

بررسی آسیب‌های ژنتیکی ناشی از پروتکل‌های شیمی درمانی و پرتو درمانی در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوئیدی حاد به روش میکرونوکلئتی‌اسی

منحسَن طاهری^{۱*} (M.Sc)، سعید شهرابی^۲ (M.Sc)، حسین مزدارانی^۳ (Ph.D)، مینا ایزدی‌ار^۴ (M.D)

- ۱- دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه ایمنوهماتولوژی
- ۲- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، گروه هماتولوژی
- ۳- دانشگاه تربیت مدرس، دانشگاه علوم پزشکی، گروه رادیولوژی
- ۴- دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان مرکز طبی اطفال، بخش هماتولوژی

خلاصه

سابقه و هدف: لوسمی‌های حاد که از تغییر شکل بدخیم سلول خون ساز ناشی می‌شوند در غالب موارد با ناهنجاری‌های سیتوژنتیکی مشخصی همراه است. درمان این بیماری (شیمی درمانی و پرتو درمانی) نیز سبب تغییرات سیتوژنتیک و انواع ناهنجاری‌های کروموزومی می‌گردد. سلول‌های خون ساز یکی از سلول‌های بسیار حساس بدن نسبت به مواد شیمیایی و اشعه هستند و استفاده از این مواد تغییرات زیادی را در مغز استخوان به وجود می‌آورد که از آن جمله تغییرات سیتوژنتیک و انواع ناهنجاری‌های کروموزومی است. یکی از روش‌های اندازه‌گیری آسیب‌های ژنتیکی و ناهنجاری‌های کروموزومی، اندازه‌گیری فراوانی بروز میکرونوکلئتی در سلول‌های خونی مغز استخوان است. هدف این مطالعه، بررسی آسیب‌های ژنتیکی ناشی از پروتکل‌های شیمی درمانی و پرتو درمانی در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوئیدی حاد به روش میکرونوکلئتی‌اسی است.

مواد و روش‌ها: در تحقیق حاضر آسیب‌های ژنتیکی ناشی از شیمی درمانی و پرتو درمانی در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوئیدی حاد (ALL) به روش میکرونوکلئتی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته است. در این تحقیق ۴۰ بیمار مبتلا به ALL مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند. بیماران با توجه به مرحله درمانی به ۴ گروه بیمارانی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده‌اند، بیماران مرحله Induction، بیماران مرحله Consolidation و بیماران مرحله Maintenance تقسیم بندی شدند و ۱۰ نفر نیز به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که فراوانی بروز میکرونوکلئتی بعد از هر مرحله از درمان اختلاف معنی داری نسبت به مرحله قبل نشان می‌دهد که در مورد بیمارانی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده‌اند نشانگر آسیب ژنتیکی خودبخودی است و در مورد بقیه گروه‌ها نیز باید گفته شود که شیمی درمانی و پرتو درمانی موجب فراوانی بروز میکرونوکلئتی در سلول‌های خونی مغز استخوان شده که این نشانگر بروز آسیب‌های ژنتیکی در اثر استفاده از این داروها است.

نتیجه‌گیری: یافته‌های فوق نشان می‌دهد که شیمی درمانی و پرتو درمانی در بیماران مبتلا به لوسمی حاد لنفوئیدی سبب افزایش آسیب‌های ژنتیکی در این افراد شده و هر چه تعداد اریتروسیت‌های حاوی میکرونوکلئتی افزایش یابد تعداد اریتروبلاست‌های حاوی میکرونوکلئتی هم افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: لوسمی، شیمی درمانی، آسیب ژنتیکی، میکرونوکلئتی‌اسی

