

FATMA RENGİN COŞKUN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS

İSTANBUL-2017



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**AKUT MİYELOİD LÖSEMİDE BCOR VE BCORL1
EKSPRESYONUNUN ARASTIRILMASI**

FATMA RENGİN COŞKUN

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. SEMA SIRMA EKMEKCİ**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2017

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı, Genetik Programında Yüksek Lisans öğrencisi Fatma Rengin COŞKUN tarafından Doç. Dr. Sema SIRMA EKMEKÇİ'nin danışmanlığında hazırlanan "**Akut Miyeloid Lösemide BCOR ve BCORL1 Ekspresyonunun Araştırılması**" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 26.09.2017 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Sema SIRMA EKMEKÇİ

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Genetik Anabilim Dalı



Doç. Dr. Neslihan ABACI

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Genetik Anabilim Dalı



Doç. Dr. Emel ERGÜL

Kocaeli Üniv. Tıp Fak.
Tıbbi Biyoloji A.D.



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

FATMA RENGİN COŞKUN

İTHAF



EŞİM VE OĞLUM'A

TEŞEKKÜR

Akademik hayatımın yüksek lisans döneminde; bana her zaman örnek olmuş, çalışmalarım boyunca deneyimlerinden faydalandığım ve eğitimime büyük katkıda bulunan saygıdeğer tez danışmanım ve hocam Sayın Doç. Dr. Sema Sırma Ekmekçi'ye,

Yüksek lisans eğitimim sırasında tecrübelerini bana aktaran, yardım ve desteğini esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Neslihan Abacı'ya,

Tezim süresince desteklerini esirgemeyen, Enstitü Müdürümüz Prof. Dr. Günnur Deniz, ve Anabilim Dalı Prof. Dr. Burçak Vural'a,

Yüksek Lisans eğitimime büyük katkıları olan Prof. Dr. Asım Cenani, büyük katkıları olan Prof. Dr. Asım Cenani, Prof. Dr. Seniha Hacıhanefioğlu ve Prof. Dr. Ayhan Dağdeviren'e,

Destekleriyle hep yanımda olan; Prof. Dr. İlhan Yaylım ve Prof. Dr. Hülya Yılmaz Aydoğan'a,

Tezimin her aşamasında bana yardımcı olan sevgili arkadaşım Dr. Ferda Paçal'a,

Tezimin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım, Dr. Aris Çakiris, Dr. Zeliha Emrence, Uz. Bio. Melda Sarıman, Biomühendis Ece Biberoğlu ve Bio. Atilla Mehmet Güler'e,

DETAE Genetik Anabilim Dalındaki tüm çalışma arkadaşlarıma,

Eğitimimde bana her türlü desteği veren, bana inanan ve sevgisiyle hep yanımda olan değerli ailem'e,

Son olarak bana her zaman güvenen, destekleyen, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli eşim Hüseyin Coşkun'a ve biricik oğlum Alphan Coşkun'a ve bana her zaman destek olan canım kardeşim Kübra Çağlayan Çalkavur'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Hematopoez.....	3
2.2. AML.....	4
2.2.1. Tanım.....	4
2.2.2. Tarihçe.....	5
2.2.3. Etyoloji.....	8
2.2.4. Epidemiyoloji.....	9
2.2.5. Sınıflandırma.....	10
2.2.6. İmmünfenotip.....	11
2.2.7. Klinik Seyir.....	11
2.2.8. Laboratuar Bulguları.....	13
2.2.9. Tanı.....	15
2.2.10. Tedavi.....	16
2.2.11. Prognostik Faktör.....	18
2.3. AML Ve Genetik İlişki.....	19
2.4. BCOR ve BCORL1 Genleri.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1.Kullanılan Kitler.....	27
3.2.Kullanılan Cihazlar.....	27

3.2.Hasta Örnekleri.....	28
3.3Kontrol RNA.....	28
3.4.Real-Time Kantitatif PCR.....	28
3.5.1. RNA miktar ve kalitesinin belirlenmesi.....	28
3.5.2. RT-PCR.....	28
3.5.3. Real-time Kantitatif PCR ile Gen Expresyonu Analizi.....	29
3.6.İstatistiksel Analiz.....	31
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA.....	53
KAYNAKLAR.....	53
FORMLAR.....	59
ETİK KURUL KARARI.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	61

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. AML'ye Eğilim Yaratan Durumlar	8
Tablo 2. AML FAB Alt Tipleri İle İmmünolojik Yüzey Markırları İlişkileri.....	11
Tablo 3. AML Hücrelerinin İmmunfenotiplendirmesi	14
Tablo 4. AML'de Sık Rastlanan Sitogenetik Anormallikler	15
Tablo 5: APL'de Sitogenetik Anormallikler.....	15
Tablo 6. BCOR ve BCORL1 genlerinin özellikleri.....	21
Tablo 7. Kullanılan primer dizileri ve PCR ürün boyutları.....	29
Tablo 8. Cinsiyete göre dağılım.....	32
Tablo 9. Olguların Lökosit sayısı ile yaş ortalaması.....	32
Tablo 10. Olguların BCOR ve BCORL1 ekspresyonları.....	32
Tablo 11. BCOR, BCORL1, lökosit bulgularının cinsiyet ile karşılaştırması.....	33
Tablo 12. BCOR ve BCORL1 ekspresyonlarının, lökosit sayısı ve yaş ile karşılaştırması.....	34
Tablo 13. t(15;17) sıklığı.....	34
Tablo 14. t(8;21) sıklığı.....	34
Tablo 15. inv(16) sıklığı.....	35
Tablo 16. t(15;17), t(8;21) ve inv(16) ile yaş karşılaştırması.....	35
Tablo 17. (15;17), t(8;21) ve inv(16) ile cinsiyet karşılaştırması.....	36
Tablo 18. Olguların FAB grupları.....	37
Tablo 19. FAB gruplarına göre t(8;21) pozitif olguların dağılımı.....	38
Tablo 20. FAB gruplarına göre t(15;17) pozitif olguların dağılımı.....	39
Tablo 21. FAB gruplarına göre inv(16) pozitif olguların dağılımı.....	40

Tablo 22. BCOR ekspresyonunun t(15;17), t(8;21) ve inv(16) pozitif ve negatif olgular arasında karşılaştırması.....	41
Tablo 23. BCORL1 ekspresyonunun t(15;17), t(8;21) ve inv(16) pozitif ve negatif olgular arasında karşılaştırması.....	41
Tablo 24. Kontrol ve hasta grubu arasında BCOR ve BCORL1 ekspresyon değerlerinin karşılaştırması.....	42
Tablo 25. Erişkin AML hastalarında BCOR ve BCORL1 ekspresyon değerlerinin kontrol ile karşılaştırması.....	42
Tablo 26. Çocukluk çağı AML hastalarında BCOR ve BCORL1 ekspresyon değerlerinin kontrol ile karşılaştırması.....	43
Tablo 27. AML hastalarının kontrole göre BCOR ekspresyon durumu	44
Tablo 28. BCOR ekspresyonu kontrole göre azalan olgular ve yaşları.....	45
Tablo 29. AML hastalarının kontrole göre BCORL1 ekspresyon durumu.....	46
Tablo 30. BCORL1 ekspresyonu kontrole göre azalan olgular ve yaşları.....	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. İnsanda hematopoez.....	4
Şekil 2. BCOR veya BCORL1'in yer aldığı PRC1 protein kompleksi.....	23
Şekil 3. BCOR ve BCORL1 proteinlerinin domainleri.....	25
Şekil 4. Örneklerle ait amplifikasyon ve standart eğrileri.....	30
Şekil 5. Örneklerin melting eğri analizi sonuçları.....	31



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	: Akut Miyeloid Lösemi
APL	: Akut Promiyelositik Lösemi
APML	: Akut Promiyelositik Lösemi
aPTT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
ASXL1	: Additional Sex Combs Like 1
bç	: Baz çifti
CD	: Cluster of Differentiation
cDNA	: Complementary DNA
CEBPA	: CCAAT/Enhancer-Binding Protein Alpha
CN-AML	: Cytogenetically Normal-Akut Miyeloid Lösemi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNMT3A	: DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A
FAB	: French-American-British
FLT3	: FMS-Like Tyrosine Kinase 3
FLT3-ITD	: FLT3 -İnternal Tandem Duplikasyonları
FYÜ	: Fibrin Yıkım Ürünleri
g	: Gram
IDH1	: Isocitrate dehydrogenase 1
IDH2	: Isocitrate dehydrogenase 2
KDM2B	: Lysine (K)-specific demethylase 2B
Kİ	: Kemik İliği
KMML	: Kronik mMyelomonositik Lösemi
MDS	: Myelodisplastik Sendrom
MDS	: Myelodisplastik Sendrom
ml	: Mililitre
MLL	: Mixed Lineage Leukemia
mM	: Milimolar
MRD1	: Multidrug Resistance 1
mRNA	: Messenger RNA

MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
nm	: Nanometre
NPM	: Nucleophosmin
NuMA	: Nuclear matrix associated
OFCD	: Okulofasyokardiodental
PCGF1	: Polycomb group RING finger protein 1
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PML	: Promiyelocytic Leukemia
PRC	: Polycomb Repressive Komplex
PT	: Protrombin Zamanı
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
qRT-PZR	: Kantitatif Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RING1A/B	: Polycomb group proteins Ring1A/B
RNA	: Ribonükleik asit
RT-PCR	: Reverse transcriptase- Polimeraz Chain Reaction
RUNX1	: Runt-related transcription factor 1
RYBP	: RING1 And YY1 Binding Protein
SKP1	: S-phase kinase-associated protein 1
TAE	: Tris-EDTA
TBP	: TATA Binding Protein
TET2	: Tet methylcytosine dioxygenase 2
UV	: Ultra Viyole
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YAF2	: YY1-associated factor 2
YDP	: Yaygın Damariçi Pıhtılaşma

ÖZET

Çoşkun, F.R. (2016). Akut Miyeloid Lösemide BCOR VE BCORL1 Ekspresyonunun Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Akut Myeloid lösemi (AML) myeloid öncü hücrelerin normal olgunlaşma sürecinin bozulması sonucu, blast adı verilen genç hücrelerin kemik iliği ve kanda birikmeye ortaya çıkan malign bir hastalıktır. AML prognoz ile ilişkili olarak sitogenetik ve moleküler değişiklikler t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13q22), t(15;17)(q22;q12) ve t(11q23)/MLL anomalileri ve NPM1, DNMT3A, CEBPA, FLT3, RUNX1 ve IDH1/2 genlerindeki mutasyonlardır.

“BCL6 corepressor” (BCOR) HOX genlerinin düzenlenmesinde baskılayıcı rol oynar. BCOR erken embriyonik ve hematopoez için önemli bir transkripsiyonel düzenleyicidir. “BCL6 corepressor like1” (BCORL1) ise sınıfII histon asetiltransferaz ve deasetilazlarla etkileşen korepresördür. Yeni nesil dizileme tekniklerinin gelişmesiyle AML’de BCOR ve BCORL1 gen mutasyonları gösterilmiştir. Bu genlerin tümör baskılayıcı fonksiyon gösterdiği ileri sürülmüştür. BCOR geninin kötü prognozla ilişkisi olduğu gösterilmesine rağmen BCORL1’in prognostik önemi henüz bilinmemektedir. AML’de BCOR ve BCORL1 genlerinde mutasyonlara bağlı fonksiyon kaybı son birkaç yıldır gösterilmiş olmasına rağmen, gen ekspresyonu henüz çalışılmamıştır. Bundan dolayı bu tez çalışmasında AML hastalarında BCOR ve BCORL1 geni ekspresyon düzeylerini Real-Time kantitatif RT-PCR ile analiz etmeyi amaçladık.

Sonuçlarımız BCOR ve BCORL1 ekspresyonun birbiriyle ilişkili olduğunu gösterdi. 96 hastanın hiçbirinde tam ekspresyon kaybı görülmedi. Bu durum BCOR ve BCORL1’un myeloid hücreler için önemli fonksiyonları olduğunu desteklemektedir. Erişkin 79 AML olgusunun %22,78’inde, 17 çocukluk çağı AML olgusunun ise %17,64’ünde BCOR ekspresyonunun, hem erişkin hem de çocukluk çağı AML olgularında yaklaşık olarak %6’sında ise BCORL1 ekspresyonunun azalmış olduğu gösterildi. Ayrıca BCOR ekspresyonu yaşla beraber azaldığı gösterildi. AML prevalansının yaşla beraber artması BCOR ekspresyon azalmasının hastalığa eğilim oluşturduğunu düşündürmektedir. Ekspresyon azalmasının klinik öneminin araştırılması önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Akut miyeloid lösemi, BCOR, BCORL1, BCOR ekspresyonu, BCORL1 ekspresyonu

ABSTRACT

Coşkun, FR. (2017). İnvetigation of BCOR and BCORL1 Expression in Acute Myeloid Leukemia. İstanbul University, Institute of Health Science, Genetics. Master Thesis.

Acute Myeloid Leukemia (AML) is a malign disease characterized by accumulation of young blast cells with unnormal maturation progress on bone marrow and blood. Cytogenetic and molecular changes affecting AML prognosis are t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13q22), t(15;17)(q22;q12) ve t(11q23)/MLL and NPM1, DNMT3A, CEBPA, FLT3, RUNX1 ve IDH1/2 mutations.

“BCL6 corepressor” (BCOR) repress expression of HOX genes. BCOR is an important transcriptional regulator for early embryonic development and hematopoiesis. On the other hand “BCL6 corepressor like1” (BCORL1) is a corepressor that interacts with classII histone acetyltransferases and deacetylases. Using Next-Generation Sequencing techniques BCOR and BCORL1 mutations are detected on AML patients. BCOR related poor prognosis in AML. Prognostic significance of BCORL1 is still unclear. BCOR and BCORL1 gene mutations have shown in past few years yet gene expression studies have not been conducted. Because of this reason our aim was to analyse BCOR and BCORL1 gene expression levels on AML patients using quantitative RT-PCR.

Our results showed that expression levels of BCOR and BCORL1 are related. None of the patients showed full expression loss. This outcome supports that both BCOR and BCORL1 have some important functions for myeloid cells. %22,78 of adult AML patients and %17,64 of childhood AML patients showed decreased BCOR expression. %6 of adult and childhood AML patients showed decreased BCORL1 expression. In addition decreasing of BCOR expression correlated with increase in age. Increasing of AML prevalence with age suggests that decreased BCOR expression could lead to the disease. Investigating the clinical significance of expression loss shows great importance.

Key Words: Acute myeloid leukemia, BCOR, BCORL1, BCOR expression, BCORL1 expression

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut Myeloblastik lösemi (AML) progenitör hücrelerin neoplastik transformasyonu sonucu kemik iliğinde immatür hücrelerin artışıyla karakterize, prognoz, morfoloji, hücre kökeni, etyoloji ve patogeneze yönünden çok heterojenlik gösteren bir hastalıktır (Greer ve ark. 2004; 2097).

AML'nin patogenezinde birçok kromozom anomalileri tespit edilmiştir (Yunis ve ark.1981: 135). Görülme oranı endüstrileşmiş şehir ve gelişmiş ülkelerde yüksektir. Görülme insidansı yaşla birlikte artar. Erkeklerde kadınlardan, beyazlarda zencilerden daha fazladır (Greer ve ark. 2004; 2097).

AML sitogenetik ve moleküler bozuklukların bulunması tedavi seçimi açısından önemlidir. AML'de sıklıkla görülen sitogenetik değişiklikler $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13q22)$, $t(15;17)(q22;q12)$ ve $t(11q23)/MLL$ 'dir. Sitogenetik olarak normal AML'lerde (CN-AML) görülen en sık mutasyonlar *NPM1*, *DNMT3A*, *CEBPA*, *FLT3*, *RUNX1*, *IDH1/2* ve *MLL* genlerindeki mutasyonlardır (Swerdlow ve ark. 2008; Tiacci ve ark. 2012). AML kromozomal anomaliler ve somatik mutasyonların birikimi sonucu ortaya çıkar. Bazı dengeli translokasyon ve inversiyon gibi kromozomal anomalilerin patogeneze rolleri anlaşılmıştır ve hastalığın genetik temelini doğrulamıştır. Bazı genetik değişikliklerin varlığı, yaş, tanı sırasında lökosit sayısı, primer veya sekonder AML olması gibi diğer klinik verilerle birlikte risk belirlenmesinde kullanılır. Hastaların yaklaşık olarak yarısı sitogenetik olarak normaldir. Yeni geliştirilen genomik teknolojiler sayesinde AML'deki genetik ve epigenetik değişikliklerin karmaşıklığı daha iyi anlaşıldı. Tüm genom dizileme çalışmalarıyla çok sayıda tekrarlayıcı mutasyonlar tespit edildi. Bu mutasyonların tespiti ve prognostik öneminin anlaşılması risk gruplarının belirlenmesi ve uygun tedavi seçimi açısından büyük önem taşır (Nazha ve ark. 2016).

BCOR geni her hücrede eksprese olan nükleer bir protein kodlar. BCL6 ve diğer bazı transkripsiyon faktörü ile etkileşime girerek baskılayıcı rol oynar (Khanh ve ark. 2000). BCOR erken embriyonik gelişim, mezenkimal kök hücre fonksiyonu ve hematopoez için önemli bir transkripsiyonel düzenleyicidir. BCOR'un "germ-line" mutasyonları X'e bağlı kalıtılan "oculo-facio-cardio-dental" (OFCD) sendromla ilişkilidir (Khanh ve ark. 2000).

BCORL1 geni sınıfII Histon asetiltransferaz ve deasetilazlarla etkileşen korepresör kodlar. Meme kanseri ve hepatoselüler kanrsinomda da mutasyonları gösterilmiş olan bu genin tümör baskılayıcı rol oynadığı ileri sürülmüştür (Yin ve ark. 2016).

İlk olarak Grossmann ve arkadaşları 2011 yılında AML hastalarında tüm ekson dizileme çalışmalarıyla BCOR mutasyonlarını göstermişlerdir (Grossmann V, 2011). Sitogenetik olarak normal AML'lerin (CN-AML) %4,2'sinde BCOR mutasyonu saptamışlardır (Grossmann ve ark. 2011). Daha sonra yapılan bir çalışmada BCOR mutasyon sıklığının pediatrik CN-AML'de % 6.3 ve erişkin CN-AML'de %3.8 olduğu bildirilmiştir (Jasmijnve ark. 2015). BCORL1 mutasyonları erişkin ve pediatrik AML'lerin yaklaşık olarak %6'sında gösterilmiştir (Li ve ark. 2011). Takip eden çalışmalarla AML'de bu genlerde benzer sıklıklarda farklı mutasyonlar gösterilmiştir (Jasmijn ve ark. 2015). BCOR geninin AML için tümör baskılayıcı rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca BCOR geni mutasyonlarının kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca BCOR ve BCORL1'in kimerik füzyonları çeşitli kanser tiplerinde gösterilmiştir (Peters ve ark. 2015; Specht ve ark. 2017).

