

**AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ (ALL) ve AKUT MİYELOİD
LÖSEMİ (AML)'de PROGNOZU ETKİLEYEN KMT2A
ANOMALİLERİNİN SIKLIĞI**

RAPERİN ESER

**OCAK 2023
DİYARBAKIR**

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ (ALL) ve AKUT MİYELOİD
LÖSEMİ (AML)'de PROGNOZU ETKİLEYEN KMT2A
ANOMALİLERİNİN SIKLIĞI**

RAPERİN ESER

DİCLE ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM-ÖĞRETİM VE SINAV
YÖNETMELİĞİNİN BİR PARÇASI OLARAK
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALINDA
YÜKSEK LİSANS TEZİ
OLARAK HAZIRLANMIŞTIR

OCAK 2023
DİYARBAKIR

AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ (ALL) ve AKUT MİYELOİD LÖSEMİ (AML)'de PROGNOZU ETKİLEYEN KMT2A ANOMALİLERİNİN SIKLIĞI

Raperin ESER tarafından Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin bir parçası olarak hazırlanan bu çalışma, aşağıda bilgileri yazılı jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek **Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı**'nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Neslihan DALKILIÇ
Müdür, **Fen Bilimleri Enstitüsü**

Prof. Dr. Kemal GÜVEN
Danışman, **Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,**
Dicle Üniversitesi

Sınav Jürisi:

Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ*

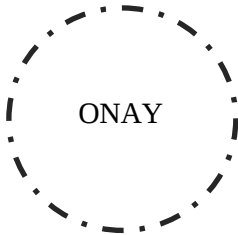
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Kemal GÜVEN**

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Dicle Üniversitesi

Doç. Dr. Selda ŞİMŞEK

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Pamukkale Üniversitesi



Savunma Tarihi: ... / ... /

(*) Sınav Jürisi kısmının birinci satırına Jüri Başkanının bilgilerini yazınız.

(**) Sınav Jürisi kısmının ikinci satırına Tez Danışmanının bilgilerini yazınız.

Biricik Aileme...



Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tez çalışmasında yer alan tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bahse konu bu kural ve ilkelerin gerektirdiği üzere, bu çalışmada özgün olmayan tüm bilimsel içerikleri kurallara uygun biçimde alıntılıyıp kaynak gösterdiğimi beyan ederim. Beyanıyla çelişen herhangi bir delil bulunduğu takdirde tüm sorumluluğu üstleneceğimi kabul ederim.

Ad, Soyad: Raperin ESER

İmza:

TEŞEKKÜR

Öncelikle bu yolda ilerlerken bana her daim yol gösteren, tercihlerimde beni destekleyen ve motive eden, lisans eğitim sürecimden itibaren başarılarıma inanan değerli danışman hocam Prof. Dr. Kemal GÜVEN, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bölüm Başkanı saygın hocam Prof. Dr. Orhan AYYILDIZ' a bu çalışmadaki tüm desteği için ve ekibine başta Uzm. Dr. Vehbi DEMİRCAN ve Dr. Sevgi POLAT BAĞCIER olmak üzere, dahiliye asistanları Dr. Rober ARSLAN, Dr. Berivan SÜLEYMANOĞLU ŞENKAYA, Dr. Hazal ŞAHİN, Dr. Ersin GÜNGÖRÜR, Dr. Aslan KAYAR, Dr. Sezen KILIÇ AR, ve Harun'a çalışmaya ayırdıkları zaman ve çok değerli katkıları için teşekkürlerimi sunuyorum. Çalışmanın gerçekleşmesinde laboratuvar ve teknik cihaz desteklerini esirgemediği için, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ ve Prof. Dr. Mahmut BALKAN 'a teşekkürlerimi sunuyorum.

En önemlisi, bana her zaman destek olan ve inanan sevgili anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xii
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Hematolojik Maliniteler	3
2.1.1 Lenfomalar	3
2.1.2 Plazma Hücre Neoplazileri	4
2.1.2.1 Multiple Miyelom	5
2.1.2.2 Plazmasitom	6
2.1.3 Lösemiler	7
2.1.3.1 Lösemilerin Etiyolojisi.....	10
2.1.3.2 Lösemilerin Epidemiyolojisi.....	11
2.1.3.3 Akut Miyeloblastik Lösemi (AML).....	12
2.1.3.4 Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL)	13
2.1.3.5 Lösemilerin Genetiği.....	14
2.2 KMT2A Geni.....	23
2.2.1 KMT2A Translokasyonları ve Füzyon Geni.....	28
2.2.1.1 AF4 Füzyonu.....	29
2.2.1.2 AF9 Füzyonu.....	30
2.2.1.3 ENL Füzyonu	31
2.2.1.4 AF10 Füzyonu.....	31

2.2.1.5	AF6 Füzyonu.....	32
2.2.2	KMT2A Bölgesinde Sayısal Değişiklikler	32
2.3	FISH	34
2.3.1	FISH Tekniği.....	34
2.3.1.1	ALL‘ de FISH Paneli	38
2.3.1.2	AML‘ de FISH Paneli	39
3.	MATERYAL VE METOD	40
3.1	Materyal.....	40
3.1.1	Çalışılan Hastalar	40
3.1.2	Kimyasal Malzemeler	40
3.1.2.1	Kemik iliği ve kandan alınan hücreler için besi kültürünü hazırlarken kullanılan malzemeler	40
3.1.2.1	FISH İçin Kullanılan Malzemeler	41
3.1.3	MLL Fish Kiti Malzemeleri	41
3.1.4	Kullanılan Araç-Gereçler ve Cihazlar.....	42
3.1.4.1	Hücre Kültürü İçin Kullanılanlar	42
3.1.4.2	FISH İçin Kullanılanlar	43
3.2	Metot.....	44
3.2.1	Hücre Kültürü ve Kromozom Eldesi.....	44
3.2.2	Fish Protokolü	45
3.2.2.1	Preparat Hazırlama.....	45
3.2.2.2	Denatürasyon.....	46
3.2.2.3	Hibridizasyon	46
3.2.2.4	Melezleme Sonrası Yıkamalar	46
3.2.3	Fish Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	47
3.2.3.1	Analiz Kılavuzu... ..	47
3.2.3.2	Beklenen Sonuçlar	48

4. BULGULAR.....	49
4.1 İstatistik	49
4.2 FISH Analizleri	50
4.2.1 Olgu 1.....	51
4.2.2 Olgu 2.....	52
4.2.3 Olgu 3.....	55
4.2.4 Olgu 4.....	57
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	58
KAYNAKLAR	63
EKLER.....	77
ÖZGEÇMİŞ	79

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil.1. Hematopoez Yolakları	1
Şekil 2.1. B-Hücreli Lenfoma Hücreleri	4
Şekil 2.2. MM'de birincil ve ikincil gelişen genetik olaylar	6
Şekil 2.3. Normal ve Lösemili Kan Hücrelerinin Karşılaştırması.....	7
Şekil 2.4 AML için WHO klasifikasyonu tablosu	8
Şekil 2.5 AML' de FAB Sınıflandırması	8
Şekil 2.6. Periferik Kan Blast Hücresi	9
Şekil 2.7. AML hücreleri.....	12
Şekil 2.8.Philadelphia kromozomu	17
Şekil 2.9. KMT2A Geni	24
Şekil 2.10. KMT2A (MLL) geni 11q23.3'te bulunur	24
Şekil 2.11. Hox kümeleri, Hox genleri ve Hox işlevi	27
Şekil 2.12 Pediatrik ve yetişkin Akut Lösemilerde en sık görülen füzyon partnerleri	29
Şekil 2.13. Floresans in situ hibridizasyon (FISH) probunda t(4;11)(q23;q21).....	30
Şekil 2.14.MLL Amplifikasyonu	34
Şekil 2.15. FISH Tekniği.....	37
Şekil 3.1 KMT2A FISH Probu.....	42
Şekil 3.2. Fisher Scientific Isıtma Tablası.....	44
Şekil 3.3. Su Banyosu	44
Şekil 3.4. FISH Analiz Kılavuzu.....	47
Şekil. 3.5. FISH Normal Sonuç Sinyali.....	48
Şekil. 3.6. FISH Anormal Sonuç Sinyali.....	48
Şekil 4.1. Olgu 1'de 11q23.3(MLL) bölgesinin monozomisi	51
Şekil 4.2. Olgu 1'de 8q21.3(ETO) bölgesinin trizomisi	52
Şekil 4.3. Olgu 2'de 4q21.3-4q22.1(AFF1) ve 11q23.3 (MLL) bölgelerinin tetrazomisi	53
Şekil 4.4. Olgu 2'de 8q24.21 (MYC) ve 14q32.33 (IGH) bölgelerinin tetrazomisi ..	53
Şekil 4.5. Olgu 2'de 9q34.1 (ABL1) ve 22q11.2 (BCR) bölgelerinin tetrazomi	54
Şekil 4.6. Olgu 2'de 2p13.2 (TEL) ve 21q22.12 (AML) bölgelerinin tetrazomisi	54

Şekil 4.7 Olgu 2’de Sentromer 8 deki tetrazomi	55
Şekil 4.8. Olgu 3’te 11q23.3(MLL) bölgesinin trizomisi.....	56
Şekil 4.9.Olgu 3’te 14q32.33(IGH) bölgelesinin trizomisi ile uyumlu 3 yeşil, 2 kırmızı sinyal paterni.....	56
Şekil 4.10. Olgu 3’te Trizomi 7.....	57
Şekil 4.11. Olgu 4’te 3’MLL (11q23.3) bölgesinin delesyonuyla uyumlu sinyal paterni.....	57



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 Lösemilerde Görülen Translokasyon ve Delesyonlar	17
Tablo 2.2 Çeşitli yapısal ve sayısal kromozom sapmalarını tespit etmek için kullanılan farklı tipte FISH problemleri.....	36
Tablo 2.3 ALL Paneli.....	38
Tablo 2.4 AML FISH Paneli	39
Tablo 4.1 62 Akut Lösemi Olgusunun İstatistiksel Değerlendirmesi.....	49
Tablo 4.2 Olguların Yaş Ortalamaları.....	50
Tablo 4.3 KMT2A (MLL) anomalisi olan 4 Olgunun FISH Analizi Sonuçları.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltma	Açıklama
ALL	Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	Akut Miyeloif Lösemi
MLL	Karışık Kökenli Lösemi
CML	Kronik Miyoloid Lösemi
HL	Hodgkin Lenfoma
HM	Hematolojik Malignite
MM	Multiple Miyelom
NHL	Hodgkin Olmayan Lenfoma
FISH	Floresan In Situ Hibridizasyon
HOX	Homeobox
KMT2A	(K)-spesifik metiltransferaz 2A geni
BM	Kemik İliği
PB	Periferik Kan
FBS	Fetal Bovine Serum
Ig	Immunoglobulin
MGUS	Anlamı belirsiz monoklonal gamopati
SSM	Sessiz sinsi miyelom
CNA	Kopya sayısı anormallikleri
SET	Su-(var)3-9 and enhancer of zest domain

ÖZET

AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ (ALL) ve AKUT MİYELOİD LÖSEMİ (AML)'de PROGNOZU ETKİLEYEN KMT2A ANOMALİLERİNİN SIKLIĞI

Eser, Raperin

Yüksek Lisans, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Danışman: Prof. Dr. Kemal Güven

Ocak 2023, 95 sayfa

Akut lösemi hastalarında KMT2A geni anomalilerinin saptanması olumsuz prognoza işaret eder. Çalışmada amaç Güneydoğu Anadolu Bölgesi yetişkin akut lösemi hastalarında bu anormalliklerin sıklığını tespit etmektir. Dicle Üniversitesi hastaneleri Hematoloji kliniğine gelen Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL) ve Akut Miyeloid Lösemi (AML) ön tanılı hastalarından alınan kemik iliği ve kan örneklerine KMT2A dual FISH probu uygulanarak, anomaliler araştırıldı. Anomali tespit edilen FISH olguları için ayrıca, Dicle Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarına rutin çalışmalar için gönderilen numunelerden bu çalışmada pozitif olanlarının panel analiz raporları da incelendi. Panelde incelenen diğer gen bölgeleri ile KMT2A bölgesi karşılaştırılarak değerlendirme yapıldı. Akut lösemili hastalarda KMT2A bölgesindeki anomalilerin bazı diğer bölgelerdeki anomalilerle beraber görülmesi de olasıdır. Bu çalışmada KMT2A anomalili olguların, 2' sinde aynı zamanda 7. kromozomda da anomali görülmüştür ve 1 olguda 8q24.21 bölgesinde tetrazomi, 1 olguda da 8q21.3 bölgesinin trizomisi görüldü.

FISH yöntemi ile yapılan çalışmada 62 olgunun 4'ünde 11q23.3 gen bölgesinde anomali tespit edilmiştir. Bu olgulardan 4'ü de erkek olup olguların 3'ü ALL iken 1'i AML' lidir. ALL' li olgularından 1'inde KMT2A gen bölgesinde tetrazomi ile MYC, ABL1, BCR bölgelerinde de tetrazomi tespit edildi. ALL' li 1 olguda KMT2A gen bölgesinde trizomi, 1 olgu da da hiperdiploidi bulundu. ALL'li diğer bir olguda ise KMT2A delesyonu görüldü. AML'li bir olguda KMT2A gen bölgesinde monozomi tespit edildi. 62 olguda 21 ALL'li olgulardan FISH analizinin %4,76 oranında, AML'li olgulardansa %2.43 oranında 11q23.3 gen bölgesinde meydana gelen sayısal ve yapısal değişimler tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada; FISH ile elde edilen oranlar, literatür ile karşılaştırıldığında ALL için eşdeğer fakat AML için düşük bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: AML, ALL, FISH, KMT2A Anomalileri, MLL

ABSTRACT

FREQUENCY OF KMT2A ABNORMALITIES AFFECTING PROGNOSIS IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL) and ACUTE MYELOID LEUKEMIA (AML)

Eser, Raperin

Master of Science in Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Prof. Dr. Kemal Güven

January 2023, 95 pages

Detection of KMT2A gene abnormalities in patients with acute leukemia indicates an unfavorable prognosis. The aim of the study is to determine the frequency of these abnormalities in adult patients with acute leukemia in the Southeastern Anatolia Region. Anomalies were investigated by applying the KMT2A dual FISH probe to bone marrow and blood samples taken from patients with pre-diagnosis of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) and Acute Myeloid Leukemia (AML) who came to the Hematology clinic of Dicle University hospitals. For FISH cases with anomaly, the panel analysis reports of the samples that were positive in this study among the samples sent to the Dicle University Medical Genetics Department laboratory for routine studies were also examined. Evaluation was made by comparing the KMT2A region with the other gene regions examined in the panel. In patients with acute leukemia, it is possible that anomalies in the KMT2A region are seen together with anomalies in some other regions. In this study, anomaly was also seen in the 7th chromosome in 2 of the cases with KMT2A anomaly, and tetrasomy in 8q24.21 region was seen in 1 case and trisomy in 8q21.3 region in 1 case.

In the study conducted with the FISH method, anomaly was detected in the 11q23.3 gene region in 4 of 62 cases. 4 of these cases are male, while 3 of them are ALL, 1 has AML. Tetrasomy in the KMT2A gene region and tetrasomy in MYC, ABL1, BCR regions were detected in 1 of the cases with ALL. Trisomy in the KMT2A gene region was found in 1 patient with ALL, and hyperdiploidy was found in 1 patient. KMT2A deletion was observed in another case with ALL. Monosomy was detected in the KMT2A gene region in a case with AML. Numerical and structural changes in the 11q23.3% gene region were determined in 62 cases in 4.76% of FISH analysis from 21 cases with ALL and 2.43% of cases with AML. In our study; The rates obtained by FISH were found to be equivalent for ALL but lower for AML when compared with the literature.

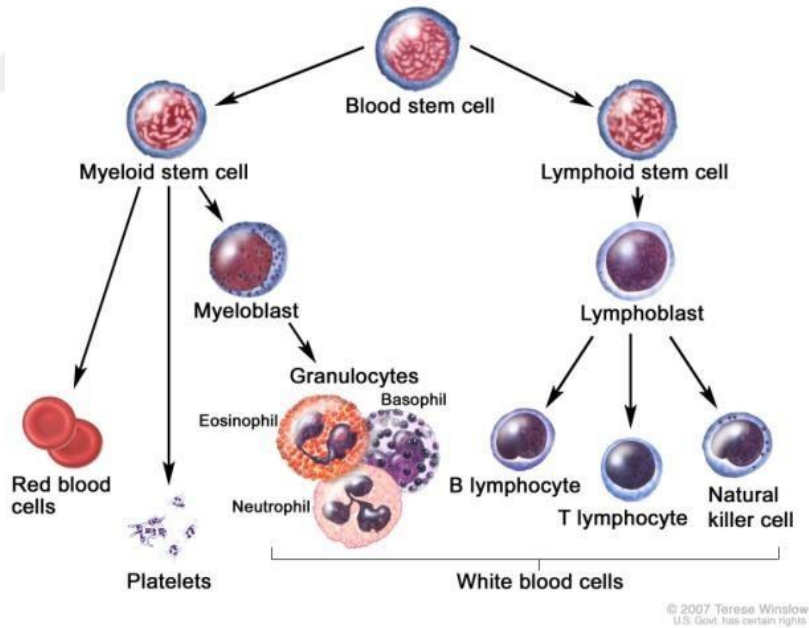
Key Words: AML, ALL, FISH, KMT2A Abnormalities, MLL

1.GİRİŞ

Kemik iliği, vücudun yüksek organizasyona sahip dokularından biridir ve kırmızı kan hücresi yapımı, bağışıklık savunmasında gerekli süreçler ve antikor hücresi sentezi gibi görevleri vardır. Kemik iliği kök hücrelerinden moleküler mekanizmalarla kan hücreleri yapım sürecine hematopoez denir (Gulati vd., 1988).

Normal hematopoez sürecinde, pluripotent kökenli hücreleri özelleşmiş kan hücrelerini oluşturmak üzere miyeloid hücrelere yani kemik iliğinde kalacak olan gruba ve lenfoid kökenli olup büyüme ve farklılaşma sürecini lenf organlarında tamamlayacak hücre gruplarına ayrılır(Şekil 1)(Cheng vd., 2020).

Multipotent miyeloid kök hücreleri tüm miyeloid dizi hücrelerini; eritrosit, granülosit (nötrofil, eozinofil, bazofil), monosit ve plateletleri oluşturur. Multipotent lenfoid kök hücreler lenfoid dizi hücrelerinden, B ve T lenfositlere dönüşür.



Şekil.1 Hematopoez Yolakları (Terese Winslow ,2007)

Akut lösemiler, kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerin malignant transformasyonuna sebep olan anormal farklılaşma ve proliferasyon süreçleri ile

karakterize olur (Devine ve Larson., 1994). Malign transformasyon sonrasında kemik iliğinde anormal klonal hücrelerin birikimi, sağlıklı hücre sayısındaki azalmaya ve bu da vücutta kemik ağrısı, ateş, sık tekrarlanan enfeksiyonlar vb. gibi semptomların açığa çıkmasına neden olur. Lösemiye oluşturan bu çoklu genetik ve epigenetik süreçlere lökomogenez denir (Irons vd.,1996) . Lökomogenez süreçleri sitogenetik analizlerle daha detaylı incelenerek lösemileri alt katogorilere ayırmayı ve risk değerlendirmelerinin yapılmasını kolaylaştırmıştır. Bu çalışmada incelenen MLL ya da KMT2A geni akut lösemili yetişkin hastaların hangi sıklıkla anomalilere sahip olduğunu saptamaktır.

KMT2A (MLL) anormallikleri, çeşitli soyların lösemilerinde yaygındır. Spesifik olarak, KMT2A kromozomal yeniden düzenlemeleri, akut lenfoblastik lösemi (ALL) teşhisi konan tüm ergenlerin ve genç yetişkinlerin yaklaşık %5 ila %15'inde ve akut miyeloid lösemili (AML) tüm yetişkin hastaların %3'ünde mevcuttur (Bataller vd .,2021).

Lizin metiltransferaz 2a geninin (KMT2A) bulunduğu 11q23'ü içeren kromozomal translokasyonların, yüksek oranda standart tedavilere direnç ve nüks gösteren akut lösemilere neden olduğu literatürde bildirilmiştir (Issa vd. 2021).

Yakın zamanlı çalışmalar KMT2A yeniden düzenlemelerinin ve anomalilerinin klinik konsepte bağlı olarak terapiye yanıt ve toplam prognoz üzerinde etkili olabileceğini ileri sürüyor. Bu nedenle, KMT2A yeniden düzenlemelerinin ve anomalilerinin floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile tespiti ve değerlendirilmesi tanı, prognoz ve tedaviler bakımından yararlı olabilir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Hematolojik Maligniteler

Kanı oluşturan kemik iliği ya da immun sistem hücreleri dokularında başlayan kanserlere denir. Daha çok yaşlı kesimi etkiler. Medyan yaşı 59 iken 17-96 yaş arasında görülmektedir (Baeza vd., 2019). İmmüfenotipleme, sitogenetik ve moleküler genetik testlerin yardımıyla, hematolojik malignitelerin çok sayıda genetik çeşitlilik içerdiği anlaşılmıştır (Lichtman, 2008).

Apoptozun hematolojik malignitelerde deregölasyonu malign hücrelerin birikime sebep olur (Zaman ve vd., 2014). Sağlıklı bireylerde apoptozun yaşlı, zararlı hücreleri enerji kullanarak yok etmesi gerçekleşir ve kanserli hücre birikimi engellenmiş olur. Hematolojik malignitelerde yapılan çalışmalar apoptoza odaklanarak terapötikler geliştirmiştir (Valentin vd., 2018).

Üç ana hematolojik malignite türü vardır. Lenfoma, ve plazma hücresi neoplazileri ve lösemiler.

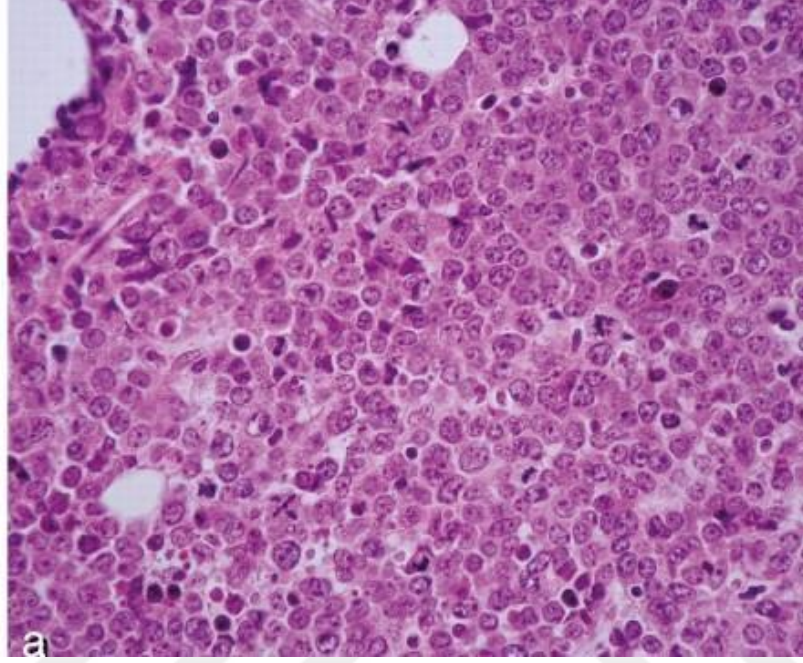
2.1.1 Lenfomalalar

Lenfoma, lenfatik sistemin, özellikle lenf düğümünün kanseridir. Lenfosit adı verilen bir tür beyaz kan hücresini etkiler. Doktorların en çok bildiği tip, Hodgkin lenfoma olarak adlandırılır. Yetişkinlerde en yaygın kan kanseri şeklidir ve teşhis edilen tüm kan kanseri vakalarının yarısından fazlasını oluşturur.

WHO sınıflandırmasına göre bazı lenfoma çeşitlerinin sınıflandırılması şu şekildedir; B hücre lenfomaları, agresif B hücreli lenfomalar (Şekil 2.1.1), periferik T hücreli ve Doğal Öldürücü hücre kaynaklılar (Jaffe vd., 2017). Daha sonraki sınıflandırma kriteri ise bu hücrelerin prekürsor ya da olgun olmasına bağlıdır (Matasar ve Zelenetz, 2008). Diğer çeşit bir sınıflandırmada ise lenfomalar başlıca Hodgkin ve Hodgkin olmayan lenfomalar ayrılır. Hodgkin lenfomalar lenfatik sistemde başlarken Hodgkin dışı lenfomalar lenfositlerde başlar.

Hodgkin dışı lenfomalarda risk faktörleri arasında otoimmün hastalıklar, HIV/AIDS, insan T-lenfotropik virüsü enfeksiyonu, bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaçlar ve

bazı böcek ilaçları yer alır (Hu vd., 2017). Hodgkin lenfoma için risk faktörleri arasında Epstein-Barr virüsü, çocukluk çağında sigara dumanına maruz kalmak veya bakteri- virüslere maruz kalmak risk faktörünü arttırırken egzersiz riski düşürmektedir (Maggioncalda vd., 2011).



Şekil 2.1 B-Hücreli Lenfoma Hücreleri (Le Gouill vd.,2007)

2.1.2. Plazma Hücresi Neoplazileri

Plazma hücreleri B lenfositlerden köken alan hücrelerdir. Bu hücrelerdeki genetik değişimler başlıca 3 tip hastalığa sebep olur. Bunlar; Multiple Miyelom, Plazmasitom ve Makroglobulinemidir. Hastalıklar biyolojik, patolojik ve klinik olarak heterojen seyreder. Genetik değişimler plazma hücrelerindeki hayatta kalma, çoğalma ve metastatik kapasitelerini arttırırken maligniteye meylini de hızlandırır (Dutta vd.,2017). Plazma hücre neoplazilerinin en malign formu olan birincil plazma hücreli lösemide, plazma hücre popülasyonu 600 gende 1900 farklı DNA değişikliği içerir (Simeon vd., 2015). Birincil genomik değişimler ikincil genomik değişimler olan monoklonal proteinlerin üretimini tetikleyerek, bunların kanda veya böbrekte birikimi ile daha tehlikeli bir hal almasına neden olur (El-Ayoubi vd., 2017).

Anlamı belirsiz monoklonal gamopati (MGUS), asemptomatik ve premalign evredir. Genelde hastalar anemi, nöropati veya hiperkalsemi gibi başka nedenlerle

inceleniyor (Castillo, 2016). MGUS' un kesin nedeni bilinmemektedir. Genetik değişiklikler ve çevresel tetikleyiciler rol oynuyor gibi görünmektedir. 50 yaş ve üzerindeki kişilerde daha yaygındır.