مقدمه

لوسمی‌ها دسته‌ای از نئوپلاسم‌های ناهمگن بوده که از تغییر شکل بدخیم سلول‌های خون ساز ناشی می‌شوند. لوسمی‌های حاد با تقسیم و تجمع غیرقابل کنترل پیش سازهای لکوسیتی که به طور محدودی متمایز می‌شوند مشخص می‌گردد و در غالب موارد با ناهنجاری‌های کروموزومی همراه می‌باشند که به صورت تغییر در تعداد یا تغییر در ساختمان کروموزوم می‌باشد [۳، ۱۴]. درمان اختصاصی لوسمی حاد در درجه اول شامل شیمی درمانی است و گاهی از اوقات می‌توان از پرتو درمانی هم به عنوان مکمل استفاده کرد. درمان لوسمی‌های حاد را به مراحل مشخصی تقسیم بندی می‌کنند که شامل مراحل زیر است:

- 1 - Remission Induction
- 2 - Consolidation
- 3 - CNS Prophylaxy
- 4 - Maintenance

داروهایی که برای شیمی درمانی استفاده می‌شود علاوه بر سلول‌های بدخیم روی سلول‌های سالم هم تاثیر دارند و بیش از همه نسوج فعال و درحال رشد و تکثیر مثل مغز استخوان، تحت تاثیر زیان بخش آنها قرار می‌گیرند. به عبارت دیگر، داروهای ضد سرطان در مرحله‌ای از مراحل تقسیم و تکثیر سلولی وارد عمل می‌شوند و با اختلال در ترکیبات یا اعمال سلولی از تقسیم و ازدیاد سلول جلوگیری می‌نمایند و چون سلول‌های سرطانی با سرعتی زیاد رشد و تکثیر می‌نمایند اثر داروهای فوق روی آنها شدیداً ظاهر می‌شود لیکن هر سلول غیر سرطانی بدن هم که دارای رشد و تکثیر سریع باشد تحت اثر مخرب دارو قرار می‌گیرد [۲].

عوامل متعدد فیزیکی و شیمیایی قادر به ایجاد انواع آسیب‌ها در مولکول DNA می‌باشند. آسیب‌هایی که در DNA بوجود می‌آید به سه دسته تقسیم می‌شوند:

- ۱- آسیب بازها، ۲- شکستگی در یک رشته DNA و
- ۳- شکستگی در دو رشته DNA. پاره‌ای از این آسیب‌ها

مانند آسیب بازها و شکستگی یک رشته در زمان بسیار کوتاهی ترمیم می‌شوند، در حالی‌که پاره‌ای دیگر مانند شکستگی در دو رشته به کندی ترمیم می‌شوند. سیستم ترمیم DNA جوابگوی کلیه آسیب‌های وارده به ژنوم نبوده و در نهایت بسیاری از آنها به صورت ناهنجاری کروموزومی یا آسیب بازی بروز می‌کند [۱۰].

یکی از تست‌هایی که برای بررسی اثرات موتاژنی داروها و مواد شیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرد تست میکرونوکلی است [۶]. این روش وسیله مناسبی جهت مشخص نمودن آسیب‌های کروموزومی ایجاد شده در مقادیر پائین مواد شیمیایی و پرتوها می‌باشد [۱۶]. همچنین برای اندازه‌گیری فعالیت کلاستوزنتیک و موتاژنیسته داروها و مواد مختلفی مانند متاتروکسات، وینکرسستین و... مورد استفاده قرار گرفته است [۴، ۱۸]. در تحقیق حاضر آسیب‌های ژنتیکی ناشی از شیمی درمانی و پرتودرمانی در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوئیدی حاد به روش میکرونوکلی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

بیماران. در این تحقیق، ۴۰ بیمار مبتلا به لوسمی لنفوئیدی حاد (ALL) مراجعه کننده به بخش هماتولوژی مرکز طبی اطفال مورد مطالعه قرار گرفتند. با توجه به مرحله درمانی و نوع درمان، بیماران به ۴ گروه تقسیم شدند:

- ۱- بیماران فاقد هیچ‌گونه درمان، ۲- بیماران مرحله Induction، ۳- بیماران مرحله Consolidation و ۴- بیماران مرحله Maintenance. در هر گروه از ۱۰ نفر نمونه‌گیری به عمل آمد، ۱۰ نفر نیز به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد و از آنها نیز نمونه‌گیری به عمل آمد (گروه شاهد افرادی با همان رده سنی بیماران که، بدخیمی نداشته و نیز تا به حال شیمی درمانی یا رادیوتراپی نشده بودند) (جدول ۱).

