

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KOMPLEKS, MONOZOMAL VE NORMAL KARYOTİPE
SAHİP AKUT MYELOİD LÖSEMİLİ OLGULARIN KEMİK
İLİĞİ MATERYALLERİNDE 17P13.1 (TP53)
DELESYONUNUN FLORESAN İN SİTU HİBRİDİZASYON
(FISH) YÖNTEMİYLE İNCELENMESİ**

GAMZE TÜFEKÇİ

**DANIŞMAN
PROF. DR. SENİHA HACIHANEFİOĞLU**

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2016

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

KOMPLEKS, MONOZOMAL VE NORMAL KARYOTİPE
SAHİP AKUT MYELOİD LÖSEMİLİ OLGULARIN KEMİK
İLİĞİ MATERYALLERİNDE 17P13.1 (TP53)
DELESYONUNUN FLORESAN İN SİTU HİBRİDİZASYON
(FISH) YÖNTEMİYLE İNCELENMESİ

GAMZE TÜFEKÇİ

DANIŞMAN
PROF. DR. SENİHA HACIHANEFİOĞLU
DR. ŞÜKRİYE YILMAZ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2016

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Biyoloji Programında Yüksek Lisans öğrencisi Gamze TÜFEKÇİ tarafından Prof.Dr.Seniha HACIHANEFİOĞLU'nun danışmanlığında hazırlanan "Kompleks, Monozomal ve Normal Karyotipe Sahip Akut Myeloid Lösemili Olguların Kemik İliği Materyallerinde 17p13.1 (TP53) Delesyonunun Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemiyle İncelenmesi." başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 27/17/2017 tarihinde saat 13:00 'de yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof.Dr.Seniha HACIHANEFİOĞLU (Danışman)
İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji A.D

Jüri

Prof.Dr.Ayhan DEVİREN
İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji A.D

Jüri

Prof.Dr.Aynur ACAR
Bilim Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi

Jüri

Doç.Dr.Yelda TARKAN ARGÜDEN
İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji A.D

Jüri

Doç.Dr.Şeniz Ö.AYDIN
İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları A.D

BEYAN

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

Gamze TÜFEKÇİ

(İmza)



İTHAF



Canım Aileme İthaf Ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle her konuda yardımcı olup bana yol gösteren, çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Seniha Hacıhanefioğlu'na,

Eğitimimde büyük emeği olan ve verdiği bilgilerle yolumu aydınlatan değerli hocam Prof. Dr. Ayhan Deviren'e,

Tezimin yazım aşamasında ve hastalarla ilgili bilgilere ulaşmamda yardımını esirgemeyen Doç. Dr. M. Cem Ar'a,

Sitogenetik laboratuvarına adımımı attığım ilk günden bu yana hem eğitimimde hem de tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimleri ile her zaman yardımcı olan Dr. Şükriye Yılmaz, Dr. Dilhan Kuru, Dr. Ayşe Çırakoğlu ve Doç. Dr. Yelda Tarkan Argüden'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşlarım Msc. Başak Aslaneli Çakmak, Msc. Seda Öden, Msc. Sezen Atasoy, Selin Coşkun, Bengisu Gökkaya ve Melis Erdoğan'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sitogenetik ailesine,

Her anımda yanımda olan, her konuda desteklerini esirgemeyen, sevinçlerimi de üzüntülerimi de birlikte paylaştığım canım dostlarım Msc. Kübra Tombultürk, Msc. Sinem Şeker Şimşek ve Esin Kurt'a,

Hayatım boyunca her koşulda yanımda olan, benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan canım annem Esen Nurten Tüfekçi'ye, attığım her adımda aldığım her kararda yanımda olan, moral kaynaklarım canım kardeşlerim Özge Tüfekçi ve Özlem Tüfekçi'ye, şu anda aramızda olmasa da manevi olarak her zaman yanımda olduğuna inandığım, bu günlere gelmemde büyük emeği olan çok kıymetli babam Selahattin Tüfekçi'ye

Sonsuz teşekkürler.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39218

İÇİNDEKİLER

| | |
|---------------------------------------|------|
| TEZ ONAYI | İİ |
| BEYAN..... | İİİ |
| İTHAF..... | İV |
| TEŞEKKÜR..... | V |
| İÇİNDEKİLER | VI |
| TABLolar LİSTESİ..... | Vİİ |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | İX |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ | X |
| ÖZET | Xİİ |
| ABSTRACT..... | Xİİİ |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1. Hematopoiez | 4 |
| 2.2. Lösemi..... | 5 |
| 2.3. Akut Miyeloid Lösemi (AML) | 5 |
| 2.3.1. Etiyolojisi | 6 |
| 2.3.2. AML Sınıflandırması | 8 |
| 2.3.2.1. FAB Sınıflandırması | 8 |
| 2.3.2.2. WHO Sınıflandırması..... | 12 |
| 2.3.3. AML’de Klinik | 22 |
| 2.3.4. Prognoz | 24 |
| 2.3.5. Tedavi..... | 26 |
| 2.3.6. AML ve Sitogenetik..... | 27 |
| 2.3.6.1. Kompleks Karyotip | 29 |
| 2.3.6.2. Monozomal Karyotip | 32 |
| 2.3.6.3. Normal Karyotip | 33 |
| 2.3.7. TP53 Geni | 35 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 40 |
| 3.1. Gereç..... | 40 |
| 3.1.1. Çalışma Grubu | 40 |

| | |
|---|----|
| 3.1.2. Kullanılan Gereçler | 40 |
| 3.1.3. Kullanılan Cam Malzemeler | 41 |
| 3.1.4. Kullanılan Kimyasallar | 42 |
| 3.1.5. Kullanılan FISH probu | 42 |
| 3.1.6. Kullanılan Solüsyonlar | 43 |
| 3.1.6.1. Periferik Lenfosit Kültürü İçin Kullanılan Solüsyonlar | 43 |
| 3.1.6.2. FISH Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar | 43 |
| 3.2. Yöntem | 45 |
| 3.2.1. Periferik Lenfosit Kültürü | 45 |
| 3.2.2. FISH Yöntemi | 45 |
| 3.2.2.1. Preparatların Hazırlanması | 45 |
| 3.2.2.2. Hibridizasyon Öncesi İşlemler | 46 |
| 3.2.2.3. Probun Hazırlanması | 48 |
| 3.2.2.4. Prob ve Preparatın Birleştirilmesi | 48 |
| 3.2.2.5. Denatürasyon | 48 |
| 3.2.2.6. Hibridizasyon | 48 |
| 3.2.2.7. Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar | 48 |
| 3.2.2.8. Boyama | 49 |
| 3.2.2.9. Analiz | 49 |
| 3.2.2.10. İstatistiksel Analiz | 50 |
| 4. BULGULAR | 51 |
| 4.1. Olguların Karyotip ve FISH Değerlendirmeleri | 60 |
| 5. TARTIŞMA | 77 |
| KAYNAKLAR | 85 |
| FORMLAR | 94 |
| ETİK KURUL KARARI | 97 |
| ÖZGEÇMİŞ | 98 |

TABLULAR LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Tablo 2-1:AML için risk oluşturan faktörler | 6 |
| Tablo 2-2: FAB Sınıflandırması | 8 |
| Tablo 2-3: AML'de WHO Sınıflandırması | 13 |
| Tablo 2-4: AML'de sıklıkla görülen semptom ve laboratuvar bulguları | 24 |
| Tablo 2-5: AML'de iyi prognostik faktörler | 25 |
| Tablo 2-6: AML'de kötü prognostik faktörler | 25 |
| Tablo 2-7: Sitogenetik anomalilere göre AML'de risk grupları | 29 |
| Tablo 2-8: Normal karyotipli AML'de görülen moleküler değişiklikler | 34 |
| Tablo 4-1: Olgulara ait genel bilgiler | 52 |
| Tablo 4-2: Olgulara ait klinik bilgiler..... | 53 |
| Tablo 4-3: Olgulara ait konvansiyonel sitogenetik analiz sonuçları..... | 55 |
| Tablo 4-4: 40 Olgunun kompleks, monozomal ve normal karyotipe göre dağılımları .. | 57 |
| Tablo 4-5: Olguların FISH analiz sonuçları | 58 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2-1:Hematopoiez | 4 |
| Şekil 2-2: t(8;21)(q22;q22) | 14 |
| Şekil 2-3:inv(16)(p13.1q22) ve t(16;16)(p13.1;q22)..... | 15 |
| Şekil 2-4: t(15;17)(q24;q21) | 16 |
| Şekil 2-5: t(9;11)(p21;q23) | 16 |
| Şekil 2-6: t(6;9)(p22;q34) | 17 |
| Şekil 2-7: inv(3)(q21q26) ve t(3;3)(q21;q26)..... | 18 |
| Şekil 2-8: t(1;22)(p13;q13) | 18 |
| Şekil 2-9: Kompleks karyotipli AML'de sıklıkla görülen kazanımlar ve kayıplar..... | 30 |
| Şekil 2-10: TP53 geninin 17. kromozom üzerindeki yerinin şematik görüntüsü | 36 |
| Şekil 3-1: TP53 delesyon probunun şematik görüntüsü | 49 |
| Şekil 3-2: TP53 delesyon probunun interfaz nukleuslarındaki şematik görünümü..... | 50 |
| Şekil 4-1: Olgu 31'e ait FISH görüntüsü..... | 71 |
| Şekil 4-2: Olgu 38'e ait FISH görüntüsü..... | 72 |
| Şekil 4-3: Olgu 35'e ait monozomi 17'yi gösteren FISH görüntüsü..... | 73 |
| Şekil 4-4: Olgu 37'ye ait metafaz görüntüsü..... | 74 |
| Şekil 4-5: Olgu 37'ye ait karyotip görüntüsü..... | 74 |
| Şekil 4-6: Olgu 17'ye ait metafaz gözrüntüsü..... | 75 |
| Şekil 4-7: Olgu 17'ye ait karyotip görüntüsü..... | 75 |
| Şekil 4-8: Olgu 38' e ait metafaz görüntüsü..... | 76 |
| Şekil 4-9: Olgu 38'e ait karyotip görüntüsü..... | 76 |

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABL: Akut Bazofilik Lösemi

AMKL: Akut Megakaryoblastik Lösemi

AML: Akut Miyeloid Lösemi

APL: Akut Promiyelositik Lösemi

ATO: Arsenik Trioksit

ATRA: All Trans Retinoik Asit

BFU: Burst (Patlama) Oluşturan Birim

BPDCN: Blastik Plazmasitoid Dendritik Hücre Neoplazmları

CALGB: Cancer And Leukemia Grup B

CEBPA: CCAAT/Enhancer bağlayıcı protein α

CFU: Koloni Oluşturan Birim

CFU-GEMM: Granülosit, Eritrosit, Monosit/Makrofaj, Megakaryosit Koloni Oluşturan Birim

CFU-L: Lenfoid Koloni Oluşturan Birim

DAPI: 4,6-Diamino-2-Fenil-İndol

DİK: Dissemine İnvasküler Koagülasyon - Yaygın Damar içi pıhtılaşma

FAB: Fransız Amerikan İngiliz Sınıflandırması

FISH: Floresan İn Situ Hibridizasyon

FITC: Fluorescein İsothiocyanate

FLT3 ITD: FMS-ilişkili tirozin kinaz 3 internal tandem duplikasyonu

GPA: Glikoforin A

ISCN: International System for Human Cytogenetic Nomenclature

MDS: Miyelodisplastik Sendrom

MNS: Mutlak Nötrofil Sayısı

MPN: Miyeloproliferatif Neoplazm

MPO: Miyeloperoksidaz

MRC: Medical Research Council

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

NPM1: Nükleofosmin

NSE: Nonspesifik Esteraz

PAS: Periyodik Asit Shift

RAEB-T: Transformasyon Halinde Aşırı Blastlı Refrakter Anemi

RAR α : Retinoik Asit Reseptör α

SWOG: Southwest Oncology Group

T-AML: Tedaviyle İlişkili AML

TP53: Tümör Protein 53

TxRed: Teksas Red

WHO: Dünya Sağlık Örgütü



ÖZET

Tüfekçi, G. (2016). Kompleks, Monozomal Ve Normal Karyotipe Sahip Akut Myeloid Lösemili Olguların Kemik İliği Materyallerinde 17p13.1 (TP53) Delesyonunun Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemiyle İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Akut miyeloid lösemi (AML) klinik, morfolojik, immünofenotipik ve sitogenetik özellikler bakımından hematopoietik sistemin heterojen bir hastalığıdır. AML'nin prognozu hem hastaya özgü faktörlerden hem de hastalığa özgü faktörlerden etkilenmektedir. Yaş hastaya özgü risk faktörlerinden en önemlisiyken, kromozom anomalileri hastalığa özgü en önemli risk faktörüdür.

Hastalar sahip oldukları sitogenetik anomaliye göre düşük, orta ve yüksek risk grubu içerisinde değerlendirilirler. Düşük risk grubundaki hastalar sadece standart kemoterapi alırlarken orta ve yüksek risk grubundaki hastalar hematopoietik kök hücre transplantasyonu için potansiyel adaydırlar. Kompleks ve monozomal karyotipli hastalar yüksek risk grubunda yer alırken normal karyotipli hastalar orta risk grubu içerisindeyler. Kompleks karyotip uzun süre kötü risk faktörü olarak kabul edilse de monozomal karyotipe sahip AML hastalarının prognozu, kompleks karyotipe sahip AML hastalarına göre daha kötüdür.

Yapılan çalışmalarda kompleks karyotipli AML hastalarının büyük çoğunluğunun TP53 geninin delesyonuna sahip olduğu gösterilmiştir ve bu delesyona sahip hastaların tam remisyon oranlarının önemli derecede düşük olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde monozomal karyotipli hastalarda da TP53 delesyonu görülmektedir.

Bizim çalışmamızda da Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD Sitogenetik Laboratuvarında, konvansiyonel sitogenetik yöntemiyle karyotip analizi yapılmış 40 AML hastasının kemik iliği aspirasyonuna ait kültür materyallerine 17p13.1'de lokalize olan TP53 geninin kaybını incelemek amacıyla floresan in situ hibridizasyon tekniği uygulandı. Yapılan FISH analizi sonucunda kompleks ve monozomal karyotipli olguların büyük çoğunluğunda TP53 delesyonu görüldü. Ayrıca TP53 kaybı görülen olguların tam remisyon oranlarında da düşüklük saptandı. Yaptığımız çalışma, kompleks, monozomal ve normal karyotiplere sahip olgularda konvansiyonel sitogenetik analizin yanı sıra TP53 geninin FISH ile analizinin yapılmasının, kemoterapiye verilecek yanıtı ön görebilme ve uygulanacak tedaviyi belirleyebilme açısından önem taşıdığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler :AML, Sitogenetik, Monozomal Karyotip, TP53, FISH

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39218

ABSTRACT

Tüfekçi, G. (2016). Examination of 17p13.1 (TP53) Deletion By Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Method In The Bone Marrow Materials Of Acute Myeloid Leukemia Patients With Complex, Monosomal And Normal Karyotypes. İstanbul University, Institute of Health Science, Department Of Medical Biology. Master's Thesis. İstanbul.

Acute Myeloid Leukemia (AML) is a heterogenous disorder of the hematopoietic system with regard to clinical, morphological, immunophenotypic and cytogenetic features. Prognosis of AML is affected by patient specific factors as well as disease specific factors. While age is the most important patient specific risk factor, chromosome abnormalities are the most important disease specific risk factors. Patients are classified into three risk groups according to the cytogenetic abnormalities: favorable, intermediate and unfavorable. While patients in the favorable risk group receive only standard chemotherapy, patients in the intermediate and unfavorable risk group are potential candidate for hematopoietic stem cell transplantation. Patients with complex karyotype and monosomal karyotype are considered in the unfavorable risk group, while patients with normal karyotype are evaluated in the intermediate risk group. Complex karyotype for a long time recognized as poor risk factor, but prognoses of patients with monosomal karyotype are worse than patients with complex karyotypes. In the previous studies, it has been shown that the majority of AML patients with complex karyotype carried TP53 deletion and complete remission rate in these patients was significantly lower. Similarly, TP53 deletion has been seen in the patients with monosomal karyotype. In our study, culture materials of 40 AML patients' bone marrow samples that had been examined with conventional cytogenetics method at Cerrahpaşa Faculty of Medicine cytogenetics laboratory, tested with fluorescence in situ hybridization (FISH) method for TP53 deletions. At the results of FISH analyzes, TP53 deletion was shown in the majority of patients with complex karyotype and monosomal karyotype. Furthermore, patients with TP53 deletion had low complete remission rates. This study suggest that, analyzing patients with these karyotypes by FISH for the TP53 deletion as well as conventional karyotyping, is important for predicting response to chemotherapy and choosing treatment strategy.

Key Words: AML, Cytogenetics, Monosomal Karyotype, TP53, FISH

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 39218

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut Miyeloid Lösemi (AML) klinik, morfolojik, immünofenotipik ve sitogenetik özellikler bakımından hematopoietik sistemin heterojen bir hastalığıdır ve kemik iliğinde immatür miyeloid blastların aşırı birikimi ile karakterizedir (Walkwer ve ark. 2012). AML her yaşta görülebilmekle birlikte 65 yaş üzeri hastalarda daha sık gözlenmektedir (Ferrara ve ark. 2013).

AML için farklı sınıflandırmalar yapılmıştır. İlk yapılan sınıflandırma 1976 yılında Fransız, Amerikalı ve İngiliz bilim adamları tarafından oluşturulan ve 1985 yılında tekrar gözden geçirilen FAB (French-American-British) sınıflandırmasıdır. FAB sınıflandırmasına göre AML, morfolojik, immünofenotipik ve sitokimyasal özellikler bakımından M0'dan M7'ye kadar gruplandırılmıştır (Heim ve ark. 2009; Morrissette ve Bagg 2011).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ise AML alt tiplerini morfolojik, immünofenotipik, genetik ve klinik özelliklere göre sınıflandırmıştır (Neaim ve ark. 2008; Heim ve ark. 2009).

Sitogenetik anomaliler yetişkin AML hastalarının yaklaşık %55'inde gözlenmektedir. (Yang ve ark. 2012). Sitogenetik anomalilere göre AML; düşük risk, orta risk ve yüksek risk olmak üzere 3 grupta kategorize edilmiştir (Marchesi ve ark. 2011). Düşük risk grubunda gözlenen sitogenetik anomaliler $t(15;17)(q24;q21)$, $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)$; orta risk grubunda gözlenen sitogenetik anomaliler $t(9;11)(p21;q23)$, $-Y$, $+8$, normal karyotip; yüksek risk grubunda gözlenen sitogenetik anomaliler ise $inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26)$, $-5/del(5q)/add(5q)$, $-7/del(7q)/add(7q)$, 11q23 bölgesini içeren translokasyonlar [$t(9;11)(p21;q23)$ dışında], $-17/17p$ anomalileri ve kompleks karyotiplerdir (Morrissette ve Bagg 2011).

Üç veya daha fazla kromozom anomalisine sahip kompleks karyotipli AML'ler, yetişkin AML'lerin %10 ile %15'ini oluşturur ve sıklığı yaşla birlikte artar. Yoğun veya yoğun olmayan konvansiyonel terapiyle tedavi edildiğinde olumlu sonuç alınmadığı için yüksek risk grubu içerisindedirler (Rucker ve ark. 2012).

İlk defa Breems ve arkadaşları tarafından tanımlanan monozomal karyotip; en az iki otozomal monozomi veya en az bir yapısal kromozom anomalisiyle birlikte tek bir

otozomal monozomi içeren karyotip olarak adlandırılmaktadır (Breems ve ark. 2008). Monozomal karyotip kötü pronozla ilişkilidir (Chin ve ark. 2013).

Monozomal karyotipin AML'de görülme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır, 30 yaşın altındaki hastalarda %4, 60 yaşın altındaki hastalarda %6-10, 60 yaşın üstündeki hastalarda ise %13-20'dir. (Chin ve ark. 2013).

Yapılan çalışmalarda monozomal karyotipe sahip AML hastalarının tam remisyon oranı düşük olduğu ve %10'dan daha az sağ kalım oranına sahip olduğu belirtilmiştir (Yang ve ark. 2012).

Kompleks karyotip uzun süre kötü risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Ancak yapılan çalışmalarda; monozomal karyotipe sahip AML hastalarının prognozunun, kompleks karyotipe sahip AML hastalarına göre daha kötü olduğu gösterilmiştir (Wawrzyniak ve ark. 2013).

Kanser hücrelerinde, 17p13.1'de lokalize olan TP53 genindeki delesyonlar; mutasyonların sıklığının artışı, kromozom anomalileri, gen amplifikasyonu ve sentrozom replikasyonunun düzenlenmesinin bozulmasına neden olabilir (Tavor ve ark. 2011). TP53 yolağının fonksiyon bozukluğu kromozom instabilitesinin artmasına katkıda bulunarak kompleks veya monozomal karyotipin ortaya çıkışını kolaylaştırır (Gaillard ve ark. 2012).

TP53 genindeki mutasyonlar kanserlerin hemen hemen her tipinde meydana gelmektedir ve frekansı %10 (hematolojik malignitelerde) ile %96 (yüksek dereceli over seröz karsinomlarda) arasında değişkenlik gösterir. Yapılan çalışmalarda TP53 mutasyonlarının büyük çoğunluğunun missense nokta mutasyonu olduğu ve proteinin DNA'ya bağlanma bölgesini etkilediğini göstermiştir (Çefle 2003; Walerych ve ark. 2015).

TP53 genindeki mutasyonlar AML hastalarının %10'undan daha azında görülürken, 17. kromozomun kaybı ve TP53 genindeki delesyon/mutasyonu kapsayan TP53 değişiklikleri kompleks karyotipli AML hastalarında oldukça sık görülmektedir. Tavor ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada kompleks karyotipli AML hastalarının %75'inde TP53 delesyonu görülmüştür (Tavor ve ark. 2011).

Gaillard ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada; monozomal karyotipli AML hastalarının %53.6'sında TP53 delesyonu görülürken, monozomal olmayan kötü prognozlu hastalarda bu oran %5,9'dur (Gaillard ve ark. 2012).

Normal karyotipe sahip olgularda ise TP53 kaybı görülmemektedir (Tavor ve ark. 2011).

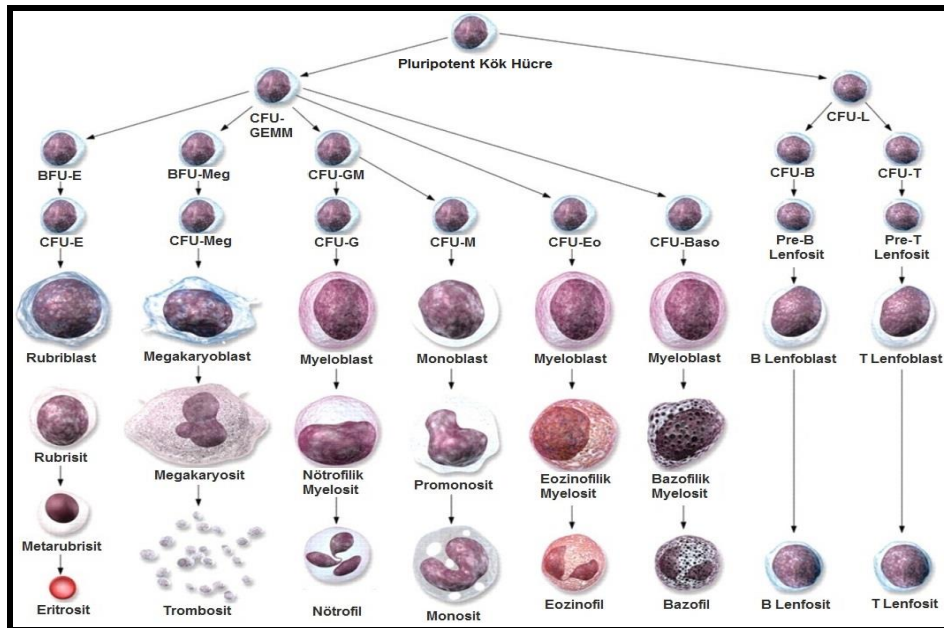
TP53 geninde meydana gelen değişiklikler sonucunda, bu gende görülen fonksiyon kaybının, kemoterapiye yanıtla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Rucker ve ark. yaptığı çalışmada TP53 değişikliklerinin, AML'de bir tedavi seçeneği olan 3+7 temelli indüksiyon kemoterapisine dirençle ve kısa sağkalım süresiyle ilişkili olduğunu göstermişlerdir (Rucker ve ark. 2012).

Bu bilgilerden yola çıkarak, çalışmamızda Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hematoloji Anabilim Dalı'nda AML tanısı almış olup; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD Sitogenetik Laboratuvarında, konvansiyonel sitogenetik yöntemiyle karyotip analizi yapılmış 40 hastanın kemik iliği materyalleri, 17p13.1'de lokalize olan TP53 geninin delesyonunun varlığını saptamak amacıyla FISH yöntemiyle analiz edilmiştir. Bu yöntem ile, kompleks, monozomal ve normal karyotipe sahip AML'li olgularda konvansiyonel sitogenetiğin yanısıra TP53 geninin delesyonunun incelenmesi ve bu bölgenin kaybının tedavi ve prognoz üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hematopoiez

Hematopoiez kan oluşumuna verilen addır. Eski yunancada kan anlamına gelen haima ile yapmak anlamına gelen poiein fiilinin bir araya gelmesiyle oluşmuştur (Kern 2005). Sağlıklı insanlarda kan hücrelerinin sayıları belli sınırlar içerisinde. Ömürleri sınırlı olan bu hücrelerin bir yandan da sürekli olarak üretilmeleri gereklidir. Kan hücrelerinin sayılarının fazla, ancak ömürlerinin sınırlı olmasına karşılık onları üreten kök hücrelerinin sayıları azdır ve çok yönlü özellikleri vardır (Pekçelen ve ark. 2003). Tüm kan hücreleri pluripotent hematopoietik kök hücrelerden kökenlenir. Bu kök hücreler tüm olgun kan hücrelerini oluşturacak kapasiteye sahiptirler ve kendilerini yenileyebilme özellikleri vardır. Pluripotent hematopoietik kök hücrelerden yönlendirilmiş progenitör hücreler meydana gelir. Birden çok aşamalı olan bu süreçte hücreler giderek bir hücre dizisine doğru yönelir (Şekil 2-1). Bu yönelmiş progenitör hücrelere CFU (colony forming unit - koloni oluşturan birim) veya BFU [burst (patlama) forming unit] adı verilir. İlk farklılaşma ise CFU-GEMM (GEMM= granülosit, eritrosit, monosit/makrofaj, megakaryosit)'ye veya CFU-L (L= lenfoid)'ye olur. Her yönelmiş progenitör hücreden binlerce olgun kan hücresi meydana gelir (Kern 2005).



Şekil 2-1:Hematopoiez (Travlos 2006)

2.2. Lösemi

Lösemiler, hematopoietik hücrelerin habis transformasyonu sonucu gelişen, neoplastik bir hastalık grubudur. Lösemi hücrelerinin kemik iliğini istila etmesi sonucu normal kan hücrelerinin üretimi engellenir. Buna bağlı olarak gelişen anemi, infeksiyon ve kanamalar hastalığın ana belirtilerini oluştururlar. Hastalık morfolojik olarak hastalığa tutulan hücre dizisinin tipine göre; miyeloid veya lenfoid olarak sınıflandırılırken, sağkalım ve hücrelerin olgunlaşma özellikleri esas alınarak akut ya da kronik olarak sınıflandırılır. Akut lösemiler tedavi edilmediği takdirde sağkalım süresi haftalar veya birkaç ayla sınırlı olan hastalıklar olarak tanımlanırken, kronik lösemilerde sağkalım süresi yıllarla ölçülebilmektedir. Ayrıca akut lösemilerde ön planda immatür (öncül) hücreler-blastlar görülürken kronik lösemilerde ön planda olgun hücreler görülür. Hastalığın lenfoid-miyeloid ayrımı ise hematopoietik kök hücrenin farklılaşmaya başladığı ilk basamak ile ilişkilidir. Kök hücre, lenfoid koloni yapan üniteye (CFU-L) farklılaşırsa lenfoid; granülosit, eritrosit, megakaryosit, makrofaj yapan üniteye (CFU-GEMM) farklılaşırsa miyeloid dizi oluşur. Bu nedenle CFU-L'den kökenlenen malignitelere lenfoid, CFU-GEMM'den kökenlenen malignitelere de miyeloid adı verilir. Bu şekilde lösemileri 4 gruba ayırmak mümkündür (Pekçelen ve ark. 2003; Kern 2005):

1. Akut miyeloid lösemi (AML)
2. Akut lenfoid lösemi (ALL)
3. Kronik miyeloid lösemi (KML)
4. Kronik lenfoid lösemi (KLL)

2.3. Akut Miyeloid Lösemi (AML)

Akut miyeloid lösemi (AML); hematopoietik sistemin heterojen bir hastalığıdır (Walker ve ark. 2012). Kemik iliğinde immatür miyeloid blastların aşırı birikimi AML'nin dikkat çekici patolojik özelliğidir (Heim ve ark. 2009). AML için kullanılan diğer isimlendirmeler ise akut non-lenfoid lösemi, akut granülositik lösemi, akut miyelositer lösemi ve akut miyeloblastik lösemidir (www.cancer.org). AML 65 yaş üzeri hastalarda daha sık görülmekle birlikte tüm yaşlarda da oluşabilmektedir (Ferrara ve Schiffer 2013). İnsidansı yılda yaklaşık olarak 3,4/100.000'dir (Morrisette ve Bagg 2011). Erkeklerde kadınlara göre biraz daha sık görülür (Heim ve Mitelman 2009).