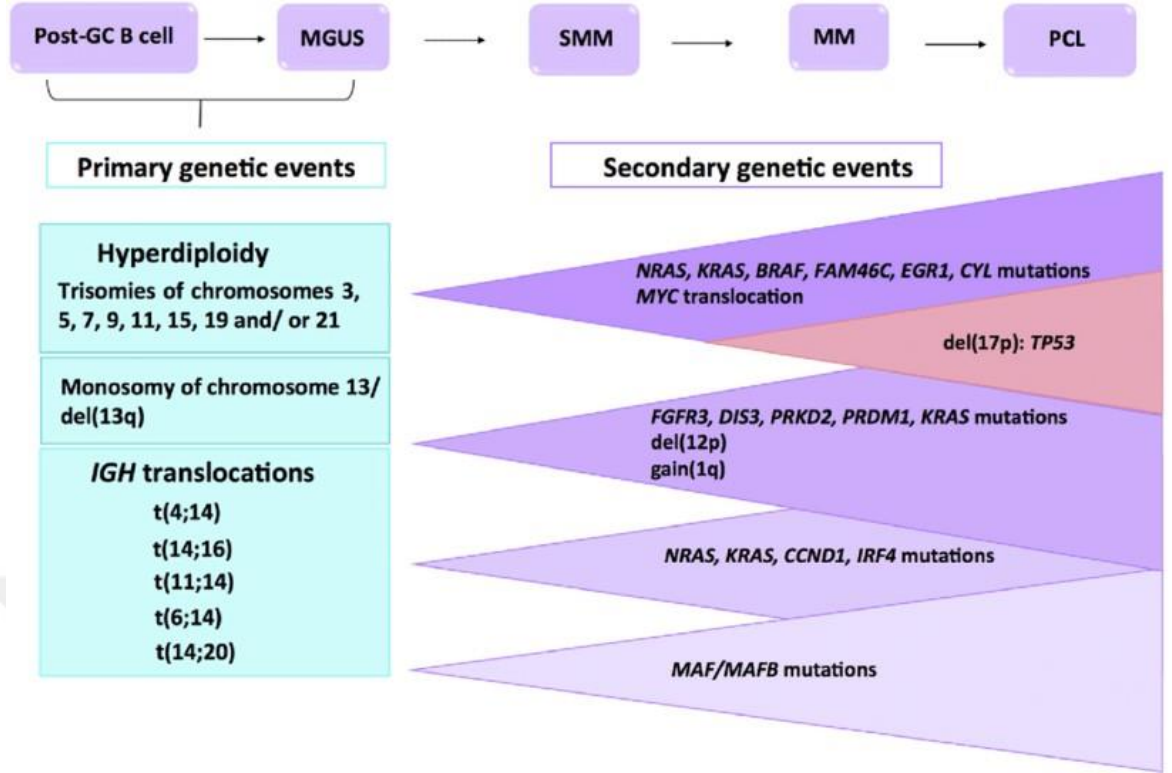
Genomik çalışmaların ilerlemesi ile MGUS mevcut 7 kategoriden (risklerine göre az, orta ve yüksek riskli MGUS ve sessiz-sinsi miyelom, son evrede de multiple miyelom) başlıca Monoklonal gamopati, multiple myelomun erken tespiti ve multiple miyelom olarak sınıflandırılabilir (Landgren, 2021).

2.1.2.1. Multiple Miyelom

En ciddi plazma hücre hastalığıdır (Gulati vd., 2022). Tedavisi yoktur ve en sık görülen ikinci hematolojik malignitedir (Roodman ve Drake, 2021). Genetik miyelomda prognostik öneme sahiptir. Miyelomun genetik karmaşıklığı, miyelom çoğaltan bir hücre düzeyinde intraklonal heterojenliğe dayanır (Morgan vd., 2012).

Plazma hücreleri ve kemik iliği nişi arasındaki etkileşimlerin anlaşılması da yeni terapötik ilaçların geliştirilmesinde etkili olmuştur (Röllig vd., 2015). Proteozom inhibitörleri ve immünmodülatör ilaçların hastalıkta kullanıma girmesi ile birlikte 5 yıllık genel sağkalım %25-34'ten %49-56'lara kadar yükselmiştir (Moreau vd., 2012). 2000 lerin başlarında ortalama sağ kalım 3 sene iken şu an ortalama sağkalım 5 senedir (Kristinsson vd., 2014).

Multiple Miyelomda yüksek risk grupları genetik analizlerle belirlenir. Yüksek risk gruplarının tedaviye yanıtı daha düşüktür ve mortalitesi yüksektir. IgH translokasyonları ve hiperdiploidiler iki ana birincil genetik olay olarak kabul edilir. Bu birincil olaylar ikincil genetik olaylara sebep olurken hastalığın seyri agresifleşir, tümörün ilerlemesine yol açar ve tedavi şartları da zorlanmış olur (Cardona-Benavides vd., 2021) (Manier vd., 2016). İkincil genetik olaylardan yaygın görülenleri NRAS, KRAS mutasyonlarıdır (Şekil 2,2).



Şekil 2.2 MM’de birincil ve ikincil gelişen genetik olaylar (Cardona-Benavides vd., 2021)

Mutasyonlardan en sık etkilenen yol, KRAS, NRAS, BRAF, EGR1 ve FGFR3 genlerini içeren mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yoludur (Cardona-Benavides vd., 2021).

Sitogenetik risk faktörlerine ek olarak, agresif hastalık biyolojisi ile ilişkili diğer iki belirteç, yüksek serum laktat dehidrojenaz ve rutin periferik yayma incelemesinde dolaşımdaki plazma hücrelerinin kanıtıdır (Palumbo vd., 2015)

2.1.2.2. Plazmasitom

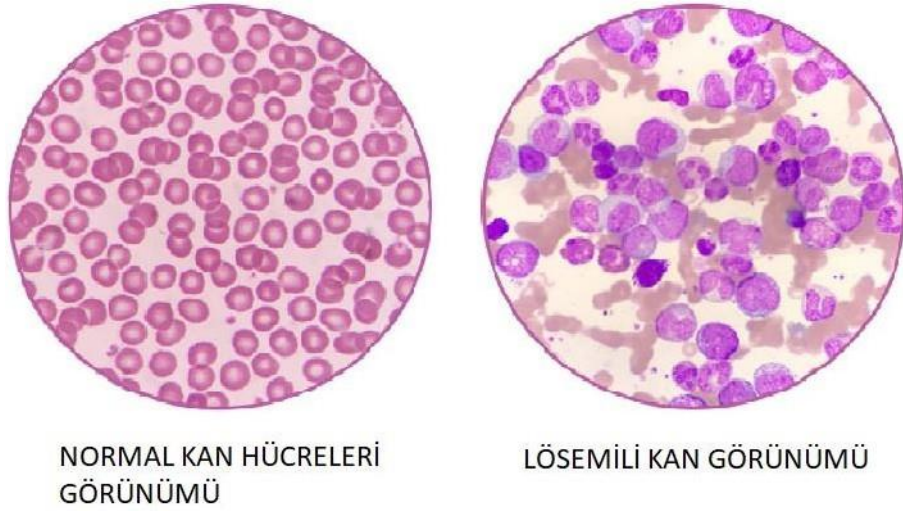
Plazmasitom, bir plazma hücre tümörünün yumuşak doku veya eksenel iskelet içinde büyüdüğü bir plazma hücre diskrazisidir. Kemiğin soliter plazmasitomu (SPB), ekstremitelerde plazmasitom (EMP) ve çoklu plazmasitomlar olmak üzere üçe ayrılır. Soliter plazmasitom, tek bir klonal plazma hücresi kütesinden türer ve ekstremitelerde (EMP), yumuşak dokularda veya kemiklerde yayılabilir (SPB) (Caers vd., 2018).

Yaygın olarak üst solunum yollarında daha sonra, gastrointestinal ve genitoüriner sistem, akciğerler, lenf düğümleri, deri ve diğer yerlerde de görülür (Kremer,2005).

2.1.3. Lösemiler

Lösemi, lökositlerin kanda ve kemik iliğinde artması ile kendini gösterir. Lösemi, beyaz kan hücrelerinin vücuttaki enfeksiyonlarla savaşmasını engeller. Lösemi akut (hızlı büyüyen) veya kronik (yavaş büyüyen) olabilir ve lenfositleri (lenfositik lösemi) veya diğer bağışıklık hücrelerini (miyeloid lösemi) etkiler. 15 yaş altı çocuklarda en sık görülen kan kanseridir (Bispo vd., 2019).

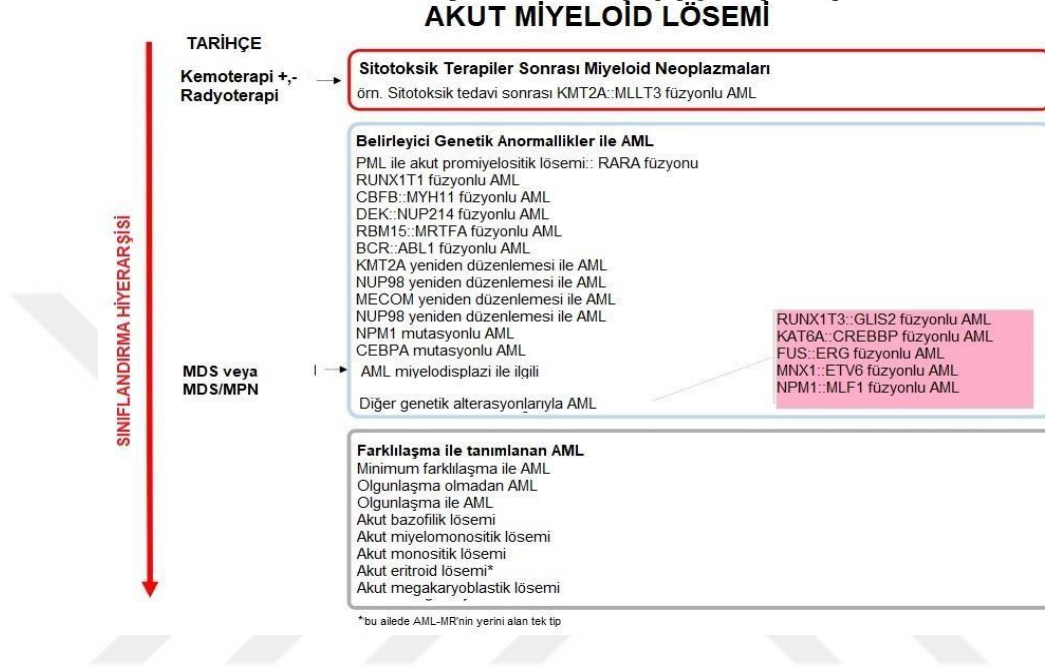
Lösemi biyolojik ve klinik olarak çok çeşitli bir hastalıktır. Moleküler ve hücresel biyoloji tekniklerindeki son gelişmeler, lösemnin altında yatan moleküler temeli ve etiyolojiyi tespit etme, izleme, modelleme ve inceleme yeteneğimizi önemli ölçüde geliştirdi. Sıvı bir tümör olan lösemi, metastaza ihtiyaç duymadan genel dolaşımda bulunur (Shen vd., 2020) (Şekil 2.3).



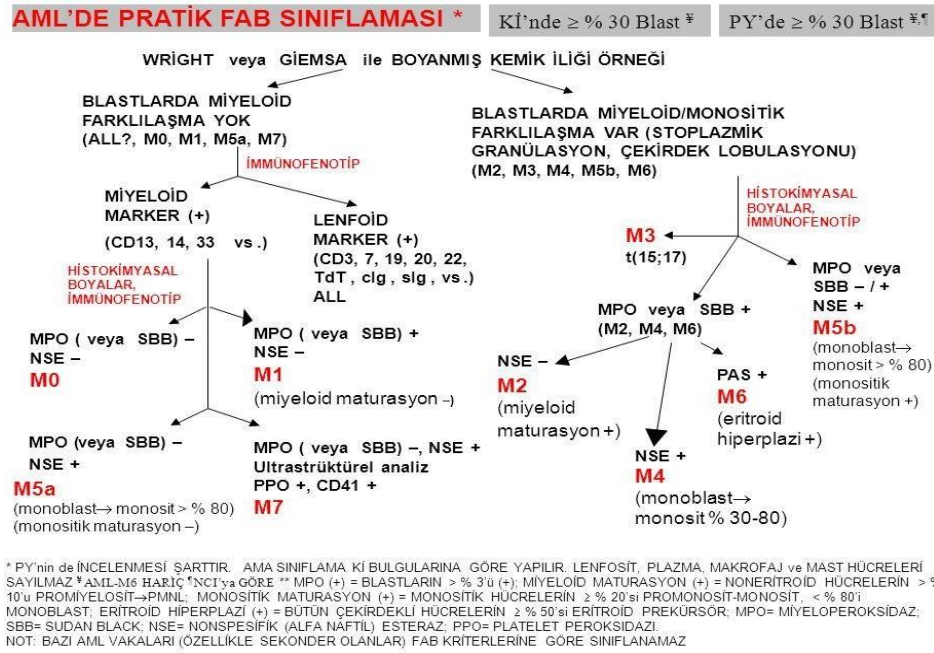
Şekil 2.3 Normal ve Lösemili Kan Hücrelerinin Karşılaştırması (Leukemia)

Lösemilerin sınıflandırılmasında; WHO sınıflandırması klinik, morfolojik, immünofenotipik ve genetik özelliklerin bir kombinasyonuna dayanmaktadır (Şekil 2.4).

Daha az kullanılan diğer sınıflandırma sistemleri, anormal lökositlerin morfolojisine dayanan Fransız-Amerikan-İngiliz (FAB) sistemini içerir (Şekil 2.5)

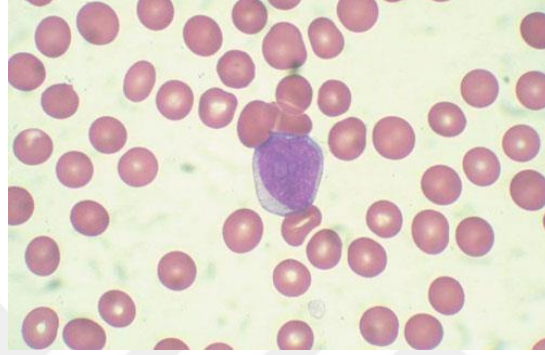


Şekil 2.4 AML için WHO klasifikasyonu tablosu (The New WHO Classification, 2022)



Şekil 2.5 AML' de FAB Sınıflandırması (Bennett vd., 1991)

Akut lösemi, lösemik blastların morfolojisi ve immünofenotipine göre farklı alt tiplerle karakterize edilen ve sınıflandırılan agresif bir hematolojik malignite şeklidir. Olgunlaşmamış ve işlevsiz hücreler olan blast hücreleri (Şekil 2.6), normalde kemik iliği hücrelerinin %1 ila %5'ini oluşturur. Akut lösemilerde, periferik kan yaymasında veya kemik iliğinde %20'den fazla blast ile karakterize edilir.



Şekil 2.6. Periferik Kan Blast Hücresi (Chang K vd.,2004)

Akut lösemide karakterizasyon, kemik iliğinde mutant ve olgunlaşmamış lösemik blastların birikmesi ile olur. Bu patojenik süreçlerde rol oynayan onkogenler yeni tekniklerle belirlenebilir (Look, 1997).

Onkogenik transkripsiyon faktörleri tarafından paylaşılan yeni ortaya çıkan bir ortak özellik, ilerlemiş lösemnin gelişimi için işbirlikçi mutasyonların birikmesine izin veren, hedeflenen hematopoietik kök hücrelere kendi kendini yenilemeyi geliştirme ve hatta kazandırma yetenekleridir (Look, 1997). Onkogenik transkripsiyon faktörlerinin aracılık ettiği transkripsiyonel ve epigenetik yeniden programlama, epigenetik düzenleyici komplekslerin anormal alımının akut lösemi için bir anahtar ve potansiyel bir terapötik hedef olabileceğini düşündürmektedir (Look, 1997).

2.1.3.1 Lösemilerin Etiyolojisi

Karşılıklı kromozomal translokasyonlar, kromozomal silmeler, nokta mutasyonları ve epigenetik değişiklikler gibi genetik hatalar, hematopoezin farklı aşamalarında kök hücrelerin olgunlaşmasını durdurabilir ve olgunlaşmamış, lösemik bağışıklık hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasına yol açabilir.

Lösemi gelişiminde çoklu genetik ve çevresel risk faktörleri aşağıda verildiği gibi tanımlanmıştır (Stieglitz ve Loh, 2013).

- İyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma, birden fazla lösemi alt tipi riskinin artmasıyla ilişkilidir.
- Benzen maruziyeti yetişkinlerde, özellikle AML'de lösemi için bir risk faktörüdür.
- Kemoterapiye, özellikle alkile edici ajanlara ve topoizomera inhibitörlerine önceden maruz kalmak, yaşamın ilerleyen dönemlerinde akut lösemi riskini artırır.
- Herhangi bir hematolojik malignite öyküsü, daha sonra lösemnin başka bir alt tipinin gelişmesi için bir risk faktörüdür.
- Viral enfeksiyonlar (örn. insan T-hücreli lösemi virüsü, Epstein Barr virüsü) ALL'nin alt tipleri ile bağlantılıdır.
- Çeşitli genetik sendromlar (örneğin, Down sendromu, Fanconi anemisi, Bloom sendromu, Li-Fraumeni sendromu) artmış AML ve ALL riski ile ilişkilidir.

Pediyatrik lösemiler, birincil kanserler için alkile edici ajanlar ve topoizomera II inhibitörleri ile kemoterapi gibi belirli terapötik maruziyetleri ile ilişkilidir (Hijiya vd., 2009).

Çok sayıda çalışma, ALL'li Siyah ve Hispanik çocukların tarihsel olarak Beyaz ve Hispanik olmayanlara göre daha kötü sonuçlara maruz kaldıklarını göstermektedir (Kahn vd. 2019).

Çoklu meta-analiz, sigara içenlerde AML riskinin arttığını göstermektedir. Yapılan çalışmada, ayrıca sigara içmeyenlere kıyasla halen sigara içenler için yaklaşık %40' a

yakın bir artmış risk ve 30 paket-yıldan fazla geçmişe sahip sürekli sigara içenler için %66' lık bir artış göstermiştir (Ugai vd. 2017).

Çeşitli genetik anormallikler AML riski ile ilişkilidir. Ailesel AML nadir olmasına rağmen,AML, Kostmann sendromu, Diamond-Blackfan anemisi, diskeratoz konjenita ve Schwachman-Diamond sendromu gibi nadir görülen kalıtsal kemik iliği yetmezliği sendromlarının yanı sıra Fanconi anemisi ve Bloom sendromu gibi DNA onarım eksikliği sendromlarının doğal tarihinin bir parçası olarak kabul edilir (Bispo vd.,2019).

AML de Siyah ırk, Beyazlara göre artan ölüm riski ile ilişkilendirilmiştir (Patel ve ark. 2012). Artan yaşın dışında, bilinen tek KML için risk faktörü, atom bombasından sağ kurtulanlar arasında lösemi ile ilgili literatürde açıklanan iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalmaktır.(Heyssel vd.,1960).

2.1.3.2 Lösemilerin Epidemiyoloji

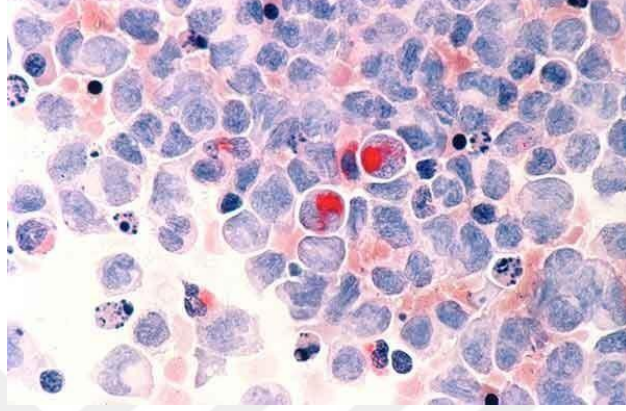
GLOBOCAN' a göre lösemi, 2018'de dünya çapında en sık teşhis edilen 15. kanser ve kanser ölümlerinin 11. önde gelen nedenidir ve 437.033 kanser vakası ve 309.006 kanser ölümüne neden olmuştur (Global Cancer Observatory).

Akut miyeloid lösemi, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki tüm yeni kanser teşhislerinin %1,1'ini oluşturur. 1990'da AML, dünya çapındaki toplam lösemi vakalarının %18.0'ını oluşturuyordu. Bu oran 2017'de %23,1'e yükseldi (Dong vd.,2020).

Ulusal Kanser Enstitüsü (NIH) verilerine göre 2022 yılında lösemide tahmini yeni vaka sayısı 60.650 olacak. Bu oran tüm yeni kanser vakalarının yüzdesi %3,2'dir. 2022'de lösemiden tahmini olarak 24.000 kişi hayatına kaybedecek ve bu tüm kanserlerin %3.9'dur. 2022 için en yaygın 11.kanser türü lösemidir (National Institute of Health).

2.1.3.3 Akut Miyeloblastik Lösemi (AML)

Akut miyeloid lösemi (AML) (Şekil 2.7), kemik iliği, periferik kan ve potansiyel olarak ekstramedüller dokuda lösemik blast hücrelerinin klonal çoğalmasına yol açan, miyeloid soyundan hücrelerin anormal farklılaşması ile karakterize edilen heterojen bir hematolojik malignitedir.



Şekil 2.7 AML hücreleri (Liotta, 2010)

Bu da normal hematopoetik hücrelerin üretiminin azalmasına ve etkisiz hematopoez ile ilgili komplikasyonlara yol açar. AML, erişkinlerde teşhis edilen en yaygın akut lösemi türüdür (Yamamoto vd.,2002).

Tüm lösemi alt türleri arasında AML, lösemi ölümlerinin en yüksek yüzdesini (%62) oluştururken aynı zamanda 5 yıllık %24 oranında en düşük sağkalım ile ilişkilidir (Shallis vd.,2019).

AML'de G-bandi karyotip analizi, hastaların %75' inden fazlasında klonal kromozom anormalliklerini tespit eder ve t (8; 21), inv (16) veya t (16; 16), t (15; 17) ve 11q23'te MLL genini içeren karışık translokasyonlar en sık görülenlerdir (Mrozek vd.,1997).

Epigenetik mekanizmalar arasında DNA metilasyonu ve histon kuyruğu modifikasyonları bulunur. Ancak bu doğal süreç kanser hücrelerinde ters gidebilir. Kritik genlerin DNA metilasyonu veya histon deasetilasyonu ile susturulması, delesyon veya fonksiyon kaybı mutasyonuna bir alternatif olarak lökomogeneze katkıda bulunabilir (Roman-Gomez vd.,2004).

AML'de, p15, p73, E-cadherin, ID4, RARb2 gibi fonksiyonel olarak ilgili birçok gende anormal DNA metilasyonu gözlemlenebilir. Kromozomal translokasyonların sonucuna bağlı olarak, AML'de histon kuyruğu modifiye edici enzimlere de rastlanmıştır. Bu epigenetik olaylar AML gelişimde kritik role sahip olduğundan tedavide hedef olarak araştırmaya devam edilmekteler. Birçok kanser bunlara AML' de dahil olmak üzere, CpG adası metilatör fenotipi olarak adlandırılan bir fenomen olarak, aynı anda birden fazla genin yoğun metilasyonu ile karakterize edilir. Ayrıca, sık gerçekleşen anormal gen metilasyonu genellikle kötü prognoz ile ilişkilidir. Kanserde anormal metilasyonun nedenleri tam olarak tanımlanmamıştır (Roman-Gomez vd.,2004).

2.1.3.4 Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL)

ALL'nin bilinen bir nedeni yoktur. Akut lenfoblastik lösemi hem çocuklarda hem de yetişkinlerde gelişir. ALL tipik olarak kalıtsal olmayan genetik anormalliklerden kaynaklanır. Philadelphia kromozomu,veya t (9;22), yetişkin ALL' de en sık görülen kromozomal translokasyondur (vakaların %25 'inde mevcuttur) ve çocuklardan farklı olarak oldukça agresif bir klinik seyir ile karakterizedir(f). ALL hızla ilerler ve tedavi edilmezse genellikle haftalar veya aylar içinde ölümcül olur (Marino vd.,2013).

Yaşa özgü insidans, 1-4 yaş arası çocuklarda en yüksektir, ardından çocukluk (5-14 yaş), ergenlik ve genç erişkinlik (15-39 yaş) boyunca keskin bir şekilde düşer ve 25 ile 45 yaş arasında en düşük noktasına ulaşır (Ulusal Kanser Enstitüsü-NIH).2022'de ALL tahmini vaka sayısı 6.660 ve tüm yeni kanser vakalarının % 0,3 olacaktır (NIH). ALL' den vefat edeceklerin tahmini sayısı 2022'de 1,560 olacaktır (NIH). Akut lenfositik lösemi ölümlerinin yüzdesi, 65-74 yaş arası kişilerde en yüksektir ve medyan ölüm yaşı 59' dur (Malard ve Mohty,2020).

Akut lenfoblastik lösemili (ALL) çocukların %80' inden fazlası modern kemoterapötik rejimlerle tedavi edilir. Beş yıllık remisyondan sonra nüksler nadirdir (Tabone vd.,2009). Ancak bu sonuçlar önemli eşitsizlikleri gizlemektedir; Akut lenfoblastik lösemili çocuklarda 5 yıllık genel sağkalım %90' a ulaşmış olsada, 50 yaşından büyük hastaların yalnızca %25'i tanıdan 5 yıl sonra yaşıyor, bu da daha

yaşlı yetişkin hastalar (≥ 40 yaş) için tedavide daha ileri gelişmelerin olması gerektiğini vurguluyor (Hunger vd.,2012).

Kemik iliğinde, periferik kanda ve lenf düğümü, dalak, karaciğer ve merkezi sinir sistemi gibi diğer bölgelerde malign, olgunlaşmamış lenfoid progenitör hücrelerin birikmesi ile karakterize olur (Heim vd.,2013). Lenfositler, doğal öldürücü hücreleri, B hücrelerini (humoral, antikor güdümlü adaptif bağışıklık için) ve T hücrelerini (hücre aracılı, sitotoksik adaptif bağışıklık için) içerir. ALL, köken aldığı hücreye göre sınıflandırılır ve iki ana alt tip vardır; B soyu ALL (B ALL) ve T soyu ALL (T ALL).

ALL, majör kromozomal değişikliklerle karakterize birçok genetik alt tipe sahiptir ve alt tiplerin belirlenmesi risk sınıflandırması için kritik öneme sahiptir. Bu genler hemopoietik transkripsiyon faktörlerini, epigenetik değiştiricileri, sitokin reseptörlerini veya tirozin kinazları kodlarken, lösemi oluşumuna katkıda bulunan ikincil genomik olaylar, kopya numarası değişikliklerini (lenfoid transkripsiyon faktörlerini içeren) ve sekans mutasyonlarını içerir (Malard ve Mohty,2020).

Yüksek hiperdiploid akut lenfoblastik lösemili hastalarda histon modifiye edicilerin genlerinde (CREBBP, WHSC1, SUV420H1, SETD2 ve EZH2) veya RTK-RAS sinyal yolunda (FLT3, NRAS, KRAS ve PTPN11) sıklıkla alt klonal mutasyonlar ile görülen (yaklaşık %50) mutasyonlar vardır (Malard ve Mohty,2020).