ابتدا از بیماران، پونکسیون مغز استخوان توسط پزشک متخصص به عمل آمد و نمونه مورد نظر به شیشه

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار و تعداد میکرونوکلی در گروه شاهد و مراحل مختلف درمان

بیماران	میانگین سن (سال)	انحراف معیار	جنس		میانگین تعداد MN در اریتروسیت	انحراف معیار	میانگین تعداد MN در اریتروبلاست	انحراف معیار
			پسر	دختر				
گروه شاهد	۸	۱/۵	۵	۵	۰/۲	±۰/۱۳۳	۰/۴	±۰/۲۲۱
درمان نشده	۸/۵	۲/۲	۴	۶	۱/۶	±۰/۳۰۶	۱/۵	±۰/۲۶۹
Induction	۷	۲/۵	۳	۷	۷/۷	±۰/۷۹۰	۱۰/۵	±۰/۸۴۷
Consolidation	۹/۵	۲/۲	۵	۵	۲۰/۹	±۰/۲/۰۴	۱۶/۲	±۱/۸۲
Maintenance	۹	۱/۹	۳	۷	۲۴/۷	۱/۴۹	۱۸/۲	۲/۲۵

آنافاز را از دست می‌دهند. بعد از تلفاز که غشاء هسته به دور هسته‌های دختری تشکیل می‌شود تعدادی از این قطعات عقب مانده به هسته‌های دختری وارد شده و به همین دلیل یک یا چند هسته ثانویه مجزا را تشکیل داده که بسیار کوچکتر از هسته‌های طبیعی سلول بوده و به آنها میکرونوکلی می‌گویند. چنین حوادثی در صورت اختلال در عملکرد دوک‌های تقسیم نیز رخ می‌دهد [۷]. بین تولید میکرونوکلی در اریتروسیت و ناهنجاری کروموزومی در متافاز سلول‌های مغز استخوان توسط اشعه و مواد شیمیائی مختلف همبستگی خوبی دیده می‌شود، به طوری که می‌توان در نظر گرفت که ایجاد میکرونوکلی توسط اشعه یا مواد شیمیایی ایجاد ناهنجاری کروموزومی را منعکس می‌کند [۹].

آنالیز آماری. برای آنالیز آماری بین گروه‌ها از آزمون t و آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید.

نتایج

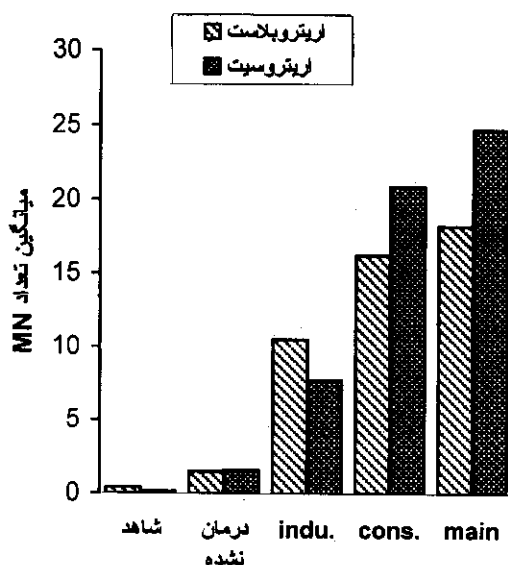
۱- ۴۰ بیمار مبتلا به لوسمی لنفوئیدی حاد مراجعه کننده به بخش هماتولوژی مرکز طبی اطفال در محدوده سنی ۱ تا ۱۰ سال که از این تعداد، ۲۵ پسر و ۱۵ دختر بودند. همچنین ۱۰ نفر نیز به عنوان گروه شاهد که ۵ پسر و ۵ دختر بودند در نظر گرفته شدند. برای هر نفر از گروه شاهد و بیماران، ۵۰۰۰ اریتروسیت و ۵۰۰ اریتروبلاست شمارش و تعداد میکرونوکلی در آنها ثبت گردید. تعداد میکرونوکلی در اریتروسیت‌های گروه شاهد بین ۰ تا ۱