2.3.1. Etiyolojisi

Çeşitli risk faktörleri AML gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Yaş, daha önce geçirilen hematolojik hastalıklar, genetik hastalıklar, virusler, radyasyon ve kimyasallara maruziyet, mesleki riskler ve kemoterapi geçmişi bu riskler arasında yer almaktadır (Deschler ve Lübbert 2006; Neaim ve ark. 2008) (Tablo 2-1).

Tablo 2-1:AML İçin Risk Oluşturan Faktörler (Kaushansky ve ark. 2010)

| |
|--|
| <p><u>Cevresel Faktörler:</u></p> <ul style="list-style-type: none">• Radyasyon• Alkilleyici ajanlar, Topoizomeraz II inhibitörleri ve diğer sitotoksik ilaçlar• Benzen• Sigara <p><u>Edinsel Hastalıklar:</u></p> <ul style="list-style-type: none">• Kronik Miyeloid Lösemi• Primer Miyelofibrozis• Esansiyel Trombositemi• Polistemia Vera• Klonal Sitopeniler• Paroksizmal Nokturnal Hemoglobinüri• Aplastik Anemi• Eozinofilik Fasiitis• Miyeloma• Miyelodisplastik Sendrom (MDS) <p><u>Diğer Hastalıklar:</u></p> <ul style="list-style-type: none">• İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) Enfeksiyonu• Tiroid Hastalıkları• Poliendokrin Hastalıklar |
|--|

Tablo 2-1 Devamı**Kalitsal Faktörler:**

- Ailede AML Öyküsü
- Ailevi Trombosit Hastalığı (FPD)
- Ataksi Telenjektazi
- Bloom Sendromu
- Diamond-Blackfan Sendromu
- Diskeratozis Konjenita
- Down Sendromu
- Dubowitz Sendromu
- Fankoni Anemisi
- Klinefelter Sendromu
- Konjenital Amegakaryositik Trombositopeni
- Kostman Sendromu
- Naxos Sendromu
- Nörofibromatozis Tip I
- Noonan Sendromu
- Poland Sendromu
- Schwachman – Diamond sendromu
- Seckel Sendromu
- Willms Tümörü
- Wolf Hirschhorn Sendromu

2.3.2. AML Sınıflandırması

2.3.2.1. FAB Sınıflandırması

AML için ilk yapılan sınıflandırma 1976 yılında bir grup Fransız, Amerikalı ve İngiliz bilim adamı tarafından oluşturulan ve 1985 yılında tekrar gözden geçirilen FAB sınıflandırmasıdır (Tablo 2-2). FAB sınıflandırması morfolojik, sitokimyasal ve immünofenotipik özelliklere göre yapılmıştır (Heim ve Mitelman 2009). Bu sınıflandırmaya göre AML tanısı için kemik iliğindeki hücrelerin en az %30'unun blastlardan oluşması gerekmektedir (Hasserjian 2013).

Tablo 2-2: FAB Sınıflandırması (Heim ve Mitelman 2009)

| |
|--|
| M0 – Minimal Farklılaşmış AML |
| M1 – Olgunlaşma Göstermeyen AML |
| M2 – Olgunlaşma Gösteren AML |
| M3 – Akut Promiyelositik Lösemi (APL) |
| <ul style="list-style-type: none"> • Hipergranüler varyant • Hipogranüler varyant (M3v) |
| M4 – Akut Miyelomonositik Lösemi |
| <ul style="list-style-type: none"> • M4Eo – Eozinofili ile birlikte görülen Akut Miyelomonositik Lösemi |
| M5a – Akut Monoblastik Lösemi |
| M5b – Akut Monositik Lösemi |
| M6 – Akut Eritroid Lösemi |
| <ul style="list-style-type: none"> • M6a – Eritrolösemi • M6b – Saf Eritroid Lösemi |
| M7 – Akut Megakaryoblastik Lösemi |

M0 – Minimal Farklılaşmış AML: Işık mikroskopunda miyeloid farklılaşmanın hiç bir morfolojik ve sitokimyasal bulgusuna rastlanılmayan AML olarak tanımlanır. Bu grupta miyeloid soy immünofenotipik çalışmalar ile gösterilir. Blastlar MPO

(miyeloperoksidaz), Sudan Black B gibi özel sitokimyasal boyalara reaksiyon vermezler (blastların %3'ünden azı pozitif boyama gösterir). İmmünofenotiplenmede CD13, CD33, CD34 ve HLA-DR pozitifdir. Auer cisimleri (Auer rods) gözükmez. Anormal ve kötü karyotipler ile çoklu ilaç direnci glikoproteininin (p170) yüksek ekspresyonu sıklıkla görülür. AML'nin bu tipi kötü prognostik grupta yer alır (Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

M1 – Olgunlaşma Göstermeyen AML: Belirgin miyeloid olgunlaşması olmayan akut lösemi olarak tanımlanır. AML M1 tüm AML'lerin %10-15'ini oluşturur, çocuklarda çok nadir görülür. Kemik iliğindeki blastların sayısı %90'ın üzerindedir. Blast hücrelerinin %3'ünden fazlası MPO ve Sudan Black B pozitifdir. Miyeloblastlar azurofilik sitoplazmik granüllere sahiptir. İmmünofenotiplenmede CD13, CD33, CD34 ve HLA-DR pozitifdir. Auer cisimleri nadir olarak görülebilir. Prognozu kötüdür (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

M2 – Olgunlaşma Gösteren AML: AML M2 tüm AML'lerin %30-40'ını oluşturur. Hem çocuklarda hem de yetişkinlerde görülür. Kan veya kemik iliğinde %20'den fazla blast hücrelerinin bulunmasıyla ve granülositik olgunlaşma bulgusuyla karakterizedir. Blast olmayan granülositik hücreler kemik iliği hücrelerinin %10'undan fazla, monositik hücreler ise %20'sinden azdır. Miyeloblastlar MPO ve Sudan Black B boyamaya pozitif reaksiyon verir. Miyeloblastlar geniştir, sıklıkla girintili nukleusa sahiptir ve bazofilik sitoplazmalıdır. Auer cisimleri sıklıkla bulunur. Promiyelositler, miyelositler, metamiyelositler ve segmentli nötrofiller görülür. İmmünofenotiplendirmede CD13, CD33, CD34 ve HLA-DR ekspresyonu pozitifdir. AML M2 vakalarının yaklaşık %40'ında t(8;21)(q22;q22) görülür. t(8;21)(q22;q22) görülen yetişkin hastalar iyi prognoza sahipken, çocuklar ve yanısıra başka kromozom aberasyonları olan hastalar kötü prognoz sergilerler (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

M3 – Akut Promiyelositik Lösemi (APL): Tüm AML'lerin %5-10'unu oluşturur. AML M3, AML'nin t(15;17) ve retinoik asit reseptör α (RAR α) genini içeren diğer

translokasyonlarla ilişkili bir alt tipidir. Kemik iliğinde promiyelositlerin bulunmasıyla karakterizedir. Promiyelositler kemik iliği hücrelerinin %30'undan fazlasını oluşturur. İmmünofenotiplendirmede CD13, CD33 ve CD15 pozitifliği görülürken, HLA-DR ve CD14 sıklıkla negatiftir. Promiyelositler kuvvetli MPO ve Sudan Black B pozitifliği gösterir. AML M3'de en sık görülen translokasyon PML-RAR α füzyonuyla sonuçlanan t(15;17)(q22;q21)'dir. Bununla birlikte PLZF-RAR α füzyonuyla sonuçlanan t(11;17)(q23;q21), NuMA-RAR α füzyonuyla sonuçlanan t(11;17)(q13;q21) ve NPM-RAR α füzyonuyla sonuçlanan t(5;17)(q35;q21) de AML M3 vakalarında görülür. AML M3, başlıca genç yetişkin ve orta yaşlı hastalarda görülür. Klinik belirtileri sitopeni ve lösemik promiyelositlerin granüllerinden salınan prokoagülan maddelerin neden olduğu yaygın damar içi pıhtılaşmadır (dissemine intravasküler koagülasyon - DİK). AML M3 olguları ATRA (all-trans retinoik asit) tedavisine olumlu yanıt verir. AML M3'ün hipergranüler ve hipogranüler olmak üzere iki varyantı tanımlanmıştır (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

- **Hipergranüler Varyant:** AML M3 olgularının %75-80'ini oluşturur. Promiyelositler azurofilik granüllü sitoplazmaya sahiptir. Auer cisimleri sıklıkla bulunur ve bazı hücrelerde demetler şeklinde görülür (fagot hücreleri). Nükleus yuvarlak, düzensiz ve katlanmış şeklide olabilir (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).
- **Hipogranüler Varyant (M3v):** AML M3 olgularının %20-25'ini oluşturur. Promiyelositlerin sitoplazmalarında seyrek azurofilik granül bulunur. Auer cisimleri ve fagot hücreleri görülebilir ancak hipergranüler varyanttaki gibi sık değildir. Nükleus genellikle iki lobludur (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

M4 – Akut Miyelomonositik Lösemi: Bütün AML olgularının %15-20'sini oluşturur. Kemik iliğinde %30'dan fazla miyeloblast görülmesinin yanında %20'den fazla monoblast veya promonosit görülür. Kemik iliğinde immatür miyelomonositik hücre sayısı artmıştır. Auer cisimleri görülebilir. İmmünofenotiplemede CD13, CD14, CD33, ve HLA-DR pozitifdir. Blastlar Sudan Black B, MPO ve NSE (nonspesifik esteraz) ile pozitif reaksiyon verirler. AML'nin bu alt tipinde ekstramedullar lösemik infiltrasyon görülür (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

- **M4Eo:** AML M4'ün varyantı olan M4Eo'da miyelomonositik hücrelerin yanısıra anormal eozinofiller görülür. Eozinofiller anormal büyüklüktedir ve geniş bazofilik granüller içerirler. CFB β -MYH11 füzyonuyla sonuçlanan inv(16)(p13;q22) veya t(16;16)(p13;q22) M4Eo varyantında sıklıkla görülür (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

M5a – Akut Monoblastik Lösemi ve M5b – Akut Monositik Lösemi: Tüm AML'lerin %3-6'sını oluşturur. Akut monoblastik ve akut monositik lösemide monoblast, promonosit ve monositler lösemik hücrelerin %80'inden fazladır. Monoblastlar lösemik hücrelerin %80'inden fazlasını oluşturuyor ise Akut Monoblastik Lösemi (M5a), promonosit ve monositler %80'den fazla ise Akut Monositik Lösemi (M5b) olarak adlandırılır. İmmünotiplemde CD4, CD11c, CD14, CD15, CD36, CD64 ve HLA-DR pozitif, CD34 genellikle negatiftir. Auer cisimleri nadir olarak görülür. Tipik olarak lizozim ve NSE ile reaksiyon pozitifken, MPO'ya reaksiyon negatiftir. Klinik belirtileri kanama bozuklukları, ekstrapredüler tutulum, merkezi sinir sistemi tutulumu ve hepatosplenomegalidir. Trizomi 8 ve 11q23'ü içeren translokasyonlar sıklıkla görülmekle birlikte bu anomaliler M5a'da M5b'ye göre daha sıktır (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

M6 – Akut Eritroid Lösemi: AML'lerin %5'ini oluşturur. Kemik iliğindeki hücrelerin yarısından fazlasını eritroid öncülerin oluşturduğu lösemidir. Ortalama görülme yaşı 57'dir. Kendi içinde Eritrolösemi (M6a) ve Saf Eritroid Lösemi (M6b) olmak üzere ikiye ayrılır. Eritroid lösemide (M6a) kemik iliğindeki hücrelerin en az yarısı eritroid kökenlidir ve eritroid olmayan hücrelerin %20'sinden fazlası miyeloblastlardır. Saf eritroid lösemide (M6b) kemik iliğindeki hücrelerin %80'inden fazlası eritroid öncüleridir. Bu hücreler baskın olarak eritroblastlardır. Saf eritroid lösemi nadir görülür. İmmünotiplemde eritroid öncülerini GPA (glikoforin a), hemoglobin A ve CD71 için pozitif, HLA-DR ve CD34 için negatiftir. Eritrolösemideki miyeloblastlarda ise CD13, CD33, CD34, CD117 ve HLA-DR için pozitifdir. Akut eritroid lösemi histokimyasal boyamalarda MPO, Sudan Black B ve NSE negatif, PAS (periyodik asid shift) genellikle pozitifdir. 5. ve 7. kromozomların kısmi kaybı veya monozomisi akut

eritroid lösemide en sık görülen anomalilerdir. Ayrıca kompleks kromozom anomalileride görülebilir (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

M7 – Akut Megakaryoblastik Lösemi: AML'lerin %3-5'ini oluşturur. Megakaryoblastlar kemik iliğindeki toplam blast hücrelerinin %50'sinden fazladır. Megakaryoblastlar sıklıkla sitoplazmik kabarcıklara veya psödopodlara sahiptir ve kümeleşmiş şekilde görünebilirler. İmmünofenotiplemede CD41 (GP IIb/IIIa), CD42 (GPIb), CD61 (GPIIIa), CD36 ve faktör VIII pozitifdir. Histokimyasal olarak MPO ve Sudan Black B negatifken PAS ve NSE pozitifdir. AML M7, 1 ile 3 yaş arası çocuklar ve yetişkinlerde görülür. AML M7 görülen çocukların önemli bir kısmı ise Down Sendromludur. Trizomi 21, t(1;22)(p13;q13) ve kompleks kromozom anomalileri AML M7 de görülen anomalilerdir. AML'nin bu alt tipi kötü prognostik grupta yer alır (Arber 2001; Neaim ve ark. 2009; Kaushansky ve ark. 2010).

2.3.2.2. WHO Sınıflandırması

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2001 yılında oluşturulan ve 2008 yılında güncellenen sınıflandırmadır (Tablo 2-3). Bu sınıflandırma morfolojik, sitokimyasal, immünofenotipik, klinik ve genetik özelliklere dayanarak yapılmıştır. WHO ve FAB sınıflandırması arasındaki en önemli fark ise kemik iliğindeki blast oranıdır. FAB sınıflandırmasında lösemi tanımı için kullanılan kemik iliğindeki blast oranı %30 iken, WHO sınıflandırmasında bu oran %20'ye indirilmiştir. FAB sınıflandırmasında kemik iliğindeki blast sayısı %20-30 arasında olan olgular MDS (RAEB-T) olarak adlandırılırken WHO sınıflandırmasında bu olgular AML tanısı almaktadır (Kern 2005; Vardiman ve ark. 2009; Heim ve Mitelman 2009; Morrissette ve Bagg 2011).

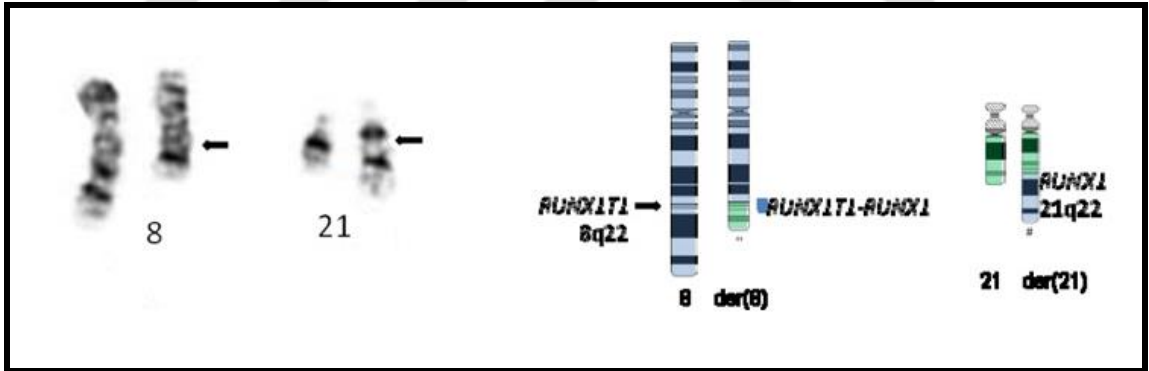
Tablo 2-3: AML'de WHO Sınıflandırması (Vardiman ve ark. 2009)

| |
|---|
| <p>Tekrarlayan Genetik Anomalilerle Seyreden AML</p> <ul style="list-style-type: none"> • t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 • inv(16)(p13.1q22) veya t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11 • t(15;17)(q22;q21); PML-RARA • t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL • t(6;9)(p22;q34); DEK-NUP214 • inv(3)(q21q26.2) veya t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1 • t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1 • NPM1 mutasyonlu AML • CEBPA mutasyonlu AML <p>Miyelodisplazi İle İlişkili Değişikliklerle Seyreden AML</p> <p>Tedaviyle İlişkili Miyeloid Neoplaziler</p> <p>Tanımlanan Gruplara Girmeyen AML</p> <ul style="list-style-type: none"> • Minimal Farklılaşmış AML • Olgunlaşma Göstermeyen AML • Olgunlaşma Gösteren AML • Akut Miyelomonositik Lösemi • Akut Monoblastik/ Monositik Lösemi • Akut Eritroid Lösemi <ul style="list-style-type: none"> ➤ Eritrolösemi ➤ Saf Eritroid Lösemi • Akut Megakaryoblastik Lösemi • Akut Bazofilik Lösemi • Miyelofibrozu Akut Panmiyeloz <p>Miyeloid Sarkom</p> <p>Down Sendromu İlişkili Miyeloid Proliferasyonlar</p> <ul style="list-style-type: none"> • Geçici Anormal Miyelopoez • Down Sendromu ilişkili Miyeloid Lösemi <p>Blastik Plazmasitoid Dentritik Hücre Neoplazmaları</p> |
|---|

Tekrarlayan Genetik Anomalilerle Seyreden AML

- **t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1:**

Tüm AML'lerin %5-7'sinde görülür. 21. kromozomun uzun kolundaki RUNX1 (AML1) geni ile 8. kromozomun uzun kolundaki RUNX1T1 (ETO) geninin füzyonuyla sonuçlanır (Şekil 2-2). Bu füzyon sonucunda oluşan RUNX1-RUNX1T1 (AML1-ETO) kimerik ürünü, transkripsiyonel repressör gibi rol oynar ve hematopoiezin normal işleyişini bloke eder. t(8;21) iyi prognozla ilişkilidir ve bu anomaliye sahip olguların yüksek doz sitarabin temelli postremisyon tedavisi sonrası uzun süreli sağ kalım ve tam remisyon oranları yüksektir. Cinsiyet kromozomunun kaybı (kadınlarda X, erkeklerde Y), 9. kromozomun uzun kolunun delesyonu ve trizomi 8, t(8;21)'e sahip olgularda sıklıkla görülen sekonder anomalilerdir. Nadir olarak t(8;21)'e sahip olguların kemik iliği veya kandaki blast sayısı %20'nin altında görülebilir (Neaim ve ark. 2008; Heim ve Mitelman 2009; Marchesi ve ark. 2011; Morrissette ve Bagg 2011).

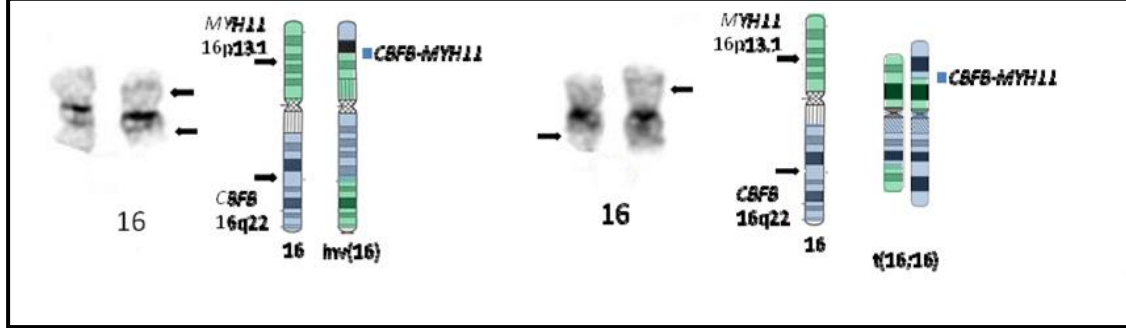


Şekil 2-2: t(8;21)(q22;q22) (Morrissette ve Bagg 2011)

- **inv(16)(p13.1q22) veya t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11:**

Tüm AML'lerin yaklaşık %10'unu oluşturur. 16q22'de bulunan CBFβ geni ile 16p13'de bulunan MYH11 geninin füzyonuyla sonuçlanır (Şekil 2-3). inv(16), t(16;16)'ya göre daha sık görülür. inv(16)/t(16;16) sıklıkla FAB M4 alt tipi ile ilişkilidir. Kemik iliğinde atipik eozinofillerin varlığıyla karakterizedir. inv(16)/t(16;16) görülen olgular iyi prognoza sahiptir ve tam remisyon oranı yüksektir. inv(16)/t(16;16)'ya sahip olgularda, trizomi 8, trizomi 21, trizomi 22 ve 7q delesyonu

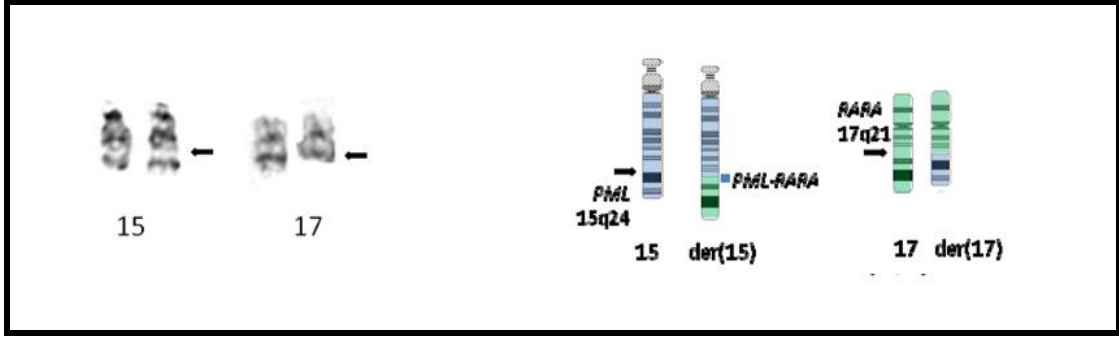
sıklıkla görülen sekonder anomalilerdir (Neaim ve ark. 2008; Heim ve Mitelman 2009; Marchesi ve ark. 2011; Morrissette ve Bagg 2011).



Şekil 2-3: Sol tarafta $inv(16)(p13.1q22)$, sağ tarafta $t(16;16)(p13.1;q22)$ (Morrissette ve Bagg 2011)

- **$t(15;17)(q22;q21)$; PML-RARA:**

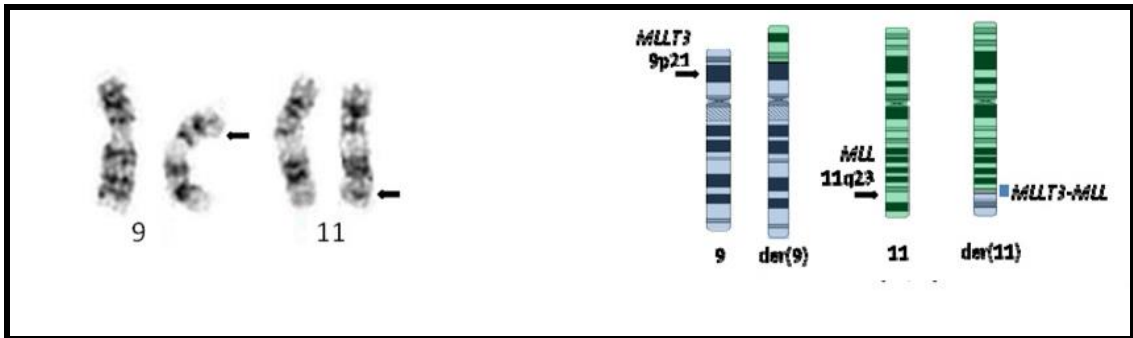
Tüm AML'lerin %5-10'unu oluşturur ve vakaların %75'inde tek anomali olarak görülür. FAB sınıflandırmasında AML M3 (Akut Promiyelositik Lösemi- APL) alt tipi olarak sınıflandırılır. 15q22'de bulunan PML ile 17q21'de bulunan RARA geninin füzyonuyla sonuçlanır (Şekil 2-4). $t(15;17)$ 'ye sahip olgularda, PML-RARA onkoproteinini hedefleyen ATRA tedavisine yanıt olumludur. APL vakalarının %95'inde PML-RARA füzyon geni görülürken, geri kalan %5'inde ise RARA genini içeren varyant yeniden düzenlenmeler görülür. $t(5;17)(q35;q21)$, $t(11;17)(q13;q21)$ ve $t(11;17)(q23;q21)$ APL vakalarında görülen varyant yeniden düzenlenmelerdir. Bu translokasyonlara sahip APL olgularında klinik tipik APL'ye benzerlik göstermez ve tedavileri ATRA ve arsenik trioksida direnç göstermeleri nedeniyle APL dışı AML'ler gibidir (Rassi ve Arellano 2013). Trizomi 8, 7q delesyonu, 9q delesyonu ve $ider(17)(q10)$, $t(15;17)$ 'ye sahip APL vakalarında sıklıkla görülen sekonder anomalilerdir (Neaim ve ark. 2008; Heim ve Mitelman 2009; Morrissette ve Bagg 2011; Cornell ve Palmer 2012).



Şekil 2-4: $t(15;17)(q24;q21)$ (Morrissette ve Bagg 2011)

- **$t(9;11)(p22;q23)$; MLLT3-MLL:**

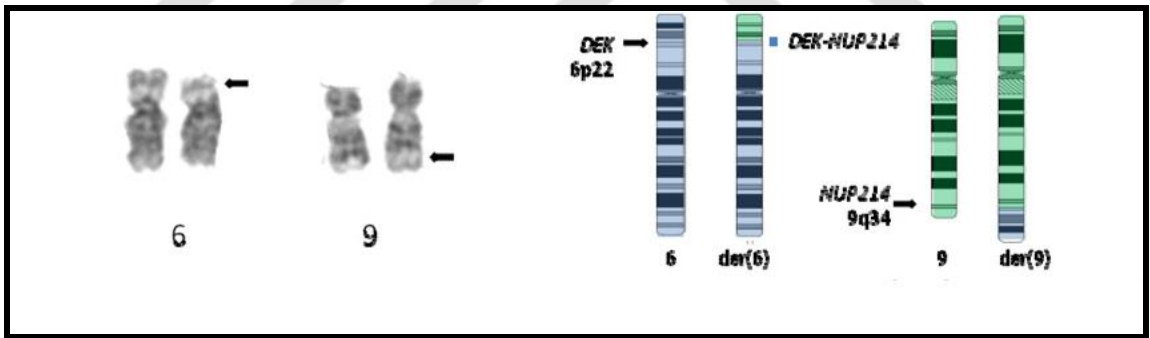
$t(9;11)(p22;q23)$ 11q23 aberasyonlarına sahip AML vakalarında en sık görülen translokasyondur. 11q23 aberasyonuna sahip AML'lerin %30-40'ını oluşturur. Bu translokasyon 11q23'de yer alan MLL geni ile 9p22'de yer alan MLLT3 geninin füzyonuyla sonuçlanır (Şekil 2-5). MLLT3-MLL füzyon geni hematopoietik progenitör hücrelerinin ölümsüzleşmesine ve monositik farklılaşmanın bloke olmasına neden olur. FAB sınıflandırmasında M5 alt tipi ile ilişkilidir. Yetişkin AML'lere göre pediatrik AML'lerde daha sık görülür. MLL genini etkileyen bir çok translokasyonların aksine, $t(9;11)$ kötü prognozla ilişkili değildir. Trizomi 8, $t(9;11)$ 'li olgularda en sık görülen sekonder anomalidir. Ayrıca trizomi 6, trizomi 19 ve trizomi 20 de bu olgularda görülen sekonder anomalilerdir (Heim ve Mitelman 2009; Marchesi ve ark. 2011; Morrissette ve Bagg 2011).



Şekil 2-5: $t(9;11)(p21;q23)$ (Morrissette ve Bagg 2011)

- **t(6;9)(p22;q34); DEK-NUP214:**

Tüm AML'lerin %0,5-4'ünde görülür. t(6;9), 6p22'de yer alan DEK geni ile 9q34'de yer alan NUP214 geninin füzyonuyla sonuçlanır (Şekil 2-6). NUP214 geni nükleus ve sitoplazma arasında mRNA ve farklı proteinlerin doğru şekilde transferine izin veren nüklear por kompleks proteinini kodlar. Oluşan füzyon gen NUP214'ün aşırı ekspresyonuna neden olarak hücre siklusunu G0 fazında bloke eden çeşitli proteinlerin nüklear transportunda değişiklik meydana getirir ve lökomogeneze yol açar. t(6;9) görülen olgular kötü prognoza sahiptir. Vakaların %80'inde t(6;9) tek anomali olarak gözükürken, trizomi 8, delesyon 12p ve trizomi 13 sıklıkla görülen sekonder anomalilerdir. t(6;9)'lu olguların %70'inden fazlasında FLT3 ITD (FMS-ilişkili tirozin kinaz 3 internal tandem duplikasyonu) mutasyonu saptanır ve bu mutasyonun varlığı kliniğin kötü gidişi ile ilişkilendirilmiştir. t(6;9) başlıca çocuklarda ve genç yetişkinlerde görülür. FAB sınıflandırmasında M2 alt tipi ile ilişkilidir (Heim ve Mitelman 2009; Marchesi ve ark. 2011; Morrissette ve Bagg 2011).

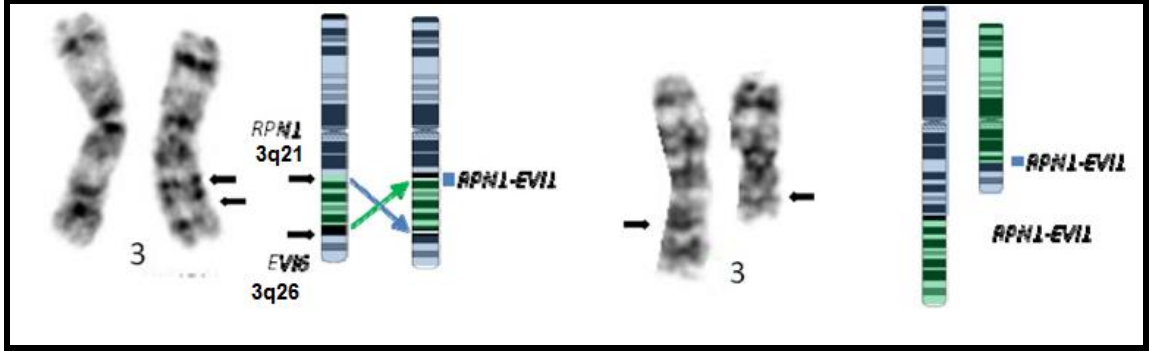


Şekil 2-6: t(6;9)(p22;q34) (Morrissette ve Bagg 2011)

- **inv(3)(q21q26.2) veya t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1:**

inv(3)/t(3;3)'ü içeren 3q yeniden düzenlenmeleri AML vakalarının %1-2'sinde görülür. 3q26 kırılma noktasında EVI1 geni yer alırken 3q21 kırılma noktasında RPN1 geni bulunur (Şekil 2-7). Inv(3)/t(3;3) EVI1 geninin ekspresyonunda bozukluk meydana getirir ve immatür miyeloid hücrelerdeki bu ektopik ekspresyon eritroid ve granülositik gelişime engel olur. inv(3), t(3;3)' e göre iki kat daha sık görülür. inv(3)/t(3;3)'e sahip vakalarda en sık saptanan sekonder anomali monozomi 7'dir ve vakaların yaklaşık %50'sinde görülür. 5q delesyonu, trizomi 8 ve kompleks karyotipler

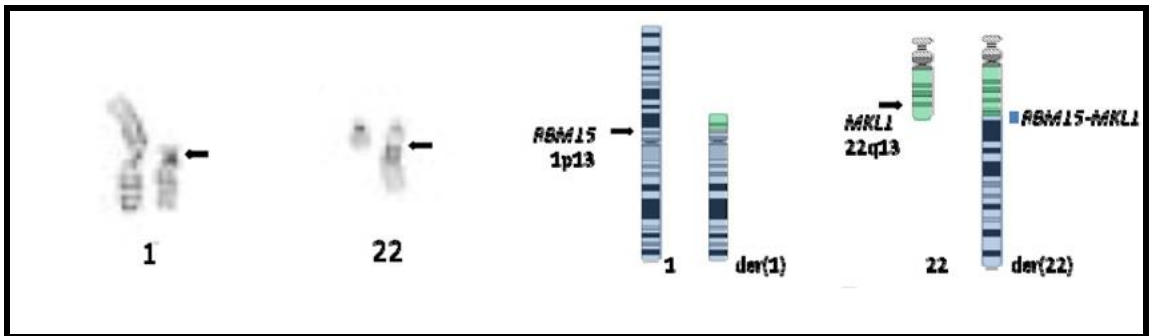
de $inv(3)/t(3;3)$ ile birlikte görülen anomalilerdir. $inv(3)/t(3;3)$ sıklıkla yetişkinlerde görülür ve prognoz kötüdür (Heim ve Mitelman 2009; Marchesi ve ark. 2011; Morrissette ve Bagg 2011).



Şekil 2-7: $inv(3)(q21q26)$ ve $t(3;3)(q21;q26)$ (Morrissette ve Bagg 2011)

- $t(1;22)(p13;q13)$; *RBM15-MKL1*:

AML vakalarının %1'inden azında görülür. 1p13'de yer alan *RBM15* geni ile 22q13'de yer alan *MKL1* geninin füzyonuna neden olur (Şekil 2-8). Sıklıkla infant ve çocuklarda görülür. $t(1;22)$ akut megakaryoblastik lösemi (AMKL) ile ilişkilidir ve pediatrik AMKL'de en sık görülen anomalidir. Vakaların (sıklıkla 6 aylıktan daha küçük çocukların) %60'ında $t(1;22)$ tek anomali olarak görülürken yaşı daha büyük olan çocuklar, $t(1;22)$ ile birlikte hiperdiploid karyotipe sahiptirler. $t(1;22)$ görülen vakaların prognozu orta düzeyde seyrederek (Heim ve Mitelman 2009; Morrissette ve Bagg 2011).



Şekil 2-8: $t(1;22)(p13;q13)$ (Morrissette ve Bagg 2011)

- **NPM1 mutasyonlu AML:**

Nükleolar fosfoproteinini kodlayan NPM1 (Nükleofosmin) geni 5q35'de bulunur. NPM1; ribozom biyogenezi, kromatinin yeniden oluşması (remodelling), DNA tamiri, replikasyon ve transkripsiyonu içeren birçok yolakla ilişkilidir. NPM1'de oluşan mutasyon nükleusa yerleşik olan NPM1 proteininin sitoplazmik dağılımına neden olur. NPM1 mutasyonu AML'de en sık görülen mutasyonlardan biridir. NPM1'in 50'den fazla mutasyonu tanımlanmıştır ve tipik olarak heterozigottur. Yetişkin AML'lerin %30'unda görülürken normal karyotipe sahip AML'lerin %50'sinde NPM1 mutasyonu saptanmaktadır. Bu mutasyon normal karyotipe sahip ve FLT3 ITD mutasyonu görülmeyen vakalarda iyi prognozla ilişkilidir (Morrissette ve Bagg 2011; Cornell ve Palmer 2012; Hasserjian 2013).

- **CEBPA mutasyonlu AML:**

CCAAT/Enhancer bağlayıcı protein α (CEBPA) 19q13'de lokalizedir ve miyeloid farklılaşmasıyla ilişkili transkripsiyon faktörüdür. CEBPA genindeki mutasyonlar granülositik farklılaşma genlerinin aktivasyonunu bloke eder ve olgunlaşmanın duraklamasına yol açar. CEBPA mutasyonu AML vakalarının %5-10'unda görülür ve NPM1 mutasyonuna benzer olarak sıklıkla normal karyotipli vakalarda saptanır. CEBPA mutasyonları özellikle iki allel de mutasyona uğradığında iyi prognozla ilişkilidir. NPM1 ve FLT3 mutasyonları nadir olarak CEBPA mutasyonu ile birlikte görülür (Morrissette ve Bagg 2011; Cornell ve Palmer 2012; Hasserjian 2013).

Miyelodisplazi İle İlişkili Değişikliklerle Seyreden AML:

Blast sayısı %20'den fazla olduğunda ve;

- Miyelodisplastik sendrom (MDS) veya MDS/Miyeloproliferatif neoplazm (MPN) geçmişi,
- MDS ile ilişkili genetik anomaliler,
- Tek dizide displazi ile giden AML'ler, WHO sınıflandırmasında bu kategoriye girerler.

Bu vakalarda tam remisyon oranı düşüktür ve kötü prognoza sahiptirler. Sıklıkla yaşlılarda görülür, pediatrik AML'lerde nadirdir. Miyelodisplazi ilişkili değişikliklerle seyreden AML vakalarının kötü prognoza sahip olmalarının olası bir nedeni displastik blast olmayan hücrelerde ve lösemik blastlarda bulunan çeşitli genetik anomalilerdir. Miyelodisplazi ilişkili değişikliklerle seyreden AML'de sıklıkla görülen kromozom anomalileri monozomi5/5q-, monozomi7/7q-, 3q26 anomalileri ve kompleks karyotiplerdir. MDS veya MDS/MPN geçmişi görülen vakalarda normal karyotip de görülebilmektedir. Genel olarak bu gibi vakalar MDS ile ilişkili sitogenetik anomalileri taşıyan vakalara göre daha iyi prognozla ilişkilidirler. Multileage displaziye sahip AML vakalarının bazılarında ise NPM1, FLT3 veya CEBPA mutasyonları görülebilmektedir (Morrissette ve Bagg 2011; Hasserjian 2013).

Tedaviyle İlişkili Miyeloid Neoplaziler

Tedaviyle ilişkili AML (t-AML) primer kanser tedavisi için kullanılan sitotoksik terapinin ve/veya radyoterapinin bir komplikasyonudur. Miyeloid neoplazmların %10-20'sini oluşturur. AML'nin bu tipi WHO sınıflandırmasında MDS ve MDS/MPN'yi de kapsayan tedaviyle ilişkili neoplazmlar kategorisine dahil edilmiştir. t-AML'nin topoizomeraz II inhibitörleriyle ilişkili ve alkilleyici ajanlar/radyasyon tedavisiyle ilişkili olmak üzere iki alt grubu tanımlanmıştır.

Antrasiklinler, doksorubisin, etoposid, epipodofilotoksin ve teniposid DNA topoizomeraz II'yi hedefleyen major ilaçlar arasındadır. Topoizomeraz II inhibitörleriyle ilişkili AML'de tipik olarak gen yeniden düzenlenmeleri görülür. 11q23/MLL'yi içeren translokasyonlar en sık görülen anomalidir. t(15;17), t(3;21), t(8;21), t(6;9) ve t(8;16) topoizomeraz II inhibitörleriyle ilişkili AML'de görülebilen diğer anomalilerdir. Morfolojik özellikler akut miyelomonositik lösemi veya akut monositik lösemi ile aynıdır.

Melfalan ve klorambusil gibi alkilleyici ajanlarla ilişkili anomaliler, kromozomal delesyonlar ve monozomilerdir. Monozomi 5/5q- ve monozomi 7/7q- en sık görülen anomalilerdir. Bu anomaliler tipik olarak MDS tedavisinden 5-10 yıl sonra görülür ve kompleks karyotiple ilişkili olabilmektedir. Bu hastaların tedaviye yanıtları zayıftır (Neaim ve ark. 2008; Morrissette ve Bagg 2011).

Tanımlanan Gruplara Girmeyen AML:

Bu kategorideki AML'ler morfolojik, immunofenotipik ve sitokimyasal özellikler bakımından sınıflandırılmaktadır. Bu nedenle bu kategori FAB sınıflandırmasındaki M0, M1, M2, M4, M5, M6 ve M7 AML alt tipleri ile Akut Bazofilik Lösemi ve Miyelofibrozu Akut Panmiyelosizi kapsar (Neaim ve ark. 2008).

- **Akut Bazofilik Lösemi:** Tüm AML'lerin %1'inde görülür. Akut bazofilik lösemi (ABL) birçok vakada KML'nin kronik fazından gelişmektedir. Ayrıca hücrelerinde Ph kromozomu içermeyen de novo ABL de oluşabilmektedir. İmmünofenotiplenmede blastlar CD9 ve CD25 pozitifdir. Sitoplazmik bazofilik granüller toludin mavisiyle boyanır. Bütün yaş gruplarında görülebilmektedir. Anemi, ciltte döküntüler ve hepatosplenomegali klinik bulgularıdır. ABL için bilinen spesifik bir kromozom anomalisi tanımlanmamıştır (Neaim ve ark. 2008; Kaushansky ve ark. 2010).
- **Miyelofibrozu Akut Panmiyelosiz:** AML'nin nadir bir alt tipidir. Blast hücrelerinde artış ve özellikle megakaryositler olmak üzere hematopoietik serilerin hepsinde hiperplazi ve displazi görülür (panmiyelopati). Kemik iliğinde fibroz, miyelofibrozu akut panmiyelosizin morfolojik bir özelliğidir. Fibroz sıklıkla kemik iliğinin aspire edilememesine neden olur. İmmünofenotiplenmede CD34, CD13, CD33 ve/veya CD117 ve sitoplazmik MPO pozitifdir. Monozomi 7, 5q delesyonu veya 7q delesyonu en sık görülen kromozom anomalileridir. Ayrıca 11. kromozomun uzun kolunda interstisyel delesyon da görülebilmektedir. Prognozu kötüdür (Neaim ve ark. 2008; Suvajdzic ve ark. 2004).

Miyeloid Sarkom

Miyeloid sarkom, granülositik sarkom veya kloroma olarak da adlandırılır. Bir veya daha fazla miyeloid soya ait blastların ekstramedüler proliferasyonu ile oluşur. Özellikle deri, gastrointestinal sistem, lenf nodları veya kemik başta olmak üzere vücudun herhangi bir bölümü etkilenebilir. Miyeloid sarkom daha önceden veya yakın zamanda AML öyküsü bulunan hastalarda sıklıkla görülür (Vardiman ve ark. 2009).

Down Sendromu İle İlişkili Miyeloid Proliferasyonlar

Down Sendromu ile ilişkili miyeloid proliferasyonlar (geçici anormal miyelopoiez ve miyeloid lösemi) down sendromlu çocukların %10'undan fazlasında görülür. Sıklıkla GATA1 mutasyonu ile ilişkilidir. Bilinen klonal sitogenetik anomali yoktur. Akut megakaryoblastik lösemi (FAB M7) Down Sendromlu çocuklarda en sık görülen AML tipidir (Morrissette ve Bagg 2011).

Blastik Plazmasitoid Dendritik Hücre Neoplazmaları

Plazmositoid dendritik hücrelerin öncülerinden türelenen agresif bir hematolojik malignitedir. Nadir görülür. Blastik NK hücre lenfoması/lösemisi veya agranüler CD4+ CD56+ hematodermik neoplazm olarak da adlandırılır. Blastik Plazmasitoid Dendritik Hücre Neoplazmaları (BPDCN) tanısı histolojik, immünokimyasal ve flow sitometri yöntemleri ile konulur. Morfolojik olarak neoplastik hücreler orta büyüklüktedir ve immatür blastik görünüme sahiptir. Blastlar CD4, CD11a, CD43, CD56, CD123, BDCA-2, TCL1 ve CLA ekspresyonlarıyla karakterizedir. BPDCN vakalarında tek veya çoklu deri lezyonları görülür ve sıklıkla bölgesel lenfadenopatiyle ilişkilidir. Birçok vakada kemik iliği ve perifer kana yayılım da görülebilmektedir (Vardiman ve ark. 2009; Paluri ve ark. 2014).

2.3.3. AML'de Klinik

Hastalarda kemik iliği yetersizliği semptomları (halsizlik, solukluk, çabuk yorulma, kanama vb.) ve lösemik hücrelerin organ infiltrasyonu semptomları ayrı ayrı veya birarada görülebilir. Bazı hastalarda akut semptomlar birkaç gün ile 1-2 hafta arasında ortaya çıkarken bazı hastalarda aylar boyunca sürebilen uzun bir seyir görülür (Redner 2005; Golub ve Arceci 2006). Sitopeniler AML'nin klinik bir belirtisi olup, teşhis sırasında sıklıkla bulunan ve tedavi boyunca baskın olan, anemi, nötropeni ve trombositopeni semptomlarını gösterir (Ferrara ve Schiffer 2013). Aneminin en sık görülen belirtisi halsizliktir. Nötropeni yanında bazı vakalarda artmış lökosit sayısı görülür. Hastalarda genellikle ateş şikayeti mevcuttur. Diş eti kanamaları ve ekimozlarda sıklıkla rastlanılan bulgulardır (Redner 2005; Golub ve Arceci 2006). Trombositopeniye bağlı olarak hastalarda peteşi, mukozal kanamalar, kolay morarmalar

veya epistaksis görülebilir (Ferrara ve Schiffer 2013). Kanamalar, trombositopeni veya yaygın damar içi pıhtılaşmaya (DIK) bağlıdır. Merkezi sinir sistemi (MSS), akciğer, gastrointestinal sistem hayati kanama bölgeleridir (Redner 2005; Golub ve Arceci 2006; Ferrara ve Schiffer 2013). Nadir olarak vakalarda mediastinal lenfadenopatiye bağlı solunum yetersizliği, vena cava superior sendromu görülebilir. Batın kitleleri gastrointestinal trakus ve ürogenital sistemde basılara neden olabilir. Ekstramedüller tutulum olarak genellikle granülositik sarkom, cilt infiltrasyonu, gingiva hipertrofisi ve lenfadenopati görülebilir (Anak ve Uysalol 2012). Granülositik sarkom ya da kloroma olarak adlandırılan miyeloid sarkomlar ve MSS tutulumu akut monositik lösemi veya akut miyelomonositik lösemide görülür. Hepatosplenomegali ve adenopati AML'de nadirdir ve önceden geçirilen MDS veya MPN ile ilişkilidir (Cornell ve Palmer 2012). Yüksek tümör yükü olan hastalarda kemik ağrıları görülebilir (Redner 2005; Golub ve Arceci 2006). Akut monoblastik lösemide gingiva hiperplazisi ve MSS tutulumu sıktır. Yaygın damar içi pıhtılaşma (DIK) ve kanama tüm AML'lerde oluşabileceği gibi özellikle M3, M4 ve M5 alt tiplerinde daha sıktır. Lökosit sayısı $200.000/mm^3$ 'den fazla olduğunda hastalarda lösemik blastlar damar içinde kümelenebilir. Kılcal damarlar tıkanarak hipoksi, infeksiyon ve kanamalara yol açabilir. Lökostasis denilen bu durum en çok akciğerler ve MSS'de görülür. AML M5 alt tipinde monositler daha büyük olduğundan lökosit sayısı $100.000/mm^3$ 'den fazla olduğunda lökostasis riski vardır. Lökosit sayısı yüksek olduğunda tümör lizis sendromu da görülebilmektedir. Tümör lizis sendromu hiperürisemi, hiperkalemi, hipokalsemi, hiperfosfatemi ve böbrek yetmezliğiyle karakterizedir. Mutlak nötrofil sayısı (MNS) $1.000/mm^3$ 'den az olan durumlarda ise ateş ve bakteriyemi sıklığı yüksektir (Anak ve Uysalol 2012). AML'de sıklıkla görülen semptom ve laboratuvar bulguları Tablo 2-4'de verilmiştir.

Tablo 2-4: AML'de sıklıkla görülen semptom ve laboratuvar bulguları (Anak ve Uysalol 2012)

| Bulgu | Sıklık(%) |
|--|-----------|
| Ateş | 30 |
| Kanama | 33 |
| Kemik ve eklem ağrısı | 18 |
| Splenomegali | 16-18 |
| Hepatomegali | 19-21 |
| Kloroma | 2-16 |
| MSS tutulumu | 6-25 |
| Lökosit sayısı < 25.000/mm ³ | 54-60 |
| Lökosit sayısı > 100.000/mm ³ | 13-18 |
| Hemoglobin < 9 gr/dL | 56 |
| Trombosit sayısı < 100.000/mm ³ | 70-72 |
| Koagülopati | 13-17 |

2.3.4. Prognoz

AML'nin prognozu hastalığa özgü faktörlerin yanı sıra hastaya özgü faktörlerden de etkilenmektedir. Yaş, hastaya özgü risk faktörlerinden en önemlisi iken kromozomal aberasyonlar hastalığa özgü en etkili risk faktörüdür. Sitogenetik olarak normal karyotipe sahip hastalar için NPM1, FLT3 ve CEBPA genlerindeki mutasyonlar prognoz açısından önemlidir (Liersch ve ark. 2014). Prognozu etkileyen diğer faktörler arasında beyaz kan hücrelerinin (WBC) sayısı, daha önce geçirilen hematolojik hastalıklar, performans durumu, çoklu ilaç direnci (MDR1) fenotipi sayılabilmektedir (Cornell ve Palmer 2012). AML'de prognostik faktörler Tablo 2-5 ve Tablo 2-6'da verilmiştir.

Tablo 2-5: AML'de iyi prognostik faktörler (Kaushansky ve ark. 2010)

| |
|---|
| t(8;21), t(15;17), inv(16), t(16;16), trizomi 21 varlığı |
| Remisyon indüksiyon tedavisinde blastların kaybolması |
| Sitogenetik olarak normal hastalarda CEBPA ve NPM1 mutasyonları |
| Aşırı dismiyelopoiez olmaması |
| Yüksek telomeraz aktivitesi |
| Flow sitometri ile TdT ekspresyonunun düşük bulunması (< %5) |
| Yüksek BAX ekspresyonu |
| Yüksek CD11b ekspresyonu |
| Blast hücrelerinde VLA-4 ekspresyonunun yokluğu |
| Yüksek kaspaz-3 düzeyi |
| WBC sayısının < 30.000 |

Tablo 2-6: AML'de kötü prognostik faktörler (Kaushansky ve ark. 2010)

| |
|--|
| İleri yaş; 60 yaşın üzerinde remisyonla girme ve sağ kalım oranı düşüktür. |
| Kompleks karyotipler, abn(3q) (t(3;5), inv(3)/ t(3;3) hariç), add(5q), del(5q), -5, -7, add(7q), del(7q), trizomi 8, t(6;9), trizomi 11, 11q23 anomalileri (t(9;11) ve t(11;19) hariç), t(9;22), -17, abn(17p) |
| Çoklu ilaç direnci (MDR1) fenotipi |
| Karnofsky performans durumu < %60 |
| KIT mutasyonu |
| FLT/ITD mutasyonu |
| WT1 mutasyonu |
| MLL tandem duplikasyonları |
| Yüksek BAALC ekspresyonu |
| Önceden geçirilen hematolojik hastalıklar (MDS,MPN) |

Tablo 2-6 Devam

| |
|--|
| Diğer hastalıklar: obezite, diabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı |
| Yüksek BCL-2 ekspresyonu |
| Yüksek MCL-1 ekspresyonu |
| Düşük retinoblastoma geni ekspresyonu |
| GATA-1 ekspresyonu |
| Yüksek CD34, CD56 ekspresyonu |
| P15 metilasyonu |
| Mikrosatellit instabilitesi |
| Yüksek WBC sayısı (> 30.000) |
| Düşük trombosit sayısı (< 30.000) |
| Yüksek WAF/Cip 1 protein düzeyi |
| Yüksek EVI1 ekspresyonu |
| Trombopoetin reseptör (c-MPL) mRNA ekspresyonu |

2.3.5. Tedavi

AML'nin tedavisi, indüksiyon tedavisi ve remisyon sonrası tedavi olmak üzere iki aşamalıdır. İndüksiyon tedavisinin amacı lösemik hücreleri saptanmayacak düzeye indirmektir. İndüksiyon tedavisinde başarılı olduğunda remisyonu korumak için konsolidasyon tedavisi uygulanır. 60 yaş altı hastalarda standart tedavi 3+7 adı verilen kemoterapidir. Bu tedavide hastalara 7 gün boyunca 100-200 mg/m² sitarabin sürekli infüzyonu ve 3 gün antraksilin (doksorubisin, daunorubisin veya idarubisin) uygulanır. Bu şekilde tam remisyonun sağlanması amaçlanır. Tam remisyon kemik iliğindeki blast sayısının %5'den az, nötrofil sayısının 1000 mm³'den fazla, trombosit sayısının 100.000 mm³'den fazla olması ve ekstrapedüler hastalık olmaması olarak tanımlanır. 3+7 tedavisiyle 60 yaş altı AML hastalarının %55-80'inde tam remisyon sağlanırken 60 yaş üstü hastaların %35-55'inde tam remisyon elde edilebilmektedir (Cornell ve Palmer 2012). AML hastalarında ilk indüksiyon tedavisiyle tam remisyon sağlanamadığı zaman hastalara ikinci kez aynı indüksiyon tedavisi uygulanır. İndüksiyon tedavisi ile tam

remisyon geç sağlanan hastalarda hastalısız sağ kalım süresi ve tam remisyon oranı daha düşük olmaktadır (Cömert 2011). Tam remisyon sağlanan hastalara konsolidasyon tedavisi uygulanır. Kemoterapi, olog kemik iliği nakli veya allojenik kemik iliği nakli konsolidasyon tedavisi seçenekleridir (Cornell ve Palmer 2012). Tam remisyon sonrası tedavi planı prognostik faktörlere göre yapılır ve hastanın sitogenetik durumu en önemli prognostik faktördür (Cömert 2011). En sık uygulanan konsolidasyon kemoterapisi yüksek doz sitarabindir. 3 g/m² 12 saatte bir 6 doz olmak üzere 1. 3. ve 5. günler 3-4 siklus uygulanır (Cornell ve Palmer 2012). İyi risk grubundaki AML hastalarında olog veya allojenik kök hücre naklinin kemoterapiye üstünlüğü yoktur (Cömert 2011). Orta risk veya kötü risk grubundaki AML hastaları için önerilen tedavi, HLA uyumlu kardeş yada akraba olmayan donörden allojenik kök hücre naklidir. HLA uyumlu donör bulunamadığında ise hastalara olog kök hücre nakli önerilir (Cornell ve Palmer 2012). AML hastalarının %70-80'inde tedavi ile tam remisyon elde edilebilmektedir. Ancak uygun tedavilerin uygulanmasına rağmen hastaların yaklaşık %50'sinde nüks meydana gelir. AML hastalarında görülen nüksler genellikle ilk iki yıl içerisinde oluşmaktadır. Çeşitli tedavi uygulamaları ile nüks gelişen hastaların yaklaşık %50'sinde tam remisyon sağlanabilmektedir (Cömert 2011).

60 yaş üzeri AML hastalarına komorbidite, sitogenetik, yaş ve performans gibi parametrelere göre 3+7 veya 2+5 tedavisi, 5-azacytidine, decitabin, subkutan sitarabin, clofarabin gibi farklı seçenekler uygulanabilir (Cömert 2011).

APL (AML M3) hastalarının sitarabin ve antrasiklin tedavisine ATRA ilave edilir. Daunorubisin, sitarabin ve ATRA kullanımı ile hastaların %80-95'inde tam remisyon sağlanır. Son zamanlarda ATRA ve ATO (arsenik tiroksid) kullanılan tedaviler de değerlendirilmekte ve umut verici sonuçlar elde edilmektedir (Cornell ve Palmer 2012). Konsolidasyon tedavisinde ise ATRA'nın da dahil olduğu farklı kombine kemoterapi tedavileri uygulanmaktadır (Cömert 2011).

2.3.6. AML ve Sitogenetik

Sitogenetik anomaliler AML hastalarının %50-60'ında görülmektedir (Marchesi ve ark. 2011). Bazı kromozom aberasyonları AML'de tekrarlayan anomalilerdir ve FAB sınıflandırmasındaki AML alt tipleriyle ilişkilidir. t(15;17) AML M3 alt tipiyle, inv (16)/t(16;16) AML M4Eo alt tipiyle, t(8;21) AML M2 alt tipiyle ve 11q23 yeniden

düzenlenmeleri AML M5 alt tipiyle yakından ilişkilidir. Aynı zamanda bu anomaliler WHO sınıflandırmasında tekrarlayan sitogenetik anomalilerle ilişkili AML alt grubu içerisinde de yer almaktadır (Klaus ve ark. 2004).

1982 yılında sitogenetik anomalilerin yoğun kemoterapi sonrası AML hastalarının durumunu belirleyen lösemiyle ilişkili en önemli risk faktörü olduğu belirtilmiştir (Liersch ve ark. 2014). Günümüzde de sitogenetik analiz AML hastalarının durumlarının değerlendirilmesinde çok önemli prognostik faktördür. Hastalar içerdikleri sitogenetik anomaliye göre düşük, orta ve yüksek risk grubu olmak üzere üç kategoriye ayrılırlar (Tablo 2-7) (Marchesi ve ark. 2011). t(15;17), t(8;21), inv(16), t(16;16) anomalilerine sahip AML hastaları düşük risk grubunda değerlendirilirken (Cornell ve Palmer 2012; Liersch ve ark. 2014); t(9;11), trizomi 8, -Y ve normal karyotipe sahip AML hastaları ise genellikle orta risk grubunda yer alırlar (Marchesi ve ark. 2011). 3q anomalileri (t(3;5) hariç), inv(3), t(3;3), 5q anomalileri, del(5q), -5, -7,7q anomalileri, del(7q), 11q23 anomalileri (t(9;11) hariç), -17, 17p anomalileri ve kompleks karyotipler ise yüksek risk grubunda değerlendirilirler (Cornell ve Palmer 2012; Liersch ve ark. 2014). Bu risk grupları hastaların indüksiyon kemoterapisine yanıtı, relaps riski ve sağ kalımı hakkında öngörüle bulunmaya yardımcı olur (Cornell ve Palmer 2012). İki önemli klinik çalışma grubu CALGB (cancer and leukemia grup b) ve MRC (medical research council), içerdği sitogenetik anomalilere göre düşük, orta ve yüksek risk grubundaki AML hastalarının sağ kalım oranları arasında fark olduğunu göstermiştir. Byrd ve arkadaşlarının 15-86 yaş arası 1213 AML hastasıyla yaptıkları geniş retrospektif çalışmadaki sonuçlarına göre düşük, orta ve yüksek risk grubundaki AML hastalarının sağ kalım oranları sırasıyla %55, %24 ve %5'tir. Benzer sonuçlar Grimwade ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmayla da elde edilmiştir. Bu çalışmaya göre ortalama yaşı 35 olan 1612 AML hastasının 5 yıllık sağ kalım oranının inv(16)'ya sahip hastalarda %61, normal karyotipli hastalarda %42, kompleks karyotipe sahip hastalarda ise %4 olduğu gösterilmiştir (Grimwade ve ark. 1998; Byrd ve ark. 2002; Marchesi ve ark. 2011).

Tablo 2-7: Sitogenetik anomalilere göre AML'de risk grupları

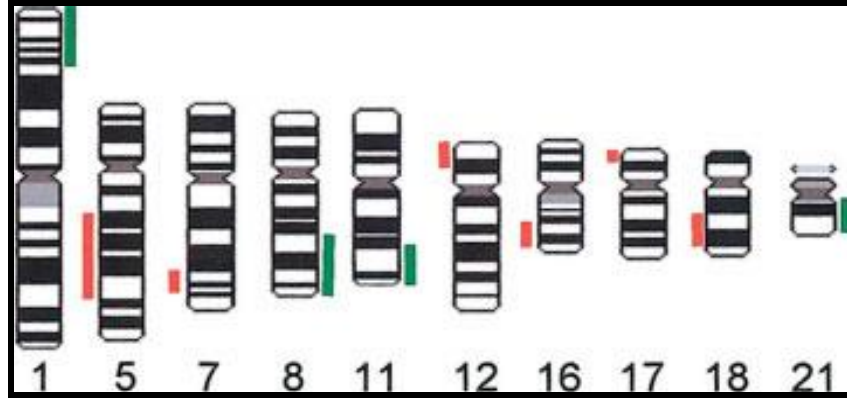
| | |
|--------------------|---|
| Düşük Risk | t(15;17)(q24;q21) t(8;21)(q22;q22) inv(16)(p13.1q22) / t(16;16)(p13.1;q22) |
| Orta Risk | t(9;11)(p21;q23) -Y +8 Normal Karyotip |
| Yüksek Risk | 3q anomalileri (t(3;5) hariç), inv(3)(q21q26) / t(3;3)(q21;q26) 5q anomalileri, del(5q), -5, 7q anomalileri, del(7q), -7 11q23 anomalileri (t(9;11) hariç) -17, 17p anomalileri Kompleks karyotipler |

2.3.6.1. Kompleks Karyotip

Bazı AML vakalarının karyotiplerinde birden fazla sitogenetik anomali görülebilir. Bu karyotiplere kompleks karyotip adı verilmektedir (Orozco ve Appelbaum 2012). Kompleks karyotip, inv(16)/t(16;16), t(8;21), t(15;17) ve t(9;11) haricinde üç veya daha fazla sitogenetik anomalinin bulunması şeklinde tanımlanır (Marchesi ve ark. 2011). Eğer kompleks karyotip inv(16) veya t(8;21) gibi iyi risk grubundaki anomalilerden birini içeriyorsa, sadece iyi risk grubundaki anomaliyi taşıyan hastaya göre sağkalım ve tam remisyon oranı daha düşüktür. Ancak bu hastaların prognozu orta veya kötü risk grubundaki hastalara göre daha iyidir. Bu nedenle inv(16) veya t(8;21) gibi anomaliye sahip kompleks karyotipli vakalar iyi risk grubu içinde değerlendirilir ve birçok çalışma içinde kompleks olarak dikkate alınmamaktadır. SWOG ve CALGB'ye göre 3 veya daha fazla anomali görülen karyotipler kompleks karyotip olarak tanımlanırken MRC'ye göre 4 veya daha fazla

anomali görülen karyotipler kompleks karyotip olarak adlandırılır (Orozco ve Appelbaum 2012).

Kompleks karyotipli AML hastalarında birçok değişik anomali gözlenmiştir ve bu anomaliler farklı sıklıklarda oluşmaktadır. Genetik materyalin kazanımına veya kaybına neden olan dengesiz değişiklikler, dengeli kromozom aberasyonlarına göre, sayısal anomaliler yapısal anomalilere göre daha sık görülürken; genetik materyalin kaybı kromozom kazanımlarına göre daha sık meydana gelmektedir. Kompleks karyotipte kromozom sayısı tipik olarak hipodiploiddir (kromozom sayısı ≤ 45). Hastaların %55-75'inde hipodiploid karyotip görülür. Yaklaşık %25'inde ise hiperdiploid karyotip görülmektedir (kromozom sayısı ≥ 47) (Mrózek 2008). Son zamanlarda uygulanan moleküler sitogenetik teknikler kompleks genetik değişikliklerin karakterize edilmesine olanak sağlamıştır. Bu değişiklikler içerisinde -5/5q-, -17/17p-, -7/7q-, -18/18q-, -16,16q-, -12/12p- sıklıkla görülen kromozom kayıpları iken; +8/+8q, +11/+11q, +21/+21q ve +1/+1p en sık görülen kromozom kazanımlarıdır (Rücker ve ark. 2012). Kompleks karyotipli AML'de sıklıkla görülen kazanımlar ve kayıplar Şekil 2-9'da gösterilmiştir.



Şekil 2-9: Kompleks karyotipli AML'de sıklıkla görülen kazanımlar (sağ, yeşil) ve kayıplar (sol, kırmızı) (Schoch ve ark. 2005)

Kompleks karyotip, AML'nin morfolojik olarak spesifik bir alt tipiyle ilişkili değildir. Ancak AML M0, M2, M5 ve M6 alt tiplerinde daha sıklıkla gözlenmektedir (Schoch ve ark. 2005).

AML hastalarında kompleks karyotipin insidansı yaklaşık olarak %10-12'dir ve yaşla birlikte insidans artmaktadır. MRC'nin yaptığı bir çalışmada 55 yaşın altındaki AML hastalarının %6'sında, 55 yaşın üstündeki AML hastalarının %13'ünde 5 veya daha fazla kromozom anomalisi bulunduğu gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise 60 yaş ve üzeri AML hastalarının %18'inin kompleks karyotipe sahip olduğu gösterilmiştir (Grimwade ve ark. 2001; Schoch ve ark. 2001; Marchesi ve ark. 2011).

Kompleks karyotipli AML hastaları kötü prognoza sahiptir. Yoğun indüksiyon tedavisine yanıt oranı düşüktür, yüksek relaps oranı ve kötü sağkalım ile ilişkilidir. 60 yaşından büyük kompleks karyotipli AML hastalarında tam remisyon oranı oldukça düşüktür. Yapılan farklı çalışmalarda yoğun indüksiyon tedavisi sonrası hastaların %10-40'ında tam remisyon sağlanabildiği gösterilmiştir. Hastaların büyük çoğunluğunda başlangıç tedavisine direnç vardır (Marchesi ve ark. 2011). Tam remisyon sağlanan hastaların neredeyse hepsinde relaps görülür. Tam remisyon süresi kısadır, ortalama 6-8 ay arasındadır. Bu hastaların 3 yıl tam remisyonda kalma olasılığı 0-%11, 5 yıl tam remisyonda kalma olasılığı ise 0-%9'dur (Mrózek 2008). SWOG analizlerinde 5. ve 7. kromozomu kapsamayan kompleks karyotipe sahip AML hastalarının tam remisyon oranının %50, sağkalım oranının ise %20 olduğu; 5. ve 7. kromozomu kapsayan kompleks karyotipe sahip vakaların ise tam remisyon oranının %37, sağ kalım oranının da %3 olduğu gösterilmiştir (Orozco ve Appelbaum 2012). Çocuklarda ise tam remisyon oranı yetişkinlere göre daha yüksektir. Kompleks karyotipli pediatrik AML verileri oldukça sınırlı olmasına rağmen çocuklardaki tam remisyon oranının %75-78 olduğu bildirilmiştir (Mrózek 2008). MRC'nin en son revize edilen sınıflandırma sistemine göre karyotipte görülen her bir ek anomali tam remisyonun sağlanamama riskini arttırmaktadır. Bu nedenle 5 veya daha fazla anomali görülen vakalar 4 anomali görülen vakalara göre, 4 anomali görülen vakalar ise 3 anomali görülen vakalara göre daha kötü prognoza sahiptirler (Orozco ve Appelbaum 2012).

Kompleks karyotipli genç hastaların klinik durumlarının allojenik hematopoyetik kök hücre nakliyle düzeltilebileceği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada kemoterapi sonrasında allojenik hematopoyetik kök hücre nakli uygulanan kompleks karyotipli hastaların 2 yıl lösemisiz ve genel sağ kalım oranlarının %44 ve %47 olduğu bildirilmiştir. Ancak bununla birlikte tedaviyle ilişkili ölüm oranı da yüksektir (Marchesi ve ark. 2011).

Kompleks karyotip sekonder AML'de daha sık görülmektedir. Daha önceden geçirilen alkilleyici ajanlarla tedavi, radyoterapi veya diğer hematolojik hastalıklar nedeniyle oluşan kromozomal aberasyonların birikimi kompleks karyotipin oluşumuna neden olmaktadır (Marchesi ve ark. 2011).

2.3.6.2. Monozomal Karyotip

Monozomal karyotip 2008 yılında ilk defa Breems ve ark. tarafından tanımlanmıştır. En az iki otozomal monozomi veya en az bir yapısal kromozom anomalisiyle birlikte (t(15;17), t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22) hariç) tek bir otozomal monozomi içeren karyotipler Monozomal Karyotip olarak adlandırılmaktadır (Breems ve ark. 2008, Chin ve ark. 2013).

Monozomal karyotipin AML'de sıklığı yaşla birlikte artmaktadır, 30 yaşın altındaki hastalarda %4, 60 yaşın altında hastalarda %6-10, 60 yaşın üstündeki hastalarda ise %13-20'dir (Chin ve ark. 2013).

Monozomal karyotip çok kötü prognozla ilişkilidir (Chin ve ark. 2013). Yapılan çeşitli çalışmalarda monozomal karyotipli AML hastalarının düşük tam remisyon oranına (%18-48) ve %10'dan daha az sağ kalım oranına sahip olduğu bildirilmiştir (Yang ve ark. 2012). Kötü sitogenetik risk grubunda bulunan monozomal karyotipe sahip AML hastalarının 4 yıllık sağkalımları %4 iken, monozomal karyotipe sahip olmayan AML hastalarının %21'dir (Medeiros ve ark. 2010; Chin ve ark. 2013).

AML'de otozomal monozomilerin prognoz üzerindeki negatif etkisi kromozom 5 ve 7 için tanımlanmıştır. Farklı çalışmalarla yapılan karşılaştırmalar sonucunda sadece kromozom 5 ve 7'nin değil, herhangi bir otozomal monozominin varlığının da kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Breems ve ark. 2008; Medeiros ve ark. 2010).

Monozomal karyotip -7, -5, del 5q, abn 12p, abn 17p, -18, del 18q, - 20, del 20q ve kompleks karyotiple yakından ilişkilidir. Bütün monozomiler içerisinde -7 en sık görülen monozomidir (Yang ve ark. 2012). Alman-Avusturyalı AML çalışma grubu monozomal karyotip tanımını revize ederek, WHO sınıflandırmasında yer alan tekrarlayan sitogenetik anomalilere sahip AML vakalarını monozomal karyotip kategorisinden ayrı tutmuşlardır. Tekrarlayan sitogenetik anomaliler grubunda yer alan derivatif kromozomların gerçek monozomilere neden olmadığı belirtilmiştir. (Kayser ve ark. 2012; Voutiadou ve ark. 2013)

Monozomal karyotipli hastaların neredeyse hepsi (%98) kötü risk grubu içerisinde ve büyük çoğunluğu (%95) kompleks karyotipe sahiptir. SWOG'un yaptığı analizlerde hem kompleks karyotipe hemde monozomal karyotipe sahip AML hastalarının 4 yıllık sağ kalımlarının %3 olduğu, kompleks karyotipli fakat monozomal karyotipe sahip olmayan hastaların ise %13 olduğu bildirilmiştir (Orozco ve Appelbaum 2012)

Monozomal karyotipin prognostik önemi birçok çalışma grubu tarafından araştırılmaktadır. Yapılan iki farklı çalışmada monozomal karyotipe sahip AML hastalarının klinik durumlarının yüksek doz cytarabine tedavisiyle iyileştirilebileceği belirtilmiştir (Lowenberg ve ark. 2011; Medeiros ve ark. 2011) Başka çalışmalarda ise allojenik kök hücre naklinin monozomal karyotipli AML hastalarında sağ kalım süresini uzatabildiği gösterilmiştir (Fang ve ark. 2011; Kayser ve ark. 2012; Cornelissen ve ark. 2012). Diğer taraftan kötü prognoza neden olan monozomal karyotipin mekanizması anlaşılma çalışılmaktadır. AML'de monozomal karyotip bazı çalışmalarda, yüksek fonksiyonel çoklu ilaç direnci aktivitesi veya TP53 değişiklikleriyle ilişkilendirilmiştir (Yang ve ark.2012).

2.3.6.3. Normal Karyotip

Analiz edilen 20 veya daha fazla metafazda klonal anomalilerin bulunmaması Normal karyotip (NK) olarak adlandırılır (Marchesi ve ark. 2011). Normal karyotipe sahip AML'ler tüm AML hastalarının %35'ini oluşturur ve ilk olarak orta risk grubunda değerlendirilir. Ancak prognozları iyi ve kötü risk grubundaki hastalara kıyasla değişkenlik göstermektedir (Mawad ve Estey 2012). Normal karyotipli AML, tedaviye yanıt, tam remisyon sağlanması, relaps oranı, hastalıksız sağkalım ve toplam sağkalım bakımından değişkenlik gösteren heterojen bir gruptur. Bu da sitogenetik olarak normal olan AML'nin moleküler özelliklerinin heterojenliği sonucunda meydana gelmektedir. Son 10 yılda yapılan çeşitli çalışmalarla, spesifik gen mutasyonlarının varlığı veya yokluğu ve gen ekspresyonlarındaki değişikliklerin AML hastalarının prognozunu etkilediği gösterilmiştir. Yeni tanı konulan bütün AML hastalarında kemik iliği blastlarının moleküler karakterizasyonu önemli prognostik parametre olsa da, özellikle normal karyotipli AML hastalarında prognostik sınıflamanın yapılabilmesi için büyük önem taşımaktadır (Marchesi ve ark. 2011). NPM1 mutasyonu, CEBPA mutasyonu, FLT3 ITD veya FLT3 TKD, MLL PTD, DNMT3A mutasyonu, NRAS mutasyonu,

ASXL1 mutasyonu, IDH1/IDH2 mutasyonu ve WT1 mutasyonu normal karyotipli AML’de sıklıkla görülen moleküler değişikliklerdir (Marchesi ve ark. 2011; Mavad ve Estey 2012)(Tablo 2-8).

Tablo 2-8: Normal karyotipli AML’de görülen moleküler değişiklikler(Marchesi ve ark. 2011; Mavad ve Estey 2012)

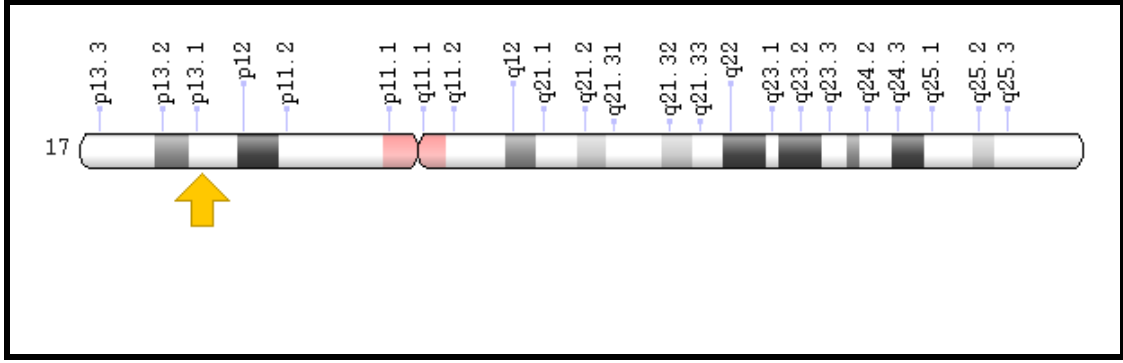
| Gen | Klinik özellikler |
|--------|---|
| NPM1 | NK AML’nin %50-60’ında NPM1 mutasyonu görülür. FLT3 ITD mutasyonu yokluğunda iyi prognozla ilişkilidir |
| FLT3 | NK AML’nin %28-34’ünde FLT3 ITD mutasyonu görülür. Kötü klinik durumla ilişkilidir. NK AML’nin %11-14’ünde FLT3 TKD mutasyonu görülür. prognostik önemi bilinmemektedir, son zamanlarda ITD mutasyonuna göre daha iyi sağ kalımla(OS) ilişkilendirilmiştir |
| CEBPA | NK AML’nin yaklaşık %10’unda CEBPA mutasyonu görülmektedir. Biallelik mutasyonu iyi prognozla ilişkilidir. |
| MLL | NK AML’nin %5-11’inde MLL PTD görülür. Sıklıkla 11q23 yeniden düzenlenmesiyle ilişkilidir. Kısa tam remisyon süresi, yüksek relaps oranı ve kısa sağ kalımla ilişkilidir. |
| DNMT3A | NK AML’nin %33’ünde DNMT3A mutasyonu görülür. yüksek doz daunorubisin tedavisiyle birlikte iyi klinik durumla ilişkilidir. |
| NRAS | NK AML’nin %9-14’ünde NRAS mutasyonu görülür. Klinik durum üzerine etkisi bilinmemektedir. |
| WT1 | NK AML’nin %10’unda WT1 mutasyonu görülür. Klinik durum üzerine etkisi net bir şekilde bilinmemektedir, bazı verilere göre düşük tam remisyon oranıyla ilişkilidir. |

| | |
|-----------|--|
| ERG | Yüksek ekspresyonu artmış relaps oranı ve kötü sağkalımla (worse overall survival) ilişkilidir |
| BAALC | Yüksek ekspresyonu kötü klinik durumla ilişkilidir. |
| MN1 | Yüksek ekspresyonu inferior hastalıklı sağkalımla ilişkilidir. |
| IDH1/IDH2 | NK AML'nin %15-33'ünde IDH1/IDH2 mutasyonu görülür. prognoz üzerine etkisi net olarak bilinmemektedir. |
| ASXL1 | ASXL1 genindeki mutasyonlar NK AML'de kötü prognozla ilişkilidir. |

NPM1: nukleofosmin geni; FLT3: fms ilişkili tirozin kinaz 3 geni; ITD: internal tandem duplikasyon; TKD: tirozin kinaz domain; MLL: mixed lineage lösemi geni; PTD: partial tandem duplikasyon; CEBPA: CCAAT/enhancer binding protein alpha; WT1: Wilm's tümör 1 geni; NRAS: RAS viral onkogen homolog geni; ERG: v-ets erythroblastosis virus E26 onkogen homolog geni; BAALC: beyin ve akut lösemi sitoplazmik geni; MN1: meningioma 1 geni; IDH: isositrat dehidrogenaz genleri; ASXL1: additional sex comb-like 1

2.3.7. TP53 Geni

TP53 geni 17. kromozomun kısa kolu (17p13.1) üzerinde bulunur (Şekil 2-10) ve 11 ekzondan oluşur. Bu gen transkripsiyon faktörü işlevine sahip, 393 aminoasitten oluşan p53 proteinini kodlar. p53 proteini, ilk olarak 1979 yılında tümör gelişimi lehine işlev gösteren bir protein olarak tanımlanmıştır. 1989 yılına kadar kabul gören bu durum, daha önce tanımlanmış olan p53 proteininin normal olmayan p53 olduğunun anlaşılmasıyla son bulmuştur. p53 proteininin tümör baskılayıcı rolünün ortaya konulmasından sonra, p53 proteinini kodlayan gen TP53 (Tümör Protein 53) olarak isimlendirilmiştir (Koçak ve ark. 2011).



Şekil 2-10: TP53 geninin 17. kromozom üzerindeki yerinin şematik görüntüsü
(www.ghr.nlm.nih.gov/gene/TP53)

Bir tümör supresör gen olan TP53, genomik kararlılığın sağlanmasında, kromozom ayrılmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde, yaşlanmada, strese hücre sel yanıtta veya hücre siklusunun durması ile DNA hasarına hücre sel cevabı düzenlemede, apoptozun indüklenmesinde rol almaktadır (Lane ve Crawford 1979). p53 proteini bu işlevlerini ya transkripsiyon faktörü olarak ilgili genlerin transkripsiyonlarını düzenleyerek ya da diğer proteinler ile veya doğrudan DNA ile fiziksel olarak etkileşerek meydana getirmektedir (Koçak ve ark. 2011).

TP53, DNA hasarı ve onkogenik transformasyon sonucunda aktive olur. Strese girmeyen ve hasara uğramamış hücrelerde p53 proteini düzeyi belirlenemeyecek kadar düşüktür ve yarı ömrü kısadır. p53 proteini sitoplazmada tutularak nükleusa girişi önlenir, transaktivasyon domaini inaktiftir. Hücre içi düzeyi MDM2 proteinine bağlıdır ve p53 sıkı bir şekilde MDM2 tarafından kontrol altında tutulur. p53 proteini, MDM2'nin ekspresyonunu da indükleyerek kendi kendisinin inhibisyonunu sağlar. MDM2, p53'ün transaktivasyon domainine bağlanarak transkripsiyonu aktive etmesini önler (Çefle 2003; Yıldırım ve ark. 2007).

p53, hücre döngüsünün G0/G1 evresinde rol alan birçok siklin bağımlı kinazın işlevini engelleyen p21 proteininin ifadesini, p21^{WAF2/Cip1} geninin transkripsiyonunu uyararak düzenler ve böylece p21 proteini aracılığı ile hücre döngüsünü G1 aşamasında durdurur. Ayrıca p53, mitoz bölünme için gerekli proteinleri kodlayan c-myc ve c-fos gibi genlerin transkripsiyonlarını düzenleyen E2F transkripsiyon faktörü ile fiziksel olarak etkileşerek hücre döngüsünün G2 evresinde durdurulmasında rol almaktadır.

Bunların yanısıra p53, DNA tamiri ve DNA sentez mekanizmasında rol oynayan PCNA (proliferating cell nuclear antigen), GADD45 (growth arrest and DNA damage inducible 45) proteinleri ve programlı hücre ölümünde rol alan PUMA (p53 up-regulated modulator of apoptosis), Noxa, Bax (Bcl-2-associated X protein) ve Fas gibi proteinlerin transkripsiyonlarını düzenlenmektedir.

p53, DNA replikasyonu sırasında replikasyonun başlamasıyla ilgili bölgelere doğrudan bağlanarak replikasyon çatalının oluşumunu engelleyip transkripsiyondan bağımsız bir mekanizmayla replikasyonu baskılamaktadır. p53 proteini, RPA (Replicating Protein Antigen) gibi DNA sentezinde rol alan proteinler ile XPB (Xeroderma Pigmentosum Group B DNA helicase), XPD (Xeroderma Pigmentosum Group D DNA helicase), p62 ve topoizomerez gibi DNA tamirinde rol alan proteinlerle de fiziksel olarak etkileşmektedir. Bu işlevleri dışında, DNA'da gerçekleşen çift zincir kırılmaları ve ya telomer hasarları gibi durumlarda eş-dörtlü (homo-tetramer) yapılar halinde DNA'ya bağlanarak, DNA sarmalının çözülmesini engellemektedir (N. Koçak ve ark. 2011).

DNA hasarları dolaylı olarak p53'ün stabilizasyonuna ve hücrede birikmesine yol açar. ARF (Alternate Reading Frame Protein) proteini MDM2 proteinine bağlanarak p53'ü serbest bırakır (Yıldırım ve ark. 2007). Hipoksi, viral proteinler, onkogen aktivitesinde artış p53'ün hücre içi yoğunluğunu arttırarak ve üç boyutlu yapısını değiştirerek p53'ü aktive eder (Çefle 2003). Ayrıca p53 proteinin belirli serin/treonin birimlerinden fosforile edilmesi de aktivasyona neden olur. PARP, DNA-PK, ATM, ATR ve Chk2, p53 proteinini fosforilleyerek aktivasyonunda rol oynayan proteinlerdendir. P53 bir kez aktive olduktan sonra yarı ömrü iki katına çıkar, aktivitesi 100 kat artar (Yıldırım ve ark. 2007).

TP53 genindeki mutasyonlar kanserlerin hemen hemen her tipinde meydana gelmektedir ve frekansı %10 (hematolojik malignitelerde) ile %96 (yüksek dereceli over seröz karsinomlarda) arasında değişkenlik gösterir. Yapılan çalışmalarda TP53 mutasyonlarının büyük çoğunluğunun missense nokta mutasyonu olduğu ve proteinin DNA'ya bağlanma bölgesini etkilediğini göstermiştir (Çefle 2003; Walerych ve ark. 2015).

Delesyon veya mutasyon nedeniyle TP53 geninde görülen fonksiyon kaybı solid tümörlerin neoplastik transformasyonunda önemli rol oynadığı ve hematolojik

malignitelerde hastalığın ilerlemesiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Seifert ve ark. 2009).

Kanser hücrelerinde TP53 genindeki delesyonlar; mutasyonların sıklığının artışı, kromozom anomalileri, gen amplifikasyonu ve anormal kromozom segregasyonuna yol açabilmektedir (Tavor ve ark. 2011). TP53 yolağının fonksiyon bozukluğu kromozom instabilitesinin artmasına katkıda bulunarak kompleks veya monozomal karyotipin ortaya çıkışını kolaylaştırır. (Gaillard ve ark. 2012).

TP53 genindeki mutasyonlar AML hastalarının %10'undan daha azında görülürken, TP53 geninde meydana gelen delesyon/mutasyonlar veya 17. kromozomun kaybını içeren TP53 değişiklikleri kompleks karyotipli AML hastalarında oldukça sık görülmektedir (Tavor ve ark. 2011).

17p delesyonuna sahip hastalarda genellikle TP53'ün bir allelinin kaybı ve diğer allelin kaybı/mutasyonu görülür (Nazha ve ark. 2014). TP53 kaybı kompleks karyotipli AML'lerin yaklaşık %40'ında görülmektedir (Rücker ve ark. 2012). 17. kromozomda meydana gelen anomaliler AML de dahil olmak üzere birçok hematolojik malignitelerde kemoterapiye direnç ve kötü prognozla ilişkilidir (Nazha ve ark. 2014).

Kompleks karyotipin patogenezi hakkında bilinenler az olsa da yüksek sıklıkta görülen TP53 değişikliklerinin lökomogenezde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Fare ve insan çalışmalarından elde edilen sonuçlar bu hipotezi desteklemektedir. Yapılan fare çalışmalarında TP53 kaybı görülen miyeloid progenitör hücrelerin anormal şekilde kendilerini yenilediği ve bu nedenle AML geliştiği belirtilmiştir. 5q-sendromundan gelişen yüksek risk grubundaki AML/MDS hastalarında TP53 mutasyonu görülen subklonların yayılım gösterdiği gözlenmiştir. Son zamanlarda tedaviyle ilişkili kompleks karyotipli AML genomu yeni nesil sekanslamayla incelendiğinde kazanılmış çeşitli genetik lezyonlar ve intragenik TP53 delesyonları tanımlanmıştır (Jadersten ve ark. 2009; Jadersten ve ark. 2011; Zhao ve ark. 2010; Link ve ark. 2011).

TP53 fonksiyon kaybının kemoterapiye dirençle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Rücker ve ark. yaptığı çalışmada TP53 değişikliklerinin, AML'de bir tedavi seçeneği olan 3+7 temelli indüksiyon kemoterapisine dirençle ilişkili olduğu belirtilmiştir. TP53 değişikliklerinin varlığı kısa sağkalım süresiyle ilişkilidir. TP53 değişiklikleri görülen kompleks karyotipli hastaların ortalama sağkalım süresi 4,14 ay iken TP53

değişiklikleri görülmeyen kompleks karyotipli hastalarda 10,97 aydır (Rücker ve ark. 2012).

İlk defa Breems ve ark. tarafından tanımlanan monozomal karyotip sıklıkla kompleks karyotiple ilişkilidir (Gaillard ve ark. 2012). Kompleks karyotip uzun süredir kötü risk faktörü olarak tanımlanmaktadır, ancak monozomal karyotipin kompleks karyotipe göre kötü prognozun daha iyi bir göstergesi olduğu belirtilmektedir (Wawrzyniak ve ark. 2013).

SWOG'un yapmış olduğu geniş bir çalışmada AML hastalarının %13'ünde monozomal karyotip bulunmuştur. Bu çalışmada monozomal karyotipli hastaların %98'i yüksek risk grubu içerisinde yer almaktadır. 17p delesyonuna sahip AML hastalarının hepsi MK içerisinde ve kötü prognoza sahiptirler (4 yıllık sağ kalım %0) (Medeiros ve ark. 2010; Nazha ve ark. 2014)

Gaillard ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada; Monozomal karyotipli AML'li hastaların çoğunluğunun (%53.6), monozomal olmayan kötü prognozlu hastalarla (%5.9) kıyaslandığında, 17p13.1'de delesyon taşıdığı görülmüştür (Gaillard ve ark. 2012). Rucker ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise kompleks karyotipli AML hastalarında TP53 kaybı ve mutasyonlarının sıklığı analiz edilmiştir. Çalışmada kompleks karyotipli hastaların %78'inin monozomal karyotipe de sahip olduğu belirtilmektedir. Hem kompleks karyotipe hem de monozomal karyotipe sahip AML hastalarının %80'inde, monozomal karyotipe sahip olmayan kompleks karyotipli hastaların ise %42'sinde TP53 değişiklikleri gözlenmiştir (Rücker ve ark. 2012).

Normal karyotipe sahip AML hastalarında TP53 kaybı ile ilgili çalışma az olmakla birlikte Tavor ve ark.nın yayınında TP53 kaybı görülmediği bildirilmektedir (Tavor ve ark. 2011).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışma Grubu

Bu tez çalışmasında 1999-2013 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hematoloji ABD'de Akut Miyeloid Lösemi tanısı almış olup ; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD Sitogenetik Laboratuvarında, konvansiyonel sitogenetik yöntemiyle karyotip analizi yapılmış ve +4°C'de muhafaza edilmiş olan 40 hastanın kemik iliği aspirasyonuna ait kültür materyallerine 17p13.1'de lokalize olan TP53 geninin kaybını incelemek amacıyla floresan in situ hibridizasyon tekniği uygulandı.

Sağlıklı kontrol grubunu oluşturmak amacıyla ise 20 sağlıklı bireyin perifer kanları çalışmaya dahil edildi ve aynı yöntem uygulandı.

3.1.2. Kullanılan Gereçler

- Etüv: Memmert
- Mikropipet:
 - 0,5-10 µl otomatik ayarlı Medispec-Plus
 - 100-1000µl otomatik ayarlı Discovery Comfort
- Santrifüj: Hettich Rotafix 32A masaüstü santrifüj
- Vorteks: Dragon Lab MX-S
- Buzdolabı: Arçelik 4042 T Plus +4C
- Deep-freeze: Arçelik
- Hotplate: Selecta
- Hassas Terazı: Precisa xB 220 A
- pH stick: Isolab
- Manyetik Karıştırıcı: Are Velp Scientifica

- Su banyosu: Kottermann Labortechnik/ Memmert
- Mikroskop:
 - Nikon Eclipse E600
 - Leica DM 2500
- Fluoresans mikroskobu: Olympus Bx51
- Fluoresans mikroskobu filtreleri: TxRed, FITC, DAPI
- Hibridizasyon cihazı: ThermoBrite
- Pastör pipeti
- Pipet Uçları
- Ependorf tüpü (1,5ml)
- Vidalı kapaklı tüp
- Eldiven (Galena)
- Kronometre
- Enjektör
- Termometre

3.1.3. Kullanılan Cam Malzemeler

- Lam (Menzel-Glaser Superfrost ground edges 90)
- Lamel (Menzel-Glaser 100 Deckglaser)
- Beher (50,100,250 ml)
- Erlenmayer (250,1000 ml)
- Mezür (10,25,50,100,250,500,1000 ml)
- Balon joje (250,500 ml)

3.1.4. Kullanılan Kimyasallar

- HCl: Merck
- Pepsin: Sigma
- NaCl: Carlo Erba
- KCl: Merck
- Na₂HPO₄.2H₂O: Merck
- KH₂PO₄: Merck
- NaH₂PO₄.H₂O: Merck
- triNaCitrat.2H₂O: Appli Chem
- Tween 20: Merck
- Metanol: Merck
- Asetik Asit: Merck
- %96 Ethanol: Merck
- DAPI Antifade II: Cytocell
- İmmersiyon yağı: Biostain
- Ksilol: Tekkim
- Parafilm
- Rubber Cement: Marabu Fixogum

3.1.5. Kullanılan FISH probu

- Cytocell Aquarius p53 Deletion Probe

3.1.6. Kullanılan Solüsyonlar

3.1.6.1. Periferik Lenfosit Kültürü İçin Kullanılan Solüsyonlar

- Kültür Vasatı: %20 fetal bovin serum, L-glutamin, penisilin, streptomisin ve phytohemagglutinin içeren RPMI 1640 hazır kromozom medyumu (Biochrom F-5023).
- Colcemid: 10 g/ml Colcemid içeren hazır Colcemid solüsyonu (Biochrom L-6221).
- Hipotonik şok çözeltisi: 0,075M KCl
- Carnoy fiksatif: Metanol : Asetik asit (3:1)

3.1.6.2. FISH Yönteminde Kullanılan Solüsyonlar

- %70'lik Etanol
- %85'lik Etanol
- %100'lük Etanol
- PBS (Phosphat Buffered Saline): 8 gr NaCl
0,2 gr KCl
1,4 gr Na₂HPO₄.2H₂O
0,2 gr KH₂PO₄

1000ml dH₂O'da çözdürülüp kullanıldı. +4°C'de saklandı. (pH:7)

- 20 x SSC (Standart Saline Citrate): 43,8 gr NaCl

22,05 gr triNaCitrate.2H₂O

250 ml dH₂O' da çözdürülüp kullanıldı.+4°C'de saklandı. (pH:7)

- 2 x SSC: 50 ml 20 x SSC, dH₂O ile 500 ml'ye tamamlanıp kullanıldı.+4°C'de saklandı. (pH:7)
- 0,4 x SSC: 10 ml 20 x SSC, dH₂O ile 250 ml'ye tamamlanıp kullanıldı.+4°C'de saklandı. (pH:7)
- %10 Tween 20: 10 ml Tween 20, dH₂O ile 100 ml'ye tamamlanıp kullanıldı.+4°C'de saklandı.
- 2 x SSC / %0,05 Tween 20: 2,5 ml %10'luk Tween 20
50 ml 20 x SSC
dH₂O ile 500 ml'ye tamamlanıp kullanıldı.+4°C'de saklandı.
- Pepsin Stok Solüsyonu: 1gr Pepsin (Sigma P-7012), 50 ml dH₂O içinde çözdürülerek 500µl'lik tüplerde -20°C'de saklandı.
- %1'lik 1N HCl: 1 ml 1N HCl, dH₂O ile 100 ml'ye tamamlanıp kullanıldı.
- Ribonuklease A Solüsyonu: Stok çözelti için 10mg/ml hazırlandı. 15 dk kaynatıldıktan sonra ependorflarda -20°C'de saklandı. Kullanma solüsyonu için 1µl stok çözelti, 99µl 2 x SSC içinde çözdürülüp kullanıldı.
- Post Fiksasyon Solüsyonu: %1'lik formamid PBS çözeltisi içerisinde çözdürüldü. 50 mM MgCl₂ (1,0165gr/100ml) eklendi. +4°C'de saklandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Periferik Lenfosit Kültürü

Kültürde vasat ortamı olarak RPMI 1640 medyumunu kullanıldı.

Kullanılan medyum steril ortamda vidalı kapaklı tüplere 5'er ml içerecek şekilde bölündü ve kullanılacağı zamana kadar -20°C'de saklandı.

Sağlıklı bireylerden heparinli enjektörle perifer kanı alındı.

Her sağlıklı birey için, içerisinde 5'er ml medyum bulunan iki tüpe 10'ar damla perifer kanı ekimi yapıldı.

Tüpler 37°C'lik etüve konularak kültür işlemi başlatıldı.

Kan ekimini takip eden 70. saatte, hücreleri metafaz aşamasında durdurmak amacıyla 0,1 ml Colcemid eklendi.

Kan ekimini takip eden 71,5. saatte kültür sonlandırılarak kromozom eldesi işlemine geçildi.

Tüpler 1300 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi.

Hipotonik şok için süpernatant uzaklaştırılarak pellet üzerine vorteks eşliğinde her tüpe 6 ml 37°C 0,075M KCl eklendi.

Tüpler 37°C'lik etüvde 9 dk bekletildi.

Etüvden çıkarılan tüpler 1300 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi.

Süpernatant uzaklaştırılarak pellet üzerine vorteks eşliğinde 6 ml Carnoy fiksatif eklenecek hücreler fikse edildi.

Fikse etme işlemi takiben tüpler 1 gece +4°C'de bekletildi.

Yıkama işlemi için tüpler 1300 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi, süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet üzerine vorteks eşliğinde 6 ml Carnoy fiksatif eklendi. Bu işlem en az 4 defa tekrarlanarak örnekler yayma için hazır hale getirildi.

3.2.2. FISH Yöntemi

3.2.2.1. Preparatların Hazırlanması

+4°C'de muhafaza edilen, hastalara ait kemik iliği kültür materyallerine önce yıkama işlemi uygulandı.

Tüpler 1300 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı ve pellet üzerine vorteks eşliğinde Carnoy fiksatif eklendi. Bu işlem en az 4 defa tekrar edildi.

Yıkama işlemi bittikten sonra süpernatant uzaklaştırılarak pellet üzerine birkaç damla Carnoy fiksatif eklendi ve pastör pipeti kullanılarak pipetaj yapıldı.

%50-52 nem ortamında, daha önceden yıkanıp buzdolabında soğutulmuş lam üzerine 2 damla pellet yayıldı.

Preparat üzerine 2 damla Carnoy fiksatif damlatılarak kurutulmaya bırakıldı.

Kuruyan preparatlar mikroskopta incelenerek hücre yoğunlukları kontrol edildi.

Hücre yoğunluğu bakımından uygun bulunan preparatlar 1 gece oda ısısında yaşlanmaya bırakıldı. Hücre yoğunluğu az olan hastalar için tüpler 1300 rpm'de 7 dakika tekrar santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı, hücre yoğunluğu çok olan hastalar için ise tüplere birkaç damla daha Carnoy fiksatif eklenerek yoğunluk ayarlandı.

Aynı işlemler kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerden alınan perifer kanı materyali için de uygulandı.

3.2.2.2. Hibridizasyon Öncesi İşlemler

Kemik iliği materyallerinin hibridizasyon öncesi işlemlerinde iki farklı yöntem uygulandı. Yayma öncesinde yapılan yıkamalarda materyalde bulunan artefakt yeterince arındırılmadığı zaman ön yıkama işleminde preparatlara hem ribonükleaz (RNase) hem de pepsin muamelesi uygulandı. Yeterince temiz bulunan preparatlar ile kontrol grubunu oluşturan preparatlar ise sadece pepsinle muamele edildi.

1. Yöntem: (RNase + Pepsin)

Preparatlar oda sıcaklığında 1xPBS içerisinde 30 dk bekletildi.

PBS'den çıkarılan preparatların üzerine 100µl RNase kullanma solüsyonu eklenerek plastik lamel ile üstü kapatıldı. 37°C'de 1 saat bekletildi.

1 saatin sonunda plastik lamel preparatların üzerinden kaldırılıp atıldı.

Preperatlar 37°C'lik su banyosunda bulunan 2 x SSC içerisinde 2 dakika bekletildi. Bu işlem 3 defa tekrar edildi.

37°C'lik su banyosunda bulunan 1N HCl + 99 ml dH₂O çözeltisi içerisine 50µl pepsin eklendi ve preperatlar bu solusyon içerisinde yaklaşık 2 - 2,5 dk bekletildi.

Ardından preperatlar oda sıcaklığındaki PBS çözeltisi içerisinde 5 dakika bekletildi.

PBS çözeltisi içinden çıkarılan preperatların üzerine 100µl post fiksasyon solüsyonu eklendi ve plastik lamel ile üzerleri kapatıldı. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.

Plastik lameller üzerlerinden kaldırılıp atıldı. Preperatlar oda sıcaklığındaki PBS çözeltisi içerisinde 5 dakika bekletildi.

PBS çözeltisinden çıkarılan preperatlar oda sıcaklığındaki 2 x SSC çözeltisi içinde 2 dakika bekletildikten sonra 2'şer dakika %70, %85 ve %100'lük alkol solüsyonlarından geçirildi.

Preperatlar hibridizasyon cihazında 37°C'de 15 dakika bekletildi.

2. Yöntem: (Pepsin)

37°C'lik su banyosunda bulunan 1N HCl + 99 ml dH₂O çözeltisi içerisine 50µl pepsin eklendi ve preperatlar bu solusyon içerisinde yaklaşık 2,5 - 3 dk bekletildi. Bu süre preperatlardaki arka plan temizliğine göre ayarlandı.

Ardından preperatlar oda sıcaklığındaki PBS çözeltisi içerisinde 5 dakika bekletildi.

PBS çözeltisi içinden çıkarılan preperatların üzerine 100µl post fiksasyon solüsyonu eklenildi ve plastik lamel ile üzerleri kapatıldı. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.

Plastik lameller üzerlerinden kaldırılıp atıldı. Preperatlar oda sıcaklığındaki PBS çözeltisi içerisinde 5 dakika bekletildi.

PBS çözeltisinden çıkarılan preparatlar oda sıcaklığındaki 2 x SSC çözeltisi içinde 2 dakika bekletildikten sonra 2'şer dakika %70, %85 ve %100'lük alkol solüsyonlarından geçirildi.

Preperatlar hibridizasyon cihazında 37°C'de 15 dakika bekletildi.

3.2.2.3. Probun Hazırlanması

Her bir preparat için 8µl prob ependorf içerisine konuldu.

Problar 37°C'lik su banyosu içerisinde 15 dakika bekletildi.

3.2.2.4. Prob ve Preparatın Birleştirilmesi

15 dakikanın sonunda hibridizasyon cihazından çıkarılan preparatların üzerine su banyosundan çıkarılan prob eklendi. Her preparat üzerine 8µl prob konuldu.

Preparatların üzeri hava kabarcığı kalmayacak şekilde lamel ile kapatıldı. Lamelin çevresine yapıştırıcı sürüldü.

3.2.2.5. Denatürasyon

Prob-preparat 74°C'ye ısıtılmış hot plate üzerinde 1 dakika 40 saniye bekletildi.

3.2.2.6. Hibridizasyon

74°C'den alınan preparatlar içerisine nemli peçete konularak hazır hale getirilen hibridizasyon cihazı içerisine yerleştirildi ve 37°C'de 19 saat bekletildi.

3.2.2.7. Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

19 saatin sonunda hibridizasyon cihazından alınan preparatların üzerinden lameller dikkatlice çıkartıldı.

Sıcak su banyosu içerisinde 4 x SSC'nin sıcaklığı 65°C'ye getirildi. Preparatlar bu solüsyonda 2 dakika bekletildi.

Ardından 2 x SSC / Tween 20 solüsyonu içerisine konuldu ve 30 saniye bekletildi.

3.2.2.8. Boyama

Her bir preparat üzerine 20µl DAPI Antifade solüsyonu eklenildi.

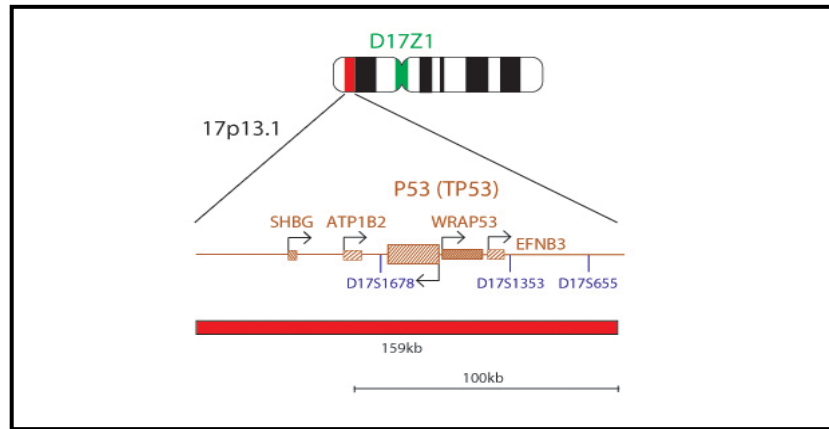
Preparatlar hava kabarcığı kalmayacak şekilde lamel ile kapatıldı.

Analiz edilecek zamana kadar preparat kutusu içerisinde ışık almayacak şekilde +4°C’de bekletildi.

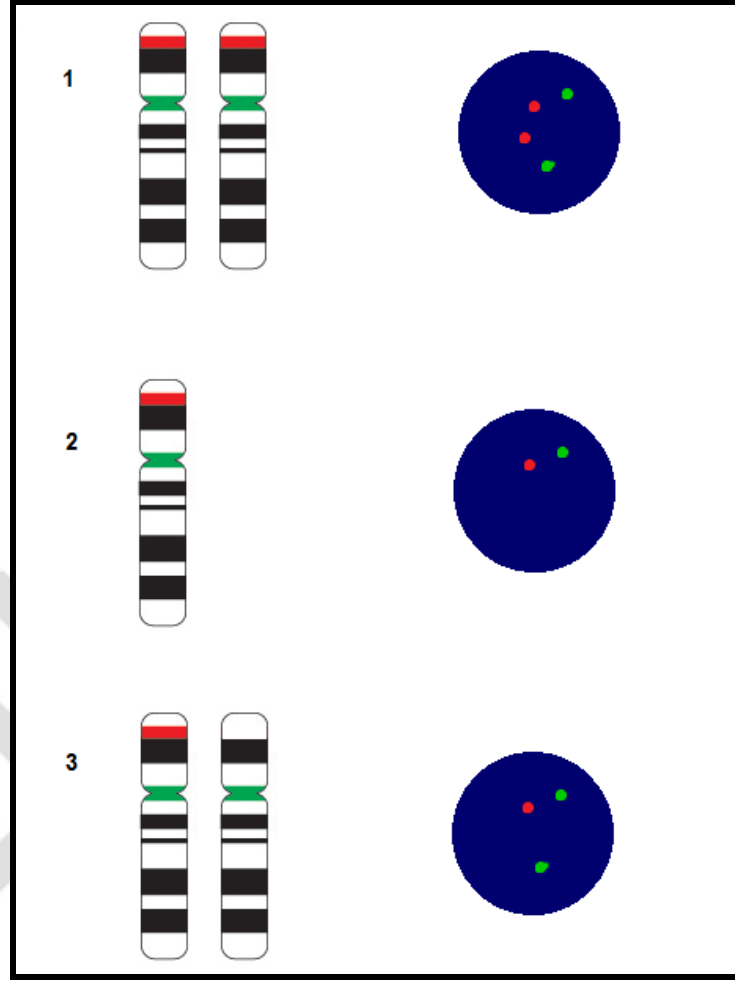
3.2.2.9. Analiz

FISH tekniği uygulanan preparatlar Olympus Bx51 mikroskopunda x100’lük immersiyon objektifi ile TxRed, FITC, DAPI filtreleri kullanılarak incelendi.

Tüm olgulara yapılan FISH analizinde en az 350 interfaz nukleusu değerlendirmeye alındı. Nukleus sınırları belirgin olan, sinyalin güçlü olduğu ve net görülebildiği hücreler analiz edildi. İki sinyal arasındaki mesafe bir sinyal büyüklüğünden az ise tek sinyal olarak, eğer bir sinyal büyüklüğünden fazla ise iki ayrı sinyal olarak değerlendirildi. 2 yeşil 2 kırmızı sinyal görülen hücreler, 2 adet 17. kromozoma sahip hücreler olarak, 1 yeşil 1 kırmızı sinyal görülen hücreler 1 adet 17. Kromozoma sahip hücreler olarak değerlendirilirken, 2 yeşil 1 kırmızı sinyal görülen hücreler ise TP53 delesyonuna sahip hücreler olarak değerlendirildi. TP53 probunun şematik görüntüleri Şekil 3-1 ve Şekil 3-2’de gösterilmiştir.



Şekil 3-1: TP53 delesyon probunun şematik görüntüsü. Kırmızı sinyal TP53 (17p13.1) gen bölgesini göstermektedir. Yeşil sinyal ise kontrol sinyali olup sentromer bölgesini göstermektedir. (FISH Probe Catalogue, Cytocell)



Şekil 3-2: TP53 delesyon probunun interfaz nukleuslarındaki şematik görünümü.

- 1: 2 adet 17. kromozomu içeren interfaz nukleusu (2 yeşil 2 kırmızı sinyal),
- 2: 1 adet 17. kromozomu içeren interfaz nukleusu (1 yeşil 1 kırmızı sinyal),
- 3: 17p13.1 bölgesinde delesyon içeren interfaz nukleusu (2 yeşil 1 kırmızı sinyal).

3.2.2.10. İstatistiksel Analiz

TP53 delesyonunu değerlendirmek için, sağlıklı bireylerden elde edilen FISH sonuçları ROC analiziyle hesaplanarak cut-off değeri oluşturuldu. TP53 (17p13.1) delesyonu için %7,8 monozomi 17 için %3 cut-off değeri olarak hesaplandı. Bu değerlerin altında sonuca sahip olan olgular delesyon veya monozomi görülmeyen olgular olarak değerlendirilirken, bu değer üzerinde bir sonuca sahip olan olgular delesyon veya monozomi taşıyan olgular olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesinde yürütülen bu yüksek lisans tez çalışmasında, 1999-2013 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hematoloji ABD'de Akut Miyeloid Lösemi tanısı almış olup; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD Sitogenetik Laboratuvarında, konvansiyonel sitogenetik yöntemiyle karyotip analizi yapılmış ve +4°C'de muhafaza edilmiş olan 40 hastanın kemik iliği aspirasyonuna ait kültür materyallerine 17p13.1'de lokalize olan TP53 geninin kaybını incelemek amacıyla floresan in situ hibridizasyon tekniği uygulanmıştır.

17'si (%42,5) kadın, 23'ü (%57,5) erkek olan olgularımızın yaş ortalaması 50,87'dir. FAB sınıflaması bilinen 12 hastanın 2'si AML-M1, 3'ü AML-M2, 2'si AML-M3, 4'ü AML-M4, 1'i AML-M5 tanılıdır. 5 hastanın FAB sınıflaması AML M6, AML M0/M1/M2, AML M4/M5, AML M1/M2, AML M0/M1 şüphelidir. 23 hastanın ise FAB sınıflandırması bilinmemektedir (Tablo 4-1).

Olgulara ait klinik bilgiler Tablo 4-2'de yer almaktadır.

Çalışma grubumuzu oluşturan 40 hasta ISCN 2013'e göre yapılan karyotip sonuçları bakımından kompleks karyotip (KK) , monozomal karyotip (MK) ve normal karyotip (NK) olmak üzere 3 farklı grup içerisinde yer almaktadır. Üç veya daha fazla sitogenetik anomali [t(15;17), t(8;21), inv(16), t(16;16) hariç] taşıyan karyotipe sahip olgular kompleks karyotip grubu içerisinde değerlendirilirken, en az iki otozomal monozomi veya en az bir yapısal kromozom anomaliyle birlikte [t(15;17), t(8;21), inv(16), t(16;16) hariç] tek bir otozomal monozomi içeren karyotipe sahip olgular monozomal karyotip grubu içerisinde değerlendirildi. Analiz edilen metafazlarda klonal anomali görülmeyen olgular ise normal karyotip grubu içerisinde değerlendirildi. Çalışmada yer alan 40 hastanın 3'ü kompleks karyotipe, 2'si monozomal karyotipe, 23'ü normal karyotipe sahip iken 12 hasta ise hem kompleks hem de monozomal karyotipe sahiptir (Tablo4-3).

Çalışma grubumuzu oluşturan 40 hastanın kompleks, monozomal ve normal karyotipe göre dağılımları Tablo 4-4'de yer almaktadır.

Çalışma grubumuzu oluşturan 40 hastaya ait FISH sonuçları Tablo 4-5'de yer almaktadır.

Tablo 4-1: Olgulara ait genel bilgiler

| Olgu No | Ad Soyad | Yaş | Cinsiyet | Tanı |
|----------------|-----------------|------------|-----------------|---------------|
| Olgu 1 | A. A. | 28 | E | AML M1 |
| Olgu 2 | H. G | 47 | E | AML |
| Olgu 3 | F. Y. | 53 | K | AML |
| Olgu 4 | S. Ü. | 46 | E | AML |
| Olgu 5 | R. P. | 31 | K | AML M2 |
| Olgu 6 | A. Ö. | 50 | K | AML M2 |
| Olgu 7 | N. Y. | 54 | K | AML M2 |
| Olgu 8 | Y. U. | 69 | K | AML |
| Olgu 9 | A. K. | 51 | K | AML M0/M1/M2? |
| Olgu 10 | S. T. | 53 | K | AML M5 |
| Olgu 11 | S. B. | 54 | E | AML |
| Olgu 12 | S. H. | 46 | K | AML M4/M5? |
| Olgu 13 | A. M. | 52 | E | AML M1/M2? |
| Olgu 14 | V. B. | 70 | K | AML |
| Olgu 15 | N. Y. | 50 | E | AML M1 |
| Olgu 16 | B. C. | 62 | E | AML |
| Olgu 17 | M. Y. | 56 | E | AML |
| Olgu 18 | B. S. | 22 | K | AML |
| Olgu 19 | F. Ç. | 40 | K | AML |
| Olgu 20 | T. P. | 35 | E | AML |
| Olgu 21 | N. T. | 45 | K | AML |
| Olgu 22 | B. K. | 78 | K | AML |
| Olgu 23 | M. T. | 24 | K | AML M4 |
| Olgu 24 | Ö. F. Y. | 49 | E | AML |
| Olgu 25 | A. A. | 51 | E | AML |
| Olgu 26 | N. A. | 28 | K | AML |
| Olgu 27 | A. H. H. | 61 | E | AML |
| Olgu 28 | F.S. Ö. | 30 | E | AML |
| Olgu 29 | M. A. | 62 | E | AML M3 |
| Olgu 30 | K. Ö. | 75 | E | AML M4 |
| Olgu 31 | M. P. | 72 | E | AML M6? |
| Olgu 32 | H. G. | 33 | E | AML M0/M1? |
| Olgu 33 | C. K. | 43 | E | AML M3 |
| Olgu 34 | E. Ö. | * | E | AML |
| Olgu 35 | F. Ş. | 63 | E | AML |
| Olgu 36 | M. T. | 57 | E | AML M4 |
| Olgu 37 | M.Ö. | 59 | K | AML |
| Olgu 38 | M. M. Ö. | 62 | E | AML M4 |
| Olgu 39 | M. S. K. | 57 | E | AML |
| Olgu 40 | G. Ü. | 66 | K | AML |

* İşaretli olgunun yaş bilgisine ulaşamamıştır.

Tablo 4-2: Olgulara ait klinik bilgiler

| Olgu No | Lökosit (WBC) | Hemoglobin (HGB) | Trombosit (PLT) | LDH | Periferik kanda blast yüzdesi | Kemik iliğinde blast yüzdesi | İndüksiyona yanıt |
|----------------|----------------------|-------------------------|------------------------|------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| Olgu 1 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 2 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 3 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 4 | 2300 | 8.9 | 28000 | 400 | -* | -* | TAM REMİSYON YOK |
| Olgu 5 | 7100 | 5.1 | 35000 | 662 | 84% | 58% | TAM REMİSYON |
| Olgu 6 | 3500 | 10,4 | 41000 | 1076 | 74% | 77% | KİSMİ REMİSYON |
| Olgu 7 | 4500 | 4.2 | 17000 | -* | 66% | 88% | TAM REMİSYON YOK |
| Olgu 8 | 3200 | 5,4 | 26000 | -* | -* | -* | TAMREMİSYON YOK |
| Olgu 9 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 10 | 58800 | 8.9 | 97000 | -* | -* | -* | TAM REMİSYON |
| Olgu 11 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 12 | 46 | 200.000 | -* | -* | -* | -* | 2.İNDUKSİYONA YANIT VAR |
| Olgu 13 | 2000 | 5,7 | 11000 | -* | 34% | 67% | TAM REMİSYON |
| Olgu 14 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 15 | 75000 | 14 | 25000 | -* | -* | 90% | TAM REMİSYON |
| Olgu 16 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 17 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 18 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 19 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 20 | 15250 | 7,6 | 108000 | 416 | 90% | -* | -* |
| Olgu 21 | 7890 | 11.8 | 88000 | -* | 0% | -* | TAM REMİSYON |

Tablo 4-2 Devam

| | | | | | | | |
|---------|----------|----------|--------|------|-----|-----|-------------------------|
| Olgu 22 | 238000 | 13,5 | -* | 808 | 84% | 88% | -* |
| Olgu 23 | 25080 | 9.1 | 24000 | -* | 50% | 64% | TAM REMİSYON |
| Olgu 24 | 33000 | 7.7 | 26000 | 442 | 86% | 64% | TAM REMİSYON YOK |
| Olgu 25 | 1800 | 10,9 | 68000 | 634 | 10% | 82% | -* |
| Olgu 26 | SİTOPENİ | SİTOPENİ | NORMAL | -* | -* | -* | TAM REMİSYON |
| Olgu 27 | 191000 | 7,3 | 37000 | -* | 70% | 88% | REMİSYONA BAKILMADAN EX |
| Olgu 28 | 7800 | 12,7 | 201000 | 1261 | 0% | 37% | 2 KÜR 3/7 DE REMİSYON |
| Olgu 29 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 30 | 4710 | 8,9 | 79000 | -* | 6% | 60% | -* |
| Olgu 31 | 1300 | 8.5 | 21000 | -* | 6% | 30% | -* |
| Olgu 32 | 7390 | 3,9 | 80000 | 2046 | -* | -* | TAM REMİSYON YOK |
| Olgu 33 | 490 | 8,6 | 8000 | - | 84% | -* | TAM REMİSYON |
| Olgu 34 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 35 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | -* |
| Olgu 36 | 152000 | 9,7 | 67000 | 1063 | -* | -* | TAM REMİSYON YOK |
| Olgu 37 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | |
| Olgu 38 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | TAM REMİSYON |
| Olgu 39 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | TAM REMİSYON |
| Olgu 40 | -* | -* | -* | -* | -* | -* | TAM REMİSYON |

*: Bu olgulara ait bilgilere ulaşamadık

Tablo 4-3: Olgulara ait konvansiyonel sitogenetik analiz sonuçları

| Olgu No | İncelenen Metafaz Sayısı | Karyotip | Karyotip Tipi |
|----------------|---------------------------------|--|----------------------|
| 1 | 18 | 44~49,XY,del(5p)[17],-7[2],add(8q)[12],del(9q)[10],-10[2],del(12p)[16],-13[2],-16[2],-18[18],+21[16],mar1[17],+mar2[16],+mar3[2][cp18] | *KK *MK |
| 2 | 8 | 41~45,XY,-3,-5,-7,der(17)t(17;?;?)(p13;?;?)-18,+mar1,+mar2,+mar3[cp8] | KK MK |
| 3 | 19 | 40~53,XX,-X[3],+6[2],+9[8],t(9;22)(q34;q11)[19],+13[9],+14[4],+15[10],+17[6],+18[9],+19[9],+20[3],+21[8],del(21)(q22)[2],+22[7],der(22)t(9;22)(q34;q11)[9][cp19] | KK |
| 4 | 17 | 42~46,XY,-15[3],-18[5][cp8]/46,XY[9] | MK |
| 5 | 17 | 29~45,<2n>,XX,-X[5],-7[10],-17[4],-18[4],-19[5],-21[4],-22[3][cp15] /46,XX[2] | KK MK |
| 6 | 16 | 37~45,XY,-9[3],-22[3][cp6]/46,XY[10] | MK |
| 7 | 18 | 41~45,XX,-7[3],-8[4],-10[3],-11[3],-15[3][cp7]/46,XX[11] | KK MK |
| 8 | 22 | 41~45,XX,-X[4],-5[18]-7[5],-12[19],-14[18],-16[16],-17[16],-18[5],-21[3],+mar1[19],+mar2[16],+mar3[16],+mar4[5],+mar5[3][cp20] /46,XX[2] | KK MK |
| 9 | 18 | 40~45,XX,-8[4],-15[3],-18[3],+mar3[3][cp8] /25~32,X,+8[2],+19[2],+mar2[2][cp2]/46,XX[8] | KK MK |
| 10 | 18 | 46,XX[18] | *NK |
| 11 | 20 | 45~47,XY,+1[20],der(1)t(1;7)(p12?;p12?)[20],-7[20],+mar2[2][cp20] | KK MK |
| 12 | 18 | 46,XX[18] | NK |

Tablo 4-3 Devam

| | | | |
|----|----|--|----------|
| 13 | 14 | 46,XY[14] | NK |
| 14 | 2 | 46,XX[2] | NK |
| 15 | 15 | 46,XY[15] | NK |
| 16 | 2 | 46,XY[2] | NK |
| 17 | 20 | 46~52,XY,+1[20],der(1)t(1;7)(p11;p11)[20], -7[20], +14[5],+16[6],+21[6],+22[6][cp20] | KK MK |
| 18 | 11 | 46,XX[11], | NK |
| 19 | 12 | 46,XX[12] | NK |
| 20 | 16 | 46,XY[16] | NK |
| 21 | 16 | 46,XX[16] | NK |
| 22 | 18 | 46,XX[18] | NK |
| 23 | 14 | 46,XX[14] | NK |
| 24 | 20 | 44~45,X,add(Y)(q12)[18],t(3;17)(p22;q11)[18], -5[18],-16[18], der(18)?[4], der(19)t(13;19)(q12;q12)[18], -20[3], +mar1[18], +mar2[2][cp18] / 46,XY[2] | KK MK |
| 25 | 15 | 46~50,XY,+8[2],+9[3],+21[3][cp5]/46,XY[10] | KK |
| 26 | 19 | 46,XX[19] | NK |
| 27 | 18 | 46,XY[18] | NK |
| 28 | 17 | 46,XY[17] | NK |
| 29 | 16 | 46,XY[16] | NK |
| 30 | 20 | 45~48,XY,+mar1[13],+mar1[8],+mar2[8][cp20] | KK |
| 31 | 17 | 46,XY[17] | NK |
| 32 | 2 | 46,XY[2] | NK |
| 33 | 2 | 46,XY[2] | NK |

Tablo 4-3 Devam

| | | | |
|----|----|---|----------|
| 34 | 18 | 46,XX[18] | NK |
| 35 | 16 | 46,XY[16] | NK |
| 36 | 16 | 46,XY[18] | NK |
| 37 | 19 | 46,XX[19] | NK |
| 38 | 12 | 42~47,XY,del(2)(p13)[10],+4[3],t(4;19)(q21;p or q13)[4],der(4)t(4;19)(q21;p or q13)[6],-5[10], add(8)(p23)[8],-10[3], -11[7], i(11)(q10)[10],+13[8],add(13)(q34)[10],-17[4],+19[2], +20[4], -22[5], der(?)t(?)6)(?;p12)[7], +mar1[7], +mar2[4][cp10]/46,XY[2] | KK MK |
| 39 | 18 | 41~45,XY,-18[3],-20[3][cp5] /25~34,X,+1[3],+3[2],+7[2], +12[2], +14[2], +15[2], +20[2],+22[2][cp3] /46,XY[10] | KK MK |
| 40 | 21 | 40~46,XX,del(11)(q21)[18],-18[3],-20[3],-21[4][cp18] /24~31, X,+X[3],+1[3], +2[3][cp3] | KK MK |

***KK- Kompleks Karyotip, MK- Monozomal Karyotip, NK- Normal Karyotip**

Tablo 4-4: 40 olgunun kompleks, monozomal ve normal karyotipe göre dağılımları

| Karyotip Grubu | Olgu Sayısı |
|---|--------------------|
| Kompleks Karyotip (KK) | 3 |
| Monozomal Karyotip(MK) | 2 |
| Kompleks ve Monozomal Karyotip (KK+MK) | 12 |
| Toplam Kompleks Karyotip (KK ve KK+MK) | 15 |
| Toplam Monozomal Karyotip (MK ve KK+MK) | 14 |
| Normal Karyotip (NK) | 23 |

Tablo 4-5: Olguların FISH analiz sonuçları

| Olgu No | KARYOTİP | İncelenen İnterfaz Nukleus Sayısı | FISH SONUÇLARI (%) | |
|---------|--|-----------------------------------|--------------------|--------|
| | | | del(17)(p13.1) | -17 |
| 1 | 44~49,XY,del(5p)[17],-7[2],add(8q)[12],del(9q)[10],-10[2],del(12p)[16],-13[2],-16[2],-18[18],+21[16],mar1[17],+mar2[16],+mar3[2][cp18] | 447 | %7,83 | %6,71 |
| 2 | 41~45,XY,-3,-5,-7,der(17)t(17;?;?)(p13;?;?)-18,+mar1,+mar2,+mar3[cp8] | 450 | %53,33 | %23,55 |
| 3 | 40~53,XX,-X[3],+6[2],+9[8],t(9;22)(q34;q11)[19],+13[9],+14[4],+15[10],+17[6],+18[9],+19[9],+20[3],+21[8],del(21)(q22)[2],+22[7],der(22)t(9;22)(q34;q11)[9][cp19] | 350 | %8,86 | %4,86 |
| 4 | 42~46,XY,-15[3],-18[5][cp8]/46,XY[9] | 451 | %11,71 | %3,99 |
| 5 | 29~45,<2n>,XX,-X[5],-7[10],-17[4],-18[4],-19[5],-21[4],-22[3][cp15]/46,XX[2] | 350 | %8,57 | %5,43 |
| 6 | 37~45,XY,-9[3],-22[3][cp6]/46,XY[10] | 410 | %4,63 | %8,78 |
| 7 | 41~45,XX,-7[3],-8[4],-10[3],-11[3],-15[3][cp7]/46,XX[11] | 472 | %4,87 | %3,60 |
| 8 | 41~45,XX,-X[4],-5[18]-7[5],-12[19],-14[18],-16[16],-17[16]-18[5],-21[3], +mar1[19], +mar2[16], +mar3[16], +mar4[5]+mar5[3][cp20]/46,XX[2] | 350 | %29,14 | %18 |
| 9 | 40~45,XX,-8[4],-15[3],-18[3], +mar3[cp8]/25~32,X,+8[2],+19[2],+mar2[cp2]/46,XX[8] | 350 | %5,14 | %6 |
| 10 | 46,XX[18] | 350 | %3,14 | %1,71 |
| 11 | 45~47,XY,+1[20],der(1)t(1;7)(p12?;p12?) [20],-7[20],+mar2[cp20] | 519 | %5,59 | %4,62 |
| 12 | 46,XX[18] | 350 | %4,57 | %4,57 |
| 13 | 46,XY[14] | 350 | %1,14 | %1,71 |
| 14 | 46,XX[2] | 350 | %0,57 | %3,14 |
| 15 | 46,XY[15] | 350 | %4,28 | %3,42 |
| 16 | 46,XY[2] | 500 | %2,6 | %2,6 |
| 17 | 46~52,XY,+1[20],der(1)t(1;7)(p11;p11)[20],-7[20],+14[5],+16[6],+21[6],+22[6][cp20] | 350 | %7,42 | %7,71 |
| 18 | 46,XX[11], | 350 | %2,28 | %5,14 |
| 19 | 46,XX[12] | 350 | %2 | %2 |

Tablo 4-5 Devam

| | | | | |
|----|---|-----|--------|--------|
| 20 | 46,XY[16] | 502 | %2,59 | %2,19 |
| 21 | 46,XX[16] | 350 | %1,14 | %1,43 |
| 22 | 46,XX[18] | 350 | %4,28 | %1,43 |
| 23 | 46,XX[14] | 350 | %1,14 | %2 |
| 24 | 44~45,X,add(Y)(q12)[18],t(3;17)(p22;q11)[18],-5[18],-16[18] der(18)?[4],der(19)t(13;19)(q12;q12)[18],-20[3], +mar1[18],+mar2[2][cp18]/ 46,XY[2] | 350 | %8,57 | %19,42 |
| 25 | 46~50,XY,+8[2],+9[3],+21[3][cp5]/46,XY[10] | 505 | %6,13 | %2,97 |
| 26 | 46,XX[19] | 350 | %4 | %4,28 |
| 27 | 46,XY[18] | 350 | %1,42 | %1,71 |
| 28 | 46,XY[17] | 350 | %2,28 | %2,85 |
| 29 | 46,XY[16] | 350 | %1,71 | %0,3 |
| 30 | 45~48,XY,+mar1[13],+mar1[8],+mar2[8][cp20] | 502 | %5,38 | %3,38 |
| 31 | 46,XY[17] | 350 | %1,42 | %1,42 |
| 32 | 46,XY[2] | 409 | %1,22 | %5,72 |
| 33 | 46,XY[2] | 455 | %2,65 | %4,49 |
| 34 | 46,XX[18] | 500 | %2,2 | %3,2 |
| 35 | 46,XY[16] | 511 | %28,57 | %16,82 |
| 36 | 46,XY[18] | 350 | %1,42 | %1,14 |
| 37 | 46,XX[19] | 460 | %1,30 | %2,60 |
| 38 | 42~47,XY,del(2)(p13)[10],+4[3],t(4;19)(q21;p or q13)[4], der(4)t(4;19)(q21;p or q13)[6],-5[10],add(8)(p23)[8],-10[3], -11[7],i(11)(q10)[10],+13[8],add(13)(q34)[10],-17[4], +19[2], +20[4],-22[5], t(?;6)(?;p12)[7], +mar1[7], +mar2[4][cp10] /46,XY[2] | 551 | %91,10 | %3,99 |
| 39 | 41~45,XY,-18[3],-20[3][cp5] /25~34,X, +1[3], +3[2], +7[2], +12[2], +14[2],+15[2],+20[2],+22[2][cp3] /46,XY[10] | 552 | %9,78 | %2,89 |
| 40 | 40~46,XX,del(11)(q21)[18],-18[3],-20[3],-21[4][cp18] /24~31,X, +X[3],+1[3],+2[3][cp3] | 510 | %6,07 | %2,84 |

4.1. Olguların Karyotip ve FISH Değerlendirmeleri

Olgu 1: AML M1 tanısı konulmuş 28 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks karyotip hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. 18 metafazda yapılan inceleme sonucunda 44-49 arasında değişen kromozom sayısı ile 7, 10, 13, 16 ve 18. kromozomların monozomisi ve 21. kromozomun trizomisi görülmüştür. Gözlenen yapısal anomaliler ise del(5p), add(8q), del(9q), del(12p)'dir. Ayrıca marker kromozomlarda saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 447 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %7,83 oranında delesyon görülürken %6,71 oranında 17. kromozomun monozomisi gözlenmiştir. Bu sonuçlar cut-off değerlerinin üstünde olup delesyon ve monozomiyle uyumludur.

Olgu 2: AML tanılı 47 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. 8 metafazda yapılan inceleme sonucunda 41-45 arasında değişen kromozom sayısı ile 3, 5, 7 ve 18. kromozomun monozomisi görülmüştür. Gözlenen yapısal anomali der(17)'dir. Ayrıca marker kromozomlarda saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 450 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %53,33 oranında delesyon görülürken, %23,55 oranında 17. kromozomun monozomisi gözlenmiştir. Bu sonuçlar cut-off değerlerinin üstünde olup delesyon ve monozomiyle uyumludur.

Olgu 3: AML tanılı 53 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. 19 metafazda yapılan inceleme sonucunda 40-50 arasında değişen kromozom sayısı ile 6, 9, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21 ve 22. kromozomun trizomisi görülürken X'in monozomisi gözlenmiştir. Gözlenen yapısal anomaliler t(9;22)(q34;q11), del(21)(q22) ve der(22)t(9;22)(q34;q11)'dir. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %8,86 oranında delesyon saptanırken, %4,86 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu sonuçlar cut-off değerlerinin üstünde olup delesyon ve monozomiyle uyumludur.

Olgu 4: AML tanılı 46 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda monozomal karyotip gözlenmiştir. 17 metafazda yapılan inceleme sonucunda, 8 metafazda 42-46 arasında değişen kromozom sayısı ile 15 ve 18. kromozomların monozomisi görülürken, 9 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 451 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %11,71 oranında delesyon görülürken, %3,99 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu sonuçlar cut-off değerlerinin üstünde olup delesyon ve monozomiyle uyumludur.

Olgu 5: AML M2 tanılı 31 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. 17 metafazda yapılan inceleme sonucunda, 15 metafazda 29-45 arasında değişen kromozom sayısı ile 7, 17, 18, 19, 21, 22 ve X kromozomlarının monozomisi görülürken. 2 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %8,57 oranında delesyon görülürken, %5,43 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu sonuçlar cut-off değerlerinin üstünde olup delesyon ve monozomiyle uyumludur.

Olgu 6: Kök hücre transplantasyonu uygulanmış AML M2 tanılı 50 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda monozomal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 16 metafazın 6'sında 37-45 arasında değişen kromozom sayısı ile 9 ve 22. kromozomların monozomisi görülürken 10 metafazda 46,XY kromozom yapısı gözlenmiştir. Yapılan FISH sonucunda 410 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %4,63 oranında delesyon görülürken, %8,78 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 7: AML M2 tanılı 45 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 18 metafazın 7'sinde 41-45 arasında değişen

kromozom sayısı ile 7, 8, 10, 11 ve 15. Kromozomların monozomisi görülürken, 11 metafazda 46,XX kromozom yapısı gözlenmiştir. Yapılan FISH sonucunda 472 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %4,87 oranında delesyon görülürken, %3,60 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 8: AML tanılı 69 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 22 metafazın 20'sinde 41-45 arasında değişen kromozom sayısı ile 5, 7, 12, 14, 16, 17, 18, 21 ve X kromozomlarının monozomisi ve marker kromozomlar gözlenirken, 2 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %29,14 oranında delesyon görülürken, %18 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu sonuçlar cut-off değerlerinin üstünde olup delesyon ve monozomiyle uyumludur.

Olgu 9: AML tanılı 51 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 18 metafazın 8'inde 40-45 arasında değişen kromozom sayısı ile 8, 18 ve 19. kromozomların monozomisi ve marker kromozom gözlenirken 2'sinde 25-32 arasında değişen (haploid) kromozom sayısı, 8. ve 19. kromozomlarda artış ve marker kromozom görülmüştür. 8 sahada ise 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %5,14 oranında delesyon gözlenirken, %6 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 10: AML M5 tanılı 53 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. 18 metafazda yapılan inceleme sonucunda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %3,14

oranında delesyon gözlenirken, %1,71 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu sonuçlar cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 11: AML tanılı 54 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. 20 metafazda yapılan inceleme sonucunda 45-47 arasında değişen kromozom sayısı ile 1. kromozomun trizomisi ve 7. kromozomun monozomisi görülmüştür. Gözlenen yapısal anomali der(1)t(1;7)(p12?;p12?)'dir. Ayrıca marker kromozomda gözlenmiştir. Yapılan FISH sonucunda 519 interfaz nükleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %5,59 oranında delesyon gözlenirken, %4,62 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 12: AML tanılı 46 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 18 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nükleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %4,57 oranında delesyon gözlenirken, %4,57 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 13: AML tanılı 52 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. 14 metafazda yapılan inceleme sonucunda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nükleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %1,14 oranında delesyon gözlenirken, %1,71 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 14: AML tanılı 70 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir.

İncelenen 2 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %0,57 oranında delesyon gözlenirken, %3,14 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp monozomiyle uyumludur.

Olgu 15: AML M1 tanılı 50 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 15 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %4,28 oranında delesyon gözlenirken, %3,42 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp monozomiyle uyumludur.

Olgu 16: AML tanılı 62 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 2 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 500 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %2,6 oranında delesyon gözlenirken, %2,6 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 17: AML tanılı 56 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 20 metafazda 46-52 arasında değişen kromozom sayısı ile 1, 14, 16, 21 ve 22. kromozomların trizomisi saptanırken, 7. kromozomun monozomisi görülmüştür. Gözlenen yapısal anomali ise der(1)t(1;7)(p11;p11)'dir. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %7,42 oranında delesyon gözlenirken, %7,71 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp monozomiyle uyumludur.

Olgu 18: AML tanılı 22 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 11 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH

sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %2,28 oranında delesyon gözlenirken, %5,14 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp monozomiyle uyumludur.

Olgu 19: AML tanılı 40 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 12 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %2 oranında delesyon gözlenirken, %2 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 20: AML tanılı 35 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 16 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 502 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %2,59 oranında delesyon gözlenirken, %2,19 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 21: AML tanılı 45 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 16 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %1,14 oranında delesyon gözlenirken, %1,43 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 22: AML tanılı 78 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 18 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %4,28 oranında delesyon gözlenirken, %1,43 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 23: AML M4 tanılı 24 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 14 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %1,14 oranında delesyon gözlenirken, %2 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 24: AML tanılı 49 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 20 metafazın 18'inde 44-45 arası değişen kromozom sayısı ile 5, 16 ve 20. kromozomların monozomisi görülmüştür. Gözlenen yapısal anomaliler add(Y)(q12), t(3;17)(p22;q11), der(18)? ve der(19)t(13;19)(q12;q12)'dur. Ayrıca marker kromozomlarda görülmüştür. 2 metafazda ise 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %8,57 oranında delesyon gözlenirken, %19,42 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin üstünde olup delesyon ve monozomiyle uyumludur.

Olgu 25: AML tanılı 51 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda kompleks karyotip gözlenmiştir. İncelenen 15 metafazın 5'inde 46-50 arasında değişen kromozom sayısı ile 8, 9 ve 21. kromozomların trizomisi görülmüştür. 10 metafazda ise 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 505 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %6,13 oranında delesyon gözlenirken, %2,97 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 26: AML tanılı 28 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 19 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda

350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %4 oranında delesyon gözlenirken, %4,28 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 27: AML tanılı 61 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 18 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %1,42 oranında delesyon gözlenirken, %1,71 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 28: AML tanılı 30 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 17 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %2,28 oranında delesyon gözlenirken, %2,85 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 29: AML M3 tanılı 62 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 16 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %1,71 oranında delesyon gözlenirken, %0,3 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 30: AML M4 tanılı 75 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda kompleks karyotip gözlenmiştir. İncelenen 20 metafazda 45-48 arası değişen kromozom sayısı ile marker kromozomlar görülmüştür. Yapılan FISH sonucunda 502 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %5,38 oranında delesyon gözlenirken, %3,38 oranında 17. kromozomun

monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 31: AML tanılı 72 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 17 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %1,42 oranında delesyon gözlenirken, %1,42 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 32: AML tanılı 33 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 2 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 409 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %1,22 oranında delesyon gözlenirken, %5,72 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 33: AML M3 tanılı 43 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 2 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 455 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %2,65 oranında delesyon gözlenirken, %4,49 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 34: Kök hücre transplantasyonu uygulanmış AML tanılı erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 18 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 500 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %2,2 oranında delesyon gözlenirken, %3,2 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon ile uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.

Olgu 35: AML tanılı 63 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 16 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 511 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %28,57 oranında delesyon gözlenirken, %16,82 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin üstünde olup delesyon ve monozomiyle uyumludur.

Olgu 36: AML M4 tanılı 57 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 18 metafazda 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 350 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %1,42 oranında delesyon gözlenirken, %1,14 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

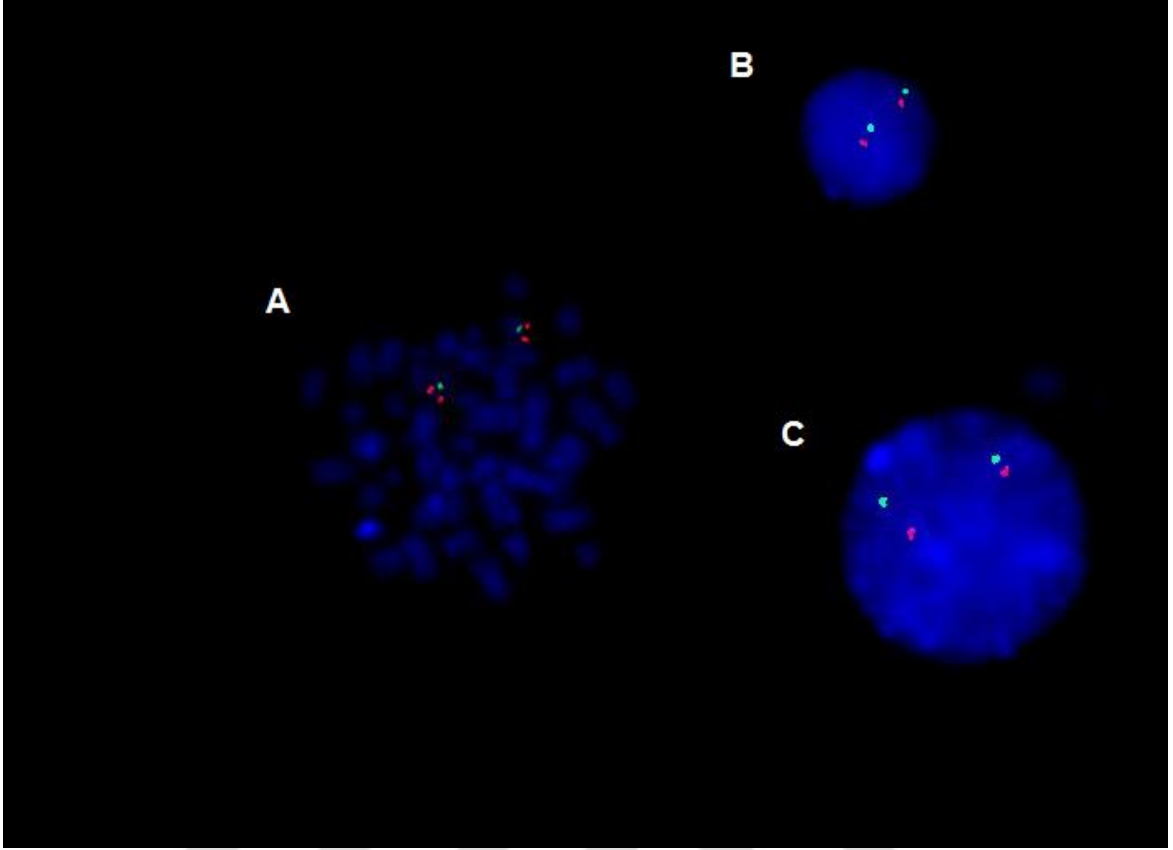
Olgu 37: AML tanılı 59 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda normal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 19 metafazda 46,XX kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 460 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %1,30 oranında delesyon gözlenirken, %2,60 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin altında olup delesyon ve monozomiyle uyumlu değildir.

Olgu 38: AML M4 tanılı 62 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 12 metafazın 10'unda 42-47 arasında değişen kromozom sayısı görülürken, 4, 13, 19 ve 20. kromozomların trizomisi ile 5, 10, 11, 17 ve 22. kromozomların monozomisi saptanmıştır. Gözlenen yapısal anomaliler ise del(2)(p13), t(4;19)(q21;p or q13), der(4)t(4;19)(q21;p or q13), add(8)(p23), i(11)(q10), add(13)(q34) ve der(?) t(?;6)(?;p12)'dir. Ayrıca marker kromozomlar da gözlenmiştir. İncelenen 2 metafazda ise 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 551 interfaz nukleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %91,10 oranında

delesyon gözlenirken, %3,99 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler cut-off değerinin üstünde olup delesyon ve monozomiyle uyumludur.

Olgu 39: AML tanılı 57 yaşındaki erkek hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 18 metafazın 3'ünde 41-45 arası değişen kromozom sayısı ile 18 ve 20. kromozomların monozomisi görülmüştür. 3 metafazda 25-34 arası değişen (haploid) kromozom sayısı ile birlikte 1, 3, 7, 12, 14, 15, 20 ve 22. kromozomlarda artış gözlenmiştir. İncelenen 10 metafazda ise 46,XY kromozom yapısı saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 552 interfaz nükleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %9,78 oranında delesyon gözlenirken, %2,89 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler monozomiyle uyumlu olmayıp yalnızca delesyon ile uyumludur.

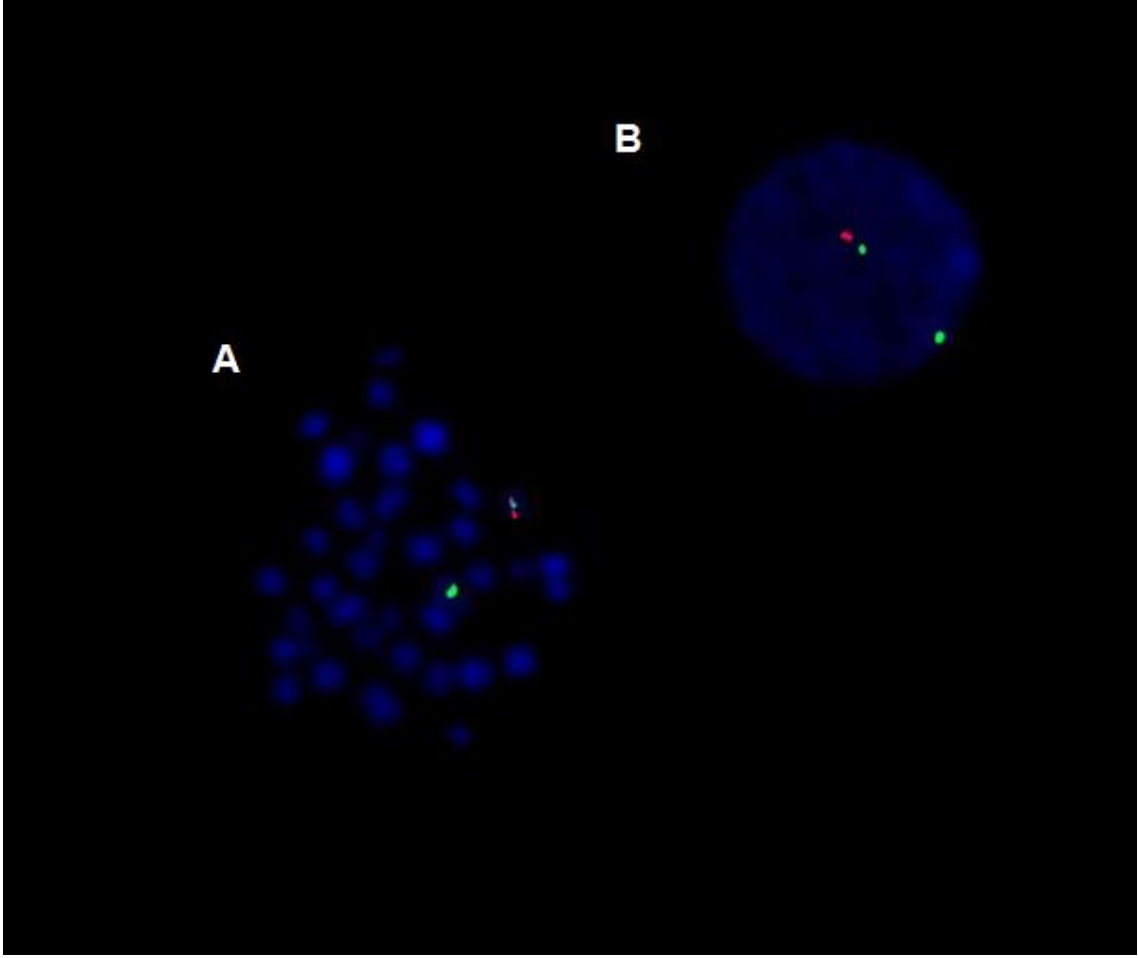
Olgu 40: AML tanılı 66 yaşındaki kadın hastanın kemik iliği aspirasyon materyaline yapılmış olan G bantlama sonucunda hem kompleks hem de monozomal karyotip gözlenmiştir. İncelenen 21 metafazın 18'inde 40-46 arasında değişen kromozom sayısı ile 18, 20 ve 21. kromozomların monozomisi görülmüştür. Gözlenen yapısal anomali ise del(11)(q21)'dir. İncelenen 3 metafazda ise 24-31 arasında değişen (haploid) kromozom sayısı ile birlikte 1, 2 ve X kromozomlarında artış saptanmıştır. Yapılan FISH sonucunda 510 interfaz nükleusu incelenmiş olup, 17p13.1 bölgesinde %6,07 oranında delesyon gözlenirken, %2,84 oranında 17. kromozomun monozomisi görülmüştür. Bu değerler delesyon için uyumlu olmayıp yalnızca monozomiyle uyumludur.



Şekil 4-1: Olgu 31'e Ait FISH Görüntüsü

A - Normal metafaz görüntüsü

B ve C - Normal interfaz görüntüsü



Şekil 4-2: Olgu 38'e ait FISH Görüntüsü.

A- 17p13.1 (TP53) delesyonu içeren metafaz görüntüsü

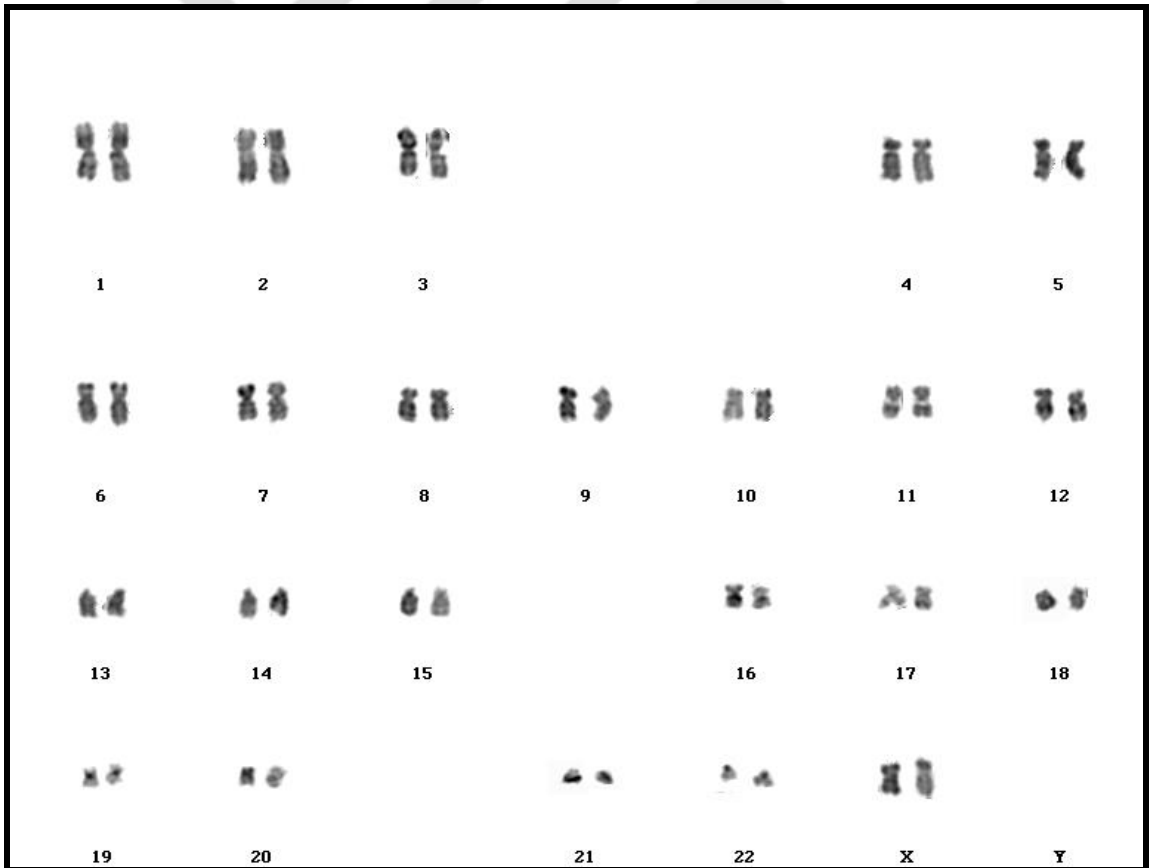
B- 17p13.1 (TP53) delesyonu içeren interfaz görüntüsü



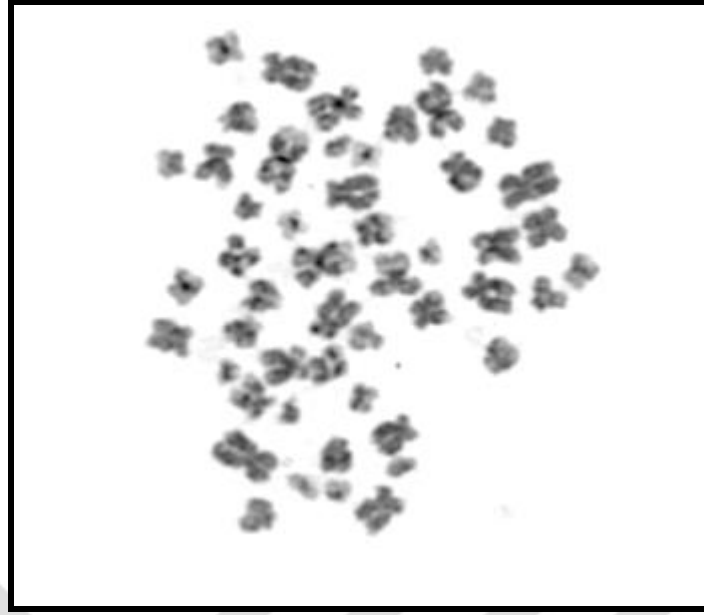
Şekil 4-3: Olgu 35'e ait monozomi 17'yi gösteren FISH görüntüsü



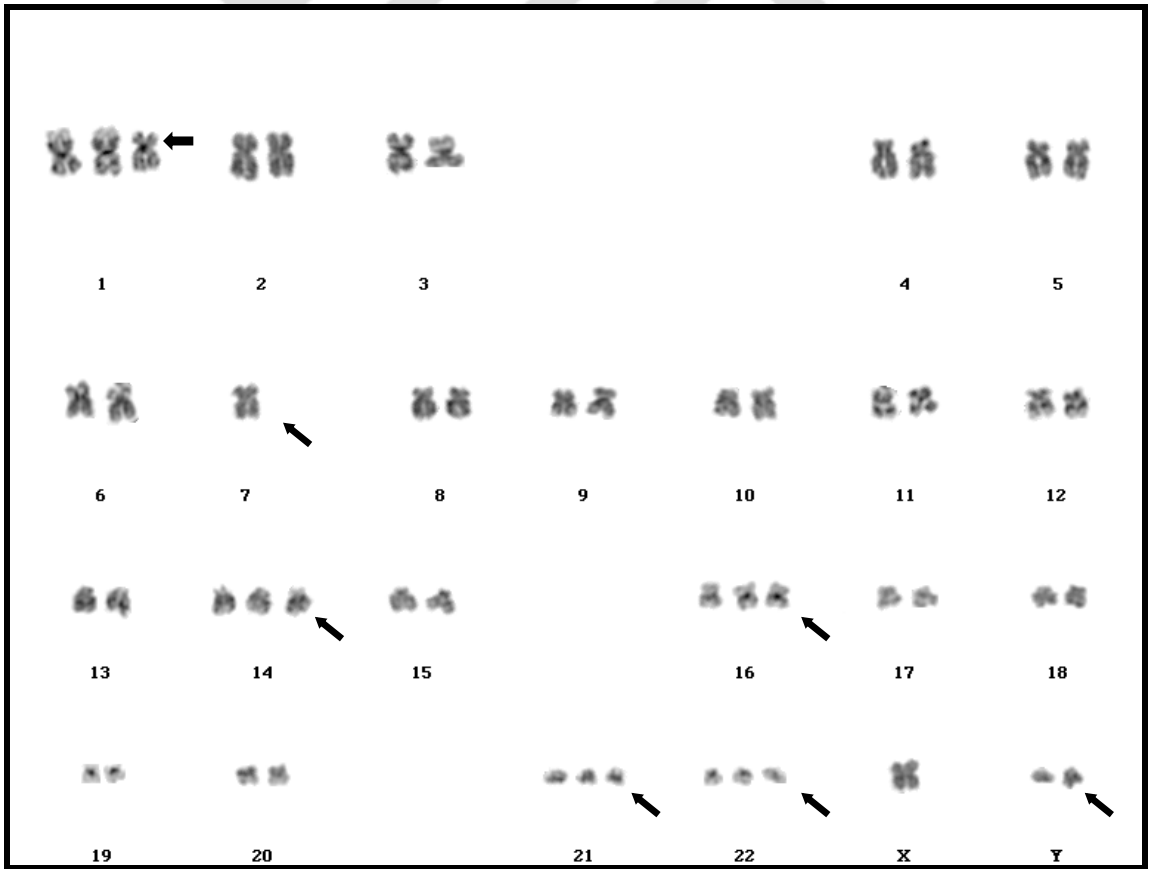
Şekil 4-4: Olgu 37'ye ait metafaz görüntüsü



Şekil 4-5: Olgu 37'ye ait 46,XX yapısındaki karyotip görüntüsü.



Şekil 4-6: Olgu 17'ye ait metafaz görüntüsü

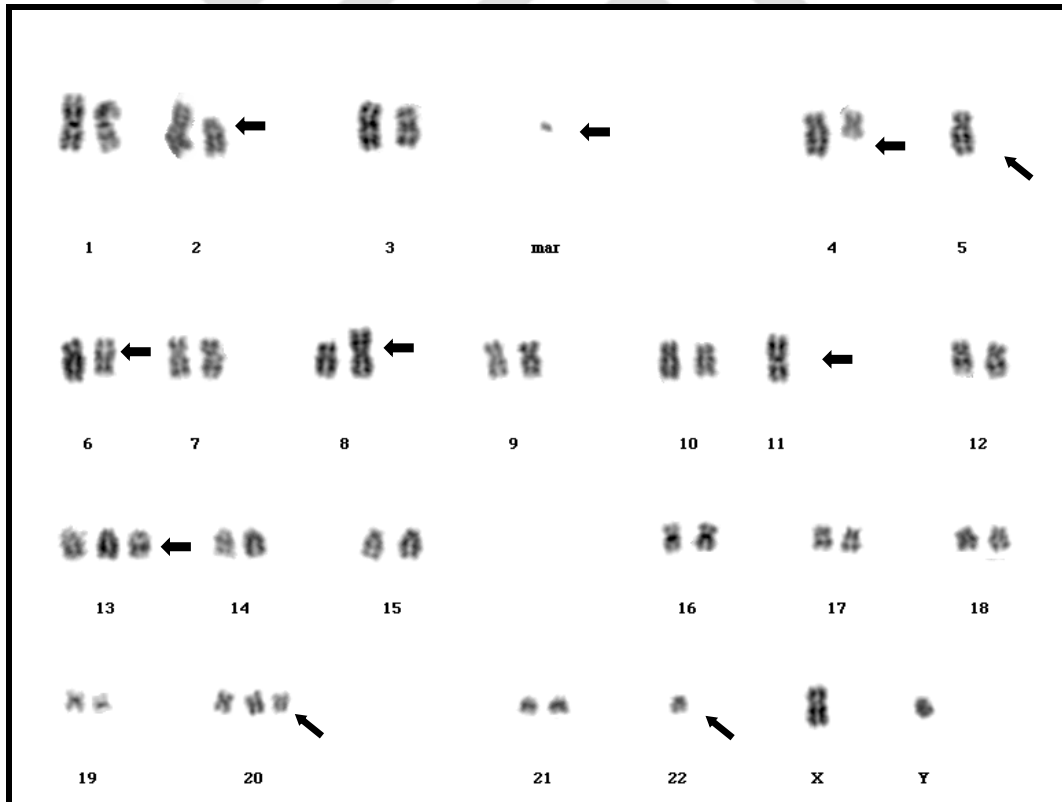


Şekil 4-7: Olgu 17'ye ait 51,XY, +Y, +1, der(1)t(1;7)(p11;p11), -7, +14, +16, +21, +22 kromozom yapısına sahip karyotip görüntüsü

← Yapısal kromozom anomalisi, ↘ Sayısal kromozom anomalisi



Şekil 4-8: Olgu 38' e ait metafaz görüntüsü



Şekil 4-9: Olgu 38'e ait 46,XY,del(2)(p13), der(4)t(4;19)(q21.1;p or q 13), -5, add(8)(p23), -11, i(11)(q10), +13, add(13)(q34), +20, -22, der(?)t(?;6)(?;p12), +mar1kromozom yapısına sahip karyotip görüntüsü

← Yapısal kromozom anomalisi, ↗ Sayısal kromozom anomalisi

5. TARTIŞMA

AML'de karyotip; sağkalım ve indüksiyon tedavisine yanıt bakımından en önemli prognostik faktördür. Hastalar içerdikleri sitogenetik anomaliye göre düşük, orta ve yüksek risk grubu içerisinde değerlendirilirler (Marchesi ve ark. 2011; Lu ve ark. 2015). Düşük risk grubunda gözlenen sitogenetik anomaliler t(15;17)(q24;q21), t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22); orta risk grubunda gözlenen sitogenetik anomaliler t(9;11)(p21;q23), -Y, +8, normal karyotip; yüksek risk grubunda gözlenen sitogenetik anomaliler ise inv(3)(q21q26)/ t(3;3)(q21;q26), -5/ del(5q)/ add(5q), -7/ del(7q)/ add(7q), 11q23 bölgesini içeren translokasyonlar [t(9;11) dışında], -17/17p anomalileri ve kompleks karyotiplerdir (Morrissette ve Bagg 2011).

Üç veya daha fazla kromozom anomalisine sahip kompleks karyotipli AML'ler, yetişkin AML'lerin %10 ile %15'ini oluşturur ve sıklığı yaşla birlikte artar. Yoğun veya yoğun olmayan konvansiyonel terapiyle tedavi edildiğinde olumlu sonuç alınmadığı için yüksek risk grubu içerisinde dirler (Rucker ve ark. 2012).

Breems ve arkadaşları tarafından tanımlanan monozomal karyotip; en az iki otozomal monozomi veya en az bir yapısal kromozom anomaliyle birlikte tek bir otozomal monozomi içeren karyotip olarak adlandırılmaktadır (Breems ve ark. 2008; Gaillard ve ark. 2012). Monozomal karyotipin AML'de sıklığı yaşla birlikte artmaktadır, 30 yaşın altındaki hastalarda %4, 60 yaşın altında hastalarda %6-10, 60 yaşın üstündeki hastalarda ise %13-20'dir (Chin ve ark. 2013). Monozomal karyotip kötü pronozla ilişkilidir. Monozomal karyotipe sahip hastalar yüksek risk grubu içerisinde yer almaktadır ve büyük çoğunluğu (%95) kompleks karyotipe sahiptir (Orozco ve Appelbaum 2012; Chin ve ark. 2013).

Analiz edilen 20 veya daha fazla metafazda klonal anomalilerin bulunmaması normal karyotip olarak adlandırılır (Marchesi ve ark. 2011). Normal karyotipe sahip AML'ler tüm AML hastalarının %35'ini oluşturur ve orta risk grubunda değerlendirilir (Mawad ve Estey 2012).

Çalışma grubumuzu oluşturan 40 olgu, kompleks karyotip, monozomal karyotip ve normal karyotip olmak üzere 3 farklı karyotip grubu içerisinde yer almaktadır.

Yapılan çalışmalarda monozomal karyotipe sahip olguların büyük çoğunluğunun kompleks karyotipe de sahip olduğu belirtilmektedir (Orozco ve Appelbaum 2012). Kayser ve ark.nın 3172 AML hastasıyla yaptıkları çalışmada monozomal karyotipe sahip olguların %76'sının kompleks karyotipe de sahip olduğu belirtilmiştir (Kayser ve ark. 2012). Yang ve ark.nın 1147 olgu ile yaptıkları çalışmada, monozomal karyotipe sahip olguların %80'inin kompleks karyotipe de sahip olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark. 2012). Wawrzyniak ve ark.nın 50 olgu ile yaptıkları çalışmada ise monozomal karyotipe sahip olguların %90'ının kompleks karyotipe de sahip olduğu belirtilmiştir (Wawrzyniak ve ark. 2013). Benzer şekilde Voutiadou ve ark.nın 549 olgu ile yaptıkları çalışmada da monozomal karyotipe sahip olguların %91'inin kompleks karyotipe sahip olduğu gösterilmiştir (Voutiadou ve ark. 2013). Bizim çalışma grubumuzda ise monozomal karyotipe sahip olguların %78,21'inin kompleks karyotipe de sahip olduğu görülmüş olup, bu oranın Kayser ve ark. ile Yang ve ark.nın yapmış oldukları çalışmayla uyumlu bulunmuştur.

Kompleks ve monozomal karyotipin AML'de görülme sıklığı yaşla birlikte artış göstermektedir. 60 yaş ve üzeri AML hastalarında kompleks karyotip ve monozomal karyotip görülme sıklığı daha yüksektir (Marchesi ve ark. 2011; Chin ve ark. 2013). Çalışma grubumuzda yer alan kompleks ve monozomal karyotipe sahip olguların yaş ortalaması 53 olup literatür ortalamasına yakın bulunmaktadır.

Kompleks karyotip, AML'nin spesifik bir alt tipiyle ilişkili değildir. Ancak Schoch ve ark.nın yaptıkları çalışmada M0, M2, M5 ve M6 alt tiplerinde daha sık görüldüğü belirtilmiştir (Schoch ve ark. 2002; Schoch ve ark. 2005). Bizim çalışmamızda ise bütün hastalara ait sınıflama bilgisine ulaşamaması nedeniyle spesifik bir alt grupla ilişkilendirilememiştir.

Yapılan çalışmalarda, kompleks karyotipe sahip olguların %55-75'inde hipodiploid karyotip, %25'inde ise hiperdiploid karyotip görüldüğü belirtilmiştir (Mrozek ve ark. 2002; Mrozek ve ark. 2008; Van Limbergen ve ark. 2002; Schoch ve ark. 2002). Bizim çalışmamızda ise kompleks karyotipe sahip olguların %85,7'sinde hipodiploid karyotip, %14,3'ünde hiperdiploid karyotip görülmüş olup, hipodiploid karyotip görülme oranının literatür bilgisine göre yüksek, hiperdiploid karyotip görülme oranının ise düşük olduğu görülmüştür.

Çeşitli çalışmalarda kompleks karyotipte sahip AML'lerde sıklıkla görülen kromozom kayıplarının -5/5q-, -17/17p-, -7/7q-, -18/18q-, -16/16q-, -12/12p- olduğu, en sık görülen kromozom kazanımlarının da +8/8q+, +11/11q+, +21/21q+ ve +1/1p+ olduğu belirtilmiştir. Rücker ve ark. yapmış oldukları çalışmada en sık görülen kromozom kayıplarının -5/5q- (%63), -7/7q- (%53), -17/17p- (%45), -16/16q- (%28) -18/18q- (%28), -12/12p- (%28), -20/20q- (%24), -3/3p- (%23), -11/11q- (%15) olduğunu, en sık görülen kromozom kazanımlarının da +8/8q+ (%29), +11/11q+ (%26), +21/21q+ (%17), +1/1p+ (%16), +22/22q+ (%14), +13/13q+ (%12), +9/9p+ (%12) ve +19/19p+ (%11) olduğunu belirtmişlerdir (Rücker ve ark. 2012). Schoch ve ark yaptıkları çalışmada en sık görülen kromozom kayıplarının 5q- (%80), 17p- (%37), 12p- (%23) -7 (%20), -18 (%19), -17 (%13), en sık gözlenen kromozom kazanımlarının ise +8 (%34), 11q+ (%17), 21q+ (%15), +10 (%9), 8q+ (%8) ve +22 (%8) olduğunu göstermişlerdir (Schoch ve ark. 2002). Bizim çalışmamızda ise kompleks karyotipe sahip olgularda en sık gözlenen kromozom anomalileri -7 (%50), -18 (%42,85), -17 (%28,57), -5 (%28,57) +21 (%28,57), -10 (%21,42), -16 (%21,42), +19 (%21,42), ve -20 (%21,42)'dir. Literatür bilgisiyle kıyaslandığında çalışmamızda yer alan kompleks karyotipli olgularımızda sıklıkla görülen kromozom anomalileri benzerlik göstermektedir. Ancak bu anomalilerin görülme sıklıklarının değişken olması, yapılan çalışmalardaki hasta sayılarının farklılık göstermesinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Kompleks karyotipe sahip AML hastalarının prognozunun kötü olduğu bilinmektedir. Kompleks karyotipli AML hastalarında üç veya daha fazla anomali taşıyanların %10-44'ünde tam remisyona görülürken beş veya daha fazla anomali taşıyan hastalarda bu oran daha düşük olup %7-26'dır (Mrozek 2008). Bizim çalışma grubumuzda kompleks karyotip görülen 15 olgunun 11'i 5 veya daha fazla kromozom anomalisine sahipken, 4 olgunun karyotipinde ise üç veya dört kromozom anomalisi görülmüştür. Kompleks karyotipe sahip 15 olgunun 7'sine ait klinik bilgilere ulaşılabilmektedir. Yedi olgunun dörtünde (%57,1) tam remisyona görülmüştür. Tam remisyona sağlanan olguların üçü, 5 veya daha fazla kromozom anomalisine sahipken, olgulardan birinde gözlenen kromozom anomalisinin sayısı üçtür. Klinik bilgisine ulaşılan kompleks karyotipli 7 olgunun üçünde (%42,9) ise tam remisyona görülmemiştir. Tam remisyona görülmeyen 3 olgunun karyotipinde ise 5 veya daha fazla kromozom anomalisi bulunmaktadır. Tam remisyona oranının literatür bilgisinden

yüksek olmasının nedeninin çalışma grubumuzdaki kompleks karyotipli olguların tümünün klinik bilgisine ulaşamamasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ancak bu yorumu yapabilmek için daha fazla hasta sayısına ve bu hastaların klinik bilgilerine ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalarda, fonksiyonlarındaki kayıp nedeniyle kromozom instabilitesine neden olan genler tanımlanmıştır. Bu genler kromozom kondenzasyonunda, kardeş kromatid kohezyonunda, kinetokor yapısında, sentrozom ve mikrotübüllerin fonksiyonunda ve hücre döngüsünün devamının düzenlenmesinde önemli rol oynayan genlerdir. DNA hasarı kontrol noktasıyla ilişkili olan ATM (11q22.3), BRCA1 (17q21.31), BRCA2 (13q13.1), RAD51 (15q15.1) ve TP53 (17p13.1) gibi genler insan tümörogenezinde rol oynamaktadırlar (Schoch ve ark. 2002)

Kromozom instabilitesinde rol oynayan 17p13.1'deki TP53 geninde gözlenen değişiklikler kanserlerde en sık görülen genetik anomalilerdir. TP53 delesyonları AML'de daha az görülse de kompleks karyotipli vakaların çoğunluğunda TP53 allelinden birinin kaybı görülmektedir (Schoch ve ark. 2002). Tavor ve ark.nın 37 olgu ile yaptıkları çalışmada kompleks karyotipli AML hastalarının %75'inde TP53 delesyonu görüldüğü bildirilmiştir (Tavor ve ark. 2011). Seifert ve ark.nın 2272 olgu ile yaptıkları çalışmada kompleks karyotipe sahip hastaların %81'inde TP53 delesyonu görülmüştür (Seifert ve ark. 2009). Bizim çalışmamızda ise kompleks karyotipe sahip olguların %86,66'sında TP53 kaybı gözlenmiş olup bu oranın Seifert ve ark. çalışmasıyla uyumlu olduğu görülmüştür.

Hastalarda tam remisyonun sağlanamamasındaki major sebep tedaviye dirençtir (Mrozek 2008). Yapılan çalışmalarda TP53 genindeki fonksiyon kaybının kemoterapiye dirençle ilişkili olduğu gösterilmiştir. TP53 değişiklikleri görülen kompleks karyotipli hastalarda tam remisyon oranlarının ise önemli derecede düşük olduğu belirtilmektedir (Rücker ve ark. 2012). Çalışma grubumuzda TP53 kaybı görülen kompleks karyotipli 13 olgunun 6'sına ait klinik bilgiye ulaşılabilmıştır. 3 olguda (%50) tam remisyon görülmez iken diğer 3 olguda (%50) tam remisyon sağlanmıştır. TP53 kaybı görülmeyen kompleks karyotipli 2 olgudan birine ait klinik bilgiye ulaşılabilmiş olup bu olguda tam remisyon sağlanmıştır.

Yang ve ark.nın 1147 olguyla yaptıkları çalışmada monozomal karyotipin -7 (%43), -5/5q- (%22), -18/18q- (%13), - 20/ 20q- (%11), 12p anomalileri (%10), 17p

anomalileri (%8), 7q- (%8) ve kompleks karyotiple yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir (Yang ve ark. 2012). Kayser ve ark.nın 3172 olguyla yapmış oldukları çalışmada monozomal karyotipe sahip olgularda en sık görülen kromozom anomalilerinin -5/5q- (%55), -7 (%45), 17p anomalileri (%41), 12p anomalileri (%24), -20/20q- (%19), -18/18q- (%19) ve 7q- (%17) olduğu gösterilmiştir (Kayser ve ark. 2012). Gaillard ve ark.nın monozomal karyotipli 37 olguyla yapmış oldukları çalışmada sıklıkla görülen kromozom anomalilerinin -7 (%35), -17 (%32), -18(%24) ve -5 (%21) olduğu belirtilmiştir (Gaillard ve ark. 2012). Chin ve ark.nın monozomal karyotipli 11 olguyla yaptıkları çalışmada ise en sık görülen kromozom anomalilerinin -5/5q- (%54), -7 (%36), -16 (%36) ve 17p anomalileri (%18) olduğu gösterilmiştir (Chin ve ark. 2013). Bizim çalışma grubumuzdaki monozomal karyotipe sahip 14 olgumuzda en sık görülen kromozom anomalileri -18 (%64,28), -7(%50), -5 (%28,57), -17 (%28,57), -10 (%21,42), -15 (%21,42), -16 (%21,42), -20 (%21,42) ve -21 (%21,42)'dir. Yapılan çalışmalarla kıyaslandığında monozomal karyotipli olgularımızda sıklıkla görülen kromozom anomalilerinin literatür bilgileriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Ancak bu anomalilerin görülme sıklıklarının değişken olması, yapılan çalışmalarda hasta sayılarının farklılık göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Monozomal karyotip kötü prognozla ilişkilidir. Yapılan çeşitli çalışmalarda monozomal karyotipli AML hastalarının %18-48 arasında değişen tam remisyon oranına sahip olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark. 2012). SWOG (Southwest Oncology Group)'un 1344 AML hastasıyla yapmış olduğu çalışmada monozomal karyotipli hastaların tam remisyon oranının (%18) monozomal karyotipli olmayan hastalara kıyasla (%34) önemli derecede düşük olduğunu belirtmiştir. Bununla birlikte kemoterapi uygulanan monozomal karyotipli hastaların 4 yıllık sağ kalım oranının %3 olduğunu, monozomal karyotipli olmayan hastalarda ise bu oranın %13 olduğunu belirtmişlerdir (Moon ve ark. 2015). Bizim çalışma grubumuzda ise monozomal karyotip görülen 14 olgunun 9'una ait klinik bilgilere ulaşılabilmektedir. Olguların 4'ünde tam remisyon sağlanırken (%44,4), 1 olguda kısmi remisyon görülmüştür (%11,1). 4 olguda ise (%44,4) tam remisyon sağlanamamıştır. Klinik bilgilerine ulaşılan monozomal karyotipe sahip olgularımızın tam remisyon görülme oranı Yang ve ark.nın çalışmasıyla uyumlu bulunmuştur

Monozomal karyotipe sahip olgularda TP53 kaybının olduğu gösterilmiştir. Gaillard ve ark. yaptığı çalışmada monozomal karyotipe sahip olguların çoğunluğunda TP53 delesyonu görülmüştür (Gaillard ve ark. 2012). Monozomal karyotip sıklıkla kompleks karyotipe ilişkilidir. Rücker ve ark. yaptıkları çalışmada hem kompleks hem de monozomal karyotipe sahip AML hastalarının %80'inde TP53 kaybı görülmüştür (Rücker ve ark. 2012). Bizim çalışmamızda ise monozomal karyotipe sahip 14 olgumuzun %92,85'inde (13 olguda) TP53 delesyonu görülmüş olup, literatür bilgisiyle uyumlu olduğu görülmüştür. TP53 kaybı görülen monozomal karyotipli 13 olgunun 8'ine ait klinik bilgiye ulaşılabilmiş olup üç olguda tam remisyon görülürken (%37,5) bir olguda kısmi remisyon görülmüştür (%12,5). Dört olguda ise tam remisyon sağlanamamıştır (%50).

Tavor ve ark. 37 AML hastasıyla yapmış oldukları çalışmada normal karyotipe sahip AML olgularında TP53 delesyonunun görüldüğünü belirtmişlerdir (Tavor ve ark. 2011). Benzer şekilde bizim yapmış olduğumuz çalışmada da normal karyotipe sahip 23 olgunun yalnızca birinde TP53 delesyonu saptanmış olup literatür bilgisiyle uyumlu bulunurken 8 olguda FISH yöntemi ile monozomi 17 tespit edilmiştir. Olguların karyotip sonuçlarının düşük metafaz sayısı üzerinden verilmiş olması ve FISH yöntemiyle incelenen hücre sayısının fazla olması nedeniyle konvansiyonel sitogenetik yöntemiyle görülemeyen monozomi 17 bulgusu FISH ile tespit edilmiştir. Ancak literatürde normal karyotip ile monozomi 17 ilişkisi bakımından çalışma bulunamadığından karşılaştırma yapılamamıştır.

Çalışma grubumuzda TP53 delesyonu tespit edilen normal karyotipli olguya ait klinik bilgiye ulaşılamamıştır. Ancak monozomi 17 görülen 8 olgunun 5'ine ait klinik bilgiye ulaşılmış olup, üçünde tam remisyon görülürken bir olguda ikinci indüksiyon tedavisinde yanıt alınmıştır. Bir olguda ise remisyon görülmemiştir. Tam remisyon sağlanan olguların FISH sonuçlarında görülen monozomi 17 değerinin cut off değerine (%3) yakın olması (~%4) ve tam remisyon görülmeyen olgunun ise cut off değerinden yüksek olması (~%6); normal karyotipli olgularda FISH analizi ile yüksek oranda tespit edilen monozomi 17'nin tam remisyonun sağlanamamasına neden olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu yorumu yapabilmek için daha fazla sayıda hastaya ve bu hastaların bilgilerine ihtiyaç vardır.

Konvansiyonel sitogenetik, lösemik hücrelerdeki kromozom aberasyonlarını tanımlamak için sık kullanılan bir metod olsa da, karyotipleme zaman alan bir prosedürdür, iyi kalitede metafazlara ihtiyaç vardır ancak kemik iliği materyalinde kaliteli metafaz elde etme oranı düşüktür ve bazı önemli (kriptik) yeniden düzenlenmeleri belirlemede yetersizdir (Acar ve ark. 1997; Valencia ve ark. 2010). Konvansiyonel sitogenetik tüm kromozomların incelenmesini sağlarken, FISH yöntemi konvansiyonel sitogenetik analizle değerlendirilemeyen kromozom anomalilerinin tanımlanabilmesinde veya kromozom analizi için yeterli mitotik hücrelere ulaşılamadığında kullanılan, kolay, hızlı ve bununla birlikte güçlü bir moleküler sitogenetik tekniktir (Tavor ve ark. 2011; He ve ark. 2015).

Çalışma grubumuzu oluşturan 40 olgu içerisinde kompleks ve/veya monozomal karyotipe sahip toplam 17 olgunun (KK , MK ve KK+MK'li olguların tümü) sadece üçünün (olgu 5,8 ve 38) karyotiplerinde -17 olmasına rağmen; -17/del17p13.1 görülmeyen 14 olgunun 12'sinde FISH yöntemiyle TP53 kaybı görülmüştür. Benzer şekilde normal karyotipe sahip toplam 23 olgu FISH yöntemiyle incelendiğinde, olguların birinde TP53 delesyonu görülürken 8 olguda ise -17 tespit edilmiştir. Konvansiyonel sitogenetik yöntemiyle düşük sayıda metafaz üzerinden sonuçlanan karyotiplerde ve bant seviyesi yetersizliği nedeniyle görülemeyen TP53 kaybının, FISH yöntemiyle en az 350 interfaz nükleusu incelenerek tespit edilmesi, konvansiyonel sitogenetikle kıyaslandığında FISH'in daha hassas bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Tanıda sitogenetik analiz, hastaların prognozunun belirlenmesinde ve tedavi seçiminde çok önemli bir faktördür. Düşük risk grubundaki hastalar sadece standart kemoterapi alırlarken yüksek risk grubundaki hastalar hematapoiyetik kök hücre transplantasyonu için potansiyel adaydırlar (Marchesive ark. 2011). Hastaların prognozunun belirlenmesinde konvansiyonel sitogenetik ile birlikte prognoz üzerinde etkili olan genetik anomalilerin FISH yöntemiyle incelenmesi tedaviyi yönlendirme açısından önem taşımaktadır. Bizim yaptığımız bu çalışma ile kompleks, monozomal ve normal karyotipe sahip AML hastaları klinik ve sitogenetik olarak karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte bu karyotiplere sahip olgularda FISH yöntemi ile TP53 kaybı incelenerek, bu gen bölgesinde görülen kaybın, kompleks, monozomal ve normal karyotipli hastalarda tam remisyonun sağlanması üzerine etkisi araştırılmıştır.

Yaptığımız çalışma, bu karyotiplere sahip olgularda konvansiyonel sitogenetik analizin yanı sıra TP53 geninin FISH ile analizinin yapılmasının, kemoterapiye verilecek yanıtı ön görebilme ve uygulanacak tedaviyi belirleme açısından önem taşıdığını düşündürmektedir.



KAYNAKLAR

Acar H. ve Acar A. (1997). Application of the multi-colour FISH to interphase nuclei and metaphase spreads for simultaneous examination of monosomy 7 and trisomies 8 and 11 in acute myelocytic leukaemia (AML). *Clin Lab Haematol.* 19,33-8.

American Cancer Society. Leukemia-Acute Myeloid (Myelogenous). Erişim:06.05.2016 www.cancer.org

Anak S. ve Uysalol E. (2012). Akut Miyeloid Lösemi (AML). *Çocuk Dergisi*, 12, 153-158.

Breems D.A., Van Putten W.L., De Greef G.E., Van Zelderren-Bhola S.L, Gerssen-Schoorl K.B., Mellink C.H. ve ark. (2008). Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol.*,26, 4791-7.

Byrd, J.C., Mrozek, K., Dodge, R.K., Carroll, A.J., Edwards, C.G., Arthur, D.C. ve ark. (2002). Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*, 100, 4325-36.

Chin Y.M., Noor P.J., Ismail A., Ahid M.F. ve Zakaria Z. (2013). Cytogenetic Profile of Monosomal Karyotype in Adult Acute Myeloid Leukemia. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3, ISSN 2250-3153.

Cömert, M. (2011). Akut Myeloid Lösemi Hastalarında Febril Nötropenik Atakların Deęerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi.

Cornelissen J.J., Breems D., Van Putten W.L., Gratwohl A.A., Passweg J.R., Pabst T. ve ark. (2012). Comparative analysis of the value of allogeneic hematopoietic

stem- cell transplantation in acute myeloid leukemia with monosomal karyotype versus other cytogenetic risk categories. *J Clin Oncol*, 30, 2140-6.

Cornell R.L. ve Palmer J. (2012). Adult Acute Leukemia. *Dis Mon*, 58, 219-38.

Daniel A. ve Arber M.D. (2001). Realistic Pathologic Classification of Acute Myeloid Leukemias. *Am J Clin Pathol*, 115, 552-560.

Çefle K. (2003). P53 Tümör Süpresör Geni. *İst. Tıp. Fak. Mecmuası*, 66:2, 121-125.

Deschler B. ve Lübbert M. (2006). Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer*, 107, 2099-107.

Dinçol G., Pekçelen Y., Atamer T., Sargın D., Nalçacı M., Aktan M. ve Beşışık S. (2003). *Klinik Hematoloji*: İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri.

Fang M., Storer B., Estey E., Othus M., Zhang L. Sandmaier B.M. ve ark. (2011). Outcome of patients with acute myeloid leukemia with monosomal karyotype who undergo hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 118, 1490-4.

Ferrara, F. Ve Schiffer C.A. (2013). Acute myeloid leukaemia in adults. *Lancet*, 381, 484-95.

FISH Probe Catalogue 2014-2015. Cambridge: Cytocell

Gaillard J.B., Chiesa J., Reboul D., Arnaud A., Brun S., Donadio D. ve ark. (2012). Monosomal karyotype routinely defines a poor prognosis subgroup in acute myeloid leukemia and is frequently associated with TP53 deletion. *Leuk Lymphoma*, 53, 336-7.

Genetics Home Reference. TP53. Erişim: 21.06.2016
www.ghr.nlm.nih.gov/gene/TP53

Grimwade D., Walker H., Harrison G., Oliver F., Chatters S., Harrison C.J. ve ark. (2001). The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patient entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood*, 98, 1312–1320.

Grimwade, D., Walker, H., Oliver, F., Wheatley, K., Harrison, C., Harrison, G. Ve ark. (1998). The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood*, 92, 2322–2333.

Hasserjian R.P. (2013). Acute myeloid leukemia: advances in diagnosis and classification. *International Journal of Laboratory Hematology*, 35, 358–366.

He R, Wiktor AE, Hanson CA, Ketterling RP, Kurtin PJ, Van Dyke DL ve ark. (2015). Conventional karyotyping and fluorescence in situ hybridization: an effective utilization strategy in diagnostic adult acute myeloid leukemia. *Am J Clin Pathol*. 143(6):873-8.

Heim S. ve Mitelman F. (2009). *Cancer Cytogenetics*. Canada: Wiley-Blackwell

Jädersten M., Saft L., Pellagatti A., Göhring G., Wainscoat J.S., Boulwood J. ve ark.. Clonal heterogeneity in the 5q- syndrome: p53 expressing progenitors prevail during lenalidomide treatment and expand at disease progression. *Haematologica*, 94, 1762-1766.

Jädersten M, Saft L, Smith A., Kulasekararaj A., Pomplun S., Göhring G. ve ark. (2011). TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol*, 29(15):1971-1979.

Kaushansky K., Lichtman M.A., Beutler E., Kipps T.J., Seligsahn U. ve Prchal J.T. (2010). *Williams Hematology*: China, The McGraw-Hill Companies.

Kayser S., Zucknick M., Döhner K., Krauter J., Köhne C.H., Horst H.A. ve ark. (2012) Monosomal karyotype in adult acute myeloid leukemia: prognostic impact and outcome after different treatment strategies. *Blood*, 119(2), 551-8.

Kern W.F. (2005). *PDQ Hematoloji*: İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık.

Klaus M., Haferlach T., Schnittger S., Kern W. ve Hiddemann W. (2004). Cytogenetic profile in de novo acute myeloid leukemia with FAB subtypes M0, M1, and M2: a study based on 652 cases analyzed with morphology, cytogenetics, and fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet*, 155(1), 47-56.

Koçak N., Yıldırım İ. H. ve Yıldırım S.C. (2011). p53 ve p53 gen ailesi üyeleri olan p63 ve p73'ün hücresel işlevleri, *Dicle Tıp Dergisi*, 38 (4), 530-535.

Lane D.P. ve Crawford L.V. (1979). T antigen is bound to a host protein in SV40 transformed cells. *Nature*, 278, 261-263.

Lanzkowsky P. (2005). *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. San Diego: Elsevier Academic Press

Liersch R., Meuller-Tidow C., Berdel W.E. ve Krug U. (2014). Prognostic factors for acute myeloid leukaemia in adults – biological significance and clinical use. *British Journal of Haematology*, 165, 17–38.

Link D.C., Schuettpelez L.G., Shen D., Wang J., Walter M.J., Kulkarni S. ve ark. (2011). Identification of a novel TP53 cancer susceptibility mutation through whole-genome sequencing of a patient with therapy-related AML. *JAMA*, 305, 1568-1576.

Löwenberg B., Pabst T., Vellenga E., Van Putten W., Schouten H.C., Graux C. ve ark. (2011). Cytarabine dose for acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*, 364, 1027-36.

Lu Q.S., Xu N., Zhou X., Huang JX., Li L., Li YL. ve ark (2015). Prognostic Significance of Monosomal Karyotype in Adult Patients with Acute Myeloid Leukemia Treated with Risk Adapted Protocols. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.*, 15(12):790-6.

Marchesi F., Annibali O., Cerchiara E., Tirindelli M.C. ve Avvisati G. (2011). Cytogenetic abnormalities in adult non-promyelocytic acute myeloid leukemia: a concise review. *Crit Rev Oncol Hematol.*, 80, 331-46.

Mawad R. ve Estey E.H. (2012). Acute Myeloid Leukemia with Normal Cytogenetics, *Curr Oncol Rep*, 14, 359-68.

Medeiros B.C., Othus M., Fang M., Roulston D. ve Appelbaum F.R. (2010). Prognostic impact of monosomal karyotype in young adult and elderly acute myeloid leukemia: the Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Blood*, 116, 2224-8.

Medeiros BC, Othus M, Appelbaum FR (2011). Cytarabine dose for acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*, 364, 2167-8; author reply 2168-9.

Moon J.H., Lee Y.J., Seo S.K., Han S.A., Yoon J.S., Ham J.Y. ve ark. (2015). Outcomes of Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Acute Myeloid Leukemia Patients with Monosomal Karyotypes. *Acta Haematol.*, 133(4):327-35.

Morrissette J.J. ve Bagg A. (2011). Acute myeloid leukemia: conventional cytogenetics, FISH, and molocentric methodologies. *Clin Lab Med.*, 31, 659-86.

Mrózek K. (2008). Acute Myeloid Leukemia with a Complex Karyotype, *Semin Oncol.*, 35(4),365–377.

Mrózek K., Heinonen K., Theil K.S. ve Bloomfield C.D. (2002). Spectral karyotyping in patients with acute myeloid leukemia and a complex karyotype

shows hidden aberrations, including recurrent overrepresentation of 21q, 11q, and 22q. *Genes Chromosomes Cancer*, 34, 137-53.

Nazha A., Kantarjian H.M., Bhatt V.R., Nogueras-Gonzalez G., Cortes J.E. , Kadia T. ve ark. (2014). Prognostic Implications of Chromosome 17 Abnormalities in the Context of Monosomal Karyotype in Patients With Acute Myeloid Leukemia and Complex Cytogenetics. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*,14, 163-71.

Neaim F. (2008). *Hematopathology*. San Diego: Elsevier

Orozco J.J. ve Appelbaum F.R. (2012). Unfavorable, complex and monosomal karyotypes: the most challenging forms of acute myeloid leukemia. *Oncology (Williston Park)*, 26(8),706-12.

Paluri R., Nabell L., Borak S. and Peker D. (2014). Unique presentation of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: a single-center experience and literature review. *Hematological Oncology*, 33, 206–211.

Pizzo PA, Poplack DG. (2006) *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins

Rassi F. E. ve Arellano M. (2013). Update on Optimal Management of Acute Myeloid Leukemia. *Clinical Medicine Insights: Oncology*, 7, 181–197.

Rücker F.G., Bullinger L., Schwaenen C., Lipka D.B., Wessendorf S., Fröhling S. ve ark. (2006). Disclosure of candidate genes in acute myeloid leukemia with complex karyotypes using microarray-based molecular characterization. *J Clin Oncol.*, 24,3887-94.

Rücker F.G., Schlenk R.F., Bullinger L., Kayser S., Teleanu V., Kett H. ve ark. (2012). TP53 alterations in acute myeloid leukemia with complex karyotype correlate with specific copy number alterations, monosomal karyotype, and dismal outcome. *Blood*, 119, 2114-21.

Schoch C., Haferlach T., Bursch S., Gerstner D., Schnittger S., Dugas M. ve ark. (2002). Loss of genetic material is more common than gain in acute myeloid leukemia with complex aberrant karyotype: a detailed analysis of 125 cases using conventional chromosome analysis and fluorescence in situ hybridization including 24-color FISH. *Genes Chromosomes Cancer*, 35, 20-9.

Schoch C., Haferlach T., Haase D., Fonatsch C., Löffler H. ve Schlegelberger B. (2001). Patients with de novo acute myeloid leukaemia and complex karyotype aberrations show a poor prognosis despite intensive treatment: a study of 90 patients. *Br J Haematol.*, 112, 118–126.

Schoch C., Kern W., Kohlmann A., Hiddemann W., Schnittger S. ve Haferlach T. (2005) Acute myeloid leukemia with a complex aberrant karyotype is a distinct biological entity characterized by genomic imbalances and a specific gene expression profile. *Genes Chromosomes Cancer*, 43, 227-38.

Seifert H., Mohr B., Thiede C., Oelschlägel U., Schäkel U., Illmer T. ve ark. (2009). The prognostic impact of 17p (p53) deletion in 2272 adults with acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 23, 656-63.

Suvajdzic N., Marisavljevic D., Kraguljac N., Pantic M., Djordjevic V., Jankovic G. ve ark. (2004). Acute Panmyelosis with Myelofibrosis: Clinical, Immunophenotypic and Cytogenetic Study of Twelve Cases. *Leukemia & Lymphoma*, Vol. 45 (9), 1873–1879.

Tavor S ve ark. (2011). Predictive value of TP53 fluorescence in situ hybridization in cytogenetic subgroups of acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*, 52(4):642-7.

Travlos G.S. (2006). Normal Structure, Function, and Histology of the Bone Marrow. *Toxicologic Pathology*, 34,548–565.

Valencia A., Cervera J., Such E., Ibañez M., Barragán E., Fuster O. ve ark. A new reliable fluorescence in situ hybridization method for identifying multiple specific cytogenetic abnormalities in acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 51(4):680-5.

Van Limbergen H., Poppe B., Michaux L., Herens C., Brown J., Noens L. ve ark. Identification of cytogenetic subclasses and recurring chromosomal aberrations in AML and MDS with complex karyotypes using M-FISH. *Genes Chromosomes Cancer*, 33, 60-72.

Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A., Brunning R.D., Borowitz M.J., Porwit A. ve ark. (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*, 114(5):937-5.

Velculescu V.E. ve El-Deiry W.S.(1996). Biological and clinical importance of the p53 tumor suppressor gene. *Clin Chem*, 42, 858-68.

Voutiadou G., Papaioannou G., Gaitatzi M., Lalayanni C., Syrigou A., Vadikoliou C. ve ark. (2013). Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia defines a distinct subgroup within the adverse cytogenetic risk category. *Cancer Genet.*, 206, 32-6.

Walerych D., Lisek K. ve Sal G.D. (2015). Mutant p53: One, No One, and One Hundred Thousand. *Front Oncol.*, 5, 289.

Walker A. ve Marcucci G. (2012). Molecular prognostic factors in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Expert Rev Hematol.*, 5, 547-58.

Wawrzyniak E., Wierzbowska A., Kotkowska A., Siemieniuk-Rys M., Robak T., Knopinska-Posluszny W. ve ark. (2013). Different prognosis of acute myeloid leukemia harboring monosomal karyotype with total or partial monosomies determined by FISH: retrospective PALG study. *Leuk Res.*, 37, 293-9.

Yang X.F., Sun A.N., Yin J., Cai C.S., Tian X.P., Qian J. Ve ark. (2012). Monosomal karyotypes among 1147 Chinese patients with acute myeloid leukemia: prevalence, features and prognostic impact. *Asian Pac J Cancer Prev.*,13, 5421-6.

Yıldırım A., Bardakçı F., Karataş M. ve Tanyolaç B. (2007). *Moleküler Biyoloji*: Ankara, Nobel Yayın Dağıtım.

Zhao Z, Zuber J., Diaz-Flores E., Lintault L., Kogan S.C., Shannon K. ve ark. (2010). p53 loss promotes acute myeloid leukemia by enabling aberrant self-renewal. *Genes Dev.*, 24, 1389-1402.



FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Akut Miyeloid Lösemi (AML), bir hematopoetik (kan yapan) kök hücre bozukluğudur. Kemik iliğinin bir çeşit kanseri olup, kan kanseri olarak da bilinir. Beyaz kan hücrelerinden olan granülositlerin ve monositlerin blast adı verilen öncü hücrelerinin olgunlaşma süreçleri bozular. Olgunlaşamayan bu anormal hücreler kemik iliğinde ve kanda birikmeye başlar. Buna bağlı olarak kemik iliğinde eritrosit ve trombosit yapımı bozular.

Sitopeni adı verilen kan hücresi sayılarındaki düşüklük AML'nin klinik bir belirtisidir. Bununla birlikte zayıflık, yorgunluk, tekrarlayan enfeksiyonlar, dış eti kanaması veya ekimoz gibi kanamalı olaylar da görülmektedir.

AML, 65 yaş üzeri hastalarda daha sık görülmekle birlikte tüm yaşlarda da oluşabilmektedir. Hastalığın görülme sıklığı, yılda yaklaşık olarak 100,000 de 3,4'dür.

AML için konvansiyonel tedavinin 2 aşaması vardır, indüksiyon ve kök hücre transplantasyonunu içeren konsolidasyon. Sitogenetik analiz günümüzde hastaların prognozunun tahmininde ve tedavi seçiminde çok önemli bir faktördür. İçerdiği sitogenetik anomaliye göre düşük risk grubundaki hastalar sadece standart kemoterapi alırlarken yüksek risk grubundaki hastalar hematopoetik kök hücre transplantasyonu için potansiyel adaydırlar.

Akut miyeloid lösemnin tanısında, kemik iliği örneğindeki kromozomların incelenmesini, çalışmamızda araştırmayı hedef almış bulunmaktayız.

Hastalığınızın tanısının konulması için size yapılmış olan kemik iliği aspirasyonu, rutin incelemeler amacıyla hematoloji laboratuvarlarına gönderilmiştir. Eğer izin verirseniz, bu çalışma için sizden bir kereye mahsus alınmış olan kemik iliği laboratuvarımızda incelenecektir.

Kabul etmeniz halinde katılacağınız bu çalışma bir araştırmadır. Araştırmanın amacı; hastalığınız ile ilişkisi olduğu düşünülen kromozomları incelemektir. Sizden alınmış olan kemik iliği çalışma materyali olarak kullanılacaktır. Bu örnekte meydana gelen kromozom anomalileri konvansiyonel sitogenetik yöntemle ve floresan boyalarla boyanarak incelenecektir. Bu çalışmada kromozom anomalilerinin hastalığınızın prognozuna etkileri araştırılacaktır.

Gönüllü olarak sizin araştırma üzerinde herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Araştırma boyunca sizden bir maddi katkı talebi olmayacaktır. Bağlı olduğunuz sağlık kurumuna (SGK) herhangi bir ücret ödetilmeyecektir. Çalışmadan ayrıldığınız takdirde tedavinizde bir aksama olmayacaktır. Sizin için herhangi bir rahatsızlık veya risk oluşturmayacak bu çalışma, kısa dönemde size bir fayda da sağlamayacaktır. Ancak uzun dönemde hastalığın gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesini ve alternatif tedavi geliştirebilmek için önemlidir.

Araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlı olup, araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Reddetmeniz halinde yararınıza engel ya da cezai bir durum ortaya çıkmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar size ait tıbbi bilgilere ulaşılabilecek ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır. İlgili mevzuat gereğince sizin kimliğinizi ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanmayacak, araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır. Araştırma konusuyla ilgili ve sizin araştırmaya katılmaya devam etme isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde size veya yasal temsilcinize zamanında bilgi verilecektir.

Sizin araştırma hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir advers olay hakkında daha fazla bilgi temin edebilmeniz için temasa geçebileceğiniz kişiler ve/veya araştırmacılara günün içinde erişebileceğiniz telefon numarası; (0212) 414 30 00-21801'dir. Araştırmada yer alacağınız öngörülen süre maksimum 1 yıl olacaktır. Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı 40'dır.

Sizden elde edilecek biyolojik materyal araştırmanın deneysel kısımlarında kullanılacaktır ve bu deneyler İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD Sitogenetik Laboratuvarı'nda gerçekleştirilecektir. Biyolojik materyallerin analizleri yurtdışında yapılmayacak olup, bütün analizleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde yapılacaktır.

Siz veya yasal temsilciniz bilgilendirilmiş olur formunu imzalamakla bunu kabul etmiş olacaksınız. Kimliğinizi ortaya koyacak kayıtlar gizli tutulacaktır. Araştırma esnasında sizi ilgilendirecek bir bilgi söz konusu olduğunda siz veya yasal temsilcinize derhal haber verilecektir.

“Kompleks, monozomal ve normal karyotipe sahip Akut Myeloid Lösemili olguların kemik iliği materyallerinde 17p13.1 (TP53) delesyonunun floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle incelenmesi.” çalışması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin;



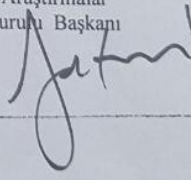
Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.

- İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum, dinledim, anladım, istediğim soruları sordum ve cevapları aldım. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. Bu klinik araştırmaya, gönüllü olarak, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

| | | |
|---|--------|-------|
| Hasta/ hasta yakını adı, soyadı | İmzası | Tarih |
| Açıklama yapan araştırmacı adı, soyadı | İmzası | Tarih |
| Olur alma işlemine tanık olan kişinin adı, soyadı | İmzası | Tarih |

ETİK KURUL KARARI

| | | |
|--|---|---|
|  | T.C İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU |  |
| Sayı : 83045809/ 29212 | Temel Tıp Bilimleri Bölümü Başkanlığına | İstanbul/...../..... |
| Konu: | | 23 Ekim 2013 |
| İLGİ:20.09.2013 tarihli, 2027 sayılı yazınıza: | | |
| Bölümünüze bağlı Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Seniha HACIHANEFİOĞLU'nun danışmanlığında Yüksek Lisans Öğrencisi Gamze TÜFEKÇİ'nin yürütücülüğünde Doç.Dr.Muhlis Cem AR'ın yardımcılığında "Kompleks, monozomal ve normal karyotipe sahip Akut Myeloid Lösemili olguların kemik iliği materyallerinde 17p13.1 (TP53) delesyonunun floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle incelenmesi" başlıklı Yüksek Lisans Tezi (Retrospektif) hakkında ilgi yazınız ve ekleri 01 Ekim 2013 tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir. | | |
| Bilgilerinizi,durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim. | | |
| | | Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı  |
| <u>Eki</u> 1 dosya | | |
| Not: Yanıtlarımızda yazımızın gün ve sayısını belirtilmesi rica olunur. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/İSTANBUL. Telefon 0 (212) 414 32 52 Dahili: 22300 Faks: 0(212) 632 00 40 e-posta:ctfenik@istanbul.edu.tr. | | |