AML'de BCOR ve BCORL1 genlerinde mutasyonlara bağlı fonksiyon kaybı son birkaç yıldır gösterilmiş olmasına rağmen, gen ekspresyonu henüz çalışılmamıştır. Mutasyon bulunmayan hastalarda metilasyon veya promoter bölge mutasyonuna bağlı ekspresyon azalması veya kaybı olması muhtemeldir. Bundan dolayı bu tez çalışmasında AML hastalarında BCOR ve BCORL1 geni ekspresyon düzeylerini analiz etmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

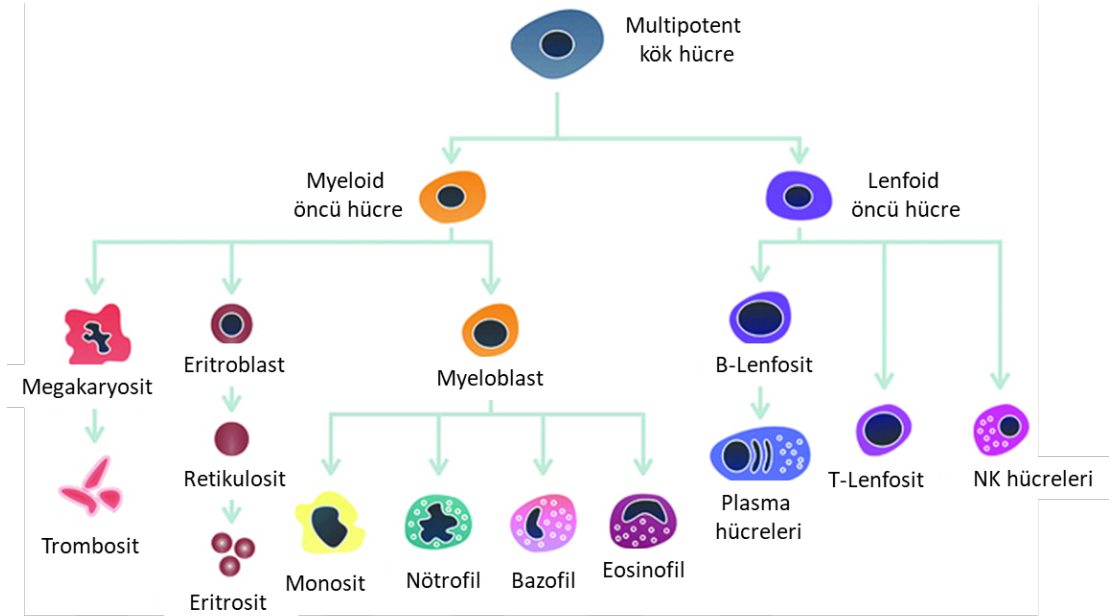
2.1.Hematopoez

Hematopoietik hücreler kanda dolaşan kemik iliği kaynaklı hücre tiplerini (olgun hücre tipleri ve bunların öncülerini) temsil eder. Hematopoietik hücreler, miyeloid hücreler (bazofiller, eozinofiller, nötrofiller, eritrositler, trombositler, monositler ve makrofajlar ve mastositler) ve lenfoid hücrelere şeklinde (B lenfositler, T lenfositler) kategorize edilir.

Stromal hücreler, belirli bir zamanda, bu dokunun fonksiyonel bileşenleri, yani parenkimal hücreler ile ilgili olmayan farklı hücre tipleri için başka bir ortak terimdir. Özellikle, kemik iliği stroması mezenkimal progenitörler, fibroblastlar, adipositler, monositler ve makrofajlar, endotel ve düz kas hücreleri, T-lenfositler gibi çeşitli hücre tiplerinden oluşan bir hematopoietik mikro ortam hazırlar.

Bu hücreler hematopoietik kök ve progenitör hücreler üzerinde çalışan membrana bağlı ve salgılanan hematopoietik faktörler yoluyla kısa ve uzun vadeli hematopoeze destek verebilir. Hematopoietik kök hücreler, aynı tip kök hücreleri (kendilik yenileme) veya öncül, olgunlaşmamış ve olgun kan hücrelerine yol açan progenitörler yoluyla mitoz bölünmeyi uyarırlar. Kararlı durumda olan kök hücrelerin çok azı aktif durumdadır (Marc, 2013: 72).

Hematopoietik kök hücreler kendilerini içsel ve dışsal sinyaller ile düzenlerler. Hematopoez, hücre sağkalımı, kendini yenileme ve farklılaşmaya bağlıdır, bu nedenle ağırlıklı olarak sessizlik (rezerv) ve hücre bölünmesi (havuz ve kan dokusunun yenilenmesi) arasındaki denge üzerine kuruludur. Yaşam boyu hematopoez, hematopoietik kök hücrelerin kendi kendini yenileme kapasitesine ve vücudun ihtiyaçlarına göre kan hücreleri üretmesine dayanır. Kan homeostazı, dolayısıyla hematopoez, hematopoietik rejeneratif kapasiteyi korumak için sessiz kalıpta hematopoietik kök hücrelerin uzun süre tutulmasını gerektirir. Güçlü kan rejenerasyonu ihtiyacı olmadığında, hematopoietik kök hücrelerden kan hücresi oluşumunun yeri olan kemik iliği, dolaşımdaki hücre havuzunu korur, çünkü olgun kan hücreleri belirli bir bozunma hızıyla yaşlanmaya uğrarlar.



Şekil 1. İnsanda hematopoez (Jin ve ark. 2017).

2.2. AML

Akut miyeloid lösemi (AML), normal hücrelere göre proliferasyon hızı artmış, spontan apoptosisi azalmış hücrelerin kontrolsüz ve klonal proliferasyonu ile ortaya çıkan ve hızla artan bu hücrelerin kemik iliğini işgali ile seyreden bir malign hastalıklar grubudur. Uzun süreli izlemde çocuk hastalıkları ülkelere göre %40-60 oranındadır ve tüm lösemi hastalarının %35'i hastalığa, bağlı olarak kaybedilir. Son yıllarda yüksek riskli hastaların belirlenip bu hasta gruplarına daha yoğun tedavi verilmesi ile düşük riskli hastalarda % 90'lara varan olaysız sağkalım, yüksek risk hastalarda da artan bir özelliktedir ve umut vericidir (Anak ve Uysalol, 2012: 153).

2.2.1. Tanım

Akut lösemiler hematopoetik progenitör hücrelerin neoplastik transformasyonu ve klonal proliferasyonu sonucu kemik iliğinde immatür hücrelerin artışıyla oluşan malign hastalıklar tanımlanmaktadır (Haznedar ve Yamaç. 2003: 1907). Kontrolsüz çoğalan blastlar, kemik iliği, lenfatik dokular karaciğer ve merkezi sinir sistemi (MSS) gibi hayati organlarda invazyona sebep olarak fonksiyon bozukluğuna yol açar (Üskent ve ark. 2006: 532). AML'li hastalar tedavi edilmezlerse ortalama 3-4 ay kadar yaşarlar.

Akut lösemiler, lenfoid veya miyelositer serinin tutulumuna göre başlıca 2 ana gruba ayrılır. Akut lenfoblastik lösemilerin (ALL) %80'i çocuklarda görülür ve erişkin

ALL'lere göre daha iyi prognoza sahiptir. Buna karşın akut miyelositer lösemilerin (AML) %90'ı erişkinlerde ortaya çıkar (Üskent ve ark. 2006: 532). AML'deki malign hücre daha çok monosit veya myeloid diferansiyasyon gösteren blasttır. Yüzde 5-10'unda megakaryositik veya eritroid diferansiyasyon görülebilir Hines ve ark, 1984: 546).

Akut lösemi tanısı için kemik iliğinde en az 500 hücre sayılmalı ve toplam çekirdekli hücrelerin %20 veya daha fazlası blast olmalıdır. Yüzde 20 sınırı, kemik iliğinde blast artışıyla giden miyelodisplastik sendrom subgruplarından ayırım için gereklidir.

AML'de tedavi indüksiyon ve postremisyon olmak üzere iki aşamada yapılır. Tanı konulan hastada tam remisyonu hedefleyen ilk tedaviye remisyon indüksiyon tedavisi denir. Remisyon sağlanan hastalarda postremisyon tedavisi olarak konsolidasyon, intensifikasyon veya idame tedavisi ile tedaviye devam edilir. Remisyonundan hemen sonra uygulanan ve genellikle indüksiyon için kullanılan ilaçların kullanıldığı tedaviye konsolidasyon tedavisi denir. Sitozin arabinozid (sitarabin) AML tedavisinde en önemli ilaçlardan biridir. Remisyon sonrası hiç tedavi verilmeyen olguların hemen hemen tümünde relaps görülür. Bundan dolayı konsolidasyon, idame ve intensifikasyondan oluşan remisyon sonrası tedavinin gereği genel kabul görmektedir. Ancak günümüzde bunun için standart haline gelmiş bir protokol henüz yoktur. Bu nedenle farklı merkezler kendi deneyimlerine göre farklı protokoller uygulamaktadırlar. Günümüzde genel uygulama yüksek doz sitarabin ile (1-3 gr/m², 12 saat ara ile 6-12 kere) intensifikasyon yapılmasıdır (Haznedar ve Yamaç 2003). Sitarabinin yüksek dozunun standart dozlarına nazaran lösemik blastların rezistansını yenebileceğine dair iyi laboratuvar ve klinik kanıtlar vardır (Hines ve ark. 1984: 547).

2.2.2. Tarihçe

Kanser, yüzyıllar öncesinde varlığı bilinen bir hastalıktır. Malign tümörlerle ilgili tanımlara ilk olarak Mısır papirüsleri, Babil çivi yazısı tabletleri ve eski Hint yazmalarında rastlanılmaktadır. Ebers Papirüsünde (M.Ö. 15. yüzyıl), tümör tedavisinin öldürücü olabileceği belirtilmektedir. Antik döneme ait Yunan tıbbi kayıtlarında ve Galen'in çalışmalarında ise birçok kanser olgusuna rastlanmakla birlikte, bunların ne tür tümörler olduğuna karar vermek çoğu kez olanaksızdır. Kanser teriminin ilk defa Hipokrat tarafından (M.Ö. 460-377) organizmanın şifa bulmayan yeni yapılanmaları için kullanıldığı görülür. Vücut yüzeyinde büyüyen ve

genellikle ülser olan, kırmızı, sıcak, ağrılı, diğerlerinden farklı karakterde olup daha yavaş büyüyen şişliklere Hipokrat, “karkinos” ya da “karkinoma”, Galen (M.S. 2. yüzyıl) ise yengece benzettiği görünümü nedeniyle “kanser” adını verdi. Diğer bir yoruma göre bu isimlendirme, kanser ağrısının, yengeç ısırması ile oluşan, ortadan çevreye doğru yayılan kemirici tarzdaki ağrıya benzerlik göstermesi nedeniyle. Yunan tıbbında, “praeter naturam” adı verilen anormal patolojik büyüme ise tümör olarak adlandırıldı. Bu dönemde sadece epitelyal kökenli malign tümörlere kanser denildiği ve nedeninin diğer hastalıklarda olduğu gibi vücut sıvıları arasındaki dengesizliğe bağlandığı görülmektedir. Galen, tümörleri, doğaya uyan, doğayı aşan ve doğaya karşı olan şeklinde üç grupta sınıflandırmıştır (Yener, 1973: 6).

Kan, ilkçağlardan beri yaşlanmanın temel unsuru olarak görülür. Dalağın büyümesi ile anemi, sıtma ve bazı enfeksiyon hastalıkları arasında ilişki olduğu da yine ilkçağlar da tanımlandı. Ancak hematoloji deyimi ilk kez Thomas Schwenke tarafından 1743’de kullandı ve halk arasında “kan kanseri” adı verilen löseminin tanımlanması ise ancak 19. yüzyılda gerçekleşebildi. Löseminin tanımlanmasının diğer kanser grubu hastalıkları içerisinde oldukça yeni olmasının nedeni, mikroskobun 1590 yılında Zaharias Jansen tarafından bulunmuş olmasına karşın tıp alanında ancak 19. yüzyıl başlarında kullanılmaya başlanmıştır (Yener, 1973: 7).

Lösemi ile ilgili gelişmeler de kanser etyolojisi tartışmalarını ile birlikte başlatmıştır. On dokuzuncu Yüzyıl’ın başlarında (1811-1841 yılları arasında) splenomegali ile birlikte kanda alışılmadık değerler olduğunu gösteren az sayıda olgu yayınlandı. Bu olgularda gözlenen kandaki renk değişikliği iltihap olarak düşünüldü. Ancak bulgular henüz lösemi tanısının desteklemekte yetersizdi. Kan hastalığının tedavisinde kan transfüzyonunun kullanılabileceği ilk olarak 1828’de James Bundell tarafından belirtildi. Bu olgulardan Dr. Barth (1839) ve Dr. Craigie’nin (1841) hastalarında tanımlanan semptomlar, kronik lösemiye benzemektedir. Bu olguların ölümünden sonra kanlarını inceleyen Alfred Donne, mikroskobu ilk kez klinikte kullandı. John Menteith, 1844’de, Craigie’nin hastasına benzer bir olgunun tedavisinde sülük, pürgatif ve potasyum iyodür kullandı, ancak başarılı olamadı. John Hughes Bennett (1812-1875) tarafından 1845’de Edinburg Medical and Surgical Journal’da yayınlanan “Case of Hypertrophy of the Spleen and Liver in which Death took place from Suppuration of the Blood” adlı makale bir dönüm noktası oldu. Bennett bu makalesinde kanda gözlemlediği değişikliğin iltihap ve enflamasyondan

farklı olduğunu belirtti. Kandaki tüm hücrelerin etkilenmiş olduğunu, hücrelerin değişik boylarda olduğunu, asetik asit uygulandığında ise nukleusların ayrıştığını gösterdi. Olguların klinik bulguları (splenomegali, hepatomegali, ateş halsizlik) ve kanın mikroskopik incelenmesi (değişik hücre oluşumu, lökosit artışı) değerlendirildiğinde tarif edilen hastalığın kronik miyelositik lösemi olduğu görülmektedir. Bu hastalığı ilk gözlemleyen Donne olmakla birlikte, bulgularını 1855'e kadar yayınlamaması nedeniyle, Bennett'in yayını lösemi hakkındaki ilk klinik makaledir. Yine Bennett tarafından ilk kez lösemili bir hastanın kan hücrelerinin resmi yayınlamıştır (1852). Lösemi ile ilgili ikinci olgu ise Virchow (1821-1902) tarafından rapor edildi. Bennett'tan 6 hafta sonra yayınladığı makalesinde, alt abdomende dört yıldır şişlik şikâyeti olan 50 yaşındaki hastanın ölümü sonrasında yaptığı inceleme sonucunda, damarların her yerinde iltihaba benzer bir oluşum ile birlikte değişik şekillerde hücre oluşumları, normal kandaki eritrosit ve lökosit oranının tersine döndüğünü gösterdi (Atıcı, 2007: 201-202).

Bu olguda tanımlanan hastalık şu anda kronik lenfositik lösemi olarak adlandırılmaktadır. Yaşayan hastada löseminin mikroskopik tanısı ilk kez 1846 yılında Henry Fuller tarafından gerçekleştirildi. 1847'de benzer bir olgu yayınladı ve bu yeni hastalık tanımında "lösemi" (beyaz kan) terimini kullandı. Bennett "lökositemi" terimini tercih etti. Virchow, üçüncü olguda, 1849'da yayınlanan splenik ve lenfatik bir kronik lösemi formunu bildirdi. İki ana tip kronik lösemi olan kronik lenfositik lösemi ve kronik miyelositik lösemi bu sınıflamadan 12 yıl sonra tespit edildi. (Geary, 2000: 4).

Akut lösemi tanısı Nikolaus Friedreich tarafından 1857'de yapılmıştır. 1870'de Ernst Neumann, kemik iliğinin, kan hücreleri yapımında önemli bir yere sahip olduğunu ve löseminin kemik iliğindeki değişikliklerden kaynaklandığını gösterdiğini söyler. Paul Ehrlich'in kan hücreleri arasında farklılaşma gösteren bir boyama yöntemini keşfetmesi, tıpta yeni bir döneme yol açtı. Beyaz kan hücreleri içinde üç farklı granülosit türü (eozinofil, bazofil, nötrofil) olduğunu göstermiştir (Atıcı, 2007: 203).

Bu yeni bulgu, hastalığa karışan hücre hattının türüne göre kronik lösemi kemik iliğini lenfoid ve miyeloid olarak sınıflandırmayı kolaylaştırdı. 1900'de Naegeli, ortamda lenfoblastlar ve miyeloblastlar gösterdi. 1960 yılında Nowell ve Hungerford tarafından bulunan Philadelphia kromozomu, kronik miyelositik löseminin patogenezinin daha iyi anlaşılmasına neden olmuştur (Atıcı, 2007: 203).

2.2.3. Etyoloji

AML tüm kanserlerin %1 'ini oluşturur. Görülme yaşı ortalama 60'dır.[3] Görülme oranı gelişmiş ülkelerde ve endüstrileşmiş şehirlerde yüksektir. AML'nin yıllık insidansı 3.4/100.000'dir. Otuz yaş öncesi bu insidans 1/100.000 iken 75 yaş sonrası 17/100.000'e ulaşır. Genetik faktörlerin AML'nin etiolojisinde rol oynadığı ileri sürülmüştür (Schwartz ve Cohen, 1988: 854).

Tek yumurta ikizlerinin birinde 10 yaşından önce lösemi gelişirse; diğer ikizinde 1/5 olasılıkla lösemi gelişebileceği rapor edilmiştir. Trizomi 21 (Down), trizomi 13 (Patau) ve XXY (Klinifelter) gibi somatik hücre kromozom anomalisi olan birçok sendromda AML görülme riski artmıştır. Bloom sendromu, monozomi 7, Fanconi anemisi ve ataksia telenjektazia gibi birçok otozomal resesif hastalıkta akut lösemi oluşturmaya eğilimli kromozom dengesizlikleri vardır. İnsan T-hücre lenfotropik virüs tipi 1 (HTLVI) erişkin T hücre lösemisinin sebebi olarak düşünülmektedir (Appelbaum, 2004: 1161).

AML etiolojisinde birçok faktör yer almasına rağmen çoğu hastada tanımlanabilen bir risk faktörü yoktur (de novo AML). AML'ye eğilim yaratan durumlar Tablo 1.' de verilmektedir (Ünür, 2006: 26).

Nitrojen mustard, siklofosamid, ifosfamid, melfalan, klorambusil ve etoposid sekonder AML etiolojisinde yer alan kemoterapötiklerdir (Barnard ve Woods, 2005: 654).

Tablo 1. AML'ye Eğilim Yaratan Durumlar (Ünür, 2006:26)

Çevresel
İyonizan radyasyon
Kimyasal maddelerle temas
Pestisitler
Petrol ürünleri
Sitatoksik kemoterapi (alkilleyici ajanlar, epipodofilotoksinler)
Fetusun prenatal dönemde alkole maruz kalması
Fetusun prenatal dönemde marijuana/tütüne maruz kalması
Kalıtsal ve Edinsel Predispozan Durumlar
Kalıtsal
İkiz eşi olma
Down sendromu
Fanconi anemisi
Kostmann sendromu
Schwachman-Diamond sendromu
Diamond-Blackfan sendromu
Nörofibromatozis tip 1
Noonan sendromu
Diskeratozis konjenita
AML gelişimine predispozisyon yaratan ailevi
Trombosit hastalığı (FDP/AML)
Konjenital amegakaryositik trombositopeni (CAMT)
Ataksi-telenjektazi
Klinefelter sendromu
Li-Fraumeni sendromu
Bloom sendromu
Edinsel
Aplastik anemi
Myelodisplastik sendrom
Edinsel amegakaryositik trombositopeni (AAMT)
Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri

Akut lösemi etiyolojisi bilinmemektedir. Ancak lösemi patogenezinde aşağıdaki faktörler önemlidir (Kızıлтаş, 2008: 2):

1. İyonize radyasyon.

2. Kimyasal ajanlar (örn. AML' de benzen).

3. İlaçlar (örn. alkalleyici ajanların tek başına veya radyoterapi ile birlikte uygulanması AML riskini artırır).

4. Genetik faktörler:

a. Monozigotik ikizlerde; hayatın ilk beş yılı içinde ikizlerden birinde lösemi gelişirse, ikinci ikizde de gelişme riski % 20'dir.

b. Lösemili bir hastanın kardeşlerinde de lösemi görülme insidansı genel popülasyona göre dört kat daha yüksektir.

c. Kromozomsal anomaliler:

Trizomi 21'de 10 yaşından önce lösemi riski 1/95,

Bloom Sendromu'nda 30 yaşından önce lösemi riski 1/8,

Fankoni Anemisi'nde 16 yaşından önce lösemi riski 1/12 olarak saptanmıştır.

d. Aşağıdaki genetik durumlarda insidans yüksek saptanmıştır:

I. Konjenital agamaglobulinemi

II. Poland sendromu

III. Shwachman-Diamond sendromu

IV. Ataksi telenjektazi

V. Li-Fraumeni sendromu (p53 mutasyonu)

VI. Nörofibrinomatosis

VII. Diamond-Blackfan anemisi

VIII. Kostmann hastalığı

2.2.4. Epidemiyoloji

Gelişmiş ülkelerde akut lösemilerin % 83'ünü ALL, %17'sini AML oluşturmakta olup, insidansla bölgesel farklılıklar görülebilir.

Çocukluk çağı AML insidansı yeni doğan ve adolesan döneminde ki hafif bir artışın dışında genellikle tüm yaşlarda aynı orandadır. İnsidansı yaşamın ilk yaşlardan sonraki 4 yaşına kadar azalır ve bu noktada nispeten sabit kalır. AML sıklıkla geç yetişkinlik döneminde ortaya çıkar. İngiltere'de tüm lösemilerin yaygın görülen vakaların oranının dağılımı, hastaların % 42,8'inin 65 yaşın üzerinde olduğunu göstermektedir. Yeni AML teşhisi konan hastaların ortalama yaşı 65'tir. İnsidans yaşla

birlikte aşamalı olarak artar. 2000 yılından 2003 yılına kadar, 65 yaş altı insanlardaki insidans oranı 100.000 kişi başına yalnızca 1.8 iken, 65 yaş üstü insanlardaki insidans oranı 100.000 kişi başına 17 şeklindedir (Deschler ve Lübbert, 2006).

2.2.5. Sınıflandırma

WHO sınıflamasına göre AML tanısında blast oranı %20'nin üzerinde olmalıdır. Ayrıca $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13q22)$, $t(14;16)(p13;q22)$, $t(15;17)(q22;q22)$ klonal sitogenetik anormallikler varlığında blast oranına bakılmadan AML tanısı konabilir.

AML FAB sınıflaması (Kızıltaş, 2008: 16):

M0-Akut andiferansiye lösemi

M1-Matürasyon olmayan miyeloblastik lösemi

M2-Matürasyon olan miyeloblastik lösemi

M3-Akut promiyelositik lösemi (APML)

M3V-APML mikrogranüler varyantı

M4-Miyelomonositik lösemi

M4EOS-özellikle eozinofil artışı ile

M5-Akut monositik lösemi

M6-Eritrolösemi (Diguglielmo Hastalığı)

M7-Megakaryositik lösemi;

AML M7 de blast morfolojisi, 1-3 nükleolusu bulunan, granül içerebilen, sitoplazmasında tomurcuklanmalar olan hücrelerdir. Miyelofibrozise rastlanabilir. Sıklıkla Trizomi 21'li çocuklarda görülür. CD41, CD42, CD61 pozitif olup, CD13 ve CD33 de pozitif saptanabilir. Elektron mikroskop incelenmesinde trombosit peroksidaz görülebilir.

FAB M5 ve M7 erken çocukluk yaşlarında daha siktir. Daha büyük çocuklarda ise M0, M1, M2, M3 görülür.

2.2.6. İmmünofenotip

AML tanısında hücre yüzey antijenlerine karşı geliştirilen monoklonal antikorlar alt grup belirlemede yararlıdır.

Tablo 2. AML FAB Alt Tipleri İle İmmünolojik Yüzey Markırları İlişkileri
(Kızıltaş, 2008: 17).

FAB	HLA-DR	CD11b	CD13	CD14	CD15	CD33	CD34	Glikoforin	CD41	CD42	CD61
M1/M2	+				+	+	+				
M3/M3		+	+		+	+	+				
V											
M4/M5	+	+	+	+	+	+	+				
M6	+		+			+	+	+			
M7	+		+			+	+		+	+	+
M0			+			+	+				

2.2.7. Klinik Seyir

Hastalık genelde akut olarak başlar. Semptomlar hemen daima sitopenilere bağlı olarak gelişir. Bazen lösemik hücrelerin kemik iliğini ayrıca dokuları infiltrate etmesine bağlı semptomlar da görülür. Sitopeniler sonucu anemi ve anemiye bağlı semptomlar, nötropeni sonucu enfeksiyonlar ve ateş, trombositopeniye bağlı kanamalar en sık bulgulardır. En sık rastlanan klinik bulgu birkaç aydır olan yorgunluk ve kırıklık hissidir. Lösemiden veya enfeksiyona sekonder ateş, hastaların %15-20'sinde görülür ve terleme ile birliktedir. Peteşi, epistaksis, dişeti kanaması, vücutta morluklar, menoraji, retina kanaması ile kendini gösteren kanama, hastaların tanı anında yaklaşık yarısında mevcuttur (Greer 2004: 2097).

Enfeksiyon ve anemisi olan hastalarda kanamaya yatkınlık artmıştır. Ayrıca kanamanın şiddeti; yaygın damar içi pıhtılaşma (YDP) varlığı ve trombositopeninin

şiddeti ile ilişkilidir. Hiperlökositoz, beyaz küre sayısının mm^3 'te 100.000'in üzerinde olmasıdır. Hiperlökositoz akciğer, merkezi sinir sistemi (MSS) ve genitoüriner sistemde lökostatılara neden olur. Pulmoner lökositoz dispne, taşipne, raller, interstisiyel infiltrasyon ve respiratuvar solunum yetmezliğine sebep olur ve kötü prognoz göstergesidir (McKee ve Collins, 1974: 465)

Merkezi sinir sistemi (MSS) tutulumunda baş ağrısı, bulanık görme olur. Ölümcül intraserebral hemoraji olabilir. Priapizm, hidronefroz, hiperürisemi ve böbrek yetmezliği, genitoüriner tutulumun sonuçlarıdır. Kardiyovasküler tutulum akut miyokard enfarktüsü ve konjestif kalp yetmezliği ile sonuçlanabilir (McKee ve Collins, 1974: 466; Wiernik ve ark. 2001: 275) Hastaların%50'sinde kilo kaybı mevcuttur, ancak şiddetli değildir. Kemik ağrısı en sık sternumda olmakla birlikte %20'den azdır. Organomegali ve adenopati AML'li hastaların yarısında raporlanmıştır, ancak ALL kadar sık değildir (Appelbaum 2004).

MSS tutulumu insidansını hastalığın başlangıcında ekseriya lomber ponksiyon yapılmadığı için saptamak zordur. Çocuklarda meningeal tutulum %5–20 (20, 21) iken erişkinlerde bu oran %16'dır. Yüksek doz sitarabinin artmış kullanımı AML'de MSS tutulumunu azaltmıştır. MSS hastalığı, genç yaş (2 yaş altı), M5 ve hiperlokositozla ilişkilidir (Peterson ve ark. 1987: 466). MSS tutulumu sıklıkla asemptomatiktir ama hastada baş ağrısı ve kraniyal sinir tutulumu ile ilişkili semptomlar da olabilir. İntraserebral kitleler nadiren lösemia meningitis ile sonuçlanabilir. Lösemia meningitis FAB M4Eo ile ilişkilidir. Bazı klinisyenler özellikle çocuklarda FAB M4Eo lösemi varsa veya beyaz küre sayısı mm^3 'te 100.000'nin üzerinde ise profilaktik MSS tedavisini önermektedirler (Golub ve Arceci, 2002: 545).

AML M3'te yaygın damar içi pıhtılaşması siktir ve olguların %80'inde görülür. Myeloid sarkom veya myeloblastom, AML vakalarının %2-14'ünde ortaya çıkan bir extramedüller tümördür. Bu tümörler kloroma olarak da adlandırılırlar. Yaygın yerleşimleri orbita ve paranazal sinüslerdir. Fakat gastrointestinal sistem, genitoüriner sistem, akciğer, tükürük bezleri, mediasten, plevra, periton, safra duktuslarını da tutabilir (Wiernik 2001: 277).

Genellikle akut lösemiye dönüşürler. AML’li hastalarda nadiren karaciğer yetmezliği ve granülositik sarkoma bağlı obstrüktif sarılık görülebilir (Wiernik 2001: 277).

2.2.8. Laboratuvar Bulguları

Tam kan sayımında anemi, trombositopeni vardır. Lökosit sayısı yüksek, normal veya düşüktür. Periferik yayma ile kan sayımı bulguları konfirme edilir, sıklıkla blastlar görülür. YDP ile birlikteyse protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), fibrinojen, fibrin yıkım ürünleri (FYÜ), D-dimer değerlerinde anormallikler saptanır. Akut promyelositik lösemi (APL) YDP’nin en sık geliştiği AML alt tipidir (Redner 2005: 417).

Biyokimyasal değerlendirmede çoğu hastada LDH artışı vardır. Özellikle tümör lizis sendromu riski nedeniyle ürik asid, BUN, kreatinin, kalsiyum, fosfor düzeyleri, karaciğer fonksiyon testleri tüm hastalardan istenmelidir. Ateşi ve infeksiyon bulgusu olan hastalardan CRP, tüm kültürler alınmalıdır. Kan tablosu uygunsa kök hücre transplantasyonu açısından HLA-doku tiplendirmesi yapılmalıdır (Golub ve Arceci, 2006: 622).

Kemik iliği aspirasyonu yapıp, Wright veya Giemsa ile boyanıp blast oranı saptanmalıdır. Daha önceki yıllarda “French-American-British (FAB)” sınıflamasına göre göre kemik iliği blast oranı $>30\%$ olduğunda AML tanısı konurken, son yıllarda Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre bu oran yerine 20% ’nin üstünde blast oranı AML tanısı için gerekli oran olarak kabul edilmiştir, ayrıca blast oranına bakılmaksızın, ilave olarak $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13;q22)$, $t(16;16)(p13;q22)$ ve $t(15;17)(q22;q12)$ gibi klonal sitogenetik bozuklukların varlığı da AML tanısı için yeterli olarak kabul edilmektedir (Vardiman ve ark. 2002: 2295).

Kemik iliği aspirasyonu tüm hücrelerde displazinin derecesi hakkında da bilgi verir. Löseminin FAB tipini belirlemek için kemik iliğinden immunhistokimyasal boyama [myeloperoksidaz veya Sudan black B, terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) boyası], immunfenotiplendirme (akım sitometrisi ile) ve prognostik açıdan önemi olan sitogenetik incelemeler için de örnek alınmalıdır

Tablo 7, 8, 9 ve 10’da immunfenotiplendirme ve sitogenetik çalışmaların sonuçları yorumlanmaktadır.

Son yıllarda kemik iliğinden moleküler genetik çalışmalar da önem kazanmıştır, moleküler yöntemlerle normal sitogenetiği olan hastalarda genetik bozukluklar saptanabilmektedir. AML tanısı alan hastalarda, mümkünse yapılması önerilen incelemeler: Fms-benzeri tirozin kinaz "Fms-like tyrosine kinase 3 (FLT3)" mutasyonları, FLT3 internal tandem duplikasyonları (FLT3-ITD pediatrik AML’lerin %16.5’da) kötü prognozla, CEBPA mutasyonları uzun süreli remisyon ve yaşam, nucleophosmin (NPM) mutasyonları ise kemoterapi yanıtında artma ile birlikte. FLT3 myeloid blastlarda yüksek oranda eksprese olan bir tirozin kinaz reseptörüdür ve kötü prognozla ilişkilidir. Son yıllarda tedavi için FLT3 tirozin kinaz inhibitörleri geliştirilmektedir (Woods 2006: 568).

Tablo 3. AML Hücrelerinin İmmunfenotiplendirmesi (Ünüvar, 2006: 28)

Marker	Hematopoetik Dizi "Lineage"
CD13	Myeloid
CD33	Myeloid
CD34	Erken prekürsör
HLA-DR	Çoğu AML’de pozitif, APL’de negative
CD11b	Matür monositler
CD14	Monositler
CD41	Trombosit glikoprotein IIb/IIIa kompleks
CD42a	Trombosit glikoprotein IX
CD42b	Trombosit glikoprotein Ib
CD61	Trombosit glikoprotein IIIa
GPA	Eritroid
TdT	Genellikle akut lenfoblastik lösemide saptanır, ancak M0 ya da M1’de de pozitif olabilir.
CD11c	Myeloid
CD117(c-kit)	Myeloid/kök hücre
CD56	NK-hücresi/kök hücre

Tablo 4. AML’de Sık Rastlanan Sitogenetik Anormallikler (Ünüvar, 2006: 29)

Sitogenetik	Etkilenen Gen	Morfoloji	Cevap
t(8;21)(q22;q22)	AML/ETO	M2	İyi
Inv(16)(p13;q22)	CBFb/MYH11	M4eo	İyi
Normal	Multipl	Çeşitli	Orta
-7	Multipl	Çeşitli	Kötü
-5	Multipl	Çeşitli	Kötü
+8	Multipl	Çeşitli	Orta - Kötü
11q23	MLL	Çeşitli	Orta - Kötü
Miscellaneous	Multipl	Çeşitli	Orta - Kötü
Multipl kompleks*	Multipl	Çeşitli	Kötü

Tablo 5: APL’de Sitogenetik Anormallikler (Ünüvar, 2006: 29)

Translokasyon	Etkilenen Gen	All - Trans - Retinoik Asid Cevabı
t(15;17)(q21;q11)	PML/RARa	Evet
t(11;17)(q23;q11)	PLZF/RARa	Hayır
t(11;17)(q13;q11)	NuMA/RARa	Evet
t(5;17)(q31;q11)	NPM/RARa	Evet
t(17;17)	stat5b/RARa	Bilinmiyor

2.2.9. Tanı

Akut lösemi tanısı için; kemik iliğinde, en az 500 hücre sayıldığında, toplam çekirdekli hücrelerin %20 veya daha fazlası oranında blast bulunması gerekir. Periferik kandaki blast morfolojisi bazen kemik iliğindeki farklı olabilir. Bu yüzden kemik iliği görülmeden morfolojik sınıflama yapılması doğru değildir (Yunis ve Ensrud 1981: 136)

AML’li hastalarda tanı anında periferik lökosit sayısı değişkendir. Hastaların % 25’inde mm³’de 50.000’in üzerinde, %50’sinde mm³’de 5000–50.000 arasında ve %25’inde ise mm³’de 5000’in altında beyaz küre sayısı vardır. Golton ve arkadaşları AML’nin monositik varyantlarında, normal nötrofil sayısının daha yaygın olduğunu söylemiştir. Blastlar genellikle periferik yaymada tanımlanır. Auer

cisimciklerinin AML için patognomonik olduğu düşünülür. AML'li hastaların çoğunda normokrom normositer anemi görülür. Retikülositopeni ve çekirdekli eritrositler sıktır. İliktaki eritroid prekürsörler genellikle megaloblastiktir (Yunis ve Ensrud 1981: 136). Hastaların büyük bir kısmında trombositopeni mevcut olup %25'inde trombosit sayısı 20.000'nin altındadır. Tanı anındaki ciddi trombositopeni YDP'le ilişkili olabilir. YDP, AML'nin başlangıcı veya indüksiyon tedavisi sırasında görülebilir. YDP hipofibrinojenemi, artmış d-dimer, özellikle faktör 5 ve 8'i içeren faktör eksikliği, PZ ve aPTT uzaması, sızıntı tarzı kanama ve trombositopeni ile kendini gösterir. Hiperürisemi %50 kadar hastada görülebilir ve tümör lizis sendromu ile ilişkilidir. Uygun hidrasyon ve allopurinol ile kemoterapi boyunca meydana gelebilecek tümör lizis sendromu önlenabilir. Serum LDH düzeyleri özellikle M5'de yüksektir (Wiernik 1996: 335).

M4 ve M5'te lizozim seviyesi yüksektir. Aşırı lizozim hipokalemi ile sonuçlanan renal tübüler hasara neden olabilir. Pickerink ve arkadaşları yaptığı çalışmada 50 hastanın 12 sinde hipokalemi saptamış olup bunların tümü M4 ve M5 alt tipleridir. AML li hastalarda hiperkalsemi de olabilmesine rağmen hipokalsemi daha yaygındır (Yunis ve Ensrud 1981: 137).