حاوی EDTA منتقل شد. سپس مغز استخوان موجود با ۲ میلی لیتر سرم جنین گوساله (Fetal calf serum) مخلوط گردید و به مدت ۶ دقیقه با دور ۱۰۰۰rpm سانتریفوژ گردید. محلول رویی را تا حد امکان خالی کرده، رسوب را به صورت محلول درآورده و قطره‌ای از آن را روی لام گذاشته گسترش تهیه می‌گردید. رنگ آمیزی لام‌ها با رنگ مای‌گرانوالدگیمسا و به ترتیب زیر انجام می‌شد [۱۳]:

۱- فیکس کردن لام‌ها به مدت سه دقیقه در متانول،
 ۲- قرار دادن لام‌ها به مدت ۳ دقیقه در رنگ مای‌گرانوالد خالص،
 ۳- رقیق شدن در رنگ مای‌گرانوالد با آب مقطر به نسبت ۱:۱ به مدت ۲ دقیقه،
 ۴- شستشوی لام‌ها،
 ۵- قرار گرفتن در رنگ گیمسای رقیق شده با آب مقطر ۵٪ به مدت ۲۰ دقیقه و
 ۶- شستشوی لام‌ها و خشک کردن آنها.
 سپس بررسی میکروسکوپی انجام و برای هر بیمار ۵۰۰۰ اریتروسیت و ۵۰۰ اریتروبلاست شمارش و تعداد میکرونوکلی در آنها ثبت گردید [۱].

آزمون میکرونوکلی بر اساس اصول و مشاهدات زیر پایه‌ریزی شده است: هنگامی که سلولی با شکست کروماتیدی یا جابجایی متحمل میتوز می‌شود بخش کوچکی از کروماتین در هسته دختر قرار نگرفته و خود به تنهایی تشکیل میکرونوکلی را می‌دهد [۱۳]. یعنی، در آنافاز کروماتیدها و قطعات کروموزومی فاقد سانترومر و همچنین واجد دو سانترومر در حین حرکت کروموزوم‌ها به قطبین عقب می‌افتند زیرا توانائی مهاجرت در طی

این گروه تعداد میکرونوکلی بین ۸ تا ۲۷ بود و میانگین تعداد میکرونوکلی در اریتروبلاست‌های این گروه ۱۶/۲ بدست آمد. مقایسه نتایج بین بیماران مرحله Consolidation با گروه شاهد و بیمارانی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده‌اند نشان می‌دهد که بین دو گروه برای متوسط فراوانی بروز میکرونوکلی در اریتروسیت و اریتروبلاست اختلاف معنی داری ($P < 0.001$) وجود دارد (نمودار ۱).



نمودار ۱. میانگین تعداد MN در اریتروبلاست‌ها و اریتروسیت‌ها در گروه شاهد و مراحل مختلف درمان

همچنین در مقایسه بیماران مرحله Induction، برای متوسط فراوانی بروز میکرونوکلی در اریتروسیت‌ها و برای متوسط فراوانی بروز میکرونوکلی در اریتروبلاست‌ها اختلاف معنی داری به ترتیب در سطح $P < 0.001$ و $P < 0.014$ وجود دارد (نمودار ۱).

