile eş zamanlı olarak indüklenmek üzere 2 ml heparinize venöz kan alındı. Spontan çalışma için yaklaşık 1 ml heparinize venöz kan, %20'lik sığır serumu ve uygun oranlarda fitohemaglutininin, L-glutamin, antibiyotik ihtiva eden RPMI 1640 besiyerine konarak 37°C'de 72 saat olmak üzere lenfosit kültürü yapıldı. İnkübasyonun son iki saatinde kültür ortamına 0.05ug/ml oranında

Tablo 1. Fanconi aplastik anemili iki hasta ve üç kontrolün spontan ve mitomisin C ile indüklenmiş metafaz plaklarının değerlendirilmesi (MMC: Mitomisin C).

| Olgu | Spontan | Değerlendirilen metafaz sayısı | Anormal metafaz | Anormal metafaz oranı (%) | Gap | Kromatid kırığı | Dikromatid kırığı | Yeniden düzenlenme | Endoredüpl kasyon | Disentrik kromozom | Asentrik kromozom | Delesyon kromozom | Minnute kromozom |
|-------------|---------|-----------------------------------|--------------------|------------------------------|-----|-----------------|-------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| | | | | | | | | | | | | | |
| Olgu I | 88 | 25 | 29 | 73 | 25 | 26 | 23 | 15 | 9 | 5 | 18 | 5 | 3 |
| | MMC | 47 | 34 | 73 | 27 | 24 | 21 | 13 | 11 | 8 | 22 | 7 | 4 |
| Olgu II | 94 | 26 | 27 | 27 | 27 | 16 | 19 | 18 | 5 | 8 | 11 | 6 | 2 |
| | MMC | 42 | 29 | 70 | 27 | 21 | 24 | 16 | 3 | 8 | 13 | 8 | 4 |
| Kontrol I | 100 | - | 0 | 0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | MMC | 100 | 5 | 5 | 4 | 3 | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Kontrol II | 100 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | - | - | - | - | - | - |
| | MMC | 100 | 8 | 8 | 6 | 9 | 4 | - | - | - | - | - | - |
| Kontrol III | 100 | 3 | 3 | 3 | 2 | 1 | 3 | - | - | - | - | - | - |
| | MMC | 100 | 7 | 7 | 8 | 3 | 5 | - | - | - | - | - | - |

Şekil 4. Bitişik Quadriradial Tipi Kromozomal Yeniden Düzenlenme (Okla işaretli)**Şekil 5. Triradial Tipi Kromozomal Yeniden düzenlenme (Okla işaretli)**

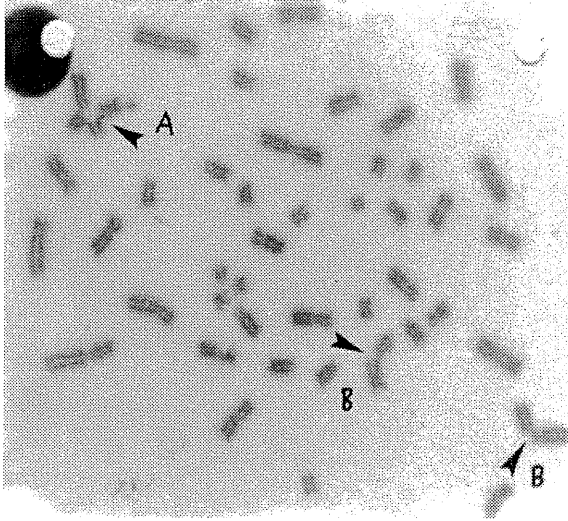
kolşisin eklendi. Santrifülemeyi takiben kültür ortamı hipotonik solüsyon (0.075 M KCl) ve fizyotatif (3:1- Metanol:Asetik Asit) ile muamele edilerek standard kromozom çıkarım işlemi gerçekleştirildi (15). Mitomisin-C ile indüklemeye, %20'lik sıgır serumu ve uygun oranlarda fitohemaglutinin, L-glutamin, antibiyotik ihtiva eden RPMI 1640 besi yerine son konsantrasyonu 20 ng/ml olacak şekilde mitomisin-C eklendi. Daha sonraki işlemler bir öncekinin aynıydı (16). Olgularla birlikte sağlıklı 3 kontrolden ve olgulara refakat eden babadan spontan ve mitomisin C ile indüklemeye yoluyla kromozom analizi yapıldı. Kontrollerde herhangi bir teknik sorun ortaya çıkmazken, babadan iki kez tekrarlanmasına rağmen değerlendirilebilecek miktarda ve kalitede metafaz plağı elde edilemedi. Daha sonraki girişim isteklerine baba müsaade etmedi. Hazırlanan preparatlar konvansiyonel teknikle Giemsa ile boyandı (17). Her iki hastanın spontan ve mitomisin C ile indüklenerek hazırlanmış metafaz plaklarının tümü ile, kontrollerden elde edilen 100'er metafaz plağı kromozom anomalileri yönünden incelendi (Tablo I).