Hipodiploid akut lenfoblastik lösemi, 45 veya daha az kromozomlu lösemik hücrelerin kromozom mutasyonudur. Hipodiploidin prognozunun standart akut lenfoblastik lösemiden çok daha kötü olduğu belirlenmiştir. Kromozom sayısı ne kadar düşükse, hayatta kalma oranı o kadar düşük olmaktadır (Heerema vd.,1999).

2.1.3.5 Löseminin Genetiği

Normal hematopoez, kendini yenileme kapasitesine sahip hematopoietik kök hücrelerden kaynaklanan, titizlikle kontrol edilen bir hücre bölünmesi ve farklılaşma sürecidir. Bu süreç, çeşitli sinyal yollarıyla düzenlenir. Birçok neoplastik süreçte,

patogenezde bu yolları gösteren bir veya birkaç sinyal yolağında değişiklik gözlemlenmiştir.

Geleneksel olarak, kanser patogenezinde yer alan genler, onkogenler ve tümör baskılayıcı genler olarak ikiye ayrılmıştır. Onkogenlerin, translokasyon veya sporadik mutasyon yoluyla kurucu aktivasyon elde ederek patogenezde önemli bir rol oynadığı kabul edilirken, tümör baskılayıcı genler, gen/protein fonksiyonunun inaktivasyonu yoluyla patogenezde yer alırlar.

Protoonkogenler, normal hücresel fonksiyon için önemli olan ve transkripsiyon faktörleri, büyüme faktörleri ve büyüme faktörü reseptörleri dahil olmak üzere çeşitli proteinleri kodlayan hücresel genlerdir.

Lökomogenez, çoklu bağımsız genetik ve epigenetik olayları içeren evrimsel bir süreçtir. Tedaviyle ilişkili MDS ve AML'de tanımlanan sitogenetik ve genetik anormallikler, lökomogenezde genetik olayları başlatıyor olabilir (Pedersen Bjergaard vd., 2006).

Onkogenler etki mekanizmalarına göre 5 farklı sınıfa ayrılabilir. Herhangi bir onkogende oluşan değişiklikler kontrolsüz hücre büyümesine neden olabilir. Birinci sınıftaki onkogenler, bir reseptöre bağlanan ve bir protein üretimini uyaran ileri büyüme faktörlerini kodlar. İkinci sınıf onkogenler, hücre yüzeyindeki büyüme faktörü reseptörlerini kodlar. Büyüme faktörleri bir büyüme faktörü reseptörüne bağlandığında, reseptörü açıp kapatabilirler. Reseptörün mutasyonel veya post-translasyonel modifikasyonları, bir reseptörün kalıcı olarak açılmasına ve bunun sonucunda düzensiz büyümeye neden olabilir. Üçüncü sınıfı sinyal transdüserleri veya efektörler oluşturur. Sinyal dönüştürücüler, hücre yüzeyi reseptöründen gelen sinyali hücre çekirdeğine götürmekten sorumludur. Dördüncü gruptaki transkripsiyon faktörleri, DNA'nın belirli bölgelerine bağlanan ve transkripsiyonu kontrol eden moleküllerdir. MYC ve MYCN, mutasyon veya amplifikasyon ile aktive edildiğinde hücre bölünmesinin aşırı uyarılmasına neden olan transkripsiyon faktörlerinin örnekleridir. Onkogenlerin son sınıfı apoptoza müdahale eder. Artık ölme sinyaline yanıt vermeyen hücreler, kontrolsüz hücre çoğalmasına yol açabilir.

Protoonkogenlerin aktive olması kromozomda sayısal veya yapısal değişimleri meydana getirir (Kristopher ve Stephen, 2020).

Protoonkogenlerin aktive edildiği 3 ana mekanizma:

- Translokasyon veya delesyonlar
- Amplifikasyon
- Mutasyonlar

Lösemilerde Delesyonlar ve Translokasyonlar

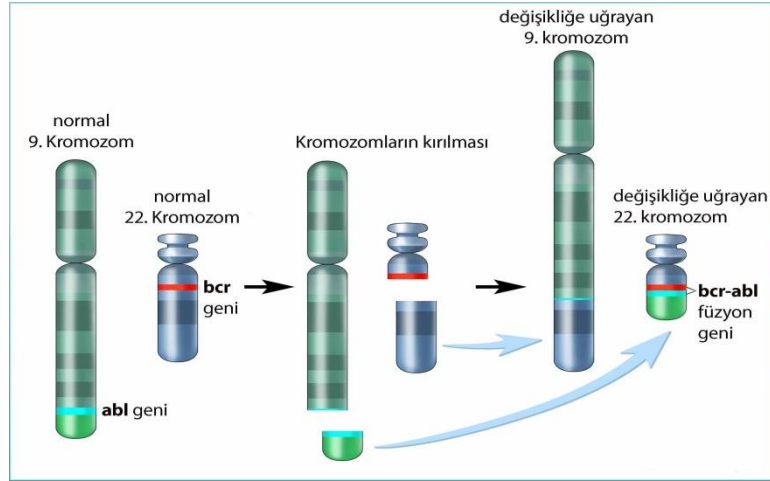
Kromozom translokasyonları tarafından üretilen genomik füzyon gen dizileri, lösemi için ideal klonal belirteç sağlar:

(a) oluşturulduktan sonra kararlıdır ve

(b) füzyon gen bağlantı noktalarında bulunan benzersiz nükleotit dizileri, PCR için iyi hedefler sağlar ve bu nedenle yüksek özgüllükle birlikte yüksek duyarlılıkta saptanabilir.

Lösemide en iyi tanımlanan translokasyon, kronik miyeloid lösemide ve akut lenfoblastik löseminin spesifik alt tiplerinde bulunan BCR-ABL1 proteinini üreten Philadelphia kromozomu t(9;22)'dir (Kristopher ve Stephen, 2020).

Philadelphia kromozomu (Şekil 2.11), kromozom 9 ile kromozom 22 arasındaki genetik materyalin karşılıklı translokasyonu, t(9;22)(q34;q11) nedeniyle kusurlu ve alışılmadık derecede kısadır ve BCR-ABL1 adı verilen bir füzyon geni içerir. BCR/ABL1 üretimi, tirozin kinazın kurucu aktivasyonu ile sonuçlanır. Devam eden hücre proliferasyonu, hücre farklılaşmasını inhibe etme ve hücre ölümü ile sonuçlanır. Ayrıca BCR-ABL1 geni, JAK2/STAT yolağı, PI3K-AKT-mTOR yolağı, MAPK/ERK (RAS/RAF/MEK/ERK) yolağı, TRAIL kaynaklı apoptoz ve C/EBP aracılı farklılaşma yolağının patogenezi ile ilişkilidir. Philadelphia kromozomu, farklı lösemilerle ilişki göstermiştir; Akut Miyeloid Lösemi (AML), Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL) (çoğunlukla B hücreli ALL, nadiren T hücreli ALL), Kronik Nötrofilik Lösemi (CNL) ve Karışık Fenotip Akut Lösemi (MPAL) (Haider vd., 2022).



Şekil 2.8. Philadelphia kromozomu (Tiryaki, 2019)

Lösemilerde görülen translokasyon ve delesyonlar 6 farklı grupta incelenebilir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1 Lösemilerde Görülen Translokasyon ve Delesyonlar (Medeiros ve Konoplev, 2016'den modifiye edilmiştir)

Kromozomal translokasyonlar	Genler	Yorumlar
-----------------------------	--------	----------

a. RARA α 'yı içeren;

t(15;17)(q21;q21) Tablo 2.1 (devam)	- PML - RARα	- DNA bağlanması, hücre çoğalması - transkripsiyon faktörü
t(11;17)(q23;q21)	- ZBTB16 (PLZF) - RARα	- Çinko-parmak transkripsiyon faktörü - Transkripsiyon faktörü
t(5;17)(q32;q21)	- NPM1 - RARα	- RNA taşıma/işleme - Transkripsiyon faktörü
t(11;17)(q23;q21)	- NUMA1 - RARα	- Nükleer mitotik aparat - transkripsiyon faktörü

Tablo 2.1(Devam)

del(17)(q21)	• PRKAR1A • RARα	• cAMP'ye bağımlı protein kinaz tip I alfa düzenleyici alt birim • transkripsiyon faktörü
t(4;17)(q12;q21)	• FIP1L1 • RARα	• FIP1 benzeri 1 • transkripsiyon faktörü
t(X;17)(p11;q12)	• BCOR • RARα	• BCL6 koruyucu • transkripsiyon faktörü
t(2;17)(q32;q21)	• NABP1 (OBFC2A) • RARα	• 2A içeren oligonükleotit/oligosakkarit bağlayıcı kat • transkripsiyon faktörü

b. Çekirdek bağlama faktörü içeren:

t(8;21)(q22;q22.3)	• RUNX1T1 • RUNX1	• Çinko-parmak transkripsiyon faktörü • Runt benzeri transkripsiyon faktörü
t(3;21)(q26;q22)	• MECOM EAP • RUNX1	• Zn-parmak motifi içerir • Runt benzeri transkripsiyon faktörü
t(12;21)(p13;q22)	• ETV6 (TEL) • RUNX1	• ETS benzeri transkripsiyon faktörü • Runt benzeri transkripsiyon faktörü
t(1;21)(p36;q22)	• bilinmiyor	• AML ve MDS'de nadir
t(5;21)(q13;q22)	• RUNX1	• Runt benzeri transkripsiyon faktörü
t(17;21)(q11;q22)		
inv(16)(p13;q22)	• CBFβ	• CBF'nin DNA'ya bağlanmasını stabilize eder
t(16;16)(p13;q22)	• MYH11	• Düz kas miyozin geni
del(16q)		

Tablo 2.1(Devam)

c. KMT2A (MLL) içeren:

t(11;v)(q23;v)	• KMT2A (MLL) • Değişken	• Drosophila trithorax homolojisi • Birçok ortak gen, AF-9 en yaygın olanıdır
----------------	---	--

d. Nükleoporin genlerini içeren:

t(6;9)(p23;q34)	• DEK • NUP214 (CAN)	• varsayılan transkripsiyon faktörü • nükleoporin
Şifreli	• SET • NUP214 (CAN)	• Bilinmeyen işlev • nükleoporin
t(7;11)(p15;p15)	• HOXA9 • NUP98	• Homeobox geni • Nükleer gözenekli kompleks gen
inv(11)(p15;q22)	• DDX10 • NUP98	• DEAD-box varsayılan RNA • Helikaz • Nükleer gözenekli kompleks gen

e- Ets ailesinin genlerini içeren:

(t16;21)(p11;q22)	• FUS (TLS) • ERG	• EWS benzeri RNA bağlayıcı protein • ETS benzeri transkripsiyon faktörü
Tablo 2.1 (devam)		
t(12;22)(p13;q11)	• ETV6 (TEL) • MN1	• ETS benzeri transkripsiyon faktörü • Menenjiyomdan klonlandı

Tablo 2.1(Devam)

f- Diğer translokasyonlar:

t(8;16)(p11;p13)	• KAT6B (MOZ) • CREBBP (CBP)	• Monositik lösemi Zn parmak • Transkripsiyonel aktivasyon
t(9;22)(q34;q11)	• ABL1 • BCR	• Tirozin kinaz • Bilinmeyen işlev

Tablo 2.1 'de gösterilen translokasyon çeşitleri şu şekilde açıklanabilir:

a-RARA α 'yı içeren; Bu translokasyonlar, kromozom 17 üzerindeki retinoik asit reseptörü alfa (RARA) genini içerir (Liquori vd.,2020).

b-Çekirdek bağlama faktörü içeren; Çekirdek bağlama faktörü (CBF), normal hematopoezin transkripsiyonel regülasyonunda yer alan heterodimerik bir protein kompleksidir.

c-KMT2A (MLL) içeren: MLL translokasyonlu lösemiler, bu lösemilerin alışılmadık, bifenotipik immünofenotipi ile, bazı MLL translokasyonlarının (bebek lösemisi ve tedaviye bağlı lösemi) benzersiz klinik sunumu ile ve bu translokasyonlarda MLL ile ortak olan çok sayıda farklı kromozomal lokus nedeniyle yoğun ilgi konusu olmuştur (Aplan,2006).

d.Nükleoporin genlerini içeren: Nükleoporinler, çoklu taşıma reseptörleri ile etkileşime girdiklerinde nükleositoloplazmik taşımada çok önemli rollere sahiptir. Ayrıca hücre döngüsü düzenlemesi, mitoz ve gen ekspresyonu gibi diğer hücresel süreçlerde yer alırlar. NUP214 ve NUP98 lokuslarını içeren kromozomal translokasyonlar, AML ve ALL'de tekrar eder. Önceki kanser tedavisinin bir sonucu olarak ortaya çıkabilirler, fakat aynı zamanda de novo olarak da ortaya çıkabilirler (Mendes ve Fahrenkrog, 2019).

e- Ets ailesinin genlerini içeren: ETS transkripsiyon faktörleri, insanlarda 28 aile üyesinden oluşan normal hücre gelişimi, proliferasyon, farklılaşma, anjiyogenez ve apoptoz ile ilgili genlerin ekspresyonunu düzenler. Bu transkripsiyon faktörlerinin düzensizliği, kanserlerde hücre proliferasyonunu kolaylaştırır ve birkaç üye, belirli gen transkripsiyonlarını aktive ederek istila ve metastaz sürecinde rol oynar (Fry vd.,2018).

f- Diğer translokasyonlar: Kromozomal yeniden düzenleme t(8;16)(p11;p13), daha fazla araştırma için ilginç bir adaydır çünkü t(8;16) ile AML'de lökomogenez yolları tam olarak anlaşılmamıştır. Bu translokasyon, MYST3 (MOZ) ve CREBBP (CBP) genlerinin bozulması ve füzyonu ile karakterize edilir. MYST3, 8p11'de lokalizedir ve gen transkripsiyonunu modüle eden monositik lösemi çinko parmak proteinini kodlar. 16p13 kromozomu üzerindeki füzyon partneri CREBBP, gen transkripsiyonunu modüle eder (Haferlach vd., 2009).

Lösemilerde Amplifikasyonlar

Çift dakika (dmin), homojen boyanan bölgeler (hsr) ve halka kromozomlar şeklinde genomik amplifikasyonlar, lösemide nadir olmasına rağmen kanserde sıklıkla. Çift dakikalık kromozomlar (dmins ya da DMs), küçük küresel eşleştirilmiş kromatin gövdeleri olarak ortaya çıkan bir gen amplifikasyonu biçimidir. Genellikle, genlerin yapısal olarak ifade edilmesine izin veren temel düzenleyici öğelerden yoksundurlar. Dminler nadirdir ve genellikle kötü prognoz ile ilişkilidir. Gen amplifikasyonundaki rolleri nedeniyle, DM'lerin varlığı bu nedenle tümör büyümesinin hızlanmasında bir faktör olabilir. Bunun bir örneği, akut miyeloid lösemili hastalarda MYC geninin DM tarafından kolaylaştırılan amplifikasyonudur (Wong vd.,2014). Daha çok kolon kanseri, mide kanseri, prostat kanseri ve meme kanseri gibi katı tümörlerde görülmüştür (Gebhart,2005).

İnsan tümör hücrelerinde ekstrakromozomal olarak çoğaltılmış genlerin kaybının uyarılmasının tümörjenisiteyi azalttığı gösterilmiştir, bu nedenle DM'lerin veya onkogenleri taşıyan diğer ecDNA'nın ortadan kaldırılması, kanser tedavisi araştırması için önerilen bir yoldur (Von hoff vd.,1992). DM'ler ve HSR'ler (homojen

boyama bölgesi) arasındaki karşılıklı dönüşüm, kemoterapi direnci için bir mekanizma olarak önerilmiştir (Nathanson vd.,2014).

FLT3, miyeloid neoplazmalarda birkaç sinyal iletim yolu ile ilişkili bir onkojen görevi görmekte olup onkojenik rolü, genellikle nokta mutasyonları dahil olmak üzere aktive edici somatik mutasyonlardan kaynaklanır (Grunwald vd.,2013). Hematolojik malignitelerde FLT3'ün tandem duplikasyonu onkogen aktivasyonuna sebep olmaktadır. FLT3 dahili tandem duplikasyon mutasyonları (FLT3-ITD), artan nüks ve daha düşük genel sağkalım ile ilişkilidir (Kennedy vd.,2020).FLT3'ün hematolojik bozukluklardaki önemli rolü nedeniyle, FLT3'ün aktivasyonunu engellemek için FLT3 inhibitörleri ve tirozin kinaz inhibitörlerini içeren hedefe yönelik tedavilerin uygulamaları geliştirilmiştir (El Fakih vd,2018).

Akut miyeloid lösemi (AML) ve miyelodisplastik sendromlu hastalarda kromozom 21 amplifikasyonları bildirilmiştir (Andersen vd.,2005). 21q22 Amplifikasyonu, akut miyeloid lösemide (AML) nadir görülen bir sitogenetik sapmadır. Şimdiye kadar, AML'de 21q22 amplifikasyonunun sitogenomik ve moleküler özellikleri ve klinik korelasyonu iyi karakterize edilmemiştir (Kudalkar vd.,2022).

Bu tezin konusu olan gen bölgesi 11q23'te KMT2A geninin kromozomal yeniden düzenlemeleri ve amplifikasyonu, şiddetli miyelodisplastik bozuklukları ve lenfoid ve akut miyeloid lösemileri olan hastalarda bulunan yaygın anormalliklerdendir.

Lösemilerde Mutasyonlar

Anormal veya kesik protein ürünleriyle sonuçlanan yanlış anlamlı veya anlamsız mutasyonlara neden olan nokta mutasyonu, tümör baskılayıcı gen inaktivasyonunun yaygın bir mekanizmasıdır (Medeiros ve Konoplev, 2016).

Tümör baskılayıcı gen TP53, insan kanserinde en sık mutasyona uğrayan genlerden biridir. TP53 proteininin kanser, yaşlanma, yaşlanma ve DNA onarımı gibi birkaç temel süreçteki merkezi rolü vardır. Bununla birlikte, TP53'ün akut miyeloid lösemideki (AML) rolü muammadır. TP53 mutasyonları, kemoterapi direnci ve yüksek nüks riski ile ilişkilidir.TP53 mutasyonları, terapi ile ilişkili, nüks ve yaşlı

AML hastaları gibi genomik instabilitenin arttığı AML vakalarının yanı sıra terapi ile ilişkili miyelodisplastik sendrom (t-MDS) daha yaygındır (Barbosa vd., 2019).

Antikanser tedavilerden kaynaklanan terapiyle ilişkili lösemiler nadir değildir ve RUNX1 nokta mutasyonlarının insidansı görülmektedir.

RUNX1'de iki geniş mutasyon kategorisi vardır;

- Monoalelik kromozomal translokasyonlar
- Mono- veya bialelik somatik mutasyonlar

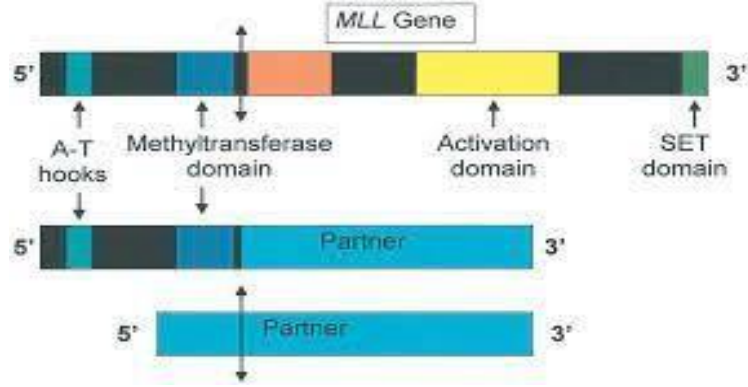
En yaygın kromozomal translokasyonlar, de novo AML'de t(8;21)(q22;q22) ve akut lenfositik lösemide (B-ALL) t(12;21)(p13;q22)'dir (Bellissimo vd.,2017).

RUNX1'deki mono- ve bialelik mutasyonlar, delesyonlar, missense, splicing, frameshift ve anlamsız mutasyonları içerir. Bu mutasyonlar, mekanik olarak kromozomal translokasyonlardan farklıdır ve daha kötü bir prognoza sebep olur (Gaidzik vd.,2016).

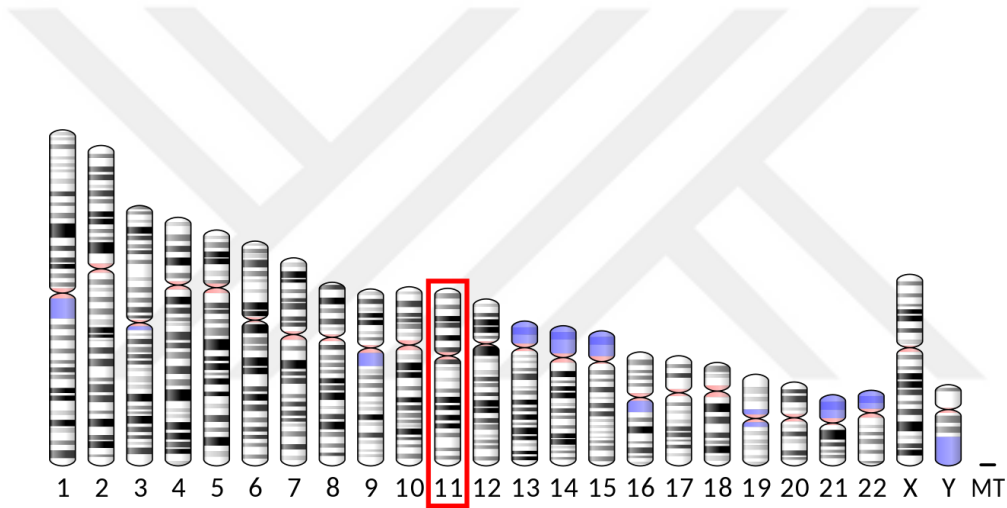
2.2. KMT2A Geni ve Fonksiyonları

KMT2A (Lizin Metiltransferaz 2A), protein kodlayan bir genidir. Akut lenfoblastik lösemi 1 (ALL-1), miyeloid/lenfoid veya karışık soylu lösemi 1 (MLL1), MLL veya çinko parmak proteini HRX (HRX) olarak da bilinir. KMT2A geninin (Şekil 2.9) 37 ekzonu vardır ve q23'te 11. kromozom üzerinde bulunur (Şekil 2.10) (Arnaud vd., 2005).

KMT2A, 431 kDa proteini kodlayan 36 ekzon içeren 90 kb'lik büyük bir genidir. Protein, transkripsiyon faktörlerinin DNA'nın düzenleyici bölgeleriyle birleşmesine izin veren DNA konformasyonunda değişikliklere neden olarak transkripsiyonu düzenlediği bilinen AT kancalarını içerir. Bu AT kancaları, spesifik DNA yapılarını tanıır. KMT2A'nın diğer bölgeleri, raportör yapılardan transkripsiyonu baskılayabilir, homodimerizasyona aracılık edebilir, nükleer proteinlerle etkileşimlere aracılık edebilir, transkripsiyonel aktive edici aktivite içerebilir ve ATP'ye bağlı kromatin yeniden modellenmesi ile ilgilidir (Arber vd.,2018).



Şekil 2.9. KMT2A Geni (De Braekeleer vd., 2005)



Şekil 2.10. KMT2A (MLL) geni 11q23.3'te bulunur (Matías, 2007)

KMT2A proteini, AT kancaları (ATH) ve CxxC alanları dahil olmak üzere N-terminali, MLL1-hedef genlerini tanıyan ve bağlayan bir transkripsiyon faktörü görevi görürken, C-terminal SET alanı, bir histon H3 lizin-4(H3K4) metiltransferazdır (Krivtsov ve Armstrong, 2007).

KMT2A kompleksinin montajı ve hedeflenmesi için WDR5, RBBP5 ve ASH2L gibi bir dizi başka protein gereklidir ve bu nedenle KMT2A aktivitesine katkıda bulunur. Diğer metiltransferazlar gibi, KMT2A de çeşitli işlevlere sahip birçok farklı proteini içeren büyük nükleer komplekslerin bir parçasıdır (Couture vd.,2006).

Mevcut kanıtlar, KMT2A 'nın DNA'yı AT kancası alanları ve DMT' ye homolog alan aracılığıyla diziye özgü olmayan bir şekilde bağladığını göstermektedir. KMT2A, DNA'yı doğrudan bağlayabilen alanlara sahip olmasına rağmen, DNA ile KMT2A etkileşimi, menin gibi diğer DNA bağlayıcı proteinlerle etkileşimlerden de etkilenebilir. Menin, hematopoietik sistemde KMT2A-füzyon proteinleri tarafından anormal gen ekspresyonunun sürdürülmesi için kesinlikle gereklidir (Libbrecht vd.,2021).

Histon deasetilaz 1 (HDAC1) ve HDAC2, CYP33, PcG proteinleri PC2 ve CTBP gibi gen ekspresyonunu baskılayan çoklu proteinlerle etkileşime rağmen, çoğu genetik ve biyokimyasal kanıt, Hox genleri gibi bilinen hedefler için gen ekspresyonunun pozitif düzenleyicisi olarak MLL'ye işaret eder (Xia vd.,2003).

Hem fare hem de insan kemik iliği (BM) numunelerinin gen ekspresyon analizleri, Hox genlerinin çoğunluğunun hematopoietik hücrelerde eksprese edildiğini gösterdi (Pineault vd., 2002). Bu gözlemler, Hox genlerinin, HSC'ler dahil olmak üzere erken hematopoietik hücrelerde anahtar işlevler oynadığı ve düzensiz Hox ekspresyonunun lösemik dönüşümü etkileyebileceği hipotezlerine yol açtı. Fare BM hücrelerinde Hoxa10, Hoxb3 ve Hoxb6'nın aşırı ekspresyonu, B- ve T hücrelerinin farklılaşmasında bir blok, bozulmuş eritropoez ve miyeloproliferatif bozuklukların ve lösemilerin indüklenmesi gibi derin etkilere sahip olduğu görülmüştür (Simsek vd.,2010).