درمان نگهدارنده یا Maintenance با دوز پایین شیمی درمانی انجام و برای چند مدت به منظور جلوگیری از رشد سلول‌های لوسمیک باقیمانده ادامه می‌یابد. تعداد و میانگین تعداد میکرونوکلی در اریتروسیت‌های این گروه به ترتیب بین ۶ تا ۳۰ و ۲۴/۷ بدست آمد. تعداد و میانگین تعداد میکرونوکلی در اریتروبلاست‌ها به ترتیب بین ۱۰ تا ۲۷ و ۱۸/۲ بدست آمد. آنالیز آماری یافته‌های بیماران این گروه و بیماران

بود و میانگین تعداد میکرونوکلی در اریتروسیت‌های این گروه ۰/۲ بدست آمد. همچنین تعداد میکرونوکلی در اریتروبلاست‌های گروه شاهد بین ۲ تا ۰ بود و میانگین تعداد میکرونوکلی در اریتروبلاست‌های این گروه ۰/۴ بدست آمد (جدول ۱).

۲- تعداد و میانگین میکرونوکلی در اریتروسیت‌های بیمارانی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده‌اند به ترتیب بین ۰ تا ۳ و ۱/۶ بود. آزمون t اختلاف معنی داری ($P < 0.001$) بین میانگین تعداد میکرونوکلی در اریتروسیت‌های این گروه و گروه شاهد نشان داد (نمودار ۱). همچنین تعداد و میانگین میکرونوکلی در اریتروبلاست‌های بیمارانی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده‌اند به ترتیب بین ۰ تا ۳ و ۱/۵ بود. آزمون t اختلاف معنی داری ($P < 0.005$) بین این گروه و گروه شاهد نشان می‌دهد (نمودار ۱).

مرحله Induction یا القاء رمیسیون، بحرانی‌ترین مرحله شیمی درمانی است که طی آن شیمی درمانی سیستمیک به منظور کاهش توده سلول‌های لوسمیک انجام می‌شود. تعداد و میانگین میکرونوکلی در اریتروبلاست‌های این گروه به ترتیب بین ۴ تا ۱۲ و ۷/۷ بود. همچنین تعداد و میانگین میکرونوکلی در اریتروبلاست‌های این گروه به ترتیب بین ۷ تا ۱۵ و ۱۰/۵ بود. آنالیز واریانس، حاکی از وجود اختلاف معنی دار بین میانگین میکرونوکلی در بیماران مرحله Induction، گروه شاهد و بیمارانی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده‌اند است. آنالیز بعدی (آزمون t) نشان می‌دهد که بین همه این گروه‌ها برای متوسط فراوانی بروز میکرونوکلی در اریتروسیت و اریتروبلاست اختلاف معنی داری ($P < 0.001$) وجود دارد (نمودار ۱).

درمان تحکیمی یا Consolidation که متعاقب القاء رمیسیون صورت می‌گیرد به منظور کاهش توده سلول لوسمیک و یا ایده‌آل‌تر از آن برای ریشه‌کن کردن لوسمی به روش شیمی درمانی سیستمیک انجام می‌شود. تعداد و میانگین میکرونوکلی در اریتروسیت‌های این گروه‌ها به ترتیب بین ۷ تا ۳۰ و ۲۰/۹ بود. در اریتروسیت‌های

میکرونوکلی و طول عمر بیماران پیدا کند و نشان داد که رابطه‌ای معکوس بین مقدار میکرونوکلی و طول عمر بیماران وجود دارد لذا استفاده از تست میکرونوکلی برای پیش آگهی در این بیماران درست به نظر می‌رسد [۸].

همچنین یافته دیگر پژوهش نشان می‌دهد که درمان سبب افزایش بروز میکرونوکلی می‌شود و با هر مرحله از درمان تعداد این ذرات افزایش می‌یابد که این نشان‌گر بروز آسیب‌های ژنتیکی در اثر استفاده از این داروهاست. یعنی این رژیم درمانی علاوه بر آسیب‌هایی که در سلول بدخیم ایجاد می‌کند در سلول‌های سالم از جمله سلول‌های رده اریترئیدی هم این آسیب‌ها را ایجاد می‌کند که از عوارض جانبی این رژیم درمانی محسوب می‌شود. گزارش نتایج Tatsuo و همکاران در مورد اثرات درمان در ۱۰ بیمار مبتلا به لوسمی حاد [۱۳]، نتایج Yashige و همکاران در مورد اثرات درمان در ۶۰ بیمار مبتلا به سندرم میلودیسیپلاستیک و ۲۱ بیمار مبتلا به لوسمی حاد [۱۷] و نتایج Slavotinx و همکاران بر روی ۴۱ بیمار مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد نیز موید این نتیجه‌گیری است [۱۲]. این امر ما را وادار به فکری جدی در رابطه با استفاده از موادی جهت جلوگیری از این آسیب‌ها می‌کند [۱۱، ۵]. همچنین در مقایسه نتایج بیماران گروه Maintenance با بیماران گروه Consolidation مشاهده می‌شود که بین دو گروه اختلاف معنی داری وجود ندارد به نظر می‌آید قسمتی از آن مربوط به دوز پائین دارویی باشد که در این مرحله استفاده می‌شود و قسمت دیگر نیز مربوط به روند اتصال دارو می‌باشد زیرا روند اتصال تابع غلظت است لذا پس از یک غلظت معین داروها دیگر ایجاد آسیب بیشتری نمی‌توانند بکنند. همچنین یافته دیگر پژوهش نشان می‌دهد که بین تعداد میکرونوکلی در اریتروسیت و اریتروبلاست همبستگی زیادی وجود دارد، یعنی هرچه در فردی تعداد اریتروسیت‌های محتوی میکرونوکلی بالا رود تعداد اریتروبلاست‌های محتوی میکرونوکلی هم افزایش می‌یابد که نتایج Tatsuo و همکاران در مورد

گروه شاهد، بیمارانی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده‌اند و بیماران مرحله Induction حاکی از وجود تفاوت معنی دار در متوسط فراوانی بروز میکرونوکلی در اریتروسیت و اریتروبلاست است ($P < 0.001$). همچنین مقایسه نتایج بین این گروه با بیماران مرحله Consolidation نشان می‌دهد که بین دو گروه برای متوسط فراوانی بروز میکرونوکلی در اریتروسیت و اریتروبلاست اختلاف معنی داری وجود ندارد ($P < 0.0498$ و $P < 0.0152$). نتایج آنالیز واریانس یک طرفه نشان می‌دهد که بین گروه‌ها با $P < 0.001$ اختلاف معنی داری وجود دارد.

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که بین گروه شاهد و بیمارانی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده‌اند برای متوسط فراوانی بروز میکرونوکلی اختلاف معنی داری وجود دارد که این نشانگر آسیب ژنتیکی خودبخودی در بیماران مبتلا به لوسمی است و نشان می‌دهد که در بیماران مبتلا به لوسمی علاوه بر ناهنجاری‌های کروموزومی مانند جابجایی، شکست‌های کروموزومی نیز مشاهده می‌شود و ممکن است این شکست‌های خودبخودی از علل بروز جابجایی‌های متنوع بین کروموزوم‌های مختلف باشد. وجود ناهنجاری‌های کروموزومی اعم از شماره‌ای یا ساختمانی در تعداد بسیار زیادی از بیماران مبتلا به لوسمی گزارش شده است. به عنوان مثال طی تحقیقی که Testa و همکاران انجام دادند به این تغییرات اشاره نموده‌اند [۱۴]، همچنین در تحقیقی که pemfild و همکارانشان بر روی بیماران مبتلا به لوسمی حاد لنفوییدی انجام داده‌اند نشان دادند که غالب لوسمی‌های کودکان اختلالات کروموزومی را نشان می‌دهند که به صورت تغییر در تعداد یا تغییر در ساختمان کروموزومی می‌باشد [۱۳]، همچنین براساس مشاهدات اسمیرمغزاستخوان ۲۵ بیمار مبتلا به ALL که درمان نشده بودند Hosted توانست رابطه‌ای بین مقدار

- [8] Hogstedt, B., Nilson, P.G. and Mitelman . F., Micronuclei in erythropoietic bone marrow cells: relation to cytogenetic pattern and prognosis in acute nonlymphocytic leukemia, *Cancer Genet. Cytogenet.* 3(1981)185-193.
- [9] Mille, R.C., The micronucleus test as an in vivo cytogenetic method, *Environ. Health Presp.*, 6(1973)167-170.
- [10] Savage, J.R.K., Annotation: Classification and relationship of induced chromosomal structural changes, *J. Med. Genet.*, 12 (1975) 103-122.
- [11] Schneider, M., Diemer, K., Engelhart . K. and Zankl, H., Protection effects of vitamin C and E on the number of micronuclei in lymphocytes in smokers and their role in ascorbate free radical formation in plasma, *Freeradic Res.*, 34(2001) 209-219.
- [12] Slavotinek, A., Thomson, A., Eynaud , P. and Pery, P., The frequency of micronuclei in bone marrow erythroblasts during the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia, *Mutation Res.*, 303 (1993) 11-18.
- [13] Tatsuo, A., Takuji, I., Yasumoto, K. and Micronuclei in human bone marrow cells: Evaluation of the micronucleus test using human leukemia patients treated with antileukemic agents, *Mutation Res.*, 130 (1984) 113-120.
- [14] Testa, J.R., Misawa, S. and Oguma, N., Chromosomal alteration in acute leukemic patients studies with improved culture methods, *Cancer Res.*, 45 (1984) 125-132.
- [15] Testa, J.R. and Rowley, J.D., Cytogenetic patterns in acute non-lymphocytic leukemia,

اثرات درمان در ۱۰ بیمار مبتلا به لوسمی نیز موید این نتیجه گیری است [۱۳].

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر رشیدی پور که در تصحیح مقاله کمال همکاری را نموده اند تشکر و قدردانی به عمل می آید.

منابع

- [1] Adler, I.D., Micronucleos assay citenegotyc tests in mammals, Hardcover, First Edition, 1989, pp: 298-306
- [2] Bernadette, F., Rodak diagnostic hematology, First Edition, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1995, pp:411-425
- [3] Bloomfield, C.D., Goldman Ai., Alimena, G., Chromosomal abnormalities identify high risk and low-risk patient with acute lymphoblastic leukemia, *Blood*, 67 (1986) 415-419.
- [4] Choudhury, R.C., Das, B., Misra, S. and Jagdal, M.B., Cytogenetic toxicity of vincristine, *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 19 (2000) 347-355.
- [5] Halliwell, B., Vitamin C and genomic stability, *Mutation Res.*, 475 (2001) 29-35.
- [6] Heddle, J.A., Rapid in vivo test for chromosomal damage, *Mutation Res.*, 18 (1973) 187-190.
- [7] Heddle, J.A. and Carrano, A.V., The DNA content of micronuclei induced in mouse bone marrow by gamma irradiation, evidence that micronuclei arise from a centeric chromosomal fragments, *Mutation Res.*, 44 (1977) 63-69.

- myelodysplastic syndromes and acute leukemia after treatment, *Acta. Hematol.*, 101 (1999) 32-40.
- [18] Youshinori, K., Nakaia, Y., Miura, D., Yagi, K., Hirabayashi, K., Makita, T., Mechanism of micronuclei and chromosome aberration in mouse bone marrow by multiple treatments of methotrexate, *Mutation Res.*, 280 (1992) 117-128.
- Wirchows Arch. B Cell Pathol., 29 (1978) 65-72.
- [16] Vaglenov, A., Creus, A., Laltchev, S., Petkova, V., Pavlova, S. and Marcos, R., Occupational exposure to lead and induction of genetic damage, *Environ. Health Presp.*, 109 (2001) 295-298.
- [17] Yashige, H., Horriike, S., Taniwaki, M.S. and Abe, T., Micronuclei and nuclear abnormalities observed in erythroblasts in