Tartışma

Fanconi aplastik anemisi oldukça seyrek görülen otozomal resessif bir hastalıktır. Bugüne kadar 300'ün üzerinde olgu rapor edilmiştir. Rapor edilen bu olguların ebeveynleri üzerine yapılan incelemelerde kan yakını evlenmelerin %20 civarında olduğu gözlenmiştir. Bazı ailelerde sib konsantrasyonu nedeniyle bazen 2-3 kardeşte birden hastalık görülmekte olup bunlar "familial", diğer tek olgular ise "sporadik" olarak adlandırılmaktadır (4,7,13,14). Fanconi aplastik anemisinde pansitopeniyeye eşlik eden motor ve mental geriliği,

mikrosefali, deride kahverengi pigmentasyon, elde baş parmak hipoplazisi, radial hipoplazi veya aplazi, hipogenitalizm, renal anomaliler ve kulak anomalileri gibi konjenital bozukluklar klinik olarak geniş varyasyon göstermektedir. Her iki olgumuzda da ciddi anemi, lökopeni ve trombositopeni ile fetal hemoglobin yüksekliğine ilaveten fizik gelişme geriliği, hafif derecede mental küntlük, mikrosefali, iskelet anomalilerinden el baş parmağı hipoplazisi ve deride kahverengi pigmentasyon gibi klinik bulgular mevcuttu. Fanconi aplastik anemisinde teşhisin en önemli kriterlerinden biri olan standard kromozom analizi sonucu her iki olguda sırasıyla, %29 ve %27 oranlarında spontan dikromatid ve kromatid kırıkları, gaplar, endoreduplikasyonlar, triradial ve quadriradial şeklinde yeniden düzenlenmeler, minute, asentrik ve disentrik kromozomlar ile delesyonlar gibi anormal kromozomal yapılar gözlemlendi (Şekil 3, 4, 5, 6). Olgulara ait lenfosit kültürlerinin mitomisin C ile indüklenmesi sonucu standard teknikle hazırlanan metafaz plaklarına oranla anormal kromozomal yapılar sırasıyla %73 ve %70 'lere ulaşarak bir öncekine oranla yaklaşık 2.5 misli artış gösterdi. Bu arada kontrol grubunda da standard teknik ve mitomisin C ile indüklenerek kromozom analizi yapılmıştır. Standard teknikle hazırlanan metafaz plaklarının incelenmesinde anlamlı olabilecek kromozom anormallliği (%0, %2, %3) gözlenemez iken, mitomisin C ile indüklenerek hazırlanmış metafaz plaklarının incelenmesi sonucu sırasıyla % 5, %8 ve %7 oranlarında ve sadece gap, kromatid ve dikromatid kırıkları tespit edilmiş, fakat Fanconi aplastik anemili hasta kromozomlarında gözlenen endoreduplikasyona, triradial ve quadriradial görünümündeki yeniden düzenlenmelere, minute, asentrik ve disentrik

**Şekil 6. A) Quadriradial Tipte Kromozomal Yeniden
Düzenlenme (Okla işaretli),
B) Kromatid Kırıkları (Okla işaretli)**



kromozomlar ile delesyonlar gibi anormal kromozomal yapılar hiç rastlanılmamıştır (Tablo 1). Fanconi aplastik anemisinde mitomisin C, diepoksibütan, nitrojen mustard, isoniazid hidrazid gibi klastojen maddeler düşük oranda bulunan spontan kırıkları ve eşlik eden diğer kromozomal düzensizlikleri artırarak bu hastalığın tanısında önemli olduğu gibi, heterozigot bireylerin ortaya konmasında ve prenatal tanıda hasta fetusu belirlemede yardımcı olmaktadır (2-4, 7-14). Fanconi aplastik anemili hastalarda gözlenen endoreduplikasyon ve minute kromozomların ileride malignite eğilimi için gösterge olabileceği belirtilmektedir (14). Her iki olgumuzda da standard teknikle ve mitomisin C ile indüklenerek hazırlanan metafaz plaklarının incelenmesi sonucu değişen oranlarda endoreduplikasyon ve minute kromozomlara rastlanmış olup, hastalar ileride gelişebilecek malign olaylar, özellikle akut miyelositik lösemi yönünden uyarılmış ve periyodik olarak kontrole çağırılmıştır. Fanconi aplastik anemili hastalarda görülen en karakteristik kromozom anomalisi non-homolog kromozomlar arasındaki translokasyonlar sonucu oluşan triradial ve haç kromozomları gibi yeniden düzenlenmelerdir. Bu hastalarda yaklaşık %30 oranında spontan kromozom anomalileri görülmesine rağmen, kardeş kromatid değişimlerinde herhangi bir artış tespit edilememiştir (7,14).

