



T.C

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

TRİZOMİ 8 ANOMALİSİNE SAHİP AML VE MDS OLGULARINDA *IDH1*  
VE *IDH2* GEN MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

TUĞÇE PINAR KÖSEOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

PROF. DR. BEYHAN DURAK ARAS

ESKİŞEHİR, 2023





**T.C.**

**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**TRİZOMİ 8 ANOMALİSİNE SAHİP AML VE MDS OLGULARINDA *IDH1*  
VE *IDH2* GEN MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

**TUĞÇE PINAR KÖSEOĞLU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**PROF. DR. BEYHAN DURAK ARAS**

**ESKİŞEHİR, 2023**

## ÖZET

**Başlık:** Trizomi 8 anomalisine sahip AML ve MDS olgularında *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonlarının araştırılması

**Amaç:** Bu çalışma ile; izole trizomi 8 anomalisi saptanan AML ve MDS tanılı olgularda, *IDH1* ve *IDH2* genlerindeki mutasyonlar araştırılmıştır. Buna bağlı olarak ilgili genlerin mutasyonel durumunun; görülme sıklığı trizomi 8 ile ilişkisi ve klinik heterojeniteye olan katkısının değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

**Yöntem:** Konvensiyonel ve moleküler sitogenetik analizlerle izole trizomi 8 anomalisi saptanan 23'ü AML, 22'si MDS tanılı olmak üzere 45 hastada; *IDH1* ve *IDH2* genlerinin 4. eksonlarında *IDH1* için R132, *IDH2* için R140 hotspot mutasyonlarının analizi Real- time PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular:** Akut miyeloid lösemi ve MDS tanılı olgularda *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonlarına yönelik gerçekleştirilen Real- time PCR çalışmamızın sonucunda; çalışmaya dahil edilen 1 AML ve 1 MDS tanılı olmak üzere 2 hastada yalnızca *IDH1*, MDS tanılı 1 hasta da ise yalnızca *IDH2* geninde heterozigot mutasyon varlığı saptanmıştır. Akut miyeloid lösemi tanılı 1 hastada ise ilgili genlerin her ikisinde de heterozigot mutasyon saptanmıştır. Akut miyeloid lösemi ve MDS tanılı hastalarda +8 anomalisinin *IDH1* ve *IDH2* mutasyonlarının birlikte saptanması açısından aralarındaki ilişki, mutasyon saptanan hasta sayısının az olması sebebiyle istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.

**Sonuçlar:** Elde edilen veriler AML ve MDS olgularında +8 ile *IDH1/2* mutasyonlarının birbirine eşlik etmediğini destekler niteliktedir. Ancak mutasyon saptanan olgular klinik verileriyle birlikte değerlendirildiğinde, ilgili gen mutasyonlarının ağır seyreden prognoz ve AML'de tedavi direnci ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızın sonucunda trizomi 8 saptanan AML ve MDS olgularında *IDH1/2* mutasyonlarının olumsuz prognostik etki gösterdiğine dair bilgilerin kesin olarak ortaya koyulabilmesi için daha fazla vakada ilgili gen mutasyonlarının araştırılmasına ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** AML, MDS, Trizomi 8, *IDH1*, *IDH2*

## SUMMARY

**Title:** Investigation of *IDH1* and *IDH2* gene mutations in AML and MDS cases with trisomy 8 anomaly

**Objective:** With this work; investigation of mutations in *IDH1* and *IDH2* genes in AML and MDS cases with isolated trisomy 8(+8) anomaly and determining their incidence in both disease groups; to determine whether these gene mutations are effective in the clinical difference between the two groups by revealing the difference between them in terms of related gene mutations was aimed.

**Method:** In 45 patients, 23 of whom were diagnosed with AML and 22 with MDS, isolated trisomy 8 anomaly was detected by conventional and molecular cytogenetic analyzes; analysis of hotspot mutations of *R132* for *IDH1* and *R140* for *IDH2* in exons 4 of *IDH1* and *IDH2* genes were performed by Real- time PCR method.

**Results:** As a result of our Real- time PCR study conducted for *IDH1* and *IDH2* gene mutations in cases diagnosed with Acute myeloid leukemia and MDS; heterozygous mutation were found in only *IDH1* gene in 2 patients which are 1 of these is AML and another is MDS and only *IDH2* gene in 1 patient which is MDS. Heterozygous mutations in both of the relevant genes were detected in 1 patient with acute myeloid leukemia.

**Conclusion:** The obtained data is support that +8 and *IDH1/2* mutations do not accompany each other in AML and MDS cases. However, when the cases with mutations were evaluated together with their clinical data, it was suggested that the relevant gene mutations may be associated with poor prognosis and treatment resistance in AML. As a result of our study, it was concluded that there is a need to investigate the relevant gene mutations in more cases in order to definitively reveal the negative prognostic effects of *IDH1/2* mutations in AML and MDS cases with trisomy 8.

**Keywords:** AML, MDS, Trisomy 8, *IDH1*, *IDH2*

# İÇİNDEKİLER

|                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| KABUL VE ONAY SAYFASI.....                                                       |     |
| ETİK BEYAN.....                                                                  |     |
| ÖZET .....                                                                       | i   |
| SUMMARY .....                                                                    | ii  |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                | iii |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                            | v   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                            | vi  |
| SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                                                | vii |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                                                           | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                                           | 2   |
| 2.1. Hematolojik Maligniteler.....                                               | 2   |
| 2.2. Miyelodisplastik Neoplazi (MDS).....                                        | 3   |
| 2.2.1. Risk sınıflandırması .....                                                | 3   |
| 2.2.2. Klinik ve epidemiyolojik özellikler .....                                 | 6   |
| 2.2.3. Patogenez ve prognoz .....                                                | 6   |
| 2.2.4. Sitogenetik değişimler.....                                               | 7   |
| 2.2.5. Moleküler değişimler .....                                                | 8   |
| 2.2.6. MDS'den AML'ye transformasyon .....                                       | 9   |
| 2.3. Akut Miyeloid Lösemi .....                                                  | 13  |
| 2.3.1. Risk sınıflandırması .....                                                | 13  |
| 2.3.2. Klinik ve epidemiyolojik özellikler .....                                 | 16  |
| 2.3.3. Patogenez ve prognoz .....                                                | 16  |
| 2.3.4. Sitogenetik değişimler.....                                               | 17  |
| 2.3.5. Moleküler değişimler .....                                                | 18  |
| 2.4. MDS ve AML'de Trizomi 8 Anomalisi.....                                      | 18  |
| 2.5. IDH1 ve IDH2 Genleri.....                                                   | 19  |
| 2.5.1. MDS ve AML'de IDH1 ve IDH2 mutasyonları .....                             | 19  |
| 2.5.2. IDH1 ve IDH2 genlerinin AML tedavi stratejisinde terapötik etkileri ..... | 21  |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER .....                                                      | 22  |
| 3.1. Gereç .....                                                                 | 22  |
| 3.1.1. Kullanılan kimyasallar .....                                              | 22  |
| 3.1.2. Kullanılan primer ve prob dizileri.....                                   | 23  |
| 3.1.3. Sarf malzemeler ve cihazlar .....                                         | 24  |

|                                                            |                                         |
|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 3.2. Yöntem.....                                           | 25                                      |
| 3.2.1. DNA izolasyonu.....                                 | 25                                      |
| 3.2.2. Real- time PCR reaksiyonu.....                      | 26                                      |
| <b>4. BULGULAR.....</b>                                    | <b>28</b>                               |
| 4.1. İstatistiksel Analiz.....                             | 35                                      |
| <b>5. TARTIŞMA.....</b>                                    | <b>36</b>                               |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                           | <b>44</b>                               |
| <b>7. KAYNAKLAR DİZİNİ .....</b>                           | <b>46</b>                               |
| <b>8. EKLER DİZİNİ .....</b>                               | <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b> |
| EK- 1 ETİK KURUL KARARI                                    |                                         |
| EK- 2 BENZERLİK RAPORU                                     |                                         |
| <b>9. ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                    | <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b> |
| <b>10. YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI.....</b> | <b>59</b>                               |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 2.1.</b> Miyelodisplastik neoplazi IPSS- R sınıflandırması.....                                            | 3  |
| <b>Tablo 2.2.</b> 2022 DSÖ MDS sınıflandırması.....                                                                 | 4  |
| <b>Tablo 2.3.</b> Miyelodisplastik neoplazi IPSS- M sınıflandırması.....                                            | 5  |
| <b>Tablo 2.4.</b> Miyelodisplastik neoplazide sık görülen gen mutasyonları.....                                     | 9  |
| <b>Tablo 2.5.</b> Miyelodisplastik neoplazi ve AML transformasyonunda ortak<br>olarak görülen gen mutasyonları..... | 11 |
| <b>Tablo 2.6.</b> Akut miyeloid lösemide genetiğe dayalı risk sınıflandırması.....                                  | 15 |
| <b>Tablo 3.1.</b> Çalışmada kullanılan primer ve prob sekansları.....                                               | 23 |
| <b>Tablo 3.2.</b> Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve cihazlar.....                                             | 24 |
| <b>Tablo 3.3.</b> Real- time PCR bileşenleri ve miktarları.....                                                     | 26 |
| <b>Tablo 4.1.</b> Akut miyeloid lösemi tanılı olgu grubu.....                                                       | 33 |
| <b>Tablo 4.2.</b> Miyelodisplastik neoplazi tanılı olgu grubu.....                                                  | 34 |
| <b>Tablo 5.1.</b> Literatürde izole trizomi 8 anomalili AML ve MDS olgularında<br>edinilen verilerin özeti.....     | 40 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. Hücre orijinine göre lösemilerin gruplandırılması.....                                                              | 2  |
| Şekil 2.2. Miyelodisplastik neoplazinin patogenezi.....                                                                        | 7  |
| Şekil 2.3. MDS/AML transformasyonunda sitogenetik anomalilerin önemi.....                                                      | 10 |
| Şekil 2.4. Prognostik risk ve mutasyon oluşma sırasına göre MDS'nin AML'ye<br>progresyonunda rol oynayan gen mutasyonları..... | 12 |
| Şekil 2.5. Akut miyeloid lösemi oluşumu.....                                                                                   | 17 |
| Şekil 2.6. <i>IDH</i> mutasyonlarının etkili olduğu hücresel yollar.....                                                       | 21 |
| Şekil 2.7. <i>IDH</i> inhibitörleri.....                                                                                       | 22 |
| Şekil 4.1. Miyelodisplastik neoplazi grubu olgu M5'e ait karyotip görüntüsü.....                                               | 28 |
| Şekil 4.2. Miyelodisplastik neoplazi grubu olgu M13'e ait FISH görüntüsü.....                                                  | 29 |
| Şekil 4.3. Tüm olgular için rs121913499 numaralı <i>IDH1</i> gen mutasyon taraması<br>Real-time PCR analiz sonuçları.....      | 30 |
| Şekil 4.4. Tüm olgular için rs121913502 numaralı <i>IDH2</i> gen mutasyon taraması<br>Real- time PCR analiz sonuçları.....     | 30 |
| Şekil 4.5. Akut miyeloid lösemi grubu olgu 6'ya ait heterozigot mutant <i>IDH1</i><br>Real- time PCR analiz görüntüsü.....     | 31 |

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                        |                                                      |
|------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>+8</b>              | : Trizomi 8                                          |
| <b>µl</b>              | : Mikro Litre                                        |
| <b>AML</b>             | : Akut Miyeloid Lösemi                               |
| <b>CEBPA</b>           | : <i>CCAAT/ Enhancer Binding Protein Alfa</i>        |
| <b>dH<sub>2</sub>O</b> | : Distile Su                                         |
| <b>DNA</b>             | : Deoksiribonükleik Asit                             |
| <b>DNMT3A</b>          | : <i>DNA Metiltransferaz 3 Alfa</i>                  |
| <b>DSÖ</b>             | : Dünya Sağlık Örgütü                                |
| <b>ELN</b>             | : European Leukemia Network                          |
| <b>FLT3</b>            | : <i>FMS Related Receptor Tyrosine Kinase 3</i>      |
| <b>HKH</b>             | : Hematopoetik Kök Hücre                             |
| <b>ICC</b>             | : The International Concensus Classification         |
| <b>IDH1</b>            | : <i>İzositrat Dehidrogenaz I</i>                    |
| <b>IDH2</b>            | : <i>İzositrat Dehidrogenaz II</i>                   |
| <b>IPSS-M</b>          | : International Prognostic Scoring System- Molecular |
| <b>IPSS-R</b>          | : International Prognostic Scoring System            |
| <b>MDS</b>             | : Miyelodisplastik Neoplazi                          |
| <b>MECOM</b>           | : <i>MDS1 and EVI1 Complex Locus</i>                 |
| <b>ml</b>              | : Mili Litre                                         |
| <b>MPN</b>             | : Miyeloproliferatif Neoplazma                       |
| <b>NADP</b>            | : <i>Nkotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat</i>        |
| <b>NPM1</b>            | : <i>Nükleofosmin 1</i>                              |

## **SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam Ediyor)**

**OS** : Total Sağkalım

**PFS** : Progresyonsuz Sağkalım

**RAS** : *Ras Sarkoma*



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut miyeloid lösemi (AML) ve Miyelodisplastik neoplazi (MDS)'de birçok gen mutasyonu ve kromozomal değişimler saptanması sebebiyle genetik açıdan bir heterojenite söz konusudur. Ayrıca ilgili tanılarda ortak genetik değişimlerin gözlemlendiği de literatürde yer alan veriler arasındadır. Bu ortak değişimlerden trizomi 8; orta prognostik ve en sık saptanan sayısal kromozom anomalilerinden biridir. İki tanı grubunda en sık karşılaşılan gen mutasyonları arasında da *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonları yer almaktadır. Bu gen mutasyonları, kısa progresyonsuz sağkalım (PFS) ve total sağkalım (PS)'ye sebep olması nedeniyle kötü prognostik belirteç olarak kabul edilseler de yeni tedavi hedefi olarak kılavuzlarda yer alması umut verici bir gelişme olarak görülmektedir. Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonlarının trizomi 8'e, diğer kromozomal anomalilere göre daha sık eşlik ettiği de bildirilmektedir.

Söz konusu iki hastalık grubunda ortak genetik aberasyonlar saptanmakta olsa da AML ve MDS klinik açıdan oldukça farklılık göstermektedir. Akut miyeloid lösemi oldukça agresif seyreden bir lösemi türü olmasına rağmen, MDS'nin klinik seyri AML'ye göre daha iyi seyirlidir. Ancak MDS hastalarının AML'ye dönüşüm riskleri de oldukça yüksektir.

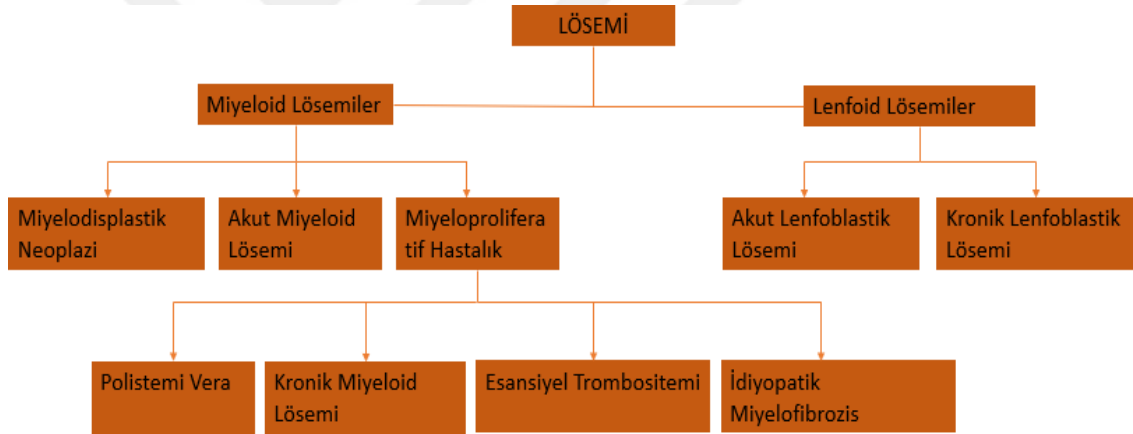
Bu çalışmada; konvansiyonel ve moleküler sitogenetik analizler ile orta prognostik bir biyo belirteç olarak kabul edilen, izole trizomi 8 (+8) saptadığımız 45 olguda (23 AML ve 22 MDS) *IDH1* ve *IDH2* genlerindeki en sık karşılaşılan hotspot mutasyonların araştırılması ve her iki hastalık grubunda görülme sıklıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylelikle, ortak orta prognostik belirteç olan +8 anomalisine sahip AML ve MDS olgularının *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonlarının sıklıkları açısından aralarındaki fark ortaya koyularak, iki grup arasındaki klinik farklılıkta bu gen mutasyonlarının etkisinin ortaya koyulması hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hematolojik Maligniteler

Embriyonik gelişim ve yetişkinlik boyunca kan hücrelerinin büyük bir kısmının üretimi hematopoez olarak adlandırılmaktadır ( Jagannathan- Bogdan, at al., 2013). Hormonlar, sitokinler, büyüme ve transkripsiyon faktörleri gibi çeşitli kompleks mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşen hematopoez; bu mekanizmaların moleküler deragülasyonu sebebiyle hematolojik malignitelere yol açabilmektedir. (Günden, G., 2020).

Klinik ve genetik açıdan yüksek heterojenite gösteren lösemi; mutasyonların birikmesi sonucu ortaya çıkan genetik bir hastalıktır (Işık, S., 2020). Lösemiler prognozuna göre akut (hızlı ilerleyen) ve kronik (yavaş ilerleyen), hücre orijinlerine göre ise miyeloid ve lenfoid olarak gruplandırılmaktadır. (Günden, G., 2020).



**Şekil 2.1.** Hücre orijinine göre lösemilerin gruplandırılması (Günden, G., 2020).

Hematolojik malignitelerde hastalığın prognozuna ve patogeneze etkisi olduğu bilinen kromozom anomalileri; spesifik farklılaşma ve proliferasyon yollarının aktivasyonunu sağlayarak hastalık progresyonuna katkıda bulunan yapısal kromozom anomalileri olabileceği gibi, öploid veya anöploid gibi klonlara yol açan sayısal kromozom anomalileri de olabilmektedir (savlı et al., 2013).

## 2.2. Miyelodisplastik Neoplazi (MDS)

Miyelodisplastik neoplazi hematopoezdeki başarısızlık sonucu ortaya çıkan; hücrel disfonksiyon, hiperplastik kemik iliği ve periferik kanda sitopeni ile karakterize AML'ye transforme riski oldukça yüksek olan klonal bir hastalıktır. (Karantanos & DeZern, 2021; Saumell at al., 2015).

Şekil 2.1. 'de hematolojik malignitelerdeki yeri belirtilen MDS; miyeloid seriye farklılaşan hematopoetik kökenli hücrenin neoplastik transformasyonu sebebiyle oluşmaktadır (Karantanos & DeZern, 2021; Saumell at al., 2015).

### 2.2.1. Risk sınıflandırması

Miyelodisplastik neoplazide prognoz ve tedavi yaklaşımında risk sınıflandırması oldukça önemlidir. Günümüzde hematolojik parametreler ve sitogenetik anomalilere dayalı tablo 2.1. 'de özetlenen Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) bu amaçla kullanılmaktadır. Evrensel olarak risk sınıflandırması için kullanılan IPSS-R MDS'de; çok düşük, düşük, orta, yüksek ve çok yüksek olmak üzere 5 risk kategorisi tanımlanmaktadır.

**Tablo 2.1.** Miyelodisplastik neoplazi IPSS – R sınıflandırması (Guideline, N., 2022).

| IPSS-R Risk Kategorisi (%) | Tüm Skor         | Tedavisiz Sağkalım YılOrtalaması | Tedavisiz %25 AML Progresyonu(Yıl) |
|----------------------------|------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| Çok Düşük (19)             | $\leq 1.5$       | 8.8                              | -                                  |
| Düşük (38)                 | $>1.5- \leq 3.0$ | 5.3                              | 10.8                               |
| Orta (20)                  | $>3.0- \leq 4.5$ | 3                                | 3.2                                |
| Yüksek (13)                | $>4.5- \leq 6.0$ | 1.6                              | 1.4                                |
| Çok Yüksek (10)            | $>6.0$           | 0.8                              | 0.7                                |

22 Haziran 2022'de DSÖ tarafından yayınlanan miyeloid ve lenfoid neoplazmalar sınıflandırmasının 5. baskısını kapsayan 2 yayınına göre artık miyelodisplastik neoplazma olarak adlandırılan MDS'nin sınıflandırması tablo 2.2. 'de özetlenmiştir.

Yeni alt gruplandırma, daha doğru bir sınıflandırma ve dolayısıyla hedefe yönelik tedaviler için temel sağlamayı amaçlamaktadır. Bu sınıflandırmayla birlikte; Miyeloproliferatif hastalıklar/ sendromlar grubunda değerlendirilen MDS, miyelodisplastik neoplazi olarak yeniden adlandırılmıştır. Ancak MDS kısaltmasının korunması kararı alınmıştır. ( Cazzola, M., 2022).

**Tablo 2.2.** DSÖ MDS sınıflandırması (Guideline, N., 2022).

| <b>Genetik anomalilerine göre MDS</b>                             |
|-------------------------------------------------------------------|
| Düşük blast sayısı ve izole 5q delesyonu (MDS-5q)                 |
| Düşük blast sayısı ve <i>SF3B1</i> mutasyonu (MDS- <i>SF3B1</i> ) |
| Biallelik <i>TP53</i> inaktivasyonu (MDS-bi <i>TP53</i> )         |
| <b>Morfolojik yapılarına göre MDS</b>                             |
| Düşük blast sayısı (MDS-LB)                                       |
| Hipoplastik (MDS- h)                                              |
| Artmış blast sayısı ( MDS-IB)                                     |

Tablo 2.2. ‘de özetlenen MDS’de DSÖ alt tipleri , sitopeni komplikasyonları, aynı zamanda AML’ye transformasyona dayanan farklı ölüm riskleriyle ilişkilendirilirken, sitogenetik anormallikler MDS’de ek bir bağımsız prognostik faktör olarak değerlendirilmektedir. Konvansiyonel sitogenetik, gen sekanslama ile birleştirildiğinde, hastaların %90’ından fazlasının somatik bir lezyon taşıdığı görülmüştür. Ayrıca hastaların bir kısmının miyeloid neoplazmalara yatkınlık kazandıran germ hattı varyantlarına sahip olduğu da literatürde verilen bilgiler arasında yer almaktadır. Bu sebeple; MDS’de prognoza yönelik hematolojik parametreler, sitogenetik anomaliler ve gen mutasyonlarının dikkate alındığı International Prognostic Scoring System – Molecular (IPSS- M) geliştirilmiştir. Miyelodisplastik neoplazi olgularında etkili bir risk sınıflandırması sağlayan IPSS- M; lösemisiz sağkalım, OS ve AML dönüşüm gibi

risk değerlendirmeleri ve tedavi kararları için oldukça önemli bir yaklaşımdır. IPSS- M sınıflandırması tablo 2.3.'de özetlenmiştir. (Cazzola, M., 2022).

**Tablo 2.3.** Miyelodisplastik neoplazi IPSS-M sınıflandırması (Guideline, N., 2022).

| Ana Etkili Genler | Rezidüel Genler |
|-------------------|-----------------|
| <i>TP53</i>       | <i>BCOR</i>     |
| <i>MLL</i>        | <i>BCORL1</i>   |
| <i>FLT3</i>       | <i>CEBPA</i>    |
| <i>SF3B1-5q</i>   | <i>ETNK1</i>    |
| <i>NPM1</i>       | <i>GATA2</i>    |
| <i>RUNX1</i>      | <i>GNB1</i>     |
| <i>NRAS</i>       | <i>IDH1</i>     |
| <i>ETV6</i>       | <i>NF1</i>      |
| <i>IDH2</i>       | <i>PHF6</i>     |
| <i>CBL</i>        | <i>PPM1D</i>    |
| <i>EZH2</i>       | <i>PRPF8</i>    |
| <i>U2AF1</i>      | <i>PTPN11</i>   |
| <i>SRSF2</i>      | <i>SETBP1</i>   |
| <i>DNMT3A</i>     | <i>STAG2</i>    |
| <i>ASXL1</i>      | <i>WT1</i>      |
| <i>KRAS</i>       |                 |
| <i>SF3B1-α</i>    |                 |

### 2.2.2. Klinik ve epidemiyolojik özellikler

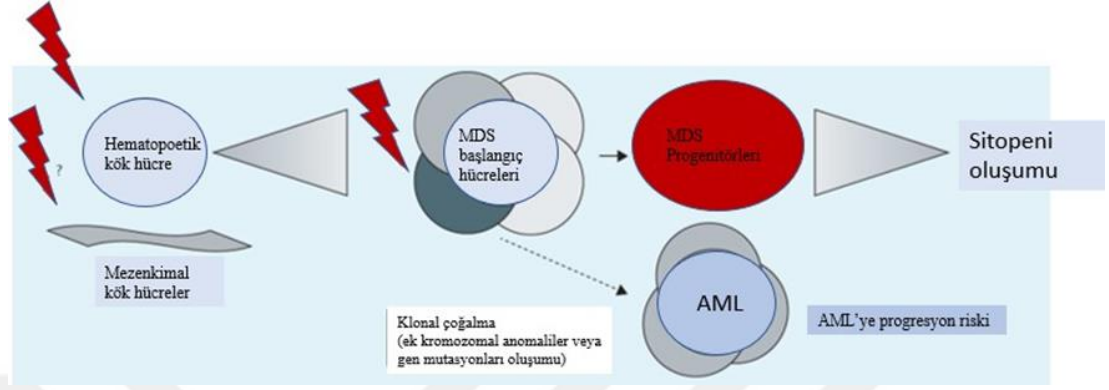
İnsidansı 8-12/100.000 olan MDS genellikle ileri yaş hastalığı olarak bilinmekle birlikte genç yaştaki bireylerde de görülebilmektedir. Yaklaşık %86'sı tanı anında 60 yaş ve üzeri olan MDS hastalarında ortalama yaş sıklıkla  $\geq 65$  yıldır. Tedavi ilişkili MDS dışında 50 yaş altında ise vakaların genellikle sadece %6'sı teşhis edilebilmektedir. Ülkemizde hastalığın sıklığını belirlemeye yönelik detaylı epidemiyolojik veriler bulunmamaktadır. Ancak ABD'de yaklaşık olarak yılda 15.000 vakaya MDS teşhisi konmakla birlikte 2030 yılına kadar özellikle 65 yaş üstü bireylerde bu sayının iki katına çıkması beklenmektedir (Balakışiyeva, E., 2022). Miyelodisplastik neoplazide klinik özellikler alt gruplar ve bireyler arasında yüksek heterojenite göstermekle birlikte; olgularda genellikle periferik sitopeniler ve anemi görülmektedir. Buna bağlı olarak da anemi ile ilişkili semptomlar (yorgunluk, solunum güçlüğü, kalp yetmezliği) MDS'de en sık karşılaşılan klinik özelliklerdir. Diğer semptomlar arasında trombositopeni, trombosit disfonksiyonu kaynaklı kanama ve nötrojeni kaynaklı enfeksiyon komplikasyonları görülmekle birlikte; MDS'de ölüme neden olan temel sebepler arasında kanama ve enfeksiyon yer almaktadır. Bunlara ek olarak klinikte MDS tanısı konabilmesi için gerekli kriterler aşağıdaki şekilde sıralanmıştır (Karantanos & DeZern, 2021; Saumell et al., 2015).

1. Displazi
2. Hematopoetik kök hücrede sitogenetik anomaliler
3. Sitopeni veya anemi
4. Kemik iliği blast sayısında artış (%5)
5. Ring sideroblast (>%15)

### 2.2.3. Patogenez ve prognoz

Miyelodisplastik neoplazi klonal hematopoetik kök hücrelerin kemik iliği mikro çevresinin ve bunların karmaşık etkileşimini kapsayan kompleks bir hastalık olduğu için hastalığın etyolojisi ve patogenezi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Miyelodisplastik neoplazide genellikle karşılaşılan; displastik değişimleri genomik instabilite başarısız hematopoez, klonal gelişim ve anormal miyeloid farklılaşma durumları lösemik progresyon sayılabilmektedir. Bu süreçte rol alan en önemli oyuncular farklı mekanizma ve yolları kontrol eden genlerdeki değişimler ve çoğunlukla miyeloid malignitelerle

ortak olabilen kromozom anomalileridir (Aras, B. D., 2021). Hastalığın ilk aşamalarında gerçekleşen kromozomal anomalileri gen mutasyonları ve epigenetik değişimlerin fonksiyonel sonuçları ise henüz tam olarak belirlenememiştir (Karantanos & DeZern, 2021).



**Şekil 2.2.** Miyelodisplastik neoplazinin patogenezi (Ades, L., 2018).

Miyelodisplastik neoplazi prognostik markerlar açısından da yüksek bir heterojenite göstermektedir. Bunun temel sebeplerinden biri; prognostik marker kabul edilen sitogenetik anomalilerin değişkenliğidir. Bu sebeple hastalığın moleküler patogenezinin anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Miyelodisplastik neoplazi tanı olguların yaklaşık %40-50'si sitogenetik anomalilere sahiptir; bu bağlamda sitogenetik analizler MDS'nin tanısında, prognozunda ve AML'ye transformasyonunun değerlendirilmesinde kritik bir rol oynamaktadır.

#### 2.2.4. Sitogenetik değişimler

Miyelodisplastik neoplazide sıklıkla görülen sitogenetik değişimler en son 2022 yılında The International Concensus Classification (ICC) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından sınıflandırılmış olup, yeni sınıflandırma tablo 2.2 'de özetlenmiştir.

Miyelodisplastik neoplazi tanı hastaların %40-50'sinde sitogenetik anomaliler saptanmaktadır (Hoff, F. W., & Madanat, Y. F., 2023). En sık görülen kromozomal anomaliler arasında -7/del(7q), -5/del(5q) gibi kromozom kayıplarıyla birlikte, kromozom kazançlarıyla sonuçlanan trizomi 8, trizomi 19 ve trizomi 21 gibi anomaliler yer almaktadır ( Sekeres, M. A., & Taylor, J., 2022). Bu anomaliler izole olarak görülebildiği gibi eşlik eden kromozomal anomaliler veya gen mutasyonları da görülebilmektedir. Eşlik eden anomalilerin varlığı prognozu ve transformasyonu kötü

yönde etkileyebilmektedir (Karantanos & DeZern, 2021; Samuell et al., 2015). Özellikle trizomi 8 MDS’de en sık görülen trizomi olmakla birlikte prognoza olan etkisi yüksek bir heterojenite göstermektedir. Bunun altında yatan sebep henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Coşkun et al., 22020).

#### **2.2.5. Moleküler değişimler**

Hızla gelişen teknolojiyle birlikte yeni moleküler genetik tekniklerle MDS’de hastalığın prognozu ve patogenezini etkileyen ve olgularının yaklaşık %75- 80’inde görülen somatik gen mutasyonları saptanmıştır. Miyelodisplastik neoplazide sık görülen gen mutasyonları tablo 2.4.’de özetlenmiştir (Tablo2.4.). Genellikle kötü prognoz ile ilişkili bu gen mutasyonları; sitokin sinyal iletim yolları (*RAS* genler), histon modifikasyonları (*ASXL1*, *EZH2* genleri), DNA metilasyonu (*IDH1/2*, *DNMT3A*, *TET2* genleri) ve Splaysozom (*SF3B1*, *SRSF2* genleri) olmak üzere dört temel fonksiyonel gruptan oluşmaktadır (Liu et al., 2021; Nm, W, A, V, & A, 2021; Xu et al., 2017).

**Tablo 2.4.** Miyelodisplastik neoplazide sık görülen gen mutasyonları (Liu, M., 2021).

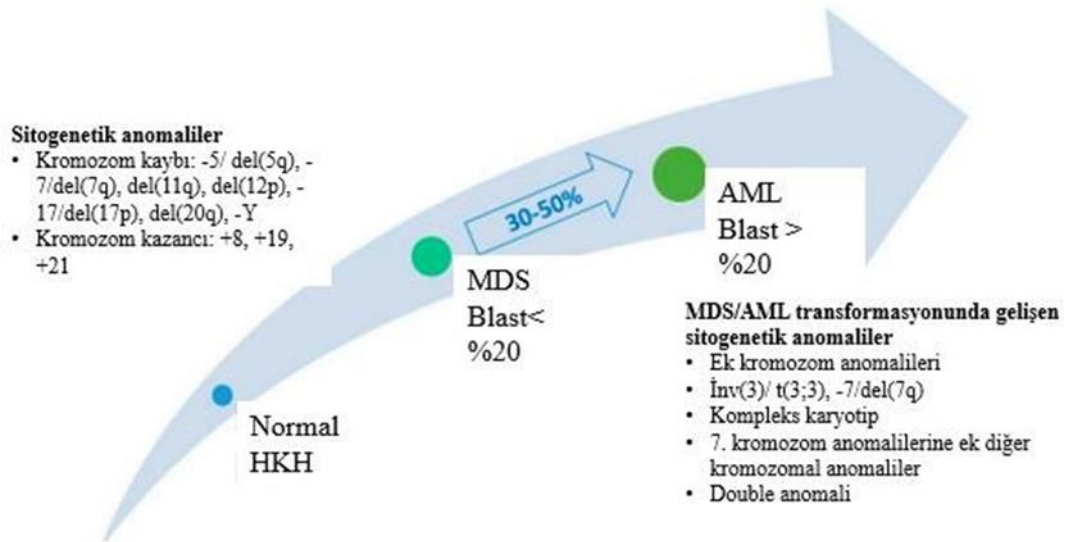
| Gen             | Mutasyon Sıklığı (%) | Gen Fonksiyonu         |
|-----------------|----------------------|------------------------|
| <i>SF3B1</i>    | 15-30                | Splaysozom             |
| <i>U2AF1</i>    | 5-10                 |                        |
| <i>SRSF2</i>    | 5-10                 |                        |
| <i>ASXL1</i>    | 10-20                | Histon Modifikasyonu   |
| <i>EZH2</i>     | 3-7                  |                        |
| <i>RUNX1</i>    | 5-15                 | Transkripsiyon Faktörü |
| <i>TP53</i>     | 5-10                 |                        |
| <i>N-/K-RAS</i> | 5-10                 | Sinyal İletim          |
| <i>JAK2</i>     | 3-4                  |                        |
| <i>TET2</i>     | 15-25                | DNA Metilasyonu        |
| <i>DNMT3A</i>   | 5-10                 |                        |
| <i>IDH1/2</i>   | 4-12                 |                        |

#### 2.2.6. MDS'den AML'ye transformasyon

Hematopoetik kök hücre ve öncül hücrelerin klonal hematopoezinden kaynaklı oluşan MDS; hem klinik hem de genetik açıdan yüksek heterojenite gösteren bir miyeloid hastalıktır. Genellikle AML'ye transformasyon riski yüksek olan MDS'de olguların %30- 40'unda AML progresyonu görülmektedir. Bu durum %20 üzerine çıkan blast oranı ile ilişkilidir. Blast oranındaki bu artışın çeşitli kromozomal ya da mutasyonel genetik anomalilerden kaynaklandığı bilinmektedir. Miyelodisplastik neoplazi tanılı hastaların %40- 50'sinde sitogenetik anomaliler saptanmaktadır. (Hoff, F. W., & MadanatY. F., 2023). En sık görülen kromozomal anomaliler arasında -7/del(7q), -5/del(5q) gibi kromozom kayıplarıyla birlikte, kromozom kazançlarıyla sonuçlanan trizomi 8, trizomi 19 ve trizomi 21 gibi anomaliler yer almaktadır. Ayrıca hastaların önemli bir kısmı özellikle AML progresyonu sürecinde ek kromozomal anomaliler kazanmaktadır (Tripon, F., 2023).

Yapılan çalışmalar bu ek kromozomal anomalilerin MDS hastalarında AML progresyonu açısından yüksek risk oluşturduğunu belirtmektedir. Ek olarak Meggendorfer ve arkadaşlarının yaptığı çalışma +8 anomalisine sahip MDS olgularında diğer grup MDS olgularına oranla AML progresyon riskinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Şekil 2.3. 'de belirtilen 5. kromozomun ve 5. kromozomun uzun kol kayıpları, 7. kromozom ve 7. kromozomun uzun kol kayıpları, 12. kromozomun kısa kol kayıpları, 20. kromozomun uzun kol kayıpları ve cinsiyet kromozomlarından Y kromozomunun kaybıyla birlikte 8, 19 ve 21. kromozom trizomileri genellikle MDS olgularında en sık karşılaşılan kromozomal anomalilerdir. Diğer yandan, inv3/t(3;3), 6. kromozomun kısa kol kayıpları, kompleks karyotip veya 7. kromozom anomalilerine eşlik eden ek kromozomal anomaliler ise genellikle lösemi progresyonu gelişen MDS olgularında daha sık görülmektedir (Tripon, F., 2023).

Miyelodisplastik neoplazide izole anomaliler, double anomaliler ve kompleks karyotipler gibi farklı kromozomal anomalilerin yarattığı genetik heterojenite göz önüne alındığında MDS'de sitogenetik araştırmanın altın standart olduğunu söylemek gerekir (Montalban- Bravo, G., 2019).

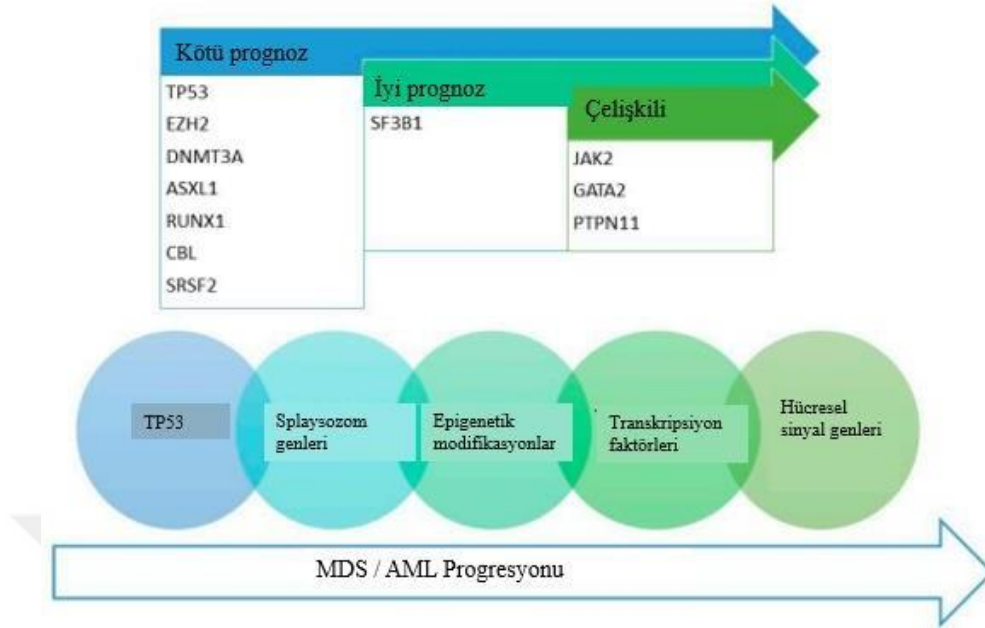


**Şekil 2.3.** MDS/AML transformasyonunda sitogenetik anomalilerin önemi (Tripon, F.,2023).

Miyelodisplastik neoplazi vakalarının yaklaşık yarısında kromozomal anomalilerin bulunmaması MDS patogeneğinde gen mutasyonlarının da sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Miyelodisplastik neoplazi %78- 90 sıklıkta çeşitli somatik mutasyon paternleri göstermektedir. Goel ve arkadaşları MDS ve lösemi progresyonu gösteren MDS’lerde ortak bu gen mutasyonlarını; Splaysozom genleri, epigenetik modifikasyonlar, transkripsiyon faktörleri ve hücrel sinyal genleri olmak üzere dört ana gruba ayırmıştır (Tablo 2.6.) (Goel, H., 2021).

**Tablo 2.5.** Miyelodisplastik neoplazi ve AML transformasyonunda ortak olarak görülen gen mutasyonları (Tripon, F., 2023).

| Splaysozom genleri | Epigenetik modifikasyonlar | Transkripsiyon faktörleri | Hücrel sinyal genleri |
|--------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------|
| <i>SF3B1</i>       | <i>TET2</i>                | <i>RUNX1</i>              | <i>NRAS</i>           |
| <i>U2AF1</i>       | <i>DNMT3A</i>              | <i>CEBPA</i>              | <i>KRAS</i>           |
| <i>SRSF2</i>       | <i>ASXL1</i>               | <i>GATA2</i>              | <i>FLT3</i>           |
| <i>EZH2</i>        | <i>IDH1/IDH2</i>           |                           |                       |



**Şekil 2.4.** Prognostik risk ve mutasyon oluşma sırasına göre MDS'nin AML'ye progresyonunda rol oynayan gen mutasyonları (Tripon, F., 2023).

Splaysozom genlerindeki ve epigenetik modifikasyon genlerindeki mutasyonlar hem MDS'de hem de MDS'de transformasyonlu AML'lerde yaygın olarak gözlenmektedir. Erken dönemde ortaya çıkan bu mutasyonlar MDS patogenezinde katkıda bulunmaktadır. Hücresel sinyal iletiminde yer alan gen mutasyonları genellikle ikincil olarak ortaya çıkmaktadır. *IDH1* ve *IDH2* genlerinin içinde olduğu epigenetik düzenlemede yer alan genlerin mutasyonları ise genellikle MDS progresyonu sırasında meydana gelmektedir. Başta *EZH2*, *ASXL*, *SETBP1*, *BCOR* ve *IDH2* olmak üzere epigenetik modifikasyon proteinlerini kodlayan genleri ilgilendiren mutasyonların MDS'de kötü prognostik özellik gösterdiği bilinmektedir. Apoptoz ve proliferasyon arasındaki dengesizlik, klonal genişlemeye yol açabilmekte ve MDS transformasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Buna yönelik MDS'nin AML'ye transformasyonu için "iki vuruşlu" bir model önerilmiştir. Bu modele göre *TET2*, *RUNX1* gibi hücre farklılaşmayı tetikleyen genlerdeki mutasyonlar ilk vuruşu sağlarken, *FLT3*, *NPM1*, *IDH1/2* gibi hücre proliferasyonunu etkileyen genlerdeki mutasyonlar ikinci vuruşu sağlamaktadır. Özellikle *IDH1* ve *IDH2* mutasyonları MDS hastalarında yaklaşık %5 oranında görülmektedir. Buna yönelik yapılan çalışmalar

*IDH1*'deki mutasyonların akut lösemiye dönüşüm riskini önemli ölçüde arttırmadığını, buna karşın *IDH2* mutasyonunun varlığının AML'ye evrimleşme riskinin artmasıyla ilişkili olduğunu belirtmektedir (Hosono, N., 2019; Goel, H., 2021; Tripon, F., 2023).

### 2.3. Akut Miyeloid Lösemi

Akut miyeloid lösemi hem fenotipik hem de genotipik olarak yüksek heterojenite gösteren, hematopoetik prekürsör hücrelerde genetik değişimler sonucu blast hücre popülasyonunun artmasıyla karakterize bir hastalıktır. Buna ek olarak sağlıklı hematopoetik hücre üretiminde de azalma meydana gelmektedir.

Şekil 2.1.'de AML'nin hematolojik malignitelerdeki yeri gösterilmiştir (Şekil 2.1.).

#### 2.3.1. Risk sınıflandırması

Akut miyeloid löseminin DSÖ sınıflandırmasını 2022 yılında güncelleyen ICC; AML'yi tanımlamak için blast eşiklerinde ve yeni genetik belirteçlerde değişiklikler sunarak, sitogenetik ve mutasyon profilleri tarafından tanımlanan sınıflandırma spektrumunu daha da genişletmiştir. Hastalığın heterojenite gösteren fenotipi ve prognozu üzerindeki ağır basan etkilerinden dolayı; AML'nin sınıflandırmasının tanımlanmasında genetik anomalilere öncelik verilmektedir. Terapi ilişkili MDS; MDS/MPN gibi ek durumlar ise birincil tanının niteleyicileri olarak belirtilmektedir. Buna göre AML için genetiğe dayalı yeni risk sınıflandırması tablo 2.6.'da özetlenmiştir. Tabloya bakıldığında yeni risk sınıflandırmasındaki önemli değişikliklerde;

- 1) *FLT3-ITD*'li tüm AML'ler artık alelik oran veya *NPM1* mutasyonunun eşlik etme durumuna bakılmaksızın orta risk grubunda sınıflandırılmaktadır.
- 2) Miyelodisplazi ile ilişkili gen mutasyonları olan AML'ler artık kötü risk grubunda sınıflandırılmaktadır. Buna göre; *ASXL1* ve/veya *RUNX1* genleri ve miyelodisplazi ile ilişkili *BCOR*, *EZH2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *STAG2*, *U2AF1* veya *ZRSR2* genlerinden en az birinde bulunması kötü risk olarak sınıflandırılmaktadır.
- 3) Kötü prognostik risk kategorisindeki sitogenetik anomalilerin varlığında *NPM1* mutasyonu bulunması AML'de kötü risk grubunda tanımlanmaktadır.

- 4) Yapılan son çalışmalar *CEBPA*'nın *leucine zipper* bölgesini etkileyen in-frame mutasyonları bialelik ve monoalelik olmalarına bakılmaksızın iyi prognostik risk grubunda sınıflandırmaktadır.
- 5) *MECOM* genini içeren t(3q26.2;v) veya *KAT6A::CREBBP* füzyon geni ile ilişkili t(8;16)(p11;p13) dahil olmak üzere, hastalığı tanımlayan tekrarlayan sitogenetik anomaliler kötü prognostik risk grubuna dahil edilmektedir (Döhner, H., et al., 2022; Stone, R., M., et al., 2022).

Yapılan çalışmalar ile *IDH1* ve *IDH2*'ninde içinde olduğu diğer genlerdeki mutasyonlar incelenmiştir. Ancak çalışma sonuçları bu genlerin henüz ayrı bir prognostik risk grubunda sınıflandırılmasını tavsiye edememektedir (Döhner, H., et al., 2022).

**Tablo 2.6.** Akut miyeloid lösemide genetiğe dayalı risk sınıflandırması  
(Döhner, H., et al., 2022).

| Risk Kategorisi | Genetik Anomali                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| İyi             | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ t(8;21)(q22;q22.1)/ <i>RUNX1:: RUNX1T1</i></li> <li>➤ inv(16)(p13.1q22)veyat(16;16)(p13.1;q22)/<i>CBFB::MYH11</i></li> <li>➤ <i>FLT3-ITD</i> eşlik etmeyen <i>NPM1</i> mutasyonu</li> <li>➤ bZIP in -frame <i>CEBPA</i> mutasyonu</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Orta            | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <i>FLT3-ITD</i> eşlikli <i>NPM1</i> mutasyonu</li> <li>➤ <i>FLT3-ITD</i> eşlikli wt<i>NPM1</i></li> <li>➤ t(9;11)(p21.3; q23.3)/<i>MLLT3::KMT2A</i></li> <li>➤ Diğer prognostik risk gruplarında yer almayan sitogenetik ve/veya moleküler anomaliler</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Kötü            | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ t(6;9)(p23.3;q34.1) / <i>DEK::NUP214</i></li> <li>➤ t(v; 11q23.3)/ <i>KMT2A</i>- yeniden düzenlenmeleri</li> <li>➤ t(9;22)(q34.1;q11.2) /<i>BCR:: ABL1</i></li> <li>➤ t(8;16)( p11.2;p13.3) /<i>KAT6A::CREBBP</i></li> <li>➤ inv(3)(q21.3q26.2) veya t(3;3)(q21.3;q26.2)/<br/><i>GATA2, MECOM(EVI1)</i></li> <li>➤ t(3q26.2;v) /<i>MECOM(EVI1)</i>- yeniden düzenlenmeleri</li> <li>➤ -5 veya del(5q); -7; -17/abn(17p)</li> <li>➤ Kompleks karyotip</li> <li>➤ Monozomal karyotip</li> <li>➤ Mutant <i>TP53</i></li> <li>➤ Mutant <i>ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1</i> ve/veya <i>ZRSR2</i></li> </ul> |

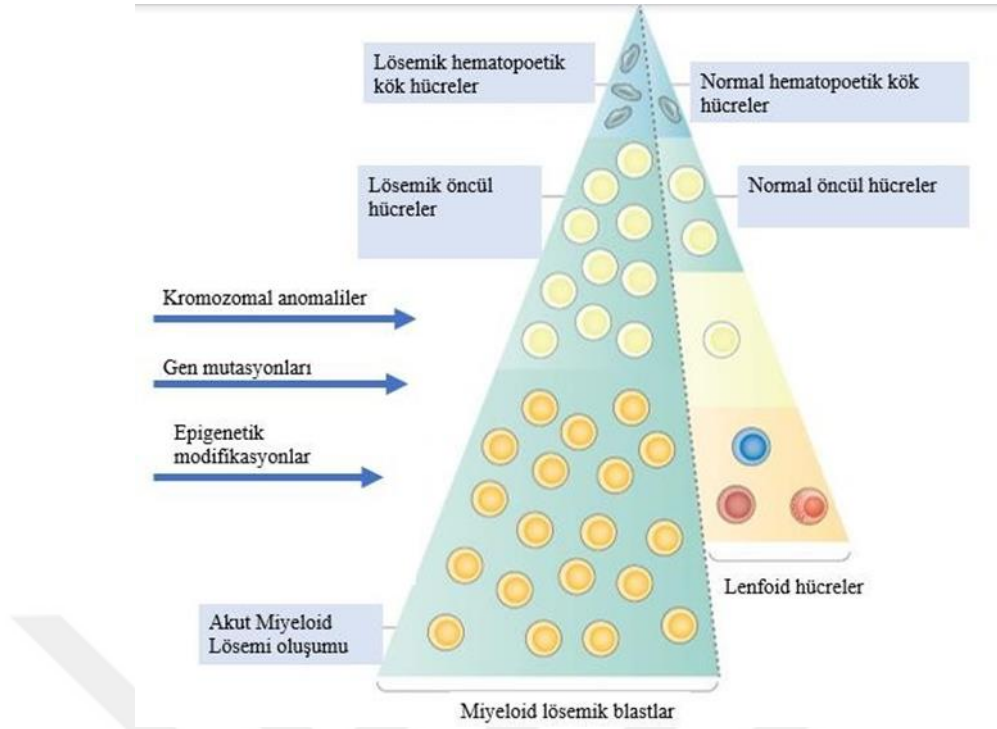
### 2.3.2. Klinik ve epidemiyolojik özellikler

Akut miyeloid lösemi tipik olarak ileri yaş lösemisi olmakla birlikte her yaşta görülebilmektedir ve erişkin çağda en sık rastlanan lösemi türüdür. Akut lösemilerin yaklaşık %20'sini oluşturan AML kanser kaynaklı ölümlerin %1'ini oluşturmaktadır. Tanı anında ortalama yaş 65 olarak bildirilen AML'nin kadınlara oranla erkeklerdeki insidansı daha yüksek olmakla birlikte yaşla paralel bir şekilde insidansında artış görülmektedir (Hanedar, E., 2021; Çelebi, H., S., 2014). Tüm yaş gruplarında; sitopeniler, anemi semptomları (yorgunluk, nefes darlığı) ve nötropeni gibi benzer klinik özellikler göstermekle birlikte bu klinik özellikler; kemik iliğindeki blast oranı, sitogenetik anomaliler ve eşlik eden gen mutasyonlarına bağlı olarak heterojenite göstermektedir. İnsidansı 5-8 /100.000 olan AML'de kesin bir tanının koyulabilmesi için 2022 yılında güncellenen DSÖ ve ICC verilerine göre; kemik iliğindeki blast oranının > %20 olması gerekmektedir.

### 2.3.3. Patogenez ve prognoz

Kemik iliğinde başlayarak lenf nodu, karaciğer ve hatta merkezi sinir sistemi gibi vücudun farklı bölgelerine metastaz yapabilme riski bulunan AML'nin altında yatan sebepler tam olarak bir kesinlik kazanamamıştır (Aydın, B., 2020). Ancak yapılan çalışmalar çeşitli endojen ve eksojen faktörler ve çeşitli malign veya benign hematolojik hastalıkların AML oluşumunu tetikleyebileceğini göstermektedir (Özcan, A., 2015).

Kemik iliğindeki blast hücrelerinin olgunlaşması sonucu granülosit ve monositler oluşmaktadır. Akut miyeloid lösemi sıklıkla tekrarlayan kromozomal anomalilerin ve bu anomalilerin prognoz üzerindeki etkilerinin anlaşılmasıyla birlikte AML'nin patogenezinin anlaşılması önem kazanmıştır. Akut miyeloid lösemi; anormal genetik değişimlerin transkripsiyon faktörlerinin fonksiyonunu değiştirdiği, hem genetik hem de epigenetik seviye de gen programlanmasının bozulduğu bir lösemi türüdür. Bu genetik değişimlerin AML'nin prognozu ile de yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (Becker et al., 2014; Caramazza et al., 2010). AML prognozunda karşılaşılan heterojenitenin altında yatan sebebin de bu genetik heterojenite olduğu düşünülmektedir.



**Şekil 2.5.** Akut miyeloid lösemi oluşumu (Khawaja, A., 2016).

AML gelişimi çok basamaklı bir süreç olmasının yanında hastalık oluşumu için en az iki genetik değişimin gerçekleşmesi gerekmektedir. Bunun altında yatan sebeplerin anlaşılabilmesi için de hem fenotipik hem de genotipik heterojenite gösteren AML'nin lökomogenez süreci ve buna bağlı olarak da ilişkili genetik değişimlerin anlaşılması büyük önem taşımaktadır.

#### 2.3.4. Sitogenetik değişimler

Akut miyeloid lösemi; olgunlaşmamış blast hücrelerinin kemik iliği ve periferik kanda birikmesi ile karakterize olan hematopoetik kök hücrelerin malign bir bozukluğudur. Genetik anomaliler, AML'lerin sınıflandırılmasında ana faktörlerdir ve DSÖ sınıflandırmasına göre, AML hastalarının üçte ikisinden fazlası sitogenetik anomaliler ve gen mutasyonlarına göre sınıflandırılmaktadır (Tripon, F., 2023). Akut miyeloid lösemi tanılı hastaların yaklaşık %50- 60 'ında translokasyon, delesyon, inversiyon, monozomi ve trizomi gibi sayısal ve /veya yapısal kromozom anomalileri görülmektedir. Hızla gelişen analiz teknolojilerine rağmen, AML hastalarında bu anomalilerin değerlendirilmesinde konvansiyonel sitogenetik hala altın standarttır. European Leukemia Network (ELN) tarafından tanımlanan AML'de risk

sınıflandırmasında sitogenetik bulgular ana faktörler olarak yer almaktadır (Weinberg, O. K., 2023). Buna göre genel bir bakış açısıyla; t(15;17), t(8;21) ve inv(16)/t(16;16) iyi prognostik risk sınıflamasında kabul edilirken ; t(6;9), inv(3)/t(3; 3), -5/del(5q), -7/del(7q), t(9;22), abn(17p), 11q23'ün yeniden düzenlemeleri, kompleks ve Monozomal karyotipler kötü prognostik risk grubunda yer almaktadır. Orta prognostik risk grubu ise t(3;5), t(9;11), +8 anomalileri ve diğer prognostik risk sınıflandırmalarında yer almayan sitogenetik anomalileri içermektedir (Tablo 2.6. ) (Nilius- Eliliwi, v., 2023).

### 2.3.5. Moleküler değişimler

Akut miyeloid löseminin prognoz ve yönetiminde genetik değerlendirme oldukça önemlidir. Özellikle sınıflandırma ve prognostik risk değerlendirmesinde sitogenetik altın standart olmakla birlikte moleküler analizler tamamlayıcı bir rol oynamaktadır. Ayrıca gen mutasyonlarının tanımlanması karsinogenezin anlaşılmasında da kritik bir rol oynamaktadır. Akut miyeloid löseminin gen mutasyonları ile ilişkisinde; *NPM1*, *CEBPA*, *KIT* ve *FLT3* mutasyonları ön planda olmakla birlikte; *DNMT3A*, *ASXL1*, *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonları da önemli rol oynamakta ve yeni tedavi stratejilerinde kılavuzlarda yerini almaktadır. Bu mutasyonlar AML'de kimerik gen oluşumunu tetikleyebileceği gibi sinyal iletim yollarını aktivasyonunu etkileyerek proliferasyona sebep olabilmekte, transkripsiyon faktörlerini etkileyerek farklılaşmaya katkı sağlayabilmekte ve epigenetik mekanizmaları hedef alarak epigenetik modifikasyona yol açabilmektedirler (Kayser, S., & Levis, M. J., 2023).

### 2.4. MDS ve AML'de Trizomi 8 Anomalisi

Akut miyeloid lösemi MDS ortak gen mutasyonları ve kromozomal değişimler içeren miyeloid malignitelerdir (Çelebi, H. S., 2014; Karantanos & DeZern, 2021). İki tanı grubunun da yaklaşık %70-80'inde sayısal ve yapısal kromozom anomalileri tespit edilmektedir. Bu anomaliler arasında trizomi 8 hem MDS hem de AML olgularında en sık karşılaşılan sayısal kromozom anomalilerindendir. İki tanı grubunda da tek başına bulunduğu orta prognostik kabul edilen trizomi 8 olgularının klinik olarak yüksek heterojenite gösterdiği bilinmektedir. Trizomi 8'in klinik heterojeniteye olan bu katkısı henüz açıklanamamaktadır. Bu durumun; trizomi 8 varlığında, 8. kromozomda lokalize *MYC* gen dozajında meydana gelen artmanın ve/veya trizomi 8'e eşlik eden gen mutasyonlarının varlığı veya kompleks karyotiple beraber görülmesi durumları ile

bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Miyeloid malignitelerde en sık karşılaşılan anomalilerden olmasına rağmen klinik heterojenite ve trizomi 8 ilişkisi henüz aydınlatılamamıştır. Bu bağlamda; trizomi 8 ile ilişkili yapılacak çalışmaların hem literatüre hem de kliniğe olabilecek katkıları açısından oldukça önemli ve gerekli olduğu belirtilmektedir (Zhou et al., 2012; Barone, P., & Patel, S., 2023).

## 2.5. IDH1 ve IDH2 Genleri

*İzositrat dehidrogenaz1 (IDH1)* geni 2. kromozomun q33.3 bölgesinde, *IDH 2* geni ise 15. kromozomun q26.1 bölgesinde lokalizedir. *IDH1* ve *IDH2* lipid-glukoz metabolizması ve krebs döngüsünde önemli rol oynayan genlerdir. *IDH1* ve *IDH2*, normalde izositratın a-ketoglutarata ( $\alpha$ -KG) dönüşümünü katalize eden izositrat dehidrogenaz izoformlarını kodlar. Söz konusu genlerin ürünleri olan IDH1 ve IDH2 enzimleri NADP+ bağımlıdır. İzositrat dehidrogenaz enzimi; nikotinamid adenin dinükleotid'in (fosfat) ( $\text{NAD(P)}^+$ )'in  $\text{NAD(P)H}$ 'a indirgenmesi ve izositratın alfa ketoglutarata dönüşümünden sorumludur. İzositratın dehidrogenaz (IDH); TCA döngüsü, glutamin metabolizması, adipogenez ve redoks düzenlemesi gibi ana metabolik süreçlerde yer alan temel bir enzimdir. Geri dönüşümlü reaksiyonları katalizleyen ve allosterik düzenleyicileri bulunmayan IDH1 ve IDH2 enzimlerinde; IDH1 C-terminal tripeptite peroksizom hedefleyen sinyal 1 dizilimi içerip, sitoplazma ve peroksizom gibi farklı bölgelerde lokalize olabilirken; N-terminal mitokondriyal sinyal peptidi içeren IDH2 genellikle mitokondride lokalizedir (Kozan, 2010; Leventoğlu, 2019).

*İzositrat dehidrogenaz 1 ve 2'deki (IDH1 ve IDH2)* spesifik nokta mutasyonları, akut miyeloid lösemi, düşük dereceli gliomalar ve kondrosarkomlar başta olmak üzere çeşitli kanserlerde sıklıkla görülmektedir (Parker, S. J., & Metallo, C. M., 2015).

### 2.5.1. MDS ve AML'de IDH1 ve IDH2 mutasyonları

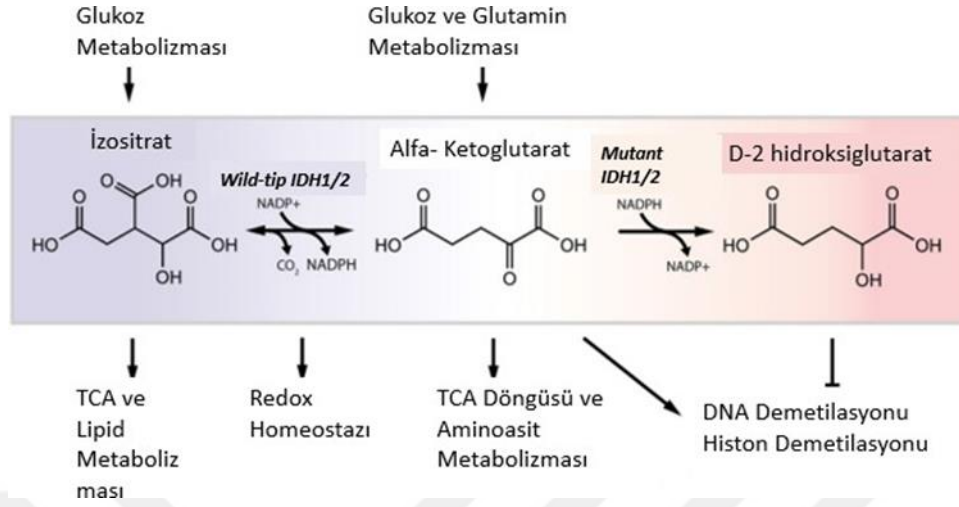
Miyeloproliferatif neoplazilerde sıklıkla karşılaşılan *IDH1* ve *IDH2* mutasyonlarının görülmek sıklığı; AML'de %10-20, MDs'de %3-5, MDS/AML'de ise %15 olarak belirtilmektedir (Fortin, J., 2023). Miyeloid malignitelerde, *IDH1* ve *IDH2* mutasyonlarının varlığı, olgunlaşmamış hematopoetik hücrelerin proliferasyon ve

farklılaşma basamaklarında hematopoetik ve lökomogenik düzenleyicilerin ekspresyonu ve aktivasyonunda bozulmaya yol açarak lökomogenezi teşvik etmektedir (Abaza, Y., 2023; Fortin, J., 2023).

Trizomi 8 anomalisine sahip AML olgularında NK-AML olgularında *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonları yaklaşık %25 oranla daha sık saptanmaktadır (Özcan, A., 2015; Fortin, J., 2023). Özellikle miyeloid malignitelerde *IDH1* için *R132*, *IDH2* için ise *R140* ve *R172* en sık rastlanan mutasyonlardır. Miyelodisplastik neoplazi tanılı olgularda *IDH2* için *R140* mutasyonu daha sık görüldüğü bildirilmektedir. *IDH* mutasyonlarının varlığının prognostik etkisi, teşhis sırasındaki hesaplama durumu ve mutasyonun spesifik konumundan etkilenebilmektedir (*IDH1 R132*, *IDH R140* ve *IDH2 R172* ). Özellikle AML’li hastalarda mutasyona uğramış *IDH*’nin prognostik önemi belirli hasta alt gruplarında genetik ve klinik olarak yüksek heterojenite göstermesinden dolayı tartışmalı olmaya devam etmektedir ( Bill, M., 2023).

Yukarıda belirtilen mutasyonlar [ *R132(IDH1)*, *R172 (IDH2)* ve *R140 (IDH2)*] ilgili genlerin 4. eksonunda meydana gelmekte olup, genellikle missense mutasyonlar olarak saptanmaktadır. Bu mutasyonlar sonucunda 3 spesifik arjinin kalıntısı etkilenebilmektedir (Savlı et al., 2013; Wang, N., et al. 2017-). Malignitelerde genellikle enzimin aktif kısmında bulunan arjinin rezidüsü üzerinde meydana gelen *IDH1* ve *IDH2* mutasyonları sonucu mutant *IDH1* ve *IDH2* proteinleri oluşumu gözlenmektedir. Bu mutant *IDH1* ve *IDH2* proteinler ise; normal fizyolojik koşullarda hücre içerisinde birikimi kısıtlı bir onkometabolit olan D-2 hidroksiglutarat (D2HG)’in hücre içi seviyesinde artışına sebep olmaktadır. Özellikle miyeloid malignitelerde hücre içinde artan D2HG, alfa ketoglutarat bağımlı dehidrogenazları inhibe ederek epigenetik disregülasyona ve bunun sonucunda ise DNA’da hipermetilasyon ile birlikte kök hücre benzeri progenitör hücrelerin farklılaşp; patolojik olarak çoğalmalarına ve malign transformasyonlarına sebep olmaktadır (Fu, L., 2023). Aynı zamanda mutasyon sonucu oluşan onkogenik *IDH* geni; wild tip *IDH* gen fonksiyonunu baskılayabilmektedir. NADP+ bağımlı *IDH* enzimleri hücre içerisinde aminoasit ve lipid metabolizması, redoks düzenlenmesi, TCA döngüsü ve TCA metabolizması gibi önemli yollarda rol almaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu miyeloid malignitelerde *IDH* mutasyonlarının bu yollardaki normal *IDH* aktivitesini engelleyerek hücre proliferasyonu ve

lökomojenezi desteklediği bilinmektedir ( Şekil 2.6.) (Parker, S. J., &Metallo, C. M., 2015).



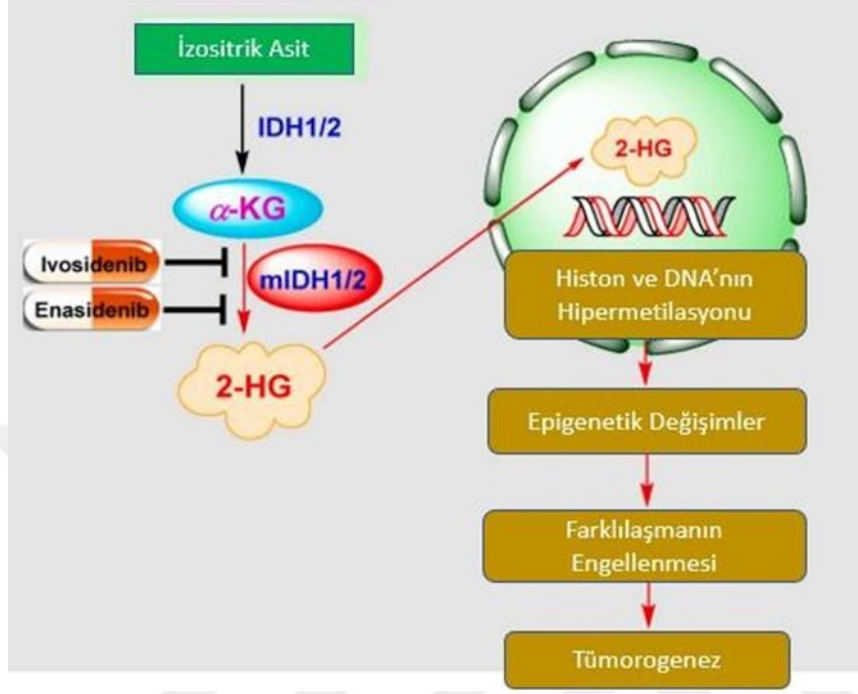
**Şekil 2.6.** *IDH* mutasyonlarının etkili olduğu hücresel yollar (Parker, S., & Metallo, C., M., 2015).

Akut miyeloid lösemi ve MDS tanılı olgularda *IDH1* ve *IDH2* mutasyonları genellikle *NPM1*, *FLT3* mutasyonları ve trizomi 8 anomalisi ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca her iki tanı grubunda da *IDH1* ve *IDH2* mutasyonları klinikte kemik iliğinde yüksek blast sayısı, kısa OS ve PFS ile ilişkili bulunmuş olup, buna bağlı olarak da kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Savlı et al., 2013; Wang, N., et al. 2017; Wu, Z., et al. 2015). Ayrıca klinikte kullanılan NCCN Guideline'a göre *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonları özellikle AML tedavisinde kritik rol oynamaktadır. Bu sebeple AML tedavi stratejisinde yeni terapötik tedavi hedefi haline gelmiştir (Chotirat, Thongnoppakhun, Promsuwicha, Boonthimat, & Auewarakul, 2012; Guideline, N., 2022; Wang, Wang, Shan, Sui, & Xu, 2017).

### 2.5.2. *IDH1* ve *IDH2* genlerinin AML tedavi stratejisinde terapötik etkileri

Akut miyeloid lösemi hücrelerinde anormal epigenetik düzenlemeye yol açarak farklılaşmayı engelleyen *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonları AML vakalarının yaklaşık %10-20'sinde meydana gelmektedir. Food and Drug Administration (FDA) tarafından yakın zamanda onaylanan *IDH* mutasyonu için ivosidenib, *IDH2* mutasyonu için ise enasidenib inhibitörleri AML tedavi stratejilerinde kılavuzlarda yer almaktadır. Ek olarak; ivosidenib inhibitörünün standart kemoterapiye uygun olmayan yeni tanılı AML

hastaları içinde kullanımı onaylanmıştır. *IDH* inhibitörlerinin mevcut uygulamaları idame tedavisi olarak standart indüksiyon kemoterapisi ile kombinasyonu ve venetoklaks bazlı rejimlerle kombinasyonu içermektedir (McMurry et al., 2021).



Şekil 2.7. *IDH* inhibitörleri (Kurzer et al., 2023).

Genellikle iyi tolere edilebilen *IDH* inhibitörleri AML hücrelerinin farklılaşmasını indükleyebilmektedirler. Bu da hastaların %20’te kadarında yan etkiye yol açabilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar; monoterapi olarak etkinlik göstermekte olan *IDH* inhibitörlerinin, hipometile edici ajanlarla (HMA’lar) kombinasyon halinde de daha yüksek yanıt oranlarına sahip olabileceklerini göstermektedirler (McMurry et al., 2021)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Kullanılan kimyasallar

- Ksilen
- Etanol
- Extraction Buffer
- Proteinaz K

- Wash Buffer I ve II
- Elution Buffer
- Real-Time PCR Master Mix
- dH2O
- Taq DNA Polimeraz
- Primer (*IDH1* ve *IDH2*)
- Prob

### 3.1.2. Kullanılan primer ve prob dizileri

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan primer ve prob sekansları.

|                           | <i>IDH1</i><br>Rs121913499                             | <i>IDH2</i><br>Rs121913502                      |
|---------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <b>Forward<br/>Primer</b> | CCAACA TGACTT ACT TGA                                  | GAG ACA AGA GGA<br>TGG                          |
| <b>Revers<br/>Primer</b>  | CAG AGA AGCCAT TAT CTG                                 | CAAGCT GAA GAA<br>GAT G                         |
| <b>Wild Type<br/>Prob</b> | /5FAM/ CCA TAAGCA TGA<br>CGA CCT ATG ATG AT<br>/BHQ-1/ | /5FAM/ TGG AAC TAT CCG GAA<br>CATCCT GG /BHQ-1/ |
| <b>MutantProb</b>         | /5HEX/ CCA TAAGCA TGA<br>CAA CCT ATG ATG AT<br>/BHQ-1  | /5HEX/ TGG AAC TAT CCA GAA<br>CATCCT GG /BHQ-1/ |

### 3.1.3. Sarf malzemeler ve cihazlar

**Tablo 3.2.** Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve cihazlar.

| Sarf Malzemeler                      | Cihazlar              |
|--------------------------------------|-----------------------|
| Pipet seti                           | Su banyosu            |
| 96'lık well PCR plate                | Santrifüj             |
| 10'luk ve 100'lük pipet uçları       | Vortex                |
| 1.5'lik ve 2'lik eppendorf           | Homojenizatör         |
| Spin kolon                           | Nanodrop              |
| Zirkonyum boncuk                     | Real- time PCR cihazı |
| Falkon                               |                       |
| PCR plate uygun optikal sealing film |                       |
| PCR mix                              |                       |

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. DNA izolasyonu

- İlk olarak eppendorfta gelen örneklerin doku miktarları kendi içlerinde az veya çok şeklinde kategorize edilmiştir.
- Örnekler parafinin uzaklaştırılmasına yönelik 60-65 °C su banyosunda 5 dk bekletilerek parafin eritilmiştir.
- Ardından eppendorfa 1 ml %100 ksilen eklenerek 10 dakika 60 °C su banyosunda bekletilip 10.000 g'de 3 dakika santrifüj yapılmıştır. Aynı işlem 2 kez tekrarlandıktan sonra sırasıyla alkol serileri eklenmiştir.
- İlk olarak 1 ml %100 etanol eklenip 10.000g'de 3 dakika santrifüj yapılmıştır. Aynı işlem 1 ml %70 etanol eklenerek tekrarlanmıştır. Son olarak 1 ml %50 etanol eklenerek 10.000 g'de 5 dakika santrifüj yapılmıştır.
- Alkol serileri tamamlandıktan sonra çeker ocakta eppendorfların kapağı açılarak 10 dakika beklenip alkolün tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır.
- Alkolden arınan örneklerin; DNA izolasyonu için homojenizasyonuna yönelik 1 büyük 5-6 tane de küçük olmak üzere zirkonyum boncuk ve 500µl Extraction Buffer eklenerek homojenizatör yardımıyla 3 dakika parçalanması sağlanmıştır.
- Homojenize olan örneklerin üzerine 20 µl Proteinaz K eklendikten sonra örnekler 56 °C su banyosunda 30 dakika beklemeye alınmıştır. Bu süreçte sonraki aşamada kullanılacak yeni eppendorflara hasta adı, soyadı ve tarih yazılacak şekilde etiketleme yapılmıştır.
- Ardından spin kolonlara hasta adı, soyadı ve tarih yazılacak şekilde etiketleme yapılarak vortexlenen karışım spin kolonlara aktarılmıştır.
- 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.
- Santrifüj aşamasından sonra spin kolonlara 650 µl Wash Buffer I eklenerek 8.000 rpm'de Santrifüj yapılmıştır.
- 500 µl Wash Buffer II eklenerek tekrar 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.
- Ardından tekrar 250 µl Wash Buffer II eklenerek 14.000 rpm'de 3 dakika santrifüj yapılmıştır.

- Son olarak collection tüpten ayrılarak 1.5 ml'lik yeni eppendorflara aktarılan spin kolonlara 30 µl Elution Buffer eklenerek oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiş ardından 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır.
- Son santrifüjden sonra spin kolonlar atılmış DNS örnekleri ise çalışılmak üzere -20 °C dolaba kaldırılmıştır.

### 3.2.2. Real- time PCR reaksiyonu

- Bu aşamada *IDH1* ve *IDH2* genleri için belirlenen hotspot mutasyonlara yönelik tasarlanan primerler, probler, PCR mix, Taq Polimeraz ve hastalara ait DNA örnekleri kullanılmıştır.
- Aşağıdaki tabloda verilen miktarlar dikkate alınarak 1 örnek için reaksiyon bileşenleri, kurulacak reaksiyon sayısı ile çarpılıp eppendorf tüpte birleştirilmiştir (Tablo 3.3.).

**Tablo 3.3.** Real-time PCR bileşenleri ve miktarları.

| Reaksiyon Bileşenleri  | Miktar       |
|------------------------|--------------|
| 2X Master Mix          | 10 µl        |
| Forward Primer (10 µM) | 0.8 µl       |
| Reverse Primer (10 µM) | 0.8 µl       |
| 1. Prob (10 µM)        | 0.4 µl       |
| 2. Prob (10 µM)        | 0.4 µl       |
| Kalıp DNA              | 2 µl         |
| dH <sub>2</sub> O      | 5.6 µl       |
| <b>Total Hacim</b>     | <b>20 µl</b> |

- Hazırlanan mix 96'lık Well plate üzerindeki kuyucuk başına 18 µ olacak şekilde dağıtılmış sonrasında 2 µl DNA eklenerek hazır hale getirilmiştir.

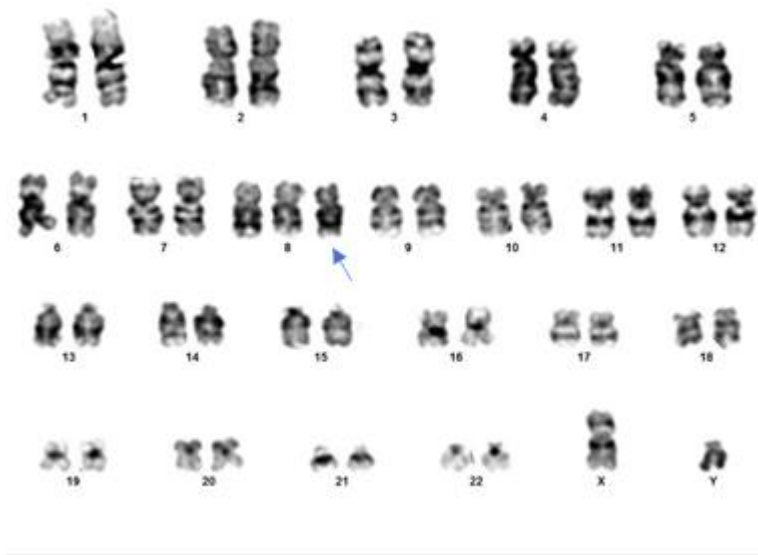
- Kuyucuklara dağıtılan mix ve DNA örneklerinin üzeri PCR plate uygun optikal sealing film ile kapatılarak Real-time PCR cihazına (Bioras CFX Real- Time Dedection System 1855201) yüklemesi gerçekleştirilmiştir.



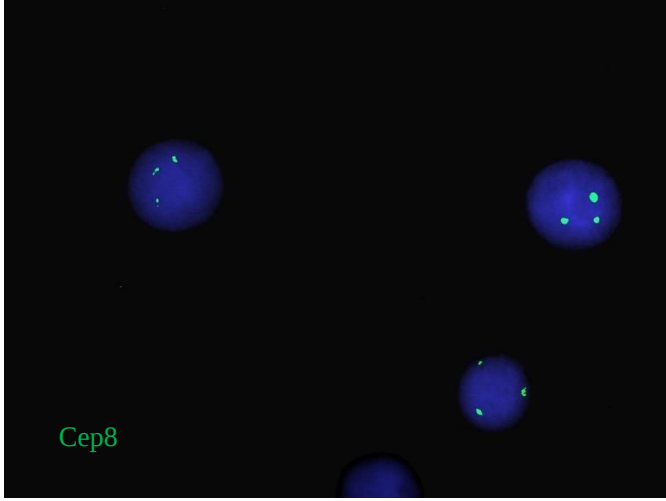
#### 4. BULGULAR

Retrospektif olarak gerçekleştirilen çalışmamıza dahil edilen olgu grubu; daha önce Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı'nda AML ve MDS tanısı almış ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilen FISH ve konvansiyonel sitogenetik analizler sonucu izole trizomi 8 anomali saptanmış hastalardan oluşmuştur. *IDH1/2* gen mutasyonlarının görülme sıklığı, trizomi 8 ile olan ilişkisi ve klinik heterojeniteye olan katkısının değerlendirilebilmesi amacıyla, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı tarafından sağlanan ilgili olgu grubuna ait doku örneklerinden DNA izolasyonu yapılarak *IDH1* ve *IDH2* genlerinde en sık gözlenen mutasyonlar Real-time PCR yöntemi ile incelenmiştir.

Çalışma grubumuzu oluşturan olgulara ait veriler tablo 4.1. ve tablo 4.2.'de verilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 45 olgunun 22'si MDS, 23'ü ise AML tanılı olup; 27'si erkek (%60), 18'i kadın (%40) hastadır ve çalışma grubumuzun yaş ortalaması  $59,51 \pm 19,07$ 'dir. Olgu grubumuzun tümü izole trizomi 8 anomalisine sahip hastalardan oluşmaktadır. Şekil 4.1.'de çalışma grubumuzu oluşturan hastalardan MDS grubu olgu 28'e ait karyotipi gösterilmektedir. Şekil 4.2.'de ise MDS grubu olgu 36'ya ait FISH analizi sonucu gösterilmektedir.



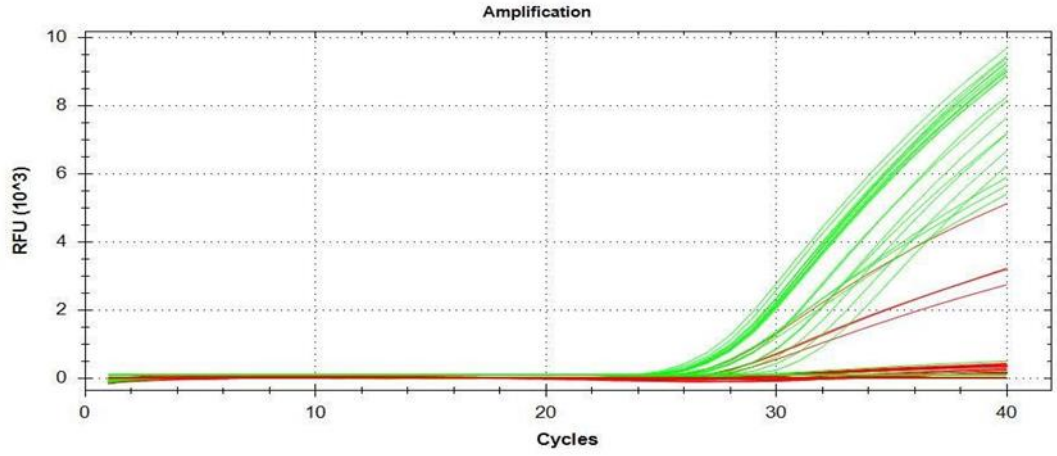
**Şekil 4.1.** Miyelodisplastik neoplazi grubu olgu M5'e ait karyotip görüntüsü.



**Şekil 4.2.** Miyelodisplastik neoplazi grubu olgu M13'e ait FISH görüntüsü.

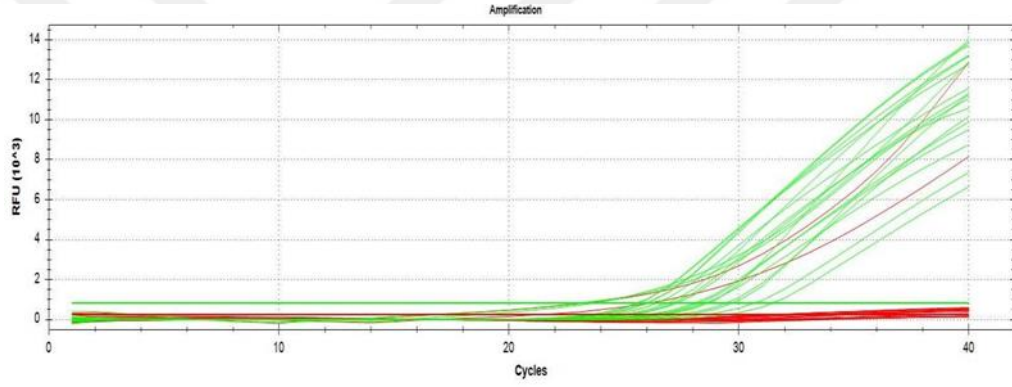
*IDH1/2* genlerinde AML ve MDS olgularında, en sık karşılaşılan mutasyonlardan *IDH1* geni için *R132* (Şekil 4.3.) ve *IDH2* geni içinse *R140* (Şekil 4.4.) mutasyonlarının Real-time PCR yöntemi ile taranması sonucunda;

- *IDH1* geninde 2 AML ve 1 MDS olgusunda (olgu A17, A6 ve M7) (%6.6) heterozigot mutasyon saptanmıştır.
- *IDH2* geninde 1 AML ve 1 MDS olgusunda (olgu A6 ve M2) (%4.4) heterozigot mutasyon saptanmıştır.
- Akut miyeloid lösemi tanılı 1 olguda (olgu A6) her iki gende de heterozigot mutasyon saptanmıştır.
- Homozigot mutasyon her iki gende de saptanmamıştır.



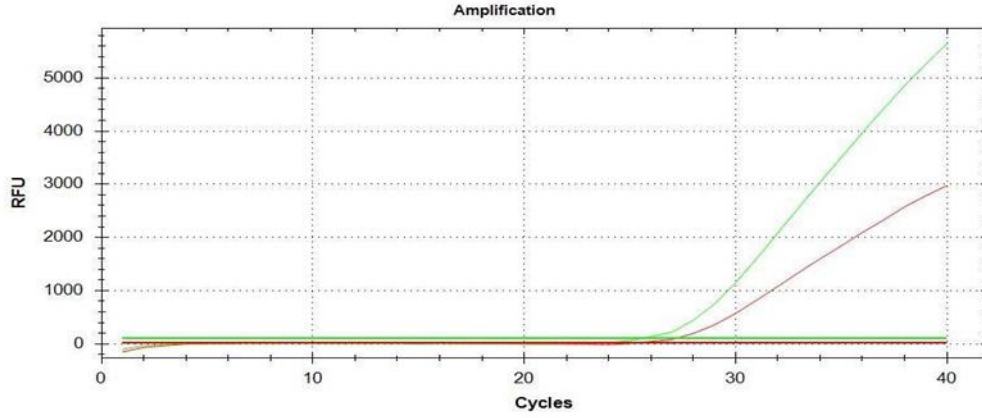
**Şekil 4.3.** Tüm olgular için rs121913499 numaralı *IDH1* gen mutasyon taraması

Real-time PCR analiz sonuçları.



**Şekil 4.4.** Tüm olgular için rs121913502 numaralı *IDH2* gen mutasyon taraması

Real-time PCR analiz sonuçları.



**Şekil 4.5.** Akut miyeloid lösemi grubu olgu A6'ya ait heterozigot mutant IDH1 Real-time PCR analiz görüntüsü.

Miyelodisplastik neoplazi tanılı olgulara ait ulaşılabilen klinik verilere göre;

- Miyelodisplastik neoplazi grubu olgu M13'ün MDS/AML transformasyon öyküsü olduğu belirlenmiş olup her iki gen mutasyonu açısından da homozigot wild tip olarak değerlendirilmiştir.
- Miyelodisplastik neoplazi grubu olgu M7'de ise farklı tarihli 2 örnek değerlendirilmiştir. Hastanın tanı anındaki örneği her iki gende homozigot wild tip olarak değerlendirilirken, takip sürecindeki örneğinde ağır klinik ile paralellik gösteren heterozigot *IDH1* mutasyonu saptanmıştır. Hastada 48 ay yaşam süresi gözlenmiştir.
- Miyelodisplastik neoplazi grubu olgu M2'de ise heterozigot *IDH2* mutasyonu varlığı saptanmış ve 18 ay yaşam süresi gözlenmiştir

Ulaşılabilen AML tanılı olgulara ait klinik verilere göre;

- Akut miyeloid lösemi grubu olgu A4’de MPN/AML transformasyonu olduğu saptanmış ancak hastada her iki gen mutasyonu analizi içinde herhangi bir sonuç alınamamıştır.
- Akut miyeloid lösemi grubu olgu A6’ya ait farklı tarihli 2 örnek değerlendirilmiştir. Hastanın ilk örneğinde her iki gende homozigot wild tip olarak saptanmıştır. İlerleyen süreçte ağır seyreden klinik ve tedavi direnciyle birlikte her iki gende de heterozigot mutasyon varlığı saptanmış olup, 3 ay yaşam süresi gözlenmiştir.
- Akut miyeloid lösemi grubu olgu A17’de ise heterozigot *IDH1* mutasyonu saptanmıştır. Hasta da 1 ay yaşam süresi gözlenmiştir.

**Tablo 4.1.** Akut miyeloid lösemi tanılı olgu grubu.

| Olgu No | Yaş | Cinsiyet | Tanı    | IDH1 | IDH2 | Ex Durumu | OS (ay) |
|---------|-----|----------|---------|------|------|-----------|---------|
| A 1     | 42  | K        | AML     | W    | W    | Ex        | 24      |
| A 2     | 72  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 14      |
| A 3     | 79  | K        | AML     | W    | W    | Ex        | 10      |
| A4      | 57  | E        | MPN/AML | -    | -    | Ex        | 52      |
| A 5     | 47  | K        | AML     | W    | W    | Ex        | 216     |
| A 6     | 73  | E        | AML     | H    | H    | Ex        | 3       |
| A 7     | 20  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 60      |
| A 8     | 42  | K        | AML     | W    | W    | Sağ       | X       |
| A 9     | 78  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 37      |
| A 10    | 37  | K        | AML     | W    | W    | Sağ       | X       |
| A 11    | 25  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 1       |
| A 12    | 77  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 10      |
| A 13    | 80  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 8       |
| A 14    | 84  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 4       |
| A 15    | 74  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 9       |
| A 16    | 55  | K        | AML     | W    | W    | Ex        | 9       |
| A 17    | 75  | K        | AML     | H    | W    | Ex        | 1       |
| A 18    | 58  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 39      |
| A 19    | 78  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 6       |
| A 20    | 18  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 168     |
| A 21    | 44  | K        | AML     | W    | W    | Ex        | 204     |
| A 22    | 77  | K        | AML     | W    | W    | Ex        | 24      |
| A 23    | 60  | E        | AML     | W    | W    | Ex        | 7       |

(W: Wild tip, H: Heterozigot mutant, -: analiz başarısız)

**Tablo 4.2.** Miyelodisplastik neoplazi tanılı olgu grubu.

| <b>Olgu No</b> | <b>Yaş</b> | <b>Cinsiyet</b> | <b>Tanı</b> | <b>IDH1</b> | <b>IDH2</b> | <b>Ex Durumu</b> | <b>OS (ay)</b> |
|----------------|------------|-----------------|-------------|-------------|-------------|------------------|----------------|
| <b>M 1</b>     | 78         | K               | MDS         | W           | W           | Ex               | 8              |
| <b>M 2</b>     | 66         | E               | MDS         | W           | H           | Ex               | 18             |
| <b>M 3</b>     | 54         | K               | MDS         | W           | W           | Ex               | 22             |
| <b>M 4</b>     | 22         | K               | MDS         | W           | W           | Ex               | 192            |
| <b>M 5</b>     | 47         | E               | MDS         | W           | W           | Ex               | 2              |
| <b>M 6</b>     | 80         | E               | MDS         | W           | W           | Ex               | 48             |
| <b>M 7</b>     | 84         | E               | MDS         | H           | W           | Ex               | 6              |
| <b>M 8</b>     | 57         | E               | MDS         | W           | W           | Sağ              | X              |
| <b>M 9</b>     | 41         | K               | MDS         | W           | W           | Ex               | 36             |
| <b>M 10</b>    | 74         | E               | MDS         | W           | W           | Ex               | 84             |
| <b>M 11</b>    | 39         | E               | MDS         | W           | W           | Sağ              | X              |
| <b>M 12</b>    | 61         | K               | MDS         | W           | W           | Ex               | 26             |
| <b>M 13</b>    | 62         | K               | MDS/AML     | W           | W           | Ex               | 54             |
| <b>M 14</b>    | 70         | E               | MDS         | W           | W           | Sağ              | X              |
| <b>M 15</b>    | 71         | E               | MDS         | W           | W           | Ex               | 192            |
| <b>M 16</b>    | 41         | K               | MDS         | W           | W           | Ex               | 252            |
| <b>M 17</b>    | 65         | K               | MDS         | W           | W           | Ex               | 49             |
| <b>M 18</b>    | 28         | E               | MDS         | W           | W           | Ex               | 228            |
| <b>M 19</b>    | 57         | K               | MDS         | W           | W           | Ex               | 192            |
| <b>M 20</b>    | 79         | E               | MDS         | W           | W           | Ex               | 48             |
| <b>M 21</b>    | 71         | E               | MDS         | W           | W           | Sağ              | X              |
| <b>M 22</b>    | 79         | E               | MDS         | W           | W           | Ex               | 62             |

(W: Wild tip, H: Heterozigot mutant)

#### 4.1. İstatistiksel Analiz

- Yapılan çalışma sonucunda *IDH1* geninde 3 olguda, *IDH2* geninde ise 2 olguda heterozigot mutasyon varlığı saptanmıştır. Mutasyon saptanan olgu sayısının az olması sebebiyle çalışma grubumuzdaki ilgili gen mutasyonlarının izole trizomi 8 ile ilişkisi istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.



## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı tarafından tanısı konan ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda FISH yöntemi ve karyotip analizleri ile izole trizomi 8 anomalisi saptanan 45 hastada *IDH1* ve *IDH2* genlerinde en sık karşılaşılan hotspot mutasyonların varlığı Real-time PCR yöntemiyle incelenmiştir. Yapılan çalışma ile AML ve MDS tanısı almış olgularda ilgili genlerin mutasyonel durumunun; görülme sıklığı, trizomi 8 ile ilişkisi ve klinik heterojeniteye olan katkısının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Literatürde, Tüm AML ve MDS olgularında *IDH1/2* gen mutasyonlarının görülme sıklığı sırasıyla %15 ve %20 olarak bildirilmiştir. Trizomi 8 anomalisine sahip hastalarda *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonlarının yaklaşık %25 oranla daha sık saptandığı belirtilmektedir (Fortin, J., 2023). İlgili genlerde miyeloid malignitelerde en sık karşılaşılan hotspot mutasyonları; *IDH1* için *R132*, *IDH2* için *R140* ve *R172* olarak belirtilmektedir (Bill, M., 2023). Özellikle MDS tanılı olgularda *IDH2* geni için *R140* hotspot mutasyonun daha sık görüldüğü literatürde verilen bilgiler arasında yer almaktadır (Özcan, A., 2015; Bill, M., 2023).

- Domenica Caramazza ve arkadaşlarının AML ve MDS tanı gruplarının da yer aldığı *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonları ve trizomi 8 anomalisinin araştırılmasına yönelik miyeloid malignitelere sahip 207 hastada gerçekleştirdikleri çalışmada; izole trizomi 8 anomalisine sahip (143/207) hasta profili; 54 *de novo* MDS, 15 *de novo* AML, 12 t- MDS/AML, 11 post-MDS AML, 32 MPN, 19 MDS/MPN şeklinde oluşturulmuştur. Belirlenen izole trizomi 8 anomalili hasta grubuna ait kemik iliği pelletlerinden elde edilen DNA örneğinde *IDH1* ve *IDH2* mutasyonlarına yönelik Real-time PCR analizi gerçekleştirilmiştir. İlgili genlerdeki analiz sonucunda; saptanan 18 *IDH* mutasyonunda; 15'inin *IDH2* (14 *R140Q* ve 1 *R140W*), 3'ünün ise *IDH1* (2 *R132C* ve 1 *R132G*) mutasyonu olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca saptanan 18 *IDH* mutasyonunda 17'sinin miyeloid malignitelerde tekrarladığını belirtmişlerdir. Analiz gerçekleştirilen izole trizomi 8'li AML ve MDS olgularında *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonları eşlik etme sıklığı ise; *de novo* MDS'de %15, *de novo* AML'de %13, t-

MDS/AML'de %25, post- MDS AML'de %27, MPN'de %3 olarak saptanmıştır. Trizomi 8 ilişkili AML ve MDS olgularında *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonu frekansının %13-27, kontrol grubu (trizomi 8 ilişkisiz AML ve MDS olguları) *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonu frekansının ise %0-7 olarak belirtildiği bu çalışmanın sonucunda ise MDS ve AML tanılı olgularda trizomi 8 ve *IDH1* ve *IDH2* mutasyonları arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu belirtilmektedir (Caramazza et al., 2010).

- Sadudee Chotirat ve arkadaşları 2012 yılında gerçekleştirdikleri bir çalışmada yeni AML tanısı almış hastalarda *IDH1* ve *IDH2* mutasyonları varlığını saptayarak; ilgili gen mutasyonlarının AML olgularında klinik, sitogenetik ve genetik mutasyonlar gibi diğer parametreler ile korelasyonunun araştırılmasını amaçlamışlardır. Bu amaç doğrultusunda ekip; yeni tanılı AML olgularının gerekli klinik ve genetik analiz verilerine ulaşmışlardır. 230 olgudan 226 olgunun sitogenetik bulgularına ulaşılan çalışmada 126 hastanın (%55,75) normal karyotipli iken 100 hastanın (%44, 25) aberan karyotipli olduğu bilgisine ulaşılmıştır. 100 hastadan oluşan aberan karyotipli hasta grubunda ise 4 hastanın izole trizomi 8 anomalisine sahip AML olgusu olduğu bilgisine yer verilmektedir. İlgili hasta grubunda *IDH1* ve *IDH2* genlerine yönelik PCR-DHPLC (Polimeraz zincir reaksiyonu- yüksek performanslı sıvı kromatografi) yöntemi ile ilgili genlerin 4. eksonlarında mutasyon analizi gerçekleştirmişlerdir. Analiz sonucunda; 20 olguda *IDH1* mutasyonu saptanmıştır. *IDH1* mutasyonu saptanan hastalardan 11'inin (%55) normal karyotip, 9'unun ise aberan karyotipe sahip olduğunu belirtmişlerdir. *IDH1* mutasyonu saptanan aberan karyotipli hasta grubunda 1 hastanın izole trizomi 8 anomalisine sahip olduğu belirtilmektedir. Ekip; yapılan mutasyon analizinde 24 pşguda ise *IDH2* mutasyonu saptamıştır. Bu hastalarda 12'sinin normal karyotipli (%50), 12'sinin ise aberan karyotipli olduğu belirtilmektedir. *IDH2* mutasyonu saptanan aberan karyotipli hasta grubunda 1 olgunun izole trizomi 8 anomalisine sahip AML hastası olduğu belirtilmektedir. *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonları oranını sırasıyla %8,7 ve %10,4 olarak bulan ekip; AML'de *IDH2* mutasyonlarının %80 oranında *R140* hotspot mutasyonlarından oluştuğunu da belirtmektedir. *IDH* mutasyonlarının literatürde genellikle AML hastalarında

kötü etki ile ilişkilendirilmelerine karşın; Sadudee Chotirat ve arkadaşları yaptıkları bu çalışmada *IDH* mutasyonları ve sağ kalım etkisinde kontrol grubu ve anomalili AML grupları arasında belirgin bir farka ulaşamamıştır. Bunun sebebi olarak düşük hasta sayısını gösteren ekip; AML olgularında *IDH* mutasyonlarına yönelik daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu belirtmiştir.

- Na Wang ve arkadaşları MDS olgularında *IDH1* ve *IDH2* mutasyonlarına yönelik ilgili genlerin 4. eksonlarında PCR yöntemi ile mutasyon analizi gerçekleştirmişlerdir. Ekip, planlanan çalışmaya yönelik öncelikli olarak hasta grubuna ait klinik ve genetik verilere ulaşım sağlamıştır. Farklı sitogenetik anomalilere sahip 97 MDS olgusundan oluşan çalışma grubunda olgulara ait kan ve kemik iliği örneklerinden elde edilen DNA ile mutasyon taraması gerçekleştirilmiştir. Miyelodisplastik neoplazide en sık karşılaşılan hotspot mutasyonların *IDH1* için *R132*, *IDH2* içinse *R140* ve *R172* olduğu belirtilen çalışmada; 7 (%7,2) *IDH* mutasyonu saptanmıştır. Bu mutasyonlardan 3 tanesinin *IDH1* (*R132C*), 4 tanesinin ise *IDH2* (3 *R140Q* ve 1 *R140L*) mutasyonu olduğunu belirtmişlerdir. Elde edilen mutasyon sonuçları sitogenetik veriler ile karşılaştırıldığında anormal karyotipli hastalarda *IDH* mutasyon oranının %7,8 (4/51) olduğunu belirtmişlerdir. Özellikle belirli bir karyotip ve *IDH* mutasyonları arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı belirtilmiştir. Ancak ekip, *IDH* mutasyonu saptanmış olan 4 olgudan 2'sinin izole trizomi 8'li olduğunu saptamıştır. Bu iki mutasyonunda *IDH2* mutasyonu olduğu belirtilmiştir. Buna bağlı olarak düşük hasta sayısı sebebi ile kesin bir yargı belirtmemekle birlikte izole trizomi 8 ile ilişkili *IDH2* mutasyonlarının MDS patogenezi ve progresyonu üzerinde etkili olabileceğini düşündüklerini belirtmişlerdir. *IDH1* ve *IDH2* mutasyonu varlığında görülen kemik iliğinde yüksek blast sayısı ve özellikle *IDH1* mutasyonu ile ilişkilendirilen kısa OS ve PFS süreleri sonucu *IDH1* varlığının MDS olgularında kötü prognoz göstergesi olduğu belirtilmektedir. Ancak daha fazla hasta sayısı ile daha geniş ölçekte çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu söylemektedirler.
- Castello ve arkadaşları 2023 yılında gerçekleştirdikleri bir çalışmada izole trizomi 8 anomalisine sahip MDS olgularında mutasyonel profilleri belirlemeyi

amaçlamışlardır. Buna yönelik 79 izole trizomi 8 anomalili MDS olgusunda; *IDH2* geninin de içerisinde olduğu 15 farklı gende yeni nesil sekanslama yöntemi ile mutasyon analizi gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmanın sonucunda; izole trizomi 8'li MDS olgularında 43 gende 289 onkogenik mutasyon saptayan ekip, %11'lik bir oranla *IDH2* genini izole trizomi anomalisine sahip MDS olgularında en sık mutasyona uğrayan genlerden biri olarak belirtmişlerdir. IPSS-R sınıflamasında da düşük ve orta seviye risk grubunda yer alan *STAG2*, *SRSF2* ve *RUNX1* genleri AML progresyonu ve OS açısından trizomi 8 saptanan MDS olgularında daha iyi bir senaryo gösterirken *IDH2* mutasyonunun MDS olgularında izole trizomi 8'e eşlik etmesinin kısa OS ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir (Toribio Castello, S., 2023).

**Tablo 5.1.** Literatürde izole trizomi 8 anomalili AML ve MDS olgularında edinilen verilerin özeti.

| Araştırmacılar             | Yıl  | Olgu Sayısı (n) | İzole Trizomi 8 Anomalili Hasta Sayısı | İzole Trizomi 8'li Olgularda <i>IDH1</i> Mutasyonu (%) | İzole Trizomi 8'li Olgularda <i>IDH2</i> Mutasyonu (%) | Metod                              |
|----------------------------|------|-----------------|----------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Domenica Caramazza ve ark. | 2011 | 207             | 143                                    | 6.2                                                    | 2.3                                                    | Sanger Sekanslama ve Real-Time PCR |
| Sadudee Chotirat ve ark.   | 2012 | 230             | 4                                      | 2.2                                                    | 2                                                      | PCR-DHPLC                          |
| Na Wang ve ark.            | 2017 | 97              | -                                      | 2.4                                                    | 1.2                                                    | PCR                                |
| Castello ve ark.           | 2023 | 79              | 79                                     | -                                                      | 11                                                     | NGS                                |
| Bizim Çalışmamız           | 2023 | 45              | 45                                     | 6.6                                                    | 4.4                                                    | Real-Time PCR                      |

(- : Bilgi mevcut değil).

Bizim çalışmamız sonucunda; izole trizomi 8 anomalisine sahip AML ve MDS olgularında *IDH* mutasyon frekansı %8.8 olarak saptanmıştır. Elde ettiğimiz bulgular literatür verileri ile karşılaştırıldığında; Na Wang ve arkadaşları ve Sadudee Chotirat ve arkadaşlarının çalışmaları ile *IDH* mutasyon frekansı açısından paralellik gösterdiğini söyleyebilmekteyiz. Domeica Caramazza ve arkadaşları yaptıkları çalışmada izole trizomi 8 anomalisi olan AML ve MDS olgularında *IDH* mutasyon frekansını daha

yüksek bulmuşlardır. Bu sebeple bizim çalışmamız bu veri ile uyumluluk göstermemektedir. Ancak bu duruma çalışmamızdaki olgu sayımızın daha düşük olmasının sebep olabileceğini düşünmekteyiz.

Literatürde trizomi 8 ve *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonları saptanan olguların tamamında, trizomi 8 izole sitogenetik anomali olarak gözlenmiştir. Bizim de olgu grubumuzu oluşturan hastaların karyotiplerinde trizomi 8 izole olarak saptanmıştır. Özellikle bizim çalışma grubumuz ile oldukça benzerlik gösteren çalışma grubuna sahip Domeica Caramazza ve arkadaşlarının analiz sonuçlarına baktığımızda; ilgili tanılarda *IDH* mutasyon sıklığının bizim çalışmamıza oranla çok daha yüksek olduğunu görmekteyiz. Aynı zamanda Sadudee Chotirat ve arkadaşlarının ilgili tanılarda izole trizomi 8'li olgu sayısının bizim olgu sayımıza oranla çok daha düşük olmasına rağmen *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyon frekanslarının bizim çalışmamıza yakın olduğunu görmekteyiz. Castello ve arkadaşlarının da yaptığı çalışmada hasta grubunun tamamının izole trizomi 8 anomalili hastalardan oluştuğunu ancak analiz gerçekleştirilen *IDH2* mutasyon frekansının bizim çalışmamıza oranla çok daha yüksek çıktığını görmekteyiz. Tüm bu literatür verileri; mutasyon frekans sonuçlarının bizim çalışmamızdan farklı olmasının sebepleri arasında düşük hasta sayısı ile birlikte daha hassas analiz metodları olabileceğini de düşündürmüştür.

Aynı zamanda verilen literatür verilerinde çalışmaların ağırlıklı olarak ilgili tanılarda *IDH* genlerinin 4. eksondaki tüm mutasyonların analizine yönelik olduğunu görmekteyiz. Bizim çalışmamızda sadece literatürde izole trizomi 8'li olgularda en sık karşılaşılan hotspot mutasyonlar olarak belirtilen *IDH1* için *R132*, *IDH2* için ise *R140* hotspot mutasyonlarının analizi gerçekleştirilmiştir. Bu farkın da mutasyon frekans oranımızda etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Gerçekleştirilen mutasyon analizlerinde DNA miktar ve kalitesinin sonucu etkileyecek parametreler arasında gösterildiği bilinmektedir. Bizim çalışmamızda olgu grubuna ait parafine gömülü dokudan DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu sebeple DNA izolasyonu için parafinin uzaklaştırılmasına yönelik kimyasallar kullanılmış ve 1 olguda (A4) her iki gen içinde mutasyon analizinde sonuç elde edilememiştir. Verilen literatür çalışmalarında ilgili mutasyon analizleri için hastalara ait kemik iliği örneklerinden DNA izolasyonu gerçekleştirildiğini görmekteyiz. Bu fark da; DNA

kalite ve miktarında, buna baęlı olarak da mutasyon analiz sonuçlarında etkili olabileceęini, belirtilen hastada (A4) herhangi bir sonuç elde edilememesinin sebebinin biyolojik materyal ve DNA izolasyon ařamasından kaynaklı olabileceęini dūřündürmūřtır.

Çalışmamızda izole trizomi 8 saptanan vakalarda *IDH1* ve *IDH2* genlerinin prognostik etkilerini, mutasyon saptama oranımızın dūřuk olması sebebiyle istatistiksel olarak değerlendiremedik. Ancak mutasyon saptanan vakaları tek tek incelediğimizde aşağıdaki sonuçlara varılmıştır;

- *IDH1* heterozigot mutasyonu saptanan olgu A17’de yařam sūresi 1 ay olarak saptanmıřtır.
- *IDH1* ve *IDH2* genlerinin ikisi de heterozigot mutant olan olgu A6’da yařam sūresi 3 ay olarak gözlenmiřtir.
- *IDH1* heterozigot mutasyonu saptanan olgu M7’de yařam sūresi 6 ay olarak gözlenmiřtir.
- *IDH2* heterozigot mutasyonu saptanan olgu M2’de ise yařam sūresi 18 ay olarak saptanmıřtır.

Literatūr verileri izole trizomi 8’li AML ve MDS olgularında *IDH* mutasyonlarını kısa OS ile ilişkilendirmektedir. Bizde çalışmamızı oluşturan izole trizomi 8 anomalisine sahip AML ve MDS olgu gruplarını kendi içerisinde değerlendirdiğimizde *IDH1* mutasyon varlığında MDS olgularında daha kısa OS ile karşılaştığımızı söyleyebilmekteyiz. Na Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar sonucu elde ettikleri veriler de bizim bulgularımızı destekler niteliktedir. Ancak Castello ve arkadaşlarının 2023 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada izole trizomi 8’li MDS olgularında *IDH2* mutasyonlarını kısa OS ile ilişkilendirmişlerdir. Bizim bulgularımız Castello ve arkadaşlarının ulaştığı bu sonuç ile uyumluluk göstermemektedir. Bu sebeple izole trizomi 8 anomalisine sahip AML ve MDS olgularında *IDH* mutasyonları ve OS ilişkisinin anlaşılmasına yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu dūřünmekteyiz.

Çalıřma grubumuzu oluřturan hasta profilimizi klinik açıdan deęerlendirdięimizde; AML progresyonlu bir MDS olgusu *IDH1* ve *IDH2* genlerinin her ikisi içinde homozigot wild tip olarak belirlenmiřtir. Literatūrde MDS’de AML

progresyonu ve *IDH* mutasyonları arasında anlamlı ilişki olduğuna yönelik bilgiler yer almakta olup bizim verilerimiz bu bilgiler ile örtüşmemektedir. Bu durumun düşük hasta sayısı kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz. Diğer yandan AML tanılı bir olguda ise her iki gen içinde sonradan gelişen heterozigot mutasyonun ağır klinik ve tedavi direnciyle eşlikli olması; literatürde *IDH* mutasyonlarının AML’de olumsuz prognoz ve tedavi direnci ile ilişkili olabileceği verileri ile paralellik göstermektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar literatür verileri ile karşılaştırılmıştır. Ancak çalışma grubumuz az hasta sayısından oluşmakta ve yalnızca iki hastada bu sonuçları elde etmemiz sebebiyle istatistiksel bir değerlendirme gerçekleştirilememiştir. Bu sebeple kesin bir yargıya varamamakla birlikte ilgili tanı gruplarında *IDH* mutasyonlarına yönelik daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu söyleyebilmekteyiz.

Ulaşılabildiği kadarıyla izole trizomi 8 anomalisine sahip AML ve MDS olgularında epigenetik modifikasyon gen polimorfizmlerine yönelik herhangi bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. Bu konuda çalışmamızın literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Düşük hasta sayısı sebebi ile trizomi 8 ve ilgili gen mutasyonları arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirilememiştir. Ancak daha fazla hasta sayısı ile birlikte ilgili genlerin tüm mutasyonlarına yönelik gerçekleştirilecek analizlerle, istatistiksel olarak değerlendirilebilecek daha geniş kapsamlı sonuçlar elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda FISH yöntemi ve karyotip analizi ile izole trizomi 8 anomalisi saptanan 45 AML (23/45) ve MDS (22/45) olgusunda kötü prognostik etkisi olan *IDH1* ve *IDH2* genlerinde en sık karşılaşılan hotspot mutasyonlardan; *IDH1* için *R132*, *IDH2* için ise *R140* gen mutasyonlarının varlığı Real-time PCR yöntemi ile incelenmiştir. İlgili genlerin mutasyonel durumunun; görülme sıklığı, trizomi 8 ile ilişkisi ve klinik heterojeniteye olan katkısının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Buna göre;

- *IDH1* geninde heterozigot mutasyon oranı %6.6 olarak saptanmıştır.
- *IDH2* geninde heterozigot mutasyon oranı %4.4 olarak hesaplanmıştır.
- Çalışmaya dahil edilen AML tanılı olgulardan bir tanesinde *IDH1* ve *IDH2* genlerinin ikisi içinde Real-time PCR analizlerinde sonuç alınamamıştır.
- Çalışmaya dahil edilen olgulardan yalnızca *IDH1* geni için heterozigot mutasyon saptanan iki AML ve bir de MDS tanılı hasta bulunmaktadır.
- Çalışmaya dahil edilen olgulardan yalnızca *IDH2* geni için heterozigot mutasyon saptanan bir MDS tanılı hasta bulunmaktadır.
- Hem *IDH1* hem de *IDH2* genlerinin her ikisi içinde heterozigot mutasyon saptanan AML tanılı bir hasta bulunmaktadır.
- Miyelodisplastik neoplazi tanısı ile çalışmaya dahil edilen bir olguya ait farklı tarihli iki örnek değerlendirilmiş olup hasta da ağır klinik ile paralel heterozigot *IDH1* mutasyonu oluşumu saptanmıştır.
- Çalışmaya dahil edilen AML tanılı bir olguda farklı tarihli iki örnek değerlendirilmiştir. Hastanın ilk örneğinde *IDH1* ve *IDH2* genlerinin her ikisi homozigot wild tip olarak saptanmıştır. Ancak ilerleyen süreçte hastada ağır seyreden klinik ve tedavi direnci geliştiği bilgisine ulaşılmıştır. Hastaya ait ikinci örnek değerlendirildiğinde ise *IDH1* ve *IDH2* genlerinin ikisi içinde heterozigot mutasyon varlığı saptanmış ve hastanın ex olduğu bilgisine ulaşılmıştır.

Bu bilgiler doğrultusunda AML ve MDS tanılı hastalarda trizomi 8 anomalisinin *IDH1* ve *IDH2* mutasyonları ile ilişkisi istatistiksel olarak değerlendirilememiştir. Ancak farklı tarihlere ait 2 örneği incelenen MDS ve AML hastalarında ilgili genlerde

sonradan oluşan heterozigot mutasyon varlığı saptanmıştır. İlgili hastalarda kliniğin ağır seyretmesi ve her iki hastanın da ilerleyen süreçte ex olması; ilgili tanılarda *IDH1* ve *IDH2* mutasyonlarının hastalığın prognozu üzerinde olumsuz etki yaratabileceği konusunda literatürü destekler niteliktedir. Özellikle AML tanılı olguda ilk örnekte herhangi bir mutasyon saptanmamasına rağmen ileri tarihli ikinci örnekte her iki genin heterozigot mutasyona uğradığı görülmüş ve bu süreç hastalığın klinik seyri açısından değerlendirildiğinde hastada tedavi direnci varlığı görülmüştür. Bu da ilgili gen mutasyonları varlığının AML'ye yönelik tedavi stratejileri üzerinde olumsuz etki oluşturabileceğini bu konuya yönelik daha gelişmiş çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşündürmüştür.

Çalışmamızın Türk popülasyonunda izole trizomi 8 anomalisine sahip AML ve MDS olgularında *IDH1* ve *IDH2* gen mutasyonlarının görülme sıklığı ve bu mutasyon sıklığının; trizomi 8 ve klinik heterojenite ile ilişkilerinin incelenmesine yönelik, literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. İlerleyen süreçte yapılacak çalışmalarda daha yüksek hasta sayısı ve ilgili genlerin tüm mutasyonlarının araştırılmasına yönelik planlanan projeler ile daha da anlamlı sonuçlar alınarak ilgili gen mutasyonlarının +8 ile ilişkisinin istatistiksel olarak da değerlendirilebileceği öngörülmüştür.

## 7. KAYNAKLAR DİZİNİ

Abaza, Y., & Patel, A. A. (2023). Novel Therapies in Myelodysplastic Syndrome. *The Cancer Journal*, 29(3), 188-194.

Adès, L., Itzykson, R., & Fenaux, P. (2018). Myelodysplastic syndromes. *The Lancet*, 387(9936), 2239-2252.

Barone, P., & Patel, S. (2023, April). Myelodysplastic Syndrome: Approach to Diagnosis in the Era of Personalized Medicine. In *Seminars in Diagnostic Pathology*. WB Saunders.

Becker, H., Maharry, K., Mrózek, K., Volinia, S., Eisfeld, A. K., Radmacher, M. D., Bloomfield, C. D. (2014). Prognostic gene mutations and distinct gene- and microRNA-expression signatures in acute myeloid leukemia with a sole trisomy 8. *Leukemia*, 28(8), 1754-1758. doi:10.1038/leu.2014.114

Bill, M., Jentzsch, M., Bischof, L., Kohlschmidt, J., Grimm, J., Schmalbrock, L. K., Schwind, S. (2023). Impact of IDH1 and IDH2 mutation detection at diagnosis and in remission in patients with AML receiving allogeneic transplantation. *Blood Advances*, 7(3), 436-444.

Caramazza, D., Lasho, T. L., Finke, C. M., Gangat, N., Dingli, D., Knudson, R. A., Tefferi, A. (2010). IDH mutations and trisomy 8 in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 24(12), 2120-2122. doi:10.1038/leu.2010.213

Chotirat, S., Thongnoppakhun, W., Promsuwicha, O., Boonthimat, C., & Auewarakul, C. U. (2012). Molecular alterations of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 (IDH1 and IDH2) metabolic genes and additional genetic mutations in newly diagnosed acute myeloid leukemia patients. *J Hematol Oncol*, 5, 5. doi:10.1186/1756-8722-5-5

## 7. KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Coşkun, S., Yılmaz, Ş., Çırakoğlu, A., Kuru, R. D., Tarkan Argüden, Y., Öngören, Ş., & Hacıhanefioğlu, S. (2020). Miyelodisplastik Sendromlu Olguların Kan Ve Kemik İliği Örneklerinin Konvansiyonel Sitogenetik ve Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemiyle İncelenmesi. *Istanbul University Institute of Health Sciences Journal of Advanced Research in Health Sciences*, 3(3). doi:10.26650/jarhs2020-793043

Çelebi, H. S. (2014). Myelodisplastik Sendrom (MDS) Ve Akut Myeloid Löseminin (AML) Epigenetik Profillerinin Belirlenmesi Suretiyle Mds Ve Aml Prognozunda Yeni Moleküler Belirteçlerin Tanımlanması (Phd's thesis, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü).

Drevon, L., Marceau, A., Maarek, O., Cuccuini, W., Clappier, E., Eclache, V., Fenaux, P. (2018). Myelodysplastic syndrome (MDS) with isolated trisomy 8: a type of MDS frequently associated with myeloproliferative features? A report by the Groupe Francophone des Myélodysplasies. *Br J Haematol*, 182(6), 843-850. doi:10.1111/bjh.15490

Durak Aras B. Miyelodisplastik sendromda genetiğin rolü. Miyelodisplastik Sendrom. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.15-24.

Döhner, H., Wei, A. H., Appelbaum, F. R., Craddock, C., DiNardo, C. D., Dombret, H., ... & Löwenberg, B. (2022). Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 140(12), 1345-1377.

Fortin, J., Chiang, M. F., Meydan, C., Foox, J., Ramachandran, P., Leca, J., ... & Mak, T. W. (2023). Distinct and opposite effects of leukemogenic Idh and Tet2 mutations in hematopoietic stem and progenitor cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(4), e2208176120.

## 7. KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Fu, L., Zhang, Z., Chen, Z., Fu, J., Hong, P., & Feng, W. (2023). Gene Mutations and Targeted Therapies of Myeloid Sarcoma. *Current Treatment Options in Oncology*, 24(4), 338-352.
- Gangat, N., Greipp, P., Hanson, C. A., Hoyer, J., Chen, D., Ketterling, R. P., & Dingli, D. (2009). Isolated Trisomy 8 in the Myelodysplastic Syndromes. *Blood*, 114(22), 2785-2785. doi:10.1182/blood.V114.22.2785.2785
- Goel, H., Rahul, E., Gupta, I., Chopra, A., Ranjan, A., Gupta, A. K., ... & Tanwar, P. (2021). Molecular and genomic landscapes in secondary & therapy related acute myeloid leukemia. *American Journal of Blood Research*, 11(5), 472.
- Günden, G., (2020). İzole 13q Delesyonu Saptana KLL Olgularında NOTCH1 ve SF3B1 Genlerinde Mutasyon Analizi (Master's thesis ESOGÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Hindilerden, İ. Y., Hindilerden, F., & Sargın, F. D. (2015). The Impact Of Molecular Events On Myeloproliferative Neoplasms. *Journal of Istanbul Faculty of Medicine*, 78(4), 125-136.
- Hoff, F. W., & Madanat, Y. F. (2023). Molecular Drivers of Myelodysplastic Neoplasms (MDS)—Classification and Prognostic Relevance. *Cells*, 12(4), 627.
- Hosono, N. (2019). Genetic Abnormalities And Pathophysiology Of MDS. *International journal of clinical oncology*, 24(8), 885-892.
- Işık, S. (2020). Kronik lenfosittik lösemi olgularında 13q delesyon büyüklüğünün CGH+ SNP array yöntemi ile araştırılması (Phd's thesis, Esogü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü )

## 7. KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Karantanos, T., & DeZern, A. E. (2021). Biology and clinical management of Hypoplastic MDS: MDS as a bone marrow failure syndrome. *Best Pract Res Clin Haematol*, 34(2), 101280. doi:10.1016/j.beha.2021.101280
- Kayser, S., & Levis, M. J. (2023). The clinical impact of the molecular landscape of acute myeloid leukemia. *Haematologica*, 108(2), 308.
- Khwaja, A., Bjorkholm, M., Gale, R. E., Levine, R. L., Jordan, C. T., Ehninger, G., & Linch, D. C. (2016). Acute myeloid leukaemia. *Nature reviews Disease primers*, 2(1), 1-22.
- Kozan, S., Öztürk, E., Torun, D., Bahçe, M., Kaya, H., Beyan, C., & Güran, Ş. (2010). Akut miyeloblastik lösemili olguda trizomi 8, trizomi 9 ve trizomi 21 sitogenetik bulgularının birlikteliği. *Gulhane Medical Journal*, 52(4).
- Raghavan, J. V., Ganesh, R. A., Sonpatki, P., Naik, D., John, A. E., Arunachalam, P., ... & Jhunjunwala, S. (2021). Immuno-phenotyping of IDH-mutant grade 3 astrocytoma and IDH-wildtype glioblastoma reveals specific differences in cells of myeloid origin. *Oncoimmunology*, 10(1), 1957215.
- Leventoğlu, E., Şahin, G., Yeşil, Ş., Bozkurt, C., Yüksek, N., Fettah, A., ... & Ertem, U. (2019). Nöroblastom tanılı çocuk hastalarda izositratdehidrogenaz 1 ve 2 mutasyonlarının genetik analiz ile araştırılması (23.Ulusal Kanseri Kongresi, Antalya, Türkiye, 17 - 21 Nisan 2019)
- Liu, M., Wang, F., Zhang, Y., Chen, X., Cao, P., Nie, D., ... Liu, H. (2021). Gene mutation spectrum of patients with myelodysplastic syndrome and progression to acute myeloid leukemia. *Int J Hematol Oncol*, 10(2), 1jh34. doi:10.2217/ijh-2021-0002

## 7. KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Montalban-Bravo, G., Kanagal-Shamanna, R., Sasaki, K., Patel, K., Ganan-Gomez, I., Jabbour, E., ... & Garcia-Manero, G. (2019). NPM1 mutations define a specific subgroup of MDS and MDS/MPN patients with favorable outcomes with intensive chemotherapy. *Blood advances*, 3(6), 922-933.
- Naoe, T., & Kiyoi, H. (2013). Gene mutations of acute myeloid leukemia in the genome era. *Int J Hematol*, 97(2), 165-174. doi:10.1007/s12185-013-1257-4
- Nilius-Eliliwi, V., Gerding, W. M., Schroers, R., Nguyen, H. P., & Vangala, D. B. (2023). Optical Genome Mapping for Cytogenetic Diagnostics in AML. *Cancers*, 15(6), 1684.
- Hakim, N. M., Tam, W., Philipovski, A., Tonk, V., & Orazi, A. (2021). Myelodysplastic syndrome transforming to atypical chronic myeloid leukemia shows changes in its mutation allele frequency and acquisition of new mutations. *Leukemia Research Reports*, 15, 100248.
- Parker, S. J., & Metallo, C. M. (2015). Metabolic consequences of oncogenic IDH mutations. *Pharmacology & therapeutics*, 152, 54-62.
- Ramanan, R., Tiong, S., Ivey, A., Ong, D. M., Brown, F. C., Chua, C., & Curtis, D. J. (2023). Cellular distribution of IDH mutations in AML during morphologic remission. *Leukemia Research*, 124, 106993
- Saumell, S., Solé, F., Arenillas, L., Montoro, J., Valcárcel, D., Pedro, C., & Florensa, L. (2015). Trisomy 8, a cytogenetic abnormality in myelodysplastic syndromes, is constitutional or not?. *PLoS One*, 10(6), e0129375.
- Savlı, H., Eren, S., Üzülmöz, N., Ilkay, Z., Yavuz, D., Sünnetçi, D., ... & Çine, N. (2013). High throughput FISH analysis: a new, sensitive option for evaluation of hematological malignancies. *Turkish Journal of Hematology*, 30(2), 122.

## 7. KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Sekeres, M. A., & Taylor, J. (2022). Diagnosis and treatment of myelodysplastic syndromes: a review. *JAMA*, 328(9), 872-880.
- Toribio Castello, S. M., Castano, S., Villaverde, A., Such, E., Arnan, M., Sole, F., ... & Hernandez Rivas, J. M. (2023). Mutational Profile Enables The Identification Of A High Risk Subgroup In Myelodysplastic Syndromes With Isolated Trisomy 8. *Blood advances*, 2023-01.
- Wang, N., Wang, F., Shan, N., Sui, X., & Xu, H. (2017). IDH1 Mutation Is an Independent Inferior Prognostic Indicator for Patients with Myelodysplastic Syndromes. *Acta Haematol*, 138(3), 143-151. doi:10.1159/000479546
- Weinberg, O. K., Porwit, A., Orazi, A., Hasserjian, R. P., Foucar, K., Duncavage, E. J., & Arber, D. A. (2023). The International Consensus Classification of acute myeloid leukemia. *Virchows Archiv*, 482(1), 27-37.
- Wu, Z., Shama, P., Ho, M. Y., Heaps, L. S., & Wright, D. (2015). FLT3 and NPM1 mutations in acute myeloid leukemia (AML) with double trisomy of chromosomes 8 and 21. *Pathology*, 47 doi:10.1097/01.Pat.0000461575.28276.93
- Xu, F., Wu, L. Y., He, Q., Wu, D., Zhang, Z., Song, L. X., ... Li, X. (2017). Exploration of the role of gene mutations in myelodysplastic syndromes through a sequencing design involving a small number of target genes. *Sci Rep*, 7, 43113. doi:10.1038/srep43113
- Zhou, K. G., Jiang, L. J., Shang, Z., Wang, J., Huang, L., & Zhou, J. F. (2012). Potential application of IDH1 and IDH2 mutations as prognostic indicators in non-promyelocytic acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Leuk Lymphoma*, 53(12), 2423-2429. doi:10.3109/10428194.2012.695359

