

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ(ALL) OLGULARINDA
MLL GEN BÖLGESİNDEKİ YENİDEN
DÜZENLENMELERİN FLUORESAN İN SİTU
HİBRİDİZASYON(FISH) YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

FİGEN AYDOĞDU

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. AYHAN DEVİREN**

GENETİK ANABİLİM DALI/GENETİK PROGRAMI

İSTANBUL-2009

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

14 / 07 / 2009

Prof.Dr.Emine Kökoğlu ✓
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program Adı : Genetik Programı

Programın seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : Genetik Anabilim Dalı

Tez Sahibi : Figen Aydoğdu

Tez Başlığı : Akut lenfoblastik lösemi(ALL) olgularında MLL gen bölgesindeki yeniden düzenlenmelerin fluoreсан in situ hibridizasyon(FISH) yöntemi ile araştırılması

Sınav Yeri : İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.

Sınav Tarihi : 10.07.2009

Tez Sınav Jürisi

1.Doç.Dr.Ayhan Deviren(Tez Danışmanı), İstanbul Üniv., Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.

2. Prof.Dr. Seniha Hacıhanefioğlu(Tez İzleme Komitesi Üyesi), İstanbul Üniv., Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.

3.Prof.Dr. Turgut Ulutin(Tez İzleme Komitesi Üyesi), İstanbul Üniv., Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.

4.Prof.Dr. Kıvanç Cefle(Tez İzleme Komitesi Üyesi), İstanbul Üniv., İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD., Tıbbi Genetik BD.

5. Prof.Dr. Müjgan Cengiz(Tez İzleme Komitesi Üyesi), İstanbul Üniv., Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.

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.

Figen AYDOĞDU



İTHAF

Aileme...

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince, olanaklarından yararlandığım Tıbbi Biyoloji A.D. Başkanı Sn.Prof.Dr. Turgut Ulutin'e,

Genetik alanında sahip olduğu değerli bilgileri paylaşan, tez konumun belirlenmesi ve çalışmalarım sırasındaki yardımları ile büyük katkıda bulunan danışmanım Sn.Doç.Dr. Ayhan Deviren'e,

Tez süresince destek ve yardımlarını esirgemeyen Sn.Prof.Dr.Seniha Hacıhanefioğlu'na

Olguların temin edilmesindeki katkılarından dolayı Sn.Prof.Dr.Ömer Devecioğlu ve Sn.Prof.Dr. Zafer Başlar'a,

Sitogenetik ve FISH yöntemi ile ilgili tüm teorik ve pratik bilgileri ile deneyimlerini aktaran, yapılan analizlerin değerlendirilmesinde katkıda bulunan Sn.Dr.Dilhan Kuru, Sn.Dr.Ayşe Çırakoğlu, Sn.Dr.Şükriye Yılmaz ve Sn.Dr.Yelda Tarkan Argüden'e

Tüm çalışmaları beraber yürüttüğümüz Sn.Tıbbi Bio.Seda Eren'e

3 yıl boyunca beraber çalıştığımız tüm sitogenetik birimi elemanlarına,

Bu süre içerisinde bana her zaman destek olan aileme,

TEŞEKKÜR EDERİM...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-1465

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER \ KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XVI
ABSTRACT.....	XVII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.Lösemi.....	4
2.2.Akut Lösemiler.....	4
2.2.1.İnsidans.....	5
2.2.2.Etiyoloji.....	5
2.2.2.1.İyonize Edici Radyasyon.....	5
2.2.2.2.Kimyasal Karsinojenler.....	6
2.2.2.3.Viruslar.....	6
2.2.2.4.Genetik Faktörler.....	6
2.2.3.PatogeneZ.....	8
2.2.4.Lösemi Genetiği.....	8
2.2.4.1.Onkogenler.	8
2.2.4.1.1.Mutasyonlar.....	9
2.2.4.1.2.Gen Amplifikasyonları.....	9
2.2.4.1.3.Kromozomal Yeniden Düzenlenmeler.....	9
2.2.4.2.Tümör Baskılayıcı Genler.....	9
2.2.4.3.Diğer Genler.....	10
2.2.5.Klinik Özellikler.....	10
2.2.6.Laboratuvar Bulguları.....	14

2.2.7.Ayırıcı Tanı.....	15
2.3.Akut Lenfoblastik Lösemide Sınıflandırma.....	15
2.3.1.Morfolojik Sınıflandırma.....	15
2.3.1.1.FAB L1 Tip.....	16
2.3.1.2.FAB L2 Tip.....	16
2.3.1.3.FAB L3 Tip.....	16
2.3.2.Sitokimyasal Boyama.....	17
2.3.3.İmmünolojik Sınıflama.....	17
2.3.3.1.B Hücre Kaynaklı ALL.....	18
2.3.3.1.1.Pro B ALL (Pre-Pre B ALL, Erken Pre B ALL).....	18
2.3.3.1.2.Common ALL (Olağan ALL).....	18
2.3.3.1.3.Pre B ALL.....	18
2.3.3.1.4.Olgun B ALL.....	19
2.3.3.2. T Hücre Kaynaklı ALL.....	19
2.3.3.2.1.Pro T-ALL.....	19
2.3.3.2.2.Pre T-ALL.....	19
2.3.3.2.3.Kortikal T-ALL.....	19
2.3.3.2.4.Olgun T-ALL.....	19
2.3.4.WHO (World Health Organization-Dünya Sağlık Örgütü) Sınıflaması.....	20
2.3.4.1.Prekürsör B Hücreli Lenfoblastik Lösemi.....	21
2.3.4.2.Prekürsör T Hücreli Lenfoblastik Lösemi.....	21
2.3.4.3.Burkitt Lenfoma \ Lösemi.....	21
2.4.Akut Lenfoblastik Lösemide Kromozom Anomalileri.....	21
2.4.1.Kromozom Sayı Anomalileri	22
2.4.1.1.Yüksek Hiperdiploidi.....	22
2.4.1.2.Düşük Hiperdiploidi.....	23
2.4.1.3.Hipodiploidi.....	23
2.4.1.4.Haploide Yakın(Near-haploidi).....	23
2.4.1.5.Diploidi.....	23
2.4.1.6.Pseudodiploidi.....	23
2.4.2.Kromozom Yapı Anomalileri.....	25
2.4.2.1. t(9;22)(q34;q11).....	25
2.4.2.2. t(12;21)(p13;q22).....	25

2.4.2.3. t(1;19)(q23;p13).....	26
2.4.2.4. t(8;14)(q24;q32) ve Varyant Formları.....	26
2.4.2.5. 6q Anomalileri.....	27
2.4.2.6. 9p Anomalileri.....	27
2.4.2.7. 12p Anomalileri.....	27
2.4.2.8. İzokromozomlar.....	28
2.4.2.9. T-ALL'deki Kromozom Anomalileri.....	31
2.5.MLL (Mixed Lineage Leukemia / Myeloid- Lymphoid Leukemia) Gen Bölgesi...32	
2.5.1.t(4;11)(q21;q23).....	38
2.5.2.t(11;19)(q23;p13.3).....	39
2.5.3.t(9;11)(p22;q23).....	40
2.6.Kromozom Anomalilerini Belirlemede Kullanılan Yöntemler.....	40
2.6.1.Konvansiyonel Sitogenetik.....	40
2.6.1.1.GTL Bantlama.....	41
2.6.2.FISH (Fluoresan In Situ Hibridizasyon).....	42
2.6.3.Moleküler Genetik Yöntemler.....	44
2.7.Akut Lenfoblastik Lösemide Tedavi.....	45
2.7.1.Supportif(Destekleyici) Tedavi.....	45
2.7.2.Kemoterapi.....	45
2.7.2.1.İndüksiyon (Başlangıç) Tedavisi.....	45
2.7.2.2. Konsolidasyon(İntensifikasyon-Güçlendirme) Tedavisi.....	46
2.7.2.3. İdame Tedavisi.....	46
2.7.2.4.Relaps Tedavisi.....	46
2.7.2.5.MSS Profilaksisi ve Tedavisi.....	46
2.7.2.6. Testiküler Lösemi Tedavisi.....	47
2.7.3.Kemik İliği Transplantasyonu(KİT).....	47
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	48
3.1.Kullanılan Araç ve Gereçler.....	48
3.2.Kullanılan Çözeltiler.....	49
3.2.1.Kemik İliği Kültürü İçin Kullanılan Çözeltiler.....	49
3.2.2.GTL Bantlama İçin Kullanılan Çözeltiler.....	49
3.2.3.Fluoresan In Situ Hibridizasyon(FISH) Yönteminde Kullanılan Çözeltiler.....	49
3.2.3.1. 20xSSC Stok Solüsyonu.....	49

3.2.3.2. 2xSSC.....	50
3.2.3.3. 0,4xSSC.....	50
3.2.3.4. Alkolle Hazırlanan Çözeltiler.....	50
3.2.3.5. Rubber Solution(Yapıştırıcı).....	50
3.2.3.6. FISH Yönteminde Kullanılan Prob.....	50
3.2.3.6.1. MLL Breakapart Prob (Cytocell).....	50
3.3.Yöntem.....	51
3.3.1.Kemik İliği Kültürü.....	51
3.3.2.GTL Bantlama	52
3.3.3.Fluoresan In Situ Hibridizasyon(FISH) Yöntemi.....	52
3.3.3.1.Preparat Hazırlığı.....	52
3.3.3.2.Prob Hazırlığı.....	53
3.3.3.3.Denatürasyon.....	53
3.3.3.4.Hibridizasyon.....	53
3.3.3.5.Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar.....	54
3.4.Sonuçların Değerlendirilmesi.....	54
4. BULGULAR	55
5.TARTIŞMA	71
KAYNAKLAR	82
ETİK KURUL KARARI	92
ÖZGEÇMİŞ	93

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Sekonder olarak lösemi gelişen başlıca hastalıklar.....	7
Tablo 2-2: ALL’de tanı esnasındaki semptom ve bulguların sıklığı.....	11
Tablo 2-3: Akut lenfoblastik lösemide prognostik faktörler.....	13
Tablo 2-4: Akut lenfoblastik lösemide risk grupları.....	14
Tablo 2-5: Yetişkin ALL’deki immunfenotipik sınıflandırma.....	20
Tablo 2-6: ALL’de kromozom sayı ve yapı anomalilerinin prognozla ilişkisi.....	24
Tablo 2-7: Akut lenfoblastik lösemide görülen bazı kromozom yapı anomalileri...	29
Tablo 2-8: T-ALL’deki genetik anomaliler.....	32
Tablo 2-9: MLL geninin translokasyon yaptığı bazı genler ve fonksiyonları.....	37
Tablo 4.1: 25 ALL olgusunun GTL bantlama ve FISH analizi sonuçları....	56-57-58
Tablo 4.2: 25 olgudan alınan 33 materyalde gözlenen kromozom 11 anomalileri..	66

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: MLL geninin şematik yapısı.....	33
Şekil 2-2: MLL proteinin şematik yapısı.....	34
Şekil 2-3: MLL geninin translokasyon yaptığı genler ve kromozom yerleşimleri...	36
Şekil 2-4: t(4;11)(q21;q23).....	39
Şekil 2-5: t(11;19)(q23;p13.3).....	39
Şekil 2-6: t(9;11)(p22;q23).....	40
Şekil 2-7: FISH (Fluoresan In Situ Hibridizasyon).....	43
Şekil 3-1: MLL Breakapart Prob.....	51
Şekil 4-1: add(11q23) görülen çocukluk çağı ALL olgusuna (Olgu 2) ait karyotip örneği(1).....	59
Şekil 4-2: add(11q23) görülen çocukluk çağı ALL olgusuna (Olgu 2) ait karyotip örneği(1).....	60
Şekil 4-3: add(11q25) görülen erişkin ALL olgusuna(Olgu 6) ait karyotip örneği.	61
Şekil 4-4: Trizomi 11 görülen çocukluk çağı ALL olgusuna(Olgu 14) ait karyotip örneği(1).....	63
Şekil 4-5a: FISH yöntemi ile 2 adet füzyon sinyali saptanan metafaz plağı ve interfaz nukleusu.....	67
Şekil 4-5b: FISH yöntemi ile tetrazomi 11 saptanan Olgu 6.....	67
Şekil 4-6a: FISH yöntemi ile monozomi 11 ve MLL gen bölgesinde yeniden düzenlenme saptanan Olgu 11'e ait interfaz nukleusları.....	67
Şekil 4-6b: FISH yöntemi ile 2 füzyon sinyali ve sadece MLL geninin distaline ait sinyalin saptandığı Olgu 25'e ait interfaz nukleusu.....	67
Şekil 4-7: FISH yöntemi ile trizomi 11 saptanan Olgu 14'e ait interfaz nukleusları ve metafaz plağı.....	68
Şekil 4-8: FISH yöntemi ile monozomi 11 saptanan Olgu 15'e ait interfaz nukleusları.....	68
Şekil 4-9a: FISH yöntemi ile 2 füzyon sinyali ve sadece MLL geninin distaline ait sinyalin saptandığı Olgu 16'a ait interfaz nukleusu.....	69

Şekil 4-9b: FISH yöntemi ile 1 füzyon sinyali, MLL geninin proksimal ve distaline ait fazladan sinyallerin saptandığı Olgu 16'a ait interfaz nukleusu.....	69
Şekil 4-10a: FISH yöntemi ile 3 füzyon sinyali ve sadece MLL geninin distaline ait fazladan sinyallerin saptandığı Olgu 17'e ait interfaz nukleusu.....	69
Şekil 4-10b: FISH yöntemi ile 2 füzyon sinyali ve sadece MLL geninin distaline ait fazladan sinyalin saptandığı Olgu 17'e ait interfaz nukleusu.....	69
Şekil 4-11a: Bir interfaz nukleusunda 2 füzyon sinyalinin yanında MLL geninin distaline ait fazladan sinyallerin, diğer interfaz nukleusunda 2 füzyon sinyalinin yanında yeniden düzenlenmenin saptandığı Olgu 17'e ait interfaz FISH görüntüsü.....	70
Şekil 4-11b: FISH yöntemi ile 1 füzyon ve MLL gen bölgesinde yeniden düzenlenme saptanan Olgu 22.....	70
Şekil 4-12: FISH yöntemi ile 2 füzyon sinyali beraberinde tetrazomi 11 saptanan Olgu 7.....	70

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	: Akut Miyeloid Lösemi
ANLL	: Akut Nonlenfoid Lösemi
KML	: Kronik Miyeloid Lösemi
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi
MDS	: Miyelodisplastik Sendrom
EBV	: Epstein Barr Virus
HTLV-I	: Human T cell Leukemia Virus- I
HTLV-II	: Human T cell Leukemia Virus- II
GTP	: Guanozin Trifosfat
mSv	: milisievert
mm ³	: milimetre küp
FAB	: Fransız-Amerikan-British
MPO	: Miyeloperoksidaz
SB	: Sudan Black
PASS	: Periyodik-Aside-Schiff
AP	: Asid Fosfataz
NSE	: Nonspesifik Esteraz
TdT	: Terminal Deoksinükleotidil Transferaz
Fe	: Demir
CALLA	: Common ALL Antijen
CD	: Cluster of Differentiation
HLA	: Human Lökosit Antijen
Ig	: İmmunglobulin
MLL	: Mixed Lineage Leukemia / Myeloid- Lymphoid Leukemia
t	: translokasyon
WHO	: World Health Organization-Dünya Sağlık Örgütü
FISH	: Floresan In Situ Hibridizasyon
PCR	: Polimerase Chain Reaction\ Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RT-PCR	: Reverse Transkriptaz-Polimerase Chain Reaction

DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dup	: duplikasyon
p	: kromozomun uzun kolu
q	: kromozomun kısa kolu
i	: izokromozom
Ph	: Philadelphia
BCR	: Breakpoint Cluster Region
ABL	: Abelson
m-BCR	: minör-Breakpoint Cluster Region
kD	: kilodalton
M-BCR	: Majör-Breakpoint Cluster Region
kb	: kilobaz
ETV6	: ETS variant gene 6
TEL	: Translocation ETS Leukemia
CBFA2	: Core Binding Factor A2
PBX1	: Pre B cell leukemia homeobox 1
IGK	: İmmunglobulin kappa
IGL	: İmmunglobulin lambda
ER	: Estrojen Receptor
TCRA	: T Cell Receptor-Alpha
TCRB	: T Cell Receptor-Beta
TCRD	: T Cell Receptor-Delta
SET	: Su(var)3-9 Enhancer of zeste and Trithorax
lt	: litre
AF4	: ALL1 Fused Gene From Chromosome 4
AF6	: ALL1 Fused Gene From Chromosome 6
AF9	: ALL1 Fused Gene From Chromosome 9
AF10	: ALL1 Fused Gene From Chromosome 10
mRNA	: messenger Ribonükleik Asit
ENL	: Eleven-Nineteen Leukemia
GTL	: Giemsa-Tripsin-Leishmann
NOR	: Nükleer Organiser Region
HRB	: High Resolution Banding

c	: sentromer
ISCN	: International System for Human Cytogenetic Nomenclature
RNA	: Ribonükleik Asit
cDNA	: Komplementer Deoksiribonükleik Asit
BFM	: Berlin-Frankfurt-Münster
SSS	: Santral Sinir Sistemi
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
cGy	: SantiGray
ONC	: Over Night Colchicin
DAPI	: 4,6-Diamin-2- Fenil-İndol
KCl	: Potasyum Klorür
M	: molar
ml	: mililitre
gr	: gram
NaCl	: Sodyum Klorür
KH ₂ PO ₄	: Potasyum Fosfat
SSC	: Saline Sodium Citrate
µl	: Mikrolitre
UBE4A	: Ubiquitination Factor E4A
CDG3	: CD3 T hücre reseptörü kompleksi

ÖZET

Aydoğdu F. Akut Lenfoblastik Lösemi(ALL) Olgularında MLL Gen Bölgesindeki Yeniden Düzenlenmelerin Fluoresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi İle Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik AD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2009.

11q23 anomalileri ALL’lerde %7-10, AML’de ise %5-6 oranında görülmektedir. 11q23 anomalileri; çocukluk çağı ALL’lerinde %3-4 oranında görülürken, erişkinlerde %3-6 oranında görülmektedir.

Bu çalışmada; yeni tanı almış ve tedavi aşamasındaki 25 erişkin ve çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemili olgu ile çalışılmıştır. Bu olgularda kemik iliği kültürü yapıldıktan sonra, konvansiyonel sitogenetik incelemenin (GTL bantlama) beraberinde FISH yöntemi ile MLL gen bölgesindeki (11q23) yeniden düzenlenmeler araştırılmıştır. Konvansiyonel sitogenetik yöntem ve FISH yöntemi ile elde edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Yaptığımız çalışmada 25 olgunun 1’i erişkin(%8,33), 1’i çocuk(%7,69) olmak üzere 2’sinde GTL bantlama yöntemi ile 11.kromozomda yeniden düzenlenmeler tespit edilmiştir.

FISH yöntemi ile 25 olguda 33 materyalde yapılan FISH analizinin %24,25’inde 11q23 gen bölgesinde meydana gelen translokasyon beraberinde 11.kromozomla ilişkili delesyon ve kromozom sayı anomalileri tespit edilmiştir. Bu 8 olgunun %42,8’i çocukluk çağı ALL, %57,2’si erişkin ALL’dir.

25 olguda yapılan 33 FISH analizinin %27,28’inde FISH yöntemi ile sadece 11.kromozomla ilişkili kromozom sayı anomalileri tespit edilmiştir.

Yapılan analizlerin %6,06’sında genin distal ve proksimal ucuna ait fazladan sinyaller tespit edilmiştir. Bu olgulardan biri çocukluk çağı ALL, diğeri de erişkin ALL’dir.

FISH yöntemi ile 25 olguda yapılan 33 FISH analizinin %36,37’sinde 11.kromozomda delesyon ve beraberinde 11.kromozomla ilişkili kromozom sayı anomalileri tespit edilmiştir.

Analizlerin %3,03’ünde ise hem translokasyon hem de delesyon bir arada görülmüştür. %3,03’ünde ise translokasyon ve 11.kromozomla ilişkili kromozom sayı anomalileri beraber bulunmaktadır.

Yaptığımız çalışmada; hem GTL bantlama hem de FISH ile elde edilen oranlar, literatür ile karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur.

Ayırıcı tanı veya ön tanı için incelemenin uzun süre aldığı GTL bantlamanın beraberinde interfaz FISH yaparak, sadece MLL füzyonlarının incelenmesi ve hastalara kısa sürede sonuç verilmesini sağlayacak olan FISH yönteminin rutin incelemelerle uygulanabilmesi için ön çalışmaların yapılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda; tanının kısa sürede konması, tanının desteklenmesi, tedavi protokollerinin belirlenmesi ve hastalığın prognozunun değerlendirilmesi mümkün olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Akut lenfoblastik lösemi, MLL geni, sitogenetik, FISH, GTL bantlama

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-1465

ABSTRACT

Aydoğdu F. Research of Rearrangements in the MLL Gene Region by Fluorescence In Situ Hybridization(FISH) in Acute Lymphoblastic Leukemia(ALL) Cases. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Genetics. Master's Thesis. Istanbul. 2009.

11q23 anomalies in ALL cases are observed in the rate of %7-10, %5-6 in AML cases. 11q23 anomalies; in childhood ALL cases are observed between %3-4, in adults %3-6. In this study; 25 adults, who have been newly diagnosed and are in the stage of treatment, adult and childhood acute lymphoblastic leukemia have been studied. In these cases, after bone marrow culture, along with the conventional cytogenetic method (GTL banding), the rearrangements in MLL gene region (11q23) have been researched by FISH. Results, obtained from the conventional cytogenetic method and the FISH method, have been compared and evaluated.

Out of the 25 cases in our study, in 2 cases, one case is adult (%8,33), one case is child (%7,69) rearrangements have been detected in the chromosome 11 by GTL banding.

In the 33 FISH analysis, made by the FISH method in these 25 cases, in %24,25 along with a translocation, occurring in the 11q23 gene region, deletion related to the chromosome 11 and numerical chromosome anomalies have been detected. %42,8 of these 8 cases are childhood ALL, %57,2 are adult ALL.

In the 25 cases on which the 33 FISH analysis has been made, %27,28 by FISH only chromosome 11 related numerical chromosome anomalies have been found.

In %6,06 of the analyses performed, extra signals have been found in the distal and proximal end of gene. One of these cases is childhood ALL, the other is adult ALL.

In %36,37 of the 33 FISH analysis, made by the FISH method in 25 cases, deletion has been found in the chromosome 11 and numerical chromosome anomalies have been found related to the chromosome 11.

In %3,03 of the analyses both translocation and deletion has been observed simultaneously. In %3,03 of these translocation and chromosome 11 related numerical chromosome anomalies are found together.

In our study; rates, obtained by both GTL banding and FISH, have been high when compared to literature.

Research for a distinguishing diagnosis or pre-diagnosis takes a long time, along with the GTL banding, by making interphase FISH, examining only MLL fusions, preliminary studies are aimed in order to apply the FISH method to routine studies, which will insure a short time delivery of the results to the patients. According to this aim; diagnosing in a short time, supporting the diagnosis, determining the treatment protocols and evaluating the prognosis of the disease shall be possible.

Key Words: Acute lymphoblastic leukemia, MLL gene, cytogenetic, FISH, GTL banding

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: T-1465

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Lösemi, kan hücrelerinin sınırsız ve kontrolsüz bir şekilde bölünüp, çoğalması sonucu oluşan neoplastik bir hastalık grubudur. Lösemiler; morfolojik yönden, hastalığa tutulan hücre dizisinin tipine göre(miyeloid ya da lenfoid) ve proliferen olan kan hücresinin genç ya da olgunlaşmış olmasına göre(akut ya da kronik) sınıflandırılmaktadır(1).

Genç ve olgunlaşmamış hücrelerin neoplastik proliferasyonu sonucu “akut lösemi”, olgun hücrelerin proliferasyonu sonucunda ise “kronik lösemi” oluşmaktadır. Hücresel farklılaşma ve içerdiği hücre tipine göre akut lösemiler; akut miyeloid / nonlenfoid lösemi (AML/ANLL) ve akut lenfoblastik lösemi(ALL) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Kronik lösemiler; kronik miyeloid lösemi(KML) ve kronik lenfositik lösemi(KLL) olarak iki gruba ayrılmaktadır(1,2,3).

Lösemnin nedenleri henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir. Sitogenetik ve moleküler tekniklerdeki yeni gelişmelerle; genetik yatkınlık, radyasyon, kimyasal karsinogenler, bazı kalıtsal hastalıklar ve viral hastalıkların lösemiye yol açan nedenler arasında oldukları çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir(1,4,6).

Akut lösemiler; tüm kanser türlerinin %30'unu, lösemnin ise %80'ini oluşturmaktadır. ALL, yetişkinlerdeki lösemilerin yaklaşık %15'ini oluşturmaktadır. ALL, erkeklerde kadınlara oranla daha sık (erkek/kız oranı:1,2-1,3) görülmektedir. Yetişkinlerde ALL, daha çok 15-50 yaş aralığında görülürken, 70 yaş ve üzerinde en yüksek değerlere ulaşmaktadır. ALL, çocukluk çağında en sık görülen malignite olup, 1-4 yaş aralığındaki çocuklarda daha sık görülmektedir(1,4,5,6).

Akut lösemilerde, normal hematopoezin hangi aşamasında klonal yayılma olduğunu anlamaya yönelik sınıflandırma yapılmaktadır. Blastların morfolojik, immünofenotipik, sitokimyasal, sitogenetik ve moleküler özelliklerine dayanarak yapılan sınıflandırmalarda lösemilerin alt grupları belirlenmektedir. Günümüzde kullanılan FAB sınıflandırması; 1976 yılında Fransız, Amerikan ve İngiliz hematologları tarafından ortaya konmuş ve 1985'de modifiye edilmiştir. FAB(French-American-British) sınıflandırmasına göre; ALL, 3 sınıfa (L1,L2,L3) ayrılmaktadır. ALL'deki bu sınıflandırmada; hücrelerin büyüklüğü, nükleus şekli, nükleolus sayısı, nükleus-sitoplazma oranı, vakuol, sitoplazmanın bazofili derecesi gibi

özellikler esas alınmaktadır. 1970'lerde kullanılmaya başlayan immünolojik sınıflamada ALL; B hücreli(Pro-B, common-B, Pre-B, olgun-B) ve T hücreli(Pro-T,Pre-T, kortikal-T,olgun-T) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır(2,4,19,22).

Günümüzde; genetik alanındaki yeni gelişmelerin kullanılması ile ALL'de %90'ın üzerinde hastada kromozom anomalileri tespit edilebilmektedir. 46'dan fazla kromozoma sahip hücrelerin bulunduğu(hiperdiploidi) ALL olgularında prognoz daha iyi olduğu; 46'dan az kromozoma sahip(hipodiploidi) ALL olgularında ise prognoz daha kötü olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur(12,27,29).

Kromozom yapı anomalileri ALL'de sık olarak bulunmakta ve olguların yaklaşık %40'ında translokasyon tespit edilmektedir. Bu translokasyonların lösemi patogenezinde rol oynadığı ve bazılarının kötü prognozu olduğu bilinmektedir. Bu translokasyonlardan biri olan t(9;22)(q34;q31); çocukluk çağı ALL'de %5 oranında görülürken, yetişkin ALL'de bu oran %25'dir(31,32).

ALL'de ortaya çıkan kromozom yapı anomalilerinden biri de; MLL(myeloid lymphoid leukemia / mixed lineage leukemia) genine ait yeniden düzenlenmelerdir. MLL geni, 11q23 bölgesine lokalize olup; yaklaşık 100 kb uzunluğunda, 36 ekson içeren, 3968 aminoasitlik protein kodlayan bir gendir. MLL geni, Drosophila'daki trithorax geni ile homoloji gösteren dizilere sahiptir. MLL geni, Hox geninin ekspresyonunun regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Hematopoetik hücrelerde Hox geninin ekspresyon profilinin değişmesi, Hox proteinlerinin fazla miktarda eksprese olmasına ve lösemilere özgü tablonun oluşmasına neden olmaktadır(7,35,39,42,48,49,46).

11q23 anomalileri; çocukluk çağı ALL'lerinde %3-4 oranında görülürken, erişkinlerde bu oran %3-6 olarak bildirilmiştir(35,56).

MLL genindeki yeniden düzenlenmeler, 5. ve 11. ekson arasındaki 8.3 kb'lık kırılma bölgesinde meydana gelmektedir. MLL geni, 87 adet farklı gen ile yeniden düzenlenme yapabilmektedir. Translokasyon yaptığı genlerin 52'si moleküler analizler ile belirlenmiştir. En iyi bilinen translokasyonlar; t(4;11)(q21;q23), t(6;11)(q27;q23), t(9;11)(p21;q23), t(10;11)(p12;q23), t(11;19)(q23;p13,3)'dır(35).

Lösemilerde meydana gelen kromozom anomalilerinin analizi; lösemi tipinin belirlenmesinde, remisyon ve relaps durumlarında hastalığın prognozunu anlaşılmada ve minimal residual hastalığın takibinde önemli rol oynamaktadır.

Konvansiyonel sitogenetik yöntemde, kemik iliği aspirasyon materyalinden genellikle az sayıda ve düşük kalitede metafaz plakları elde edilmektedir(8,31).

FISH yöntemi, nükleik asit problemlerinin hücresel veya kromozom preparatlarındaki denatüre edilmiş DNA veya RNA ile hibridizasyonuna dayanan bir tekniktir. Bu yöntemle; metafaz plaklarının yanında interfaz nükleuslarının da incelenebilmesi, konvansiyonel yöntemden daha kısa sürede sonuç verilmesini sağlamaktadır(8,81).

Bu çalışmada; yeni tanı almış ve tedavi aşamasındaki 25 erişkin ve çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemili olgu ile çalışılmıştır. Bu olgularda kemik iliği kültürü yapıldıktan sonra, konvansiyonel sitogenetik incelemenin(GTL bantlama) beraberinde FISH yöntemi ile MLL gen bölgesindeki(11q23) yeniden düzenlenmeler araştırılmıştır. Konvansiyonel sitogenetik yöntem ve FISH yöntemi ile elde edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Amacımız; ayırıcı tanı veya ön tanı için incelemenin uzun süre aldığı, sonuçların 1-2 ay gibi uzun bir sürede verildiği GTL bantlamanın beraberinde interfaz FISH yaparak, sadece MLL füzyonlarının incelenmesi ve hastalara kısa sürede sonuç verilmesini sağlayacak olan FISH yönteminin rutin incelemelerle uygulanabilmesi için ön çalışmaların yapılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda; tanının kısa sürede konması, tanının desteklenmesi, tedavi protokollerinin belirlenmesi ve hastalığın prognozunun değerlendirilmesi mümkün olacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Lösemi

Lösemiler, hematopoetik(kan yapan) kök hücrelerin malign transformasyonu sonucu gelişen, neoplastik bir hastalık grubudur(1). Lösemik hücreler kontrolsüz bir şekilde bölünüp, çoğalarak kendi hücre serilerini yaratmakta ve hatalı olarak farklılaşmaktadırlar(2).

Lösemiler; morfolojik yönden, hastalığa tutulan hücre dizisinin tipine göre (miyeloid ya da lenfoid) ve proliferen olan kan hücresinin genç ya da olgunlaşmış olmasına göre(akut ya da kronik) biçiminde sınıflandırılmaktadır(1).

Akut lösemiler, genç ve olgunlaşmamış hücrelerin neoplastik proliferasyonu sonucu oluşmaktadır. Hücresel farklılaşma ve içerdği hücre tipine göre akut lösemiler, akut miyeloid / nonlenfoid lösemi(AML/ANLL) ve akut lenfoblastik lösemi(ALL) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır(1,2,3).

Kronik lösemiler, kemik iliğindeki primitif pluripotent kök hücrenin neoplastik bir hastalığıdır. Akut lösemidekinin aksine, lösemi hücreleri farklılaşma yeteneklerini kaybetmemişlerdir. Hücresel farklılaşma ve içerdği hücre tipine göre kronik lösemiler, kronik miyeloid lösemi(KML) ve kronik lenfositik lösemi(KLL) olarak iki gruba ayrılır(1).

2.2.Akut Lösemiler

Yunanca “beyaz kan” teriminden gelen “lösemi” ismi Alman patolog Virchow tarafından ortaya konmasına rağmen “akut lösemi” terimi 1889’da Epstein tarafından kullanılmıştır(2).

Akut lösemi, normal lenfoid ve miyeloid ana hücrelerin hematopoezin spesifik bir evresinde durması ve klonal yayılması(ekspansiyonu) sonucu oluşan malign bir hastalıktır. Bu lösemik klon hücreleri hem kemik iliğinin, normal ilik hücre popülasyonunu baskılayarak ve yerini alarak hem de ekstramedüller bölgede hematojen yayılarak akut lösemilere özgü tabloyu oluşturmaktadır(3).

2.2.1.İnsidans

Akut lösemiler tüm kanser türlerinin %30'unu, löseminin ise %80'ini oluşturmaktadır. ALL daha sık çocuklarda görülmekle birlikte, yetişkinlerde de ALL'ye rastlanmaktadır. Yıllık insidans Avrupa'da 2-4/100.000 olarak belirlenmiştir. 15 yaş altındaki çocuklarda görülen akut lösemilerin %80'i ALL, erişkinlerde görülen akut lösemilerin %80'ini AML oluşturmakla birlikte bölgesel ve coğrafik farklılıklar gösterebilmektedir. ALL, beyaz ırkta sarı ve siyah ırka göre; erkeklerde kızlara göre (erkek/kız oranı: 1,2-1,3) daha sık saptanır. ALL, 1-4 yaş aralığındaki çocuklarda daha sık görülmekle birlikte, yetişkinlerde ise 15-50 yaş aralığında görülmektedir. 70 yaş ve üzerinde en yüksek değerlere ulaşmaktadır(1,4,5,6,7,8,9).

2.2.2.Etiyoloji

Lösemilerin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, multifaktöriyel oldukları düşünülmektedir(4). İyonize edici ışınlar, kimyasal karsinojenler, viruslar ve genetik faktörlerin lösemi gelişiminde sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca cinsiyet, yaş ve ırk löseminin bilinen diğer risk gruplarındandır(1,4).

2.2.2.1.İyonize Edici Radyasyon

İyonize edici radyasyonun etiyolojideki rolü, tanı ve tedavi amacıyla ışın alan ya da atom bombasının etkisinde kalan bireylerin incelenmesiyle ortaya konmuştur. Tedavi amacıyla radyasyon alan hastalarda akut lösemi riskinde hafif bir artış olabilmekte, ancak alkilleyici ajanlarla birlikte radyoterapi uygulanmasının akut lösemi riskini arttırdığı bildirilmektedir(1).

Japonya'da atom bombası patlamalarından sonra yaşayanlarda akut lösemi insidansı artmıştır. Hiroşima'da AML ve KML insidansında 30 kat artış olduğu gözlenmiştir. Çernobil kazasında 10 mSv(milisievert)ten fazla radyasyona maruz kalanlarda ALL riski artmıştır(1,2).

Doğum öncesinde X-ışınlarına maruz kalan bebeklerde lösemi insidansı riskinin 1,5 kat arttığı bildirilmektedir(4).

2.2.2.2.Kimyasal Karsinojenler

İnsanda karsinojen etki yapan çeşitli kimyasal maddeler(benzen ve metabolitleri, fenol, hidrokinon, katekol, benzenetriol vb.) belirlenmiştir. Bu kimyasal maddelerden benzen ve türevlerinin, etilen oksitin, 1-3 bütaditenin, poliklorlanmış bifenilin, kloramfenikolün, fenilbütazonun lösemi riskini arttırdığı saptanmıştır(4).

Alkilleyici ajanlarla tedavi görenlerde AML ve MDS gelişme riski yüksektir. Topoizomeraz II inhibitörleri(epipodofilotoksin türevleri, antrasiklinler) ile tedavi gören ALL'li vakalarda da AML gelişme riski yüksektir. Bu vakalarda MDS gözlenmezken sıklıkla kromozom 11q23 anomalileri saptanmaktadır(1).

2.2.2.3.Viruslar

Günümüzde en çok viral etiyoloji üzerinde durulmaktadır. Retroviruslar, Epstein Barr Virus(EBV), HTLV-I(Human T cell Leukemia Virus- I), HTLV-II(Human T cell Leukemia Virus- II) kanser etiyolojisinde rol oynadığı düşünülen viruslardan bazılarıdır. HTLV-I, yetişkin T hücreli lösemiye; EBV, endemik Burkitt lenfoma ve nazofarinks kanserine; HTLV-II ise hairy cell lösemiye neden olmaktadır(1,4).

Virusların yol açtıkları enfeksiyonların doğrudan lösemiye neden olduğu ya da lösemi hücrelerinde viruslara ait gen dizisinin varlığı, yapılan çalışmalarda saptanamamıştır. Enfeksiyondan etkilenen hastalarda ikincil olarak lösemi ortaya çıkma riskinin arttığı belirlenmiştir(1,6).

2.2.2.4.Genetik Faktörler

Akut lösemide genetik faktörlerin löseminin ortaya çıkmasında önemli bir rolü vardır. Tek yumurta ikizlerinden birinde 6 yaşından önce lösemi gelişmişse, diğer kardeşte de hastalığa yakalanma riski ilk 5 yıl içerisinde %20 oranındadır. Akut lösemililerin 1. derece akrabaları arasında lösemi sıklığının beklenenden 3 kat fazla olduğu ve bazı ailelerde bu hastalığın aşırı sık görüldüğü bildirilmiştir. Genetik hastalıkların bazılarında (Tablo 2-1) lösemi ikincil olarak ortaya çıkmaktadır. Fanconi anemisi, Bloom sendromu ,Ataxia telangiectasia, Down sendromu gibi kromozom anomalileri ile birlikte olan konjenital hastalıklarda akut lösemi insidansı artmıştır. Down sendromunda lösemi insidansı normal populasyona oranla 20 kat daha fazladır(1,2,4).

Tablo 2-1: Sekonder olarak lösemi gelişen başlıca hastalıklar(1,2)

-
- Down sendromu (trizomi 21)
 - Patau sendromu (trizomi 13)
 - Edward sendromu (trizomi 18)
 - Bloom sendromu
 - Fanconi anemisi
 - Klinefelter sendromu
 - Ataxia telangiectasia
 - Nörofibromatozis
 - Shwachman-Diamond sendromu
 - Poland sendromu
 - Li Fraumani sendromu
 - Kostmann sendromu
 - Wiskott-Aldrich sendromu
 - Enfeksiyon: özellikle EBV
 - Wilm's tümörü
 - Konjenital α -gamma globunemi
 - Rubinstein-Taybi sendromu
 - Diskeratozis konjenita
 - Konjenital agranülositozis
-

2.2.3.Patogenez

Hematopoetik hücreler ortak bir multipotent ana hücreden kaynaklanmaktadır. Eritrositler, granülositler, monositler ve trombositler gibi perifer kanındaki, olgun hücreler kemik iliğindeki progenitör hücrelerden tek bir hat üzerinde olgunlaşarak meydana gelmektedir(3).

Lenfoid kök hücre lenfositleri, miyeloid kök hücre ise nötrofilleri, bazofilleri, eozinofilleri, monositleri, eritrositleri ve trombositleri oluşturacak şekilde farklılaşmaktadır. Her farklılaşma aşamasında farklı hematopoetik büyüme faktörleri kontrol görevi yapmaktadır(3).

Lösemi, tek bir miyeloid ya da lenfoid progenitör hücrenin malign transformasyona uğraması ve bu transforme hücrenin çoğalarak gittikçe büyüyen bir klon oluşturması sonucu gelişmektedir. Akut lösemi hücrelerinin özelliği, farklılaşma yeteneğini kaybetmiş olmalarıdır. Farklılaşma bozukluğu ya da aşırı proliferasyon sonucu lösemi hücreleri kemik iliğinde birikmektedir. Lösemi hücreleri öncelikle kemik iliğinde proliferasyon olup, daha sonra perifer kanına geçerek diğer dokulara infiltre olmaktadır(1).

2.2.4.Lösemi Genetiği

Kanser oluşumundan sorumlu genler iki temel alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar, onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdir. Bu genlerin dışında kanser oluşumunda rol oynayan bazı genler bulunmaktadır.

2.2.4.1.Onkogenler

Onkogenler, protoonkogen adı verilen normal hücresel genlerin mutant allelleri olup, fonksiyon kazandıran mutasyon özelliği sayesinde hücre bölünmesi ve proliferasyonun anormal stimülasyonuna yol açmaktadırlar(10).

Onkogenler, hücresel seviyede dominant etkiye sahiptirler; yani aktive edildiklerinde veya ekspresyonları arttığında, tek bir mutant allel bir hücreyi normalden malign fenotipe dönüştürebilmektedir. Mutasyonlar, gen amplifikasyonları ve kromozomal yeniden düzenlenmeler, protoonkogenlerin fonksiyon kazanmasına neden olmaktadır(10).

2.2.4.1.1.Mutasyonlar

İnsan tümörlerinde en çok ortaya çıkan onkogen mutasyonları, tek bir bazda meydana gelen değişim sonucu ortaya çıkan nokta mutasyonlarıdır(11).

Ras gen ailesinin birbirleriyle yakından ilişkili üç üyesi ras H, ras K ve ras N insan tümörlerinde en sık görülen onkogendir. Normal hücrelerde ras onkogenleri bulunmayıp genellikle tümör gelişimi sırasında gerçekleşen mutasyonlar sonucunda tümör hücrelerinde ortaya çıkmaktadır. Ras onkogeninde meydana gelen nokta mutasyonu sonucunda 12. kodonda glisin yerine valin geçmektedir. Meydana gelen bu mutasyon ras proteininin sürekli olarak, GTP bağlı aktif durumunu koruyarak, hücrenin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasını sağlamaktadır. İnsan tümörlerinin oluşumunun yaklaşık %20'sinde ras proteini rol oynamaktadır(11).

2.2.4.1.2.Gen Amplifikasyonları

İnsan tümörlerinde onkogenlerin aktifleşme yollarından biri de, genlerin hızlı ve yüksek düzeyde ekspresyonuna neden olan gen amplifikasyonlarıdır.

Onkogen amplifikasyonu, nöroblastomlarda C-myc geninin benzeri olan N-myc geninde oldukça sık görülmektedir. N-myc geninin kopya sayısındaki artış, myc amplifikasyonunun tümörün daha malign hale dönüşmesine sebep olduğunu göstermektedir(10,11).

2.2.4.1.3.Kromozomal Yeniden Düzenlenmeler

Bir protoonkogen translokasyon şeklindeki bir kromozom mutasyonu tarafından aktive edilebilmektedir. Lösemi ve lenfomalarda daha sık olmakla birlikte, birkaç sarkoma türünde de kromozom translokasyonlarına rastlanmaktadır. Bazı olgularda, translokasyon kırık noktaları iki genin intronları içinde yer almaktadır. Böylece yeni bir özelliğe sahip, kanser oluşumuna neden olan kimerik bir protein oluşmaktadır. KML'de 9. ve 22. kromozomlar arasındaki translokasyon bu şekildedir. Bazı durumlarda da translokasyon başka bir gene ait promotor bölgeye yerleşerek onkogeni aktive etmektedir. Burkitt lenfomadaki 8. ve 14. kromozomlar arasındaki translokasyon bilinen en iyi örneklerden biridir(1,10).

2.2.4.2.Tümör Baskılayıcı Genler

Tümör baskılayıcı genler; hücre farklılaşması, proliferasyonu gibi hücre fonksiyonlarında düzenleyici rol oynayan genlerdir. Hücre siklusunu baskılayan bu genler devamlı olarak gen ekspresyonu yapmaktadırlar. Ancak bu genlerin

mutasyonlarla inaktive olması durumunda tümör oluşumu gerçekleşmektedir(12). Tümör baskılayıcı genler, onkogenlerin aksine resesif etkiye sahip olup, genin her iki allelinin fonksiyonunu yitirmesi gibi farklı bir mekanizma ile kanser oluşumuna neden olmaktadır(11,12).

Knudson'un "Çift Vuruş Hipotezi" ne göre bir mutasyon için heterozigot olan hücreler tek bir fonksiyonel tümör baskılayıcı gen kopyasına sahip olup, bu da onların normal hücresel fenotipini sağlamada yeterlidir. Bu allellerin bir kopyasının germline olarak mutasyona uğrayıp gelmesi ve diğer normal allelin fonksiyonunun sonradan somatik mutasyonlar sonucu kaybolması ile tümör baskılayıcı gen inaktif hale geçmektedir(10,12).

Tümör baskılayıcı genlerdeki normal allelin heterozigosite kaybına neden olan mekanizmalar; kromozom kaybı, delesyon, dengesiz translokasyonlar, duplikasyon, mitotik rekombinasyon ve nokta mutasyonlarıdır(12).

2.2.4.3.Diğer Genler

DNA tamir genlerinde ortaya çıkan mutasyonlar sonucunda da kanser oluşumu gözlenmektedir.

2.2.5.Klinik Özellikler

Akut lösemilerde semptom ve bulgular (Tablo 2-2), kemik iliği fonksiyonunda azalma ve lösemik blastların organlardaki invazyonu sonucu oluşmaktadır. Semptomlar sinsi olarak veya akut olarak ortaya çıkmaktadır(2).

Tablo 2-2 : ALL’de tanı esnasındaki semptom ve bulguların sıklığı(2)

SEMPТОMLAR	SIKLIK
Enfeksiyon\Ateş	% 33-56
Yorgunluk	% 92
Kanama	% 33
Kemik ve Eklem Ağrısı	% 25
BULGULAR	SIKLIK
Lenfadenopati	% 49-76
Splenomegali	% 44-86
Hepatomegali	% 35-74
Mediastinal Kitle	% 15
MSS Tutulumu	% 8
Diğer Organ Tutulumları	% 9

Kemik iliği infiltrasyonu sonucu hastalarda anemi, nötropeni, trombositopeni ortaya çıkmaktadır. Anemiye bağlı olarak halsizlik, çabuk yorulma, taşikardi, dispne görülmektedir. Bu durum bazen kalp yetmezliğine neden olacak kadar ağır olabilmektedir. Nötropeni ateşin ana nedenidir. Akut lösemili bir hastada ateş daima enfeksiyona bağlıdır. Lösemik ateş çok enderdir. Perifer kanında granülosit sayısı $<500/\text{mm}^3$ olduğu zaman enfeksiyon riski yüksektir. Kanamaların başlıca nedeni ise trombositopenidir. Genellikle deri kanamaları, çabuk morarma, mukozal membranlardaki kanama, dişeti ve konjunktiva kanamaları, retina kanamaları görülmektedir. Burun kanaması, gastrointestinal ve intrakranial kanama daha nadir saptanmaktadır(1,4,13,14).

Lenfoid sistemin tutulması sonucu lösemik blastların yayılımı ile lenfadenopati, akciğer ve dalak büyümesi saptanmaktadır. Tanı sırasında merkezi sinir

sistemi bulguları %5'ten daha az olguda saptanmaktadır. Kemik ve eklem bulguları %25 olguda saptanır. ALL'de testis tutulumu genellikle ağrısız organ büyümesi şeklinde olmaktadır. Tanıdan itibaren ilk bir yılda %10-23 erkek çocukta testis tutulumu görülür. ALL'de sıkça görülen ve kanamayla birlikte seyreden gastrointestinal sistem bulguları mevcuttur. Bunların dışında hastalarda deri tutulumu ve akciğer tutulumu da gözlenmektedir(1,4).

Akut lenfoblastik lösemide birçok klinik ve laboratuvar bulgusu, hastalığın prognozu açısından oldukça önemlidir. Bu durum nüks olasılığına ve remisyon sürelerine yansımaktadır. Prognostik faktörlerin (Tablo 2-3) değerlendirilmesi, hastalığın biyolojisinin tanınmasının yanı sıra, B-ALL ve T-ALL için yapılan iyi, orta ve yüksek risk gruplarının (Tablo 2-4) belirlenerek uygun tedavi yöntemlerinin seçilmesi bakımından oldukça önemlidir(4,13).

Tablo 2-3: Akut lenfoblastik lösemide prognostik faktörler(4,13)

	İYİ	KÖTÜ
Klinik özellikler		
Lökosit sayısı	<30.000\mm ³ (B hücreli) <100.000\mm ³ (T hücreli)	>30.000\mm ³ (B hücreli) >100.000\mm ³ (T hücreli)
Yaş	3-7 yaş <25,<35 yaş	<1, 10 yaş >35, >50 yaş
Cinsiyet	Kadın	Erkek
İrk	Beyaz ırk	Siyah ırk
Remisyona girme zamanı	<4 hafta	>4 hafta
Lenfadenopati,splenomegali, hepatomegali	Yok	Var
Mediastinal kitle	Yok	Var
SSS Lösemisi	Yok	Var
FAB Sınıflandırması	L1	L2, L3
Trombosit	>100.000\mm ³	<30.000\mm ³
Serum İmmunglobulin	Normal	Azalmış
İmmunfenotip	—	Pro B-ALL Pre B-ALL Pre T-ALL
Sitogenetik	Hiperdiploidi 6q delesyonu	Psödodiploidi t(9;22)\ BCR-ABL t(4;11)\ MLL-AF4
Minimal Residüel Hastalık	Negatif veya düşük seviye	Israrlı\artan veya yüksek seviye

Tablo 2-4: Akut lenfoblastik lösemide risk grupları(1,13)

	Yetişkin ALL	Çocukluk Çağı ALL
İyi Risk	Tüm niteliklerin birlikte bulunması; Olumsuz sitogenetik anomali yok < 30 yaş Lökosit sayısı: <30.000/μl komplet remisyon sağlanma süresi < 4-6 hafta	2-9 yaş veya lökosit sayısı: <10.000/μl olmalı Olumsuz sitogenetik anomali yok
Orta Risk	İyi ve kötü risk grubuna girmeyenler	1-2 yaş ve lökosit sayısı:<50.000/μl veya 2-9 yaş , lökosit sayısı:10.000-50.000/μl ve erkeklerde trombosit sayısı:100.000/μl olmalı
Yüksek Risk	Niteliklerin herhangi birinin taşınması; Olumsuz sitogenetik anomali: t(9;22), t(4;11), trizomi 8 >60 yaş Lökosit sayısı>100.000/μl (prekürsör B-ALL için) komplet remisyonun geç sağlanması (> 4-6 hafta)	2-9 yaş ve <50.000/μl veya ≥ 10 yaş veya ≥ 50.000/μl veya <1 yaş, Burkitt tipi lösemi Olumsuz sitogenetik anomali: t(9;22),t(4;11)

2.2.6.Laboratuvar Bulguları

Lösemi düşünülen hastalarda yapılması gereken basit incelemelerin başında tam kan sayımı gelmektedir. Lökosit sayısı, hastaların %50'den fazlasında artmasına rağmen normal veya azalmış sayıda da olabilir. Hemogloblin değeri genellikle hafif veya orta derecede düşüktür. Trombosit sayısı <25.000/mm³ olduğunda ciddi kanama oluşmaktadır(1,2).

Hücre tipinin belirlenmesinde kullanılan kan yayması tanı için oldukça önemlidir. Perifer kanı yayması incelenerek, akut lösemi tanısı konabilmesine rağmen kesin tanı için hastanın kemik iliği aspirasyon materyalinin incelenmesi gereklidir.

Kemik iliği materyalinde yapılan sitokimyasal boyama, immün fenotiplendirme ve sitogenetik inceleme ile tanı desteklenir. Göğüs grafisi, mediasten kitlesinin varlığını araştırmak için her olguda çekilmektedir. Kitle varlığı T hücre tipini destekler. Bunların dışında koagülasyon parametreleri, kardiyak fonksiyonları, biyokimya tetkikleri(elektrolitler, üre, kreatinin, ürik asit, karaciğer enzimleri), enfeksiyon profili(hepatit işaretleyicileri gibi), immünolojik inceleme(tedavi sonu durum karşılaştırılması-immunglobulinler) hastada tanı için yapılması gereken diğer incelemelerdir(1,2,4,6).

2.2.7.Ayırıcı Tanı

Akut lösemi diğer hastalıklarla ender olarak karıştırılabilmektedir. Lökemoid reaksiyonlar ve infeksiyöz mononükleozlarda rastlanan kan tabloları ayırıcı tanıda güçlük yaratabilmektedir(1).

Akut lösemi; lösemik, sublösemik ya da alösemik şekilde kendini göstermektedir. Lösemik şekilde lökosit sayısı yüksektir ve hastanın perifer kanı lösemi hücreleriyle doludur. Sublösemik şekilde lökosit sayısı normal ya da normal değerlerin altında olmasına rağmen kan preparatlarında lösemi hücreleri bulunmaktadır. Alösemik tipte ise hastalığın başlangıç evresinde ya da çok ender olarak perifer kanında hiçbir lösemi hücresi bulunmayabilir. Bu durumda kemik iliğinin incelenmesi ile tanı konulmaktadır. Aplastik anemi gibi çeşitli nedenlere bağlı pansitopenilerin sublösemik ve alösemik tiplerden ayırımının yapılması gerekmektedir. Bu ayırım, kemik iliğinin incelenmesiyle kesin tanıya ulaşılması sonucunda yapılmaktadır(1,2).

2.3.Akut Lenfoblastik Lösemide Sınıflandırma

Akut lenfoblastik lösemide yapılan sınıflama normal hematopoezin neresinde klonal yayılma(ekspansiyon) olduğunu anlamaya yöneliktir. Sınıflandırma blastların morfolojik, immünfenotipik, sitokimyasal, sitogenetik ve moleküler genetik özelliklerine dayanılarak yapılmaktadır.

2.3.1.Morfolojik Sınıflandırma

1976 yılında Fransız, Amerikan ve İngiliz hematologlardan oluşan bir grup tarafından, perifer yayması ve kemik iliği preparatlarının morfolojik yönden incelenmesiyle FAB(Fransız-Amerikan-British) sınıflandırması ortaya konmuştur. Bu

sınıflandırmada hücrelerin büyüklüğü, nukleus şekli, nukleolus sayısı, nukleus-sitoplazma oranı, vakuol, sitoplazmanın bazofili derecesi gibi özellikler esas alınmaktadır(15,16,17).

FAB sınıflandırmasının her bir kategorisinde maksimum %10 oranına kadar, bazı hücrelerin ortak özelliklerinde sapmalar görülebilmektedir. Bu sınıflamada halen tanı problemleri mevcuttur. Gerek FAB sınıflandırması, gerekse Dünya Sağlık Örgütü'nün yapmış olduğu sınıflandırma; gözlemciler arasında uyum sağlamadığı için yetersiz kaldığından, bu sınıflandırma son olarak 1985 yılında modifiye edilmiştir(17).

FAB sınıflandırılmasına göre, akut lenfoblastik lösemi(ALL) L1, L2 ve L3 olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır.

2.3.1.1.FAB L1 Tip

Çocukluk çağı ALL'lerinin %85'ini oluşturmaktadır. Blastlar küçük, birbirine benzer ve dar sitoplazmalıdır. Hücrelerin çoğunda nukleolus bulunmaz veya az sayıdadır. Vakuol yoktur. L1 lenfoblastlar; yüksek remisyon-indüksiyon oranı, uzamış remisyon ve sağkalım oranı göstermektedirler(4,18).

2.3.1.2.FAB L2 Tip

L2 alt tipi erişkinlerde daha sık görülmekle birlikte çocukluk çağı ALL'lerinde de %14 oranında görülmektedir. L2 alt tipinde hücreler daha büyük ve daha geniş sitoplazmalıdır. Hücrelerin büyüklükleri farklı olup, biçimleri pleomorfizm göstermektedir. Nukleolus belirgin olup bir veya daha fazla sayıdadır. Hücreler vakuollere sahip olabilir(1,4).

L2 morfolojisindekiler diğer prognostik faktörlerden bağımsız olarak daha yüksek relaps oranı ile kötü prognoz gösterirler. Diğer prognostik özellikleri iyi de olsa daha yoğun bir protokolle tedavi edilmeleri gerekmektedir(18).

2.3.1.3.FAB L3 Tip

ALL'lerin %1'ini oluşturmaktadır. L3 alt tipinde hücreler büyük ve homojendir. Sitoplazma koyu mor bazofiliktir. Hücreler bol vakuollü ve nukleoluslu hücrelerdir. Bu hücrelerde mitoz siktir. L3 alt tipi, Burkitt lenfomasının lösemi şekli olarak kabul edilmektedir(1,18).

2.3.2.Sitokimyasal Boyama

Lösemi tipini belirlemede kullanılan diğer bir yöntem blastların bazı boyaları alıp almama veya az ya da çok almalarına dayanarak yapılan sitokimyasal boyamadır. Miyeloperoksidaz(MPO), Sudan Black(SB), Periyodik-Aside-Schiff(PAS), Asid Fosfataz (AP), Nonspesifik Esteraz(NSE), Terminal Deoksinükleotidil Transferaz(TdT) ve demir(Fe) boyaları bunların bazılarıdır. Bunların farklı kombinasyonlarda pozitif olması FAB sınıflamasını desteklemektedir(1).

ALL’li vakaların yaklaşık yarısında lösemik blastlarda PAS boyası ile reaksiyona giren glikojen inklüzyonları vardır. PAS testi, sitoplazmik karbonhidratları, karbonhidrat ile kaplı proteinleri ve yağları tespit etmektedir. Miyeloblastlar genellikle PAS(-) sonuç verirken, lenfoblastların sitoplazmalarından PAS(+) sonuç alınmaktadır. ALL hastalarının lösemi blastlarının nukleusu etrafından da PAS(+) sonuç alınmaktadır(1,2).

Lenfoblastlarda, granülositik ve monositik enzimler bulunmadığından miyeloperoksidaz, sudan black boyası ve nonspesifik esteraz sitokimyasal boyalarıyla reaksiyon vermezler. MPO aktivitesi granülosit ve monositlerdeki azurofilik granüllerde bulunmaktadır. Lenfositlerde olmadığı için miyeloid ve lenfoid lösemilerin ayırımında kullanılır. Sudan black boyası da aynı şekilde sonuç vermektedir(1).

ALL’li olguların %90’dan fazlasında lösemi lenfoblastları “terminal deoksinükleotidil transferaz” (TdT) adı verilen bir nükleer enzim içerirler. AML tiplerinde TdT pozitifliği seyrek bulunur(1).

2.3.3.İmmünolojik Sınıflama

İmmünolojik sınıflama 1970’li yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Bazı lenfoblastların koyun eritrositleri ile rozet oluşturduğunun ve bu lösemilerde kötü prognoz seyrettiğinin saptanması ilk adımı oluşturmuştur. Bunu lökositlerin ortak antijeninin (CALLA=common ALL antijen) saptanması izlemiştir. 1980’lerde sitoplazmik ve yüzey immunoglobulinleri ile antikorlardan yararlanılarak blastların kemik iliğinin hangi dizisinden farklılaştıklarını, hangi evresinden köken aldıklarını belirleyen yüzey işaretleyicileri devreye girmiştir. İmmünfenotipleme akım sitometrisi ile yapılmaktadır(19).

Lenfoid ve miyeloid hücrelerin yüzeylerinde gelişim aşamasında farklı antijenler belirlemekte ve kaybolmaktadır. Bu yüzey işaretleyicilerine Cluster of

Differentiation (CD) adı verilmektedir. Bu işaretleyiciler o hücrenin hangi gelişim aşamasında olduğu hakkında bilgi vermektedir. Lösemi herhangi bir aşamadaki hücrenin farklılaşma yerine ölümsüzleşerek sürekli çoğalmasıyla oluşmaktadır. İmmunfenotipleme, akım sitometrisi sayesinde blastın hangi aşamada durduğunu anlamaya yarayan bir tekniktir(20).

İmmunolojik sınıflandırma hastalığın seyri için oldukça önemlidir. Bu sayede çocukluk çağıının en iyi seyirli lösemisinin CALLA(CD 10) antijen taşıyan blastlarla oluşmuş lösemi olduğu belirlenmiştir(4,20,21).

İmmunfenotipleme ile akut lenfoblastik lösemi; B hücre kaynaklı ALL ve T hücre kaynaklı ALL olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır(Tablo 2-5).

2.3.3.1.B Hücre Kaynaklı ALL

Çocukluk çağı ALL'lerin %80'i B hücrelidir. B hücre belirleyicisi olarak CD 19 kullanılmaktadır. B-ALL hücrelerin farklılaşmaya başladığı evreye göre alt sınıflara ayrılmaktadırlar.

2.3.3.1.1.Pro B ALL (Pre-Pre B ALL, Erken Pre B ALL)

Bu lösemilerde hücreler B, T ve pre B hücre antijenlerini taşımazlar. Sadece HLA-DR, TdT ve CD 19 pozitifliği gösterirler. Pro B hücre için CD 79a+ yanında sitoplazmik ve yüzeysel Ig olmaması ve MLL gen değişikliklerini belirleyen t(4;11), t(11;19), t(9;11) saptanabilir. 1 yaş altındaki çocuklarda daha sık olmakla birlikte çocukluk dönemi ALL'lerin %5'inde saptanmaktadır.

2.3.3.1.2.Common ALL (Olağan ALL)

Hem çocuk hem de erişkin ALL'lerde görülen en sık tiptir. Erişkinde vakaların %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. Lenfoblastlarda CD 10 antijeni bulunmaktadır. Bu hücreler ayrıca CD 19, HLA-DR ve TdT pozitifdir. Olgun B hücre antijenleri bulunmaz.

2.3.3.1.3.Pre B ALL

Sitoplazmik Ig varlığı ile karakterize olup common ALL'deki antijenler pozitifdir. Pre B hücreli lösemide sitoplazmada ağır zincir Ig varlığının yanında CD 22 yüksektir. Bu alt tipte t(1;19) ve hipodiploidiye rastlanmaktadır. Erişkinde vakaların %10'unu, çocukta ise vakaların %15'ini bu alt tip oluşturmaktadır.

2.3.3.1.4.Olgun B ALL

Olgun B hücrelerinden oluşan ALL, erişkinde %4, çocukta %3 oranında saptanmaktadır. Lenfoblast yüzey membranında Ig bulunmasıyla karakterizedir. FAB tipi L3'tür. Bu alt tipte myc onkogeninin bulunduğu 8.kromozom translokasyonları t(8;14), t(2;8) ve t(8;22) saptanmaktadır(1,2,4,21,22,23).

2.3.3.2. T Hücre Kaynaklı ALL

ALL'lerin %15-25'i T hücrelidir. T-ALL lenfositlerin farklılaşmaya başladığı evreye göre alt sınıflara ayrılmaktadır.

2.3.3.2.1.Pro T-ALL

Sitoplazmik CD 3+, CD 7+, TdT(+) ve diğer belirteçler negatiftir.

2.3.3.2.2.Pre T-ALL

Sitoplazmik CD 3+, CD 7+ ve CD 2+ ve/veya CD 5+, TdT(+) olduğu gözlemlenmiştir.

2.3.3.2.3.Kortikal T-ALL

Sitoplazmik CD 3+, CD 1a+, TdT pozitifdir.

2.3.3.2.4.Olgun T-ALL

Olgun T hücre fenotipi CD 3 membranının varlığı ile belirlenmektedir(1,4,22).

T hücreli ALL daha çok adölesan çağındaki erkeklerde görülmektedir. Sıklıkla yüksek lökosit sayısı ve ön mediastende bir kitle ile seyretmektedir. Bazen ALL blastları üzerinde AML belirleyicileri de olmaktadır. Bu duruma “aberran AML belirleyicisi” adı verilmektedir. Aberran değil de tüm blastların hem ALL, hem de AML belirleyicisi taşıdığı durumda bifenotipik lösemiden bahsedilmektedir(22).

Tablo 2-5 : Yetişkin ALL'deki immunfenotipik sınıflandırma(5)

Alt Gruplar	En Önemli İşaretleyiciler	İnsidans(%)
B-ALL	HLA-DR+,TdT+,CD19+ ve\veya CD79a+ ve\veya CD22+	74
Pro-B ALL	CD10 ⁻	11
Common ALL	CD10 ⁺	50
Pre-B ALL	cy IgM ⁺	9
Olgun B ALL	cy veya s κ veya λ	4
T-ALL	cy veya sCD3 ⁺ , CD7 ⁺	26
Pro\Pre T-ALL	CD5 [±] , CD2 ⁻ , sCD3 ⁻ , CD1a ⁻	6
Kortikal T-ALL	CD2 ⁺ , CD5 ⁺ , CD1a ⁺ , sCD3 [±]	13
Olgun T-ALL	CD2 ⁺ , CD5 ⁺ , sCD3 ⁺ , CD1a ⁻	7

cy:sitoplazma içi ; s: yüzeysel

2.3.4.WHO (World Health Organization-Dünya Sağlık Örgütü) Sınıflaması

2001 yılında Dünya Sağlık Örgütü(World Health Organization-WHO) tarafından akut lösemilerin de dahil olduğu hematopoetik ve lenfoid neoplasmları içeren bir sınıflandırma yapılmıştır. WHO sınıflamasında; morfoloji, immünfenotipleme, sitogenetik ve moleküler özellikler göz önüne alınarak, akut lösemi tanısı için blastik hücre sayısı %30'dan %20'ye indirilmiştir(22).

WHO sınıflamasına göre akut lenfoblastik lösemi 3 sınıfa ayrılır.

2.3.4.1.Prekürsör B Hücreli Lenfoblastik Lösemi

L1,L2 veya karışık blastik hücre morfolojisini gösterebilirler. B hücre yüzey antijenlerinin pozitifliği ile karakterizedir. CD19+, CD20+, CD22+, CD79a+, CD10+, HLA-DR(pozitif), TdT(+) ve nadiren CD34 pozitifliği bulunabilir. Bu grup lösemiler iyi, orta ve kötü riskli olmak üzere 3 alt gruba ayrılır.

2.3.4.2.Prekürsör T Hücreli Lenfoblastik Lösemi

L1, L2 veya karışık blastik hücre morfolojisinde olabilirler. T hücre yüzey antijeni CD2+, CD3+, CD5+, CD7+, cCD3+ ile karakterizedir. Genellikle TdT pozitifliği ve HLA-DR negatifliği saptanır.

2.3.4.3.Burkitt Lenfoma \ Lösemi

Burkitt tipi lenfoma ve lösemi, prekürsör lenfoid neoplazma grubundan değildir. Lenfoma, Dünya Sağlık Örgütü'nün sınıflamasında matür B hücreli neoplazma olarak ele alınmıştır. FAB sınıflandırmasına göre L3 morfolojisi göstermektedir. CD19, CD20, CD22, HLA-DR pozitifliği vardır. TdT negatiftir(22,24).

2.4.Akut Lenfoblastik Lösemide Kromozom Anomalileri

Tümör hücresindeki mitotik düzensizlikler 19. yüzyılda patologlar tarafından tanımlanmış, Von Hanseman bu düzensizliklerin neoplazinin orijini ile ilgili olabileceğini belirtmiştir. 1960 yılında Nowell ve Hungelford adlı araştırmacılar kronik miyeloid lösemide Philadelphia kromozomunu tanımlamışlardır. 1970'li yıllarda ise bantlama tekniklerinin gelişmesi ve ardından FISH, PCR, RT-PCR gibi yöntemlerin gelişmesi sonucunda sitogenetik ve moleküler genetikle anomalilerin tanımlanması sağlanmıştır(25,26).

Sitogenetik çalışmalar, malign hematolojik hastalıkların klinik olarak yönlendirilmesinin ve lösemi araştırmalarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Sitogenetik çalışmalar, lökomogenezde yer alan genleri tanımlayan moleküler analizlerin önünü açmaktadır. Akut lösemilerde tanının daha kesin olmasının yanı sıra tedavi etkinliğinin izlenmesinde ve prognostik bilgi elde edilmesinde de sitogenetik analizlerin rolü bulunmaktadır(27,28).

Günümüzde genetik alanındaki yeni gelişmelerin kullanılması ile ALL'de %90'ın üzerinde, hastada kromozom anomalileri tespit edilebilmektedir. Özellikle akım sitometrisi kullanımı ile hücrelerin DNA miktarı tespit edilerek hücrenin hangi fazda olduğu belirlenebilmektedir(26,27).

2.4.1.Kromozom Sayı Anomalileri

Kromozom sayı anomalileri, akut lenfoblastik lösemi hastalarının yaklaşık olarak yarısında gözlenmektedir.

2.4.1.1.Yüksek Hiperdiploidi

Kromozom sayısı 50'den fazla olan olgularda yüksek hiperdiploididen söz edilmektedir. Akım sitometrisi ile yapılan ölçümlerde normal ve blast içindeki DNA miktarı ölçülerek birbirine oranlanmaktadır. Bu oran 1,16'dan büyük ise hiperdiploidi olarak kabul edilmektedir. Çocukluk çağı ALL'lerin %25-30'unda gözlenmektedir. Yetişkinlerde ise bu oran %9 olarak belirlenmiştir. En sık olarak 21. kromozomun artışı gözlenmekle birlikte 4. , 6. , 10. , 14. ,17. ,18. , 20. kromozomun ve X kromozomunun artışı da gözlenmektedir. Trizomi 4, 6, 10 ve 17 olanların prognozu iyidir. Çocukluk çağı ALL'de trizomi 5'e sahip olanların ve yetişkinlerde trizomi 8'e sahip olanların prognozu kötüdür. Kromozom sayısı 56-67 ise prognoz iyi, 51-56 olanlarda daha kötü, 82-94 olanlarda ise en kötüdür(7,12,29,30).

Yüksek hiperdiploidide prognoz genellikle iyi olmasına rağmen var olan kromozom yapı anomalileri, iyi olan prognozu kötü yönde etkilemektedir. Hiperdiploidide sayı anomalilerinin yanı sıra; sıklıkla t(9;22), 1.kromozomun kısa kolunda duplikasyon[dup(1p)] ve 17.kromozomun izokromozomu[i(17)(q10)] gözlenmektedir. Olguların %62'sinde kromozom yapı anomalisi görülmekte ve bu anomalilerin %20'sini translokasyonlar oluşturmaktadır(29).

Yüksek hiperdiploidi, düşük lökosit sayısı ve serum laktik dehidrogenaz seviyesi ile karakterize edilmekle birlikte pre-B immunfenotipindedir ve FAB tipi L1 ya da L2'dir(30).

Kromozom sayısı 82-94 olanlar(near-tetraploid ALL) çocukluk çağı ALL'lerin %1'inden daha azını oluşturmaktadır. Yetişkinlerde ise %2 oranında görülmektedir. Near-tetraploid ALL, 8-9 yaş aralığında görülmekle birlikte, olguların %47'si T hücre fenotipindedir. Olguların %30'u ise L2 morfolojisi göstermektedir(12,29).

2.4.1.2.Düşük Hiperdiploidi

Kromozom sayısı 47-50 olan ALL'lerde düşük hiperdiploididen söz edilmektedir. Çocukluk çağı ALL'lerin %10-15'ini oluşturmakla birlikte, yetişkinlerde %7-17 oranında görülmektedir. Prognosu yüksek hiperdiploidi olanlara oranla daha kötüdür. Bu hiperdiploidi çeşidinde 8., 10. ve 21. kromozomlarda artış gözlenmektedir(12,30).

2.4.1.3.Hipodiploidi

Kromozom sayısı 46'dan az olan olgularda hipodiploididen bahsedilmektedir. Kromozom sayısı 41-45 olanlar, 30-40 olanlar, 30'dan az olanlar olmak üzere üç alt gruba ayrılmaktadır. Çocukluk çağı ALL'lerin %7-8'ini oluştururken, yetişkinlerde %2-8 oranında görülmektedir. Kromozom kayıpları, dengesiz translokasyonlar ve disentrik kromozomlar hipodiploidiye neden olmaktadır. En sık olarak 20. kromozomun kaybı görülmekle birlikte 1. , 5. , 6. , 10. , 11. , 18. , 19. , 21. ve 22. kromozomların kayıpları da gözlenmektedir. Prognosu kötüdür(7,12).

2.4.1.4.Haploide Yakın(Near-haploidi)

Kromozom sayısı 30'dan az olanlarda haploide yakın(near haploidi) terimi kullanılmaktadır. Genellikle kromozom sayısı 23-29'dur. ALL'deki insidansı %0,7-2,4'tür. Kötü prognozla karakterize olup, ortalama yaşam süresi 10-11 aydır(7).

Yapılan araştırmalarda olguların %90'ında hem cinsiyet kromozomlarının, hem de 21. kromozomun her iki kopyasının da bulunduğu saptanmıştır. 10.,14. ve 18. kromozomun iki kopya bulundurma oranları sırasıyla %45, %45 ve %65'tir(7,29).

2.4.1.5.Diploidi

Kromozom sayısı 46'dır. %10-15 oranında görülmektedir. Prognoz orta seviyededir(30).

2.4.1.6.Pseudodiploidi

Pseudodiploidide kromozom sayısı 46 olmasına rağmen kromozom yapı anomalileri saptanmaktadır. Pseudodiploidi; çocukluk çağı ALL'lerinde %3-42 oranında, yetişkinlerde ise %7-59 oranında görülmektedir. Yüksek lökosit sayısı ve yüksek serum laktik dehidrogenaz seviyesi ile karakterizedir. Pseudodiploidi yüksek

oranda T hücreli ALL’de görülmektedir. Birçok olguda kromozom yapı anomalileri gözlemlenmektedir. t(9;22), t(4;11), t(8;14), t(1;19), 6q ve 9p’deki anomaliler en sık gözlenenlerdir. Prognoz hastanın sahip olduğu kromozom yapı anomalisine göre değişmekle birlikte, yoğun kemoterapi ile prognoz iyi olabilmektedir(Tablo 2-6)(12,29).

Tablo 2-6: ALL’de kromozom sayı ve yapı anomalilerinin prognozla ilişkisi(12,29,32)

Kromozom Anomalileri	3-5 Yıllık Yaşam Şansı(%)	
	Çocuk	Yetişkin
Kromozom Sayı Anomalisi		
Normal Diploid	80	34-44
Hipodiploid (< 46 kromozom)	25-40	11
Hiperdiploid (>50 kromozom)	80-90	40-50
Pseudodiploid	73	50-60
Kromozom Yapı Anomalisi		
t(9;22)(q34;q11)	20-40	<10
t(8;14), t(2;8), t(8;22)	75-85	60
t(4;11)(q21;q23)	9 ay ortalama yaşam süresi	7 ay ortalama yaşam süresi
t(12;21)(p13;q22)	85-90	?
t(17;19)(q22;p13)	<10	<10
t(1;19)(q23;p13)	70-80	15-50
t(9;12)(p11-12;p11-13)	?	?
del 9p	<10	40
del 12p	>70	>70
del 6q	>70	27-47

2.4.2.Kromozom Yapı Anomalileri

2.4.2.1. t(9;22)(q34;q11)

9. ve 22. kromozom arasındaki translokasyon sonucunda “Philadelphia kromozomu (Ph)” ortaya çıkmaktadır(31).

t(9;22)(q34;q11), daha çok(%90) KML ile karakterize olmasına rağmen çocukluk çağı ALL’lerinde %3-5, yetişkinlerde ise %25 oranında görülmektedir(31).

22q11’de bulunan BCR geni ile 9q34’te bulunan ABL protoonkogeninin füzyonu sonucu BCR-ABL adı verilen kimerik bir protein oluşmaktadır(32).

Ph kromozomu bulunan ALL olgularında, kırık noktası BCR geninin ekson 1 ve ekson 2(e1 ve e2) arasında “minör breakpoint cluster region(m-BCR)” adı verilen bir bölgede oluşmaktadır. ABL protoonkogenindeki kırık noktası da ekson 1 ve ekson 2(e1- a2) arasında bulunmaktadır. Oluşan füzyon sonucunda ortaya 7 kb’lık bir mRNA çıkarak, 190 kD ağırlığında bir protein oluşmakta ve p190 BCR-ABL olarak tanımlanmaktadır(32).

KML’de ise kırık, ekson 13 ve 14(b2a2) ya da ekson 14 ve 15(b3a2) arasında bulunan “major breakpoint cluster region(M-BCR)” adı verilen bir bölgede oluşmaktadır. Oluşan füzyon sonucunda 8,5kb’lık mRNA oluşmaktadır. t(9;22)(q34;q11), KML’de de görülmesine rağmen BCR genindeki kırık bölgelerine bağlı olarak farklı yapıda füzyon genleri oluşmaktadır. KML’de oluşan füzyon proteini, 210 kD’luk p210 BCR-ABL adı verilen bir proteindir(29,31).

Her iki durumda da oluşan füzyon protein, sitoplazmada bulunmakta ve hücreyi apoptoza dirençli hale getirmektedir. Ph kromozomunun pozitif olması çocukluk çağı ALL’lerinde kötü prognozun belirtisidir ve hastaların yoğun tedaviye alınması gerekmektedir(31).

2.4.2.2. t(12;21)(p13;q22)

t(12;21)(p13;q22), çocukluk çağı B hücreli ALL’lerde %25 oranında görülmekle birlikte; yetişkin ALL’lerde çok daha az bir oranda görülmektedir. Çocukluk çağı AML’de ise görülmemektedir(31,33).

t(12;21)(p13;q22), konvansiyonel sitogenetik analiz ile tespit edilememektedir. Bu translokasyonun belirlenebilmesi için moleküler genetik yöntemler tercih edilmektedir. 12p13’te bulunana ETV6 geni(TEL) ile 21q22’de bulunan

AML1(CBFA2) geni arasında resiprok bir translokasyon sonucunda ETV6/AML1 füzyon proteini oluşmaktadır. Bu translokasyonun görüldüğü hastalarda iyi prognoz görülmektedir(31,32,33).

2.4.2.3. t(1;19)(q23;p13)

t(1;19)(q23;p13), daha sık olarak çocukluk çağı ALL'lerinde görülmektedir. Çocukluk çağı pre-B ALL'lerinde %25 oranında görülürken, diğer tiplerde %5-6 oranında görülmektedir. Yetişkinlerde ise %5'ten daha az görülmektedir(7,34).

Translokasyon, 19. kromozom üzerindeki E2A gen bölgesi ile 1. kromozom üzerindeki bir Hox geni olan PBX1 gen bölgesi arasında meydana gelmektedir. Bunun sonucunda E2A/PBX1 adı verilen füzyon protein oluşmaktadır. Oluşan protein lenfoid hücrelerin ekspresyonu üzerinde etkili olarak, PBX1 homeodomain proteininin transkripsiyon aktivitesini değiştirmektedir. Genellikle tanıda lökosit yüksektir. Yüksek doz metatraksat verilmediğinde prognoz kötüdür(7,31).

2.4.2.4. t(8;14)(q24;q32) ve Varyant Formları

t(8;14)(q24;q32) ve varyant formları olan t(2;8)(p12;q24) ve t(8;22)(q24;q11) Burkitt lenfoma, olgun B ALL veya Burkitt tipi ALL'de(FAB L3) görülmektedir. Yetişkin veya çocuk, tüm ALL'lerin %5'inden daha azında görülmektedir. B hücreli ALL'de olguların %85'ini t(8;14)(q24;q32), %5'ini t(2;8)(p12;q24), %15'ini ise t(8;22)(q24;q11) oluşturmaktadır(32,35).

t(8;14), 8q24'teki c-myc protoonkogeni ile 14q32'deki IgH geni arasında olmaktadır. t(2;8), c-myc geni ile 2p12'de lokalize olan Ig kappa hafif zincir(IGK) gen lokusu arasında oluşmaktadır. t(8;22) ise c-myc geni 22q11'de lokalize olan Ig lambda hafif zincir (IGL) gen lokusu ile translokasyon yapmaktadır. Bu üç translokasyon c-myc geninin aşırı ekspresyonu ile sonuçlanmakta ve bu da hücre proliferasyonunun kontrolsüz bir biçimde devam etmesine yol açmaktadır. Bu translokasyonların bulunduğu hastalarda kötü prognoz görülmektedir. Kısa dönem yoğun kemoterapi uygulanan hastalarda olumlu sonuçlar alınmaktadır(7,32,34).

2.4.2.5. 6q Anomalileri

Çocukluk çağı ALL'lerinde, olguların %7'sini 6. kromozomun uzun kolundaki anomaliler oluşturmaktadır. Bu anomalilerin çoğu delesyon olarak ortaya çıkmaktadır(32).

6q delesyonu daha çok interstisiyal olmakla birlikte terminal de olabilmektedir. Kırık noktaları, 6q15 ve 6q21 arasındadır. Terminal delesyon ise daha çok 6q23 bölgesinden olmaktadır(29,32).

Östrojen reseptör geni(ER) 6q25.1'de lokalize olmaktadır. Östrojen reseptör geni, büyümeyi ve birçok farklı hücre serisine metastazı baskılayan bir gendir. Meydana gelen 6q delesyonu bu genin fonksiyonunu olumsuz yönde etkilemektedir(12).

2.4.2.6. 9p Anomalileri

Çocukluk çağı ALL'lerinin %10'unda gözlemlenmektedir. En yüksek insidans (%12,5) T-ALL'de görülmektedir. 9p'de meydana gelen delesyon, hücre siklusunu düzenleyici genler olan p16^{INK4A}, p15^{INK4B}, p14^{ARF69,70} yı etkilemektedir. Çocukluk çağı ALL'lerinde çoğunlukla p16^{INK4A} delesyonu görülmektedir. Bu delesyon moleküler analizler ve FISH sonucunda çocukluk çağındaki T-ALL'lerde yaklaşık %80 ve c/pre B-ALL'de ise %20 oranında görülmektedir. Meydana gelen delesyonlar 9p'de lokalize olan tümör baskılayıcı genlerin kaybına yol açmaktadır(7,29,32).

2.4.2.7. 12p Anomalileri

ALL olgularının %10'unda gözlemlenmektedir. 12p'deki anomaliler, delesyon ve translokasyon şeklinde ortaya çıkmaktadır. Çocukluk çağı ALL'lerinde çoğunlukla 1., 3., 9., 10. ve 17. kromozomlar ile translokasyonlar yapmaktadır. Kırık noktası çoğunlukla p12 iken, p11 ve p13'te de kırıklar saptanmıştır. 12p anomalileri çoğunlukla pre-B fenotipindeki ve L1 morfolojisine sahip ALL'de görülmekle birlikte, T-ALL'de de gözlenmektedir. İyi prognoz ile karakterizedir(12,29).

2.4.2.8.İzokromozomlar

ALL olgularının %7-9'unda görülmektedir. En sık rastlanan kromozom anomalileri; i(7q), i(9p) ve i(17q)'dur. ALL'de bunların dışında son olarak i(21q)'da tanımlanmıştır.İzokromozomlar, yetişkinlerde çocuklara oranla daha fazla görülmektedir(%7,8/% 4,5)(Tablo2-7)(12).

Tablo2-7: Akut lenfoblastik lösemide görülen bazı kromozom yapı anomalileri(12,31,32,34)

Karyotip	Gen	Protein	Protein fonksiyonu	Fenotip	FAB	Sıklık	
						Yetişkin	Çocuk
t(9;22)(q34;q11)	BCR,ABL e1a2 b2a2\b3a2 e19a2	p190 p210 p230	Artmış tirozin kinaz aktivitesi	Pre-B	L1,L2	%20-30	%3-4
t(8;14)(q24;q32)	c-myc IgH	HLH protein	Transkripsiyon faktörü	B hücreli	L3	%3-5	%2
t(2;8)(p12;q24)	Igκ c-myc	HLH protein	Transkripsiyon faktörü	B hücreli	L3	%3-5	%2
t(8;22)(q24;q11)	c-myc Igλ	HLH protein	Transkripsiyon faktörü	B hücreli	L3	%3-5	%2
t(12;21)(p13;q22)	TEL AML1	HLH protein tirozin kinaz	TEL fonksiyon kaybı	B hücreli	L1,L2	%1-3	%20-25
t(1;19)(q23;p13)	PBX1 E2A	E2A aktivasyon biriminin koruduğu füzyon proteinler	Transkripsiyon faktörü	Pre-B	L1	<%5	%5-6
t(17;19)(q22;p13)	HLF E2A	?	Apoptozu baskılama	Pre-B	L1	%0,5-1	%0,5-1

Tablo 2-7'nin devamı: Akut lenfoblastik lösemide görülen bazı kromozom yapı anomalileri(12,31,32,34)

Karyotip	Gen	Protein	Protein fonksiyonu	Fenotip	FAB	Sıklık	
						Yetişkin	Çocuk
t(4;11)(q21;q23)	AF4 MLL	MLL füzyon protein	Transkripsiyon regülasyonu	Pro-B	L1,L2	%3-6	%60 <1 yaş
t(1;11)(p32;q23)	AF1P MLL	MLL füzyon protein	Transkripsiyon regülasyonu	Erken Pre-B veya Pre-B	L1,L3	%3-10	<%1
t(10;11)(p12-14;q23)	AF10 MLL	MLL füzyon protein	Transkripsiyon regülasyonu	Erken Pre-B veya Pre-B	L2	%3-7	<%1
t(11;19)(q23;p13)	MLL ENL	MLL füzyon protein	Transkripsiyon regülasyonu	B hücreli	L1,L2	%3-5	%10 <1 yaş
del(9q)(p21-22)	MTS1 MTS2	p16 ^{INK4A} p15 ^{INK4B}	Siklin bağlı kinaz inhibitörleri	B veya T hücreli	L1,L2	%7-15	?
del(6q)	?	?	Tümör baskılayıcı gen	B veya T hücreli	L1,L3	<%5	%32
del(12p)	TEL p27 ^{KIP1}	?	Tümör baskılayıcı gen	Pre-B	L1	%5	%17-33
t(11;14)(p13;q11)	RHOM2 TCR-δ	LIM birimi protein	Transkripsiyon faktörü	T hücreli	L1>L2	<%1	%1
t(10;14)(q24;q11)	HOX11 TCR-δ	Homeo- domain protein	Transkripsiyon faktörü	T hücreli	L1>L3	%3-7	<%1

2.4.2.9.T-ALL'deki Kromozom Anomalileri

T-ALL'deki kromozom anomalileri(Tablo 2-8), B-ALL'ye oranla daha az görülmektedir. T-ALL; yüksek lökosit sayısı, erkek cinsi, çocuklardaki daha yüksek yaşlar ve iyi prognoz ile karakterizedir. T-ALL'deki genetik anomaliler T hücre reseptör(TCR) genlerini etkilemektedir. TCRA ve TCRD(T hücre reseptör-alfa ve T hücre reseptör-delta) genleri 14q11-q13'te; beta ve gamma zincirleri(TCRB ve TCRG) ise 7q32-q36 ve 7p15'te haritalanmıştır. TCR genlerini içeren yeniden düzenlenmeler T-ALL'lerin %30'unda görülmektedir. TCRAD ve TCRB'deki yeniden düzenlenmeler, hem yetişkin hem de çocukluk çağı T-ALL'lerinde görülmektedir. Meydana gelen yeniden düzenlenmeler TCR geninin enhancer elementlerini onkogenlere daha yakın bir hale getirerek onların daha fazla ekspresyon yapmalarına neden olmaktadır. Örneğin; t(10;14)(q24;q11) ve t(7;10)(q35;q24) meydana geldiğinde, Hox11 geni TCRAD ve TCRB düzenleyici genlerine daha yakın bir hale geldiğinden ekspresyonu artmaktadır. Bu durum çocukluk çağı T-ALL'lerin %4-7'sinde görülmektedir(7,12,29,32,35,36).

TAL1 geni bir transkripsiyon faktörü olup, gen ekspresyonunda ve hematopoezde önemli bir rol oynamaktadır. TAL1 geninin TCRAD geni ile translokasyonu sonucu ekspresyonu artmaktadır. Bu durum, T-ALL'lerin %3'ünde görülmektedir. Alternatif olarak TAL1'deki 100 kb'lık DNA fragmentinin intersitisiyal delesyonu sonucu da TAL1'in ekspresyonu artmaktadır(7,12,29,35,37,38).

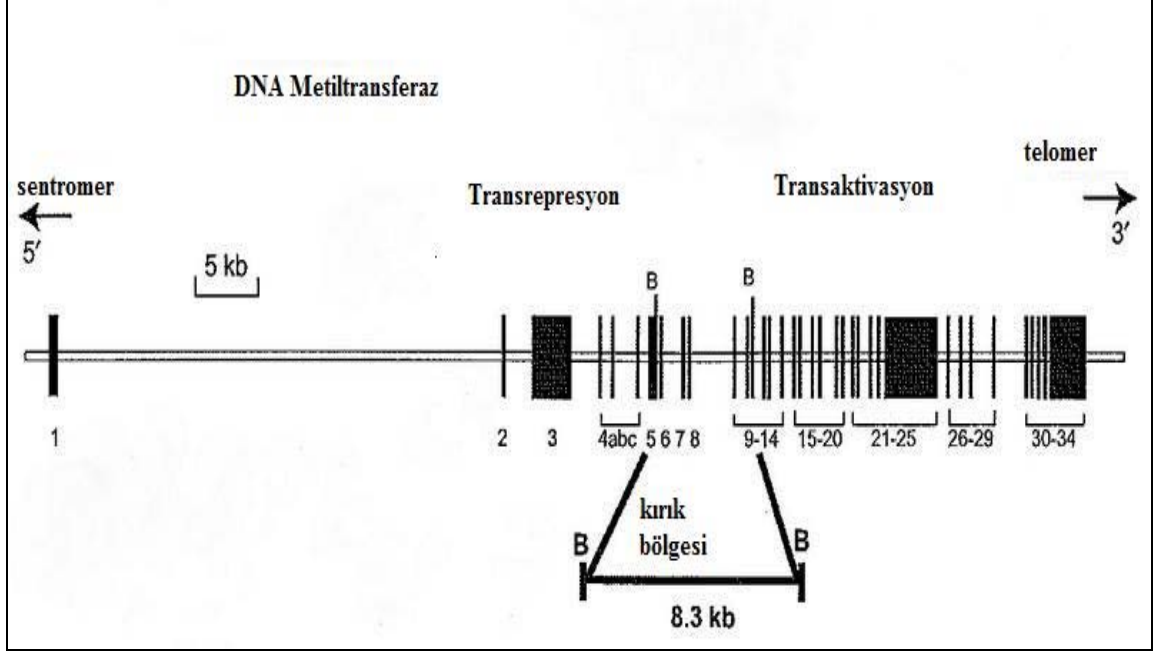
Tablo 2-8: T-ALL'deki genetik anomaliler(7)

GEN	BÖLGE	SIK GÖZLENEN YENİDEN DÜZENLENMELER
HOX11	10q24	t(10;14)(q24;q11), t(7;10)(q35;q24)
TAL1	1p33	t(1;14)(p33;q11)
TAL2	9q32	t(7;9)(q34;q32)
LYL1	19p13	t(7;19)(q34;p13)
LMO1	11p15	t(11;14)(p15;q11)
LMO2	11p13	t(11;14)(p13;q11), t(7;11)(q35;p13)
MYC	8q24	t(8;14)(q24;q11)
LCK	1p34	t(1;7)(p34;q34)
TAN1	9q34.3	t(7;10)(q34;q34.3)
IGH	14q32.3	inv(14)(q11;q32)
TCL1	14q32.1	inv(14)(q11;q32), t(4;14)(q11;q32)

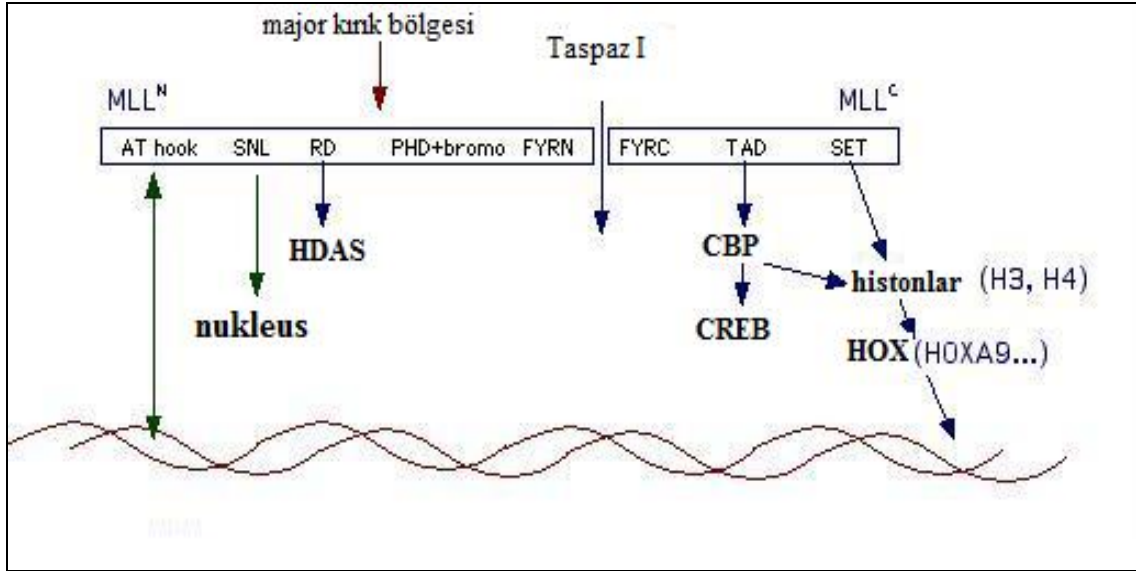
2.5.MLL (Mixed Lineage Leukemia / Myeloid- Lymphoid Leukemia) Gen Bölgesi

MLL gen bölgesi 11q23'e lokalize olmaktadır. MLL geninin uzunluğu yaklaşık 100 kb olup, 36 ekson içermektedir. mRNA'sı 13-15 kb'dır(Şekil 2-1). MLL geninin ürünü olan protein 3968 amino asitten oluşup, 431 kD ağırlığındadır. Bu protein, N terminalinde 3 adet AT-hook domaini içermektedir ve bir bölgesi memelilerin DNA metil transferazı ile homoloji göstermektedir(Şekil 2-2). C terminalinde 2 merkezi zinc finger domain (C4HC3 motifleri ve SET[Su(var)3-9 enhancer of zeste and trithorax] domaini) içermektedir. C terminalindeki SET domaini(3' ucunda 30-34.ekson arasında) ile Drosophila'nın torasik vücut segmentasyonundan sorumlu olan Drosophila Trithorax

geni arasında homoloji gösteren bölgeler bulunmaktadır. MLL geni; HRX, Htrx-1 ve ALL-1 olarak da adlandırılmaktadır(7,35,39,40,41,42,43,44,45).



Şekil 2-1: MLL geninin şematik yapısı(42)



AT hook : 3 adet AT hook birimi içermektedir ve bu birimler DNA'nın minör oluğuna bağlanırlar.

SNL : 2 adet "Speckled Nuclear Localization- Benekli Nükleer Bölge" sinyalleri

RD : Repression Domain-Baskılayıcı Üniteler(RD1 ve RD2)

RD1 ve CXXC: Baskılayıcı Ünite(RD1) ve Sistein Metil Transferaz CpG'ce zengin bölgelere bağlanırlar.

RD2: Histon deasetilasyonunda rol oynamaktadır.

PHD+bromo : 3 adet sisteince zengin çinko parmak ünitesi, 1 adet asetilenmiş histonlara bağlanan bromodomain ve 1 adet homeodomain içermektedir. Bu birimler protein-protein etkileşiminde yer almaktadır.

FYRN ve FRYC : p300/320 N-term proteinini(MLL^N) ve p180 C-term proteinini(MLL^C) birbirine bağlamaktadır.

MLL proteini nukleusa içerisine girmeden önce Taspaz 1 tarafından ikiye ayrılmakta ve daha sonra bir transkripsiyon faktörü olan TFIID tarafından multiprotein kompleksi haline getirilmektedir.

TAD : Transaktivasyon Domaini; CBP'yi bağlar ve Hox gen bölgesi içerisindeki H3 ve H4' ün asetillenmesinde görev almaktadır.

SET : Su(var)3-9 Enhancer of Zeste ve Trithorax Birimi; Metiltransferaz, H3'ü metiller.

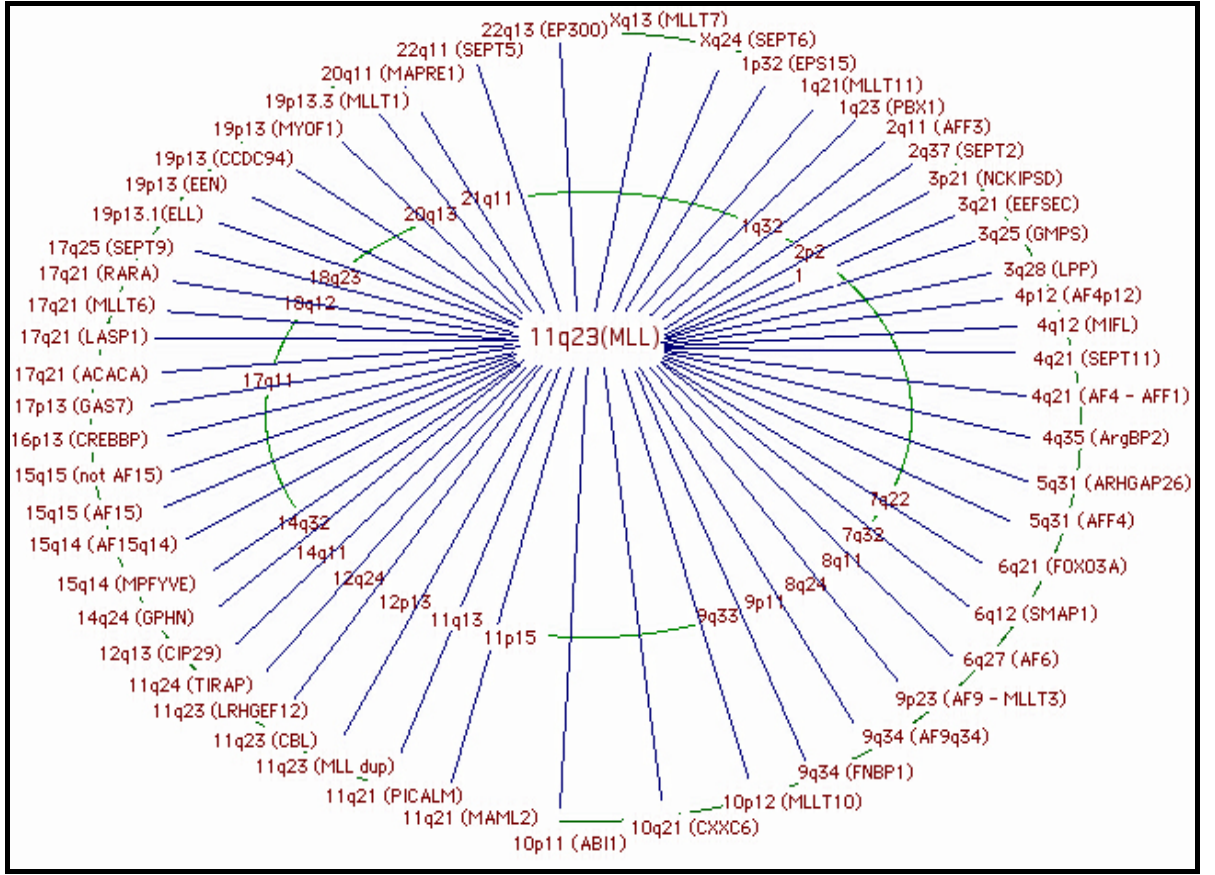
Şekil 2-2: MLL proteinin şematik yapısı(46)

MLL geni, geniş bir alanda eksprese olmakla birlikte; özellikle beyin, böbrek, tiroid dokularında, B lenfosit ve miyeloid hücrelerinde eksprese olmaktadır(46,47).

Hox genleri; homeobox gen ailesinden olup, erken embriyonik dönemde bazı genlerin transkripsiyonunun kontrolünde ve hematopoetik farklılaşma esnasında oldukça etkilidir. MLL geni, histonların asetilasyonu ve metilasyonu sırasında Hox genlerinin promotorına bağlanmaktadır. MLL geni, Hox geninin ekspresyonunun regülasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. MLL geninde meydana gelen kırılmalar, rekombinasyonlar ve diğer genlerle birlikte meydana getirdiği kimerik füzyonlar, fonksiyonunun değişmesine neden olmaktadır. Bu sebepten dolayı hematopoetik hücrelerde Hox geninin ekspresyon profilinin değişmesi, Hox proteinlerinin fazla miktarda eksprese olmasına ve lösemilere özgü tablonun oluşmasına neden olmaktadır(42,46,48,49,50,51,52).

MLL geninin ürünü olan protein, erken embriyonik dönemde Hox geninin transkripsiyon düzenleyici faktörü olarak görev almaktadır. Hess ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; MLL gen bölgesi çıkarılmış olan fareler incelendiğinde, farelerin hematopoetik hücre farklılaşmasında anomaliler saptanmıştır. Farelerde yapılan bir başka çalışmada; t(9;11)'i taşıyan farelerde yaklaşık olarak 1 yıldan sonra lösemnin ortaya çıktığı belirlenmiş ve MLL geninin lökomogenezde önemli bir rol oynadığı saptanmıştır. Hox A9 geninin yüksek orandaki ekspresyonu sonucu, fare modellerinde AML'ye eğilimin arttığı gözlenmiştir(41,42,53).

Southern Blot tekniği ile MLL gen bölgesindeki yeniden düzenlemelerin, 5. ve 11. ekson arasındaki 8.3 kb'lık bir kırık noktasında meydana geldiği belirlenmiştir. MLL geni 87 adet farklı gen ile yeniden düzenleme yapabilmektedir. Translokasyon yaptığı genlerin 52'si moleküler analizler ile belirlenmiştir(Şekil 2-3). Hem MLL hem de translokasyon yaptığı genlerin DNA'larındaki bazı translokasyonlarda kırık noktaları, Alu tekrarlarını içeren intron içerisindeki dizilerde meydana gelmektedir(54). 11q23 bölgesini içeren ve en iyi bilinen translokasyonlar t(4;11)(q21;q23), t(6;11)(q27;q23), t(9;11)(p21;q23), t(10;11)(p12;q23) ve t(11;19)(q23;p13.3)'dir. Füzyon genleri ise AF4, AF6, AF9, AF10 ve ENL'dir(Tablo 2-9)(35,55).



Şekil 2-3: MLL geninin translokasyon yaptığı genler ve kromozom yerleşimleri(46)

Tablo 2-9 : MLL geninin translokasyon yaptığı bazı genler ve fonksiyonları(42)

GEN	BÖLGE	FONKSİYON
AF4	4q21	Transkripsiyon faktörü
AF6q21	6q21	Transkripsiyon faktörü
AF9	9p22	Transkripsiyon faktörü
AF10	10p12	Transkripsiyon faktörü
ENL	19p13	Transkripsiyon faktörü
AFX1	Xq13	Transkripsiyon faktörü
AF17	17q21	Transkripsiyon faktörü
ELL	19p13	Poli(ADP-riboz) polimeraz,DNA bağlayıcı bölge
EEN	19p13	SH3 bölgesini içeren protein
AF1p	1p32	Sitoplazmik fosfoprotein
AF6	6q27	Hücre-hücre birleştirici protein
AF1q	1q21	Sitokin motifi
CBP	16p13	Histon asetiltransferaz
ABL-1	10p11.2	Abl bağlayıcı protein
hCDCrel	22q11.2	GTP bağlayıcı protein

11q23 anomalileri ALL’lerde %7-10, AML’de ise %5-6 oranında görülmektedir. 1 yaş altındaki ALL’lerde ise görülme sıklığı %60-80 arasında değişmektedir.11q23 anomalisine sahip çocukluk çağı ALL olgularında organomegali, yüksek lökosit oranı görülmektedir. Yeni doğanlarda görülen 11q23 anomalileri kötü prognoz ile karakterizedir(35,56,57,58,59).

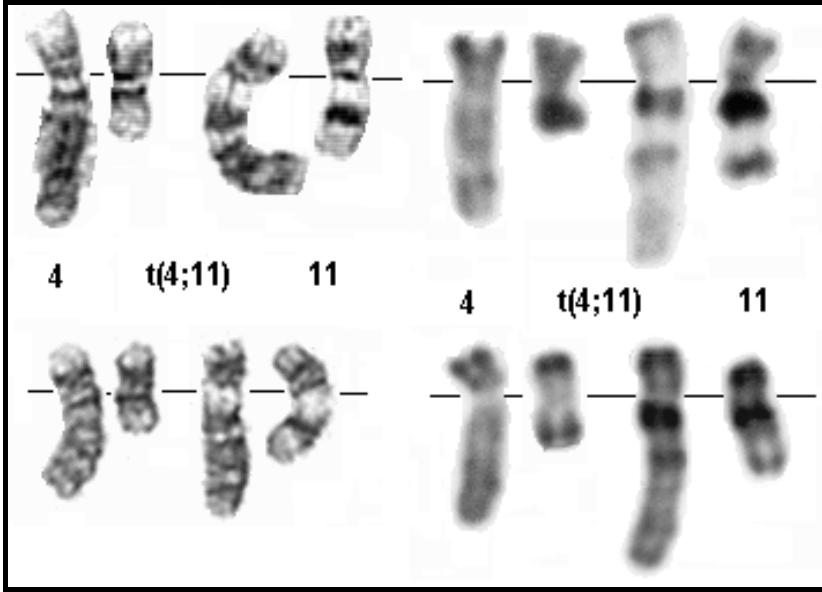
Klonal özellik taşıyan kromozom sayı ya da yapı düzensizliklerin tespit edilmesi; hastalığın biyolojisinin anlaşılması ve bu düzensizliklerin “lökomogenez” deki rollerinin aydınlatılması bakımından oldukça önemlidir. Özellikle translokasyonlar sonucu oluşan füzyon genlerinin sentezlediği yeni protein ürünlerinin hastalığın seyrine etkisinin bilinmesinin, yeni tedavi prensiplerinin stratejisi bakımından yol gösterici olacağı düşünülmektedir. MLL geninde oluşan yeniden düzenlemelerin tespit edilmesi

hastalığın prognozu ve tedaviye cevaptaki etkisinin ortaya konmasında önemli olacaktır. Bu spesifik kromozom yeniden düzenlenmelerinin hastalığın tanısı anında ve tedavisi sonrasında kalitatif ve kantitatif olarak saptanması hastalığın takibi, terapötik ilaca verilen yanıtın değerlendirilmesi ve minimal residüel hastalık tespiti bakımından da büyük değer taşımaktadır(8,42).

2.5.1.t(4;11)(q21;q23)

1 yaşın altındaki ALL'lerde %60, çocukluk çağı ALL'lerde %2 ve yetişkinlerde %3-6 oranında görülmektedir. Yüksek lökosit sayısı($156,5 \times 10^9/L$), organomegali, trombositopeni görülmekle birlikte bu translokasyonun daha çok 2 yaşın altındaki çocuklarda ve dişilerde(%60) görüldüğü saptanmıştır. Erken pre-B veya pre-B immünofenotipindedir, FAB tipi L2'dir. TdT, HLA-DR ve CD19 pozitifliği ve CD10 negatifliği vardır(12, 32,60,61).

t(4;11)(q21;q23) sonucunda MLL-AF4 (ALL1 Fused Gene From Chromosome 4) füzyon geni oluşmaktadır(Şekil 2-4). 4q21'deki AF4 geni ile, 11q23'teki MLL geninin translokasyonu sonucu oluşan füzyon gen 12kb'lık mRNA transkribe etmektedir. AF4 geninin kırık noktası, 3. ve 7. ekson arasındaki 40 kb'lık bir bölgededir ve AF4 geni serin ve prolince zengin bir protein kodlamaktadır. Bu translokasyonun yol açtığı lökomogenik etki bilinmemekle birlikte 11q23'te değişkenlik gösteren kırılma noktaları ile MLL bölgesinin translokasyonu sonucu 11q23'ten telomere kadar uzanan parça kaybı sonucu 5' MLL geni tarafında kodlanan der(11) füzyonunun onkogenik bir füzyon proteini olduğu düşünülmektedir. Bu translokasyon kötü prognoz ile karakterizedir(29,48,62,63).

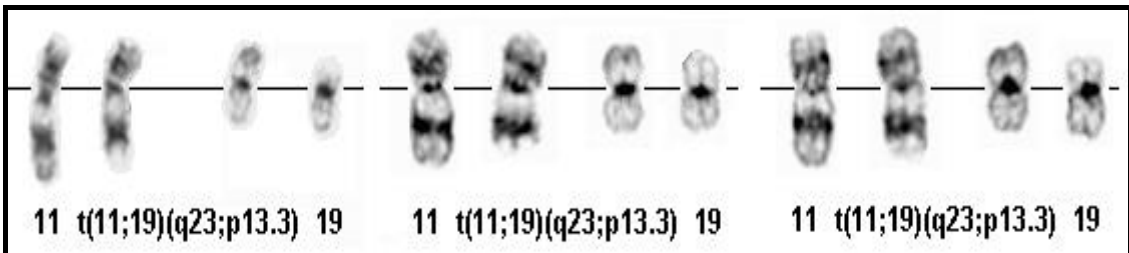


Şekil 2-4: t(4;11)(q21;q23) (46)

2.5.2.t(11;19)(q23;p13.3)

19p13.3'te lokalize olan ENL(Eleven-Nineteen Leukemia) geni ile 11q23'te lokalize olan MLL geni arasında oluşan translokasyon sonucu MLL-ENL füzyon proteini oluşmaktadır(Şekil 2-5)(12,64,65).

t(11;19)(q23;p13.3), klinik ve prognostik özellikler bakımından t(4;11) ile benzerlik göstermektedir. 1 yaş altındaki ALL'lerde %10 oranında görülmekle birlikte, genç yaş ve yüksek lökosit sayısı ile karakterizedir. CD10 negatifliği ve CD19 pozitifliği vardır. B hücre kökenlidir. Translokasyon sonucunda blast hücrelerindeki IgH geninde yeniden düzenlemeler meydana gelmektedir(39,66,67).

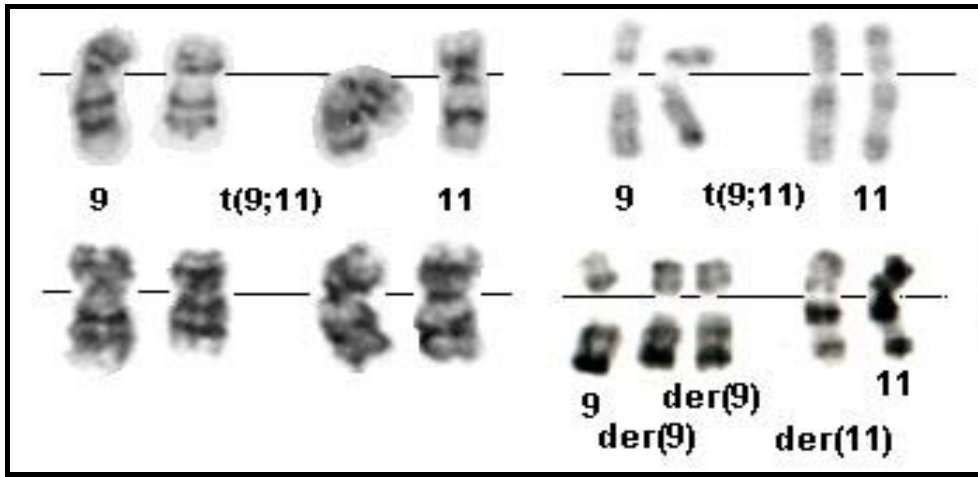


Şekil 2-5: t(11;19)(q23;p13.3) (46)

2.5.3.t(9;11)(p22;q23)

1 yaş altındaki ALL'lerde %8 oranında görülmektedir. 9p22'de lokalize olan AF9 geni ile 11q23'teki MLL geni arasındaki translokasyon sonucu MLL-AF9 füzyon geni oluşmaktadır(Şekil 2-6). AF9 proteini, 19p13.3'te lokalize olan ENL geninin ürünü ile yüksek oranda(%56 aminoasit benzerliği) homoloji göstermektedir(68,69,70,71).

MLL-AF9 füzyon geni kök hücre gelişiminde ve lökomogenezde önemli rol oynamaktadır. MLL-AF9 füzyon genini taşıyan kimerik farelerde AML ve ALL gelişimi gözlenmiştir ve bu farelerin hematopoetik hücre farklılaşmasında anomaliler görülmüştür. İn vitro çalışmalarda MLL-AF9 füzyon geni transforme edilmiş miyeloid progenitor hücrelerde Hox genlerinin inhibe edildiği görülmüştür(68,69).



Şekil 2-6: t(9;11)(p22;q23) (46)

2.6.Kromozom Anomalilerini Belirlemede Kullanılan Yöntemler

2.6.1.Konvansiyonel Sitogenetik

Kemik iliği aspirasyon materyalinden metafaz plaklarını içeren sitogenetik analizler, lösemilerde kullanılan önemli tanı ve izleme araçlarından biri haline gelmiştir. Teknik olarak oldukça pratiktir. Bu yolla çocukluk çağı ALL'lerinde görülen kromozom anomalilerinin yaklaşık %80-90 kadarı tespit edilebilmektedir. Translokasyonlar, lösemilerde gözlenen en sık karyotip değişiklikleridir ve bazı tiplerinde tanı amaçlı kullanılacak kadar sık ve spesifik görülebilirler. Kromozom sayı anomalileri ve translokasyonlar bakımından AML'lerde ALL'lere oranla daha çeşitli anomaliler saptanmaktadır(31,72,73,74).

Genelde lösemilerde tek bir anormal karyotip yapısı bulunur ve bu yapı birincil(primer) kromozom değişikliği olarak tanımlanır. Bu birincil karyotip değişikliklerin akut lösemilerde anahtar rolü oynadığı kabul edilmektedir. Bazen buna ilaveten ikincil anomaliler de ortaya çıkabilmektedir ve bu ikincil yapılar hastalığın prognozu açısından önemlidir. Çocukluk çağı lösemilerinde de genetik değişikliklerin bir sonucu olarak transforme olan hematopoetik hücrelerin klonal olarak proliferasyonu meydana gelmektedir. Bu genetik değişiklikler daha çok kromozom translokasyonları olarak ortaya çıkmaktadır ve bu da ‘lökogenenez’ mekanizmasını açıklanabilmesi, hastalığın tanısı ve tedaviye yanıtının izlenmesi bakımından oldukça önemlidir(8,75,76).

Canlı ve çekirdeği olan, bölünebilme yeteneğini kaybetmemiş tüm dokular kromozom çalışmalarında kullanılmaktadır. Solid dokularda farklı yapılar tercih edilse de lösemilerde genellikle kemik iliği aspirasyon materyali başta olmak üzere, perifer kanından da inceleme yapılabilir. Sitogenetik çalışmalar için gerekli olan metafaz kromozomlarının eldesi için direkt yöntem veya kültür yöntemi kullanılmaktadır. Direkt yöntemde spontan mitotik aktivitesi olan kemik iliği hücreleri gibi hücreler kullanılmaktadır. Kültür yönteminde de perifer kanı, kemik iliği aspirasyon materyali veya diğer dokular kullanılabilir. Elde edilen metafaz plaklarındaki kromozomlar;GTL(Giemsa-Tripsin-Leishmann), NOR(Nükleer Organiser Region), HRB(High Resolution Banding) ve C bantlama teknikleri gibi farklı teknikler ile farklı bakımlardan değerlendirilmektedir. Metafaz plaklarındaki her bir kromozoma ait bant örneklerinin incelenmesiyle, kromozomlar sayı ve yapı anomalileri bakımından değerlendirilmektedir(77,78).

2.6.1.1.GTL Bantlama

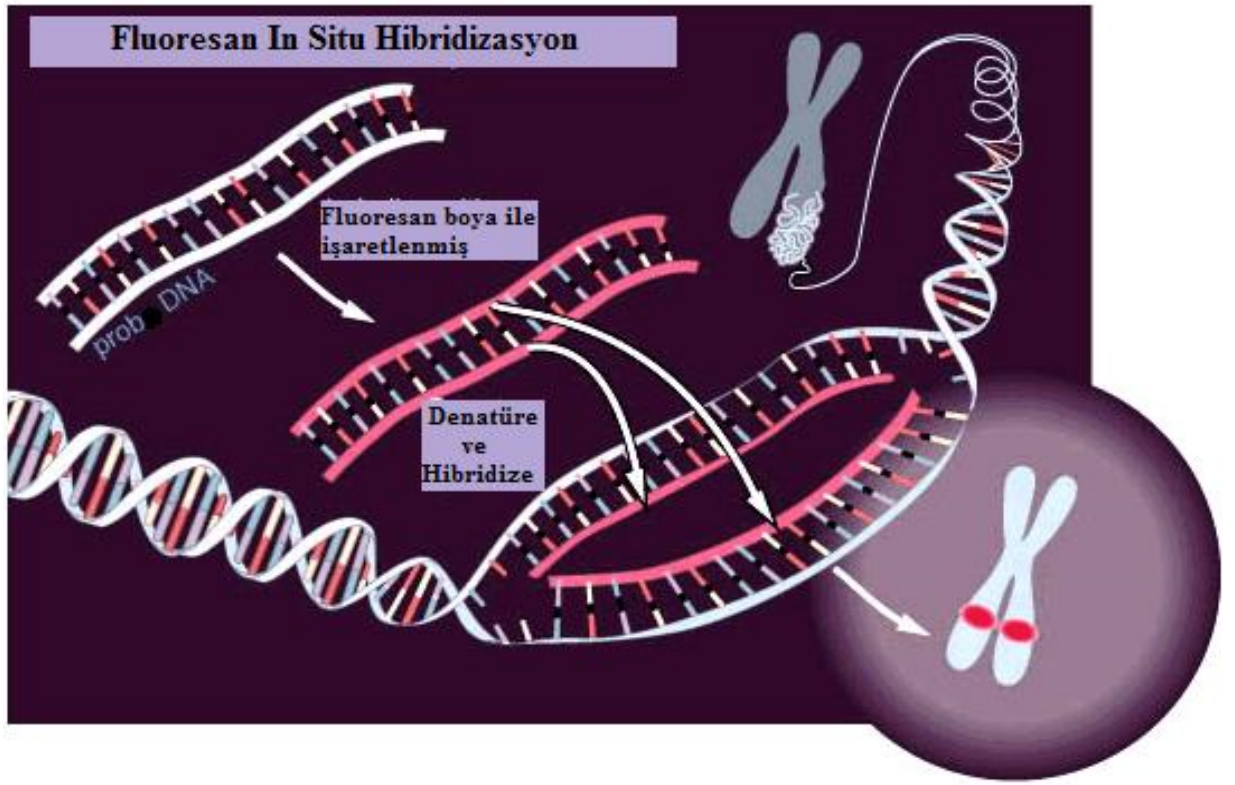
GTL bantlama tekniğinde, kromozom proteinleri olan histonlar ve nonhiston proteinler tripsin ile denatüre edilerek, açıkta kalan DNA’nın adenin ve timin bazlarınca zengin tekrarlarından oluşan bölgelerine Leishmann boyasının girmesi sonucu bu bölgeler koyu boyanmakta ve “heterokromatin” bölgeler olarak adlandırılmaktadır. Boyanmayan bölgeler ise “ökromatin” bölgelerdir ve yapısal genleri içermektedirler. Bu aşamanın sonunda her kromozoma özgü açık ve koyu bantlar görünür hale gelmektedir. 1995’teki kabul edilen ISCN (International System for Human Cytogenetic

Nomenclature) sınıflandırmasına göre kromozomlar değerlendirilmekte ve karyotip, ISCN kurallarına uygun bir şekilde yazılmaktadır(78,79,80).

2.6.2.FISH (Fluoresan In Situ Hibridizasyon)

Belirli bir hücre popülasyonu veya dokudan izole edilen nükleik asitlerin in vitro hibridizasyonu, farklı DNA veya RNA gruplarının belirlenmesini sağlamakla birlikte, incelenen spesifik dizilerin hücreler arasındaki dağılımları ya da kromozomlar üzerindeki yerleri hakkında bilgi vermemektedir. Bunun için hibridizasyonun doku ya da hücrede yapılması gerekmektedir. In situ hibridizasyon, spesifik DNA veya RNA dizilerini her hücredeki metafaz plaklarında veya interfaz hücrelerinde morfolojik olarak göstermektedir. Bu teknik nükleik asitlerin kendi doğal ortamlarında incelenmesine olanak vermektedir(81).

Fluoresan In Situ Hibridizasyon(FISH), nükleik asit problemlerinin hücresel veya kromozom preparatlarındaki denatüre edilmiş DNA ya da RNA ile hibridizasyonuna dayanan bir tekniktir. İlk olarak 1991 yılında tanımlanan bu teknik, prob adı verilen hedef DNA veya RNA molekülüne komplementer, radyoaktif ya da nonradyoaktif olarak işaretlenmiş olan nükleik asidin, sitolojik preparatlar üzerinde hedef dizi ile olan hibridizasyonudur(Şekil 2-7)(8,81,82).



Şekil 2-7: FISH(Fluoresan In Situ Hibridizasyon)(82)

DNA'nın çift sarmal yapısı normal koşullar altında stabildir. Bu yapı, DNA'nın ısı veya formamid gibi kimyasal maddelerle etkileşimi sonucu bozulmakta ve bazılar arasındaki hidrojen bağları koparak DNA tek iplikli hale gelmektedir. Bu etkileşim ortadan kalktığında DNA eski halini alır. FISH'deki temel prensip; işaretli probun hedef DNA ile hibridizasyonudur. FISH yönteminde lokusa özgü proplar, satellit probları, tüm kromozomu boyayan proplar, banda özgü proplar gibi bir çok prob çeşidi kullanılmaktadır. Hibridizasyonun güvenilir ve duyarlı olmasında; kullanılan probun amaca yönelik olması, uzunluğu, kalitesi, hedef bölgeye özgünlüğü oldukça önemlidir(83,84,85,86).

Tanı amaçlı kullanılan FISH tekniğinin kullanım alanlarından biri de kanser genetiğidir. Tek renkli veya birden fazla renkle boyanan FISH teknikleri ile hem interfaz hem de metafaz hücrelerinde kromozom anomalileri tespit edilebilmektedir. Tekniğin interfaz nükleuslarında da kullanılabilmesi, metafaz kromozomlarının ve hücre elde ediliminin zor olduğu kanser olgularında tekniği daha avantajlı hale getirmiştir. FISH yönteminin bir diğer avantajı; konvensiyonel sitogenetiğe göre daha

hızlı sonuç vermesidir. FISH yöntemi lösemilerde başlıca şu amaçlarla kullanılmaktadır(8,31).

- Lösemi tipine ait spesifik karyotip değişikliklerini tespit etmek.
- Tedaviye paralel olarak karyotip değişikliklerini izlemek.
- Klinik remisyon ile karyotip remisyonunun takibini karşılaştırmak.
- Hastalığın relapsındaki karyotip değişikliğini belirlemek.
- Kemik iliği nakli sonrası, kemik iliğinde oluşan hücre popülasyonunun orjinini belirlemek.
- Hücre tiplerini belirleyerek lösemi tipine ait karyotip yapısını saptamak.

2.6.3.Moleküler Genetik Yöntemler

Moleküler genetik yöntemler arasında bulunan PCR(Polimerase Chain Reaction\Polimeraz Zincir Reaksiyonu) tekniği, çok küçük miktardaki DNA'nın kullanımına imkan verdiği ve oldukça hassas olduğu için fazlaca tercih edilmektedir. PCR tekniği, bir DNA karışımında bulunan belirli bir DNA dizisinin in vitro koşullarda hızlı ve etkin bir şekilde çoğaltılmasına olanak sağlamaktadır. Böylece çalışmalar için uygun sayıda kopya elde edilmektedir(31).

PCR'ın çeşitli uygulama tipleri de vardır. Bunlardan biri olan RT(reverse transkriptaz) PCR özellikle mutasyon taramaları için kullanılmaktadır. Çalışılacak dokudan mRNA izole edilmekte ve bu mRNA'dan reverse transkriptaz yardımıyla cDNA elde edilmektedir. Elde edilen cDNA, RT-PCR için kalıp görevi görmektedir. RT-PCR füzyon genlerinin eksprese ettiği transkriptlerin saptanmasında; gerek konvansiyonel sitogenetik, gerekse moleküler sitogenetik yöntemlere göre üstün yönleri vardır. Bu üstünlüğün nedeni; 1 milyon hücreden bir tanesindeki değişimi bile saptama olanağına sahip olmasıdır(8,31,87).

Son zamanlarda, real time kantitatif PCR'ın geliştirilmesi ile RT-PCR' da kantitatif ölçümlerin yapılabilmesi ve mikroarray yöntemleri ile gen ekspresyonlarının aynı anda yüzlerce gen üzerinde bakılabilmesi bakımından önemli gelişmeler olmuştur. Bu durum; yeni tanı, takip ve tedavi süreçlerini olumlu yönde etkilemektedir(8,31).

2.7.Akut Lenfoblastik Lösemide Tedavi

Çocukluk çağı ALL tedavisinde, vakaların üçte ikisi tedaviye olumlu yanıt vermektedir. Erişkin ALL'lerde ise sonuçlar aynı derecede olumlu olmayıp, vakaların üçte biri tedaviye olumlu yanıt vermektedir. Bu farklılığın; Ph pozitifliği gibi kötü prognoz gösteren ALL alt tiplerinin erişkinde daha sık olmasından ve tedavinin hematolojik ve nonhematolojik toksisitesinin ileri yaşlarda tolere edilememesinden kaynaklandığı düşünülmektedir(1).

Tedavi protokolleri, hastaları taşıdıkları risklere göre düşük, orta ve yüksek riskli olarak sınıflamaktadır. Bu sınıflamada amaç nüks beklenen hastaları daha yoğun tedavi etmek, düşük risk grubundaki hastaları ise tedavinin geç yan etkilerinden korumaktır. Son zamanlarda hastanın lösemisinin özellikleri, risk faktörleri yanında ilaç metabolizmasına etki eden enzimlerin genetik polimorfizminde prognozu etkilediği gösterilmiştir(88,89).

ALL'de tedavi esas olarak destekleyici tedavi, kemoterapi ve kemik iliği naklinden oluşmaktadır.

2.7.1.Supportif(Destekleyici) Tedavi

Lösemilerdeki supportif(destekleyici) tedavi; santral venöz kateter konulması, sitopenilerin replasmanı(trombosit ve eritrosit süspansiyonları), tümör lizis sendromuna uygun medikal yaklaşım, hiperlökositozis halinde lökoferez veya uygun tıbbi müdahale, enfeksiyona karşı profilaksi ve tedavi, erken ve geç yan etkilerin engellenmesi veya azaltılması, hasta ve ailesine psiko-sosyal destek verilmesine yönelik yaklaşımlardan oluşmaktadır(6).

2.7.2.Kemoterapi

2.7.2.1.İndüksiyon (Başlangıç) Tedavisi

İndüksiyon tedavisinde amaç; lösemi hücrelerinin ortadan kaldırılmasıdır. Tanı konduktan hemen sonra başlanmaktadır. Ortalama 4-6 hafta uygulanmakta ve sonrasında remisyon değerlendirmesi için kemik iliği alınmaktadır. Kemik iliğinde blast sayısı %5'den daha az elde edilmesi hedeflenmektedir. Tam remisyon için kan değerleri normal sınırlara ulaşmalıdır. İndüksiyon tedavisinde kortizon, vinkristin, antrasiklin ve L-asparaginaz kullanılmaktadır. Tüm bu ilaçların kullanılmasına rağmen olguların %2'sinde remisyon sağlanamayabilmektedir. ALL'de kemoterapi ile 1950-1960

yıllarında; önce tek bir ajanla (prednizolon) %60 remisyon sağlanmış, daha sonra vinkristin prednizolon içeren indüksiyon protokolleri ile %85 tam remisyona ulaşılmıştır(2,6).

2.7.2.2. Konsolidasyon(İntensifikasyon-Güçlendirme) Tedavisi

BFM(Berlin-Frankfurt-Münster) protokolüne göre remisyondan hemen sonraki dönemde uygulanmaktadır. Bu tedavi yönteminde; tüm blastlar ortadan kaldırılarak, olası nüksü engellemek amaçlanır. Siklofosamid, etoposid, deksametason, sitarabin, yüksek doz sitozin arabinosid ve yüksek doz metotraksat kullanılmaktadır. Bazı protokollerde bu aşama, başlangıç tedavisinden sonra, SSS tedavisinden önce kullanılmaktadır veya hem başlangıçtan hemen sonra hem de SSS tedavisinden sonra uygulanmaktadır(2,5,90).

2.7.2.3. İdame Tedavisi

Altı aylık yoğun ilaç tedavisi ve düşük risk grupları haricinde kranial ışınlamadan 15-30 gün sonra, iyi klinik ve hematolojik bulgular varlığında yaklaşık 1,5 yıl süren bir tedavidir. İdame tedavisi, remisyonun devamlılığını sağlamak ve normal kemik iliği hematopoetik progenitörlerin korunması amacı ile uygulanmaktadır. Tedavi; günlük 6-merkaptopürin ve haftalık metatraksat dozlarından oluşmaktadır(91).

2.7.2.4. Relaps Tedavisi

ALL’li hastaların %25-30’unda relaps(hastalığın tekrarlanması) gelişmektedir. Relapsların %80’i kemik iliği, %12-16’sı merkezi sinir sistemi, %8’i ise testis relapsı şeklindedir. Tedavi kesildikten sonra oluşan geç relapslar, tedavi sırasında oluşan relapslardan daha iyi gidişlidir. Relapsların üçte biri kemoterapi kesildikten 6 ay veya daha sonra oluşmakta ve yeni kemoterapiye cevap vermektedir. Yeni tanı almış olgularda hayatta kalım oranları yüksek iken, relaps yapmış hastalarda bu oran oldukça düşüktür. Relaps tedavisinde hastanın önceden almış olduğu kemoterapi protokolünden daha yoğun bir protokol seçilmektedir(6,92).

2.7.2.5. MSS Profilaksisi ve Tedavisi

Remisyon sağlanan ALL olgularında lösemik menenjit gelişimini engellemek için MSS’ye lokal kemoterapi uygulanmaktadır. Bu profilaktik uygulama

yapılmadığında, özellikle çocuklarda hastalığın ilk nüks yerinin MSS olma olasılığı %50'den fazladır. MSS profilaksisi, remisyon indüksiyon kemoterapisinin hemen ardından uygulanmaktadır. En etkin yöntem kranial ışınlama(1800-2400 cGy) ile birlikte intratekal olarak yüksek dozda metatraksat uygulanmasıdır. Bu yaklaşımlarda %50 olan relaps oranının %5'lere indiği saptanmıştır. Bu uygulamalar sağ kalım oranını da arttırmaktadır(1,5).

2.7.2.6. Testiküler Lösemi Tedavisi

Testiküler lösemi tek veya çift taraflı ağrısız testis büyümesi ile kendini gösterebilmektedir. Bu durum testis biyopsisi yapılarak lösemik infiltrasyonun gösterilmesi ile kanıtlanmalıdır. Olguların %50'si tanıdan 3 yıl sonra görülmektedir. Bu hastalara kemoterapi ile 1200 cGy bilateral testiküler radyoterapi yapılmaktadır. İyi tedavi edilmemiş erkek çocuklarda %10 oranında geç relapslar gözlemlenmektedir(2,6).

2.7.3.Kemik İliği Transplantasyonu (KİT)

ALL'de multipl relaps yapmış veya tedaviye yanıt vermeyen hastalara kemik iliği transplantasyonu yapılmış ve bu vakaların ancak %10'unda sağ kalım elde edilmiştir. Daha sonra remisyon halinde nakil tercih edilmiştir. Genellikle 2. remisyonda KİT yapılmış ve sağ kalım oranı %27-40 olarak belirlenmiştir. Tek başına kemoterapi ile kötü prognoz gösteren Ph(+) ALL'lerde allojenik kök hücre transplantasyonu ile vakaların %38'inde hastalıksız sağ kalım sağlanabilmektedir. Yine t(4;11) saptanan ALL vakalarında KİT ile olumlu sonuçlar alınmaktadır. Uygun akraba veya akraba dışı vericisi olmayan hastalar için otolog kök hücre transplantasyonu ile birlikte yüksek doz kemoradyoterapi uygulanmaktadır(1,6).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, 2007-2009 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışma grubunu oluşturan hastalar; İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı; İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı; İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı; İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Çalışma grubunu, ALL tanısı konmuş 25 hasta oluşturmaktadır. 25 ALL'li olgunun yaşları 0-54 arasında olup, bunların 13'ü çocuk ve 12'si yetişkindir. 25 ALL'li olgunun 8'i kız ve 17'si erkektir. Bu hastalarda kemik iliği kültürü yapıldıktan sonra, konvansiyonel sitogenetik incelemenin(GTL bantlama) yapılması ve FISH yöntemi ile MLL gen bölgesindeki(11q23)yeniden düzenlenmelerin araştırılması planlanmıştır. Konvansiyonel sitogenetik yöntem ve FISH yöntemi ile elde edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.1.Kullanılan Araç ve Gereçler

- Etüv
- Santrifüj (Omni Spin)
- Vorteks (Velp Scientifica)
- Hotplate (Selecta)
- Manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica)
- Soğuk buhar cihazı (Sinbo)
- Hibridizasyon cihazı (Stat Spin)
- Su banyosu (Kottermann)
- Termometre ($^{\circ}\text{C}$)
- Laboratuar saati
- Enjektör
- Kültür tübü
- Terazi
- Derin dondurucu

- pH metre
- Işık mikroskobu (Leica)
- Fluoresan mikroskobu (Nikon)
- Mikropipet
- Nem ölçüm cihazı
- Şale
- Beher
- Pasteur pipeti
- Lam
- Lamel
- Santrifüj tübü (Eppendorf)

3.2.Kullanılan Çözeltiler

3.2.1.Kemik İliği Kültürü İçin Kullanılan Çözeltiler

- Heparin
- Hazır kromozom besiyeri (Fitohemaglutinsiz)
- Kolsemid
- ONC (Over Night Colchicin): 5 ml fitohemaglutinsiz hazır kromozom besiyeri içerisine 0,5 ml kolsemid konularak hazırlanır.
- 0,075M KCl : 5,6 gr KCl 1lt distile suda çözünür.
- Carnoy fiksatif : (Metanol:Asetik asit) (3:1)

3.2.2.GTL Bantlama İçin Kullanılan Çözeltiler

- Leishmann boya : 0,3 gr Leishmann boya üzerine 200 ml methanol eklenir. Manyetik karıştırıcıda en az 24 saat 65-70 °C’de karıştırılır.
- Salin : 9 gr NaCl üzerine 1 lt distile su eklenir.
- Buffer : 3,4 gr KH₂PO₄ üzerine 1 lt distile su eklenir ve pH : 6.8’e ayarlanır.
- Tripsin : 100 ml salin çözeltisi içerisine 0,05 gr tripsin konularak hazırlanır.

3.2.3.Fluoresan In Situ Hibridizasyon(FISH) Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

3.2.3.1. 20xSSC Stok Solüsyonu

- NaCl : 43,8 gr
- TriNaCitrat.2H₂O : 22,05 gr
- 250 ml distile suya tamamlanır ve pH : 7.0’ a ayarlanır.

3.2.3.2. 2xSSC

50 ml 20xSSC, 450 ml distile su ile 500 ml'ye tamamlanır ve pH : 7.0'a ayarlanır.

3.2.3.3. 0,4xSSC

10 ml 20xSSC ve 490 ml distile su ile 500 ml'ye tamamlanır ve pH : 7.0'a ayarlanır.

3.2.3.4. Alkolle Hazırlanan Çözeltiler

Oda ısısındaki % 70, % 85, % 100'lük etanol serileri hazırlanır.

- % 70'lik alkol :

70 ml etanol ve 30 ml distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

- % 85'lik alkol :

85 ml etanol ve 15 ml distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

- % 100'lük alkol :

100 ml etanol ile hazırlanır.

3.2.3.5. Rubber Solution(Yapıştırıcı)

Prob; preparat üzerine konduktan sonra üzeri lamelle kapatılıp, etrafı rubber solution(yapıştırıcı) ile yapıştırılır.

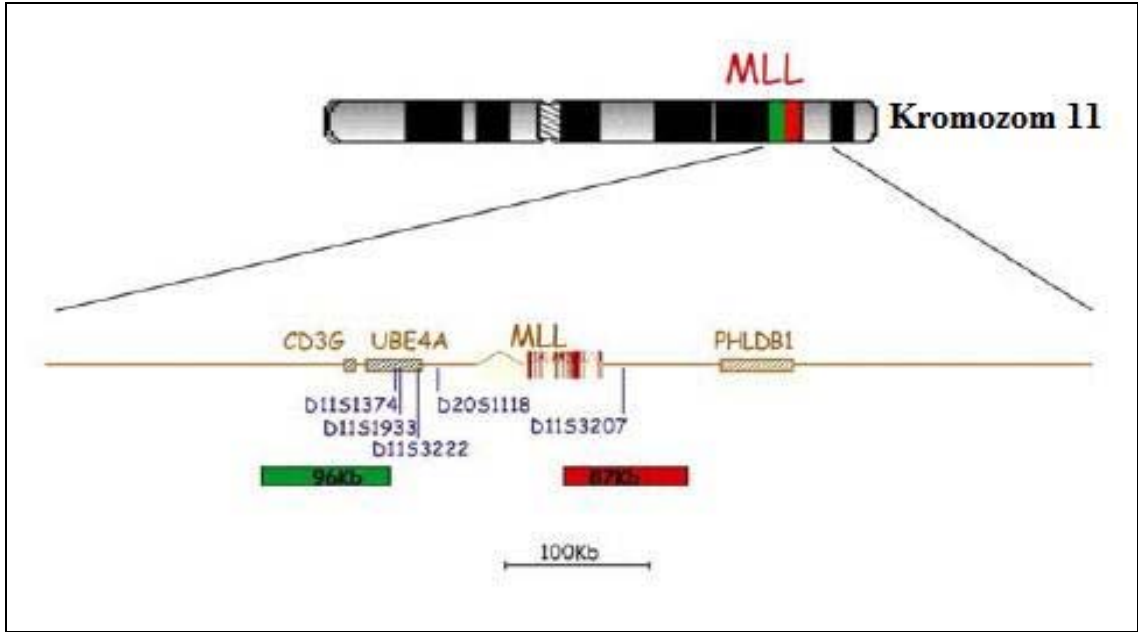
3.2.3.6. FISH Yönteminde Kullanılan Prob

3.2.3.6.1. MLL Breakapart Prob (Cytocell)

MLL breakapart prob karışımı, 5' uçtaki yeşil renkli prob ve 3' uçtaki kırmızı renkli probtan oluşmaktadır. 5' bölgedeki prob 96 kb uzunluğunda olup, CDG3 genine ve UBE4a geninin 16 kb'lık bir kısmına komplementerdir. 3' bölgedeki prob ise 87 kb uzunluğunda olup 5. eksonun 3' bölgesine komplementerdir(Şekil 3-1)(93).

MLL breakapart prob ile hem interfaz hem de metafaz plaklarında 11q23 bölgesinde meydana gelen yeniden düzenlenmeler tespit edilebilmektedir.

ALL olgularında gözlenen MLL geni yeniden düzenlemeleri iki renkli MLL breakapart DNA probunun kullanıldığı FISH yöntemi uygulanarak tanımlanmaktadır. Yeşil ve kırmızı işaretli iki probun karışımıyla hazırlanan MLL probu uygulandığında, normal kromozom 11’de kırmızı ve yeşil sinyal bir arada görülürken, MLL 11q23 bölgesinde oluşan yeniden düzenlemelerde bu sinyaller birbirinden ayrılmaktadır.



Şekil 3-1: MLL Breakapart Prob(93)

3.3.Yöntem

3.3.1.Kemik İliği Kültürü

Kültür ortamı olarak, hücre büyümesi için gerekli tüm aminoasit, glukoz, çeşitli tampon çözeltileri, vitaminleri, serum proteinlerini, antibiyotik+antimikotik maddeleri içeren ve fitohemaglutinin içermeyen RPMI 1640 medyum kullanılır.

Medyum 5'er ml'lik vidalı tüplere bölünür.

Her bir hasta için 2 tüpe 0,3 ml heparinize kemik iliği materyali ilave edilir.

Tüpler 37°C'lik etüvlere konur.

Kemik iliği ekimi yapılan 1. tüpe ekimden hemen sonra 100 µl ONC(Over Night Colchicin) konur. 2. tüpe ise ekimi takip eden 22. saatte hücreleri metafazda durdurmak amacıyla, iğ ipliklerini bloke eden 100 µl Colcemid konur ve 2 saat beklenir.

24. saatte hücreler santrifüj edilir ve hipotonik şok için 7 ml KCL ile muamele edilir ve 20 dakika etüvde bekletilir.

Daha sonra yine santrifüj edilen hücreler 3:1 oranında hazırlanan metanol:asetik asit karışımından oluşan Carnoy fiksatif ile fikse edilirler.

Fiksatifle yıkama işlemi en az 3 kez tekrarlanır.

3.3.2.GTL Bantlama

Kemik iliği kültürü ile elde edilmiş olan hücreler; temizlenmiş lamlar üzerine, materyalin yoğunluğuna göre 5-6 damla damlatılır ve hücreleri fiske etmek amacıyla lamın üzerine 2-3 damla Carnoy fiksatif damlatılır.

Preparatlar 35 °C'de kurumaya bırakılır.

Preparatlar kuruduktan sonra kaliteli ve yeterli metafaz plağının olup olmadığı ışık mikroskobunda kontrol edilir.

Hazırlanan preparatlar 5-6 saat 90 °C'de bekletilir.

Bu işlemi takiben preparatların bantlanması aşamasına geçilir.

Preparat sırasıyla uygun sürelerde tripsin, salin ve buffer ile muamele edilir.

0,5 ml Leishmann boya ve 2,5 ml buffer ile hazırlanan çözelti, preparat üzerinde uygun sürelerde bekletilir.

GTL yöntemi ile boyanmış preparatlar ışık mikroskobunda incelenerek analiz edilirler.

3.3.3.Fluoresan In Situ Hibridizasyon(FISH) Yöntemi

3.3.3.1.Preparat Hazırlığı

Kemik iliği kültürü ile elde edilmiş olan hücreler; temizlenmiş lam üzerine, materyalin yoğunluğuna göre lamın ilk yarısına 3-4 damla damlatılır ve hücreleri fiske etmek amacıyla lamın üzerine 2-3 damla Carnoy fiksatif damlatılır.

Preparat, oda sıcaklığında kurumaya bırakılır.

Preparat kuruduktan sonra kaliteli ve yeterli interfaz hücrelerinin olup olmadığı ışık mikroskobunda kontrol edilir.

Hazırlanan preparata aynı gün içerisinde FISH yöntemi uygulanmaya başlanır.

Preparat, oda sıcaklığındaki 2xSSC (pH : 7.0) içerisinde 2 dakika bekletilir.

2xSSC'den çıkarılan preparat, etanol serileri ile muamele edilir. Oda sıcaklığında bulunan % 70, % 85, % 100'lük etanol içerisinde 2'şer dakika dehidrate edilir.

Preparat, oda sıcaklığında kurumaya bırakılır.

3.3.3.2.Prob Hazırlığı

Prob hazırlanırken ortam mümkün olduğunca karanlık olmalıdır.

-20 °C'de saklanan prob oda sıcaklığına getirilir.

Prob, 1 dakika boyunca vortekslenir ve 1 dakika santrifüj edilir.

Probun stok solüsyonu içerisinde 10 µl prob alınarak santrifüj tübüne konur.

Santrifüj tübü içerisindeki prob, 1 dakika santrifüj edilir.

Prob 37 °C'deki su banyosunda 30 dakika bekletilir.

Hazırlanan preparat ve lamel de 37 °C'deki hibridizasyon cihazı üzerinde 30 dakika bekletilir.

30 dakika sonunda prob su banyosundan, preparat ve lamel de hibridizasyon cihazından çıkarılır.

Santrifüj tübünden 10 µl prob alınarak, hazırlanmış olan preparatın ilk yarısına konur ve üzeri lamelle kapatılır.

Preparat üzerindeki lamelin etrafı probun kurumaması için bir yapıştırıcı(rubber solution) ile kapatılır.

3.3.3.3.Denatürasyon

Prob konduktan sonra üzeri kapatılan preparat; prob ve hedef DNA'nın denatüre olması için ısıtma tablası üzerinde 74°C'de 5 dakika bekletilir.

3.3.3.4.Hibridizasyon

Preparat, nemli ve karanlık ortam koşullarını sağlayan 37°C'deki hibridizasyon cihazında 16-17 saat bekletilir.

3.3.3.5.Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

Ortam mümkün olduğunca karanlık olmalıdır.

Hibridizasyon cihazından çıkarılan preparatın üzerindeki yapıştırıcı ve lamel kaldırılır.

Preparat, 72°C'deki 0,4×SSC (pH:7.0) içerisinde 1 dakika bekletilir.

Oda sıcaklığındaki 2×SSC (pH:7.0) içerisinde 30 saniye bekletilir.

Preparat kurumaya bırakılır.

Kuruyan preparat üzerine 10 µl DAPI-Antifade konur ve üzeri lamelle kapatılır.

Preparat +4°C'de 1-2 saat bekletildikten sonra floresan mikroskopunda incelenerek uygun interfaz ve metafazlar görüntüleme sisteminde fotoğraflanır.

3.4.Sonuçların Değerlendirilmesi

GTL bantlama yönteminde 3-30 metafaz plağı sayıldı. Kromozomlar, ISCN (International System for Human Cytogenetic Nomenclature) sınıflandırmasına göre değerlendirilip; karyotip, ISCN kurallarına uygun bir şekilde yazıldı.

Floresan In Situ Hibridizasyon yönteminde her olgu için 200 interfaz hücresi sayıldı. Nukleus sınırları belirgin olan ve sinyalin güçlü olduğu, net görülebildiği hücreler değerlendirmeye alındı. Mikroskopun ince ayarı kullanılarak farklı derinliklerde bulunan sinyallerin görünmesi sağlandı. İki sinyal arasındaki mesafe bir sinyalden daha fazla ise bu sinyaller iki ayrı sinyal olarak değerlendirildi. Hücreler tek tek incelenerek; füzyon sinyalleri, yeşil ve kırmızı sinyaller sayıldı.

4.BULGULAR

Bu çalışmada; yeni tanı almış ve tedavi aşamasındaki 25 erişkin ve çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemili olgu ile çalışılmıştır. Bu olgular, 0-54 yaşları arasındadır. Ortalama yaş 18,80 olarak hesaplanmıştır. 0-7 yaş arası olguların ortalama yaşı 4,33; 10-17 yaş arası olguların ortalama yaşı 13,28; 18-54 yaş arası olguların ortalama yaşı ise 29,25'dir. 0-7 yaş arası olgular tüm olguların %24'ünü, 10-17 yaş arası olgular tüm olguların %28'ini, 18-54 yaş arası olgular tüm olguların %48'ini oluşturmaktadır. Tüm olguların %48'ini erişkinler(18-54 yaş arası), %52'sini çocuklar(0-17 arası) oluşturmaktadır. Erkeklerin kızlara oranı ise 2,12(17/8)'dir.

25 akut lenfoblastik lösemi olgusundan alınan kemik iliği aspirasyon materyalinden kemik iliği kültürü yapıldıktan sonra, konvansiyonel sitogenetik inceleme(GTL bantlama) yapıp, FISH yöntemi ile MLL gen bölgesindeki(11q23) yeniden düzenlenmeler araştırılmıştır. Konvansiyonel sitogenetik yöntem ve FISH yöntemi ile elde edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. 25 ALL olgusuna yapılan GTL bantlama ve FISH analizi sonuçları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1: 25 ALL olgusunun GTL bantlama ve FISH analizi sonuçları

Hasta No	Ad Soyad	Yaş Cinsiyet	Tanı/Durum	GTL Bantlama	FISH (MLL)
1	F.A.	44y / E	ALL yeni tanı	46,XY[16]	N(189);-11(6);+11(1);+11,+11(4)
1'	F.A.	44y / E	ALL tedavi	46,XY[22]	N(188);-11(8);+11(1);+11,+11(1);-11,del(dis)(2)
2	A.A.	11y / K	ALL yeni tanı	47~53,XX,add(1)(q42)[20],+11[15],add(11)(q23)[18],-13[3],+14[8],+17[6],+21[10],+21[5],+22[2],+mar1[3],+mar2[2],+mar3[2][cp20]	N(183);-11(3);+11(8);+11,+11(3);-11,-11,del(pro),del(pro)(2);-11,tr(1)
3	M.M.G.	7y / E	ALL yeni tanı	DMB	N(199);-11(1)
4	H.Ü.	1ay / K	common B-ALL yeni tanı	38~42,XX,-15[cp3]/46,XX[16]	N(182);-11(5);+11(3);+11,+11(2);-11,-11,del(pro),del(pro)(1);-11,del(pro),+del(pro)(1);+del(pro)(3);-11,del(pro)(1);-11,tr(2)
5	S.Ç.	28y / E	B-ALL yeni tanı	38~45,XY,-4[4],-6[4],-7[3],-8[3],-13[3],-16[3],-19[4],-20[3][cp11]/46,XY[10]	N(188);+11(1);+del(pro)(1);-11,tr(1);-11(8)
5'	S.Ç.	28y / E	B-ALL tedavi	36~45,XY,-Y[5],-1[5],-4[3],-9[3],-10[5],-13[4],-19[5][cp13]/92,XXYY[2]/46,XY[13]	N(185);+11(1);+del(pro)(3);-11,tr(7);+11,+11(2);-11,-11,tr(1);+del(dis)(1)
5"	S.Ç.	28y / E	B-ALL tedavi	46,XY[16]	N(193);-11(3);+11,+11(2);+11,+11,+del(dis)(1);+del(pro),+del(pro)(1)
6	A.Ö.	32y / K	B-ALL yeni tanı	41~46,XX,add(11)(q25)[3],-17[4],-21[9],+mar1[9],+mar2[8][cp9]/46,XX[3]	N(183);-11(7);+11(3);+11,+11(1);-11,del(dis)(3);-11,-11,del(pro),del(pro),+del(pro)(1);-11,-11,del(pro),del(pro)(2)
6'	A.Ö.	32y / K	B-ALL tedavi	42~45,XX,-12[cp4]/92,XXXX[2]/46,XX[18]	N(198);-11(1);+11(1)
6"	A.Ö.	32y / K	B-ALL tedavi	46,XX[22]	N(192);-11(3);+11,+11(4);-11,del(pro)(1)
7	D.M.	31y / E	T-ALL yeni tanı	DMB	N(195);-11(4);-11,del(dis)(1)
7'	D.M.	31y / E	T-ALL tedavi \P.kanı	42~46,XY,-21[cp3]/46,XY[29]	N(198);-11(1);+11,+11(1)

DMB: Değerlendirilecek metafaz bulunamadı, P.kanı: Perifer kanı, del:delesyon, tr:translokasyon, pro:proksimal, dis:distal

Tablo 4.1'in devamı: 25 ALL olgusunun GTL bantlama ve FISH analizi sonuçları

8	S.G.	54y / K	common B-ALL \L2 yeni tanı	DMB	N(196);-11(3);-11,del(pro)(1)
8'	S.G.	54y / K	common B-ALL\L2 tedavi	45,XX,t(9;22)(q34;q11)[cp2]/46,XX[16]	N(191);-11(5);+11(3);+11,+11(2);-11,tr(1)
9	S.G.	24y / K	ALL - L2 tedavi	92,XXXX[2]/46,XX[17]	N(196);-11(2);+11,+11,+11(1);-11,del(dis)(1)
10	C.E.A.	6y / E	ALL-L1 standart risk idame	46,XY[27]	N(196);+del(dis)(1);-11,del(dis)(1);-11,tr(2)
11	A.M.Y.	16y / E	B-ALL yüksek risk remisyon	46,XY[29]	N(187);-11(6);-11,del(pro)(2);-11,del(dis)(1);-11,-11,del(pro),del(pro)(1);-11,tr(2);-11,-11,tr(1)
12	S.S.	27y / E	B-ALL \ L3 tedavi	40~46,XY,dup(1)(q23q32)[25],del(6)(q23)[3],t(8;14)(q24;q32)[21][cp25]	N(196);-11(3);-11,del(dis)(1)
13	E.A.	18y / E	ALL-L1 relaps	46,XY[20]	N(190);-11(10)
14	A.B.H.	7y / E	ALL-L1 yeni tanı	46~60,<2n>,XY,+5[2],+11[2],+17[2],+18[2],+21[2],+22[2],+mar[2][cp3]/ 46,XY[20]	N(151);-11(1);+11(49)
15	C.T.Ç	22y / E	T-ALL tedavi	46,XY[3]	N(5);-11(179);-11,del(pro)(8);-11,del(pro),+del(pro),+del(pro)(2);-11,del(pro),+del(pro)(1);-11,tr(6);-11,-11,tr(1);-11,tr,+del(pro)(1)
16	Ş.S.	10y / K	T-ALL yüksek risk tedavi	46,XX[19]	N(178);-11(5);+11(1);+11,+11(1);+del(dis),+del(dis)(3);+del(pro)(2);+del(dis)(3);+tr(1);-11,tr,çok sayıda+del(dis)(2);-11,del(dis), çok sayıda +del(pro)(3);-11,tr,+del(dis),+del(dis)(1)

DMB: Değerlendirilecek metafaz bulunamadı, P.kanı: Perifer kanı, del:delesyon, tr:translokasyon, pro:proksimal, dis:distal

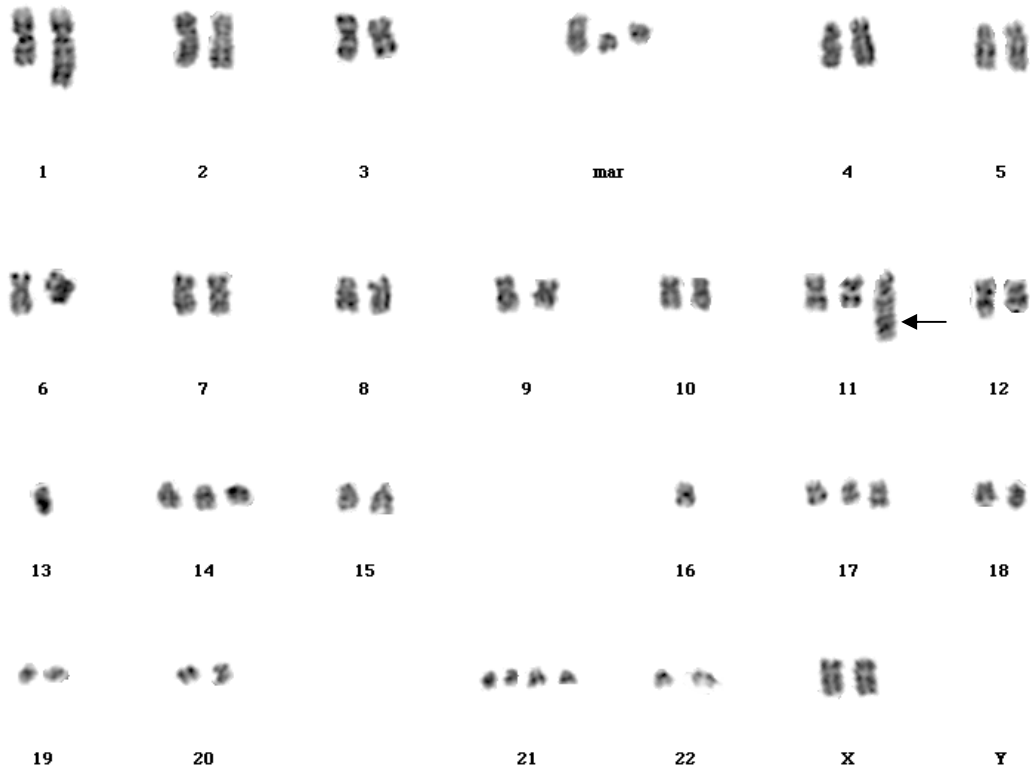
Tablo 4.1'in devamı: 25 ALL olgusunun GTL bantlama ve FISH analizi sonuçları

17	E.S.	22y / E	B-ALL remisyon	46,XY,t(4;6)(q35;q24)[4]/46,XY[12]	N(91);-11(1);+11(1);+11,+11(1);+del(dis)(33);+tr,+tr(1); +del(dis),+del(dis)(37);+tr(7);+del(dis),+del(dis),+del(dis)(10); +tr,+del(dis),+del(dis),+del(dis)(1);-11,tr(1);+tr,+del(dis),+del(dis)(2); +11,+del(dis)(1);+11,+del(dis),+del(dis),+del(dis),+del(dis)(1);+del(dis), +del(dis),+del(dis),+del(dis)(3);+del(dis),+del(dis),+del(dis),+del(dis), +del(dis)(2);-11,tr,+del(pro)(1);+del(pro)(2); -11,del(pro)(1),-11,tr,+tr,çok sayıda +del(dis)(1)
18	F.B.	13y / E	T-ALL tedavi	46,XY[18]	N(196);-11(4)
19	B.K.	11y / E	preB- ALL/ L2 relaps tedavi	44~46,XY,-21[cp3]/46,XY[19]	N(196);-11(1);+11(1);+11,+11(1);+del(pro)(1)
20	Y.E.S	2y / E	ALL tedavi	46,XY[15]	N(195);-11(3);+del(pro)(1);-11,del(dis)(1)
21	E.L.	28y / E	B-ALL tedavi	46,XY[17]	N(195);-11(1);+11(1);+11,+11(3)
21'	E.L.	28y / E	B-ALL yeni tanı P. kanı	DMB	N(76);-11(13);-11,tr(81);-11,del(dis)(12);+tr(1);+del(pro)(2); -11,del(dis),+del(dis)(1);-11,-11,tr(5);-11,tr,+del(pro)(5);-11,-11,tr,tr(3); -11,tr,+tr,+del(pro)(1);-11,del(pro)(1)
22	Y.B.	15y / E	ALL yüksek risk tedavi	38~45,XY,-22[cp3]/46,XY[18]	N(189);-11(6);+11(2);+11,+11(1);+del(pro)(1);-11,tr(1)
23	E.A.	20y / K	B-ALL tedavi	46,XX[17]	N(184);-11(9);+11(3);+11,+11(4)
24	H.K.	4y / E	B-ALL tedavi	45~46,XY,+3[2],del(3)(q13q23)[2],del(9)(q11q21)[4], +mar[2][cp5]/ 46,XY[16]	N(189);-11(3);+11(3);+11,+11(3);+del(pro),+del(pro)(1);+del(dis)(1)
25	B.K.	17y / K	preB- ALL yeni tanı	39~45,XX,add(6)(q12)[cp2]/46,XX[1]	N(189);-11(6);+11(2);+del(pro)(3)

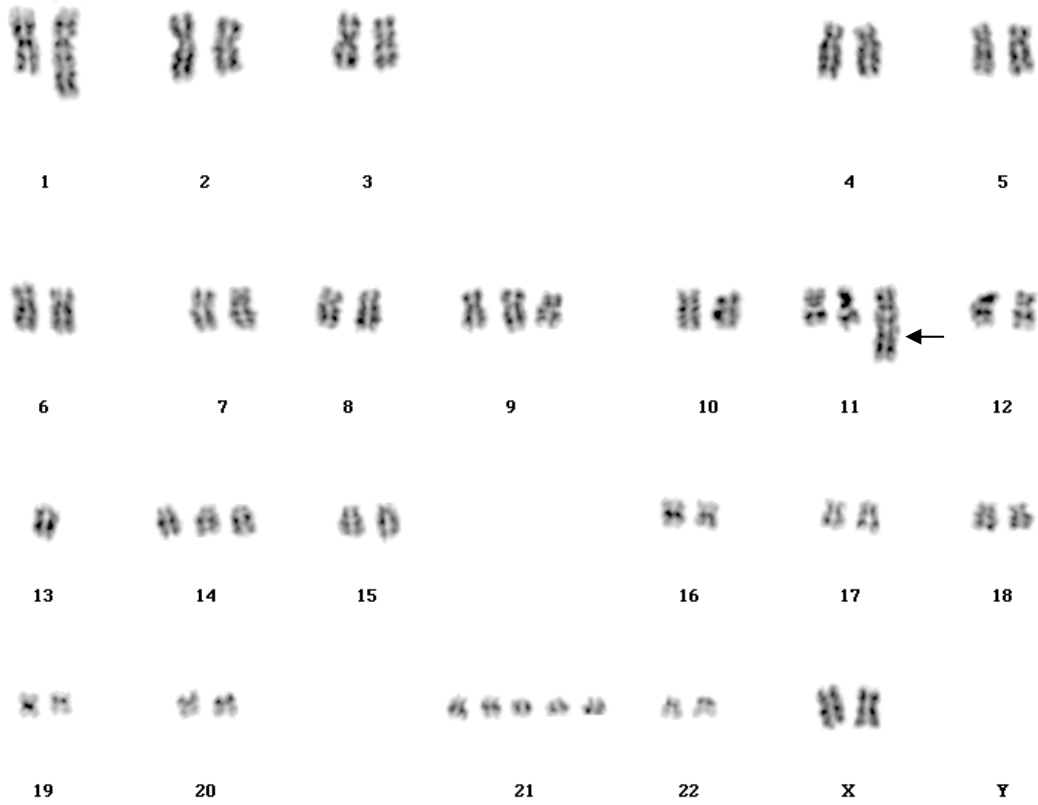
DMB: Değerlendirilecek metafaz bulunamadı, P.kanı: Perifer kanı, del:delesyon, tr:translokasyon, pro:proksimal, dis:distal

Olgu 1; 44 yaşında ALL tanısı yeni konmuş erkek bir hastadır. GTL bantlama sonucunda karyotipi; 46,XY[16] olarak belirlenmiştir. FISH çalışmasında ise; incelenen interfaz nukleusunun 189'u normal, 6'sında monozomi 11, 1'inde trizomi 11 ve 4'ünde tetrazomi 11 saptanmıştır. Bu olguya tedavi aşamasında yapılan GTL bantlamada karyotipi; 46,XY[22] olarak belirlenmiştir. FISH çalışmasında ise; incelenen 200 interfaz nukleusunun 188'i normal, 8'inde monozomi 11, 1'inde trizomi 11 ve 1'inde tetrazomi 11 ve 2'sinde MLL geninin distalinin delesyona uğradığı saptanmıştır.

Olgu 2; 11 yaşında ALL tanısı yeni konmuş bir kızdır. GTL bantlama sonucunda karyotipi; 47~53,XX,add(1)(q42)[20],+11[15],add(11)(q23)[18],-13[3],+14[8],+17[6],+21[10],+21[5],+22[2],+mar1[3],+mar2[2],+mar3[2][cp20] olarak belirlenmiştir(Şekil 4.1, Şekil 4.2). FISH çalışmasında ise; incelenen 200 interfaz nukleusunun 183'ü normal, 3'ünde monozomi 11, 8'inde trizomi 11 ve 3'ünde tetrazomi 11, 2'sinde her iki 11.kromozomdaki MLL geninin distalinin delesyona uğradığı saptanmıştır. 1'inde ise tek bir 11.kromozomda translokasyon meydana gelmiştir.



Şekil 4-1: add(11q23) görülen çocukluk çağı ALL olgusuna(Olgu 2) ait karyotip örneği(1)



Şekil 4-2: add(11q23) görülen çocukluk çağı ALL olgusuna(Olgu 2) ait karyotip örneği(2)

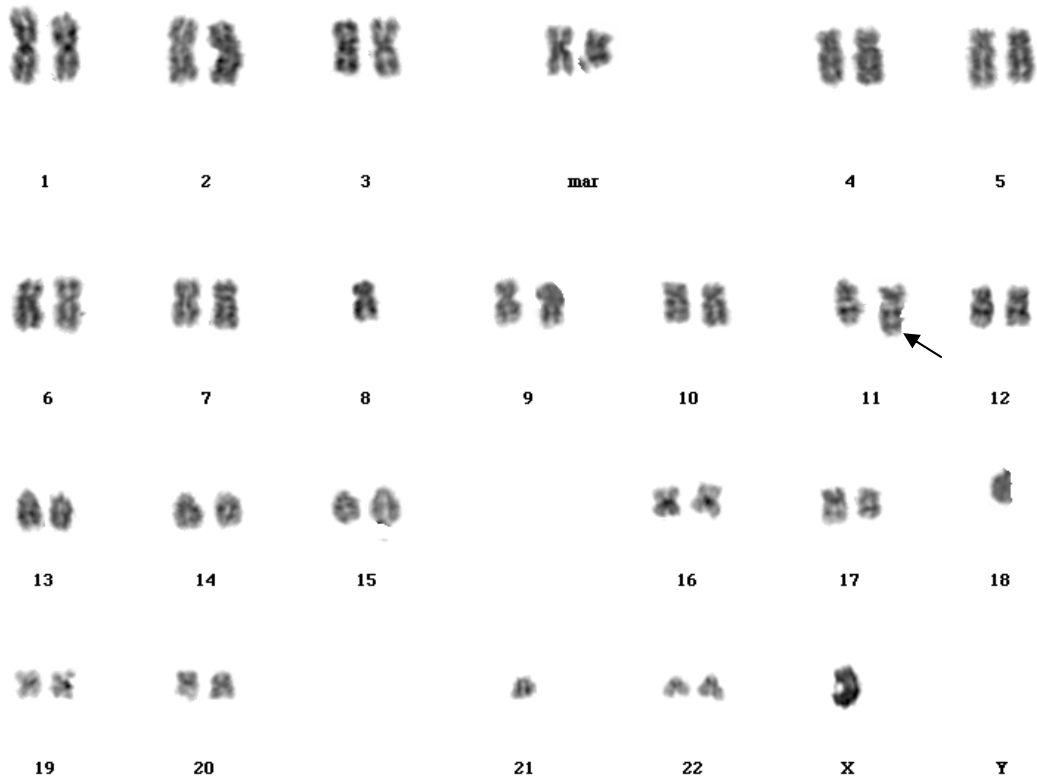
Olgu 3; 7 yaşında ALL tanısı yeni konmuş erkek bir hastadır. Yapılan GTL bantlamada değerlendirilecek metafaz bulunamamıştır. FISH çalışmasında ise; incelenen 200 interfaz nükleusunun 199'u normal, 1'inde monozomi 11 görülmüştür.

Olgu 4; 1 aylık, common B-ALL immünofenotipindeki, yeni tanı konmuş bir kızdır. GTL bantlama sonucunda karyotipi; 38~42,XX,-15[cp3]/46,XX[16] olarak belirlenmiştir. FISH yöntemiyle incelenen 200 interfazın 182'si normal, 5'inde monozomi 11, 3'ünde trizomi 11, 2'sinde tetrazomi 11 tespit edilmiştir. 2 interfaz nükleusunda translokasyon ve diğer interfaz nükleuslarında ise değişen sayılarda MLL geninin 5' ucundaki proksimal sinyalin delesyona uğradığı belirlenmiştir.

Olgu 5; yeni tanı almış, B-ALL immünofenotipindeki, 28 yaşındaki erkek bir hastadır. Bu olgumuzdan yeni tanı alındığında ve tedaviye başladıktan sonra belirli aralıklarla(40-200 gün) kemik iliği aspirasyon materyali alınmış ve yapılan G-bantlama sonuçlarında çeşitli kromozom sayı anomalileri saptanmıştır. Bu anomalilerden monozomi 19 ilk iki G-bantında devam etmekteyken, üçüncü kez yapılan G-bantlamada karyotip 46,XY[16] olarak belirlenmiştir. FISH sonuçlarında ise; yeni

tanı aldığında bir interfazda translokasyon saptanırken, tedavi aşamasında 40 gün sonra alınan kemik iliği aspirasyon materyalinde 8 adet interfaz nukleusunda translokasyon tespit edilmiştir. Genin distal ve proksimal ucunda değişen sayılarda delesyon görülmüştür.

Olgu 6; 32 yaşında, yeni tanı almış, B-ALL immümfentipindeki kadın bir hastadır. Bu olguya yeni tanı aldığında kemik iliği aspirasyon materyalinden GTL bantlama yapılmış ve bunun sonucunda karyotipi 41~46,XX,add(11)(q25)[3],-17[4],-21[9],+mar1[9],+mar2[8] [cp9]/46,XX[3] olarak belirlenmiştir(Şekil 4.3). Bu hastadan tedavi aşamasında belirli aralıklarla kemik iliği aspirasyon materyali alınmış ve GTL bantlama yönteminde 11q23 gen bölgesinde herhangi bir yeniden düzenlenmeye rastlanmamıştır. Bu olguda yapılan interfaz FISH çalışmasında; incelenen 200 interfaz nukleusunun 183'ü normal, 7'sinde monozomi 11, 3'ünde trizomi 11, 1'inde tetrazomi 11 bulunmaktadır. 3 interfaz nukleusunda genin 3' ucundaki distal sinyalin, 2 interfazda ise proksimal sinyallerin delesyona uğradığı görülmüştür. 1 interfaz nukleusunda her iki kromozomda da genin 5' ucundaki proksimal sinyalin delesyona uğradığı ve fazladan bir distal sinyalin olduğu görülmektedir. Tedavi aşamasında yapılan FISH çalışmalarında 11.kromozomla ilişkili kromozom sayı anomalileri ve genin 3' ucundaki delesyon devam etmektedir.



Şekil 4-3: add(11q25) görülen erişkin ALL olgusuna(Olgu 6) ait karyotip örneği

Olgu 7; yeni tanı almış, T-ALL immünotipindeki, 31 yaşında erkek bir hastadır. Yeni tanı alındığında yapılan GTL bantlamada değerlendirecek metafaz bulunamayıp, tedavi aşamasında perifer kanından yapılan analiz sonucunda karyotipi; 42~46,XY,-21[cp3]/46,XY[29] olarak belirlenmiştir. FISH çalışmasında; incelenen 200 interfaz nukleusunun 195'i normal, 4'ünde monozomi 11, 1'inde genin distaline ait sinyalin delesyonu saptanmıştır. Tedavi aşamasında; monozomi 11, tek bir interfaz nukleusunda devam ederken, 1 interfaz nukleusunda tetrazomi 11 görülmüştür.

Olgu 8; 54 yaşında, common B-ALL ve L2 tipindeki, yeni tanı almış, kadın bir hastadır. İlk yapılan GTL bantlamada metafaz bulunamayıp, tedavi aşamasında 2 metafaz plağında t(9;22)(q34;q11)'e rastlanmıştır FISH çalışmasında; 3 interfaz nukleusunda monozomi 11 ve diğer bir nukleusta genin proksimal ucuna ait delesyon görülmüştür. 196 interfaz nukleusunda ise 2 füzyon sinyali görülmüştür. Tedavi aşamasında ise monozomi 11, 5 interfaz nukleusunda; bunun yanında 5 interfaz nukleusunda daha kromozom sayı anomalileri ve 1 interfaz nukleusunda translokasyon görülmüştür.

Olgu 9; FAB tipi L2 olan 24 yaşında kadın bir hastadır. GTL bantlamasında karyotipi; 92,XXXX[2]/46,XX[17] olarak belirlenmiştir. FISH çalışmasında ise; incelenen 200 interfaz nukleusunun 196'sı normal, 2'sinde 1 adet 11.kromozom; 1'inde 5 adet 11.kromozom ve 1'inde de genin distalinde delesyon görülmüştür.

Olgu 10; 6 yaşında, L1 tipinde, standart risk grubunda ve idame tedavisi gören erkek bir hastadır. GTL bantlamada 11.kromozomla ilişkili anomaliye rastlanmamıştır. FISH analizinde ise; incelenen 200 interfaz nukleusunun 196'sı normal, 1'inde genin 3' ucuna ait fazladan 1 adet sinyal gözlenirken, bir diğer nukleusta genin 3' ucuna ait distal sinyal delesyona uğramıştır. 2 interfaz nukleusunda da translokasyon görülmüştür.

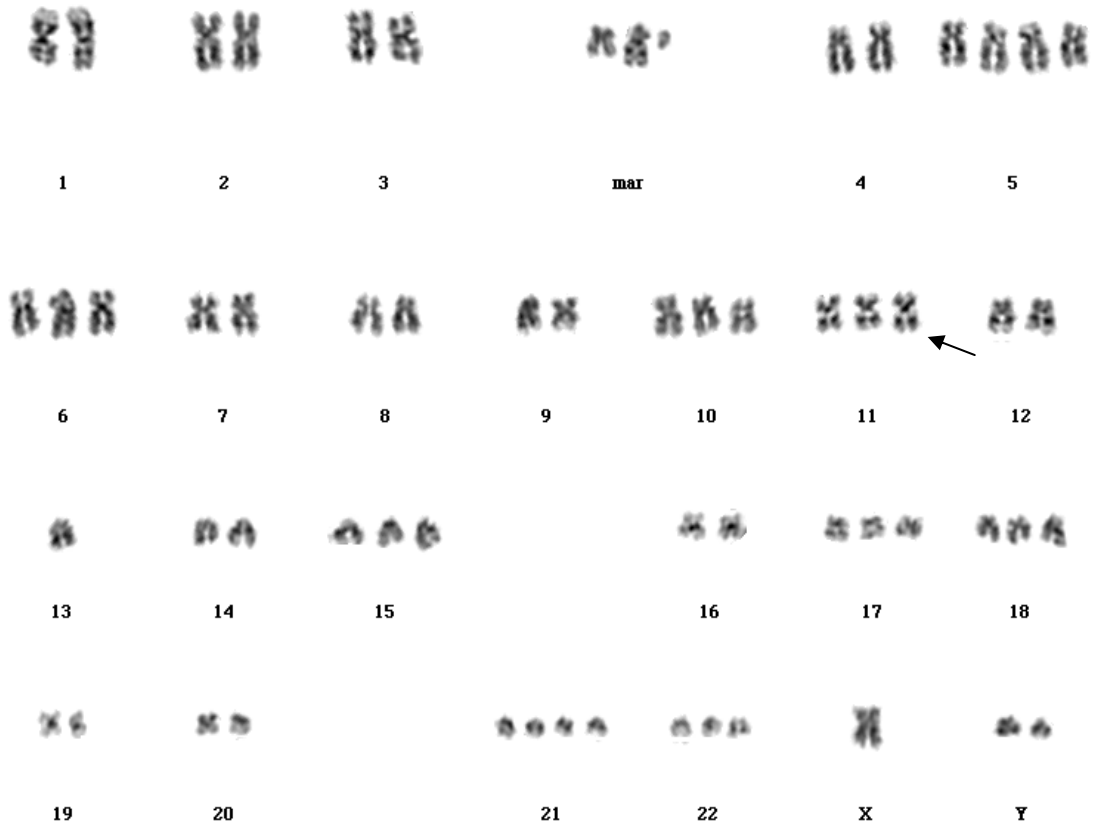
Olgu 11; 16 yaşında, yüksek risk grubunda ve remisyonda olan erkek bir hastadır. GTL bantlamada 11.kromozomla ilişkili anomaliye rastlanmamıştır. FISH analizinde; incelenen 200 interfaz nukleusunun 187'si normal, 6'sında monozomi 11, 2'sinde genin 5' ucundaki sinyalin delesyonu, 1'inde genin 3' ucundaki sinyalin delesyonu, 1'inde de her iki 11.kromozoma ait 5' uçtaki sinyallerin delesyona uğradığı görülmüştür. Bunların beraberinde 3 interfazda translokasyon görülmüştür.

Olgu 12; 27 yaşında, B-ALL immünotipine sahip, FAB tipi L3 olan tedavi aşamasındaki erkek bir hastadır. Yapılan GTL bantlamada karyotipi;

40~46,XY,dup(1)(q23q32)[25],del(6)(q23)[3],t(8;14)(q24;q32)[21][cp25] olarak belirlenmiştir. FISH analizinde; incelenen 200 interfaz nukleusunun 196'sı normal, 3'ünde monozomi 11 görülürken, 1'inde genin 3' ucundaki sinyalin delesyona uğradığı görülmüştür.

Olgu 13; 18 yaşında, FAB tipi L1 olan relaps olmuş erkek bir hastadır. Bu hastanın GTL bantlamasında karyotip; 46,XY[20] olarak belirlenmiş ve FISH analizinde 10 interfaz nukleusunda monozomi 11 görülürken, 190 interfaz nukleusunda 2 füzyon sinyali alınmıştır.

Olgu 14; 7 yaşında, FAB tipi L1 olan yeni tanı almış erkek bir hastadır. Yapılan GTL bantlamada karyotipi; 46~60,<2n>,XY,+5[2],+11[2],+17[2],+18[2],+21[2],+22[2],+mar[2] [cp3]/46,XY[20] olarak belirlenmiştir(Şekil 4.4). GTL bantlama ile incelenen 20 metafazın 2'sinde trizomi 11 görülürken; FISH analizinde 200 interfazın 49'unda trizomi 11 görülmüştür.



Şekil 4-4: Trizomi 11 görülen çocukluk çağı ALL olgusuna(Olgu 14) ait karyotip örneği

Olgu 15; 22 yaşında, T-ALL immünofenotipine sahip, tedavi aşamasındaki erkek bir hastadır. Bu olguda incelenen 3 metafazın 3'ünde de 11q23 gen bölgesine ait anomali görülmemiş, karyotipleri 46,XY olarak bulunmuştur. Yapılan FISH analizinde; 5 interfaz nükleusunda 2 adet 11.kromozom, 179 interfaz nükleusunda monozomi 11 saptanmıştır. 6 interfaz nükleusunda 1 adet 11.kromozomda translokasyon görülmüştür. 1 interfaz nükleusunda normal 11.kromozomlar görülmemiş sadece translokasyona uğrayan 11.kromozom, bir diğerinde de translokasyona uğramış olan 11.kromozom yanında genin proksimal ucuna ait fazladan sinyal görülmüştür.

Olgu 16; tedavisi devam etmekte olan 10 yaşında, T-ALL immünofenotipine sahip, yüksek risk grubundaki kız bir hastadır. Bu olguda; G-bantlama ile 19 metafazda 46,XX karyotipi saptanırken, interfaz FISH yöntemi ile incelenen 200 interfaz nükleusunun 178'i normal, 5'inde monozomi 11, 1'inde trizomi 11, 1'inde tetrazomi 11 olduğu tespit edilmiştir. Diğer interfaz nükleuslarında ise değişken sayılarda genin distal ve proksimal ucuna ait fazladan sinyaller tespit edilmiştir.

Olgu 17; 22 yaşında, B-ALL immünofenotipinde remisyonunda olan erkek bir hastadır. Bu olguda G-bantlama yöntemi ile 46,XY,t(4;6)(q35;q24)[4]/46,XY[12] karyotipi elde edilmiştir. Bu olgunun FISH çalışmasında; 91 interfaz nükleusunda 2 adet 11.kromozom olduğuna dair 2 füzyon sinyali görülürken, diğer 109 interfaz nükleusunda ise sayıları değişkenlik gösteren genin distal ucuna ait fazladan sinyaller görülmüştür.

Olgu 18; 13 yaşında, T-ALL immünofenotipine sahip tedavi aşamasındaki erkek bir hastadır. Bu olgunun karyotipi; 46,XY[18] olarak belirlenmiştir. FISH analizinde incelenen 200 interfaz nükleusunun 196'sı normal, 4'ünde monozomi 11 görülmüştür.

Olgu 19; tedavisi devam etmekte olan 11 yaşında, preB-ALL immünofenotipine sahip, L2 tipinde, relaps olmuş erkek bir hastadır. Yapılan GTL bantlamada karyotipi; 44~46,XY,-21[cp3]/46,XY[19] olarak belirlenmiştir. FISH analizinde; incelenen 200 interfaz nükleusunun 196'sı normal, 1'inde monozomi 11, 1'inde trizomi 11, 1'inde tetrazomi 11 ve 1'inde de genin 5' ucuna ait fazladan sinyal olduğu tespit edilmiştir.

Olgu 20; tedavisi devam etmekte olan 2 yaşında erkek bir hastadır. Bu olguda yapılan GTL bantlama ile 11.kromozomla ilişkili anomali görülmemiştir. FISH analizinde; incelenen 200 interfaz nükleusunun 195'i normal, 3'ünde monozomi 11, 1'inde genin 5' ucuna ait fazladan sinyal, 1'inde de genin 3' ucuna ait sinyalin delesyona uğradığı görülmüştür.

Olgu 21; B-ALL immüfenotipindeki 28 yaşında, tedavisi devam etmekte olan erkek bir hastadır. Bu olgunun perifer kanında yapılan sitogenetik inceleme sonucunda değerlendirilecek metafaz bulunamamıştır. Tedavi başladıktan sonra alınan kemik iliği aspirasyon materyalinde karyotip 46,XY[17] olarak belirlenmiştir. FISH sonuçlarında ise perifer kanında incelenen 200 interfaz nükleusunun 81'inde sadece tek bir 11.kromozomda yeniden düzenlenme gözlenirken, 5'inde ise her iki 11.kromozom bulunmazken sadece translokasyona uğramış tek bir 11.kromozom gözlenmiştir. 3'ünde her iki kromozomda da yeniden düzenlenme, 1'inde 2 adet 11.kromozomun dışında translokasyona uğramış 1 adet 11.kromozom ve 1'inde de normal 11.kromozom ve translokasyona uğramış olan 11.kromozomun yanında fazladan bir translokasyona uğramış 11.kromozom, bir de genin 5' ucundaki bölgenin delesyonu görülmüştür. 76 interfaz nükleusu normal görülmüştür. Kemik iliği aspirasyon materyalinde ise sadece kromozom sayı anomalileri tespit edilmiştir.

Olgu 22; tedavisi devam etmekte olan 15 yaşında, yüksek risk grubundaki erkek bir hastadır. GTL bantlamada ile karyotipi; 38~45,XY,-22[cp3]/46,XY[18] olarak belirlenmiştir. FISH analizinde ise; incelenen 200 interfazın 189'u normal, 6'sında monozomi 11, 2'sinde trizomi 11, 1'inde tetrazomi 11, 1'inde genin 5' ucuna ait fazladan sinyal ve 1'inde de translokasyon görülmüştür.

Olgu 23; 20 yaşında, tedavisi devam etmekte olan B-ALL immüfenotipindeki kadın bir hastadır. GTL bantlamada ile karyotipi; 46,XX[17] olarak belirlenmiştir. FISH analizinde ise; incelenen 200 interfazın 184'ü normal, 9'unda monozomi 11, 3'ünde trizomi 11, 4'ünde tetrazomi 11 görülmüştür.

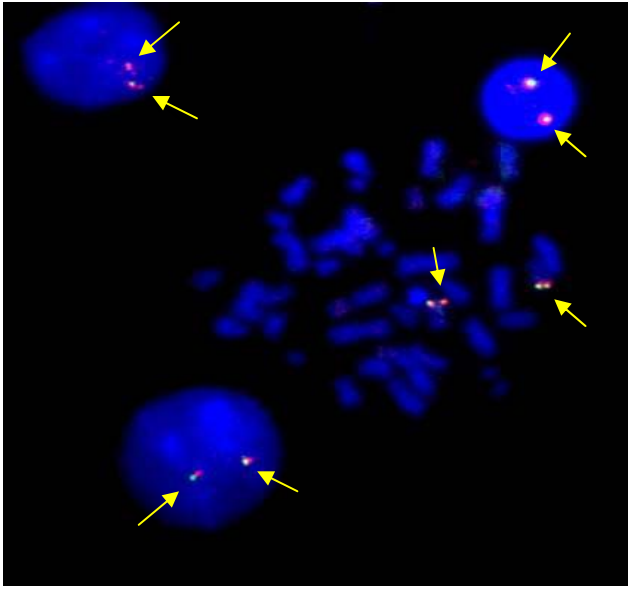
Olgu 24; 4 yaşında, tedavisi devam etmekte olan B-ALL immüfenotipindeki erkek bir hastadır. GTL bantlama ile karyotipi; 45~46,XY,+3[2],del(3)(q13q23)[2],del(9)(q11q21)[4],+mar[2][cp5]/46,XY[16] olarak belirlenmiştir. FISH analizinde ise; incelenen 200 interfazın 189'u normal, 3'ünde monozomi 11, 3'ünde trizomi 11, 3'ünde tetrazomi 11, 1'inde genin 5' ucuna ait fazladan sinyaller ve 1'inde de genin 3' ucuna ait fazladan sinyal görülmüştür.

Olgu 25; 17 yaşında, preB-ALL immüfenotipinde, yeni tanı almış kız bir hastadır. GTL bantlama ile karyotipi; 45~46,XY,+3[2],del(3)(q13q23)[2],del(9)(q11q21)[4],+mar[2][cp5]/46,XY[16] olarak belirlenmiştir. FISH analizinde ise; incelenen 200 interfazın 189'u normal, 6'sında monozomi 11, 2'sinde trizomi 11 ve 3'ünde de genin 5' ucuna ait fazladan sinyal görülmüştür.

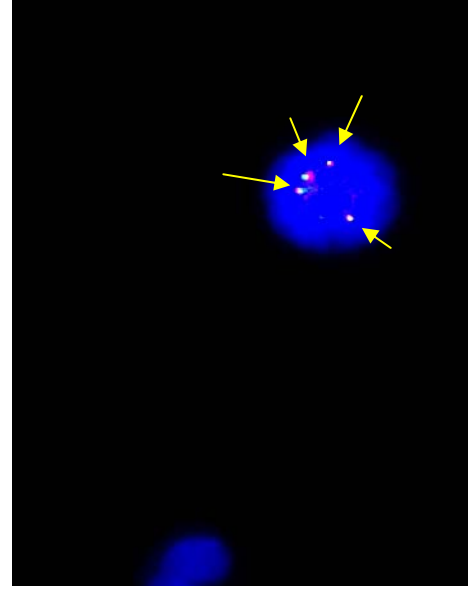
25 olgudan alınan 33 materyalde gözlenen kromozom 11 anomalileri Tablo 4.2’de verilmiştir. FISH analizlerinden elde edilen bazı görüntüler Şekil 4.5a, Şekil 4.5b, Şekil 4.6a, Şekil 4.6b, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9a, Şekil 4.9b, Şekil 4.10a, Şekil 4.10b, Şekil 4.11a, Şekil 4.11b, Şekil 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4-2: 25 olgudan alınan 33 materyalde gözlenen kromozom 11 anomalileri

FISH	
Anomali	Görülme Oranı(Olgu Adedi)
-11	31
+11	18
+11,+11	17
+11,+11,+11	1
-11, del(dis)	9
-11,-11,del(pro),del(pro)	4
-11,tr	11
-11,del(pro),+del(pro)	2
+del(pro)	9
-11,del(pro)	7
-11,-11,tr	3
+del(dis)	6
+11,+11,+del(dis)	1
+del(pro),+del(pro)	1
-11,-11,del(pro),del(pro),+del(pro)	1
-11,del(pro),+del(pro),+del(pro)	1
-11,tr,+del(pro)	3
+del(dis),+del(dis)	2
+tr	3
+tr,+tr	1
-11,tr,çok sayıda +del(dis)	1
-11,del(dis),çok sayıda +del(pro)	1
-11,tr,+del(dis),+del(dis)	1
-11,-11,tr,tr	1
-11,tr,tr,+del(pro)	1
+del(dis),+del(dis),+del(dis)	1
+tr,+del(dis),+del(dis),+del(dis)	1
+tr,+del(dis),+del(dis)	1
+11,+del(dis)	1
+11,+del(dis),+del(dis),+del(dis),+del(dis)	1
+del(dis),+del(dis),+del(dis),+del(dis)	1
+del(dis),+del(dis),+del(dis),+del(dis),+del(dis)	1
-11,tr,+tr,çok sayıda +del(dis)	1
GTL BANTLAMA	
Anomali	Görülme Oranı(Olgu Adedi)
+11	2
add(11)(q23)	1
add(11)(q25)	1



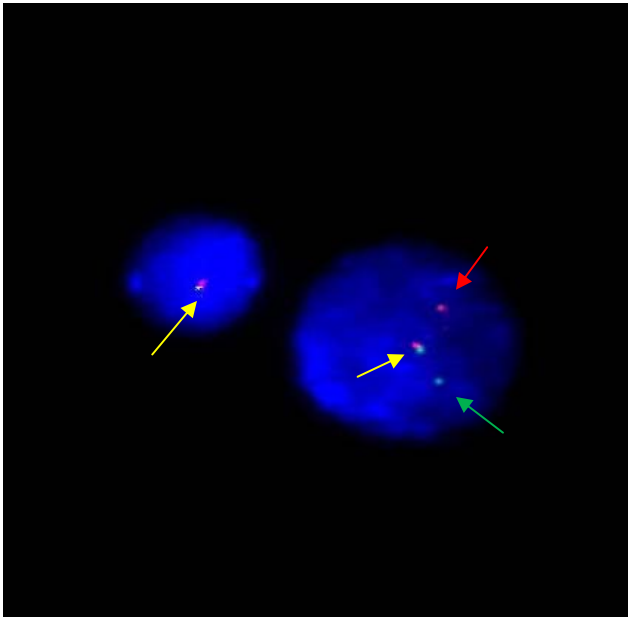
(a)



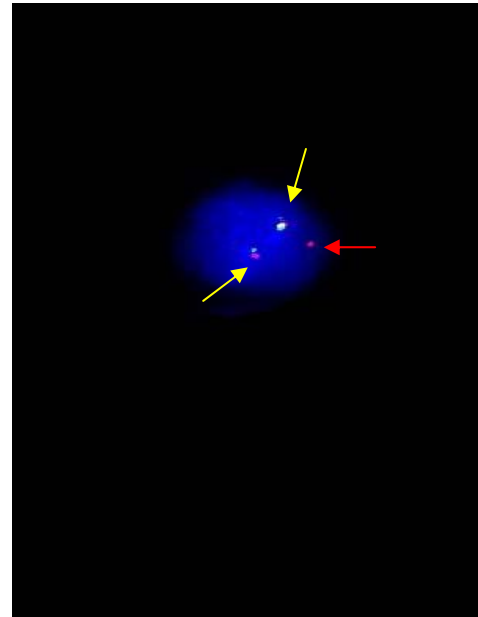
(b)

Şekil 4-5a: FISH yöntemi ile 2 adet füzyon sinyali saptanan metafaz plağı ve interfaz nukleusu

Şekil 4-5b: FISH yöntemi ile tetrazomi 11 saptanan Olgu 6



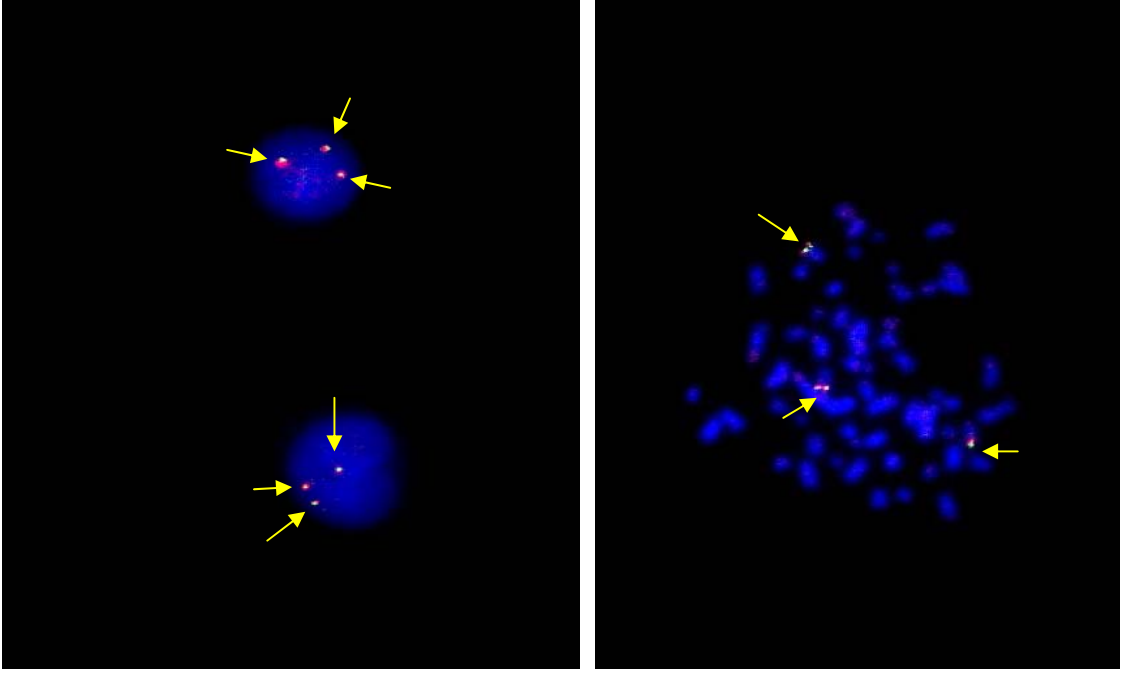
(a)



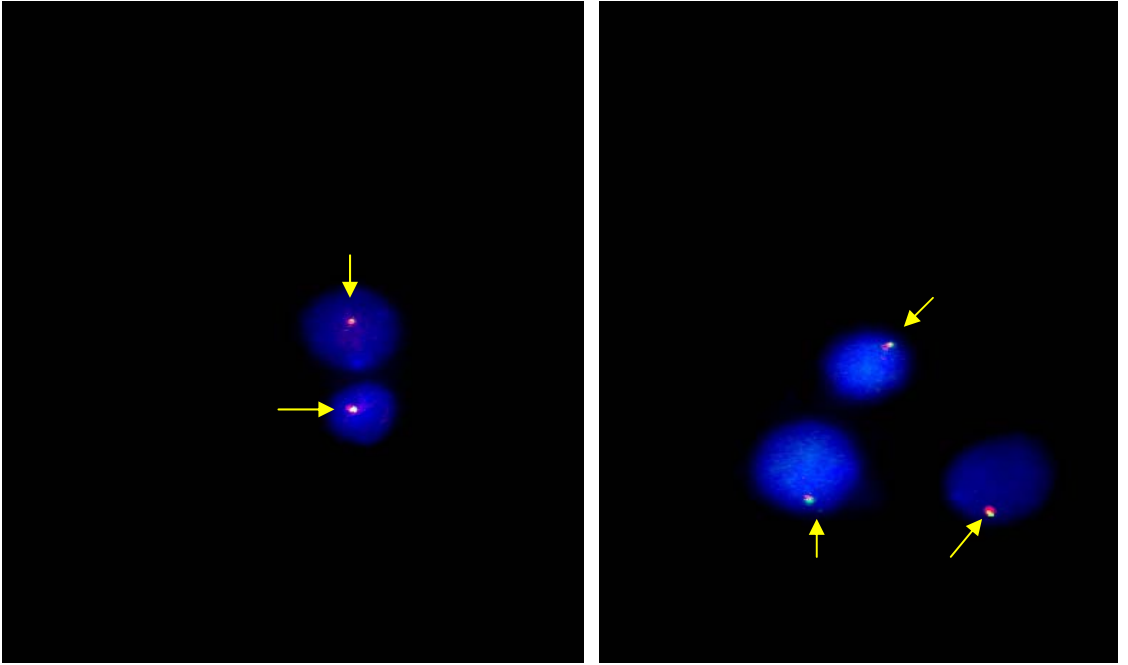
(b)

Şekil 4-6a: FISH yöntemi ile monozomi 11 ve MLL gen bölgesinde yeniden düzenlenme saptanan Olgu 11'e ait interfaz nukleusları

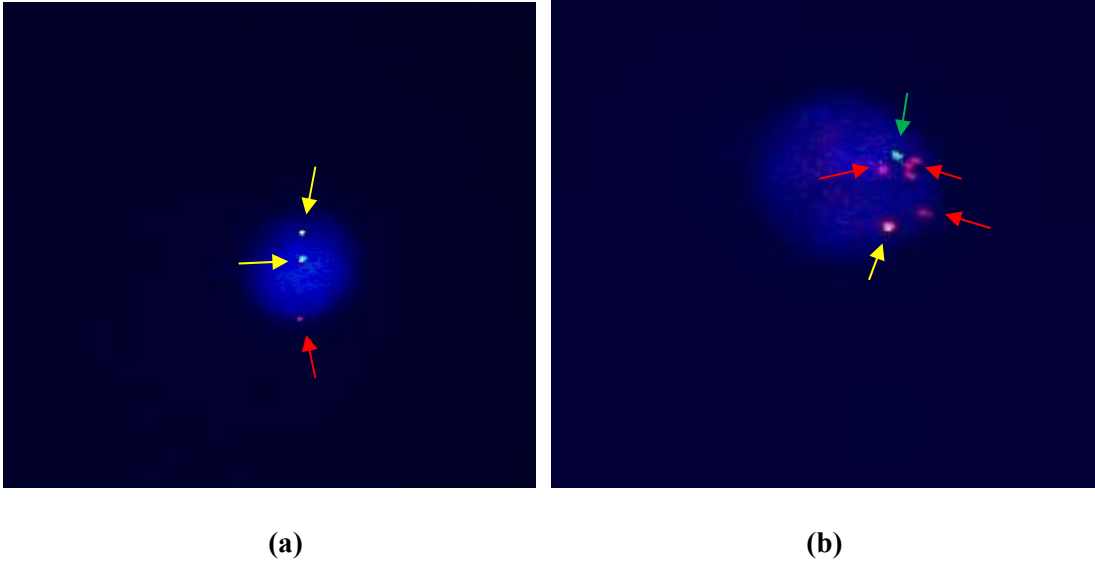
Şekil 4-6b: FISH yöntemi ile 2 füzyon sinyali ve sadece MLL geninin distaline ait sinyalin saptandığı Olgu 25'e ait interfaz nukleusu



Şekil 4-7: FISH yöntemi ile trizomi 11 saptanan Olgu 14'e ait interfaz nukleusları ve metafaz plağı

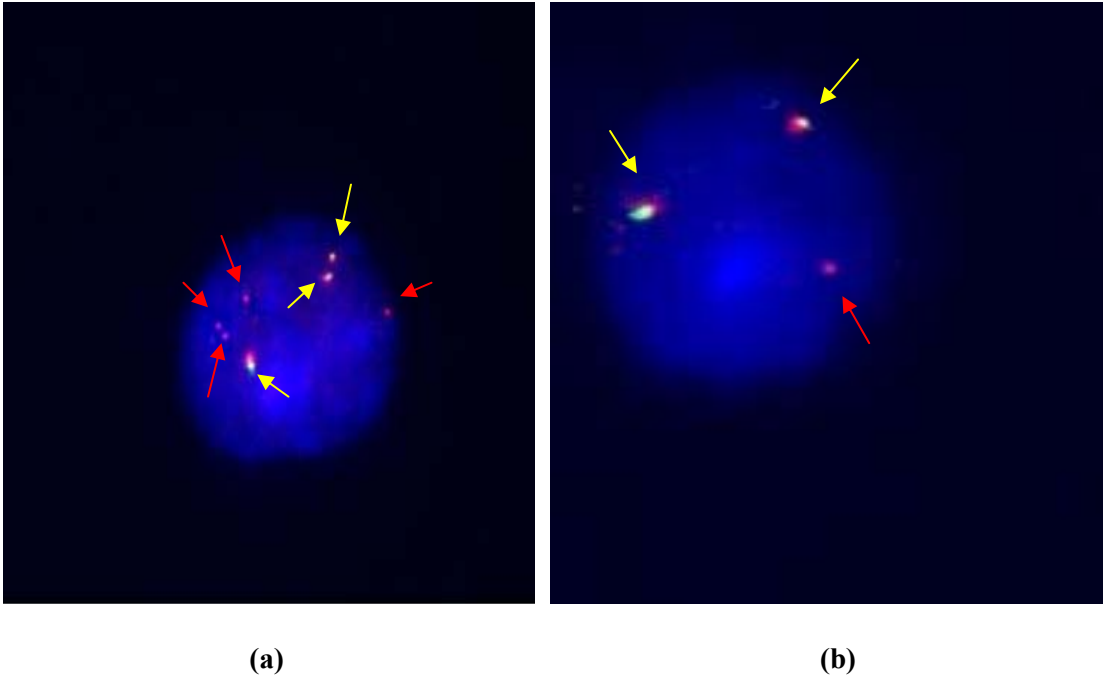


Şekil 4-8: FISH yöntemi ile monozomi 11 saptanan Olgu 15'e ait interfaz nukleusları



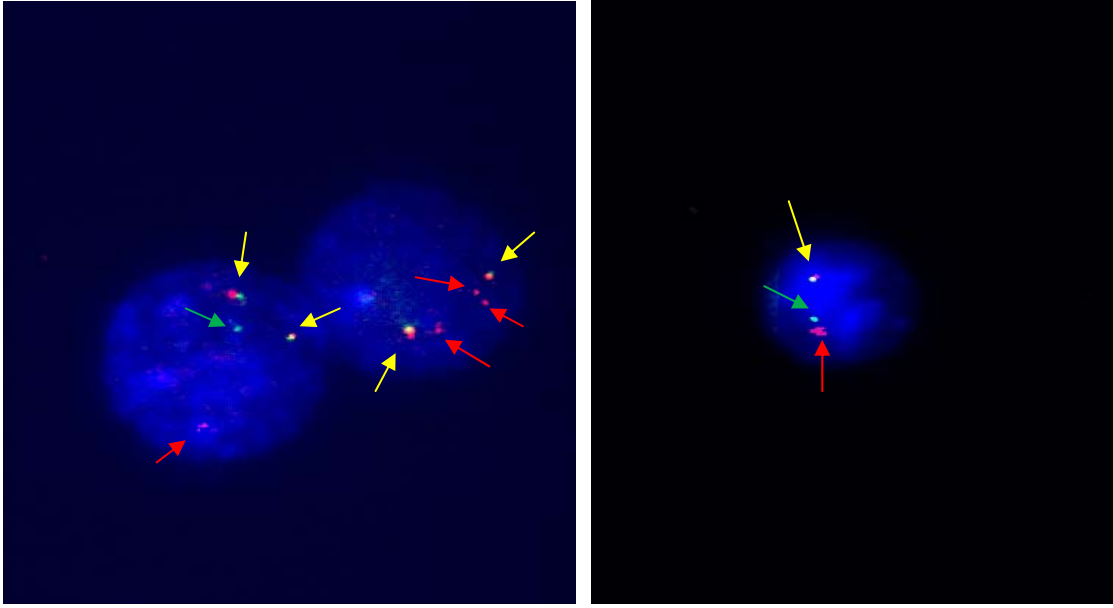
Şekil 4-9a: FISH yöntemi ile 2 füzyon sinyali ve sadece MLL geninin distaline ait sinyalin saptandığı Olgu 16'a ait interfaz nukleusu

Şekil 4-9b: FISH yöntemi ile 1 füzyon sinyali, MLL geninin proksimal ve distaline ait fazladan sinyallerin saptandığı Olgu 16'a ait interfaz nukleusu



Şekil 4-10a: FISH yöntemi ile 3 füzyon sinyali ve sadece MLL geninin distaline ait fazladan sinyallerin saptandığı Olgu 17'e ait interfaz nukleusu

Şekil 4-10b: FISH yöntemi ile 2 füzyon sinyali ve sadece MLL geninin distaline ait fazladan sinyalin saptandığı Olgu 17'e ait interfaz nukleusu

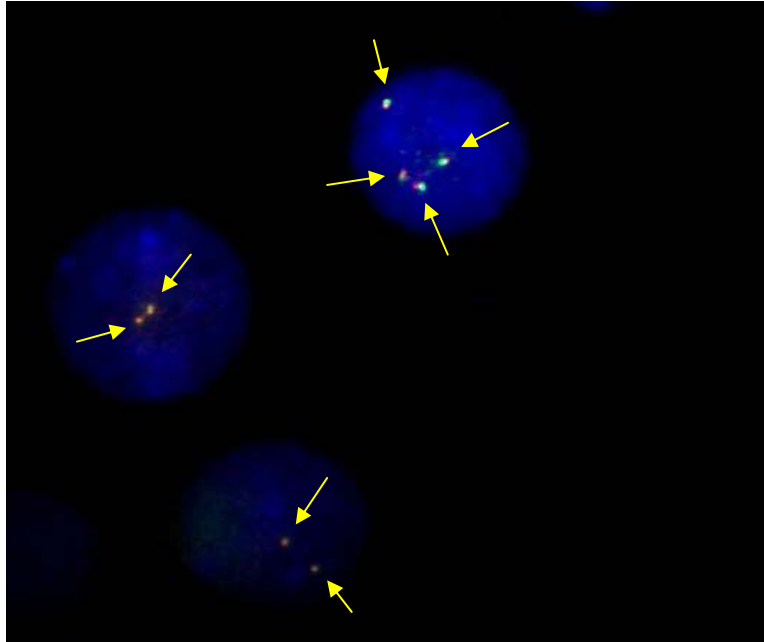


(a)

(b)

Şekil 4-11a: Bir interfaz nukleusunda 2 füzyon sinyalinin yanında MLL geninin distaline ait fazladan sinyallerin, diğer interfaz nukleusunda 2 füzyon sinyalinin yanında yeniden düzenlenmenin saptandığı Olgu 17'e ait interfaz FISH görüntüsü

Şekil 4-11b: FISH yöntemi ile 1 füzyon ve MLL gen bölgesinde yeniden düzenlenme saptanan Olgu 22



Şekil 4-12: FISH yöntemi ile 2 füzyon sinyali beraberinde tetrazomi 11 saptanan Olgu 7

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada; yeni tanı almış ve tedavi aşamasındaki 25 erişkin ve çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemili olgu ile çalışılmıştır. Literatürde ALL'nin erişkinlerden daha çok çocuklarda görüldüğü belirtilmektedir(4). Bu çalışmada çocuk hasta oranının erişkinlere göre daha yüksek olması literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Yapılan çalışmada erkeklerin kızlara oranı 2,12(17/8)'dir. Literatürde ALL'nin kızlara oranla erkeklerde daha sık (erkek\kız oranı:1,2-1,3) görüldüğü belirtilmektedir(4,7,94). Bu çalışmada da erkek hasta oranının kızlara göre daha fazla olması literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Çalışma grubundaki 25 olgunun 16'sının immünfenotipi bilinmektedir. İmmünfenotipi bilinen 16 olgunun %12,5'i(2/16) common B-ALL, %12,5'i(2/16) pre B-ALL, %50'si(8/16) B-ALL ve %25'i(4/16) T-ALL immünfenotipindedir. 9 olgunun ise ALL tanısı konmuş, immünfenotipi belirlenmemiştir. Literatürde hem yetişkin(%75), hem de çocukluk çağı(%80) akut lenfoblastik lösemide en sık görülen immünfenotip B-ALL'dir(2,4). Bu çalışmada da en sık görülen immünfenotipin B-ALL olması literatür ile uyumlu bulunmuştur. Tüm ALL'lerin %15-20'sinde T-ALL immünfenotipi görülmektedir(1,4,10). Bu çalışmada ise immünfenotipi bilinen hastaların %25'i T-ALL'dir. Bu oran literatürde verilen orandan daha yüksek bulunmuştur. Pre B-ALL immünfenotipine sahip 2 çocukluk çağı ALL olgusu bulunmaktadır. Bu olgular immünfenotipi bilinen tüm çocukluk çağı ALL olgularının %15,38'ini oluşturmaktadır. Bu durum literatür ile uyumlu(%15) bulunmuştur(4).

t(9;22)(q34;q11); %90 oranında KML ile birlikte karakterize olmasına rağmen yetişkin ALL'de %25, çocukluk çağı ALL'de ise %3-5 oranında görülmektedir. Philadelphia kromozomu bulunan olgularda oluşan füzyon sonucunda 190 kD'luk bir BCR-ABL füzyon proteini ortaya çıkmaktadır. t(9;22); KML'de görülmesine rağmen, translokasyon sonucunda ortaya 210 kD'luk p210 BCR-ABL proteini ortaya çıkmaktadır(29,31,32).

t(9;22)(q34;q11) saptanan ALL olguları yoğun kemoterapiye rağmen kötü prognoz göstermektedir. Bu hastalar incelendiğinde; üçte ikisinde iyi prednizon yanıt olduğu ve %10 olan 4 yıllık yaşam şansının %55'e yükselerek iyi prognoz gösterdiği saptanmıştır(95).

Nordgren A. ve arkadaşlarının akut lenfoblastik lösemili 70 çocuk üzerinde G-bantlama ve FISH yöntemi kullanarak yapmış oldukları çalışmada, 70 olgunun 3'ünde FISH yöntemi ile BCR-ABL füzyon geni tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu 3 olgunun 2'sinin hiperdiploid ve birinin de pseudodiploid olduğu belirtilmiştir. Bunun sonucunda G-bantlama ile tespit edilebilen kromozom sayısı ve yapı anomalisi oranının %60'dan, FISH yöntemi ile %80'e yükseldiği bildirilmiştir(76).

Harrison C.J. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 1-18 yaş aralığındaki ALL tanısı konmuş ve tedavisi devam eden 2027 hastanın 49'unda(%2,41) Philadelphia(+) olarak belirlenmiştir. Bu 49 hastanın 43'ünde interfaz FISH yöntemi ile BCR-ABL füzyon geni tespit edilmiştir. 6'sında ise sadece sitogenetik sonuçlarla t(9;22)(q34;q11) varlığı gösterilmiştir(96). Martinez R. ve arkadaşları tarafından 22 ALL tanısı konmuş çocuk hastada G-bantlama ve Q-bantlama yapılmıştır. t(9;22) saptanamayan bu olgulara FISH yöntemi uygulandığında bir hastada(%4,54) t(9;22) saptanmıştır(97).

Pedersen R. ve arkadaşları; yaşları 15-82 arasında değişen yetişkin ALL hastasında G-bantlama ile yaptıkları çalışmada %19 oranında t(9;22)(q34;q11) tespit etmişlerdir. Secker-Walker ve arkadaşları yaptıkları benzer çalışma ile bu oranı %9, diğer araştırmacılar ise bu oranı %11-30 arasında bulmuşlardır(98).

Yaptığımız çalışmada Philadelphia kromozomu bir hastada(Olgu 8) saptanmıştır. Bu hasta; 54 yaşında common B-ALL immünofenotipinde, L2 morfolojisine sahip kadın bir hastadır. Yeni tanı konduğunda alınan kemik iliği aspirasyon materyalinde değerlendirilecek metafaz bulunamazken 45 gün sonra tedavisi devam ederken alınan kemik iliği aspirasyon materyalinde incelenen toplam 21 metafazın 2'sinde t(9;22)(q34;q11) saptanmıştır. Literatürde erişkin hastalarda t(9;22)(q34;q11) %25 oranında gözlenmektedir(31). Yapmış olduğumuz çalışmada ise erişkinlerde t(9;22)(q34;q11) %8,33 oranında gözlenmiştir. Bu oran literatür ile karşılaştırıldığında düşük olarak kabul edilmiştir.

MLL gen bölgesi 11q23'e lokalize olmaktadır. MLL geninin uzunluğu yaklaşık 100kb olup, 36 ekson içermektedir. MLL geninin ürünü olan protein 3968 amino asitten oluşup, 431 kD ağırlığındadır. MLL geninin ürünü olan protein, erken embriyonik dönemde Hox geninin transkripsiyon düzenleyici faktörü olarak görev almaktadır(35,39,41).

MLL gen bölgesindeki yeniden düzenlenmeler, 5. ve 11. ekson arasındaki 8.3kb'lık kırık noktasındaki bir bölgede meydana geldiği belirlenmiştir. MLL geninin translokasyon yaptığı yaklaşık 87 adet farklı gen bulunmaktadır ve bunların 52'si moleküler analizler ile belirlenmiştir. 11q23 bölgesini içeren ve en iyi bilinen translokasyonlar t(4;11)(q21;q23), t(6;11)(q27;q23), t(9;11)(p21;q23), t(10;11)(p12;q23) ve t(11;19)(q23;p13.3)'dir. Bu translokasyonların genleri sırasıyla; AF4, AF6, AF9, AF10 ve ENL'dir(35).

Woo ve arkadaşları tarafından 3 ay ve 15 yaş aralığındaki 65 hastadan alınan kemik iliği aspirasyon materyaline G-bantlama ve FISH yöntemi uygulanmıştır. 65 hastanın 7'sinde MLL gen bölgesinde yeniden düzenlenme tespit edilmiştir. Bu 7 olgunun 6'sında G-bantlama ile yapılan analiz sonucunda 11q23 bölgesinde yeniden düzenlenmeye rastlanmamıştır. Bir olguda ise tek bir 11.kromozomda delesyon olduğu [del(11)(q23)] G bantlama yöntemi ile tespit edilmiştir. Yapılan interfaz FISH ile 200 interfaz hücresinde %19-41 arasında değişen oranlarla sadece tek bir füzyon sinyali görülmüştür. Ayrıca normal karyotipe sahip veya üremesi olmayan 33 hastanın 24'ünde(%72,7) FISH analizleri sonucunda MLL gen bölgesinde yeniden düzenlenmeler tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda sadece G-bantlama yöntemi ile %49,2 oranında kromozom sayı ve yapı anomalilerinin saptandığı, G-bantlamanın beraberinde yapılan interfaz FISH ile bu anomalilerin %73,8 oranında yakalanarak bu oranın arttığı vurgulanmıştır(94).

Harrison C.J. ve arkadaşları konvansiyonel sitogenetik ve interfaz FISH yöntemi ile yaşları 1-18 arasında değişen ALL'li olguda inceleme yapmışlardır. 2016 olgunun 51'inde MLL gen bölgesinde yeniden düzenlenme tespit edilmiştir. 51 olgunun 47'si interfaz FISH yöntemi ile 4'ü ise G-bantlama yöntemi ile belirlenmiştir. 47 hastanın 41'inde tek bir 11.kromozom varken, diğer 11.kromozom translokasyona uğramıştır. 6 hastada ise bir füzyon, bir yeşil sinyal görülürken; kırmızı sinyal hiç görülememiştir. Bu durum; Barber ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada da belirttiği gibi genin 3' ucundaki telomerik sinyalin delesyona uğradığını göstermektedir(96).

Giugliano E. ve arkadaşlarının 70 yaşındaki AML-M1 tanısı konmuş kadın hasta ile 61 yaşındaki erkek hasta üzerinde yapmış oldukları G-bantlama, FISH, RT-PCR ve Southern Blot çalışmalarının sonuçlarına göre her iki olguda da MLL gen bölgesinde yeniden düzenlenmeler olduğu bildirilmiştir. Bir olguda kırık noktası

11q23.3 iken(MLL geninin distali), diğer olguda ise 11q21 bölgesi olduğu saptanmıştır. Yaptıkları çalışmada meydana gelen 11q23 translokasyonunun MLL'den farklı henüz tanımlanmamış gen ve lokusları içerebileceği belirtilmiş ve yapılacak olan moleküler çalışmaların hematolojik malignitelerin patogenezinin anlaşılmasında önemli olacağı vurgulanmıştır(99).

Yaptığımız çalışmada 25 olgunun 1'i erişkin(%8,33), 1'i çocuk(%7,69) olmak üzere 2'sinde G-bantlama yöntemi ile 11.kromozomda yeniden düzenlenmeler tespit edilmiştir.

Bu olgulardan biri; 11 yaşında yeni tanı almış, ALL'li bir kızdır. Bu olguda (Olgu 2) kemik iliği aspirasyon materyalinden yapılan GTL bantlama sonucunda, karyotipi 47~53,XX,add(1)(q42)[20],+11[15],add(11)(q23)[18],-13[3],+14[8],+17[6],+21[10],+21[5],+22[2],+mar1[3],+mar2[2],+mar3[2][cp20] olarak belirlenmiştir. Bu olguda yapılan interfaz FISH çalışmasında ise incelenen 200 interfaz nükleusunun 183'ü normal bulunup, 3'ünde monozomi 11, 8'inde trizomi 11, 3'ünde tetrazomi 11 saptanmıştır. 2 interfaz nükleusunda ise normal 11.kromozoma ait sinyal alınmayıp, sadece genin 3' ucunu içeren 2 adet sinyal alınmıştır. Bu durumda genin 5' ucundaki proksimal sinyallerin delesyona uğradığı düşünülmektedir. Bir interfaz nükleusunda ise tek bir 11.kromozoma ait füzyon sinyali alınmış ve diğer 11.kromozoma ait füzyon sinyali birbirinden ayrılarak bu interfaz nükleusunda 11q23 gen bölgesine ait yeniden düzenlenmeler tespit edilmiştir. G bantlama yöntemiyle incelenen 20 metafazın 18'inde add(11)(q23)'e rastlanıp, FISH yönteminde ise tek bir interfaz nükleusunda 11q23'e ait yeniden düzenlenme tespit edilmiştir.

Diğer olgu(Olgu 6) ise 32 yaşında yeni tanı almış B-ALL immünofenotipine sahip kadın bir hastadır. Bu olguya yeni tanı alındığında kemik iliği aspirasyon materyalinden GTL bantlama yapılmış ve bunun sonucunda karyotipi 41~46,XX,add(11)(q25)[3],-17[4],-21[9],+mar1[9],+mar2[8][cp9]/46,XX[3] olarak belirlenmiştir. Bu hastadan tedavi aşamasında belirli aralıklarla (45-60 gün) kemik iliği aspirasyon materyali alınmış ve GTL bantlama yönteminde 11q23 gen bölgesinde herhangi bir yeniden düzenlenmeye rastlanmamıştır. Bu olguda yapılan interfaz FISH çalışmasında; incelenen 200 interfaz nükleusunun 183'ü normal, 7'sinde monozomi 11, 3'ünde trizomi 11, 1'inde tetrazomi 11 bulunmaktadır. 3 interfaz nükleusunda 1 adet normal 11.kromozom bulunurken, diğer kromozomda genin 3' ucunu içeren sinyal (kırmızı sinyal) bulunmamaktadır. Bu durum; 3 interfazda genin 3' ucundaki distal

sinyalin, 2 interfazda ise proksimal sinyalin delesyona uğradığını göstermektedir. Tedavi aşamasında alınan kemik iliği aspirasyon materyalinde de bu delesyona uğrayan proksimal sinyalin devam ettiği görülmektedir. Bu olgunun tek bir interfaz nukleusunda ise genin 3' ucuna ait 3 adet distal sinyal bulunmaktadır. Bu interfazda her iki kromozomda da genin 5' ucundaki proksimal sinyalin delesyona uğradığı ve fazladan bir distal sinyalin olduğu görülmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda; lökomogenez mekanizmasının anlaşılmasında MLL amplifikasyonunun da önemli olabileceği düşünülmektedir (45,100). Minnesota Üniversitesi'nde Dolan M. ve arkadaşları 79 yaşındaki AML-M5 immünofenotipindeki erkek bir olgu ile 63 yaşındaki çok sayıda miyeloblastlara sahip anemik kadın bir olguda yaptıkları sitogenetik analiz sonucunda, her iki olguda da klonal olan çok sayıda kromozom anomalileri tespit etmişlerdir. Aynı olgulara uygulanan FISH yönteminde, MLL gen bölgesini içeren tek renkli ve iki renkli prob kullanılmıştır. Her iki proba yapılan FISH sonuçlarında bu olgularda amplifikasyon olduğuna dair %86-91 oranında benzerlik gösteren sinyaller tespit edilmiştir. Olgularda yapılan G-bantlama ile MLL amplifikasyonunun tespit edilemediği, sadece yapılan FISH ve diğer moleküler genetik yöntemler(Southern Blot ve CGH) sayesinde amplifikasyonun varlığının ve yerinin tespit edildiği belirtilmektedir. MLL amplifikasyonu tespit edilen olguların konvensiyonel sitogenetik analizlerinde; double minute adı verilen kromozom dışı yapılar, homojen boyanan bölgeler(HSR), halka kromozomlar ve marker kromozomlar da tespit edilmiştir(100,101).

Hematolojik malignitelerde gen amplifikasyonları oldukça az görülmektedir. MLL amplifikasyonu ve klonal olan çok sayıdaki kromozom anomalileri görülen olgularda kötü prognoz ve oldukça kısa bir yaşam süresi görülmektedir(100,101).

Yaptığımız çalışmada; tedavisi devam etmekte olan 10 yaşında, T-ALL immünofenotipine sahip, yüksek risk grubundaki çocukluk çağı ALL olgusunda (Olgu 16) G-bantlama ile 19 metafazda 46,XX karyotipi saptanırken, interfaz FISH yöntemi ile incelenen 200 interfaz nukleusunun 178'i normal, 5'inde monozomi 11, 1'inde trizomi 11, 1'inde tetrazomi 11 olduğu tespit edilmiştir. Diğer interfaz nukleuslarında ise değişken sayılarda genin distal ve proksimal ucuna ait fazladan sinyaller tespit edilmiştir.

22 yaşında, remisyonda olan B-ALL olgusunda(Olgu 17) G-bantlama yöntemi ile incelenen 20 metafazın 16'sında 46,XY,t(4;6)(q35;q24)[4]/46,XY[12] karyotipi elde

edilmiştir. 4'ünde ise klonal olmayan anomaliler belirlenmiştir. Bu olgunun FISH çalışmasında; 91 interfaz nukleusunda 2 adet 11.kromozom olduğuna dair 2 füzyon sinyali görülürken, diğer 109 interfaz nukleusunda ise sayıları değişkenlik gösteren genin distal ucuna ait fazladan sinyaller görülmüştür.

Her iki olguda da görülen genin distal ve proksimal ucuna ait fazladan sinyallerin; kullanılan breakapart probun deneyin herhangi bir aşamasında parçalanması sonucunda oluşabileceği ya da bu fazladan sinyallerin artefakt olabileceği düşünülmektedir. Diğer yandan; MLL gen bölgesinde amplifikasyon meydana gelmiş olabileceği ve bu sinyaller amplifikasyon olarak değerlendirilirse, bu sinyallerin kromozom dışı yapılar olan double minute olabileceği düşünülmektedir. Her iki olgunun GTL bantlaması sonucunda double minute görülmemiştir.

Yeni tanı almış, common B-ALL immünotipindeki olgumuz(Olgu 4) 1 aylık bir kız hastadır. Olgumuzun G-bantlamasında 11q23 gen bölgesinde herhangi bir yeniden düzenlenme tespit edilemezken; FISH yöntemiyle incelenen 200 interfazın 5'inde monozomi 11, 3'ünde trizomi 11, 2'sinde tetrazomi 11 tespit edilmiştir. 2 interfaz nukleusunda translokasyon ve diğer interfaz nukleuslarında ise değişen sayılarda MLL geninin 5' ucundaki proksimal sinyalin delesyona uğradığı belirlenmiştir.

1 yaş altındaki ALL olgularında MLL gen bölgesindeki yeniden düzenlenmeler %60-80 oranında görülmektedir(56,57). Bu çalışmada ise 25 olgu içerisinde, 1 yaş altında tek bir olgu(Olgu 4) bulunmaktadır. Yapılan FISH çalışmasında, bu olguda MLL gen bölgesini içeren yeniden düzenlenmeler bulunmaktadır.

Yeni tanı almış, B-ALL immünotipindeki, 28 yaşındaki olgumuz(Olgu 5) bir erkek hastadır. Bu olgumuzdan yeni tanı alındığında ve tedaviye başladıktan sonra belirli aralıklarla(40-200 gün) kemik iliği aspirasyon materyali alınmış ve yapılan G-bantlama sonuçlarında çeşitli kromozom sayı anomalileri saptanmıştır. Bu anomalilerden monozomi 19, ilk iki G-bandında devam etmekteyken, üçüncü kez yapılan G-bantlamada karyotip 46,XY[16] olarak belirlenmiştir. FISH sonuçlarında ise; yeni tanı alındığında bir interfazda translokasyon saptanırken, tedavi aşamasında 40 gün sonra alınan kemik iliği aspirasyon materyalinde 8 adet interfaz nukleusunda translokasyon tespit edilmiştir.

Diğer olgumuz(Olgu 21) B-ALL immünotipindeki 28 yaşında, erkek bir hastadır. Bu hastanın perifer kanında yapılan sitogenetik inceleme sonucunda

değerlendirilecek metafaz bulunamamıştır. Tedavi başladıktan sonra alınan kemik iliği aspirasyon materyalinde karyotip 46,XY[17] olarak belirlenmiştir. FISH sonuçlarında ise perifer kanında incelenen 200 interfaz nukleusunun 81'inde sadece tek bir 11.kromozomda yeniden düzenlenme gözlenirken, 5'inde ise her iki 11.kromozom bulunmazken sadece translokasyona uğramış tek bir 11.kromozom gözlenmiştir. 3'ünde her iki kromozomda da yeniden düzenlenme, 1'inde 2 adet 11.kromozomun dışında translokasyona uğramış 1 adet 11.kromozom ve 1'inde de normal 11.kromozom ve translokasyona uğramış olan 11.kromozomun yanında fazladan bir translokasyona uğramış 11.kromozom, bir de genin 5' ucundaki bölgenin delesyonu görülmüştür. Kemik iliği aspirasyon materyalinde ise sadece kromozom sayı anomalileri tespit edilmiştir.

7 yaşındaki FAB-L1 morfolojisine sahip hastada(Olgu 14) G-bantlama ile 20 metafaz incelenmiş ve bunların 2'sinde(%10) trizomi 11 tespit edilmiştir. FISH yöntemi ile incelenen 200 interfazın 49'unda(%24) trizomi 11 tespit edilmiş ve %10 olan +11 oranının FISH yöntemi ile %24'e çıktığı saptanmıştır. Yapılan çalışmada; interfaz aşamasında daha fazla hücre sayılabildiğinden, interfazda elde edilen oranların metafaz aşamasında elde edilen oranlara göre daha sağlıklı olduğu düşünülmektedir.

22 yaşında, T-ALL immünofenotipindeki erkek bir hastada(Olgu 15) incelenebilen 3 metafazın 3'ünde de 11q23 gen bölgesine ait anomali görülmeyip, karyotipleri 46,XY olarak bulunmuştur. Yapılan FISH çalışmasında; 5 interfaz nukleusunda 2 adet 11.kromozom, 179 interfaz nukleusunda monozomi 11 saptanmıştır. 6 interfaz nukleusunda 1 adet 11.kromozomda translokasyon görülmüştür. 1 interfaz nukleusunda normal 11.kromozomlar görülmeyip sadece translokasyona uğrayan 11.kromozom, bir diğerinde de translokasyona uğramış olan 11.kromozom yanında fazladan genin proksimal ucuna ait sinyal görülmüştür.

Tedavi aşamasındaki 15 yaşında, yüksek risk grubundaki ALL'li olgumuzda (Olgu 22) 1 adet; 16 yaşındaki yüksek risk grubunda ve remisyonda olan B-ALL'li olgumuzda(Olgu 11) 3 adet; 6 yaşındaki standart risk grubundaki idame tedavisi gören L1 morfolojisine sahip olgumuzda(Olgu 10) 2 adet interfaz nukleusunda translokasyon görülmesine rağmen, konvansiyonel sitogenetik yöntemle MLL gen bölgesinde yeniden düzenlenme görülmemiştir.

Literatürde 8q24 translokasyonlarının çocukluk çağı ALL'de %2, erişkin ALL'de ise %3-5 oranında görüldüğü bildirilmektedir. Görülen

8q24 translokasyonlarının %85'i t(8;14)(q24;q32), %5'i t(2;8)(p12;q24), %10'u ise t(8;22)(q24;q11)'dir(32,35).

Bu çalışmada; 27 yaşındaki L3 morfolojisine sahip B-ALL'li bir olguda (Olgu 12) G-bantlama yöntemiyle t(8;14)(q24;q32) saptanmıştır. Bu kromozom yapı anomalisi, tüm erişkin olguların %8,33 oranında görülmüştür. Bu oran literatürle karşılaştırıldığında daha yüksek olarak bulunmuştur. L3 alt tipi, Burkitt lenfomasının lösemik şekli olarak kabul edilmektedir(1,18). Olgunun B-ALL immünofenotipinde ve L3 morfolojisine sahip olması literatür ile uyum göstermektedir.

Akut lenfoblastik lösemide görülen kromozom anomalilerinden biri de 6q delesyonlarıdır. Bu delesyonun görüldüğü olgularda klinik ve biyolojik özellikler tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda; 6q delesyonu %4-13 oranında ALL, %17-23 oranında non-Hodgkin lenfoma ve daha az sıklıkla AML ve KML'de görülmektedir. Bu anomali daha çok yetişkin T-ALL ile karakterize olmasına rağmen; Hayashi Y. ve diğer araştırmacılar B hücreli ALL'de de bu anomaliye rastlamışlardır. Genel olarak, 6q anomalileri diğer kromozom anomalileri ile birlikte bulunmaktadır(102,103).

Miyeloid veya lenfoid kökenli çeşitli hematolojik malignitelerde, 1.kromozomun kısa kolundaki bazı bölgelerde parça artışı(duplikasyon) görülmektedir. Miyelodisplastik sendromda vakaların %15'inde 1.kromozomdaki parça artışı görülmektedir. Hem ALL, hem de MDS olgularında dup(1q) yanında klonal olan kromozom yapı anomalileri de görülmektedir. Lenfoid malignitelerde ise dup(1q), B hücreli ALL'nin hiperdiploid olan olgularında oldukça sık görülen kromozom yapı anomalilerinden biridir(104).

B-ALL immünofenotipindeki, L3 morfolojisine sahip 27 yaşındaki erkek hastada(Olgu12) del(6)(q23); dup(1)(q23q32) ve t(8;14)(q24;q32) ile birlikte görülmüştür. Bu durum; literatürlerde belirtildiği gibi del(6q) ve del(1q)'nun çeşitli kromozom yapı anomalileri ile beraber bulunmasıyla benzerlik göstermektedir. del(6)(q23) saptanan olgu tüm olguların %4'ünü oluşturmaktadır. Bu oran literatür ile uyumlu bulunmaktadır.

Yeni tanı almış ve tedavisi devam etmekte olan 44 yaşındaki ALL olgumuzun (Olgu1) G-bantlama sonuçlarında herhangi bir kromozom sayı ve yapı anomalisine rastlanmamıştır. Yapılan interfaz FISH sonuçlarının ilkinde görülen monozomi 11, ikinci kez yapılan FISH sonuçlarında daha fazla interfaz nukleusunda görülmüştür.

Tetrazomi 11 ise daha az interfaz nukleusunda görülmüştür. Trizomi 11 görülen interfaz nukleusu sayısı, her iki sonuçta da değişmeden kalmıştır. Tedavi aşamasında yapılan FISH çalışmasında bunlara ek olarak genin 3' ucunda bulunan telomerik sinyalin 2 interfaz nukleusunda delesyona uğradığı görülmüştür.

t(9;22)(q34;q11)'den başka herhangi bir kromozom sayısı ve yapı anomalisi saptanamayan 54 yaşındaki common B-ALL'li olgunun(Olgu 8) yeni tanı aldığında yapılan FISH çalışmasında; 3 interfaz nukleusunda monozomi 11 ve diğer bir nukleusta genin proksimal ucuna ait delesyon görülmüştür. Tedavi aşamasında ise monozomi 11 daha fazla hücrede görülüp, bunun yanında 5 interfaz nukleusunda daha kromozom sayısı anomalileri görülmüştür.

FISH yöntemi ile 25 olguda yapılan 33 FISH analizinin %24,25'inde(8/33) 11q23 gen bölgesinde meydana gelen translokasyon beraberinde 11.kromozomla ilişkili delesyon ve kromozom sayısı anomalileri tespit edilmiştir. Bu 8 olgunun %42,8'i çocukluk çağı ALL, %57,2'si erişkin ALL'dir.

25 olguda yapılan 33 FISH analizinin %27,28'inde(9/33) FISH yöntemi ile sadece 11.kromozomla ilişkili kromozom sayısı anomalileri tespit edilmiştir.

Yapılan analizlerin %6,06'sında(2/33) genin distal ve proksimal ucuna ait fazladan sinyaller tespit edilmiştir. Bu olgulardan biri çocukluk çağı ALL, diğeri de erişkin ALL'dir.

FISH yöntemi ile 25 olguda yapılan 33 FISH analizinin %36,37'sinde(12/33) 11.kromozomda delesyon ve beraberinde 11.kromozomla ilişkili kromozom sayısı anomalileri tespit edilmiştir.

Analizlerin %3,03'ünde(1/33) ise hem translokasyon hem de delesyon bir arada görülmüştür. %3,03'ünde ise translokasyon ve 11.kromozomla ilişkili kromozom sayısı anomalileri beraber bulunmaktadır.

Yaptığımız çalışmada 25 olgunun 1'i erişkin(%8,33), 1'i çocuk(%7,69) olmak üzere 2'sinde GTL bantlama yöntemi ile 11.kromozomda yeniden düzenlenmeler tespit edilmiştir.

Literatürde; 11q23 anomalileri ALL'lerde %7-10, AML'de ise %5-6 oranında görülmektedir. 11q23 anomalileri çocukluk çağı ALL'lerinde %3-4 oranında görülürken, erişkinlerde bu oran %3-6 olarak bildirilmiştir(35,56). Yaptığımız çalışmada; hem GTL bantlama hem de FISH ile elde edilen oranlar, literatür ile karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur.

Klonal olan kromozom sayı ve yapı anomalilerinin tespit edilmesi; hastalığın biyolojisinin anlaşılması ve bu anomalilerin lökomogenezdeki rollerinin aydınlatılması bakımından oldukça önemlidir. Özellikle translokasyonlar sonucu oluşan füzyon genlerinin sentezlediği yeni protein ürünlerinin hastalığın seyrine etkisinin bilinmesinin, yeni tedavi prensiplerinin stratejisi açısından yol gösterici olacağı düşünülmektedir. MLL geninde oluşan yeniden düzenlenmelerin tespit edilmesi hastalığın prognozu ve tedaviye cevaptaki etkisinin ortaya konmasında önemli olacaktır. Bu spesifik kromozom yeniden düzenlenmelerin hastalığın tanısı anında ve tedavisi sonrasında kalitatif ve kantitatif olarak saptanması hastalığın takibi, terapötik ilaca verilen yanıtın değerlendirilmesi ve minimal residüel hastalık tespiti bakımından da büyük değer taşımaktadır(8,42).

Kemik iliği aspirasyon materyalinde çoğu zaman kaliteli ve yeterli sayıda metafaz bulunamamaktadır. Konvansiyonel sitogenetikle yapılan çalışmalar bu nedenlerden dolayı uzun sürmektedir. FISH yönteminde hem metafaz plakları hem de interfaz nükleuslarında kromozom anomalilerinin saptanabilmesi, daha kısa sürede sonuç elde edilmesine olanak sağlamaktadır. FISH yönteminin interfaz nükleuslarında da kullanılabilmesi; metafaz kromozomlarının ve hücre elde ediliminin zor olduğu lösemi olgularında FISH yöntemini daha avantajlı bir hale getirmiştir. Bunun yanında; FISH yöntemiyle kısa sürede, fazla sayıda lenfosit incelenmesine rağmen, sadece proba özgü bölgeler incelenebildiğinden, tek tip değişiklikler tespit edilebilmektedir.

GTL bantlamada bant kalitesinin yüksek olması gerekliliğinin bulunması ve incelemenin uzun süre almasının yanında, 11.kromozomdan başka diğer kromozomlardaki klonal ya da klonal olmayan kromozom sayı ve yapı anomalilerinin tespiti mümkündür. Sinyallerin bozulmadığı, çok küçük delesyon ya da DNA miktarı artışını FISH ile yakalamak mümkün değildir. Ancak sinyalleri bozmayan büyük parça ilaveleri GTL ile tanımlanabilmektedir.

Bu çalışma; kromozom eldesi zor olan lösemi olgularında, konvansiyonel sitogenetiğin beraberinde uygulanan FISH yönteminin hastalığın prognozunda önemli rol oynayan MLL gen bölgesindeki yeniden düzenlenmelerin saptanmasında ve tedavinin belirlenmesinde daha hızlı bir yöntem olduğunu göstermektedir. Ayırıcı tanı veya ön tanı için incelemenin uzun süre aldığı, sonuçların 1-2 ay gibi uzun bir sürede verildiği GTL bantlamanın beraberinde yapılacak olan interfaz FISH ile sadece MLL füzyonlarının incelenmesi sonucunda elde edilecek veriler; tanının kısa sürede

konmasında, tanının desteklenmesinde, tedavi protokollerinin belirlenmesinde ve hastalığın prognozunun değerlendirilmesinde büyük yarar sağlayacaktır.

Her iki yöntemin de avantaj ve dezavantajları olmakla birlikte; sağlıklı bir tanı ve tedavinin sağlanması için her iki yöntemin de birbirine paralel olarak uygulanması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1-Dinçol G, PekçelenY, Atamer T, Sargın D, Nalçacı M, Aktan M, Beşışık S. *Klinik Hematoloji*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri; 2003.
- 2-Yalçın A. *Klinik Hematoloji*. Gata Basımevi; 2001.
- 3-Turgeon ML. *Clinical Hematology:Theory and Procedure*. 3nd ed. Lippincott William&Wilkins,1999.
- 4-Bassan R, Gatta G, Tondini C, Willemze R. Adult acute lymphoblastic leukemia. *Criticals in Oncology\Hematology*. 2004; 50:223-261.
- 5-Gökbuget N, Hoelzer D. Recent approaches in acute lymphoblastic leukemia in adults. *Rev Clin Exp Hematol*. 2002; 6(2):114-41.
- 6-Mutlu N. BFM-2000 protokolü almış akut lenfoblastik lösemili çocuklarda miyeloid işaretleyici pozitifliğinin prognostik değeri ve diğer prognostik faktörler ile ilişkisi. İstanbul, Bakırköy Doğumevi Kadın ve Çocuk Hast. Eğt ve Arş. Hast., Uzmanlık Tezi; 2005.
- 7-Harrison CJ. Acute lymphoblastic leukemia. *Best Practise&Research Clinical Hematology*. 2001; 14(3):593-607.
- 8-Yakut T, Gülten T. Çocukluk dönemi lösemilerindeki genetik değişiklikler ve klinik önemi. *Uludağ Üniv. Tıp Fakültesi Dergisi*. 2005; 31(1):57-62.
- 9-Nordgren A, Farnebo F, Johansson B, Holmgren G, Forestier E, Larsson C ve ark. Identification of numerical and structural chromosome aberrations in 15 high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemias using spectral karyotyping. *Eur J Haematol*.2001;66:297-304.
- 10-Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Tıbbi Genetik*. 6. Baskı. Güneş Kitabevi, Ankara, 2005.
- 11-Klug WS, Cummings MR. *Genetik*. 6. Baskı. Palme Yayıncılık, Ankara 2002.
- 12-Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M, Estrov Z. Clinical significance of cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1998; 91(11):3995-4019.
- 13-Heerema NA, Arthur DC, Sather H, Albo V, Feusner J, Lange BJ ve ark. Cytogenetic features of infants less than 12 months of age at diagnosis of acute lymphoblastic leukemia: Impact of the 11q23 breakpoint on outcome: a report of the Children's Cancer Group. *Blood*. 1994;8:2274-2284.

- 14-Borkhardt A, Wuchter C, Viechmann S, Pils S, Schlegel AT, Stanulla M ve ark. Infant acute lymphoblastic leukemia-combined cytogenetic, immunphenotypical and molecular analysis of 77 cases. *Leukemia*. 2002;16:1685-1690.
- 15-Poplack DG, Morgolin JF. Management of common cancers of childhood. In: Poplack DG,editor. *Principles and Practise of Pediatric Oncology I*. Philadelphia: Saunders; 1997:409-504.
- 16-Niemeyer CM, Sallan SE. Acute lymphoblastic leukemia. In: Oski F, Nayhon DG,editor. *Hematology of Infancy and Childhood II*. Philadelphia: Saunders; 1993:1249-1353.
- 17-Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT. Proposals for the classification of the acute leukemias. *Br J Haematol*. 1976;33:451-458.
- 18-Lilleyman JS, Hann IM, Stevens RF, Eden OB, Richards SM. The French American British morphological classification of childhood lymphoblastic leukemia and its clinical importance. *J.Clin Pathol*. 1986;39:998-1002.
- 19-Mauer AM. *Hematology*. 4nd edition. Newyork: Graw-Hill,1991:994-1005.
- 20-Manera R, Ramiez I, Mullins J, Pinkel D. Pilot studies of species-specific chemotherapy of chilhood acute lymphoblastic leukemia using genotype and immunphenotype. *Leukemia*. 2000;14:1354-1361.
- 21-Kebriaei P, Anastasi J, Larson SA. Acute lymphoblastic leukemia:diagnosis and classification. *Best Practise & Research Clinical Hematology*. 2003;15(4):597-621.
- 22-Yanada M, Suzuki M, Kawashima K. Long term outcomes for unselected patients with acute miyeloid leukemia categorized according to World Health Organization classification: a single-center experience. *Eur J Haematol*. 2005;74:418-423.
- 23-Frater JL, Batanian JR, O'connor DM ve ark. Lymphoblastic leukemia with mature B-cell phenotype in infancy. *J Pediatr Hematol Oncol*.2004;26:672-677.
- 24-Velizarova M, Popova D, Hadjiev E, Aleksandrova K, Dimova I, Zaharieva B, Toshkov S, Staneva M, Hodjajik D, Penev M, Toncheva D. Molecular–cytogenetic aberrations in B-cell adult acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) frequency and correlation with immunphenotype . *Turk J Hematology*. 2006;23:151-157.
- 25-Schumacher HR. *Acute leukemia approach to diagnosis*. Schumacher HR. editor. Igaku-Shoin Ltd, Newyork, 1990.

- 26-Alter D, Mark HF. Cytogenetic study of a patient with infant acute lymphoblastic leukemia using GTG-banding and chromosome painting. *Exp and Mol Pathol*. 2000; 69:152-158.
- 27-Sonbahar M, Topçugil F, Demir İ, Bal F, Bakan M. Akut lösemilerde kromozom anomalileri ve prognoza etkisi. *İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi*. 2005;43(2):79-85.
- 28-Amare P, Gladstone B, Varghese C, Pai S, Advani S. Clinical significance of cytogenetic findings at diagnosis and in remission in childhood and adult acute lymphoblastic leukemia: experience from India. *Cancer Genet and Cytogenet*.1999;110:44-53.
- 29-Raimondi SC. Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1993;81(9):2237-2251.
- 30-Chang HH, Lu MY, Jou ST, Lin KH, Tien HF, Lin DT. Cytogenetics in childhood acute lymphoblastic leukemia in Taiwan: A single-institutional experience. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2006;23:6,495-506.
- 31-Ma SK, Wan TSK, Chan LC. Cytogenetics and molecular genetics of childhood leukemia. *Hematological Oncology*. 1999;17:91-105.
- 32-Harrison CJ. The detection and significance of chromosomal abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2001;15:49-59.
- 33-Lijun Z, Parkhurst JB, Kern WF, Scott KV, Niccum D, Mulvihill JJ ve ark. Chromosomal changes detected by fluorescence in situ hybridization in patients with acute lymphoblastic leukemias. *Chinese Med J*. 2003;116(9):1298-1303.
- 34-Piccaluga PP, Malagola M, Romdoni M, Ottaviani E, Testoni Nicoletta ve ark. Poor outcome of adult acute lymphoblastic leukemia patients carrying the (1;19)(q23;p13) translocation. *Leukemia&Lymphoma*. 2006;47(3):469-472.
- 35-Harrison CJ. The genetics of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Best Practise&Research Clinical Hematology*. 2000;13(3):427-439.
- 36-Wong KF, So CC, Siu LP. Cytogenetic triclinality in T-cell acute lymphoblastic leukemia: A conventional and molecular cytogenetic study. *Cancer Genet and Cytogenet*. 2000;116:77-80.

- 37-Mao X, Lillington DM, Czepulkowski B, Young BD, Jones RR, Whittaker S. A case of T-cell leukemia-lymphoma characterized by multiplex- fluorescence in situ hibridization, comparative genomic hybridization, fluorescence in situ hibridization and cytogenetics. *British J of Dermatology*. 2001;145:117-122.
- 38-Smock KJ, Nelson M, Tripp SR, Sanger WG, Abromowitch M, Cairo MS, Perkins SL. Characterization of childhood precursor T-lymphoblastic lymphoma by immunophenotyping and fluorescent in situ hybridization: A report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer*. 2008;51:489-494.
- 39- Rubnitz JE, Carnitta BM, Mahmoud H, Raimondi SC, Carroll AJ, Borowitz MJ ve ark. Childhood acute lymphoblastic leukemia with the MLL-ENL fusion and t(11;19)(q23;p13.3) translocation. *Journal of Clinical Oncology*. 1999;17(1):191-196.
- 40-Ferrando AA, Armstrong SA, Neuberg DS, Sallan SE, Silverman LB, Korsmeyer SJ, Look T. Gene expression signatures in MLL-rearranged T-lineage and B-precursor acute leukemias: dominance of HOX dysregulation. *Blood*. 2003;102(1):262-268.
- 41-Armstrong SA, Staunton JE, Silverman LB, Pieters R, Boer ML, Minden MD, Sallan SE ve ark. MLL translocations specify a distinct gene expression profile that distinguishes a unique leukemia. *Nature Genetics*. 2002;30:41-47.
- 42-Felix CA, Lange BJ. Leukemia in infants. *The Oncologist*. 1999;4:225-240.
- 43-Zhang Y, Zeleznik-Le N, Emmanuel N, Jayathilaka N, Chen J, Strissel P, Strick R ve ark. Characterization of Genomic Breakpoints in MLL and CBP in leukemia patients with t(11;16). *Genes, Chromosomes&Cancer*. 2004;41:257-265.
- 44-Kubicka M, Soszynska K, Mucha B, Rafinska B, Kolodziej B, Haus O ve ark. Unusual profiles of pediatric acute lymphoblastic leukemia with MLL gene rearrangement. *Leukemia&Lymphoma*. 2007;48(10):2083-2086.
- 45-Gamez JCG, Cervera J, Casado ZG, Duran AM, Valencia A, Barragan E ve ark. MLL amplification in acute myeloid leukemia. *Cancer Genet and Cytogenet*. 2007;174:127-131.
- 46-<http://atlasgeneticoncology.org/Genes/MLL.html>. Erişim Tarihi: 17.04.2009
- 47-<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez=geneID:4297> Erişim Tarihi: 12.05.09
- 48-Chami I, Pérot C, Portnoi MF, Jouault H, Rieux C, Pautas C, Kuentz M ve ark. Molecular analysis of an unusual rearrangement between chromosomes 4 and 11 in adult pre-B cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet and Cytogenet*. 2002;133:129-133.

- 49-Christine JH. Acute lymphoblastic leukemia. *Best Practise & Research Clinical Hematology*. 2001;14(3), 593-607.
- 50-Dorrance AM, Liu S, Yuan W, Becknell B, Arnoczky KJ, Guimond M, Strout Mp ve ark. MLL partial tandem duplication induces aberrant Hox expression in vivo via specific epigenetic alterations. *The Journal of Clinical Investigation*. 2006;116:2707-2716.
- 51-Faber J, Armstrong SA. Mixed lineage translocations and a leukemia stem cell program. *Cancer Res*. 2007;67(18).
- 52-Pais A, Kadam PA, Raje G, Sawant M, Kabre S, Jain H ve ark. Identification of various MLL gene aberrations that lead to MLL gene mutation in patients with acute lymphoblastic leukemia(ALL) and infanrs with acute leukemia. *Leukemia Research*. 2005;29:517-526.
- 53-Bergh A, Emanuel B, Bhola SZ, Smetsers T, Soest R, Stul M ve ark. A DNA prbe combination for improved detection of MLL/11q23 breakpoints by double-color interphase-FISH in acute leukemias. *Genes, Chromosomes&Cancer*. 2000;28:14-22.
- 54-Bizarro S, Cerveira N, Correia C, Lisboa S, Peixoto A, Norton L, Teixeira MR. Molecular characterization of a rare MLL-AF4 (MLL-AFF1) fusion rearrangement in infant leukemia. *Cancer Genet and Cytogenet*. 2007;178:61-64.
- 55-Thirman MJ, Gill HJ, Burnett RC, Mbangkollo D, McCabe NR, Kobayashi H ve ark. Rearrangement of the MLL gene in acute lymphoblastic and acute myeloid leukemiaswith 11q23 chromosomal translocations. *The New England Journal of Medicine*. 1993;329:909-914.
- 56-Downing JR, Head DR, Raimondi SC, Carroll AJ, Brint AMC, Motroni TA ve ark. The der(11)-encoded MLL\AF4 fusion transcript is consistently detected in t(4;11)(q21;q23)-containing acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1994;83(2):330-335.
- 57-Burmeister T, Marschalek R, Schneinder B, Meyer C, Gökbuget N, Schwartz S, Hoelzer D, Thiel E. Monitoring minimal residual disease by quantification of genomic chromosomal breakpoint sequences in acute leukemias with MLL aberrations. *Leukemia*. 2006; 20:451-457.
- 58-Tanaka K, Eguchi M, Ishimae E, Hasegawa A, Ohgami A ve ark. Restricted chromosome breakpoint sites on 11q22-q23.1 and 11q25 in various hematological malignancies without MLL\ALL1 gene rearrangement. *Cancer Genet and Cytogenet*. 2001;124:27-35.

- 59-Poirel H, Rack K, Delabesse E, Weiss IR, Troussard X, Debert C ve ark. Incidence and characterization of MLL gene (11q23) rearrangements in acute myeloid leukemia M1 and M5. *Blood*. 1996;87:2496-2505.
- 60-Hilden JM, Frestedt JL, Moore RO, Heerema NA, Arthur DC, Reaman GH, Kersey JH. Molecular analysis of infant acute lymphoblastic leukemia:MLL gene rearrangement and reverse transcriptase-polymerase chain reaction for t(4;11)(q21;q23). *Blood*. 1995;15:3876-3882.
- 61-Rozovskaia T, Feinstein E, Mor O, Foa R, Blechman J, Nakamura T ve ark. Upregulation of Meis1 and HoxA9 in acute lymphoblastic leukemias with the t(4;11) abnormality. *Oncogene*. 2001;20:874-878.
- 62-Uckun MF, Hatten HK, Crotty ML, Sensel MG, Sather HN, Ahlgren LT, Sarquis MB ve ark. Clinical significance of MLL\AF4 fusion transcript expression in the absence of a cytogenetically detectable t(4;11)(q21;q23) chromosomal translocation. *Blood*. 1998;92(3):810-821.
- 63-Behm FG, Raimondi SC, Frestedt JL, Liu Q, Crist WM, Downing JR. Rearrangement of the MLL gene confers a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia, regardless of presenting age. *Blood*. 1996;87:2870-2877.
- 64-Rubnitz JE, Behm FG, Brint AM, Pinheiro VR, Carroll AJ, Raimondi SC ve ark. Molecular analysis of t(11;19) breakpoints in childhood acute leukemias. *Blood*. 1996;11:4804-4808.
- 65-Corral J, Forster A, Thompson S, Lampert F, Kaneko Y, Slater R ve ark. Acute leukemias of different lineages have similar MLL gene fusions encoding related chimeric proteins resulting from chromosomal translocation. *Proc. Natl Acad. Sci*. 1999;90:8538-8532.
- 66-Fu JF, Liang DC, Shih LY. Analysis of acute leukemias with MLL\ENL fusion transcript. *American Soc for Clin Pathol*. 2007;127:24-30.
- 67-Silvermann LB. Acute lymphoblastic leukemia in infancy. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;49:1070-1073.
- 68-Strissel PL, Strick R, Tomek RJ, Roe BA, Rowley JD, Zeleznik-Le NJ. DNA structural properties of AF9 are similar to MLL and could act as recombination hot spots resulting in MLL\AF9 translocations and leukemogenesis. *Human Molecular Genetics*. 2009;9(11):1671-1679.

- 69-Super HG, Strissel PL, Sobulo OM, Burian D, Reshmi SC, Roe B ve ark. Identification of complex genomic breakpoint junctions in the t(9;11) MLL-AF9 fusion gene in acute leukemia. *Genes, Chromosomes&Cancer*.1997;20:185-195.
- 70-Cavazzini F, Bardi A, Tammisso E, Ciccone M, Rossi AR, Divona D ve ark. Validation of an interphase fluorescence in situ hibridization approach fort he detection of MLL gene rearrangements and of the MLL\AF9 fusion in acute myeloid leukemia. *The Haematol J*. 2006;91(3):381-385.
- 71-Kobayshi H, Espinosa R, Thirman MJ, Davis EM, Diaz MO ve ark. Variability of 11q23 rearrangements in hematopoietic cell lines identified with fluorescence in situ hybridization. *Blood*. 1993;81(11):3027-3033.
- 72-Kanerva J, Vettenranta K, Autio K, Knuutila S, Saarinen-Pihkala UM. Minimal residual disease by metaphase FISH in children with ALL:clonal cells during or after chemotherapy may not predict relapse. *Leukemia Research*. 2002;26:545-550.
- 73-Arber DA, Stein AS, Carter NH, Ikle D, Forman SJ, Slovak ML. Prognostic impact of acute myeloid leukemia classification- importance of detection of recurring cytogenetic abnormalities and multilineage dysplasia on survival. *American J. of Clin Pathol*. 2003;119:672-680.
- 74-Nordgren A, Schoumans J, Söderhall S, Nordenskjöld M, Blennow E. Interphase fluorescence in situ hibridization and spectral karyotyping reveals hidden genetic aberrations in children with acute lymphoblastic leukemia and a normal banded karyotype. *British J of Haematol*. 2001;114:786-793.
- 75-Karaüzüm SB, Bilgen T, Karadoğan I, Yakut S, Çetin Z, Uğur A, Lüleci G. Novel cytogenetic findings revealed by conventional cytogenetic and FISH analyses in leukemia patients. *Exp Oncol*. 2005;27:229-232.
- 76-Nordgren A, Heyman M, Sahlen S, Schoumans J, Söderhall S, Nordenskjöld M, Elisabeth B. Spectral karyotyping and interphase FISH reveal abnormalities not detected by conventional G-banding. *European Journal of Haematology*. 2002;68:31-41.
- 77-Rooney DH, Czepulkowski B, Gibbons B. *Human Cytogenetics,Malignancy and Acquired Abnormalities*. The Practical Approach Series, Oxford University Press, 2001.
- 78-Barch MJ. *The act cytogenetics laboratory manual*. New York, Raven Press;1991.
- 79-Gilliand DG, Blanchard KL. Clonality in myeloproliferative disorders: Analysis by means of the polymerase chain reaction. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1991;88:6848-6852.

- 80-Mitelman F. An International system for human cytogenetic nomenclature. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 1995.
- 81-Başaran N. *Teorik ve Pratik Fluoresan In Situ Hibridizasyon:FISH*, Eskişehir,1996.
- 82-<http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2003/Stonestreet/howitworks.htm> Erişim Tarihi:18.04.09
- 83-Karaman B. DNA spesifik problemlerin kullanımı ile yapısal seks kromozom anomalilerinin araştırılması. *Tıbbi Genetik Doktora Tezi*, İÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1999.
- 84-Piccaula PP, Malagula M, Rondoni M, Ottaviani E, Testoni N, Laterza C, Vısani G, Pileri SA, Martinelli G, Baccarani M. Poor outcome of adult acute lymphoblastic leukemia patients carrying the t(1;9)(q23;p13) translocation. *Leukemia & Lymphom.* 2006;47(3):469-472.
- 85-Pala FS. FISH analysis in hematologic cancers. *Trakya Üniv Tıp Fak Derg.* 2005; 22(3):132-136.
- 86-Koo SH, Kwon GC, Chun HJ, Park JW. Cytogenetic and fluorescence in situ hibridization analyses of hematologic malignancies in Korea. *Cancer Genet and Cytogenet.*1998;101:1-6.
- 87-Temizkan G, Arda N. *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. 2nd baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, 2004.
- 88-Davies SM, Bhatia S, Ross JA. Glutathione S-transferase genotypes, genetic susceptibility and outcome of therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2002;100:67-71.
- 89-Krajinovic M, Costea I, Chiasson S. Polymorphism of the thymidylate synthase and outcome of acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 2002;359:1033-1034.
- 90-Sirvent N, Monpoux F, Benet L, Richelme C, Mariani R. Acute basal ganglia necrosis associated with cytarabine therapy. *Medical and Pediatric Oncology.* 1998;30:308-317.
- 91-Bostrom BC, Sensel MR, Sather HN. Dexamethasone versus prednisone and daily versus weekly intravenous mercaptopurine for patients with Standard risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *Blood.* 2003;101:3809-3817.
- 92-Pieters R, Carroll WL. Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Clinic of Nourth America.* 2008;55: 1–20.

93-<http://www.cytoCELL.com/products/aquarius/haematology/lph013.asp>

Erişim Tarihi: 12.05.09

94-Woo HY, Kim DW, Park H, Seong KW, Koo HH, Kim SH. Molecular cytogenetic analysis of gene rearrangements in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Korean Med Sci.* 2005;20:36-41.

95-Schrappe M, Arico M, Harbott J. Philadelphia chromosome-positive(Ph⁺) childhood acute lymphoblastic leukemia: good initial steroid response allows early prediction of a favorable treatment outcome. *Blood.* 1998;92:2730-41.

96-Harrison CJ, Moorman AV, Barber KE, Broadfield ZJ, Cheung KL, Harris RL ve ark. Interphase molecular cytogenetic screening for chromosomal abnormalities of prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukemia: a UK Cancer Cytogenetics Group Study. *British Journal of Haematology.* 2005;129:520-530.

97-Kanerva J, Niini T, Vettenranta K. Loss at12q detected by comparative genomic hybridization (CGH): Association with TEL-AML1 fusion and favorable prognostic features in childhood acute lymphoblastic leukemia. A multi-institutional study. *Med Pediatr Oncol.* 2001;37:419-425.

98-Pedersen RK, Kerndrup GB, Sorensen AG, Andersen TM, Hansen PG, Pulczynski S ve ark. Cytogenetic aberrations in adult acute lymphoblastic leukemia: optimal technique may influence the results. *Cancer Genet and Cytogenet.* 2001;128:7-10.

99-Giugliano E, Cambrin GR, Scaravaglio P, Wlodarska I, Emanuel B, Stul M ve ark. Two new translocations involving 11q23 region map outside the MLL locus in myeloid leukemias. *Haematologica.* 2002;87:1014-1020.

100-Dolan M, Ronald C, Glennen M, Hirsch B. MLL amplification in myeloid malignancies: clinical, molecular, and cytogenetic findings. *Cancer Genet and Cytogenet.* 2002;134:93-101.

101-Loiseua HA, Godon C, Li JY, Daviet A, Mellerin MP, Talmant P ve ark. Amplification of the 11q23 region in acute myeloid leukemia. *Genes, Chromosomes & Cancer.* 1999;26:166-170.

102-Hayashi Y, Raimondi SC, Look AT, Behm FG, Kitchingman GR, Pui CH ve ark. Abnormalities of the long arm of chromosome 6 in childhood acute lymphoblastic leukemia. *American Soc of Hematol.* 1990;76:1626-1630.

103-Mancini M, Vegna ML, Castoldi GL, Mecucci G, Spirito F, Elia L. Partial deletions of long arm of chromosome 6: biologic and clinical implications in adult acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2002; 16:2055-2061.

104-Bacher U, Schnittger S, Gruneisen A, Haferlach T, Kern W, Haferlach C. Inverted duplication dup(1)(q32q21) as sole aberration in lymphoid and myeloid malignancies. *Cancer Genet and Cytogenet*. 2009; 188:108-111.

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI



Sayı : 26173

İstanbul, 26 Eylül 2007

Konu :

Dahili Tıp Bilimleri Bölümü
Başkanlığına

İLGİ: 23.07.2007 tarihli, 2979 sayılı yazınıza:

Bölümünüze bağlı Tıbbi Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğr. FİGEN AYDOĞDU'nun yürüteceği "Akut Lenfoblastik Lösemi Olgularında MLL Gen Bölgesindeki Yeniden Düzenlemelerin FISH Yöntemiyle araştırılması" başlıklı çalışma hakkında 18 Eylül 2007 tarihinde toplanan Fakültemiz Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini saygılarımla rica ederim.

EKİ:
1 dosya


Prof. Dr. Mehmet YILDIRIM
Dekan Yardımcısı ve Etik
Kurul Başkanı

Not : Yanıtlarda yazımızın gün sayısının belirtilmesi rica olunur. Tel : (0212)4143000

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	FİGEN	Soyadı	AYDOĞDU
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	27.08.1983
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	10906823504
Email	aydogdu.figen@hotmail.com	Tel	0533 439 52 09

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Yük.Lis.	İ.Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENS. GENETİK PROGRAMI	
Lisans	İ.Ü. FEN FAKÜLTESİ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ	2006
Lise	FLORYA TEVFİK ERCAN LİSESİ	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	-	-	-
2.	-	-	-
3.	-	-	-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi	-	56.75

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	61.970	61.489	60.489
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS OFFİCE	İyi
Windows XP, Windows Wista	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Yüzme , sinema