Sonuç olarak Fanconi aplastik anemisi düşünülen ve pansitopeniye ilaveten değişik derecelerde konjenital anomalilerin görüldüğü hastalarda rutin laboratuvar tetkikleri yanısıra sitogenetik analiz de tanıyı destekleyici ve prognoz üzerine etkisi dikkate

alınarak yapılmış bu çalışmada, kardeş olan iki olgu klinik ve sitogenetik olarak "konjenital Fanconi aplastik anemisi" tanısını almış, gerekli tedavileri ilgili klinikte yapılmış ve ileride gelişebilecek malignite açısından uyarılarak, belirli aralıklarla kontrollere çağırılmıştır.

Kaynaklar

1. Meme JS, Gripenberg U, Kahkönen M: Fanconi's anaemia; breakage in a large African family. *Hereditas* 1980; 93: 255-260
2. Yoshida MC: Suppression of spontaneous and mitomycin C-induced chromosome aberrations in Fanconi's anemia by cell fusion with normal human fibroblasts. *Hum. Genet.* 1980; 55: 223-226
3. Rosendorff J, Bernstein R: Fanconi's anemia - chromosome breakage studies in homozygotes and heterozygotes. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1988; 33: 175-183
4. Şaylı BS. *Medikal sitogenetik.* Ankara: Yargıçoğlu Yayınevi, 1986: 186-188
5. Jones KL. *Smith's recognizable patterns of human malformation.* Philadelphia: Saunders, 1988: 274-275
6. Hall JG. *Dysostoses.* In: Emery AEH, Rimoin DL. (ed). *Principle and practice of medical genetics.* New York: Churchill Livingstone, 1990: 979-980
7. Therman E, Susman M. *Human chromosomes structure, behaviour, and effects.* New York: Springer-Verlag, 1993: 118-125
8. Cervenka J, Arthur D, Yasis C: Mitomycin C test for diagnostic differentiation of idiopathic aplastic anemia and Fanconi Anemia. *Pediatrics* 1981; 67: 119-127
9. Rysiecki GD, Hulten M, Mann J, Taylor AMR: Clinical and cytogenetic diversity in Fanconi's anaemia. *J. of Med. Genet.* 1984; 21: 197-203
10. Auerbach AD, Sagi M, Adler B: Fanconi anemia: prenatal diagnosis in 30 fetuses at risk. *Pediatrics* 1985; 76: 794-800
11. Auerbach AD, Min Z, Rita G, et al: Clastogen-induced chromosomal breakage as a marker for first trimester prenatal diagnosis of Fanconi anemia. *Hum. Genet.* 1986; 73: 86-88
12. Lüleci G, Yeğin O, Bağcı G, Acar A, Bektaş S: Cytogenetic findings of a suspected case of Fanconi's anemia. *The J. of Fırat Univ.* 1987; 2: 105-109
13. Ilgın H, Akarsu N, Tükün T, Tunçman G, Karabulut H, Bökesoy I: Fanconi anemili hastalarda sitogenetik değerlendirme. *Ulusal III: Tıbbi Biyoloji Kongresi 29 Ekim -01 Kasım 1994; SG-50*
14. Çalışkan Ü, Erkul İ, Acar A, Demirel S, Acar H: Fanconi aplastik anemili ve fanconi aplastik anemisi ile birlikte seyreden AML'li iki olgunun

- değerlendirilmesi. S.Ü. Tıp Fak. Der. 1989; 5: 321-330
15. Watt JL, Stephen GS. Lymphocyte culture for chromosome analysis. Rooney DE, Czepulkowsky BH (ed). Oxford: IRL Press, 1986: 39-49
16. Harrison CJ. Diagnosis of malignancy from chromosome preparations. Rooney DE, Czepulkowsky BH (ed). Oxford: IRL Press, 1986: 141
17. Benn PA, Perle MA. Chromosome staining and banding techniques. Rooney DE, Czepulkowsky BH (ed). Oxford: IRL Press, 1986: 58-60

Yazışma Adresi:

Yrd.Doç. Dr.Sıtkı ÖZTAŞ

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

25240, Erzurum