2.2.10. Tedavi

Tedavide yalnız sitotoksik kemoterapi veya kemoterapi sonrası kemik iliği transplantasyonu söz konusudur. Kemoterapi, indüksiyon ve post remisyon olarak iki aşamada yapılır. Tanı konulan hastalarda tam remisyonu hedefleyen ilk tedaviye remisyon indüksiyonu denir. Remisyon sağlanan hastalarda, remisyonun hemen sonra uygulanan ve genellikle indüksiyon için kullanılan ilaçların uygulandığı tedaviye konsolidasyon denir. Remisyon sonrası aralıklarla uzun süreli olarak ve düşük dozlarla yapılan tedaviye idame tedavisi denir. AML'de idame tedavisinin dozu ve nasıl olması gerektiği ALL kadar net değildir. Remisyon sonrası indüksiyon tedavisinden farklı veya daha yüksek dozlarda tedavi verilmesine ise intensifikasyon tedavisi denir (Haznedar ve Yamaç 2003: 1913).

AML'de tedavi klinik sitogenetik ve diğer biyolojik verilere göre planlanmalıdır. AML tedavisinde en önemli ilaçlardan biri sitozin arabinozid'tir.

Sitarabinin dozu 100 mg/m² ile 6000 mg/m² arasında değişebilir. Yüksek doz sitarabin tedavisinin lösemik blastların rezistansını yenebileceğine dair iyi laboratuvar ve klinik kanıtlar mevcuttur (Üskent ve Tercimer 2006: 553).

Mayer ve arkadaşları 596 AML vakasına post remisyon terapisi olarak sitarabin vererek, dozun, yaşam süresi üzerine olan etkisini araştırdıklarında yüksek doz sitarabin verilen hastaların %39'u 4 yıl nüksüz yaşadığını ve orta ve düşük doz sitarabin alan diğer hasta gruplarında nüksü daha yüksek olduğu göstermişlerdir. Yüksek doz sitarabin tedavisiyle elde edilen bu sonuçlar, yaş, performans durumu, tam remisyon sonrası zaman uzunluğu ve tedavi toleransı gibi faktörler gözönüne alınarak allojenik transplantasyonu ile elde edilen tedavi sonuçları ile karşılaştırıldığında her iki tedavi sonuçlarının eşit olabileceği bildirilmiştir (Mayer ve ark. 1994: 897).

Yüksek doz sitarabin tedavisinin peşpeşe günlerde verildiğinde toksisitenin artacağı söylenmektedir. Mayer ve arkadaşları tarafından takdim edilen bir özellik de ilacın farklı günlerde verilmesidir. Bu şekilde ilacın toksitesinin azaldığı bildirilmiştir. Remisyon indüksiyon tedavisinde sitarabin, antrasiklin türevi bir ilaçla kombine olarak kullanılır. Antrasiklin grubu ilaçlardan en sık kullanılan daunorubicindir. Bu ikili ilaç 7+3 protokolü olarak bilinir. AML'li hastalara 7 gün sitarabin ve 3 gün daunorubicin verilir. Daunorubicinin ilk 3 gün veya son 3 gün verilmesi arasında fark yoktur. 7+3 protokolünde sitarabin 100 -200 mg/m²/gün 24 saat sürekli infüzyonla 7 gün; daunorubisin 45 mg/m²/gün damardan hızlı olarak 3 gün, verilir. 7+3 programında sitarabinin dozu ve veriliş şekli aynı olacak şekilde 12mg/m²/gün idarubisin 3 gün veya 12mg/m²/gün mitoxantron 3 gün verilebilir. Standart 7+3 programına tioguanin eklenmesine TAD protokolü adı verilir (Haznedar ve Yamaç 2003: 1917).

Tedavinin ilk hedefi tam remisyondur. Tam remisyon oranı %60– 85 arasındadır. Altmış yaş altı ve sekonder olmayan AML'de tam remisyon oranları %70–85 arasındadır. National Cancer Enstitüsü tam remisyonu; nötrofil sayısının mm³ 'te 1500'ün üstünde olması, trombosit sayısının mm³ 'te 100.000'in üzerinde olması, kemik iliği biyopsi veya aspirasyonunda %5'den az blast olması, Auer bady cisimciğinin olmaması ile birlikte en az %20 sellularite, extrameduller lösemik tutulumun olmaması ve bu kriterlerin en az 4 hafta veya intensifikasyon tedavisine

kadar sürmesi olarak tanımlamıştır. Bunun için redüksiyon terapisinden sonra 14. gün kemik iliği kontrolü ile tam remisyon kontrol edilir (Greer ve ark. 2004: 2098).

AML’li hastaların tedavisinde relaps oranı daha düşük olduğu için kemik iliği (K.İ.) transplantasyon tedavisinin, antilökomojenik tedaviye göre üstün olduğu düşünülür. Ancak K.İ transplantasyonunda graft-versus-host reaksiyonu ve enfeksiyon riski yüksek olduğundan mortalitesinin %45 ile %75'lere vardığı da bildirilmiştir (Fung ve Forman, 2003: 15).

2.2.11. Prognostik Faktör

AML’de tek bir faktör prognozu belirleyemez. Çok yaşlı ve çok genç olanlarda (infant, 2 yaş altı) prognoz en kötüdür (Brincker, 1985: 6). Hastanın performans statüsü ve serum albumini ile belirlenen klinik durumu olumlu etkiler. Öncesinde MDS, KML ve myeloproliferatif sendrom gibi kemik iliği hastalığı olan ve kemoterapi hikayesi olan AML’li hastalarda de-novo hastalarla kıyaslandığında düşük bir sağ kalım ve kemoterapiye daha az cevap vardır (Hoyle ve ark. 1989: 47).

Enfeksiyon ve trombositopeninin varlığı destekleyici tedavinin gelişmesi ile prognozda daha az önemli hale gelmiştir. Hiperlökositoz birçok seride kötü prognozla ilişkili olduğu halde, bu ilişki ALL’de olduğu kadar kuvvetli değildir (Vernant ve ark. 1979: 267).

İyi morfolojik özellikler Auer rodları (M1 –M4) ve eozinofilleri (M2, M4Eo) içerirken; eritrolösemi (M6), akut megakaryositik lösemi (M7) veya MDS’den gelişen AML’ler kötü prognozu gösterir (Hug ve ark. 1983: 775). M2’deki t(8;21) ve M4Eo’daki inv (16) iyi prognozu gösterir. M5’de daha yaygın olan extrameduller hastalık çok kötü prognozla ilişkilidir. Sitoredükiyon hızı akut promiyelositik lösemi dışında sağ kalımla ilişkilidir.

Sıklıkla kemik iliğinin aplazi açısından değerlendirilmesi tedavi başlangıcından 2 hafta sonra yapılmasına rağmen, çalışmalar bu değerlendirmenin 1 hafta sonra yapılmasının daha iyi bir prognoz göstergesi olduğunu söylemektedir (Billstrom ve ark. 1988: 275).

Yüzey markırlarının prognozdaki etkileri relaps sırasında sıklıkla antijen sunumu değiştiğinden çeşitlidir. CD34’ün sıklıkla kötü prognoz göstergesi olduğu

bilinmesine rağmen bazı çalışmalarda prognoza az etkisi olduğu gösterilmiştir. CD34, CD7 ile birlikte olduğunda, daha da önemlisi kötü sitogenetik özellikler olan kromozom 5 ve 7 anomalileri veya multi drug rezistans gen 1 (MDR 1) ile birlikte olduğunda daha da kötü prognozu gösterir. Yine CD34 ile birlikte t(8;21) veya inv(16) iyi prognoz göstergesidir. CD34, CD13, CD14 gibi bazı markırların yokluğu iyi prognoz işareti olabilir. HLA DR aktivitesinin APL’de görüldüğü gibi yokluğu iyi prognozla ilişkilidir. CD11 ve CD16 gibi lökosit fonksiyon antijenlerinin beraber bulunması ve erken ölüm arasında bir ilişki saptanmıştır (Greer ve ark. 2004: 2099).

Bir adezyon molekülü olan CD56 ekstrameduller hastalık gelişiminde tetikleyici rol oynar. Lenfoid markırların varlığı genellikle kötü prognozla ilişkilidir. Sitogenetik subgruplar prognozu en iyi tanımlar ancak iyi sitogenetik özellikler kötü klinik faktör ve yüzey markırları ile birlikte olduğunda kötü prognoz görülebilir. İnv(16)’da tam remisyon oranı yüksektir ancak, merkezi sinir sistemi tutulumu olduğunda orta prognoz gösterir. Kötü prognostik faktörler kromozom 5, 7, 3q 26 anomalileri ve kompleks karyotipleridir (Heim ve Mitelman, 1995). 11q23 anomalisi de kötü prognoz göstergesidir, ancak t(9;11)’li de novo genç hastalarda orta risk olarak kabul edilir. Trizomi 8 AML’de en sık rastlanan anomalidir. Orta riskli olmasına karşın sıklıkla kötü prognostik karyotiplerle birliktelik gösterir. MDR 1 geninin bulunması da yine kötü prognostik faktördür.

2.3. AML Ve Genetik İlişki

1. AML’li hastaların %15’inde t(8;21)(q22;q22) translokasyonu bulunur. olup, Bu translokasyon sonucunda AML1-ETO füzyon geni oluşur. FAB M2 alt tipinde yaygın olarak görülür.

2. AML’li hastaların %15’inde inv(16) veya t(16;16) görülür. Bu genetik dğişiklik sonucunda CBFB-MYH11 füzyon geni oluşur. CBFB-MYH11 kimerik proteini kemik iliğinde anormal eozinofillere ve miyelomonositik lösemiye neden olur.

3. Akut promiyelositik lösemilerde ise retinoik asit reseptör α geni (17q21 de RAR α geni) ve PML geni (15q21) dengeli translokasyon ile oluşur.

Bu moleküler anormalliklerin klinik önemi vardır. APML, trans-retinoik asit ile RAR α reseptörü bağlanarak tedavi edilebilir. AML1-ETO veya CBFB-MYH11

saptanması durumunda yüksek doz sitozin arabinozid tedavisi sonrası yüksek oranda uzun dönem remisyon görülür. Reseptör tirozin kinaz mutasyonları (FLT 3 ITD) pediatrik AML hastalarında daha kötü bir seyir gösterir (Margolin ve ark. 2002: 489; Lansowsky ve ark. 2000: 360).

Akut miyeloid lösemi (AML), yüksek moleküler heterojenite ile karakterize edilmiş bir hastalıktır. AML hastalarının yaklaşık üçte biri, iyi tanımlanmış kromozomal translokasyonlara sahiptir ve 2008 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) miyeloid neoplazmlarının sınıflandırılmasında "tekrarlayan genetik anormalliklerle AML" adı verilen ayrı bir hastalık türü olarak bu sınıflandırmaya dâhil etmiştir (Swerdlow ve ark. 2008).

Son on yılda Büyük AML grubunun altında yatan genetik lezyonların, tüm AML vakalarının % 40-50'sini oluşturan normal sitogenetik (CN-AML) ile daha iyi tanımlanması için büyük çaba gösterilmektedir. CN-AML ile ilişkili mutasyonlar arasında NPM1, FLT3, MLL, CEBPA, TET2, ASXL1, IDH1, IDH2, DNMT3A, RUNX1 ve diğer genleri etkileyen mutasyonlar bulunmaktadır (Takahashi ve ark. 2011)

Farklı biyolojik ve klinik özelliklerinden dolayı NPM1 mutasyonu bulunan AML, CEBPA mutasyonu bulunan AML , 2008 WHO sınıflamasında geçici maddeler olarak kabul görmüştür (Tibaldi ve ark. 2012).

Kanser genomlarının incelenmesine uygulanan yeni nesil dizileme teknolojilerinin artan kullanımı, CN-AML'nin moleküler özellikleri konusundaki bilgilerimize kayda değer bir katkı sağlamaktadır. IDH1 ve DNMT3A mutasyonlarının tanımlanmasından sonra, bu strateji yakın geçmişte, iki homolog genin, yani BCOR ve BCORL1'in, AML'de tekrarlayıcı mutasyonları keşfetmiştir (Grossmann ve ark. 2011; Li ve ark. 2011).

2.4. BCOR ve BCORL1 Genleri

AML'de BCOR ve BCORL1 mutasyonlarının keşfedilmesine yol açan stratejiler farklılık göstermektedir. Bilinen herhangi bir mutasyon bulunmayan CN-AML hastasının tüm ekzom dizileme ile BCOR geninde mutasyonlar saptanmıştır (Grossmann V, 2011). Li ve arkadaşları ise AML'de BCORL1'in mutasyonlarını keşfetmişlerdir (Li ve ark. 2011). Her iki çalışmada da, bu mutasyonlar daha sonra

AML hastalarının daha geniş serilerinde incelenmiştir (Grossmann ve ark. 2011; Li ve ark. 2011).

Tablo 6. BCOR ve BCORL1 genlerinin özellikleri

Gen	BCOR	BCORL1
Lokasyon	Kromozom X (Xp 11.4)	Kromozon X (Xp 26.1)
Ekzon adedi	15	13
Genetik sendromla bağlantısı	Okülo fasiyo-kardiyo-dental (OFCD) sendrom	Bildirilmemiş
Protein		
Uzunluğu	1755 aminoasit	1711 aminoasit
Hücre içi lokasyonu	Nükleus	Nükleus
Ekspresyonu	Bir çok dokuda yüksek seviyelerde	Birçok dokuda yüksek seviyelerde
Majör alanlar ve motifler	BCL6 bağlayıcı alan, MLLT3 bağlayıcı alan, tandem ankyrin tekrarları	TPB-1 bağlanma alanı, nükleer lokalizasyon sinyali (NLS), tandem ankyrin tekrarları, iki adet LXXLL motifi
Fonksiyon	Transkripsiyonel korepresör BCL6, I ve II sınıfı	Transkripsiyonel korepresör
İnteraksiyona girdiği proteinler	HDAC'ler, MLLT3, FBXL10/ JHDMIB, MLLT1/ENI, 2BTB5, SPI, 2BTB2, 2BTB7A/Pokemon	Sınıf II HDAC'ler, CTBP1

BCOR geni ilk olarak 2000 yılında BCL6 ile etkileşime giren korepresör olarak bulunmuştur (Khanh ve ark. 2000). BCOR polycomb group proteinlerin (PcG)

memeli homologlarının oluşturduğu komplekste yer alan bir proteindir. PcG ptoteinler *Drosophila Melanogaster*'de Hox genlerinin negatif düzenleyicisi olarak bulunmuştur (Cao ve ark. 2016).

BCOR-like1 (BCORL1) BCoR'nin bir homologudur. Transkripsiyon baskılayıcı protein olarak fonksiyon gösterir (Pagan ve ark. 2007).

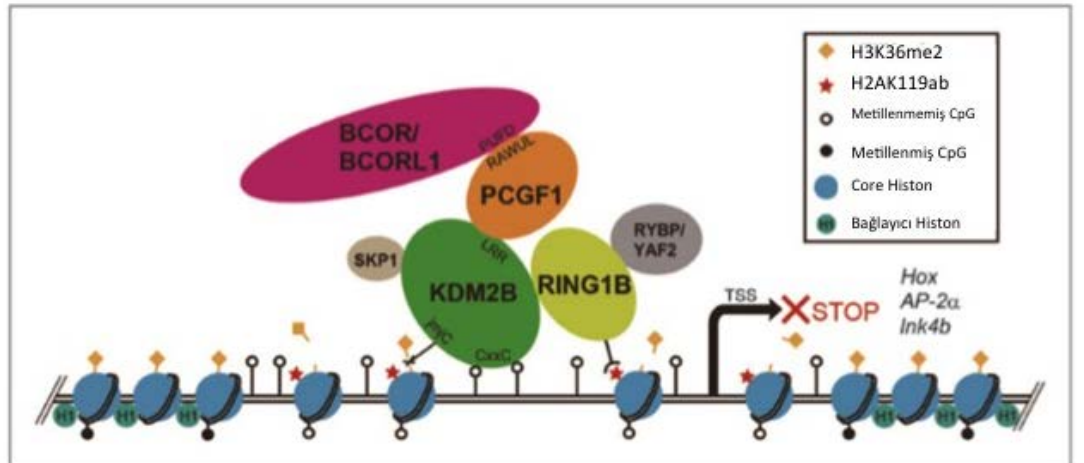
Bir hücrenin genel transkripsiyonel çıkışı, DNA'ya bağlı transkripsiyonel baskılayıcıların veya aktive edicilerin (Levine ve Tjian, 2003) faaliyetlerine veya gen ekspresyonunun aktivasyonuna bağlıdır. Koaktivatörler ve nükleer baskılayıcılar da dâhil olmak üzere kromatin yapısı ve hedef genlerin transkripsiyonunu düzenleyen çoklu protein katalitik kompleksleri sırasıyla genin harekete geçirilmesi veya baskılanmasına aracılık etmek için DNA'ya bağlı transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girer (Pagan ve ark. 2007). Farklılaşma, çoğalma, apoptoz ve hücre döngüsü gibi birçok işlemi düzenlerler (Jepsen ve Rosenfeld, 2002). Çekirdek baskılayıcıların anormal fonksiyonları gelişimsel kusurlara ve hastalıklara neden olabilir, çünkü kapatılması gereken genler anormal şekilde ifade edilir (Gabellini ve ark. 2003).

Alternatif olarak, aşırı aktif baskılanma, ve transkripsiyonel baskılayıcı genlerde translokasyonlarla oluşan gen füzyonları çeşitli lösemi türlerinde bildirilmiştir (Look 1997). Çekirdek baskıcının bu füzyon proteinlerine bağlanmasının artması, normal hücrel farklılaşma için önemli olan hedef genlerin uygunsuz baskılanmasına yol açar. Baskılayıcı DNA bağlayıcı proteinler, histon deasetilazlar, metil-CpG-bağlayıcı proteinler, nükleozomal histonlar ve bazal transkripsiyonel faktörleri içeren çoklu protein komplekslerinin yapısına katılırlar. Aynı korepressör, farklı çekirdek baskılama komplekslerinde bulunabilir. Korpressörlerin, DNA'ya bağlı transkripsiyonel baskılayıcılar ile kromatin modifiye edici enzimler arasında köprü kurduğu düşünülmektedir. Genellikle, kromatin yapısının hedefe yönelik modifikasyonu, nükleozomal yeniden modelleme ve bazal transkripsiyon mekanizmalarının tutulması ve bunun yanı sıra trans-aktivasyonu inhibe etme de dâhil olmak üzere birden fazla yolla hareket ederler (Jepsen ve Rosenfeld 2002).

Histonun kuyruklarının lizin asetillenmesi, transkripsiyonel aktivasyon ile ilişkili önemli bir değişikliktir ve bunun tersine deasetilasyon, transkripsiyonel baskılama ile ilişkilidir. Çekirdek histon kuyruklarının lizin kalıntılarının

asetilasyonunun, lizin kalıntısındaki pozitif yükü nötralize ettiği ve böylece histon ile DNA arasındaki azalmış afiniteyle daha açık bir kromatin yapısına neden olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla kromatin, transkripsiyon faktörleri ve diğer proteinler için daha erişilebilir hale gelir. Tersine, histon substratlarının deasetilasyonu kromatin yoğunlaşmasına neden olur ve transkripsiyon faktörlerinin ve diğer proteinlerin DNA'ya erişilmesini engeller (Pagan ve ark. 2007).

Memelilerde PcG protein homologları histon modifikasyonu ve kromatin yoğunlaşması yoluyla kök hücre sağkalımı, farklılaşma ve kanser gelişimi gibi birçok biyolojik süreçle ilişkilidir. Sırasıyla histon H2A lizin-119'da monoubiquitinyasyon (H2AK119ub) ve Histon H3 lizin-27'de metilasyon yoluyla represif histon modifikasyonlarını katalizleyen Polycomb repressive kompleks1 (PRC1) ve 2 (PRC2) iki ana PcG kompleksidir. Memelilerde en az 6 PRC1 kompleksi (PRC1.1-PRC1.6) vardır. Bunların hepsi farklı alt üniteleri içermekle beraber RING1A/B katalitik alt ünitesi hepsinde bulunur. BCOR, PRC1.1 kompleksinde bulunur. Bu komplekste yer alan diğer proteinler RING1A/B, PCGF1, RYBP/YAF2, SKP1 ve KDM2B'dir. PRC1'in biyolojik fonksiyonu yoğun olarak çalışılmaktadır. RING1B, ubiquitin E3 ligazdır ve H2AK119'nın monoubiquitinyasyonunu katalizler. PCGF1 ve KDM2B'nin bağlanması E3 ligaz aktivitesini stimüle eder. KDM2B, BCOR kompleksini metile olmamış CpG adalarına toplar. HOX gen promoterlarında lokalize olurlar (Yamamoto ve ark 2014).



Şekil 2. BCOR veya BCORL1'in yer aldığı PRC1 protein kompleksi (Yamamoto ve ark. 2014)

Cao ve arkadaşları myeloid hücrelerde BCOR'un fonksiyonunu bulmak için BCOR fonksiyon kaybı (loss-off function) ve overekspresyonlu myeloid kemirgen modelleri yapmışlardır. BCOR mutantların kemik iliği hücreleri yüksek HOX gen ekspresyonu ile birlikte proliferasyon ve myeloid farklılaşma gösterir (Cao ve ark. 2016).

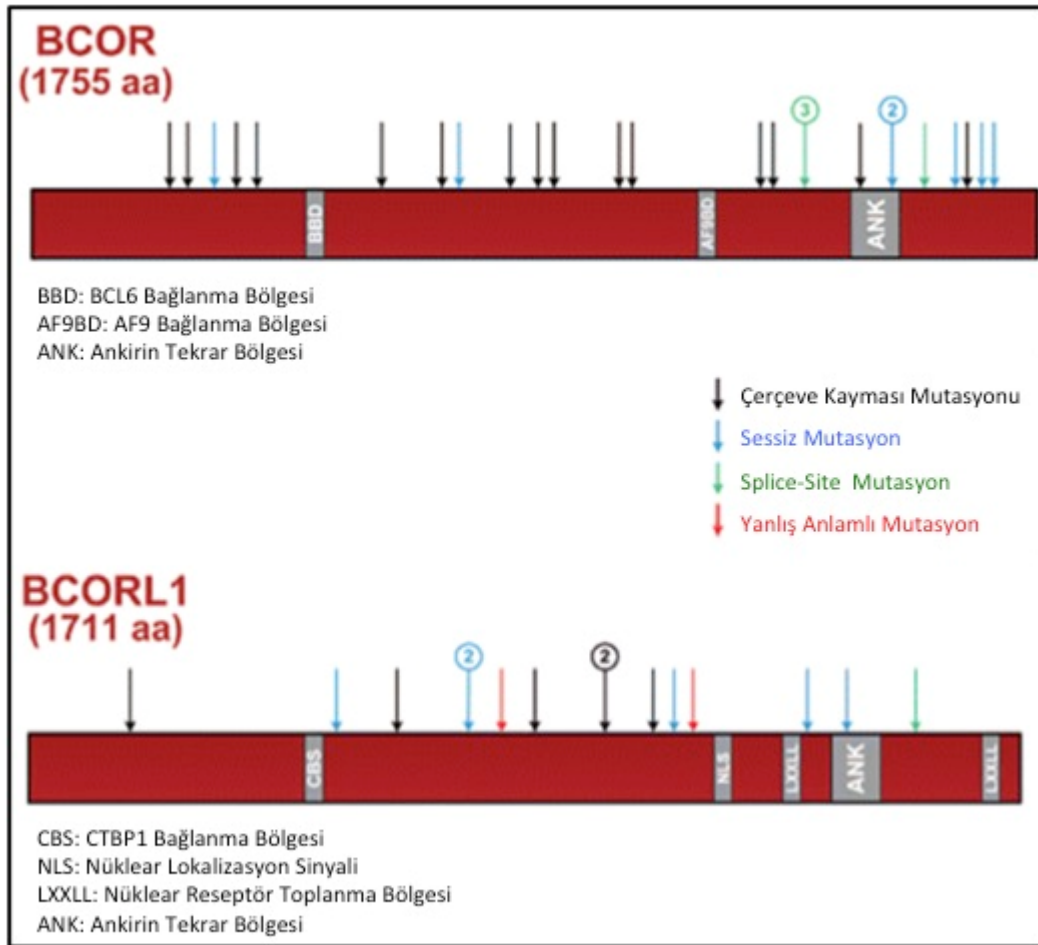
BCOR, RING1B protein birikimi ve H2A ubiquitinasyonunun düzenlenmesi yoluyla transkripsiyonun kontrolünü sağlayarak, hematopoetik hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasının düzenlenmesinde önemli rol oynar. BCOR'un epigenetik ve transkripsiyonel kontrol yoluyla myeloid hücrelerde HoxA gen kümesinin (HoxA5, HoxA7 ve HoxA9) baskılayıcısıdır. HOX genleri BCOR'un myeloid hücre çoğalmasını düzenlenmesinde aracı rol oynadığı gösterilmiştir. HOX genleri hematopoetik kök hücre kendini yenilenmesi için önemli role sahiptir. BCOR mutasyonu ile fonksiyon kaybı Hox genlerinin ekspresyon artışı yoluyla hematopoetik hücrelerin kök hücre yada progenitor hücrelerin çoğalması ile sonuçlanır (Yamamoto ve ark. 2014).

BCOR geninde germ-line mutasyonlarının ise Oculofaciocardiodental ve Lenz microphthalmia sendromuna neden olduğu gösterilmiştir (Khanh ve ark. 2000). OFCD sendromu X kromozomuna bağlı resesif kalıtılan bir hastalıktır. Etkilenmiş hastalarda köpek dişi kökleri oldukça uzundur, konjenital katarakt, kraniofasial defektler ve kardiyak hastalıklar bulunur. Oculofaciocardiodental sendromlu hastaların periferik kan lenfositlerinde mutant BCOR allelinin inaktive olduğu gösterilmiştir (Khanh ve ark. 2000).. Bu da BCOR'un normal hematopoez için gerekli olduğunu düşündürür. Farede BCOR'un primitif lenfoid ve eritroid hücrelerin farklılaşması için BCOR'un rolü olduğu gösterilmiştir (Cao ve ark. 2016).

AML'li erkek hastalarda tek X kromozomu üzerinde bulunan BCOR tek alleli mutasyona uğrar, kadın hastalarda ise mutasyonlar seçici olarak fonksiyonel allel'i hedef aldığı cDNA ile amplikon derin dizileme ile mutasyonlu BCOR allelin ifade olduğu gösterilmiştir. Bundan dolayı kadın hastalarda BCOR'un "single-hit" tumor baskılayıcı olduğu bildirilmiştir (Grossmann ve ark. 2013).

BCOR genindeki mutasyonlar nonsense, frameshift, delesyon, insersiyon, kırılma bölgesi mutasyonları şeklindedir. Mutasyonlar çoğunlukla proteinin karboksi

ucunda bulunur. Karboksi bölgesinde PCGF1/NSPC1 ve KDM2B ile ilişkisini sağlayan bölgededir (Tiachi ve ark. 2012).



Şekil 3. BCOR ve BCORL1 proteinlerinin domainleri (Tiachi ve ark. 2012)

Şekil 3’ de AML hastalarında meydana gelen mutasyonların yeri ve türü ile BCOR (üst) ve BCORL1 (alt) transkripsiyonel baskılayıcı genlerin şematik gösterimi yer almaktadır. Okların üzerindeki değerler, aynı eksonik lokasyondan veya aynı intronun eklenmesinden oluşan aynı tür mutasyonların birden fazla durumda var olduğuna işaret etmektedir. BCORL1 mutasyonları ayrıca, dört AML hücre dizisinde ve Jurkat T-

lenfoblastik lösemi hücre dizisinde bulunan beş mutasyonu içermektedir (Li ve ark. 2011).

BCORL1 baskılayıcı özelliği histon deasetilaz (HDAC) aktivitesi ile ilişkilidir. Özellikle, BCoR-L1, Sınıf II HDAC'ler, HDAC4, HDAC5 ve HDAC7'ye bağlanır ve bunların transkripsiyonel baskılayıcı rolüne katılırlar. BCoR-L1 aynı zamanda amino terminalinde bir CtBP ile etkileşen motif vasıtasıyla CtBP ile etkileşime girer. BCoR-L1 içindeki CtBP bağlanma bölgesinin kaybı, BCoR-L1 aracılı baskılamayı kısmen hafifletir. Bundan başka, BCoR-L1, bilinen bir CtBP düzenleyici promotörü olan E-kadherin promotörüne bağlanır ve E-kadherin promoter aktivitesini baskılar. BCoR-L1 RNA ekspresyonunun inhibisyonu, E-kadherini normalde eksprese etmeyen hücrelerde E-kadherin'in yeniden ekspresyonu ile sonuçlanır ve bu da BCoR-L1'in endojen CtBP hedeflerinin baskılamasına katkıda bulunduğunu gösterir (Pagan ve ark. 2007). BCORL1 histon kuyruklarında lizin asetilasyonunda rol oynayarak transkripsiyonel baskılanmaya neden olur (Pagan ve ark. 2007).

AML hastalarının %5,8'inde ve myelodisplazi ile ilişkili AML (AML-MRC) %9,1'inde ve MDS hastalarının %0,8'inde ve KMML hastalarının %1,9'unda BCORL1 mutasyonu gösterilmiştir (Jasminj ve ark. 2015; Li ve ark. 2011; Yin ve ark. 2016). BCORL1 mutasyonlarının klinik önemi bilinmemektedir. BCORL1 baskılanması Runx1 baskılanmış Lin- hücrelerin sekonder koloni oluşturma kapasitelerini ("replating capacity") arttırdığı gösterilmiştir. Bu da BCORL1'in miyeloid malignitelerde rolü olduğunu düşündürmektedir. Hepatoselüler kansinomda da mutasyonları gösterilmiş olan bu genin tümör baskılayıcı rol oynadığı ileri sürülmüştür (Yin G ve ark. 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kitler

Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche, 05081955001)

LightCycler 480 SYBR Green I Master (Roche, 04707516001)

3.2. Kullanılan Cihazlar

Buz Makinası (Cornelius)

Buzdolabı -80 °C (Thermo Scientific)

Buzdolabı +4 °C/-20 °C (Beko)

Distile Su Cihazı (Milipore)

Hassas Terazı (Kern)

İnkübatör (Thermo Electron Corporation)

Laminar Akışlı Steril Kabin (Nuanre)

Mikrodalga Fırın (Arçelik)

Mikroskop (Olympus)

Nanodrop 2000 Spektrofotometre (Thermo Scientific)

Otoklav (Sümer)

Pipet Seti (Gilson)

PZR Cihazı (Eppendorf, Mastercycler)

Real Time PZR (Light Cycler 480-II, Roche)

Santrifüj (Hettich)

Sıvı azot tankı (StateBourne)

Soğutmalı Masaüstü Santrifüj (Hettich)

Su Banyosu (Memmert)

Vi-cell Hücre Sayım Cihazı (Beckman Coulter)

Vorteks (Stuart)

3.3. Hasta Örnekleri:

İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı'na translokasyon analizi için başvuran hastalardan izole edilen RNA'lardan analizler tamamlandıktan sonra artan RNA örnekleri kullanıldı. Bu örneklerden 96'sı rastgele olarak çalışmaya dahil edildi.

Araştırma kapsamında olguların %41,7'si (n=40) kadın, %58,3'ü (n=56) erkekten oluşmaktadır. Yaş aralığı 4 yaş ile 88 yaş arasında olup yaş ortalaması $46,61 \pm 2,51$ 'dir. 17'si çocukluk çağı (17yaş altında), 79'u ise erişkin (18-88 yaş) AML olgusu idi.

3.4. Kontrol RNA:

Kontrol olarak Human Bone Marrow Total RNA (Clontech, USA cat no: 636591) kullanıldı. 22-85 yaş arasında olan 56 Asyalı erkek ve kadına ait kemik iliği örnekleri birleştirilerek elde edilen total RNA örneği kullanılmıştır.

3.5. Real-Time Kantitatif PCR

Gen Ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için hastalara ait RNA örneklerinden, cDNA sentezlendi ve ardından Kantitatif RT-PCR yöntemiyle gen ekspresyon düzeyleri belirlendi. Bunun için aşağıda belirtilen basamaklar uygulandı:

3.5.1. RNA miktar ve kalitesinin belirlenmesi:

Kontrol amaçlı örnkelerden 1ul alınarak 260nm. dalga boyunda nanodrop aletinde RNA konsantrasyonu ölçülerek, hesaplandı. Ayrıca %1'lik jelde yürütülerek, RNA miktarı ve degradasyon olup olmadığı kontrol edildi.

3.5.2. RT-PCR:

RT-PCR için cDNA sentez kiti kullanıldı. 20 µl. hacimde 1µg total RNA, son konsantrasyonları 5 µg/ml random primer, 1XRT-buffer, 0,5 mM. dNTP karışımı, 0.01 M. DTT, 2 U/µl. M-MLV revers transkriptaz enzimi olacak şekilde reaksiyon karışımı hazırlandı. PCR koşulları 70°C'de 10 dakika, 37°C'de 1 saat ve 99°C'de 5 dakika olarak uygulanarak, örneklerden cDNA elde edildi.

3.5.3. Real-time Kantitatif PCR ile Gen Ekspresyonu Analizi:

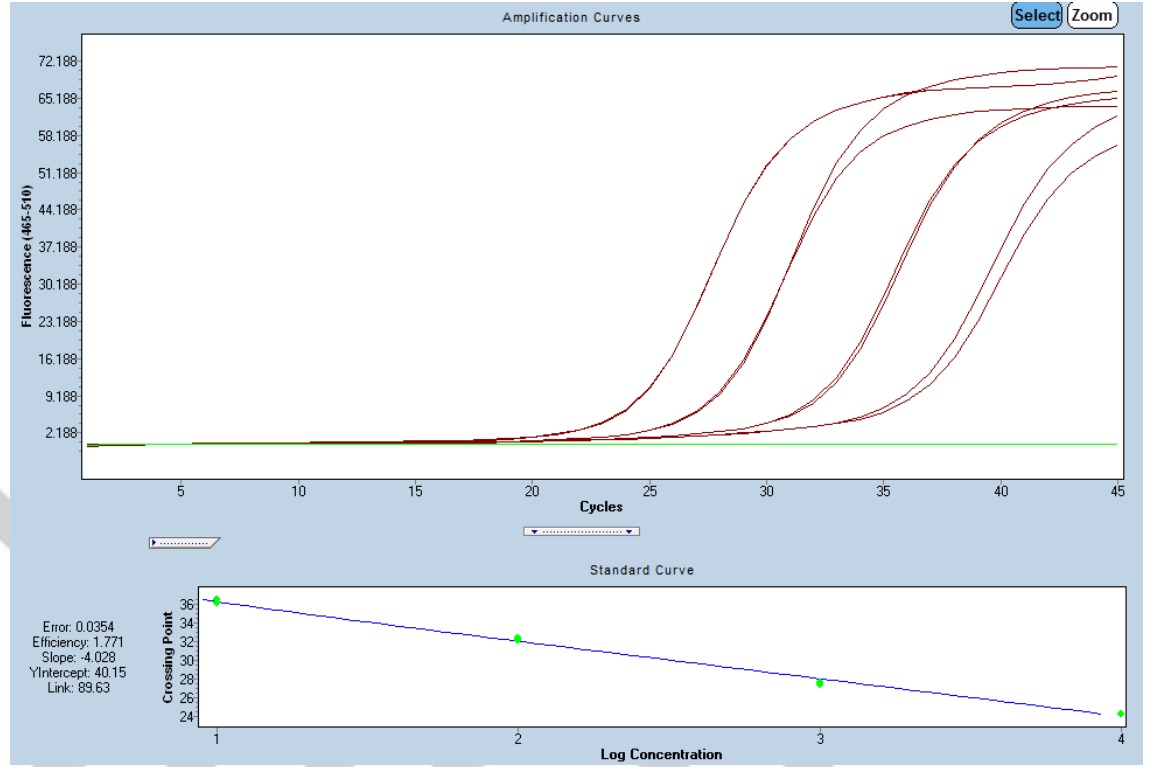
Kantitasyon için bölümümüzde mevcut olan real-time kantitatif PCR cihazı (LightCycler, Roche Diagnostics GmbH, Germany) kullanıldı. Örneklerdeki RNA kalite ve miktarının normalizasyonu için kontrol geni olarak, HPRT ve TBP kontrol genleri kullanıldı. Kantitatif PCR için BCOR, BCORL1 hedef genlerine spesifik primerler ve 18SrRNA genine spesifik primerler dizayn edildi (Tablo 7).

Tablo 7. Kullanılan primer dizileri ve PCR ürün boyutları

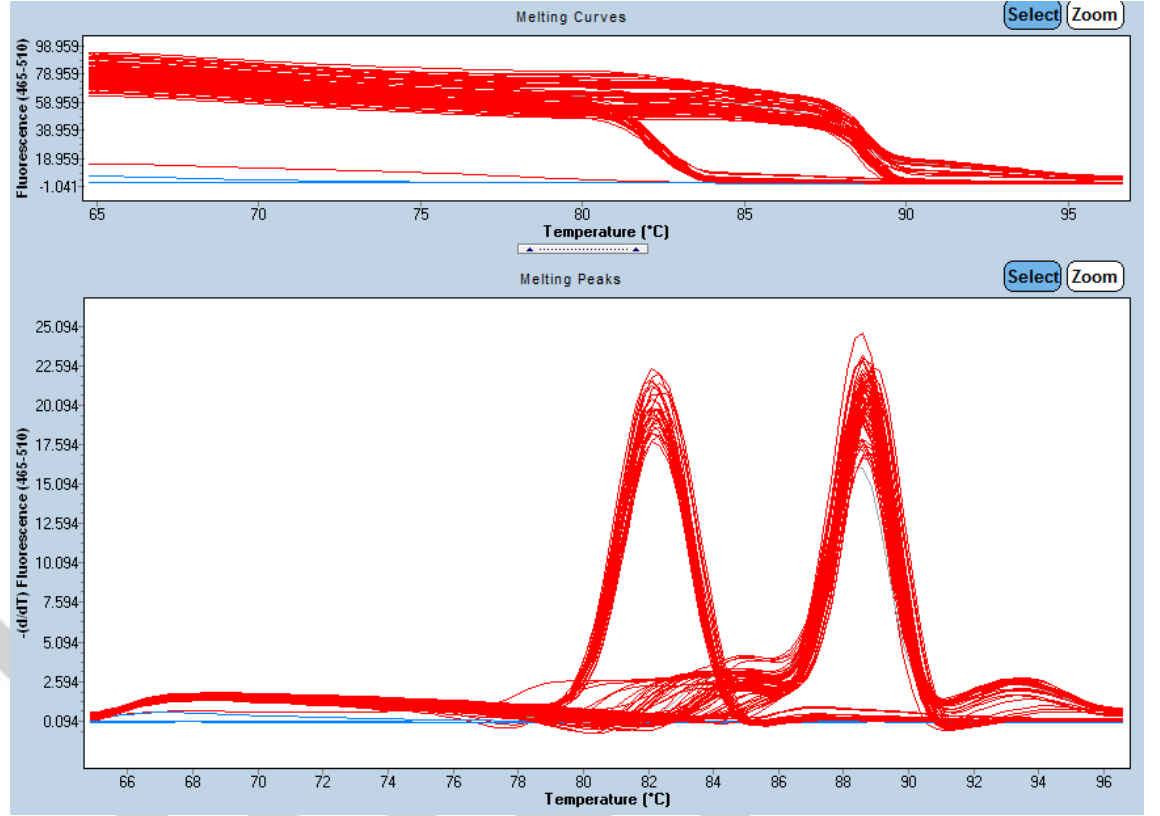
Gen Adı	Primerler	PCR Ürün Boyutu
BCOR	For: CCAAAGTCGGTCACCCTGG	90 bp
	Rev: GGGATCACGGTGCTTGTTC	
BCORL1	For: AGCCCTGCATGAGGCTTGTT	122 bp
	Rev: TGACCACCGCATCATGAACT	
18S rRNA (Kiselak ve ark. 2010)	For: GGCCCTGTAATTGGAATGAGTC	146 bp
	Rev: CCAAGATCCAACCTACGAGCTT	

PCR reaksiyonu için SYBR Green master kiti (Roche, Mannheim, Germany) ve 250ng. cDNA örneği kullanıldı. Öncelikle PCR koşulları 95°C’de 60 saniye (1 döngü) ön denatürasyondan sonra, 95°C’de 10 saniye, 64°C’de 5 saniye ve 72°C’de 20 saniye (45 döngü) olacak şekilde uygulandı. İyi sonuç alınamadığında deney sonuçlarına göre gerekli şekilde optimizasyon yapıldı. Amplifikasyonun ardından melting curve analizi için uygulanan program 95°C’de 0 saniye, 50°C’de 10 saniye ve 95°C’de 0 saniye (1 döngü) olarak uygulandı. Her PCR reaksiyonu için negatif kontrol olarak cDNA yerine su kullanıldı. Standartlar için seri dilusyonlar hazırlanarak, her dilüsyon ve her örnek çift olarak çalışıldı. Elde edilen hedef gen ekspresyon değerleri kontrol gen değerlerine bölünerek normalize edildi. Hastalarda ekspresyonda azalma veya tamamen ekspresyon kaybı olup olmadığı belirlendi. Örneklerle ait standart eğrisi ve 18SrRNA ve BCOR ve BCORL1 genlerine ait amplifikasyon eğrileri Şekil 4’de gösterilmiştir. Aynı örneklerle ait BCOR ve BCORL1 melting eğri analizi sonuçları da

Şekil 5’de gösterilmiştir. Şekil 5’deki gibi BCOR melting derecesi 82°C, BCORL1 melting derecesi ise 88,5°C’dir.



Şekil 4. Örneklerle ait amplifikasyon ve standart eğrileri



Şekil 5. Örneklerin melting eğri analizi sonuçları

3.6. İstatistiksel Analiz:

Araştırmada elde edilen veriler SPSS'20 istatistik programı ile analiz edilmiştir. Verilerin analizinde, demografik özellikler ile nitel kategorideki veriler için tanımlayıcı istatistik test yöntemlerinden yararlanılmış ve elde edilen bulgular ortalama ve yüzde (%) olarak tablolarda gösterilmiştir. Verilerin karşılaştırmasında, parametrik veriler için independent sample T testi ile parametrik olmayan verilerin karşılaştırmasında non parametrik test yöntemlerinden Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testleri kullanılmıştır. Veriler arasındaki korelasyon durumunu araştırmak amacıyla, Pearson ve Spearman's ve Pearson korelasyon testleri Nitel verilerin karşılaştırmasında korelasyon ve Ki-Kare testi uygulanmıştır. Tüm veriler tablolar ile gösterilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 96 AML olgusunun (40 kadın, 56 erkek) hepsinde BCOR ve BCORL1 ekspresyonu analiz edilmiştir. Olguların %41,7'si (n=40) kadın, %58,3'ü (n=56) erkektir (Tablo8).

Tablo 8. Cinsiyete göre dağılım

Cinsiyet	N-Oran(%)
Kadın	40 (%41,7)
Erkek	56(%58,3)
Toplam	96 (%100)

Olgular 4 yaş ile 88 yaş aralığında olup yaş ortalaması $46,61 \pm 2,51$ 'dir (Tablo 9). Lökosit sayısına ulaşabildiğimiz 71 olgunun lökosit sayıları 1100 ile 180.000 aralığında olup, ortalaması 23.884, ortancası 8700'dür (Tablo 9).

Tablo 9. Olguların Lökosit sayısı ile yaş ortalaması

	Sayı(N)	En az (Min)	En çok (Max)	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca (Median)
Lökosit sayısı	71	1100	180000	23884,89	$\pm 41142,66$	8700
Yaş	96	4	88	46,61		

Tablo 10'de olguların BCOR, BCORL1 ekspresyon değerlerine ilişkin bulgulara yer verilmiştir. Tabloda gösterildiği gibi 96 olgunun BCOR ekspresyon değerleri 0,04 ile 1,5 olup ortalama değeri 0,343'dür. Ortanca değeri ise 0,251'dir. Olguların BCORL1 ekspresyon değerleri ise 0,02 ile 0,73 arasında olup ortalama değeri 0,1757, ortanca değeri ise 0,1302'dir.

Tablo 10. Olguların BCOR ve BCORL1 ekspresyonları

	Sayı(N)	En az (Min)	En çok (Max)	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca (Median)
BCOR	96	0,04	1,5	0,343	$\pm 0,2621$	0,251
BCORL1	96	0,02	0,73	0,1757	$\pm 0,13775$	0,1302

Olguların BCOR ekspresyon değerleri ile lökosit sayısı ve cinsiyete göre farklılık olup olmadığını araştırmak amacıyla yapılan T testi ile BCOR ekspresyonu ile lökosit sayıları ve yaş arasında bir korelasyon olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan korelasyon testinin bulguları aşağıda Tablo 11 ve Tablo 12’de gösterilmiştir. Tablo 11’de gösterildiği gibi olguların cinsiyetlerine göre BCOR, BCORL1 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P=0,543$; $P=0,711$; $P=0,367$).

Tablo 11. BCOR, BCORL1, lökosit bulgularının cinsiyet ile karşılaştırması

	Cinsiyet	N	Ortalama	Std. Sapma $\pm$	Std.Ort.Hata $\pm$	P (Anlamlılık)
BCOR	Kadın	40	0,323	0,2261	0,0358	0,543
	Erkek	56	0,356	0,2862	0,0382	
BCORL1	Kadın	40	0,1819	0,15589	0,02465	0,711
	Erkek	56	0,1713	0,12447	0,01663	

Tablo 12’de gösterildiği gibi, olguların BCOR ile BCORL1 ekspresyonları arasında aynı yönlü anlamlı bir korelasyon olduğu ($P=0,000$) belirlenmiştir. Bu bulguya göre BCOR değerleri yükseldikçe BCORL1 değerlerinin de yükseldiği ya da BCORL1 değerleri yükseldikçe BCOR değerlerinin de yükseldiği ifade edilebilir. BCOR ile BCORL1 değerleri ile lökosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığı ($P=0,095$) belirlenmiştir. BCOR ile yaş arasında ters yönlü bir korelasyon olduğu ($r:-0,253$; $P=0,013$), yaş ile beraber BCOR ekspresyonunun düştüğü ifade edilebilir. BCORL1 ve lökosit sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığı belirlenmiştir ($P=0,277$; $P=0,203$).

Tablo 12. BCOR ve BCORL1 ekspresyonlarının, lökosit sayısı ve yaş ile karşılaştırması

	Korelasyon	BCOR	BCORL1	Lökosit	Yaş
BCOR	r	1	,673**	0,200	-0,253*
	P	.	0,000	0,095	0,013
	N	96	96	71	96
BCORL1	r	0,673**		0,143	-0,112
	P	0,000	.	0,235	0,277
	N	96	96	71	96
Lökosit	r	0,200	,143	1	-0,153
	P	0,095	,235	.	0,203
	N	71	71	71	71
Yaş	r	-0,253*	-0,112	-0,153	1
	P	0,013	0,277	0,203	.
	N	96	96	71	96

Çalışmaya dahil edilen olgularda t(15;17), t(8;21) ve inv(16) sıklıkları Tablo 13, Tablo 14 ve Tablo 15’de verilmiştir. Tablo 13’da gösterildiği gibi, olguların %85,4’ü (n=82) t(15;17) negatif, %14’ü (n=14,6) ise pozitifdir. Tablo 14’de gösterildiği gibi, olguların %89,4’ü (n=84) t(8;21) negatif, %10,6’sı (n=10) pozitifdir. Tablo 15’de gösterildiği gibi, olguların %95,7’si (n=90) inv(16) negatif, %4,3’ü (n=4) ise pozitifdir.

Tablo 13. t(15;17) sıklığı

t(15;17)	Sayı(N)	Oran(%)
Negatif	82	85,4
Pozitif	14	14,6
Toplam	96	100,0

Tablo 14. t(8;21) sıklığı

t(8;21)	Sayı(N)	Oran(%)
Negatif	84	89,4
Pozitif	10	10,6
Toplam	94	100

Tablo 15. inv(16) sıklığı

İnv(16)	Sayı(N)	Oran(%)
Negatif	90	95,7
Pozitif	4	4,3
Toplam	94	100

Tablo 16’da t(15;17), t(8;21) ve inv(16)’nın yaşa göre durumunu araştırmak amacıyla yapılan Kruskal Wallis test sonucuna ilişkin bulgulara yer verilmiştir. Araştırma kapsamındaki AML olgularının yaşları ile t(15;17), t(8;21) ve inv(16) pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (sırasıyla P=0,121; P=0,488 ve P=0,535).

Tablo 16. t(15;17), t(8;21) ve inv(16) ile yaş karşılaştırması

t(15;17)		N (Sayı)	Yaş Ortalaması 1	Std. Ort. Hata	Std. Sapma	P
Yaş	Negatif	82	50,8293	2,55737	23,15797	0,121
	Pozitif	14	21,9286	4,66747	17,46409	
t(8;21)		N (Sayı)	Yaş Ortalaması 1	Std. Ort. Hata	Std. Sapma	P
Yaş	Negatif	84	48,5476	2,70994	24,83701	0,488
	Pozitif	10	35,6000	6,04465	19,11486	
inv(16)		N (Sayı)	Yaş Ortalaması 1	Std. Ort. Hata	Std. Sapma	P
Yaş	Negatif	90	47,2778	2,61294	24,78856	0,535
	Pozitif	4	44,7500	10,30675	20,61351	

Olguların t(15;17), t(8;21), inv(16) pozitif veya negatif olma durumlarının cinsiyet ile anlamlı bir korelasyon göstermediği (sırasıyla P=0,464; P=0,536; P=0,724) anlaşılmıştır (Tablo 17)

Tablo 17. (15;17), t(8;21) ve inv(16) ile cinsiyet karşılaştırması

			Cinsiyet		Toplam	Ki-Kare (Sig-2 sided)
			Kadın	Erkek		
t(15;17)	Negatif	N	33	49	82	0,464
		%	40,2	59,8	100	
	Pozitif	N	7	7	14	
		%	50	50	100	
Toplam	N		40	56	96	
	%		41,7	58,3	100	
t(8;21)	Negatif	N	34	50	84	0,536
		%	40,5	59,5	100	
	Pozitif	N	5	5	10	
		%	50	50	100	
Toplam	N		39	55	94	
	%		41,5%	58,5	100,0	
inv(16)	Negatif	N	37	53	90	0,724
		%	41,1	58,9	100	
	Pozitif	N	2	2	4	
		%	50	50	100	
Toplam	N		39	55	94	
	%		41,5	58,5	100	

Tablo 18’de olguların FAB grupları gösterilmiştir. FAB grubu bilinen 57 olgudan 3’ünün (%3,1) FAB oranı M0, 4 olgunun (%4,2) FAB oranı M1, 12 olgunun (%12,5) FAB oranı M2, 15 olgunun (%15,6) FAB oranı M3, 14 olgunun (%14,6) FAB oranı M4, 5 olgunun (%5,2) FAB oranı M5, 2 olgunun (%2,1) FAB oranı M6, 2 olgunun (%2,1) FAB oranı M7’dir.

Tablo 18. Olguların FAB grupları

FAB	Sayı(N)	Oran(%)
M0	3	5,3
M1	4	7,0
M2	12	21,1
M3	15	26,3
M4	14	24,6
M5	5	8,8
M6	2	3,5
M7	2	3,5
Toplam	57	100,0

Tablo 19’de gösterildiği gibi araştırma kapsamındaki olgulardan M0, M3, M5, M6 ve M7 FAB grubundan olanlarda t(8;21) pozitif olgu bulunmamıştır. t(8;21) translokasyonu FAB M1 olan 4 olgunun birinde pozitif, M2 olan 12 olgunun 3’ünde pozitif ve M4 olan 14 olgunun 2’sinde pozitif bulunmuştur.

Tablo 19. FAB gruplarına göre t(8;21) pozitif olguların dağılımı

FAB	N/ %	t(8;21)		Toplam
		Negatif	Pozitif	
M0	N	3	0	3
	%	100	0	100
M1	N	3	1	4
	%	75	25	100
M2	N	9	3	12
	%	75	25	100
M3	N	14	0	14
	%	100	0	100
M4	N	12	2	14
	%	85,7	14,3	100
M5	N	5	0	5
	%	100	0	100
M6	N	2	0	2
	%	100,0	0	100
M7	N	2	0	2
	%	100,0	0	100
Toplam	N	50	6	56
	%	89,3	10,7	100

Çalışma grubundaki olgulardan FAB grubu M3 olan 15 olgunun 14'ü (%93,3) t(15;17) pozitifdir. M0, M1, M2, M4, M5, M6, M7 FAB grubunda olan olguların hepsi t(15;17) negatiftir (Tablo 20).

Tablo 20. FAB gruplarına göre t(15;17) pozitif olguların dağılımı

FAB	N/%	t(15;17)		Toplam
		Negatif	Pozitif	
M0	N	3	0	3
	%	100	0	100
M1	N	4	0	4
	%	100,0	0	100
M2	N	12	0	12
	%	100,0	0	100
M3	N	1	14	15
	%	6,7	93,3	100
M4	N	14	0	14
	%	100,0	0	100
M5	N	5	0	5
	%	100,0	0	100
M6	N	2	0	2
	%	100,0	0	100
M7	N	2	0	2
	%	100	0	100
Toplam	N	43	14	57
	%	75,4	24,6	100

Olgulardan M1 olan 4 olgunun 1'inde ve M4 olan 14 olgunun 2'sinde inv(16)'nın pozitif olduğu ve M0, M2, M3, M5, M6 ve M7 olanların olguların tümünün inv(16) negatif olduğu belirlenmiştir (Tablo 21).

Tablo 21. FAB gruplarına göre inv(16) pozitif olguların dağılımı

FAB	N/%	inv(16)		Toplam
		Negatif	Pozitif	
M0	N	3	0	3
	%	100	0	100
M1	N	3	1	4
	%	75	25	100
M2	N	12	0	12
	%	100	0	100
M3	N	14	0	14
	%	100	0	100
M4	N	12	2	14
	%	85,7	14,3	100
M5	N	5	0	5
	%	100	0	100
M6	N	2	0	2
	%	100	0	100
M7	N	2	0	2
	%	100	0	100
Toplam	N	53	3	56
	%	94,6	5,4	100

Tablo 22'deki gibi t(15;17), t(8;21) ve inv(16) pozitif olgularla negatif olan olgular BCOR ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır (sırasıyla P=0,481, P=0,480, P=0,480).

Tablo 22. BCOR ekspresyonunun t(15;17), t(8;21) ve inv(16) pozitif ve negatif olgular arasında karşılaştırması

BCOR	t, inv	N	Ort.±SOH	SS.	P
BCOR	t(15;17)				
	Negatif	82	0,324±0,024	0,2187	0,481
	Pozitif	14	0,449±0,12	0,4353	
BCOR	t(8;21)	N	Ort.±SOH	SS.	P
	Negatif				
	Pozitif	84	0,344±0,03	0,2699	0,480
BCOR	inv(16)	N	Ort.±SOH	SS.	P
	Negatif				
	Pozitif	10	0,325±0,06	0,1974	
BCOR	inv(16)	N	Ort.±SOH	SS.	P
	Negatif				
	Pozitif	90	0,337±0,03	0,2635	0,480
BCOR	inv(16)	N	Ort.±SOH	SS.	P
	Negatif				
	Pozitif	4	0,451±0,112	0,2369	

t(15;17), t(8;21) ve inv(16) pozitif olgularla negatif olan olgular BCORL1 ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır (sırasıyla P=0,481, P=0,480, P=0,480) (Tablo 23).

Tablo 23. BCORL1 ekspresyonunun t(15;17), t(8;21) ve inv(16) pozitif ve negatif olgular arasında karşılaştırması

BCORL1	t, inv	N	Ort.±SOH	SS.	P
BCORL1	t(15;17)				
	Negatif	82	0,1728±0,14	0,12496	0,568
	Pozitif	14	0,1926±0,05	0,20252	
BCORL1	t(8;21)	N	Ort.±SOH	SS.	P
	Negatif	84	0,1599±0,01	0,12023	0,451
	Pozitif	10	0,3006±0,06	0,20407	
BCORL1	inv(16)	N	Ort.±SOH	SS.	P
	Negatif	90	0,1707±0,01	0,13602	0,451
	Pozitif	4	0,2688±0,08	0,15053	

Kontrol ve hasta grubunun BCOR ve BCORL1 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (sırasıyla P=0,855; P=0,283) (Tablo 24).

Tablo 24. Kontrol ve hasta grubu arasında BCOR ve BCORL1 ekspresyon değerlerinin karşılaştırması

	Grup	N	Ort.±SOH	Std. Sapma	P
BCOR	Kontrol Grubu	56	0,279±0,04	0,1173	0,855
	Hasta Grubu	96	0,343±0,03	0,2621	
BCORL1	Kontrol Grubu	56	0,1102±0,02	0,05998	0,283
	Hasta Grubu	96	0,1757±0,01	0,13775	

Tablo 25’de araştırma kapsamındaki hasta grubu ve kontrol grubundaki olgulardan 18 yaş ve üstünde olan erişkin olguların BCOR ve BCORL1 ekspresyon değerlerine ilişkin bulgulara yer verilmiştir. Erişkin hasta grubundaki olguların BCOR ekspresyon değerleri kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($P=0,783$). Benzer şekilde hasta grubundaki erişkin olguların BCORL1 ekspresyon değerleri kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ($P=0,769$) belirlenmiştir.

Tablo 25. Erişkin AML hastalarında BCOR ve BCORL1 ekspresyon değerlerinin kontrol ile karşılaştırması

	Grup	N	Yaş Aralığı	Ort.±SOH	Std. Sapma	Median (Ortanca)	P
BCOR	Kontrol	56	22-85	0,265			0,783
	Hasta Grubu	79	19-88	0,329±0,03	0,2646	0,244	
BCORL1	Kontrol	56	22-85	0,1071			0,769
	Hasta Grubu	79	19-88	0,1829±0,02	0,14545	0,1356	

Tablo 26’de araştırma kapsamındaki 17 yaş altındaki çocukluk çağı AML hasta grubu ve kontrolde BCOR ve BCORL1 ekspresyon değerlerine ilişkin bulgulara yer verilmiştir. Çocukluk çağı AML hasta grubundaki olguların BCOR ekspresyon değerlerinin ortalaması kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ($P=0,829$) gösterilmiştir. Benzer şekilde hasta grubundaki 18 yaş altındaki AML olguların BCORL1 ekspresyonu değerlerinin ortalamasının kontrol ekspresyon değeri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ($P=0,788$) belirlenmiştir.

Tablo 26. Çocukluk çağı AML hastalarında BCOR ve BCORL1 ekspresyon değerlerinin kontrol ile karşılaştırması

	Grup	N	Yaş Aralığı	Ort.±SOH	Std. Sapma	Median (Ortanca)	p
BCOR	Kontrol	56	22-85	0,265			0,829
	Hasta Grubu	17	4-17	0,403±0,06	0,2486	0,330	
BCORL1	Kontrol Grubu	56	22-85	0,1071			0,788
	Hasta Grubu	17	4-17	0,1426±0,02	0,9008	0,1076	

BCOR ekspresyonunun AML hasta grubundaki 96 olgunun 45'inde (%46,9) kontrole göre arttığı, en fazla artışın 4,3 kat olduğu belirlendi. 30 olgunun (%31,3) kontrole yakın olduğu, 21 olgunun (%21,8) 2 katın üzerinde azalma gösterdiği bulunmuştur (Tablo 27).

Tablo 27. AML hastalarının kontrole göre BCOR ekspresyon durumu

BCOR Ekspresyon u	Olgu Sayısı (N)	Oran (%)	BCOR Ort.±SOH	Std. Sapma
Artan	45	46,9	0,543.±0,034	0,2588
Kontrole yakın	30	31,3	0,208.±0,01	0,0388
2 kat azalma	14	14,6	0,127.±0,01	0,0106
3 kat azalma	2	2,1	0,089.±0,01	0,0022
4 kat azalma	3	3,1	0,064	0,0040
5 kat azalma	1	1,0	0,051	.
6 kat azalma	1	1,0	0,043	.
Toplam	96	100	0,343.±0,03	0,2621

BCOR ekspresyonu kontrole göre 2 kat azalan 14 olgu vardır. Bu 14 olgunun yaşları 10 ile 74 arasındadır. BCOR ekspresyonu kontrole göre 3 kat azalan 2 olgunun bulunmaktadır ve bu iki olgu 50 ve 82 yaşındadır. 4 kat azalma olan 3 olgunun birinin yaşı 34 ve diğer ikisinin yaşı 81'dir. 5 kat azalma olan 67 yaşında bir olgu ve 6 kat azalma olan 16 yaşında bir olgu bulunmaktadır (Tablo 28).

Tablo 28. BCOR ekspresyonu kontrole göre azalan olgular ve yaşları

Olgu	BCOR	Azalma	Yaş
1.	0,11242938	2 kat	55
2.	0,11540013	2 kat	74
3.	0,12870249	2 kat	71
4.	0,10713178	2 kat	10
5.	0,11395833	2 kat	30
6.	0,13520249	2 kat	58
7.	0,13152455	2 kat	73
8.	0,13852814	2 kat	14
9.	0,12697201	2 kat	61
10.	0,14	2 kat	65
11.	0,135	2 kat	61
12.	0,125	2 kat	23
13.	0,13219178	2 kat	79
14.	0,13501401	2 kat	71
15.	0,08778195	3 kat	50
16.	0,09085714	3 kat	82
17.	0,06714754	4 kat	81
18.	0,066	4 kat	34
19.	0,05963303	4 kat	81
20.	0,05061627	5 kat	67
21.	0,04274354	6 kat	16
N=21 olgu (%21.8)			

Tablo 29’de gösterildiği gibi, BCORL1 ekspresyonunun AML hasta grubundaki 96 olgunun 55’inde (%57,3) kontrole göre arttığı, en fazla artışın 4,17 kat olduğu belirlendi. 35 olguda (%36,5) kontrole yakın olduğu, 6 olgunun (%6,2) 2 katın üzerinde azalma gösterdiği bulunmuştur (Tablo 29).

Tablo 29. AML hastalarının kontrole göre BCORL1 ekspresyon durumu

BCORL1 ekspresyonu	Olgu Sayısı (N)	Oran (%)	BCORL1/ Ort.±SOH	Std. Sapma	Yaş Ort. (En az-En çok yaş)
Artan	55	57,3	0,2513±0,019	0,13926	46,80 (7-88 yaş)
Kontrole yakın	35	36,5	0,080±0,003	0,01850	45,03 (4-86 yaş)
2 kat azalma	4	4,2	0,0486±0,002	0,00338	68,75 (61-82 yaş)
3 kat azalma	1	1	0,0332	.	34
5 kat azalma	1	1	0,0205	.	16
Toplam	96	100	0,1757±0,014	0,13775	46,61 (4-88 yaş)

Tablo 30’de BCORL1 ekspresyon değerinde azalma olan 6 olgunun azalma durumu ve yaşları verilmiştir. BCORL1 ekspresyonu kontrole göre iki kat azalan 4 olgunun yaşları 67, 61, 65 ve 82’dir. 3 kat azalma olan 34 yaşında bir olgu ve 5 kat azalma olan 16 yaşında bir olgu vardır.

Tablo 30. BCORL1 ekspresyonu kontrole göre azalan olgular ve yaşları

Olgu	BCORL1	Azalma	Yaş
1.	0,049712408	2 kat	67
2.	0,044834606	2 kat	61
3.	0,0527	2 kat	65
4.	0,047142857	2 kat	82
5.	0,0332	3 kat	34
6.	0,020477137	5 kat	16
N= 6 olgu (%6.2)			



5. TARTIŞMA

BCOR ilk olarak BCL6 transkripsiyon faktörüyle etkileşimi sayesinde bulunmuştur (Khanh ve ark. 2000). Diffüz büyük B hücreli lenfomada BCL6 fonksiyonu için önemli bir aracı molekül olduğu gösterilmiştir. Retinoblastom, medulloblastom, osteosarkom, hepatoselüler karsinomda BCOR'un tekrarlayıcı somatik mutasyonları görüldüğünden tümör baskılayıcı gen olduğu düşünülmüştür. Yeni nesil dizileme çalışmaları sayesinde AML (%3,8), miyelodisplastik sendrom (%4,2) ve kronik miyelomonositik lösemide (%7,4) BCOR'un somatic mutasyonları gösterilmiştir (Grossmann ve ark. 2011). BCOR mutasyonlarının kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda aplastik anemide de somatik BCOR mutasyonları gösterilmiştir.

BCOR'un homologu olan BCORL1 Xq25-26.1'da bulunur. BCORL1 aynı yönlü ankirin tekrarları ve CtBP ile etkileşim bölgesi içeren bir transkripsiyonel baskılayıcıdır. BCORL1 sınıflı histon deasetilazlarla ve CtBP ile etkileşir (Pagan ve ark. 2007). BCORL1 inaktive edici mutasyonlaarı mutasyonları AML'li hastaların %5,8'inde, myelodisplazi ile ilişkili AML'lilerin %9,1'inde, myelodisplastik sendromlu hastaların %0,8'inde ve kronik myelomonositik lösemili hastaların %1,9'unda bulunmuştur (Li ve ark. 2011; Jasmijn ve ark. 2015). BCORL1 mutasyonlarının prognostik önemi bilinmemektedir.

Aynı zamanda BCOR ve BCORL1'in kimerik füzyon transkripsiyonu bir çok kanserde gösterilmiştir (Peters ve ark. 2015; Specht ve ark. 2017).

BCOR polycomb grup proteinlerin insanda homologları ile protein kompleksi oluşturur. Gelişimde önemli fonksiyonları olan polycomb proteinleri Hox genlerinin düzenleyicisidir ve histon modifikasyonu ve kromatin yoğunlaşması ile birçok biyolojik süreçte rol oynar. Polycomb protein kompleksinin iki ana tipi PRC1 ve PRC2'dir. BCOR, PRC1.1'in yapısında yer alarak baskılayıcı histon modifikasyonlarında (H2AK119ub ve H3K27me) rol oynar (Yamamoto ve ark. 2014). BCOR gelişim için önemli bir gendir. X kromozomunda bulunan BCOR'un germ hücre heterozigot mutasyonları okulofasyokardiodental (OFCD) sendromuna neden olur (Khanh ve ark. 2000). OFCD sendromlu hastaların periferik kan lenfositlerinde de mutant BCOR allelinin olduğu X kromozomunun inaktivasyona uğradığı gösterilmiş ve normal

hematopoez için BCOR'un önemli fonksiyonu olduğu ileri sürülmüştür. Farelerde yapılan çalışmalarda eritroid ve lenfoid öncülerin farklılaşmasında önemli rolü olduğu göstermiştir. BCOR'un hematopoetik hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasında düzenleyici rol oynar. Hematopoez transkripsiyon faktörleri ve epigenetik düzenleyiciler ile hücre çoğalması ve farklılaşmasını kontrol eden hiyerarşik bir süreçtir. BCOR'un myeloid hücrelerin çoğalma ve farklılaşması için epigenetik düzenleyici mekanizmalarda rol oynadığı gösterilmiştir. Myeloid hücrelerde BCOR'un HoxA gen kümesi (HoxA5, HoxA7 ve HOxA9) baskıladığı gösterilmiştir. BCOR, öncü miyeloid hücrelerin artışına neden olarak, olgun myeloid hücrelerin üretimini de arttırmaktadır. BCOR fonksiyon kaybı olan hücrelerde eşlik eden mutasyonlarla farklılaşmanın engellenmesinin AML'ye neden olduğu ileri sürülmektedir (Cao ve ark. 2016).

AML'de BCOR ve BCORL1 genlerinin fonksiyon kaybına neden olan bir çok çalışma yapılmış olmasına rağmen, ekspresyon düzeyi çalışılmamıştır. Mutasyon bulunmayan hastalarda metilasyon, promoter bölge mutasyonuna veya baskılayıcı transkripsiyon faktörleri gibi nedenlere bağlı olarak ekspresyon azalması veya kaybı olması da söz konusu olabilir. Bundan dolayı bu tez çalışmasında AML hastalarında BCOR ve BCORL1 geni ekspresyon düzeylerini analiz etmeyi amaçladık.

Çalışmaya dahil edilen AML olgularının %41,7'si (n=40) kadın, %58,3'ü (n=56) erkekten oluşmaktadır. AML erkeklerde kadınlara göre daha sık görüldüğü bilinmektedir (Anak 2012). Çalışmamızda BCOR ve BCORL1 genlerinin ekspresyonun cinsiyete göre değişmediği bulundu ($P=0,543$; $P=0,711$). X kromozomunda yeralan bu iki gen için, kadınlarda bulunan iki X kromozomunda birinin inaktivasyonu nedeniyle erkeklerle eşit düzeyde eksprese edilmektedir. AML hastalarında BCOR ve BCORL1'in somatik heterozigot mutasyonları görülmektedir. AML'li erkeklerde tek BCOR ve BCORL1 alleli vardır. Kadın AML'li olgularda ise somatik mutasyondan fonksiyonel allel'in etkilendiği cDNA derin dizileme ile gösterilmiştir. Bundan dolayı erkeklerde de kadınlarda da "single hit" tumor baskılayıcı gen olduğu ileri sürülmüştür (Grossman ve ark. 2013)

BCOR ve BCORL1 ekspresyonu ile olguların lökosit sayısı arasında istatistiksel olarak bir ilişki belirlenmiştir ($P=0,095$; $P=0,235$).

AML olguları 4 yaş ile 88 yaş aralığında olup yaş ortalaması $46,61 \pm 2,51$ 'dir. 17'si çocukluk çağı (17 yaş altında), 79'u ise erişkin (18-88 yaş) AML olgusu idi. AML çocukluk çağına daha az sıklıkta görüldüğü için çalışma kapsamındaki çocukluk çağı olgu sayısı azdır. BCOR ekspresyonu ile yaş arasında ters yönlü düşük düzeyli bir korelasyon olduğu ($r: -0,253$; $P=0,013$), ileri yaştaki hastalarda BCOR ekspresyon değerlerinin daha düşük olduğu ifade edilebilir. BCORL1 ekspresyonunda ise yaşa bağlı olarak farklılık bulunmadı ($r: -0,112$; $P=0,277$).

Olguların BCOR ile BCORL1 ekspresyonları arasında aynı yönlü anlamlı bir korelasyon olduğu ($P=0,000$) bulunmuştur. AML olgularında BCOR değerleri yükseldikçe BCORL1 değerlerinin de yükseldiği ya da BCORL1 değerleri yükseldikçe BCOR değerlerinin de yükseldiği görülmektedir. Bu veriler X kromozomu üzerinde birbirine uzak bölgelerde bulunan BCOR ve BCORL1 ekspresyonunun enhancer gibi düzenleyici bölgelerinin ortak olabileceğini, aynı transkripsiyon faktörleri tarafından kontrol edilebileceğini veya birbirleri tarafından düzenlendiğini düşündürmektedir.

$t(8;21)$ M1, M2 ve M4 FAB gruplarından olan hastalarda gözlenmiştir. $t(15;17)$ translokasyonunun M3 FAB grubuna özgü olduğu bilinmektedir. Sonuçlarımızda da $t(15;17)$ pozitif olan tüm olgular ($n=14$) M3 FAB grubundandır. M3 FAB grubundan olan hastaların %93,3'ü $t(15;17)$ pozitif bulunmuştur. $inv(16)$ ise M1 ve M4 FAB grubunda görülmüştür. $t(15;17)$, $t(8;21)$ ve $inv(16)$ pozitif olgularla negatif olan olgular BCOR ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır (sırasıyla $P=0,481$, $P=0,480$, $P=0,480$). Aynı şekilde BCORL1 ekspresyonu açısından da $t(15;17)$, $t(8;21)$ ve $inv(16)$ pozitif olgularla negatif olan olgular karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır (sırasıyla $P=0,481$, $P=0,480$, $P=0,480$).