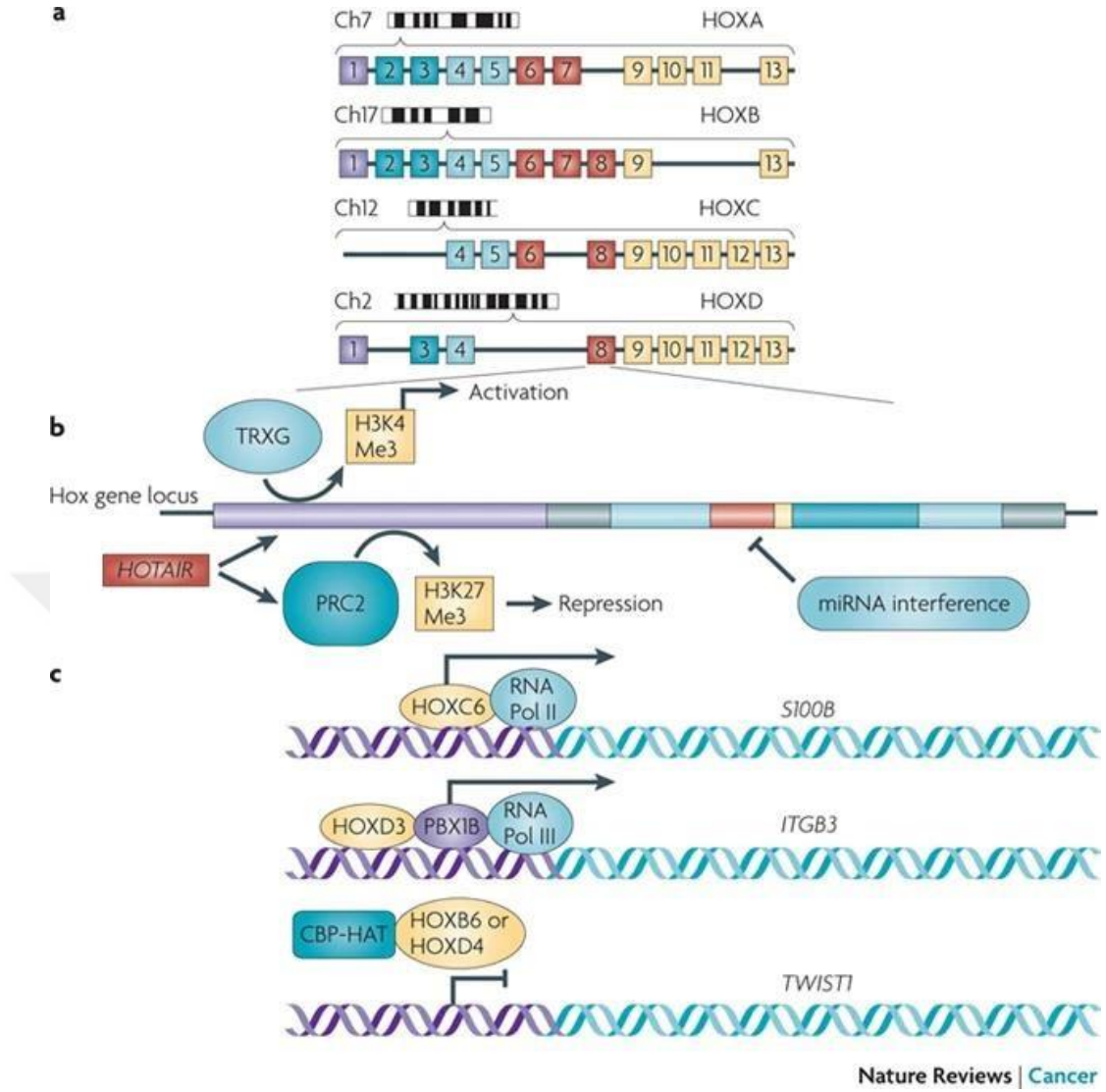
KMT2A , hematopoietik dokuda HOX genlerinin (Şekil 2.11) kritik bir düzenleyicisi olduğundan, KMT2A yeniden düzenlenmiş lösemilerde HOXA genlerinin anormal ekspresyonunun, kimerik KMT2A füzyon proteinlerinin bu lokuslara hedeflenmesine atfedilebileceğine inanılmaktadır (Milne vd.,2005). Ayrıca transkripsiyonu düzenlemek için kofaktörlerle birlikte işlev görebilirler (Shah ve Sukumar., 2010).

Bazı KMT2A değişiklikleri bağımsız olumsuz prognostik faktörlerdir ve hastalar genellikle yüksek riskli protokollere göre tedavi edilir. Bu nedenle, KMT2A değişikliklerinin tanımlanması, tedavi kararı verme için önemli çıkarımlara sahiptir (Ilencikova ve Kolenov, 2013).

Akut lösemide (AL) translokasyonlar, insersiyonlar, delesyonlar ve duplikasyonlar gibi 11q23 kromozom bandını içeren sitogenetik anormallikler gösterilmiştir (Pajuelo-Gómez vd., 2007).

KMT2A proto-onkogeni, aşağıdakiler gibi birkaç mekanizma yoluyla bir onkogen haline dönüştürülebilir (Ilencikova ve Kolenov, 2013):

- Kromozomal translokasyonlar
- 11q alanındaki delesyonlar, inversiyonlar, MLL geninin diğer kromozomlara eklenmesi veya kromatin materyalinin MLL genine eklenmesi gibi karmaşık kromozomal değişiklikler
- Kısmi tandem tekrarları
- Amplifikasyonlar ve kazançlar



Şekil 2.11 Hox kümeleri, Hox genleri ve Hox işlevi (Shah ve Sukumar 2010)

Hox Gen Kümeleri: İnsanlarda, bugüne kadar tanımlanmış 39 Hox genine sahip 4 küme vardır. Şekil, 3'genlerin ön dokularda ve 5'genlerin arka dokularda ifade edildiği uzamsal eşdoğrusallığı göstermektedir. b- Hox Genleri: Hox transkripsiyonu, trithorax grubu (TRXG) proteinleri tarafından yukarı regüle edilebilir veya histon metilasyonu (Me3) ile polipek represör kompleksi 2 (PRC2) tarafından aşağı regüle edilebilir. c-Hox proteinlerinin çeşitli işlevleri vardır. S100B'nin nöroblastoma hücre hatlarında HOXC6 tarafından aktivasyonu ile gösterildiği gibi, gen promotöründe TAAT bölgelerine bağlanarak hedef genleri transkripsiyonel olarak düzenleyebilirler (Shah ve Sukumar,2010).

2.2.1. KMT2A Translokasyonları ve Füzyon Genleri

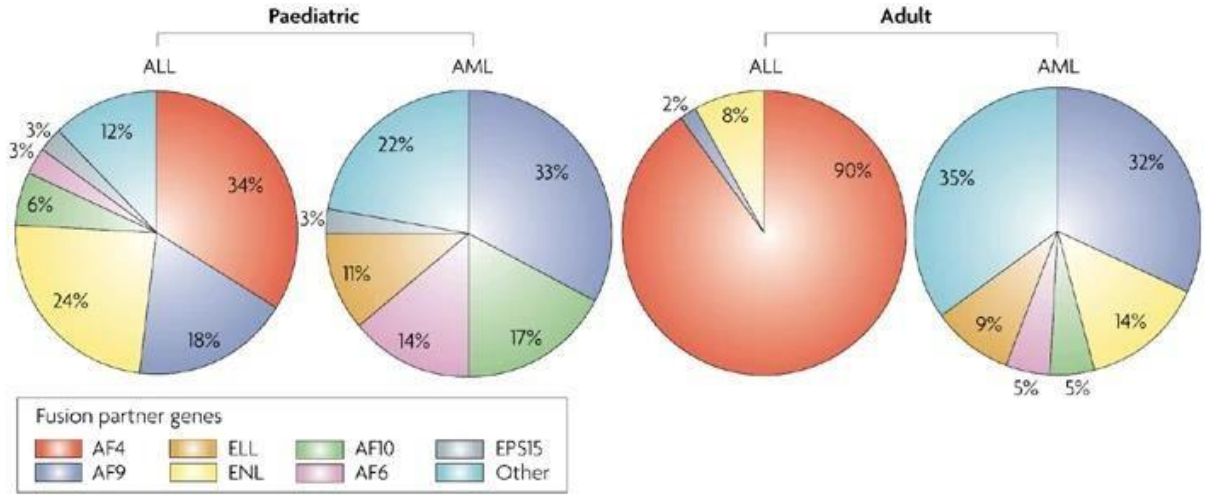
Akut lösemilerinin yaklaşık %10' u KMT2A translokasyonlarını barındırır (Muntean ve Hess,2012).

KMT2A yeniden düzenlemeleri, akut lenfoblastik lösemili (ALL) bebeklerin yaklaşık %80'inde ve pediatrik ve yetişkin ALL'lerin %5-10'unda saptanabilir. Bebek akut miyeloid lösemisinin (AML) %60'ında, de novo vakaların %3'ünde ve tedaviye bağlı yetişkin AML vakalarının %10'unda bulunabilirler (Grossman vd.,2013).

Lösemilerde Hox geninin aşırı ekspresyonu, genellikle translokasyona uğramış Hox geninin yapısal ekspresyonu veya tritoraks homologu KMT2A tarafından değiştirilmiş düzenleme ile sonuçlanan translokasyon mutasyonlarından kaynaklanır. Bazı HOXA ve HOXB genlerinin aşırı ekspresyonu, lösemi klonlarının ve bunların atalarının proliferasyonunu artırabilir; bunlardan HOXA9, özellikle kemik iliği kaynaklı hücrelerin artan proliferasyonu ile ilişkilidir (Lawrence vd.1992). 70'den fazla farklı tekrarlayan MLL1 translokasyon partner geni tanımlanmıştır.

ALL ve AML'den muzdarip yetişkin hastalarda 11q23 translokasyonları sporadik olarak tespit edilir. Bütün bu lösemili hastaların ortak özelliği kötü bir prognoza sahip olmalarıdır. 11q23 translokasyonlu bebek ALL hastalarının 5 yıllık sağkalım oranı, en son teknolojiye sahip tedavilerle bile %15-50' iken bu translokasyonun görülmediği hastalarda oran 70%-90%' dur. (Pieters vd.,2019).

En sık gözlenen kesme noktaları, KMT2A geninin 9, 10 ve 11. intronlarındadır. Tüm kromozomal yeniden düzenlemeler, füzyon ortağının C-terminaline çerçeve içinde kaynaşmış genin N-terminalini içeren bir füzyon proteini üretir. Tüm KMT2A translokasyon taşıyan lösemilerin yaklaşık %80'ini oluşturan en sık beş KMT2A yeniden düzenlemesi şunlardır (Şekil 2.12): t(4;11)(q21;q23) veya MLL-AF4; t(9;11)(p22;q23) veya MLL-AF9; t(11;19)(q23;p13.3) veya MLL-ENL; t(10;11)(p12;q23) veya MLL-AF10; ve t(6;11)(q27;q23) veya MLL-AF6.



Nature Reviews | Cancer

Şekil 2.12 Pediatrik ve yetişkin Akut Lösemilerde en sık görülen füzyon partnerleri (Krivtsov ve Armstrong, 2007)

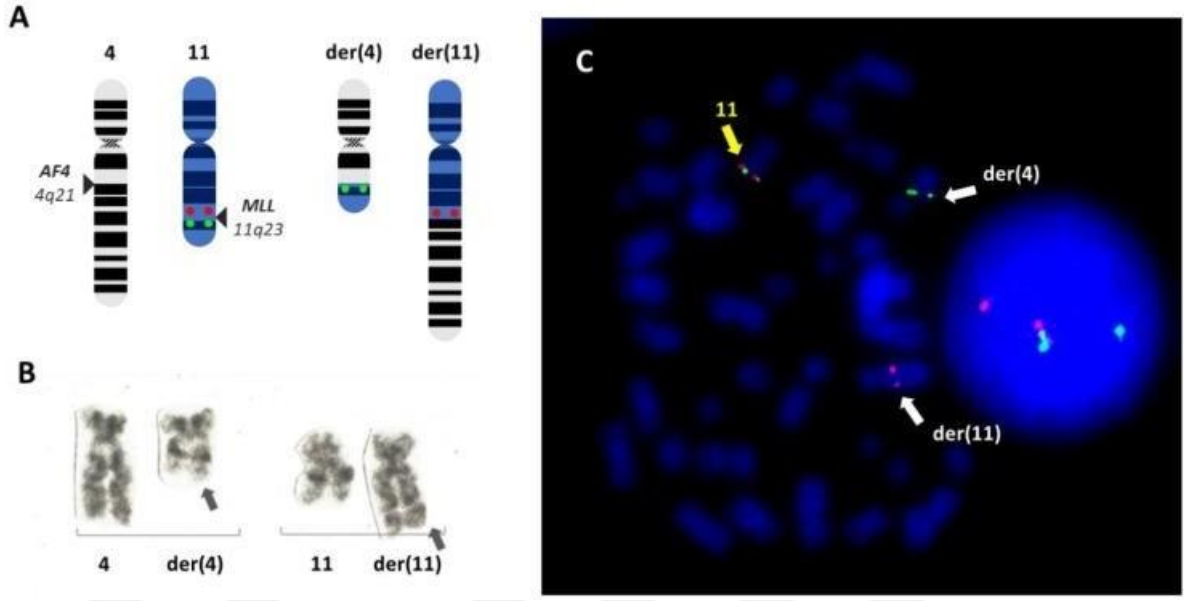
Genel olarak, KMT2A yeniden düzenlemeleri olan hastaların prognozu kötüdür ve yüksek riskli protokollere göre tedavi edilirler, ancak bu translokasyon eşine bağlı olarak değişebilir (Muntean ve Hess,2012).

2.2.1.1. AF4 Füzyonu

KMT2A -AF4 füzyon proteini çoğunlukla CD19+ B-soyu ALL vakalarıyla ilişkilidir (Muntean ve Hess,2012).

Translokasyon ile türeyen yeni kromozom 11 üzerinde 11q23 ve 4q21'de iki lokusun füzyonu ile MLL-AF4 kimerik proteinini üretir (Meyer vd.,2018). KMT2A yeniden düzenlemelerinde (KMT2A -r) en tekrarlayan füzyon partneri olup, KMT2A -r löseminin yaklaşık %36'sını oluşturur ve özellikle KMT2A -r akut lenfoblastik lösemi (ALL) vakalarında (%57) yaygındır (Britten ve Kamel,2019).

t(4;11)(q21;q23)(Şekil 2.13), KMT2A 'yi içeren sık tekrarlayan translokasyonlardan birini temsil eder ve hem yetişkinlerde hem de bebeklerde/çocuklarda lenfoblastik lösemide en yaygın olanıdır. AF4-MLL1 füzyon proteini, bebek ve yetişkin MLL-r-ALL'lerin ~%50 ve %75'inde bulunur (Meyer vd.,2018).



Şekil 2.13 (A). Floresans in situ hibridizasyon (FISH) probu XL MLL'nin (Metasistemler) konumu, 11q23'te MLL lokusunu çevreleyen bir yeşil ve bir kırmızı sinyalden oluşan normal kromozom 11'de de belirtilir. Translokasyon durumunda, iki sinyal bölünerek MLL lokusunun bozulduğunu gösterir. Sonuç olarak der(11), MLL'ye yakın kırmızı sinyali tutarken der(4), MLL'nin uzak kısmına karşılık gelen yeşil sinyali içerecektir. Bu modeller, XL MLL probu (B) ile hibridize edilmiş bir t(4;11)(q23;q21) barındırdığı bilinen RS4;11 hücre hattından temsili bir metafazda görülebilir. Aynı yeniden düzenleme, G-bandi ile elde edilen (C)'de gösterilmiştir(Britten ve Kamel, 2019)

2.2.1.2. AF9 Füzyonu

Akut miyeloid lösemide (AML), MLL-MLLT3-füzyon proteini ile sonuçlanan translokasyon t(9;11)(p22;q23), MLL' yi içeren en yaygın translokasyondur. Translokasyon (9;11) hem de novo hem de terapiyle ilişkili AML'de (t-AML) bulunabilir ve mevcut WHO sınıflandırması bu iki alt tipi farklı kategorilere ayırır(Kühn vd.,2011).

Her yaşta ortaya çıkabilir, ancak çocuklarda daha sık görülür, pediatrik AML'nin %5-12'sinde ve yetişkin AML'nin %1-2'sinde bulunur ve erkeklerde ve kadınlarda eşit derecede yaygındır. KMT2A-MLLT3 füzyonları, APL dışı akut miyeloid lösemili hastalarda orta dereceli bir prognoz ile ilişkilidir (NCCN.org) Bir preklinik çalışmada, KMT2A-MLLT3'ü barındıran bir transgenik lösemik fare modeli, IRAK1/4'e duyarlılık göstererek ilerlemede gecikme ve sağkalımda iyileşme sağladı (Liang vd.,2017).

2.2.1.3. ENL Füzyon

MLL-ENL'nin miyelomonositik öncüleri in vitro olarak ölümsüzleştirdiği ve farelere verildiğinde miyeloid lösemiye indüklediği gösterilmiştir (Lavau vd.,1997). MLL-ENL, bir dizi hematopoietik progenitörden AML'yi başlatabilir (Ugale vd.,2014). MLL-ENL, olgun efektör hücrelere doğrudan dönüşümü temsil etmek yerine proliferasyonu teşvik edebilir ve farklılaşmayı inhibe edebilir.

t(11;19) taşıyan hücre hattı çalışmalarında, Tkachuk vd. (1992), her iki türev kromozomdan ifade edilen füzyon transkriptlerini tanımladı. Daha bol bulunan türev 11 transkripti, kromozom 19'dan ENL genine kaynaşmış HRX geninin amino terminali 'AT-hook' motiflerini içeren kimerik bir proteini kodladı (ENL, '11-19 lösemi' için böyle adlandırılmıştır).

Lösemide 11q23 içeren translokasyonlar, çinko parmak alanlarının kromozom 4, kromozom 9 veya kromozom 19 üzerindeki diğer genlere füzyonla translokasyonuna neden olur. Birleştiği kromozom 19 üzerindeki gen ENL' dir. Nakamura ve ark. (1993), kromozom 4 (AF4) ve kromozom 9 üzerinde kaynaştığı genlerin ENL' ye yüksek sekans homolojisi gösterdiğini bulmuşlardır.

2.2.1.4. AF10 Füzyonu

Bu füzyon,AML'de faz M5/M4'de;ALL' de tüm evrelerde, terapi ile ilgili vakalarda görülür.10p11'den 10p15'e kadar kromozom 10'da çok çeşitli rapor edilen kesme noktaları henüz tam olarak incelenme aşamasında. t(10;11)(p12;q14), akut miyeloid lösemi, akut lenfoblastik lösemi ve malign lenfomada bulunan CALM/AF10 füzyon genine yol açan tekrarlayan bir kromozomal translokasyondur. Bu translokasyon, varsayılan bir çinko parmak transkripsiyon faktörü olan AF10 ile bir klatrin montaj proteinini kodlayan CALM (Klatrin montaj proteini lenfoid miyeloid lösemi) geninin füzyonu ile sonuçlanır (Dreyling vd.,1996).

PICALM olarak da bilinen CALM, 11q23 kromozomu üzerinde yer alır, her yerde eksprese edilir ve endositozda rolü olan çok sayıda alana sahip 652 amino asitli bir proteini kodlar.CALM/AF10 füzyon proteini oldukça lökojeniktir. CALM/AF10'un

ifadesi, bir murin kemik iliği nakli modelinde agresif bir akut lösemnin gelişmesine yol açmıştır (Deshpande vd.,2006).

2.2.1.5. AF6 Füzyonu

AF6 veya MLLT4 olarak bilinir.t(6;11)(q27;q23) KMT2A/AFDN bölgeleri arasında gerçekleşmiştir. t(6;11) translokasyonun farkedilmesi gözden kaçabilir: kromozom 6 tutulumundaki anormallik, geleneksel bantlama teknikleriyle bir del(11q) olarak yanlış yorumlanabilir bu nedenle FISH tekniği gereklidir (ATLAS of genetics,2017). Akut miyeloid lösemide, bazen tedaviye bağlı lösemide, B lenfoblastik lösemide ve T-hücreli lenfoblastik lösemide görülür. t(6;11) lösemi taşıyan lösemi hastaları genellikle çok kötü prognozlu (OS~%10) tipik bir AML hastalığı fenotipi gösterir. KMT2A -AF6, hedef gen promotorlarına bağlı transkripsiyon faktörleriyle etkileşimi kolaylaştıran N-terminalinde MEN1/LEDGF bağlama alanını içerir (Yokoyama vd.,2004).

Translokasyon t(6;11), 11q23/MLL yeniden düzenlemesi ile akut lösemnin yaklaşık %5'ini temsil eder ve AML'de ALL'den daha sık görülür (Balgobind vd.,2009)

2.2.2. KMT2A Bölgesinde Sayısal Değişiklikler

KMT2A gen amplifikasyonu, kromozom 11'in amplikonunun bir veya daha fazla başka kromozoma entegre edildiği ve KMT2A geninin birden fazla kopyasını oluşturduğu translokasyonları yoluyla meydana gelebilir. Genel olarak, genin amplifikasyonu, genin yapısal olarak normal kopyalarının aşırı çoğalmasına yol açarak onkogen uyarıcı proteinin aşırı üretimine yol açar. Bu ekstra proto-onkogen kopyaları, bir hücredeki gen ürününün miktarını artırır, böylece sınırsız hücre çoğalmasını indükler (Ilencikova ve Kolenov,2013).

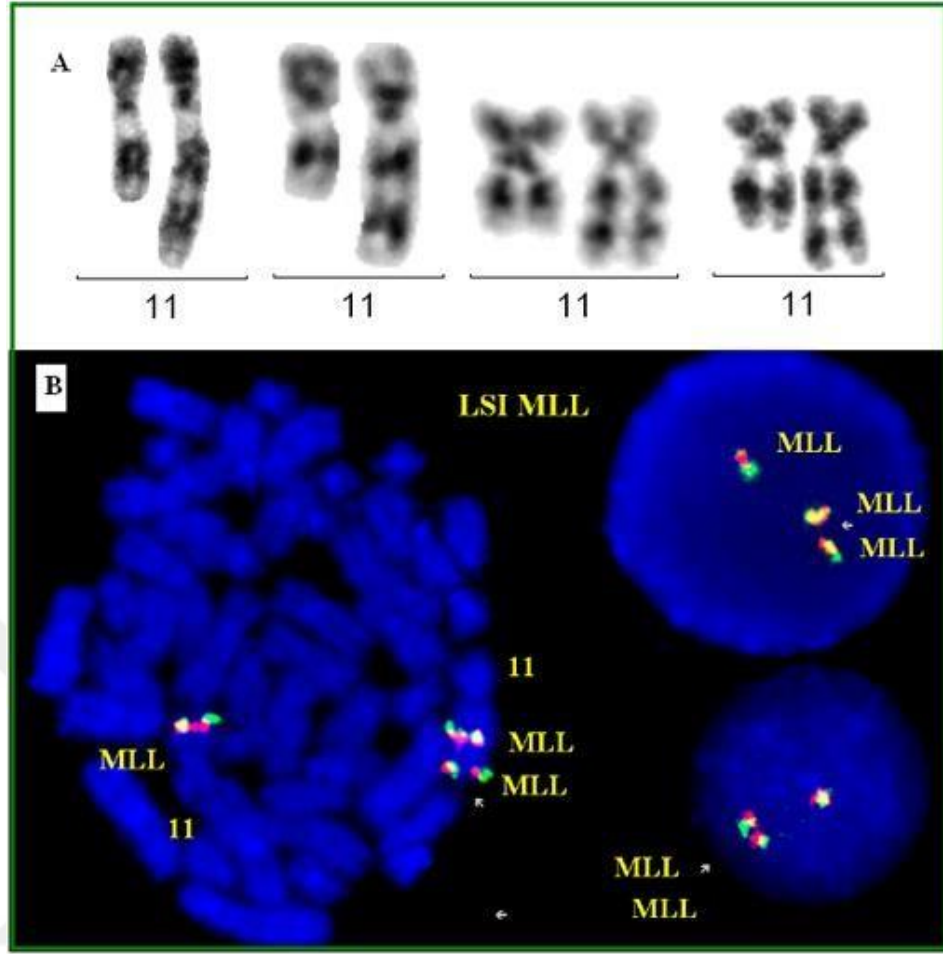
Gen amplifikasyonu, AML'li hastaların yaklaşık %1'inde dmin (KMT2A geninin alanı) şeklinde bir sitogenetik analiz yapılarak tanımlanır (Ilencikova ve Kolenov,2013). KMT2A geninin amplifikasyonu, CMYC onkogeninden sonra AML/MDS'de en çok amplifiye edilen ikinci gendir. Bir çalışmada, homojen boyanan bölge (hsr) ve çift dakika (dmin) sergileyen 8/27 (%29) AML vakasında KMT2A amplifikasyonu bulundu (Atlas Genetics Oncology, 2022).

KMT2A amplifikasyonlu AML/MDS, yaşlı bir yaş, 4 ila 91 yıl arasında değişen ortalama başvuru yaşı 72, genellikle daha önce alkile edici ajanlar veya topoizomerez II ile tedavi öyküsü ve hafif kadın baskınlığı ile ilişkilidir. Tedaviyle ilişkili MDS/AML'de KMT2A geninin amplifikasyonu hastaların %12'sinde bulundu (Atlas Genetics Oncology, 2022).

FISH, KMT2A amplifikasyonunun saptanmasında faydalı olmuştur. Gen amplifikasyonu, sitogenetik olarak iki yoldan biriyle kendini gösterir, ya homojen boyanan bölgeler (hsr) ile kromozomal olarak ya da çift dakikalık kromozomlar (dmin) olarak ekstrakromozomal olarak. Floresan in situ hibridizasyon (FISH), amplifiye edilmiş bölgelere dahil olan genlerin tanımlanmasına izin verir (Cuthbert vd., 2000).

İzole bir anormallik olarak trizomi 11 (+11), akut miyeloid lösemili (AML) hastalarda nadir görülen bir olaydır ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Alseraye vd,2011).

KMT2A genini içeren 11. kromozomun uzun kolunun(q) kısmi kazanımı, miyeloid malignitelerde nadir fakat tekrarlayan bir anomali olup sıklıkla ileri yaşla ilişkilidir (Şekil 2.14) ve oldukça karmaşık karyotip ile kendini gösterir (Bahar ve Zamecnikova,2016).



Şekil 2.14 MLL Amplifikasyonu (Bahar ve Zamecnikova,2016)

(A) 11q amplifikasyonlu karyotipler. (B) Metafaz ve interfaz hücrelerinde MLL'nin (KMT2A) (11q+ üzerinde 2 füzyon sinyali) intrakromozomal duplikasyonunu gösteren dual prob ile FISH sonuçları.

11. kromozomdaki amplikonların büyüklükleri değişir ve genellikle bir bant 11q23 ve KMT2A genini içerir. Ancak, başka bazı bölgeler de gözlenmiştir; sadece uzun kolun değil, kısa kolun parçaları da çoğaltılabilir (Šárová vd.,2010).

2.3.FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon)

2.3.1. FISH Tekniği

1980'lerde moleküler genetiğin ortaya çıkışı ve son otuz yılda floresan in situ hibridizasyon (FISH), çok renkli FISH, karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH), çeşitli dizi tabanlı genotipleme gibi bir dizi güçlü moleküler sitogenetik teknolojinin geliştirilmesi ve DNA ve RNA dizilimi, neoplastik başlangıç ve ilerlemede işleyen moleküler mekanizmalar hakkındaki bilgimizi ve anlayışımızı önemli ölçüde genişletti.

Yeni teknikler, araştırmacıların tümör hücrelerini bireysel genler düzeyinde, hatta tek baz çiftleri düzeyinde araştırmasına olanak sağladı ve giderek artan sayıdaki kanserle ilişkili genomik anormalliklerin moleküler sonuçları böylece açığa çıktı (Vogelstein vd., 2013).

Geleneksel sitogenetik bantlama yöntemleri zahmetlidir ve rutin klinik ortamlarda translokasyonları saptamak için zaman alıcıdır. Gen yeniden düzenlemelerini ve füzyon transkriptlerini tespit etmek için Southern blot, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) gibi moleküler yöntemler kullanılabilir, ancak bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllük sorunları vardır. Southern blotting, tümör hücrelerinin en az %10'unun varlığını gerektirir. Çeşitli moleküler yöntemler arasında, floresan in situ hibridizasyon (FISH), fazlar arası düzeyde translokasyonların hassas bir şekilde tanımlanması için yardımcı bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır(Heim ve Mitelman, 2015).

FISH yöntemi nispeten basittir ve tek bir deneyde çok sayıda interfaz hücresi puanlanabilir. Hematolojik malignitelerdeki translokasyonlar için ikili füzyon yaklaşımı kullanan oldukça hassas problar tanımlanmıştır (Dewald ve ark.,1998) FISH, yeni kromozomal translokasyonların ve kriptik aberasyonların yanı sıra marker kromozomların tanımlanmasında etkilidir. İnsan Genomu Projesi'nin tamamlanması gibi genom analizindeki son gelişmeler, insan genomundaki herhangi bir genomik konum için prob geliştirme olanaklarını genişletti (Heim ve Mitelman, 2015).

Daha iyi etiketleme ve görüntüleme sistemleri de yöntemin etkinliğini artırmış ancak maliyet etkinliğini korumuştur. FISH'in faydası, spesifik sapma tiplerini tespit etmeye uygun farklı prob tiplerinin geliştirilmesiyle daha da arttı (Heim ve Mitelman, 2015).

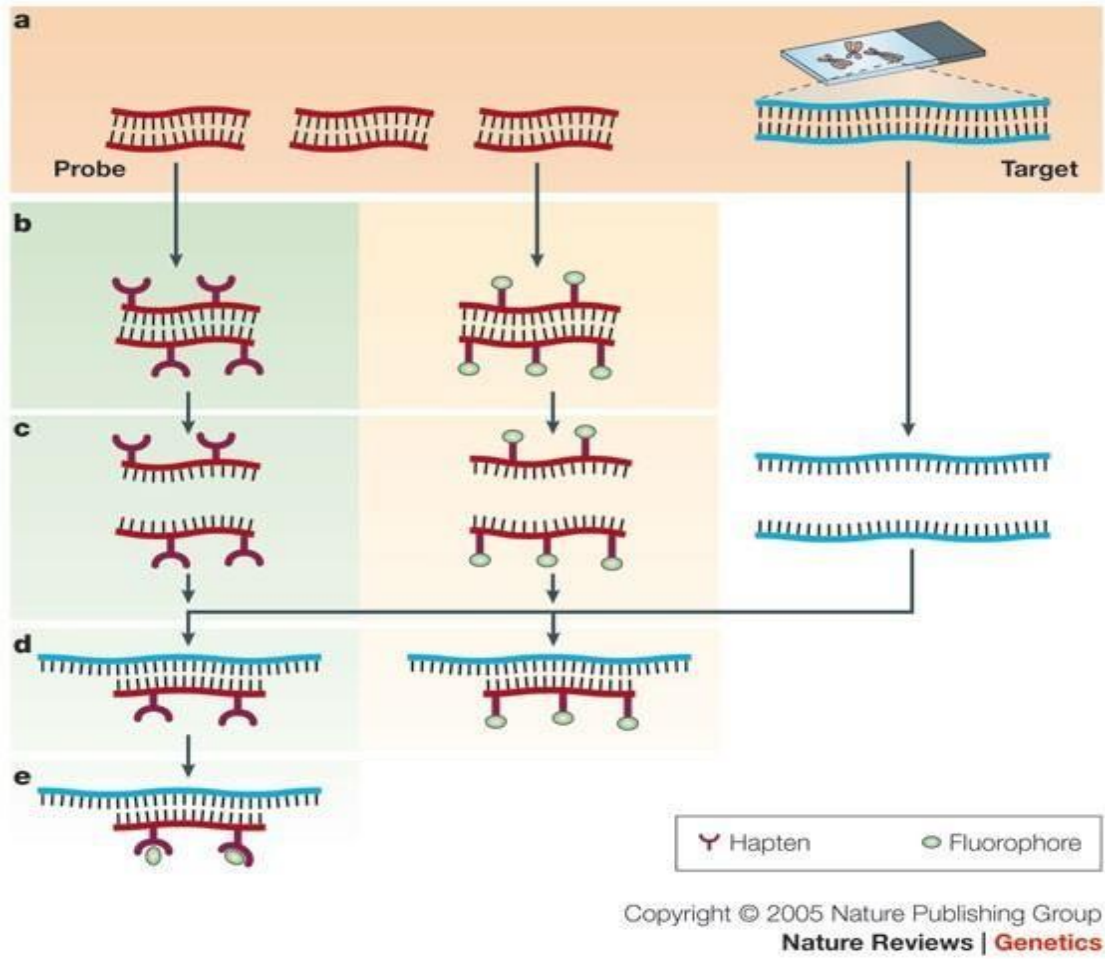
Tablo 2.2 Çeşitli yapısal ve sayısal kromozom sapmalarını tespit etmek için kullanılan farklı tipte FISH problemleri (Heim ve Mitelman, 2015)

ÇEŞİDİ	UYGULAMASI
Sentromer problemleri	Kromozomal kopya numarasının numaralandırılması
Kromozom boya problemleri	Marker kromozomlarının karakterizasyonu, kromozom translokasyon tespiti
Mikro delesyon benzersiz sekans problemleri	İnterfaz ve metafazdaki küçük mikroskobik delesyonların tanımlanması
Amplifikasyon algılama Problemleri	Büyütülmüş kromozom segmentlerinin tespiti ve spesifik gen amplifikasyonları
Telomere özgü problemler	Kromozom telomerlerinin yakınındaki küçük terminal düzenlemelerinin tespiti
Translokasyon birleşim sekans problemleri	Metafaz ve interfaz hücreleri kullanarak kromozom translokasyonlarının varlığını saptamak için

G-bandı karyotipleme ve FISH analizi, AML'de hastaların klinik alt gruplara ayrılmasına yol açtı. In situ hibridizasyon teknikleri, DNA'nın iki antiparalel tamamlayıcı sarmal halinde doğal organizasyonuna dayanır. Hedef DNA'nın metafaz yayılmalarında veya interfaz çekirdeklerinde denatürasyonundan sonra, tek sarmallı DNA problemlerinin, tamamlayıcı genomik dizileriyle hibrit çift sarmallı kompleksler oluşturmaya izin verilir. Hibridizasyondan önce problemler, floresan mikroskobu ile doğrudan saptamaya izin vermek için flüoroforlarla etiketlenebilir (Pinkel vd., 1986; Cremer vd., 1988).

FISH tekniğindeki ilk adım, prob dizisinin floresan bir kopyasını (Şekil 2.15b, orta sütun) veya prob dizisinin, prosedürde daha sonra floresan hale getirilebilecek değiştirilmiş bir kopyasını (Şekil 2.15b) yapmaktır. Daha sonra, herhangi bir hibridizasyon gerçekleşmeden önce hem hedef hem de prob dizilerinin ısı veya kimyasallarla denatüre edilmesi gerekir (Şekil 2.15c). Bu denatürasyon adımı, sonraki hibridizasyon adımı sırasında hedef ve prob arasında yeni hidrojen bağlarının oluşması için gereklidir (Speicher ve Carter, 2005).

Prob ve hedef sekanslar daha sonra birlikte karıştırılır (Şekil 2.15d) ve prob spesifik olarak kromozom üzerindeki tamamlayıcı sekansa hibritlenir. Prob zaten floresansa (orta sütun), hibridizasyon bölgesini doğrudan tespit etmek mümkün olacaktır. Diğer durumlarda (sol sütun), hibritleştirilmiş probu görselleştirmek için ek bir adım gerekebilir. Problar ve bunların kromozomal hedefleri arasında oluşan melezler, bir flüoresan mikroskop kullanılarak tespit edilebilir (Speicher ve Carter, 2005).



Şekil 2.15 FISH Tekniği (Speicher ve Carter, 2005)

2.3.1 Akut Lösemilerde FISH Tekniği

Bir sitogenetik analiz, önemli prognostik ve tahmin edici bilgiler sağlar ve kansere özgü genetik anormallikleri veya ürünlerini hedefleyen bireysel tedavi için temel oluşturarak terapötik kararlara rehberlik eder ve ayrıca genetik remisyon veya ilerlemeyi izleyerek terapötik etkinliğin değeriendirilmesine yardımcı olur (Heim ve Mitelman, 2015).

FISH' in standart sitogenetik analize kıyasla avantajları, FISH' in mikroskop altında tespit edilemeyecek kadar küçük genetik değışiklikleri tanımlamak için kullanılabilmesi, hücre kültürü gerektirmemesi ve interfaz çekirdeklerinin hızlı bir şekilde değeriendirilmesi için doğrudan taze veya parafine gömülmüş dokular üzerine uygulanabilmesidir. Bu nedenle hastalarda risk sınıflandırmalarında kullanılmaktadır.

Çeşitli sitogenetik teknikler kullanılarak kemik iliği hücrelerinin kromozomal analizi, belirli bir hematolojik bozukluğu olan hemen hemen her hasta grubunun dikkatli muayenesinin ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir (Tansatit, 2016).

2.3.1.1. ALL' de FISH Paneli

Tablo 2.3 ALL Paneli (Ashok vd.,2017)

Hedeflenen Genetik Anomali	FISH Panel Probu	Prob Rengi	Üreticinin Adı
t (9;22) (q34;q11)	BCR / ABL1	Yeşil / Kırmızı	MetaSystems
t(12;21)(p13;q22)	ETV6 / RUNX1	Yeşil / Kırmızı	MetaSystems
11q23 Delesyonu	MLL	Sarı = Yeşil + Kırmızı	CytoCell

ALL'de, t(9;22) yetişkinlerde (%25-30) çocuklardan (%~3) daha yüksek bir insidansla meydana gelir ve yaşla katlanarak artar. Tarihsel olarak, yetişkinlerde Ph-pozitif ALL, çok kötü bir prognoz ve yüksek bir nüks oranı ile ilişkilendirilmiştir. Ancak imatinib kullanımı bu yaş grubu için de olumlu sonuçlar vermiştir (Ashok vd.,2017).

t(12;21) ETV6/RUNX1, ilk olarak 1994 yılında FISH tekniği ile keşfedilmiştir. 12 ve 21. kromozomlar arasındaki translokasyonlu bölgelerin bantlama modeli ve boyutu aynı olduğu için karyotipleme ile görünmez. ETV6-RUNX1 füzyonu (Tablo 2.3), BCP-ALL'nin

%25-30'unda meydana gelen çocukluk ALL'sinde en yaygın translokasyondur ve en yüksek insidansı 3-5 yaşlarındadır (Ashok vd.,2017).

2.3.1.2. AML' de FISH Paneli

Tablo 2.4 AML FISH Paneli (Orazi vd., 2013)

Anomali	Dahil Ölan Genler
t(3;3); inv(3)	<i>MECOM/RPN1</i>
-5/del(5q)	(Multiple genes)
t(6;9)	<i>DEK/NUP214</i>
-7/del(7q)	(Multiple genes)
Trisomy 8/del(20q)	(Multiple genes)
t(8;21)	<i>RUNX1T1/RUNX1</i>
t(11p15)	<i>NUP98</i>
t(11q23)	<i>KMT2A (MLL)</i>
t(15;17)	<i>PML/RARA</i>
inv(16) or t(16;16)	<i>CBFB/MYH11</i>

AML FISH paneli (Tablo 2.4), Akut miyeloid lösemili (AML) hastalara kesin tanı koymada, hastalığın alt tiplerini belirleme ve risk değerlendirmesi yapmada sık kullanılan gen anomalileri bölgelerinden oluşmaktadır. Elde edilen sonuçlar karyogenetik analizlerle beraber değerlendirilebilir.

En sık incelenen bölgelerden translokasyona dahil olanlar; t(3;3), t(6;9), t(8;21), t(11p15), t(11q23), t(15,17) ve t(16;16) bölgeleri iken delesyon incelemeleri del(5q), del(7q) ve del(20q)' dir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyallar

Hücre kültürü ve FISH tekniğinde kullanılan malzemeler listelenmiştir.

3.1.1. Çalışılan Hastalar

Çalışma için Ocak 2021 ile Kasım 2022 arasında Dicle Üniversitesi (Diyarbakır, Türkiye) Tıp Fakültesindeki Hastaneden ALL ve AML tanılı toplam 62 hasta seçildi. Hastalardan tanı anında kemik iliği (BM) veya periferik kan (PB) örnekleri alındı ve tıbbi kayıtları incelendi. Çalışmanın etik beyanı ektedir (Bkz: Ek 1). Hastalardan 26'sı kadın iken 36'sı erkektir.

3.1.2. Kimyasal Malzemeler

3.1.2.1. Kemik iliği ve kandan alınan hücreler için besi kültürünü hazırlarken kullanılan malzemeler:

1-*Ham's F10*: Kromozom analizi için insan diploid hücrelerinin ve beyaz kan hücrelerinin büyümesinde kullanılabilmektedir.

2-*Fetal Bovine Serum (FBS)*: 22.5 CC FBS kullanıldı. Fetal sığır serumu (FBS), mezbahada kapalı bir toplama sistemi aracılığıyla sığır fetüsünden alınan kandan elde edilir. Fetal sığır serumu, ökaryotik hücrelerin in vitro hücre kültürü için en yaygın kullanılan serum takviyesidir.

3-*L-Glutamine Solution (200 mM)*: Kullanıma hazır bir stok solüsyondur. L-glutamin, çoğu hücre kültürü ortamı için gerekli bir katkı maddesi olan ve nitrojenin kültürdeki hücrelere depolanmasını ve transferini kolaylaştırır. L-glutamin, kültür ortamında hücrelerin enerji üretimi ve protein sentezi için gerekli olan esansiyel bir aminoasittir. 2 x CC kullanıldı.

4-*Penisilin Streptomisin solüsyonu*: Pen Strep solüsyonu olarak da bilinen Penisilin Streptomisin solüsyonu, memeli hücrelerinin kültürü için en yaygın kullanılan antibiyotik solüsyondur. Penisilin Streptomisin çözeltisi, hücre kültürü sırasında steril koşulları korumak için kullanılır ve kültürlenmiş hücreler üzerinde çok az olumsuz etki gösterir. Çalışmada 2xCC kullanıldı.

5-Kolsemid Solüsyonu: Kolsemid Solüsyonu, hem bitki hem de hayvan hücrelerinde mitozu durdurarak metafaz sırasında iğ oluşumunu engeller. Kolsemid kullanılırken 5xCC Colcemid 5xCC distile su ile sulandırıldı.

6-Hipotonik: 5.59 gr Kcl, 1L Bidistile suda çözülür. Kullanım aşamasında 250 x CC hipotonik çözeltisi 250 x CC distile su ile seyreltilir.

7-Fiksatif: 1 Hacim Asetik Asit, 3 Hacim Methanol alınarak hazırlanır.

8- PHA (phytohemagglutinin): Hücrelerin mitotik aktivitelerini arttırmaktadır.

9- -Kolşisin (colchicine) Solüsyonu: 40 mg colchicine+100 ml triple distile su

3.1.2.2. FISH İçin Kullanılan Malzemeler:

1. %100 Etanol (EtOH)
2. 20x salin-sodyum sitrat (SSS) Çözeltisi
3. 1M Hidroklorik asit (HCl)
4. Tween-20
5. 1M Sodyum Hidroksit (NaOH)
6. Distile su

3.1.3. MLL FISH Kiti Malzemeleri

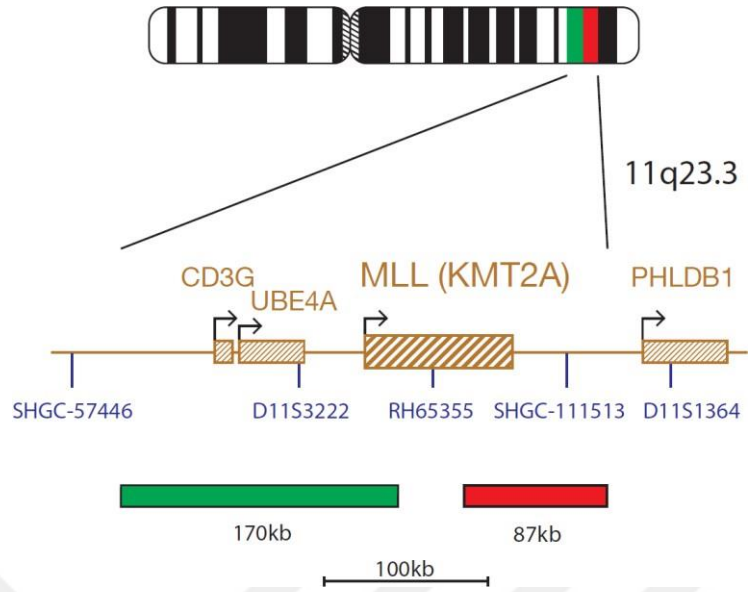
1- CytoCell MLL (KMT2A) Break Apart Probları:

Prob (Şekil 3.1) : 100µl (10 test)

Problar, hibridizasyon çözeltisi SSC' ye karıştırılmış olarak tedarik edilir ve kullanıma hazırdır.

Prob Spesifikasyonu:

MLL, 11q23.3, Kırmızı ve MLL, 11q23.3, Yeşil



Şekil 3.1 KMT2A FISH Probu (CytoCell MLL (KMT2A) Breakapart FISH Probe, n.d.)

MLL ürünü, SHGC-111513 işaretçisini içeren MLL (KMT2A) genine telomerik bir bölgeyi ve CD3G ve UBE4A genlerini kapsayan MLL genine sentromerik 170kb bölgesini kapsayan yeşil bir probu içine alan kırmızı renkli etiketli 87kb probdan oluşur.

2- Karşıt Boya:

Karşıt boya, DAPI renk solması karşıtı karışımdır (ES: 0.125µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

3.1.4. Kullanılan Araç-Gereçler ve Cihazlar:

3.1.4.1.Hücre Kültürü İçin Kullanılanlar:

- 1- Steril konik kültür tüpü
- 2-Etöv
- 3- Santrifüj Cihazı
- 4-Kuru Hava Sterilizasyonu
- 5-Mikroskop
- 6-Enjektörler ve pipetler
- 7- Mikropipetler
- 7-Santrifüj Tüpleri
- 8-Dikey Şaleler ve Mezürler

- 9-Lam ve Lameller
- 10-pH Metre
- 11- Vortex
- 12- Laboratuvar saati
- 13-Plastik Eldiven
- 14- Buzdolabı

3.1.4.2.Fish İçin Kullanılanlar:

- 1. Mikrosantrifüj tüpler (0.5ml)
- 2. Kalibre edilen değişken hacimli mikropipetler (1µl - 200µl)
- 3. Su banyosu (Şekil 3.3)
- 4. Isıtma tablası (80°C'ye kadar sıcaklık kontrolü)(Şekil 3.2)
- 5. Coplin kavanozlar
- 6. Floresan mikroskop
- 7. pH ölçüm cihazı
- 9. Nemli kap
- 10. İmmersiyon yağı
- 11. Santrifüj Cihazı
- 12. 24x24 lamel
- 13. Mikroskop lamları
- 14. Zamanlayıcı
- 15. 37°C inkübatör
- 16. Kauçuk çözelti yapıştırıcısı
- 17. Manyetik karıştırıcı
- 18. Vorteks ve mikser
- 19. Dereceli silindirler
- 20. Termometre



Şekil 3.2 Fisher Scientific Isıtma Tablası



Şekil 3.3 Su Banyosu

3.2. Metod

3.2.1. Hücre Kültürü ve Kromozom Eldesi

- Steril enjektöre 0,5 ml heparin çekildi.
- Enjektör heparinize edildikten sonra hastadan en az 2-3 ml venöz kan ya da kemik iliği alındı.
- Steril konik kültür tüpün üzerine hastanın adı, soyadı, çalışılan yöntem, tarih , saat yazıldı.
- Steril ortamda, besi ortamı 80 ml (F10(HAM) Nutrient Mixture), 15 ml Fetal calf serum, 0,1ml Penicilin solüsyonu, 0,1 ml Streptomisine

solüsyonu içerecek şekilde kültür ortamı hazırlandı. Her bir kültür tüpüne steril ortamda 5 ml olacak şekilde aktarıldı.

- e. Venöz kandan ya da kemik iliğinden kültür tüplerine 5 damla eklendi.
- f. Her bir kültür tüpüne 2 damla fitohemaglutinin eklendikten sonra tüpün ağzı alevden geçirilerek kapatıldı.
- g. Tüp hafifçe alt-üst edilerek karışımı sağlandı.
- h. Tüp 37°C etüvde 72 saat bekletildi.
- i. Hücreleri metafaz safhasında durdurmak için inkübasyonun 70.45 saatinde kültüre 2 damla (0.1 ml) colcemid eklendi.
- j. 72. saatte etüvden çıkarılan kültür vortekslendikten sonra 1400 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
- k. Supernatant atıldıktan sonra pelet, vorteksle karıştırılarak üzerine 10 ml hipotonik solusyon eklendi ve 10 dakika etüvde bekletildi.
- l. Tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldıktan sonra pelet vorteks yardımıyla karıştırılarak üzerine pastör pipetiyle 10 ml fiksatif eklendi.
- m. Fiksatif ile yıkama işlemi 3 defa tekrarlandı.
- n. Son santrifüj işleminden sonra tüplerde yaklaşık 0.5 cc pelet bırakılmıştır.

3.2.2.FISH Protokolü

3.2.2.1.Preparat Hazırlama

1. Lam üzerine hastaların isimleri ve tarih yazıldı.
- 2- 10 µl pelet lam üzerine yerleştirildi.
- 3-Oda sıcaklığında 1-2 dakika kurumaya bırakıldı.
4. Lam 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında ve ajitasyon olmadan 2xSSS içine daldırıldı.
3. Etanol serisinde (%70, %85 ve %100), 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında dehidrasyon yapıldı
4. Kuruması beklendi.

3.2.2.2. Denatürasyon

5. Probu dondurucudan çıkartıldı ve oda sıcaklığında ısınması sağlandı. Kullanmadan önce, tüpler kısa süre santrifüj edildi.
6. Çözeltinin eşit olarak dağılması için Prob çözeltisinin bir pipetle karıştırıldı.
7. Test başına probtan 10µl alınarak bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Kalan prob dondurucuya geri konuldu.
8. 5 dakikalık ön ısıtma için, probu ve numune lamı ısıtmalı tabla üzerine bırakıldı.
9. Prob karışımından 10µl alınıp hücre numunesi üzerine damlatıldı ve bir lamel ile kapatıldı. Kauçuk çözelti yapıştırıcısıyla kapatıldı ve yapıştırıcının tamamen kuruması beklendi.
10. Lamı ısıtmalı tabla üzerinde 75°C’de 2 dakika ısıtıldı. Numune ve probu eş zamanlı denatüre edildi.

3.2.2.3. Hibridizasyon

11. Lamı nemli, ışık geçirmez bir kap içinde, 37°C’de bir gece bekletildi.

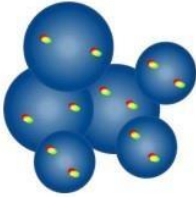
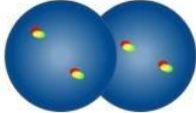
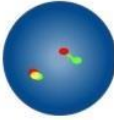
3.2.2.4. Melezleme Sonrası Yıkamalar

12. DAPI dondurucudan çıkartıldı ve oda sıcaklığında ısınmasını sağlandı.
13. Lamelin ve yapıştırıcının tüm izleri dikkatlice kaldırıldı.
14. Lam 2 dakika boyunca, 72°C’de (+/- 1°C) ve ajitasyon olmadan 0.4xSSS (pH 7.0) içine daldırıldı.
15. Lamı kurutuldu ve 30 saniye boyunca, oda sıcaklığında (pH 7.0) 2xSSS, %0.05 Tween-20 içine daldırıldı.
16. Lamı kurutuldu ve her bir numuneye 10µl DAPI renk solması önleyici karışımı uygulandı.
17. Bir lamel ile üstünü kapatıldı, baloncuklar alındı ve 10 dakika boyunca karanlıkta bekleterek rengin belirginleşmesini sağlandı.
18. Floresan mikroskop kullanarak sonuçlara bakıldı.

3.2.3. FISH Sonuçlarının Değerlendirilmesi

3.2.3.1. Analiz Klavuzu

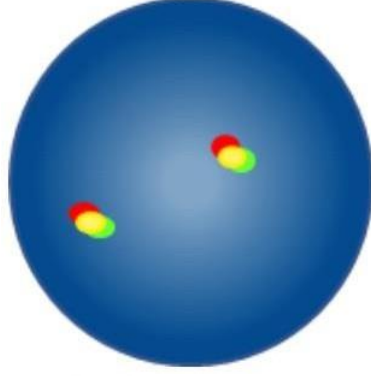
- Çok fazla sitoplazmik kalıntı ya da belirsiz hibridizasyon olan alanlardan kaçınıldı.
- Sinyal yoğunluğu, tek bir çekirdekte bile değişebileceğinden dolayı böyle durumlarda, tekli filtreler kullanıldı ve/ya da odak düzlemi ayarlandı.
- Aynı rengin iki sinyali birbirine değiyorsa ya da bu iki sinyalin arasındaki uzaklık iki sinyal genişliğinden daha büyük değilse veya bu iki sinyali birbirine bağlayan zayıf bir zincir varsa, bu iki sinyal tek olarak kabul edildi.
- İki renkli ayırma probunu analiz edilirken, aralarında 2 sinyal genişliğinden daha dar olan bir boşluk bulunan kırmızı ve yeşil sinyaller varsa bunlar yeniden düzenlenmemiş/ kaynaştırılmamış sinyal olarak sayıldı.
- Hücrenin analiz edilebilir olup olmadığından emin olunmayan numunelerde, analiz yapılmadı.

Analiz Kılavuzları	
	Saymanın - çekirdeklerin sınırları belirlenemeyecek kadar birbirine çok yakın
	Örtüşen çekirdekleri saymanın - her iki çekirdeğin tüm alanları görünmez
	Kırmızı ile yeşil sinyal arasında iki füzyon sinyali olarak sayılan boşluk iki sinyal genişliğinden daha dardır
	İki füzyon sinyali olarak sayılır, bir füzyon sinyali dağıtılır

Şekil 3.4 FISH Analiz Kılavuzu (CytoCell MLL (KMT2A) Breakapart)

3.2.3.2. Beklenen Sonuçlar

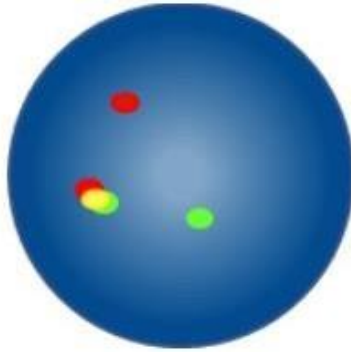
Beklenen Normal Sinyal Örneği (CytoCell MLL (KMT2A) Breakapart FISH Probe, n.d.)



Şekil. 3.5 FISH Normal Sonuç Sinyali (CytoCell MLL (KMT2A) Breakapart FISH Probe, n.d.)

Normal bir hücrede, iki kırmızı/yeşil füzyon sinyali beklenir (2F).

Beklenen Anormal Sinyal Örnekleri



Şekil. 3.6 FISH Anormal Sonuç Sinyali (CytoCell MLL (KMT2A) Breakapart FISH Probe, n.d.)

Dengeli bir MLL (KMT2A) düzeni olan bir hücrede, beklenen sinyal modeli bir kırmızı, bir yeşil ve bir füzyon olmalıdır.

4.BULGULAR

4.1. İstatistik

Tablo 4.1 62 Akut Lösemi Olgusunun İstatistiki Değerlendirmesi

TANILARA GÖRE OLGULAR	SAYILAR	YÜZDELİK (Tüm hastalara oranla)
KADIN ALL TANILI	9	%14,51
ERKEK ALL TANILI	12	%19,3
TOPLAM ALL TANILILAR	21	%33,87
KADIN ALL POZİTİF OLGULAR	0	%0
ERKEK ALL POZİTİF OLGULAR	3	%4,83
TOPLAM ALL POZİTİF OLGULAR	3	%4,83
KADIN AML TANILILAR	17	%27,41
ERKEK AML TANILILAR	24	%38,7
TOPLAM AML	41	%66,1
TOPLAM KADIN AKUT LÖSEMİ	26	%41,9
TOPLAM ERKEK AKUT LÖSEMİ	36	%58
KADIN AML POZİTİF OLGULAR	0	%0
ERKEK AML POZİTİF OLGULAR	1	%1,61

Tablo 4.1 (Devam)

TOPLAM AML POZİTİF OLGULAR	1	%1,61

Tablo 4.2 Olguların Yaş Ortalamaları

TANI	ORTALAMA
AML Hastalarının Yaş Ortalaması	47,3
AML' li Kadın Hastaların Yaş Ortalaması	47,64
AML' li Erkek Hastaların Yaş Ortalaması	47,20
ALL Hastalarının Yaş Ortalaması	39,42
ALL' li Erkek Hastaların Yaş Ortalaması	36,8
ALL' li Kadın Hastaların Yaş Ortalaması	42,8
Pozitif ALL Hastalarının Yaş Ortalaması	33,6
Akut Lösemili Tüm Hastaların Yaş Ortalaması	44,69

4.2 FISH Analizleri

Tablo 4.3. KMT2A (MLL) anomalisi olan 4 Olgunun FISH Analizi Sonuçları

Hasta No	Ad Soyad	Yaş/Cinsiyet	Tanı/Durum	FISH Sonucu
1	M.Y	E/72	AML	(ETOx3,AML1x2)[131/200],(MLLx1)[126/200]
2	M.Ş	E/20	ALL	(IGH,MYC)x4[15/100],(BCR,ABL1)x4[12/100],(TEL,AML)x4[14/100],(MLL,AFF1)x4[14/00](DLEU2,LAMP1)x4[12,100],(MLLx4)[16/100],(D7Zx4)[15/100],(D8Z2x4)[16/100]
3	H.Ö	E/64	ALL	(MYCx2,IGHx3)[14/200],(AFF1x2,MLLx3)[80/200],(MLLx3)[72/200],(D7Z1x3)[52/200]

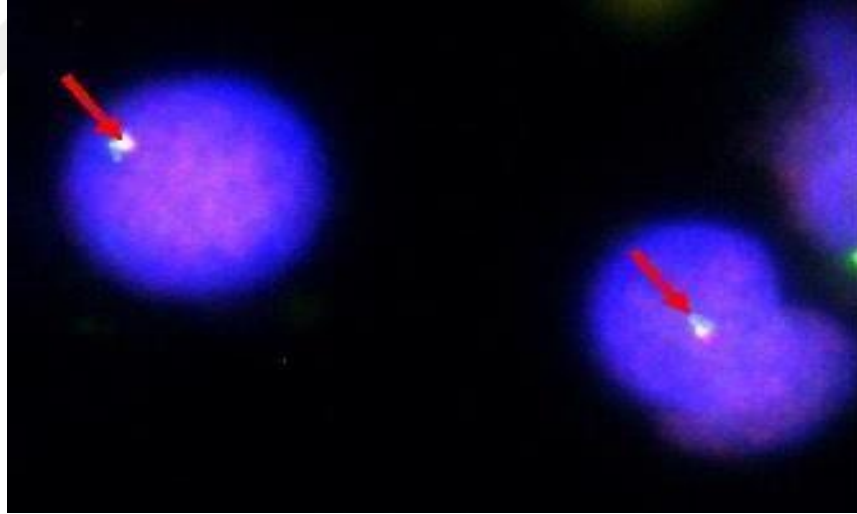
Tablo 4.3 (Devam)

4	F.B	E/20	ALL	5'MLLx2,3'MLLx1)(5'MLL con 3'MLLx1)[77/200]

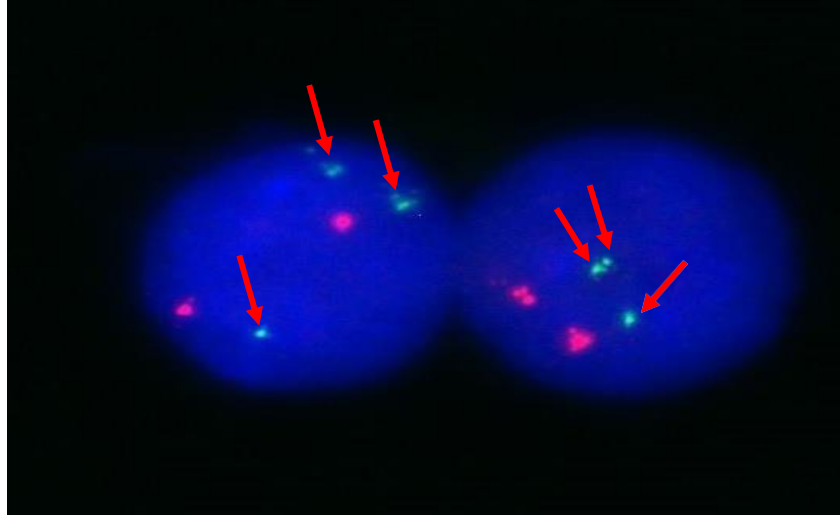
4.4.1. Olgu 1

M.Y: 71 YAŞ- AML Tanılı

- İncelenen hücrelerin %63'ünde 11q23.3(MLL) bölgesinin monozomisiyle uyumlu sinyal paterni (1 füzyon sinyali) saptanmıştır (Şekil 4.1)
- İncelenen hücrelerde t(4;11)(q21.3;q23.3) Gözlenmemiştir.
- İncelenen hücrelerin %66'ında 8q21.3(ETO) bölgesinin trizomisi ile uyumlu sinyal paterni (3 yeşil, 2 kırmızı) saptanmıştır (Şekil 4.2)



Şekil 4.1 Olgu 1'de 11q23.3(MLL) bölgesinin monozomisi. Kırmızı oklar FISH İnterfaz hücrelerinin MLL bölgesindeki tek sinyale işaret etmektedir



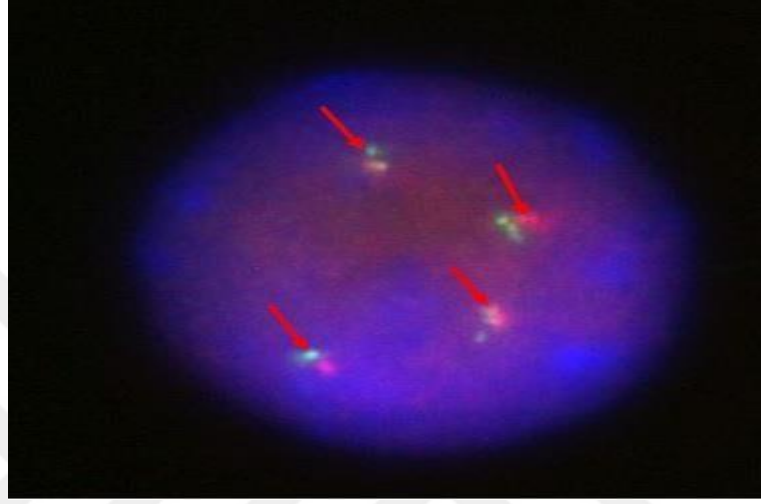
Şekil 4.2 Olgu 1’de 8q21.3(ETO) bölgesinin trizomisi. Oklar ETO bölgesinde amplifiye olmuş bölgeleri göstermektedir

4.4.2. Olgu 2

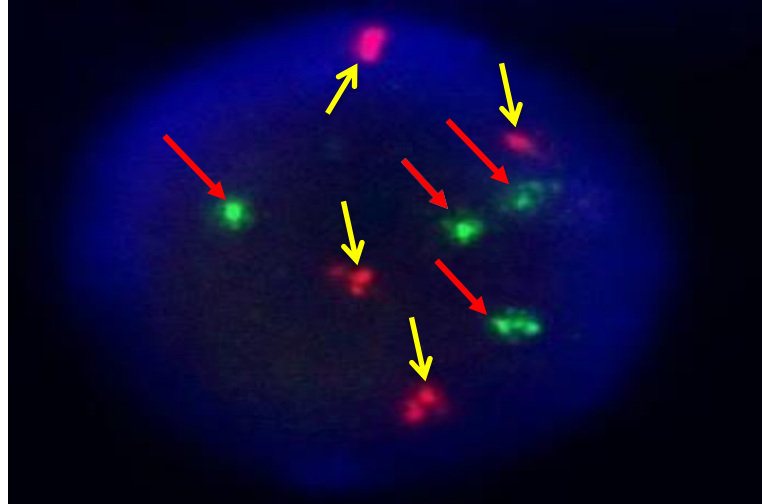
M.Ş: 19 YAŞ- ALL-

- İncelenen hücrelerin %14’ünde 4q21.3-4q22.1(AFF1) ve 11q23.3 (MLL) bölgelerinin tetrazomisi ile uyumlu sinyal paterni saptanmıştır (Şekil 4.3).
- İncelenen hücrelerde t(4;11)(q21.3;q23.3) gözlenmemiştir.
- M.Ş hastasında ayrıca incelenen hücrelerin %15’inde 8q24.21 (MYC) ve 14q32.33 (IGH) bölgelerinin tetrazomisi ile uyumlu sinyal tespit edilmiştir (Şekil 4.4).
- M.Ş hastasında ayrıca incelenen hücrelerin %12’sinde 9q34.1 (ABL1) ve 22q11.2 (BCR) bölgelerinin tetrazomisi ile uyumlu sinyal tespit edilmiştir (Şekil 4.5).
- M.Ş hastasında ayrıca incelenen hücrelerin %14’ünde 12p13.2 (TEL) ve 21q22.12 (AML) bölgelerinin tetrazomisi ile uyumlu sinyal tespit edilmiştir (Şekil 4.6).
- M.Ş hastasında ayrıca incelenen hücrelerin %12’sinde tetrazomi 13 ile uyumlu sinyal tespit edilmiştir.
- M.Ş hastasında ayrıca incelenen hücrelerin %16’ında tetrazomi 11 ile uyumlu sinyal tespit edilmiştir.

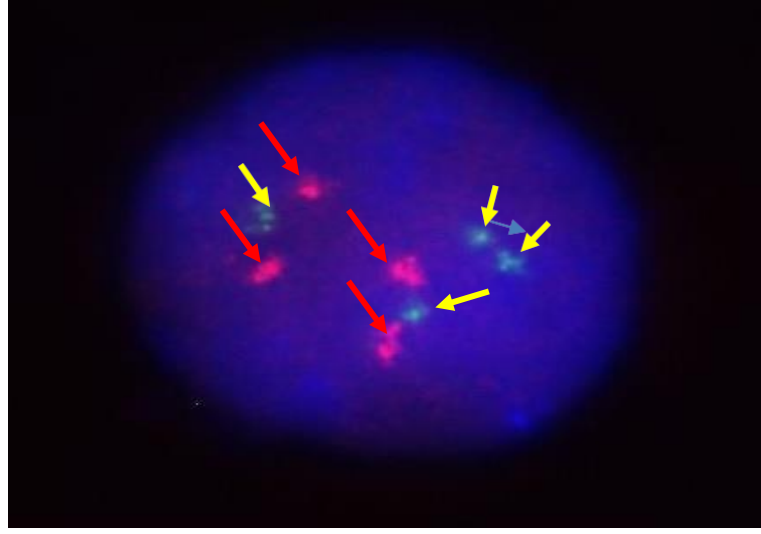
- M.Ş hastasında ayrıca incelenen hücrelerin %15'inde tetrazomi 7 ile uyumlu sinyal tespit edilmiştir.
- M.Ş hastasında ayrıca incelenen hücrelerin %16' sında tetrazomi 8 ile uyumlu sinyal tespit edilmiştir (Şekil 4.7).



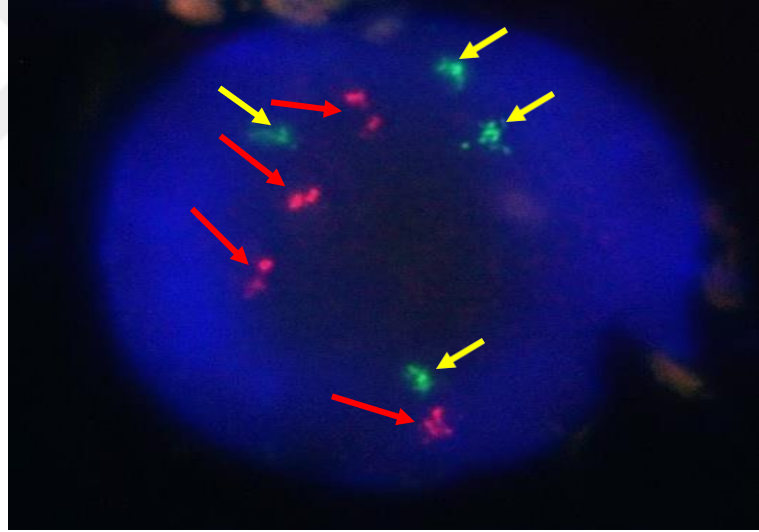
Şekil 4.3 Olgu 2' de 4q21.3-4q22.1(AFF1) ve 11q23.3 (MLL) bölgelerinin tetrazomisi (Oklar tetrazomilere işaret etmektedir)



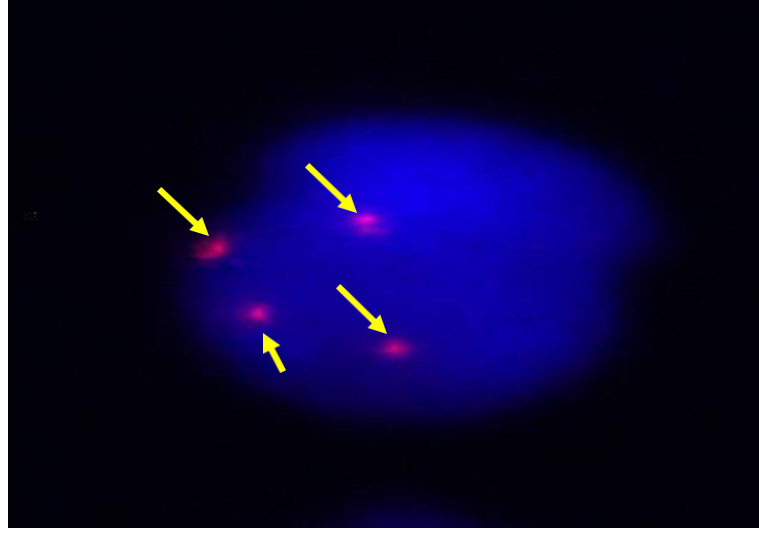
Şekil 4.4 Olgu 2'de 8q24.21 (MYC) ve 14q32.33 (IGH) bölgelerinin tetrazomisi (Kırmızı oklar IGH bölgesindeki, sarı oklar MYC bölgesindeki tetrazomilere işaret etmektedir)



Şekil 4.5 Olgu 2’de 9q34.1 (ABL1) ve 22q11.2 (BCR) bölgelerinin tetrazomi (Kırmızı oklar ABL1 genindeki tetrazomi sinyallerini göstermekte iken sarı oklar BCR bölgelerindeki sinyalleri gösterir)



Şekil 4.6 Olgu 2’de 2p13.2 (TEL) ve 21q22.12 (AML) bölgelerinin tetrazomisi
Kırmızı oklar TEL genindeki tetrazomi sinyallerini göstermekte iken sarı oklar AML bölgelerindeki sinyalleri gösterir



Şekil 4.7 Olgu 2’de Sentromer 8 deki tetrazomi(Oklar tetrazomilere işaret etmektedir)

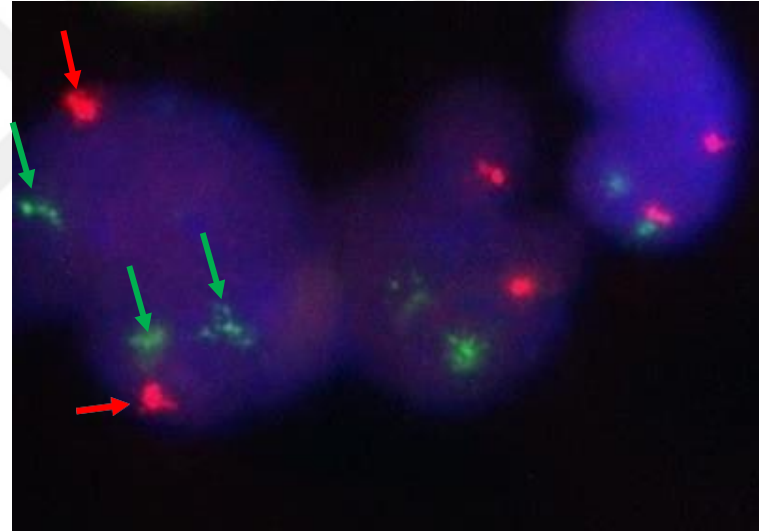
4.4.3. Olgu 3

H.Ö: 63 YAŞ- ALL-

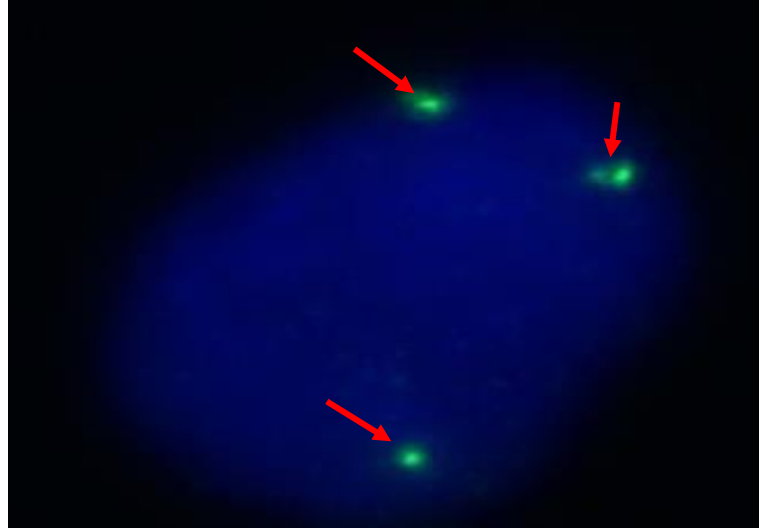
- İncelenen hücrelerin %40’ ında 11q23.3(MLL) bölgesinin trizomisiyle uyumlu sinyal paterni (3 yeşil, 2 kırmızı) saptanmıştır (Şekil 4.8).
- İncelenen hücrelerde t(4;11)(q21.3;q23.3) Gözlenmemiştir.
- İncelenen hücrelerin %36’sında 11q23.3(MLL) bölgesinin trizomisiyle uyumlu 3 füzyon sinyal paterni saptanmıştır.
- İncelenen hücrelerin %7’ sinde 14q32.33(IGH) bölgelesinin trizomisi ile uyumlu sinyal paterni(3 yeşil, 2 kırmızı) saptanmıştır (Şekil 4.9).
- İncelenen hücrelerin %26’sında trizomi 7 ile uyumlu sinyal paterni saptanmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.8 Olgu 3'te 11q23.3(MLL) bölgesinin trizomisi(Oklar trizomilere işaret etmektedir)



Şekil 4.9 Olgu 3'te 14q32.33(IGH) bölgesinin trizomisi ile uyumlu 3 yeşil, 2 kırmızı sinyal paterni

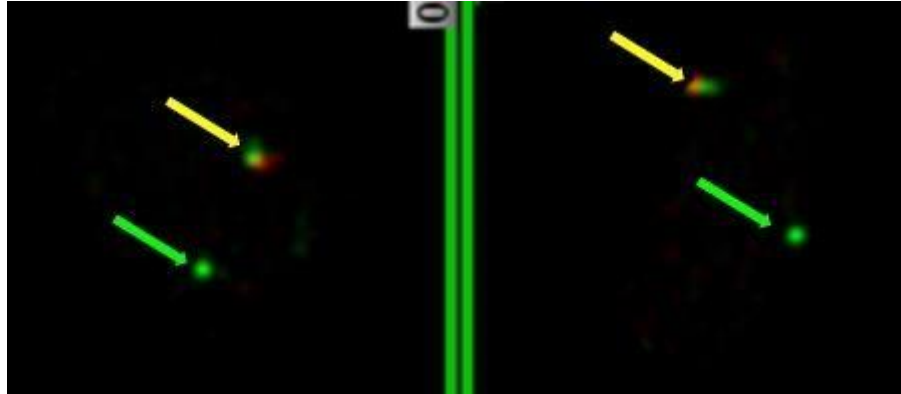


Şekil 4.10 Olgu 3'te Trizomi 7(Oklar trizomilere işaret etmektedir)

4.4.4. Olgu 4

F.B: 19 YAŞ. ALL.

- İncelenen hücrelerin %39'unda 3'MLL (11q23.3) bölgesinin delesyonuyla uyumlu sinyal paterni (1 füzyon, 1 yeşil) saptanmıştır (Şekil 4.11).
- İncelenen hücrelerde t(4;11)(q21.3;q23.3) Gözlenmemiştir.



Şekil 4.11 Olgu 4'te 3'MLL (11q23.3) bölgesinin delesyonuyla uyumlu sinyal paterni (Sarı oklar füzyonlara, yeşil oklar yeşil renkli sinyallere işaret etmektedir.)

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada; yeni tanı almış ve tedavi aşamasındaki 62 erişkin akut lenfoblastik lösemili ve akut miyeloid lösemili olgu ile çalışılmıştır. Bu olgularda kemik iliği veya periferik kan kültürü yapıldıktan sonra, FISH yöntemi ile KMT2A ya da diğer adıyla MLL gen bölgesindeki (11q23) anormallikler araştırılmıştır.

62 AL olgusundan 4 tanesinin MLL gen anomalisi açısından pozitif olduğu tespit edilmiş ve bunların Dicle Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında yapılan FISH ALL ve AML panelleri de değerlendirilmiştir.

Yapılan mevcut çalışmamızda akut miyeloid lösemili (AML) erkeklerin kızlara oranı 1,41 (24/17) olduğu tespit edilmiştir. Literatürde de AML 'nin kızlara oranla erkeklerde daha sık (erkek/kız oranı:1,6) görüldüğü belirtilmektedir (Shallis ve ark., 2019). Çalışmamızda da erkek hasta oranının kızlara göre daha fazla olması literatür ile uyumlu bulunmuştur. Literatürde kadınlarla karşılaştırıldığında, erkeklerin ALL geliştirme olasılığı daha yüksektir (erkek/kadın oranı = 1,23)(Yi vd.,2020) Bu çalışmada kadınlarda ALL yüzdesi %14,51 olarak tespit edildi. Erkekler de ise, %19,3 bulundu. Erkek/kadın oranı 1,33 olarak hesaplanmıştır. Erkeklerin kadınlara göre daha çok ALL tanısı aldığı görülmüştür, veriler literatür ile örtüşmektedir.

AML genellikle yaşlılarda sık görülen bir hastalıktır ve 45 yaşından önce nadir görülür. AML tanısı konan kişilerin ortalama yaşı yaklaşık 68'dir (National Cancer Institute,2018). Bununla beraber, çalışmamızdaki AML'li hastaların yaş ortalaması 47,3 olarak tespit edilmiştir. Bu değer, literatürden daha düşük bir yaş ortalamasına denk gelmektedir.

ALL, en sık görülen çocukluk çağı kanseri türüdür. Lösemi teşhisi konan 20 yaşın altındaki kişilerin yaklaşık %75'ine ALL teşhisi konur Ancak her yaşta teşhis edilebilir. Hastaların %17'si 55 yaş üstündedir. Bu çalışmamızda ALL hastalarının yaş ortalaması 39,42 olarak bulunmuştur. Literatür ile uyumludur (Sasaki vd.,2021).

Çalışmamızda KMT2A anomalliği olan 3 ALL'li olguda yaş ortalaması 33,6 iken, AML'li olgularda KMT2A anomalisi sadece 1 olguda tek saptanmış olup 71 yaş erkek hastaya aittir. Ancak, literatür incelemesinde KMT2A insidansı ALL için 35-45 yaş arasında en çok tespit edilmiş iken AML' de 55-65 yaş arasında görülmüştür (Britten ve Kamel,2019).

Li ve arkadaşları (2022), KMT2A genindeki meydana gelen değişimleri tespit etmek için yaptıkları çalışmada, 269 de novo AL(akut lösemi) vakasında transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve kromozom bantlama analizi (CBA) ile birlikte FISH uygulayarak AL tedavisinde FISH'in potansiyel değerini araştırdı. FISH, KMT2A anormal kopya sayısını ve yeniden düzenlemelerini belirleyerek akut lösemide risk sınıflandırmasını geliştirir. Toplam 269 hastadan 23'ünde FISH, CBA ve spesifik RT-PCR yöntemleri dahil olmak üzere sitogenetik ve moleküler tekniklerin bir kombinasyonuna dayalı olarak KMT2A anomalileri sergilendi. KMT2A-r sinyaline sahip numuneler, 17 tipik pozitif sinyal ve üç atipik anormal sinyal vakası içeriyordu, ki bu da % 6.31'e tekabül etmektedir. Bu çalışmamızda ise 62 olgunun 4' ünde KMT2A anomalisi tespit edilerek, elde edilen oran % 6,45 olarak bulunmuştur.

Akut lenfoblastik lösemi (ALL), %75'ten fazlası B soyundan (B-ALL) kaynaklanan, kemik iliği, kan ve ekstremiteler bölgelerdeki lenfoid progenitör hücrelerin malign transformasyonu ve proliferasyonudur. Bu moleküler anormallikler, özellikle gen delesyonları, ALL'li yetişkin hastalarda prognoz değerlendirmesi için düşünülebilir. Fang ve arkadaşlarının 211 hasta ile yaptığı çalışmada, yetişkin B-ALL hastalarında yüksek sıklıkta IKZF1, CDKN2A/B ve PAX5 silmeleri gösterdi (2021). Bizim yaptığımız çalışmada ise FISH yöntemi ile 62 olguda yapılan analizlerden 1 olguda (ALL- 19yaş) 3' MLL bölgesinin 11q23.3'te delesyonu ile uyumlu sinyal tespit edilmiştir. 3' ve 5' MLL split-apart problemleri ile çift renkli floresans in situ hibridizasyon (FISH) analizi, 3' MLL veya hatta tam MLL silmeleri olan vakaları keşfetmek için de çok faydalıdır.

AML'de monozomiler veya kromozom 5 veya 7'nin (-5/-7 AML) bir kısmının veya tamamının silinmesi ve trizomi 8 gibi birkaç kromozomal anormallik yaygındır

Monozomi 7, miyelodisplastik sendromlar, akut lenfositik olmayan lösemi ve tedaviye bağılı akut lösemi gibi çeşitli hematolojik malignitelerde görülen malign klonun bir kromozomal belirticidir (Kumar,2011). Bu çalışmamızda değerlendirilen 41 AML vakasının 1'inde 11q23 bölgesinde monozomi görülmüştür.

Pro-B ALL' de en sık görülen translokasyon, genel olarak tüm vakaların yaklaşık %57' sini temsil eden t(4;11)(q21;q23)'tür. Bu özel translokasyonda, iki gen MLL (KMT2A) ve AF4 (AFF1), sırasıyla iki füzyon geni MLL-AF4 ve AF4-MLL' nin oluşumuna neden olmak için dengeli bir rekombinasyon olayında kaynaşır (Lizcova ve ark.,2014). Bu çalışmamızdaki ALL olgularında MLL anomalisi eksprese eden hücrelerde t(4;11)(q21.3;q23.3) gözlenmemiştir. MLL translokasyonları, çeşitli tiplerdeki akut lösemilerin en az %10'unda yer alır. Genel olarak, MLL translokasyonları barındıran hastalarda prognoz kötüdür (Kumar,2011). Bu çalışmada 62 olgudan hiçbirinde MLL translokasyonu tespit edilmemiştir.

Hiperdiploidi, çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemide en sık görülen sitogenetik anormalliktir ve B hücre öncüsü akut lenfoblastik lösemi vakalarının %30-35'ini oluşturur (Enshaei vd., 2021). Chen ve arkadaşlarının 2019 da yaptığı çalışmada B-ALL' li 1205 1018 yetişkin hasta arasında, 45'i (%4,4) hiperdiploid karyotipe sahiptir. ALL' de hiperdiploidinin hipoploidiye göre prognozu daha iyidir (Hoffbrand ve Moss, 2015). Bu çalışmada hastalara karyotip analizleri yapılmadığı için hiperdiploidi -hipodiploidi sayıları bilinmemektedir. Ancak bulunan trizomi ve tetrazomilerde karyotip artışlarının olması yüksek bir olasılık taşımaktadır.

Gen amplifikasyonu, çeşitli malignite türlerinde meydana gelir. Çoğaltılmış genler sıklıkla proto-onkogenlerin aşırı ekspresyonuna yol açarak agresif tümör gelişimine ve kötü prognozlara neden olur. AML'de sitogenetik olarak saptanabilen gen amplifikasyonunun sıklığı yaklaşık %1'dir. MYC en yaygın amplikon geni iken, MLL gen amplifikasyonu ayrıca miyelodisplastik sendrom (MDS) ve AML dahil olmak üzere miyeloid malignitelerde saptanabilir. Takeda ve arkadaşlarının sunduğu bir vakada (2022), 65 yaş B-ALL ön tanılı bir kadın hastada, MLL yeniden düzenlemesi negatif olarak bulunmuş bunun yerine, MLL gen amplifikasyonu gözlenmiştir. B-ALL'den AML'ye dönüşen akut soy değiştirme lösemisi olduğu

gözlenmiştir. Bu lösemik hücrelerin çoğu, çekirdek başına tam uzunluktaki MLL geninin sekizden fazla kopyasına sahipti (Takeda vd.,2022). Yaptığımız çalışmadaki 21 ALL' li olgudan 3 olguda 11q kısmi bölge ile beraber eşlik eden gen amplifikasyonları tespit edilmiştir bu da %9,52' e denk gelmektedir.

MLL geninin amplifikasyonu hem de novo hem de tedaviye bağlı akut miyeloid lösemide (AML) gözlemlenmiştir. Amplifikasyonun MLL geniyle sınırlı olmadığını belgelemesine ve diğer gen(ler)in de amplifikasyon olasılığının olduğu belirlenmiştir (Lee vd., 2004). Ancak bu çalışmamızdaki AML'li hastaların hiçbirinde MLL gen bölgesi amplifikasyonu bulunmadı.

B hücre öncüsü akut lenfoblastik lösemi, yüksek hiperdiploidi, translokasyonlar; t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 füzyonu ve t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1 füzyonunu ve ayrıca şunları içerir: MLL yeniden düzenlemelerini ve kromozom 21'in intrakromozomal amplifikasyonunu (Jeffries vd.,2014). Bu çalışmadaki 21 ALL olgusunda beraber görülen olgular MYC,ABL1,BCR,AML,MLL, ve 7-8-11-13. Kromozomların tetrazomisidir (ALL' li 1 olguda hepsi beraber görülmüştür.)

ALL'de tek kromozomal anomallik olarak +7 (7.kromozomdaki 1 artmayı temsil eder) çok nadirdir. Literatürde daha önce izole trizomi 7'li sadece üç ALL vakası tanımlanmıştır. Hasta yaşları 8 ay ile 44 yaş arasında değişmektedir. Trizomi 7'li ALL'nin prognozu, büyük ölçüde bu antitenin nadir görülmesi ve izlenmemesi nedeniyle bilinmemektedir (Matías,2012). Bu çalışmamızda 1 olguda (H.Ö-ALL) KMT2A trizomisi ve trizomi 7 beraber gözlenmiştir. MLL bölgesi pozitif çıkan hastalarda trizomi incelenmesi ayrıca yapıldığı için, tüm olgulardan trizomi olanlar ayrı değerlendirilmemiştir. Kromozom 11q duplikasyonu/amplifikasyonu vakaların hiçbirinde tek anormallik olarak bulunmadı.

Literatürde bebek ALL' nin %80'i ve daha büyük çocukların ve yetişkin ALL'nin %10'u dahil olmak üzere tüm ALL vakalarının yaklaşık %20'si MLL yeniden düzenlemeleri sergilediği hesaplanmıştır (Loghavi vd., 2015).Bu çalışmada 1 ALL' li olguda 3'MLL delesyonu tek başına gözlemlenmiştir ve tüm ALL olgularının %4.76'sıdır. Literatür verileri ile uyuşmamaktadır, daha düşük MLL yeniden

düzenlemesi

oranı

tespit

edilmiştir.

ALL vakalarının %60 ila %85' inde kromozomal değişiklikler (tranlokasyon, delesyon, amplifikasyon.) görülmektedir (Faderl vd., 1998). Bu çalışmada 21 ALL vakasından toplamda 3 ünde 11q23 ile beraber görülen başka kromozomal değişiklikler saptanmıştır. 1 olgu da 11q23'ün delesyonu, 1 olgu da 11q23 ve 7.,8.,11. Ve 13. Kromozomların tetrazomisi ve 1 olguda da 11q23 ile 7. kromozomda trizomi gözlenmiştir. Bu değişimler %14,28 olarak hesaplanmıştır ve literatürden daha düşük bir değer bulunmasının sebebi MLL bölgesinden bağımsız olarak trizomi veya tetrazomilerin değerlendirilmemiş olmasıdır. İçlerinden MLL geni ile beraber meydana gelen kromozomal sayı artışları dikkate alınmıştır.

MLL yeniden düzenlenmiş akut lösemiler (AL), anormal DNA metilasyon paternleri ile karakterize edilen oldukça agresif bir gidişatı temsil eder. Füzyon ortağına göre, 11q23/MLL AL'yi tedavi etmek için allojenik hematopoietik kök hücre nakli dahil olmak üzere özel stratejiler gereklidir. Akut lösemili hastalardaki MLL gen anormallikleri hakkında bilgi sahibi olmanın önemli tanısal, prognostik ve terapötik etkileri vardır. Ayrıca yeni hassas moleküler terapötiklerin bulunmasıyla genel sağkalımda gelişmeler olabilir.

Bu çalışmanın olgularının çoğaltılması, bu konuda elde edilen bulguların klinik ve hastalar açısından çok daha sağlıklı değerlendirmesine yol açacağı ve ileriki çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Alseraye, F. M., Zuo, Z., Bueso-Ramos, C., Wang, S., Medeiros, L. J., & Lu, G. (2011). Trisomy 11 as an isolated abnormality in acute myeloid leukemia is associated with unfavorable prognosis but not with an NPM1 or KIT mutation. *International journal of clinical and experimental pathology*, 4(4), 371–377
- Andersen, M. K., Christiansen, D. H., & Pedersen-Bjergaard, J. (2005). Amplification or duplication of chromosome band 21q22 with multiple copies of the AML1 gene and mutation of the TP53 gene in therapy-related MDS and AML. *Leukemia*, 19(2), 197–200. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403612>
- Aplan P. D. (2006). Chromosomal translocations involving the MLL gene: molecular mechanisms. *DNA repair*, 5(9-10), 1265–1272. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2006.05.034>
- Arber, D. A. (2018). Acute Myeloid Leukemia. *Hematopathology*, 429-466.e5. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-47913-4.00014-8>
- Arnaud, B., Douet-Guilbert, N., Morel, F., Le Bris, M. J., Herry, A., Banzakour, S., Bourquard, P., Morice, P., Le Calvez, G., Marion, V., Abgrall, J. F., Berthou, C., & De Braekeleer, M. (2005). Screening by fluorescence in situ hybridization for MLL status at diagnosis in 239 unselected patients with acute myeloblastic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 161(2), 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2005.02.012>
- Ashok, V., Ranganathan, R., Chander, S., Damodar, S., Bhat, S., S, N. K., A, S. K., Jadav, S. S., Rajashekaraiah, M., & T S, S. (2017). Comparison of Diagnostic Yield of a FISH Panel Against Conventional Cytogenetic Studies for Hematological Malignancies: A South Indian Referral Laboratory Analysis Of 201 Cases. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 18(12), 3457–3464. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.12.3457>
- Attarbaschi, A., Mann, G., Strehl, S., König, M., Steiner, M., Jeitler, V., Lion, T., Dworzak, M. N., Gadner, H., & Haas, O. A. (2007). Deletion of 11q23 is a highly specific nonrandom secondary genetic abnormality of ETV6/RUNX1-rearranged childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 21(3), 584–586. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404507>
- Baeza Perez, G., Calaf, G., Montalvo Villalba, M., Salgado Prieto, K., & Caba Burgos, F. (2019). Frequency of hematologic malignancies in the population of Arica, Chile. *Oncology Letters*. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10858>
- Balgobind, B. V., Raimondi, S. C., Harbott, J., Zimmermann, M., Alonzo, T. A., Auvrignon, A., Beverloo, H. B., Chang, M., Creutzig, U., Dworzak, M. N., Forestier, E., Gibson, B., Hasle, H., Harrison, C. J., Heerema, N. A., Kaspers, G. J., Leszl, A., Litvinko, N., Nigro, L. L., Morimoto, A., ... van den Heuvel-Eibrink, M. M. (2009). Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study. *Blood*, 114(12), 2489–2496. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-04-215152>

- Barber, K. E., Ford, A. M., Harris, R. L., Harrison, C. J., & Moorman, A. V. (2004). MLL translocations with concurrent 3? deletions: Interpretation of FISH results. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 41(3), 266–271. <https://doi.org/10.1002/gcc.20082>
- Barbosa, K., Li, S., Adams, P. D., & Deshpande, A. J. (2019). The role of TP53 in acute myeloid leukemia: Challenges and opportunities. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 58(12), 875–888. <https://doi.org/10.1002/gcc.22796>
- Bataller, A., Guijarro, F., Caye-Eude, A., Strullu, M., Sterin, A., Molina, O., Chevallier, P., Zaliouva, M., Zuna, J., Mozas, P., Magnano, L., Gardel, N., Cornillet-Lefebvre, P., Fu, J. F., Shih, L. Y., Boneva, T., Nacheva, E., Beà, S., López-Guerra, M., Bueno, C., ... Marschalek, R. (2021). KMT2A-CBL rearrangements in acute leukemias: clinical characteristics and genetic breakpoints. *Blood advances*, 5(24), 5617–5620. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021005736>
- Bellissimo, D. C., & Speck, N. A. (2017). RUNX1 Mutations in Inherited and Sporadic Leukemia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00111>
- Bennett, J. M., Catovsky, D., Daniel, M. T., Flandrin, G., Galton, D. A. G., Gralnick, H. R., & Sultan, C. (1991). Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). *British Journal of Haematology*, 78(3), 325–329. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1991.tb04444.x>
- Bispo, J. A. B., Pinheiro, P. S., & Kobetz, E. K. (2019). Epidemiology and Etiology of Leukemia and Lymphoma. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 10(6), a034819. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a034819>
- Britten, Ragusa, Tosi, & Kamel. (2019). MLL-Rearranged Acute Leukemia with t(4;11)(q21;q23)—Current Treatment Options. Is There a Role for CAR-T Cell Therapy? *Cells*, 8(11), 1341. <https://doi.org/10.3390/cells8111341>
- Buchanan, A. V., Sholtis, S., Richtsmeier, J., & Weiss, K. M. (2009). What are genes “for” or where are traits “from”? What is the question? *BioEssays*, 31(2), 198–208. <https://doi.org/10.1002/bies.200800133>
- Caers, J., Paiva, B., Zamagni, E., Leleu, X., Bladé, J., Kristinsson, S. Y., Touzeau, C., Abildgaard, N., Terpos, E., Heusschen, R., Ocio, E., Delforge, M., Sezer, O., Beksac, M., Ludwig, H., Merlini, G., Moreau, P., Zweegman, S., Engelhardt, M., & Rosiñol, L. (2018). Diagnosis, treatment, and response assessment in solitary plasmacytoma: updated recommendations from a European Expert Panel. *Journal of Hematology & Oncology*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0549-1>

- Cardona-Benavides, I. J., de Ramón, C., & Gutiérrez, N. C. (2021). Genetic Abnormalities in Multiple Myeloma: Prognostic and Therapeutic Implications. *Cells*, 10(2), 336. <https://doi.org/10.3390/cells10020336>
- Castillo, J. J. (2016). Plasma Cell Disorders. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 43(4), 677–691. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2016.07.002>
- Chang K, Forman S. *Klinik Hematoloji Atlası*. JO Armitage tarafından düzenlendi. Philadelphia, Güncel Tıp, 2004.
- Chen, C. W., & Armstrong, S. A. (2015). Targeting DOT1L and HOX gene expression in MLL-rearranged leukemia and beyond. *Experimental hematology*, 43(8), 673–684. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2015.05.012>
- Chen, Z., Sun, Y., Xie, W., Wang, S. A., Hu, S., Li, S., Tang, Z., Toruner, G., Medeiros, L. J., & Tang, G. (2019). Is hyperdiploidy a favorable cytogenetics in adults with B-lymphoblastic leukemia. *Cancer medicine*, 8(9), 4093–4099. <https://doi.org/10.1002/cam4.2255>
- Cheng, H., Zheng, Z., & Cheng, T. (2020). New paradigms on hematopoietic stem cell differentiation. *Protein & cell*, 11(1), 34–44. <https://doi.org/10.1007/s13238-019-0633-0>
- Couture, J. F., Collazo, E. & Trievel, R. C. Molecular recognition of histone H3 by the WD40 protein WDR5. *Nature Struct. Mol. Biol.* 13, 698–703 (2006).
- Cremer, T., Lichter, P., Borden, J., Ward, D. C., & Manuelidis, L. (1988). Detection of chromosome aberrations in metaphase and interphase tumor cells by in situ hybridization using chromosome-specific library probes. *Human Genetics*, 80(3), 235–246. <https://doi.org/10.1007/bf01790091>
- Cuthbert, G., Thompson, K., McCullough, S., Watmore, A., Dickinson, H., Telford, N., Mugneret, F., Harrison, C., Griffiths, M., & Bown, N. (2000). MLL amplification in acute leukaemia: a United Kingdom Cancer Cytogenetics Group (UKCCG) study. *Leukemia*, 14(11), 1885–1891. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401919>
- CytoCell MLL (KMT2A) Breakapart FISH Probe*. (n.d.). Oxford Gene Technology (OGT). Retrieved January 4, 2023, from <https://www.ogt.com/products/product-search/cytocell-ml-l-kmt2a-breakapart>
- De Braekeleer, M., Morel, F., Le Bris, M. J., Herry, A., & Douet-Guilbert, N. (2005). The MLL gene and translocations involving chromosomal band 11q23 in acute leukemia. *Anticancer research*, 25(3B), 1931–1944.
- Deshpande, A. & Cusan, Monica & Rawat, Viay & Reuter, Hendrik & Krause, Alexandre & Pott, Christiane & Quintanilla-Martinez, L. & Kakadia, P. & Kuchenbauer, F. & Ahmed, Farid & Delabesse, E. & Hahn, M. & Lichter, P. & Hiddemann, W. & Macintyre, Elizabeth & Mecucci, C. & Ludwig, Wolf-Dieter & Humphries, Keith & Bohlander, S. & Buske, C.. (2007). Acute myeloid leukemia is propagated by a leukemic stem cell with lymphoid characteristics in a mouse model of CALM/AF10 positive leukemia. *Annals of Hematology*. 87. 18-18.

- Devine, S. M., & Larson, R. A. (1994). Acute leukemia in adults: recent developments in diagnosis and treatment. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 44(6), 326–352. <https://doi.org/10.3322/canjclin.44.6.326>
- Dong, Y., Shi, O., Zeng, Q., Lu, X., Wang, W., Li, Y., & Wang, Q. (2020). Leukemia incidence trends at the global, regional, and national level between 1990 and 2017. *Experimental Hematology & Oncology*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s40164-020-00170-6>
- Dreyling, M. H., Martinez-Climent, J. A., Zheng, M., Mao, J., Rowley, J. D., & Bohlander, S. K. (1996). The t(10;11)(p13;q14) in the U937 cell line results in the fusion of the AF10 gene and CALM, encoding a new member of the AP-3 clathrin assembly protein family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(10), 4804–4809. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.10.4804>
- Dutta, A. K., Hewett, D. R., Fink, J. L., Grady, J. P., & Zannettino, A. C. W. (2017b). Cutting edge genomics reveal new insights into tumour development, disease progression and therapeutic impacts in multiple myeloma. *British Journal of Haematology*, 178(2), 196–208. <https://doi.org/10.1111/bjh.14649>
- El Fakih, R., Rasheed, W., Hawsawi, Y., Alsermani, M., & Hassanein, M. (2018). Targeting FLT3 Mutations in Acute Myeloid Leukemia. *Cells*, 7(1), 4. <https://doi.org/10.3390/cells7010004>
- El-Ayoubi, A., Wang, J. Q., Hein, N., & Talaulikar, D. (2017). Role of plasma cells in Waldenström macroglobulinaemia. *Pathology*, 49(4), 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2017.02.004>
- Enshaee, A., Vora, A., Harrison, C. J., Moppett, J., & Moorman, A. V. (2021). Defining low-risk high hyperdiploidy in patients with paediatric acute lymphoblastic leukaemia: a retrospective analysis of data from the UKALL97/99 and UKALL2003 clinical trials. *The Lancet Haematology*, 8(11), e828–e839. [https://doi.org/10.1016/s2352-3026\(21\)00304-5](https://doi.org/10.1016/s2352-3026(21)00304-5)
- Fang, Q., Song, Y., Gong, X., Wang, J., Li, Q., Liu, K., Feng, Y., Hao, Q., Li, Y., Wei, H., Zhang, G., Liu, Y., Gong, B., Wang, Y., Zhou, C., Lin, D., Liu, B., Wei, S., Gu, R., Mi, Y., Wang, J. (2021). Gene Deletions and Prognostic Values in B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia. *Frontiers in oncology*, 11, 677034. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.677034>
- Fry, E. A., Mallakin, A., & Inoue, K. (2018). Translocations involving ETS family proteins in human cancer. *Integrative cancer science and therapeutics*, 5(4), 10.15761/ICST.1000281. <https://doi.org/10.15761/ICST.1000281>
- Gaidzik, V. I., Teleanu, V., Papaemmanuil, E., Weber, D., Paschka, P., Hahn, J., Wallrabenstein, T., Kolbinger, B., Köhne, C. H., Horst, H. A., Brossart, P., Held, G., Kündgen, A., Ringhoffer, M., Götze, K., Rummel, M., Gerstung, M., Campbell, P., Kraus, J. M., Döhner, H. (2016). Erratum: RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia are associated with distinct clinico-pathologic and

genetic features. *Leukemia*, 30(11), 2282–2282.
<https://doi.org/10.1038/leu.2016.207>

Gebhart, E. (2005). Double minutes, cytogenetic equivalents of gene amplification, in human neoplasia—a review. *Clinical and Translational Oncology*, 7(11), 477–485. <https://doi.org/10.1007/bf02717000>

Global Cancer Observatory. (2022). Retrieved from <https://gco.iarc.fr/>

Grossmann, V., Schnittger, S., Poetzinger, F., Kohlmann, A., Stiel, A., Eder, C., Fasan, A., Kern, W., Haferlach, T., & Haferlach, C. (2013). High incidence of RAS signalling pathway mutations in MLL-rearranged acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 27(9), 1933–1936. <https://doi.org/10.1038/leu.2013.90>

Grunwald, M. R., & Levis, M. J. (2013). FLT3 inhibitors for acute myeloid leukemia: a review of their efficacy and mechanisms of resistance. *International Journal of Hematology*, 97(6), 683–694. <https://doi.org/10.1007/s12185-013-1334-8>

Gulati, G. L., Filicko-O'Hara, J., & Krause, J. R. (2022b). *Case Studies in Hematology and Coagulation* (1st ed.). American Society for Clinical Pathology.

Haferlach, T., Kohlmann, A., Klein, H. U., Ruckert, C., Dugas, M., Williams, P. M., Kern, W., Schnittger, S., Bacher, U., Löffler, H., & Haferlach, C. (2009). AML with translocation t(8;16)(p11;p13) demonstrates unique cytomorphological, cytogenetic, molecular and prognostic features. *Leukemia*, 23(5), 934–943. <https://doi.org/10.1038/leu.2008.388>

Haider MZ, Anwer F. Genetics, Philadelphia Chromosome. [Updated 2022 Jul 18]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan

Heerema, N., Sather, H., Ge, J. et al. (1999). Cytogenetic studies of infant acute lymphoblastic leukemia: poor prognosis of infants with t(4;11) – a report of the Children's Cancer Group. *Leukemia* 13, 679–686. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401413>

Heim, S., & Mitelman, F. (2015). *Cancer Cytogenetics: Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells (4th ed.)*. Wiley-Blackwell.

Heim, S., & Mitelman, F. (Eds.) (2015). *Cancer cytogenetics: Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells. (4th ed.)* Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118795569>

Heyssel R, Brill AB, Woodbury LA, et al. Leukemia in Hiroshima atomic bomb survivors. *Blood*. 1960;15(3):313-331. (2016). *Blood*, 127(18), 2165–2165. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-02-697821>

Hijiya, N., Ness, K. K., Ribeiro, R. C., & Hudson, M. M. (2009). Acute leukemia as a secondary malignancy in children and adolescents: current findings and issues. *Cancer*, 115(1), 23–35. <https://doi.org/10.1002/cncr.23988>

Hoffbrand, A. V., & Moss, P. A. H. (2015). *Hoffbrand's Essential Haematology: Vol. Chapter 11 (7th ed.)*. Wiley.

- Hu, L., Luo, D., Zhou, T., Tao, Y., Feng, J., & Mei, S. (2017). The association between non-Hodgkin lymphoma and organophosphate pesticides exposure: A meta-analysis. *Environmental Pollution*, 231, 319–328. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.028>
- Hunger, S. P., Lu, X., Devidas, M., Camitta, B. M., Gaynon, P. S., Winick, N. J., Reaman, G. H., & Carroll, W. L. (2012). Improved Survival for Children and Adolescents With Acute Lymphoblastic Leukemia Between 1990 and 2005: A Report From the Children's Oncology Group. *Journal of Clinical Oncology*, 30(14), 1663–1669. <https://doi.org/10.1200/jco.2011.37.8018>
- Ilencikova, D., & Kolenov, A. (2013). MLL Gene Alterations in Acute Myeloid Leukaemia (11q23/MLL+ AML). *Oncogene and Cancer - From Bench to Clinic*. <https://doi.org/10.5772/55141>
- Irons, R. D., & Stillman, W. S. (1996). The process of leukemogenesis. *Environmental health perspectives*, 104 Suppl 6(Suppl 6), 1239–1246. <https://doi.org/10.1289/ehp.961041239>
- Issa, G. C., Zarka, J., Sasaki, K., Qiao, W., Pak, D., Ning, J., Short, N. J., Haddad, F., Tang, Z., Patel, K. P., Cuglievan, B., Daver, N., DiNardo, C. D., Jabbour, E., Kadia, T., Borthakur, G., Garcia-Manero, G., Konopleva, M., Andreeff, M., Kantarjian, H. M., ... Ravandi, F. (2021). Predictors of outcomes in adults with acute myeloid leukemia and KMT2A rearrangements. *Blood cancer journal*, 11(9), 162. <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00557-6>
- Jaffe, E. S., Barr, P. M., & Smith, S. M. (2017). Understanding the New WHO Classification of Lymphoid Malignancies: Why It's Important and How It Will Affect Practice. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*, 37, 535–546. https://doi.org/10.1200/edbk_175437
- Jeffries, S. J., Jones, L., Harrison, C. J., & Russell, L. J. (2014). IGH@ translocations co-exist with other primary rearrangements in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, 99(8), 1334–1342. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.103820>
- Kahn, J. M., Kelly, K. M., Pei, Q., Bush, R., Friedman, D. L., Keller, F. G., Bhatia, S., Henderson, T. O., Schwartz, C. L., & Castellino, S. M. (2019). Survival by Race and Ethnicity in Pediatric and Adolescent Patients With Hodgkin Lymphoma: A Children's Oncology Group Study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 37(32), 3009–3017. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.00812>
- Kawagoe, H., Humphries, R., Blair, A., Sutherland, H., & Hogge, D. (1999). Expression of HOX genes, HOX cofactors, and MLL in phenotypically and functionally defined subpopulations of leukemic and normal human hematopoietic cells. *Leukemia*, 13(5), 687–698. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401410>
- Kelly, J. J. (2003). Dysproteinemic Polyneuropathy. *Office Practice of Neurology*, 604–609. <https://doi.org/10.1016/b0-44-306557-8/50098-8>
- Kennedy, V. E., & Smith, C. C. (2020). FLT3 Mutations in Acute Myeloid Leukemia: Key Concepts and Emerging Controversies. *Frontiers in oncology*, 68

- Kremer, M., Ott, G., Nathrath, M., Specht, K., Stecker, K., Alexiou, C., Quintanilla-Martinez, L., & Fend, F. (2005). Primary extramedullary plasmacytoma and multiple myeloma: phenotypic differences revealed by immunohistochemical analysis. *The Journal of Pathology*, 205(1), 92–101. <https://doi.org/10.1002/path.1680>
- Kristinsson, S. Y., Anderson, W. F., & Landgren, O. (2014). Improved long-term survival in multiple myeloma up to the age of 80 years. *Leukemia*, 28(6), 1346–1348. <https://doi.org/10.1038/leu.2014.23>
- Kristopher R. Bosse and Stephen P. Hunger.(2020). *Nelson Textbook of Pediatrics*, Chapter 519, 2630-2634.e1
- Krivtsov, A. V., & Armstrong, S. A. (2007). MLL translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development. *Nature Reviews Cancer*, 7(11), 823–833. <https://doi.org/10.1038/nrc2253>
- Kudalkar, E. M., Pang, C., Haag, M. M., Pollyea, D. A., Kamdar, M., Xu, G., Su, M., Carstens, B., Swisshelm, K., & Bao, L. (2022). 21q22 amplification detection in three patients with acute myeloid leukemia: cytogenomic profiling and literature review. *Molecular Cytogenetics*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s13039-022-00606-0>
- Kühn, M. W., Bullinger, L., Edelmann, J., Krönke, J., Stefan, G., Rücker, F. G., Paschka, P., Gaidzik, V. I., Holzmann, K., Schlenk, R. F., Döhner, H., & Döhner, K. (2011). Genome-Wide Genotyping of Acute Myeloid Leukemia with t(9;11) Reveals New Recurrent Genomic Alterations,. *Blood*, 118(21), 3546–3546. <https://doi.org/10.1182/blood.v118.21.3546.3546>
- Kumar C. C. (2011). Genetic abnormalities and challenges in the treatment of acute myeloid leukemia. *Genes & cancer*, 2(2), 95–107. <https://doi.org/10.1177/1947601911408076>
- Landgren, O. (2021). Advances in MGUS diagnosis, risk stratification, and management: introducing myeloma-defining genomic events. *Hematology*, 2021(1), 662–672. <https://doi.org/10.1182/hematology.2021000303>
- Lavau C, Szilvassy SJ, Slany R, et al (1997). Immortalization and leukemic transformation of a myelomonocytic precursor by retrovirally transduced HRX-ENL. *EMBO J* 16:4226-4237.
- Lawrence, H. J. & Largman, C. Homeobox genes in normal hematopoiesis and leukemia. *Blood* 80, 2445–2453 (1992).
- Le Gouill, S., Talmant, P., Touzeau, C., Moreau, A., Garand, R., Juge-Morineau, N., Gaillard, F., Gastinne, T., Milpied, N., Moreau, P., Harousseau, J. L., & Avet-Loiseau, H. (2007). The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with T(14;18) and 8q24/c-myc rearrangement. *Haematologica*, 92(10), 1335–1342. <https://doi.org/10.3324/haematol.11305>

- Lee, A., Lie, D., Tien, S. L., & Rudduck-Sivaswaren, C. (2004). Increased amplification proximal to the MLL gene in acute myeloid leukemia. *International Journal of Molecular Medicine*. <https://doi.org/10.3892/ijmm.13.1.63>
- Leukemia (2022). Retrieved from <https://www.bdbiosciences.com/en-tw/learn/clinical/blood-cancers/leukemia>
- Li, Q., Xing, S., Zhang, H., Mao, X., Xiao, M., & Wang, Y. (2022). FISH improves risk stratification in acute leukemia by identifying KMT2A abnormal copy number and rearrangements. *Scientific reports*, 12(1), 9585. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13545-y>
- Liang, K., Volk, A. G., Haug, J. S., Marshall, S. A., Woodfin, A. R., Bartom, E. T., Gilmore, J. M., Florens, L., Washburn, M. P., Sullivan, K. D., Espinosa, J. M., Cannova, J., Zhang, J., Smith, E. R., Crispino, J. D., & Shilatifard, A. (2017). Therapeutic Targeting of MLL Degradation Pathways in MLL-Rearranged Leukemia. *Cell*, 168(1–2), 59–72.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.011>
- Libbrecht, C., Xie, H. M., Kingsley, M. C., Haladyna, J. N., Riedel, S. S., Alikarami, F., Lenard, A., McGeehan, G. M., Ernst, P., & Bernt, K. M. (2021). Menin is necessary for long term maintenance of meningioma-1 driven leukemia. *Leukemia*, 35(5), 1405–1417. <https://doi.org/10.1038/s41375-021-01146-z>
- Lichtman, M. A. (2008). Battling the Hematological Malignancies: The 200 Years' War. *The Oncologist*, 13(2), 126–138. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2007-0228>
- Liotta, L. (2010). *Human cells with acute myeloid leukemia*. NCI. <https://www.cancer.gov/>
- Liquori, A., Ibañez, M., Sargas, C., Sanz, M. Á., Barragán, E., & Cervera, J. (2020). Acute Promyelocytic Leukemia: A Constellation of Molecular Events around a Single PML-RARA Fusion Gene. *Cancers*, 12(3), 624. <https://doi.org/10.3390/cancers12030624>
- Lizcova, L., Zemanova, Z., Lhotska, H., Zuna, J., Hovorkova, L., Mejstrikova, E., Malinova, E., Rabasova, J., Raska, I., Sramkova, L., Stary, J., & Michalova, K. (2014). An unusual case of high hyperdiploid childhood ALL with cryptic BCR/ABL1 rearrangement. *Molecular cytogenetics*, 7(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0072-9>
- Loghavi, S., Kutok, J. L., & Jorgensen, J. L. (2015). B-Acute Lymphoblastic Leukemia/Lymphoblastic Lymphoma. *American Journal of Clinical Pathology*, 144(3), 393–410. <https://doi.org/10.1309/ajcpan7bh5dnywzb>
- Look, A. T. (1997). Oncogenic Transcription Factors in the Human Acute Leukemias. *Science*, 278(5340), 1059–1064. <https://doi.org/10.1126/science.278.5340.1059>
- Maggioncalda, A., Malik, N., Shenoy, P., Smith, M., Sinha, R., & Flowers, C. R. (2011). Clinical, Molecular, and Environmental Risk Factors for Hodgkin Lymphoma. *Advances in Hematology*, 1–10.

<https://doi.org/10.1155/2011/736261>

- Malard, F., & Mohty, M. (2020). Acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*, 395(10230), 1146–1162. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(19\)33018-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(19)33018-1)
- Manier, S., Salem, K. Z., Park, J., Landau, D. A., Getz, G., & Ghobrial, I. M. (2016). Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 14(2), 100–113. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.122>
- Marino BS, Fine KS (2013). . Lippincott Williams & Wilkins. *Blueprints Pediatrics* p. 205. ISBN 9781451116045.
- Matasar, M. J., & Zelenetz, A. D. (2008). Overview of Lymphoma Diagnosis and Management. *Radiologic Clinics of North America*, 46(2), 175–198. <https://doi.org/10.1016/j.rcl.2008.03.005>
- Matías, J. L. F. & &. (2007). Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. <https://atlasgeneticsoncology.org/>. Retrieved December 5, 2022, from <https://atlasgeneticsoncology.org/>
- Matías, J. L. F. & &. (n.d.). +7 or trisomy 7 (solely). (2012) [https://atlasgeneticsoncology.org/haematological/1581/+7-or-trisomy-7-\(solely\)](https://atlasgeneticsoncology.org/haematological/1581/+7-or-trisomy-7-(solely))
- Medeiros, L. J., & Konoplev, S. N. (2016b). Molecular Biology of Leukemias. *The Molecular Basis of Human Cancer*, 505–559. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-458-2_30
- Mendes, A., & Fahrenkrog, B. (2019). NUP214 in Leukemia: It's More than Transport. *Cells*, 8(1), 76. <https://doi.org/10.3390/cells8010076>
- Meyer, C., Burmeister, T., Gröger, D. *et al.* (2018). The *MLL* recombinome of acute leukemias in 2017. *Leukemia* 32, 273–284. <https://doi.org/10.1038/leu.2017.213>
- Milne, T. A., Hughes, C. M., Lloyd, R., Yang, Z., Rozenblatt-Rosen, O., Dou, Y., Schnepf, R. W., Krankel, C., LiVolsi, V. A., Gibbs, D., Hua, X., Roeder, R. G., Meyerson, M., & Hess, J. L. (2005). Menin and MLL cooperatively regulate expression of cyclin-dependent kinase inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(3), 749–754. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408836102>
- Moreau, P., Richardson, P. G., Cavo, M., Orlowski, R. Z., San Miguel, J. F., Palumbo, A., & Harousseau, J. L. (2012). Proteasome inhibitors in multiple myeloma: 10 years later. *Blood*, 120(5), 947–959. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-04-403733>
- Morgan, G. J., Walker, B. A., & Davies, F. E. (2012). The genetic architecture of multiple myeloma. *Nature Reviews Cancer*, 12(5), 335–348. <https://doi.org/10.1038/nrc3257>
- Mrózek, K., Heinonen, K., de la Chapelle, A., & Bloomfield, C. D. (1997). Clinical significance of cytogenetics in acute myeloid leukemia. *Seminars in*

- oncology*, 24(1), 17–31.
- Muntean, A. G., & Hess, J. L. (2012). The pathogenesis of mixed-lineage leukemia. Annual review of pathology, 7, 283–301. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011811-132434>
- Nakamura T, Adler H, Gu Y, Prasad R, Canaani O, Kamanda N, Gale RP, Lange B, Crist WM, Nowell PC, Croce CM and Cana ani E. (1993). Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 4631 ± 4636.
- Nathanson, D. A., Gini, B., Mottahedeh, J., Visnyei, K., Koga, T., Gomez, G., Eskin, A., Hwang, K., Wang, J., Masui, K., Paucar, A., Yang, H., Ohashi, M., Zhu, S., Wykosky, J., Reed, R., Nelson, S. F., Cloughesy, T. F., James, C. D., . . . Mischel, P. S. (2014). Targeted Therapy Resistance Mediated by Dynamic Regulation of Extrachromosomal Mutant EGFR DNA. *Science*, 343(6166), 72–76. <https://doi.org/10.1126/science.1241328>
- National Cancer Institute. SEER Cancer Stat Facts: Acute Myeloid Leukemia. Accessed at <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html> on June 12, 2018.
- National Institute of Health (NIH).(2022). Retrieved from <https://www.nih.gov/>
- Orazi, A., Foucar, K., Knowles, D. M., & Weiss, L. M. (2013). *Knowles' Neoplastic Hematopathology (3rd ed.)*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Pajuelo-Gámez, J. C., Cervera, J., García-Casado, Z., Mena-Durán, A. V., Valencia, A., Barragán, E., Such, E., Bolufer, P., & Sanz, M. A. (2007). MLL amplification in acute myeloid leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 174(2), 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2006.11.019>
- Palumbo, A., Avet-Loiseau, H., Oliva, S., Lokhorst, H. M., Goldschmidt, H., Rosinol, L., Richardson, P., Caltagirone, S., Lahuerta, J. J., Facon, T., Brinchen, S., Gay, F., Attal, M., Passera, R., Spencer, A., Offidani, M., Kumar, S., Musto, P., Lonial, S., . . . Moreau, P. (2015). Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *Journal of Clinical Oncology*, 33(26), 2863–2869. <https://doi.org/10.1200/jco.2015.61.2267>
- Patel, J. P., Gönen, M., Figueroa, M. E., Fernandez, H., Sun, Z., Racevskis, J., Van Vlierberghe, P., Dolgalev, I., Thomas, S., Aminova, O., Huberman, K., Cheng, J., Viale, A., Socci, N. D., Heguy, A., Cherry, A., Vance, G., Higgins, R. R., Ketterling, R. P., Gallagher, R. E., ... Levine, R. L. (2012). Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*, 366(12), 1079–1089. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1112304>
- Pedersen-Bjergaard, J., Christiansen, D. H., Desta, F., & Andersen, M. K. (2006). Alternative genetic pathways and cooperating genetic abnormalities in the pathogenesis of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 20(11), 1943–1949. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404381>
- Pieters, R., De Lorenzo, P., Ancliffe, P., Aversa, L. A., Brethon, B., Biondi, A., Campbell, M., Escherich, G., Ferster, A., Gardner, R. A., Kotecha, R. S.,

- Lausen, B., Li, C. K., Locatelli, F., Attarbaschi, A., Peters, C., Rubnitz, J. E., Silverman, L. B., Stary, J., . . . Valsecchi, M. G. (2019). Outcome of Infants Younger Than 1 Year With Acute Lymphoblastic Leukemia Treated With the Interfant-06 Protocol: Results From an International Phase III Randomized Study. *Journal of Clinical Oncology*, 37(25), 2246–2256. <https://doi.org/10.1200/jco.19.00261>
- Pineault N, Helgason CD, Lawrence HJ, Humphries RK (2002). Differential expression of Hox, Meis1, and Pbx1 genes in primitive cells throughout murine hematopoietic ontogeny. *Exp. Hematol.*;30:49–57.
- Pinkel, D., Straume, T., & Gray, J. W. (1986). Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(9), 2934–2938. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.9.2934>
- Przybyłowicz-Chalecka, A., Czerwinska-Rybak, J., Ratajczak, B., Kandula, Z., Szczepaniak, A., Jarmuz-Szymczak, M., & Gil, L. (2021). The Significance of Chromosome 11 Abnormalities in Patients with AML. *Blood*, 138(Supplement 1), 4451–4451. <https://doi.org/10.1182/blood-2021-152308>
- Roman-Gomez, J., Jimenez-Velasco, A., Castillejo, J. A., Agirre, X., Barrios, M., Navarro, G., Molina, F. J., Calasanz, M. J., Prosper, F., Heiniger, A., & Torres, A. (2004). Promoter hypermethylation of cancer-related genes: a strong independent prognostic factor in acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 104(8), 2492–2498. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-03-0954>
- Roodman, G. D., & Drake, M. T. (2021). Impact of MGUS and myeloma on skeletal health. *Marcus and Feldman's Osteoporosis*, 1421–1437. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813073-5.00058-7>
- Röllig, C., Knop, S., & Bornhäuser, M. (2015). Multiple myeloma. *The Lancet*, 385(9983), 2197–2208. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)60493-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(14)60493-1)
- Šárová, I., Březinová, J., Zemanová, Z., Izáková, S., Lizcová, L., Malinová, E., Berková, A., Čermák, J., Maaloufova, J., Nováková, L., & Michalová, K. (2010). Cytogenetic manifestation of chromosome 11 duplication/amplification in acute myeloid leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 199(2), 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2010.02.012>
- Sasaki, K., Jabbour, E., Short, N. J., Jain, N., Ravandi, F., Pui, C. H., & Kantarjian, H. (2021). Acute lymphoblastic leukemia: A population-based study of outcome in the United States based on the surveillance, epidemiology, and end results (SEER) database, 1980-2017. *American journal of hematology*, 96(6), 650–658. <https://doi.org/10.1002/ajh.26156>
- Shah, N., & Sukumar, S. (2010). The Hox genes and their roles in oncogenesis. *Nature reviews. Cancer*, 10(5), 361–371. <https://doi.org/10.1038/nrc2826>

- Shallis, R. M., Wang, R., Davidoff, A., Ma, X., & Zeidan, A. M. (2019). Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges. *Blood Reviews*, 36, 70–87. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.04.005>
- Shen, J., Lu, Z., Wang, J., Zhang, T., Yang, J., Li, Y., Liu, G., & Zhang, X. (2020). Advances of Nanoparticles for Leukemia Treatment. *ACS biomaterials science & engineering*, 6(12), 6478–6489. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c01040>
- Simeon, V., Todoerti, K., La Rocca, F., Caivano, A., Trino, S., Lionetti, M., Agnelli, L., De Luca, L., Laurenzana, I., Neri, A., & Musto, P. (2015). Molecular Classification and Pharmacogenetics of Primary Plasma Cell Leukemia: An Initial Approach toward Precision Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(8), 17514–17534. <https://doi.org/10.3390/ijms160817514>
- Simsek, T., Kocabas, F., Zheng, J., Deberardinis, R. J., Mahmoud, A. I., Olson, E. N., Schneider, J. W., Zhang, C. C., & Sadek, H. A. (2010). The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche. *Cell stem cell*, 7(3), 380–390. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.07.011>
- Sinha, C., Cunningham, L. C., & Liu, P. P. (2015). Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: New Prognostic Categories and Therapeutic Opportunities. *Seminars in hematology*, 52(3), 215–222. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2015.04.002>
- Snyder, R. (2012). Leukemia and Benzene. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(8), 2875–2893. <https://doi.org/10.3390/ijerph9082875>
- Speicher, M. R., & Carter, N. P. (2005). The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nature reviews. Genetics*, 6(10), 782–792. <https://doi.org/10.1038/nrg1692>
- Stieglitz, E., & Loh, M. L. (2013). Genetic predispositions to childhood leukemia. *Therapeutic Advances in Hematology*, 4(4), 270–290. <https://doi.org/10.1177/2040620713498161>
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jae ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J (Eds.) Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. WHO.Revised 4th ed.; IARC: Lyon, France, 2017.
- Takeda, R., Yokoyama, K., Fukuyama, T., Kawamata, T., Ito, M., Yusa, N., Kasajima, R., Shimizu, E., Ohno, N., Uchimar, K., Yamaguchi, R., Imoto, S., Miyano, S., & Tojo, A. (2022). Repeated Lineage Switches in an Elderly Case of Refractory B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia With MLL Gene Amplification: A Case Report and Literature Review. *Frontiers in Oncology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.799982>
- Tansatit, M. (2016). Applications of Fluorescence In Situ Hybridization Technology in Malignancies. *Methods in Molecular Biology*, 75–90. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6703-2_8

- Terese Winslow. (2007). *Hematopoietic differentiation*. Terese Winslow LLC, Medical and Scientific Illustration. <https://www.teresewinslow.com/>
- The New WHO Classification 2022*. (n.d.). MLL. Retrieved from <https://www.mll.com/en/the-new-who-classification-2022>
- Tiryaki, T. O. (2019). *JAK2 Gen Mutasyonu Negatif Kronik Miyeloproliferatif Hastalıklarda Kalretikülin ve MPL Gen Mutasyonunun Araştırılması* [Uzmanlık Tezi]. İstanbul Üniversitesi. İstanbul.
- Tkachuk, D. C., Kohler, S., & Cleary, M. L. (1992). Involvement of a homolog of *Drosophila trithorax* by 11q23 chromosomal translocations in acute leukemias. *Cell*, 71(4), 691–700. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90602-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90602-9)
- Tsaur, Grigory & Plehanova, O. & Popov, A.M. & Gindina, Tatiana & Olshanskaya, Yulia & Kustanovich, Anatoly & Riger, T. & Martynkevich, I. & Saveliev, Leonid & Shorikov, Egor & Fleishman, E. & Sokova, O. & Meyer, Claus & Marschalek, Rolf & Fechina, L.. (2013). 3'-DELETION OF MLL GENE IN INFANT ACUTE LEUKEMIA. *Annals of Hematology*. 92. S27-S27.
- Ugai, T., Matsuo, K., Sawada, N., Iwasaki, M., Yamaji, T., Shimazu, T., Sasazuki, S., Inoue, M., Tsugane, S., & Japan Public Health Center-based Prospective Study Group (2017). Smoking and subsequent risk of leukemia in Japan: The Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Journal of epidemiology*, 27(7), 305–310. <https://doi.org/10.1016/j.je.2016.07.005>
- Ugale A, Norddahl GL, Wahlestedt M, Sawen P, Jaako P, Pronk CJ et al (2014). Hematopoietic stem cells are intrinsically protected against MLL-ENL-mediated transformation. *Cell Rep*; 9: 1246–1255.
- Valentin, R., Grabow, S., & Davids, M. S. (2018). The rise of apoptosis: targeting apoptosis in hematologic malignancies. *Blood*, 132(12), 1248–1264. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-02-791350>
- Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz .LA Jr, Kinzler KW (2013): Cancer genome landscapes. *Science* 339:1546–1558.
- Von Hoff, D. D., McGill, J. R., Forseth, B. J., Davidson, K. K., Bradley, T. P., Van Devanter, D. R., & Wahl, G. M. (1992). Elimination of extrachromosomally amplified MYC genes from human tumor cells reduces their tumorigenicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(17), 8165–8169. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.17.8165>
- Wong, K. F., Siu, L. L. P., & Wong, W. S. (2014). Double Minutes and MYC Amplification. *American Journal of Clinical Pathology*, 141(2), 280–284. <https://doi.org/10.1309/ajcpwubgt7c0lhin>
- Xia, Y., Pao, G.M., Chen, H.W., Verma, I.M., Hunter, T. (2003). Enhancement of BRCA1 E3 ubiquitin ligase activity through direct interaction with the BARD1 protein. *J. Biol. Chem.* 278(7): 5255--5263.
- Yamamoto, J. F., & Goodman, M. T. (2007). Patterns of leukemia incidence in the United States by subtype and demographic characteristics, 1997–2002. *Cancer*

Causes & Control, 19(4), 379–390. <https://doi.org/10.1007/s10552-007-9097-2>

Yi, M., Zhou, L., Li, A., Luo, S., & Wu, K. (2020). Global burden and trend of acute lymphoblastic leukemia from 1990 to 2017. *Aging*, 12(22), 22869–22891. <https://doi.org/10.18632/aging.103982>

Yokoyama, A., Wang, Z., Wysocka, J., Sanyal, M., Aufiero, D.J., Kitabayashi, I., Herr, W., and Cleary, M.L. (2004). Leukemia proto-oncoprotein MLL forms a SET1-like histone methyltransferase complex with menin to regulate Hox gene expression. *Mol. Cell. Biol.* 24, 5639–5649

Zaman, S., Wang, R., & Gandhi, V. (2014). Targeting the apoptosis pathway in hematologic malignancies. *Leukemia & Lymphoma*, 55(9), 1980–1992. <https://doi.org/10.3109/10428194.2013.855307>





EKLER

EK 1: ETİK KURUL KARARI

**DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**
**DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR
NONINTERVENTIONAL STUDIES**

29

KARAR

Prof. Dr. Kemal GÜVEN, Prof. Dr. Orhan AYYILDIZ, Prof. Dr. Mahmut BALKAN, Yüksek Lisans Öğrencisi Raperin ESER, Arş. Gör. İlyas YÜCEL, Uzm. Dr. Vehbi DEMİRCAN isimli araştırmacılar tarafından planlanan “Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL) ve Akut Miyeloid Lösemi (AML)’de prognozu etkileyen KMT2A translokasyonlarının sıklığı” başlıklı araştırmaya *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul’u* tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir.

Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul’a verilmesi zorunludur.

DECISION

The project titled as “Frequency of KMT2A translocations affecting prognosis in Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) and Acute Myeloid Leukemia (AML)” planned by Kemal GÜVEN, Orhan AYYILDIZ, Mahmut BALKAN, Raperin ESER, İlyas YÜCEL, Vehbi DEMİRCAN has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.

Oturum No (Meeting number):

Tarih (Date): 07.01.2021

Saat (Hour): 14:00-15:00

KURUL BAŞKANI (CHIEF)

Prof. Dr. Meral ERDİNÇ

KURUL ÜYELERİ / MEMBERS

	ÜN VANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Meral ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
2	Prof. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
3	Prof. Dr.	Zeynep BAYSAL YILDIRIM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
4	Prof. Dr.	Zülfükar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
5	Doç. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
6	Doç. Dr.	İbrahim KAPLAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
7	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	
8	Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	
9	Dr. Öğretim Üyesi	Gülray AYDOĞDU	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Patoloji	
10	Dr. Öğretim Üyesi	Muhammed Akif DENİZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
11	Avukat	Ronay TEKALP	Dicle Üniversitesi Hastaneleri	Hukuk İşleri Birimi	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyad, Ad:

Eser,Raperin

Web sayfası

(Research Gate, Academia, vs.)

-

Eğitim Bilgileri

Derece: Lisans	Kurum:	Mezuniyet Yılı:
Yüksek Lisans	Dicle Üniversitesi	2023
Lisans	Dicle Üniversitesi	2019
Lise	Diyarbakır Rekabet Kurumu Anadolu Lisesi	2013

Yabancı Dil

İngilizce ve İspanyolca

Özel İlgiler

Dil öğrenmek ve keman çalmak

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ BENZERLİK BİLDİRİMİ FORMU

Öğrencinin Adı, Soyadı	Raperin Eser		
Öğrenci No	19820002		
Ana Bilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik		
Program Türü	Proje ☐	Yüksek Lisans ☒	Doktora ☐
Tez Danışmanı (Ünvanı, Adı, Soyadı)	Prof. Dr. Kemal Güven		
(Varsa) II. Tez Danışmanı (Ünvanı, Adı, Soyadı)	-		
Tez Başlığı	Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL) ve Akut Miyeloid Lösemi (AML)'de Prognozu Etkileyen KMT2A Anomalilerinin Sıklığı		
RAPOR BİLGİLERİ			
Raporlama Aşaması	Tez Savunma Sınavı Sonrası		
Sayfa Sayısı	95		
Raporlama Tarihi	30.01.2023		
Benzerlik Oranı (%)	%13		

Yukarıda bilgileri verilen tez çalışmamın toplam 95 sayfalık kısmına ilişkin, 30/01/2023 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *TURNITIN* isimli intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 13 olarak tespit edilmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

- ☐ Başlangıç Bölümleri (Kabul ve Onay sayfası, Teşekkür sayfası, Özet/Abstract) hariç
☒ Kaynaklar hariç
☐ Alıntılar hariç/dâhil
☐ Diğer

Tezimin benzerlik oranı, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İntihal Raporu Uygulama Esaslarında belirtilen üst sınır benzerlik oranını aşmamaktadır. Benzerlik oranım üst sınır benzerlik oranının altında olsa dahi aksinin tespit edilmesi durumunda her türlü yasal sorumluluğu kabul ettiğimi ve hukuki sonuçlarına razı olduğumu bildirir, gereğini arz ederim.

Öğrencinin Adı, Soyadı: Raperin Eser
Tarih: 30.01.2023

İmza:

Danışman Adı, Soyadı: Prof. Dr.Kemal Güven
Tarih: 30.01.2023

İmza:

Ana Bilim Dalı Başkanı Adı, Soyadı: Prof. Dr.Veyssel Tolan
Tarih: 30.01.2023

İmza: