جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

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

محسن طاهری[۱]*(M.Sc)، سعید شهرابی[۲](M.Sc)، حسین مزدارانی[۳](Ph.D)، مینا ایزدیار[۴](M.D)

۱ـ دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه ایمنوهماتولوژی
۲ـ دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، گروه هماتولوژی
۳ـ دانشگاه تربیت مدرس، دانشگاه علوم پزشکی، گروه رادیولوژی
۴ـ 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 میکرونوکلئی 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 میکرونوکلئی‌اسی 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 میکرونوکلئی 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 میکرونوکلئی 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 پرتودرمانی موجب فراوانی بروز میکرونوکلئی 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 پرتودرمانی در بیماران مبتلا به لوسمی حاد لنفوئیدی سبب افزایش آسیب‌های ژنتیکی در این افراد شده و هر چه تعداد اریتروسیت‌های حاوی میکرونوکلئی افزایش یابد تعداد اریتروبلاست‌های حاوی میکرونوکلئی هم افزایش می‌یابد.

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

* نویسنده مسئول. تلفن: ۲۴۱۵۰۸۱-۰۵۴۱، نمابر: ۲۴۱۵۰۸۱-۰۵۴۱

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

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 - Remmission 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 می‌نماید 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 ـ آسیب بازها، ۲ـ شکستگی در یک رشته DNA و ۳ ـ 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 دیگرمانند 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 میکرونوکلئی است [۶].این روش وسیله مناسبی جهت مشخص نمودن آسیب‌های کروموزومی ایجاد شده در مقادیر پائین مواد شیمیائی و پرتوها می‌باشد[۱۶]. همچنین برای اندازه‌گیری فعالیت کلاستوژنتیک و موتاژنیسیته داروها و مواد مختلفی مانند متاتروکسات، وینکرستین و... مورد استفاده قرار گرفته است [۱۸،۴]. در تحقیق حاضر آسیب‌های ژنتیکی ناشی از شیمی درمانی و پرتودرمانی در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوئیدی حاد به روش میکرونوکلئی مورد بررسی و ارزیابی قرارگرفته 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. باتوجه به مرحله درمانی و نوع درمان، بیماران به ۴ گروه تقسیم شدند:

۱ ـ بیماران فاقد هیچ‌گونه درمان ، ۲ ـ بیماران مرحله Induction، ۳ ـ بیماران مرحله Consolidation و ۴ ـ 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

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار و تعداد میکرونوکلئی 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
			دختر	پسر				
گروه‌شاهد	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	±۰۲/۰۴	۱۶/۲	±۱/۸۲
Maintenance	۹	۱/۹	۳	۷	۲۴/۷	۱/۴۹	۱۸/۲	۲/۲۵

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 لام‌هابه مدت سه دقیقه در متانول، ۲ـ قرار دادن لامها به مدت ۳ دقیقه در رنگ مای گرانوالد خالص، ۳ ـ رقیق شدن در رنگ مای‌گرانوالد با آب مقطر به نسبت ۱:۱ به مدت ۲ دقیقه،۴ـ شستشوی لام‌ها، ۵ ـ قرارگرفتن در رنگ گیمسای رقیق شده باآب مقطر ۵٪ به مدت ۲۰ دقیقه و ۶ـ شستشوی لام‌ها و خشک کردن آنها.

سپس بررسی میکروسکپی انجام و برای هر بیمار ۵۰۰۰ اریتروسیت و ۵۰۰ اریتروبلاست شمارش و تعداد میکرونوکلئی در آنها ثبت گردید [۱].

آزمون میکرونوکلئی بر اساس اصول و مشاهدات زیر پایه‌ریزی شده است: هنگامی که سلولی با شکست کروماتیدی یا جابجایی متحمل میتوز می‌شود بخش کوچکی ازکروماتین در هسته دختر قرار نگرفته و خود به تنهایی تشکیل میکرونوکلئی 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 آنافاز را از دست می‌دهند. بعد از تلوفاز 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 میکرونوکلئی می‌گویند. چنین حوادثی در صورت اختلال در عملکرد دوک‌های تقسیم نیز رخ می‌دهد [۷]. بین تولید میکرونوکلئی 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 میکرونوکلئی توسط اشعه یا مواد شیمیایی ایجاد ناهنجاری کروموزومی را منعکس می‌کند [۹].

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

نتایج

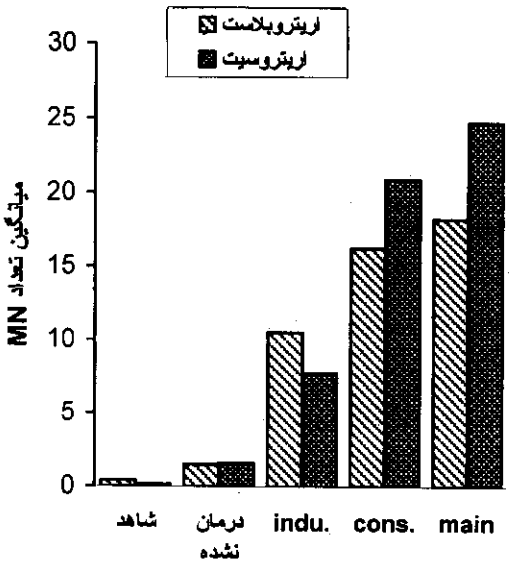
۱- ۴۰ بیمار مبتلا به لوسمی لنفوئیدی حاد مراجعه کننده به بخش هماتولوژی مرکز طبی اطفال در محدوده سنی ۱ تا ۱۰ سال که از این تعداد، ۲۵ پسر و ۱۵ دختر بودند. همچنین ۱۰ نفر نیز به عنوان گروه شاهد که ۵ پسر و ۵ دختر بودند در نظر گرفته شدند. برای هر نفر از گروه شاهد و بیماران، ۵۰۰۰ اریتروسیت و ۵۰۰ اریتروبلاست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

بود و میانگین تعداد میکرونوکلئی در اریتروسیت‌های این گروه ۰/۲ بدست آمد. همچنین تعداد میکرونوکلئی دراریتروبلاست‌های گروه شاهد بین ۰تا۲ بود و میانگین تعداد میکرونوکلئی دراریتروبلاست‌های این گروه ۰/۴ بدست آمد (جدول ۱).

۲- تعداد و میانگین میکرونوکلئی در اریتروسیت‌های بیمارانی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکرده‌اند به ترتیب بین ۰ تا ۳ و ۱/۶ بود. آزمون t اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) بین میانگین تعداد میکرونوکلئی در اریتروسیت‌های این گروه و گروه شاهد نشان داد (نمودار۱). همچنین تعداد و میانگین میکرونوکلئی در اریتروبلاست‌های بیمارانی که هیچ گونه درمانی دریافت نکرده‌اند به ترتیب بین ۰ تا ۳ و ۱/۵ بود. آزمون t اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۰۵) بین این گروه و گروه شاهد نشان می‌دهد (نمودار۱).

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 میکرونوکلئی در اریتروبلاست‌های این گروه به ترتیب بین ۴ تا ۱۲ و ۷/۷ بود. همچنین تعداد و میانگین میکرونوکلئی در اریتروبلاست‌های این گروه به ترتیب بین ۷ تا ۱۵ و ۱۰/۵ بود. آنایز واریانس، حاکی از وجود اختلاف معنی دار بین میانگین میکرونوکلئی 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 میکرونوکلئی در اریتروسیت و اریتروبلاست اختلاف معنی‌داری (P<۰۰۰۱) وجود دارد (نمودار۱).

درمان تحکیمی یا Consolidation که متعاقب القاء رمیسیون صورت می‌گیرد به منظور کاهش توده سلول لوسمیک و یا ایده‌ال‌تر از آن برای ریشه کن کردن لوسمی به روش شیمی درمانی سیستمیک انجام می‌شود. تعداد و میانگین میکرونوکلئی در اریتروسیت‌های این گروه‌ها به ترتیب بین ۷ تا ۳۰ و ۲۰/۹ بود. در اریتروسیت‌های این گروه تعداد میکرونوکلئی بین ۸ تا ۲۷ بود و میانگین تعداد میکرونوکلئی 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 میکرونوکلئی در اریتروسیت و اریتروبلاست اختلاف معنی داری (P<۰۰۰۱) وجود دارد (نمودار۱).



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 میکرونوکلئی در اریتروسیت‌ها و برای متوسط فراوانی بروز میکرونوکلئی در اریتروبلاست‌ها اختلاف معنی داری به ترتیب در سطح P<۰۰۰۱ و P<۰/۰۱۴ وجود دارد (نمودار۱).

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 میکرونوکلئی در اریتروسیت‌های این گروه به ترتیب بین ۶ تا ۳۰ و ۲۴/۷ بدست آمد. تعداد و میانگین تعداد میکرونوکلئی در اریتروبلاست‌ها به ترتیب بین ۱۰ تا ۲۷ و ۱۸/۲ بدست آمد. آنالیز آماری یافته‌های بیماران این گروه و بیماران

گروه شاهد، بیمارانی که هیچ گونه درمانی دریافت نکرده‌اند و بیماران مرحله Induction حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار در متوسط فراوانی بروز میکرونوکلئی در اریتروسیت و اریتروبلاست است (P<۰/۰۰۱). همچنین مقایسه نتایج بین این گروه با بیماران مرحله Consolidation نشان می‌دهد که بین دو گروه برای متوسط فراوانی بروز میکرونوکلئی در اریتروسیت و اریتروبلاست اختلاف معنی داری وجود ندارد (P<۰/۱۵۲ و P<۰/۴۹۸). نتایج آنالیز واریانس یک طرفه نشان می‌دهد که بین گروه‌ها با P<۰/۰۰۱ 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 بروزمیکرونوکلئی اختلاف معنی داری وجود دارد که این نشانگر آسیب ژنتیکی خودبخودی در بیماران مبتلابه 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 جابجائی‌های 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 حادلنفوئیدی 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 میکرونوکلئی و طول عمر بیماران پیدا کند و نشان داد که رابطه‌ای معکوس بین مقدار میکرونوکلئی و طول عمر بیماران وجود دارد لذا استفاده از تست میکرونوکلئی برای پیش آگهی در این بیماران درست به نظر می‌رسد [۸].

همچنین یافته دیگر پژوهش نشان می‌دهد که درمان سبب افزایش بروز میکرونوکلئی 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 برآسیب‌هائی که در سلول بدخیم ایجاد می‌کند در سلول‌های سالم از جمله سلول‌های رده اریتروئیدی 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 میلودیسپلاستیک و ۲۱ بیمار مبتلا به لوسمی حاد [۱۷] و نتایج Slavotinex 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 میکرونوکلئی در اریتروسیت و اریتروبلاست همبستگی زیادی وجود دارد، یعنی هرچه در فردی تعداد اریتروسیتهای محتوی میکرونوکلئی بالا رود تعداد اریتروبلاست‌های محتوی میکرونوکلئی هم افزایش می‌یابد که نتایج Tatsuo و همکاران در مورد

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

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر رشیدی‌پور که در تصحیح مقاله کمال همکاری را نموده‌اند تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

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 irridiation, evidence that micronuclei arise from a centeric chromosomal fragments, Mutation Res., 44 (1977) 63-69.

[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 reltionship 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,

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 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.