AML olgularında kontrole göre BCOR ve BCORL1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (sırasıyla $P=0,855$; $P=0,283$). Ayrıca BCOR ve BCORL1 ekspresyonunu erişkin (18 yaş ve üstü) ve çocukluk çağı (17 yaş altı) olgularında kontrole ayrı ayrı karşılaştırdık. Erişkin AML olguların BCOR ekspresyon değerlerinin ortalamasının (ort.: $0,329 \pm 0,03$), kontrole (ort.: $0,265$) göre hafif yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($P=0,783$). Benzer şekilde hasta grubundaki erişkin AML olgularının

BCORL1 ekspresyon değerlerinin ortalamasının (ort.: $0,1829 \pm 0,02$) kontrol (ort.: $0,107$) ile karşılaştırıldığında hafif yüksek olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ($P=0,769$) belirlenmiştir. Çocukluk çağı AML hasta grubundaki olguların BCOR ekspresyon değerlerinin ortalamasının (ort.: $0,403 \pm 0,06$) kontrolden ($0,265$) yüksek olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ($P=0,829$) gösterilmiştir. Benzer şekilde hasta grubundaki 17 yaş altındaki AML olguların BCORL1 ekspresyonu değerlerinin ortalamasının (ort.: $0,1426 \pm 0,02$) kontrol ($0,107$) ekspresyon değerine göre daha yüksek olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ($P=0,788$) belirlenmiştir. Bununla beraber sağlıklılardan kemik iliği örneği elde edilmesi çok zor olduğundan Clontech firmasından ticari olarak temin edilen havuz oluşturulmuş kemik iliği RNA örneği kullanılmış ve tek bir örnek olarak analiz edilmiştir. Bu durum AML hastalarındaki BCOR ve BCORL1 ekspresyonlarını kontrol ile karşılaştırırken yapılan istatistiğin güvenilirliğini azaltmaktadır. Bundan dolayı literatürde yapılmış çalışmalarda aynı zorluklarla karşılaşıldığı için genellikle kontrole göre hastalarda ekspresyon artış ve azalışları dikkate alınmaktadır. Bu nedenden dolayı çalışma sonuçlarını değerlendirirken ekspresyonun azalmasını beklediğimiz için hastalarda kontrole göre BCOR ve BCORL1 ekspresyonunda kaç kat azalma görüldüğünü analiz ettik. BCOR ekspresyonunun AML hasta grubundaki %21,8'inde ($n=21$) 2 katın üzerinde azalma (2-6 kat) gösterdiği bulunmuştur. Erişkin 79 AML olgusunun %22,78'inde ($n=18$), 17 çocukluk çağı AML olgusunun ise %17, 64'ünde ($n=3$) BCOR ekspresyonu azalmıştır. Yukarıda da belirtildiği gibi BCOR ekspresyonu yaşla beraber azalmaktadır. Bu yüzden erişkinlerde BCOR ekspresyon azalması daha çok görülmektedir. BCORL1 ekspresyonunun AML hasta grubundaki 96 olgusunun 6,2'sında ($n=6$) 2 katın üzerinde azalma gösterdiği bulundu. Erişkin 79 AML olgusunun %6,3'ünde ($n=5$), 17 çocukluk çağı AML olgusunun ise %5,88'inde ($n=1$) BCORL1 ekspresyonu azalmıştır. BCORL1 ekspresyon azalması çocukluk çağı ve erişkin AML'lerde aynı sıklıkta görülmektedir. Çalışmaya dahil edilen 96 örneğin hiçbirinde BCOR ve BCORL1 ekspresyon kaybı görülmemiştir. Bizim sonuçlarımızda da BCOR ve BCORL1'in tam fonksiyon kaybı olmaması ve her iki genin ekspresyonun da olgular arasında çok fazla değişkenlik (4 kattan fazla artış ve 6 kattan fazla azalma) göstermemesi hematopoetik hücreler için önemli fonksiyonu olduğunu desteklemektir. Bu özelliklerinden dolayı BCOR ve BCORL1 AML'de sitotoksik tedavi için hedef olabilir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar BCOR ve BCORL1 ekspresyonun birbiriyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Erişkin 79 AML olgusunun %22,78'inde, 17 çocukluk çağı AML olgusunun ise %17,64'ünde BCOR ekspresyonun 2 kattan fazla azaldığı belirlendi. BCOR ekspresyonu yaşla beraber azaldığı gösterildi. AML insidansının da yaşla beraber artması BCOR ekspresyon azalmasının hastalığa eğilim oluşturduğunu düşündürmektedir. BCORL1 ekspresyonu ise yaşa göre değişkenlik göstermediği, hem erişkin hem de çocukluk çağı AML olgularında yaklaşık olarak %6'sında 2 katın üzerinde azalma gösterdiği bulundu. Yapılacak yeni çalışmalarla BCOR ve BCORL1 ekspresyon azalmasının klinik açıdan öneminin belirlenmesi önem taşımaktadır.



KAYNAKLAR

- Anak, S., & Uysalol, E. (2012). Akut Miyeloid Lösemi (AML). *Journal of the Child/Cocuk Dergisi*, **12**,4.
- Appelbaum, F.R. (2004). The acute leukemias. In Goldman L, Ausiello D Eds). *Cecil Textbook of Medicine* 22th edition, Pennsylvania: Saunders; 1161.
- Atıcı, E. (2007). Tıp tarihinde kanser ve lösemi. *Türk Onkoloji Dergisi*, **22**(4), 197-204.
- Barnard, D. R., & Woods, W. G. (2005). Treatment-related myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia in survivors of childhood cancer—an update. *Leukemia & lymphoma*, **46**(5), 651-663.
- Billström, R., Nilsson, P. G., & Mitelman, F. (1988). Chromosomes, Auer rods and prognosis in acute myeloid leukaemia. *European journal of haematology*, **40**(3), 273-278.
- Brincker, H. (1985). Estimate of overall treatment results in acute nonlymphocytic leukemia based on age-specific rates of incidence and of complete remission. *Cancer treatment reports*, **69**(1), 5-11.
- Cao, Q., Gearhart, M. D., Gery, S., Shojaee, S., Yang, H., Sun, H., & Chen, Q. (2016). BCOR regulates myeloid cell proliferation and differentiation. *Leukemia*, **30**(5), 1155.
- de Rooij, J. D., van den Heuvel-Eibrink, M. M., Hermkens, M. C., Verboon, L. J., Arentsen-Peters, S. T., Fornerod, M., & Pieters, R. (2015). BCOR and BCORL1 mutations in pediatric Acute Myeloid Leukemia. *haematologica*, **100**(5), e194-e195.
- Deschler, B., & Lübbert, M. (2006). Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer*, **107**(9), 2099-2107.
- Dick, F. R., Armitage, J. O., & Burns, C. P. (1982). Diagnostic concurrence in the subclassification of adult acute leukemia using French-American-British criteria. *Cancer*, **49**(5), 916-920.

Fung HC, Forman SJ,(2003). Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult patients with acute myeloid leukemia. In: Laughlin MS, Lazarus HM, (Eds.). *Current clinical oncology: allogeneic stem cell transplantation*. Totowa: Humana Pres; 13–27.

Gabellini, D., Tupler, R., & Green, M. R. (2003). Transcriptional derepression as a cause of genetic diseases. *Current opinion in genetics & development*, (13)3, 239-245.

Geary, C. G. (2000). The story of chronic myeloid leukaemia. *British journal of haematology*, 110(1), 2-11.

Golub TR, Arceci RJ. (2002). Acute myelogenous leukemia. In: Pizzo P, Poplack D, eds. *Principles and practice of pediatric oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 661-662

Greer JP, Baer MR, and Kinney MC.(2004). Acute Myeloid leukemia in Adults. In: Greer JP, Foerster J, Kukes JN (Eds). *Wintrob's Clinical Hematology* 11th edition, Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2097–2141.

Grossmann, V., Tiacci, E., Holmes, A. B., Kohlmann, A., Martelli, M. P., Kern, W., & Trifonov, V. (2011). Whole-exome sequencing identifies somatic mutations of BCOR in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Blood*, 118(23), 6153-6163.

Haznedar R, Yamaç K. (2003). Akut lösemi. In İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal D. (Ed) *İç Hastalıkları*. Ankara: Güneş Kitabevi; 1900–1912.

Heim S, Mitelman F.(1995). Cancer cytogenetics, (2nd ed). New York: Wiley-Liss.

Hines, J. D., Oken, M. M., Mazza, J. J., Keller, A. M., Streeter, R. R., & Glick, J. H. (1984). High-dose cytosine arabinoside and m-AMSA is effective therapy in relapsed acute nonlymphocytic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 2(6), 545-549.

Hoyle, C. F., Bastos, M., Wheatley, K., Sherrington, P. D., Fischer, P. J., Rees, J. K. H., & Hayhoe, F. G. J. (1989). AML associated with previous cytotoxic therapy, MDS or myeloproliferative disorders: results from the MRC's 9th AML trial. *British journal of haematology*, 72(1), 45-53.

Hug, V., Keating, M., McCredie, K., Hester, J., Bodey, G. P., & Freireich, E. J. (1983). Clinical course and response to treatment of patients with acute myelogenous leukemia presenting with a high leukocyte count. *Cancer*, **52**(5), 773-779.

Huynh, K. D., Fischle, W., Verdin, E., & Bardwell, V. J. (2000). BCoR, a novel corepressor involved in BCL-6 repression. *Genes & development*, **14**(14), 1810-1823.

Jepsen, K., & Rosenfeld, M. G. (2002). Biological roles and mechanistic actions of co-repressor complexes. *Journal of cell science*, **115**(4), 689-698.

Jin, M., Xu, S., & An, Q. (2017). Pediatric haematopoiesis and related malignancies. *Oncology Letters*, **14**(1), 10-14. Erişim: 28.12.2017 <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2017.6106>

Kiselak, E. A., Shen, X., Song, J., Gude, D. R., Wang, J., Brody, S. L., & Zhang, Z. (2010). Transcriptional regulation of an axonemal central apparatus gene, sperm-associated antigen 6, by a SRY-related high mobility group transcription factor, S-SOX5. *Journal of Biological Chemistry*, **285**(40), 30496-30505.

Kızıldaş, A.(2008). Çocukluk Çağı Akut Lösemilerde Serum Fas Ve Fas Ligand Düzeyleri (Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı), Adana. 2-17.

Lanskowsky P. Leukemias. (2000). In: P. Lanskowsky (ed). *Manual of Pediatric Hematology and Oncology* 3rd ed. Churchill Livingstone, New York; 359-411

Levine, M., & Tjian, R. (2003). Transcription regulation and animal diversity. *Nature*, **424**(6945), 147.

Li, M., Collins, R., Jiao, Y., Ouillette, P., Bixby, D., Erba, H., & Malek, S. N. (2011). Somatic mutations in the transcriptional corepressor gene BCORL1 in adult acute myelogenous leukemia. *Blood*, **118**(22), 5914-5917.

Look, A. T. (1997). Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. *Science*, **278**(5340), 1059-1064.

Thiriet, M. (2013). *Tissue Functioning And Remodeling In The Circulatory And Ventilatory Systems, Biomathematical and Biomechanical Modeling of the Circulatory and Ventilatory Systems 5*. New York: Springer Science & Business Media.

Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. (2002). Acute Lymphoblastic Leukemia. In Margolin JF, Steuber CP, and Poplack DG, (Eds). *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 489-544.

Mayer, R. J., Davis, R. B., Schiffer, C. A., Berg, D. T., Powell, B. L., Schulman, P., ... & Frei, E. (1994). Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, **331**(14), 896-903.

McKEE Jr, L. C., & Collins, R. D. (1974). Intravascular leukocyte thrombi and aggregates as a cause of morbidity and mortality in leukemia. *Medicine*, **53**(6), 463-478.

Nazha, A., Zarzour, A., Al-Issa, K., Radivoyevitch, T., Carraway, H. E., Hirsch, C. M., & Kalaycio, M. (2016). The complexity of interpreting genomic data in patients with acute myeloid leukemia. *Blood cancer journal*, **6**(12), e510.

Pagan, J. K., Arnold, J., Hanchard, K. J., Kumar, R., Bruno, T., Jones, M. J., & Crossley, M. (2007). A novel corepressor, BCoR-L1, represses transcription through an interaction with CtBP. *Journal of Biological Chemistry*, **282**(20), 15248-15257.

Peters, T. L., Kumar, V., Polikepahad, S., Lin, F. Y., Sarabia, S. F., Liang, Y., Roy, A. (2015). BCOR-CCNB3 fusions are frequent in undifferentiated sarcomas of male children. *Modern Pathology*, **28**(4), 575-586. Retrived at: 01.10.2015 <http://www.nature.com/modpathol/journal/v28/n4/full/modpathol2014139a.html?foxtrotcallback=true>

Peterson, B. A., Brunning, R. D., Bloomfield, C. D., Hurd, D. D., Gau, J. A., Peng, G. T., & Goldman, A. I. (1987). Central nervous system involvement in acute nonlymphocytic leukemia: a prospective study of adults in remission. *The American journal of medicine*, **83**(3), 464-470.

Schwartz, C. L., & Cohen, H. J. (1988). Preleukemic syndromes and other syndromes predisposing to leukemia. *Pediatric Clinics of North America*, **35**(4), 853-871.

Specht, K., Zhang, L., Sung, Y. S., Nucci, M., Dry, S., Vaiyapuri, S., ... & Antonescu, C. R. (2016). Novel BCOR-MAML3 and ZC3H7B-BCOR Gene Fusions in Undifferentiated Small Blue Round Cell Sarcomas. *The American journal of surgical pathology*, **40**(4), 433-442. Retrived at: 01.04.2017 <http://europepmc.org/articles/pmc4792719>

Swerdlow S.H., et al (Ed.). (2008). In WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Acute Myeloid Leukemia With Recurrent Genetic Abnormalities. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC).

Tiacci, E., Grossmann, V., Martelli, M. P., Kohlmann, A., Haferlach, T., & Falini, B. (2012). The corepressors BCOR and BCORL1: two novel players in acute myeloid leukemia. *Haematologica* **97**(1): 3–5

Üskent N, Tercimer C,(2006). Akut lösemiler. In Aydın A, Topuz E. (Eds) *Onkoloji El kitabı*. İstanbul: Turgut Yayıncılık A.Ş; 531–542.

Ünüvar, A.(2006), *Akut Myeloblastik Lösemi*, retrieved at 17.04.2017 <http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/cilt20sayi2/aysegulunuvar.pdf>

Vardiman, J. W., Harris, N. L., & Brunning, R. D. (2002). The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood*, **100**(7), 2292-2302.

Vernant, J. P., Brun, B., Mannoni, P., & Dreyfus, B. (1979). Respiratory distress of hyperleukocytic granulocytic leukemias. *Cancer*, **44**(1), 264-268.

Yamamoto, Y., Abe, A., & Emi, N. (2014). Clarifying the impact of polycomb complex component disruption in human cancers. *Molecular cancer research*, **12**(4), 479-484. Retrieved at: 10.02.2014 <http://mcr.aacrjournals.org/content/12/4/479.short>

Yener N.(1973). Meme kanseri. *Ankara Hastanesi Dergisi*, **8**(1):5-13.

Yin, G., Liu, Z., Wang, Y., Dou, C., Li, C., Yang, W., ... & Tu, K. (2016). BCORL1 is an independent prognostic marker and contributes to cell migration and invasion in human hepatocellular carcinoma. *BMC cancer*, **16**(1), 103. Retrieved at 15.02.2016 <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-016-2154-z>

Yunis, J. J., Bloomfield, C. D., & Ensrud, K. (1981). All patients with acute nonlymphocytic leukemia may have a chromosomal defect. *New England Journal of Medicine*, **305**(3), 135-139.

Wang, M., Yang, C., Zhang, L., & Schaar, D. G. (2017). Molecular Mutations and Their Cooccurrences in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia. *Stem cells international*, retri ved at 19.01.2017 <https://www.hindawi.com/journals/sci/2017/6962379/abs/>

Wiernik PH. (1996). Diagnosis and treatment of adult acute myelocytic leukemia. In Wiernik PH, Canellos GP, Dutcher JP, Kyle RA, (Eds). *Neoplastic disease of the blood*. New York: Churchill Livingstone; 331–351.

Whittaker, J. A., Withey, J., Powell, D. E. B., Parry, T. E., & Khurshid, M. (1979). Leukaemia classification: a study of the accuracy of diagnosis in 456 patients. *British journal of haematology*, **41**(2), 177-184.

Woods, W. G. (2006). Curing childhood acute myeloid leukemia (AML) at the half-way point: Promises to keep and miles to go before we sleep. *Pediatric blood & cancer*, **46**(5), 565-569.

FORMLAR

GENETİK TANI AMAÇLI BAŞVURAN HASTALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

Burada attığım imza ile genetik testlerimin yapılması , materyalimin saklanması ve gereği halinde kimlik bilgilerim saklı kalmak koşulu ile elde edilen verilerin İ .Ü. DETAE Genetik AD tarafından organize edilen veya desteklenen bilimsel çalışmalarda kullanılmasını kabul ediyorum ve bu onayı verirken aşağıdaki bilgileri okuduğumu , anladığımı ve kabul ettiğimi de tasdik ediyorum.

(Bu belge 1 sayfadan oluşmaktadır)

NOT:

Zihinsel özürlü kişiler, bilinci kapalı olanlar ve reşit olmayan çocuklar için bu belge velisi veya vasisi tarafından doldurulacaktır . Kararınızdan önce aşağıdaki bilgileri lütfen okuyunuz.

Formu Okuyup İmzalayan Kişinin;

Adı ve Soyadı:

Hastaya Yakınlık Derecesi:

İletişim Bilgileri:

Tarih:

İmza:

Bilgilendiren Kişinin;

Adı ve Soyadı:

Tarih:

İmza

1. Kolunuzdan 10 (1 tüp) ml. kan alınması gerekmektedir. Bu kandan, DNA/RNA/ hücre elde edilecektir. Bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir. Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya kan alma bölgesinde morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

2.Tanı örneğiniz bölümümüze ulaştıktan sonra kayıt edilip, numaralandırılarak, kişisel bilgileriniz gizli tutulacak şekilde saklanmaktadır. Örneğin tanı amaçlı kullanımını;

Kabul ediyorum ☐

Kabul etmiyorum ☐

3. Alınan biyolojik örneklerden DNA/RNA/hücre materyaliniz izole edilerek saklanacaktır. Oluşturulan bu arşivde kişi isimleri kullanılmayacak, örnekler numaralı olarak korunacaktır.

4. Tanı örneğinizde istenen tetkikler tamamlandıktan ve yasal süre boyunca saklanacak şekilde arşivlenecektir. Tanı amaçlı yapılan analizler raporlandıktan sonra artan materyal hastalıkların genetiğini aydınlatmak ve tedaviye yönelik yeni hedeflerin belirlenmesini amaçlayan ve DETAE’de gerçekleştirilen bilimsel araştırma projelerinde kullanılabilir. Örneğinizin bilimsel çalışmalara dahil edilmesini

Kabul ediyorum ☐

Kabul etmiyorum ☐

5. Çalışma sonucunda tedaviye yönelik bir cevap elde edilmeyebilir. Ancak arzu ederseniz kişisel bulgularınıza ulaşma hakkına sahipsiniz. Örneğimde belirlenen bulguları öğrenmek

İstiyorum ☐

İstemiyorum ☐

6. Elde edilen genetik bilgiler şifre korumalı bir bilgisayar programında korunacaktır. Kişisel ve tıbbi bilgileriniz işyeri, eğitim kurumu ve sigorta şirketi gibi üçüncü şahıslara aktarılmayacaktır.

7. Araştırma sırasında genetik test sonuçlarının sizi ve ailenizi psikolojik veya diğer bir yönden etkileyeceğini düşünmeniz durumunda, araştırmadan isteğiniz üzere ayrılabilirsiniz.

8. Bu çalışmada sizden maddi bir beklentimiz olmadığı gibi size maddi bir katkısı da olmayacaktır.

9. Bu çalışmaya katılmayı reddedebilir ya da herhangi bir aşamada vazgeçebilirsiniz. Bu talebiniz, gelecekteki takip ve tedaviniz üzerine olumsuz etkisi olmayacaktır.

10. Gönüllü rızasına bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma harici bırakılabilirsiniz.

ETİK KURUL KARARI



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**



Sayı : 861

Konu : Doç. Dr. Sema Sırma EKMEKÇİ

Tarih : 27.06.2016

**Sayın Doç. Dr. Sema Sırma EKMEKÇİ
Genetik**

İlgi: Genetik Anabilim Dalının 22/06/2016 gün ve 230589 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Fatma Rengin COŞKUN' un yürüteceği 2016/827 dosya numaralı "Akut Myeloid Lösemide BCOR ve BCORL1 ekspresyonunun araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 24/06/2016 tarih ve 12 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar

Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu