



**T.C.**  
**MARMARA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**0-18 YAŞ ARASI LÖSEMİ-LENFOMA TANISI ALAN  
HASTALARDA VİTAMİN D RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMİNİN  
MALİGNİTE ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. SİNEM GÜLCAN KERSİN**

**Uzmanlık Tezi**

**İSTANBUL 2017**





**T.C.**  
**MARMARA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**0-18 YAŞ ARASI LÖSEMİ-LENFOMA TANISI ALAN HASTALARDA**  
**VİTAMİN D RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMİNİN**  
**MALİGNİTE ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. SİNEM GÜLCAN KERSİN**

**Uzmanlık Tezi**

**Danışman: Prof. Dr. AYŞE GÜLNUR TOKUÇ**  
**İSTANBUL 2017**

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>I</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>II</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>III</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>IV</b>
<b>TABLolar</b> .....	<b>VI</b>
<b>GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>AMAÇ</b> .....	<b>2</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
<b>LÖSEMİ</b> .....	<b>5</b>
<b>LENFOMA</b> .....	<b>16</b>
<b>KANSEROGENEZ &amp; D VİTAMİNİ</b> .....	<b>27</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>34</b>
<b>KULLANILAN YÖNTEMLER</b> .....	<b>35</b>
<b>ANALİZ</b> .....	<b>39</b>
<b>BULGULAR</b> .....	<b>40</b>
<b>CİNSİYET DAĞILIMI</b> .....	<b>40</b>
<b>YAŞ VE BİYOKİMYA DÜZEYLERİNİN DAĞILIMI</b> .....	<b>41</b>
<b>GENOTİPİK ÖZELLİKLER VE DAĞILIMI</b> .....	<b>43</b>
<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>47</b>
<b>SONUÇ VE ÖZET</b> .....	<b>53</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>55</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>65</b>

## ÖNSÖZ

Küçükken “Sen büyüyünce ne olmak istiyorsun?” sorusu vardır ya, dün gibi 90'lara görütüyor beni... Kıbrıs'ta, sokakta, bir teyze ve bu soru... Hayatına yeni katılan bir kardeş, hem de biraz yaramaz... “Ben çocuk doktoru olacağım. Çocuklar çok kızdırdıklarında iğne yapacağım onlara!”

Biraz daha büyüdüğüm yaşlarda, lise döneminde de doktor olma hayalleri... Tıp fakültesini kazandığımda en büyük idealime biraz daha yaklaşmak... Tarih kokan, arada bir tavanı akan, aşınmış merdivenleri, ağır ve o büyük kapıları, amfisinden bahçesine Haydarpaşa'lı güzel günlerden Altunizade ve peşinden Pendik günlerinde de çocuk doktoru olma isteğinin artışıydı bu... Tıp fakültesine girişten hekim olarak çıkmaktan, uzmanlık alanım olacak “pediatri”yi seçmekten bir gün dahi pişman olmama duasıyla bu satırlar yazılma aşamasına geldi...

Adlarını hatırladığım ve unuttuğum, üzerimde emeği geçen tüm öğretmenlerime;

Üniversitede de bile bana öğrettikleri şeylerden dolayı uzun bir süre “öğretmenim” dediğim hocalarıma;

Uzman olma sürecinde, eğitimimde karşıma çıkan sevgili çocuklara;

Dört yılı aşkın süre beraber çalıştığım asistan arkadaşlarım, uzmanlarım, hocalarıma;

Bana hematoloji-onkolojiyi sevdiren Dr. Barış Yılmaz'a, Prof. Dr. Ahmet Koç'a;

Bu tezin oluşmasında hakkını ödeyemeyeceğim Prof. Dr. Ahmet Arman'a;

Tez hocam ve ana bilim dalı başkanımız, hep arkamda olduğunu hissettiğim hocam Prof. Dr. A. Gülnur Tokuç'a;

Ve

Hayatımda bir an olsun desteğini, sevgisini esirgemeyen “değerli” aileme,

Hayat arkadaşım, eşim Burak Kersin'e,

Bir yılı aşkın süredir hayatımda olan kızım Elif'ime

Teşekkürler...

## ÖZET

**Giriş:** Çocukluk çağı ölümlerinin sebepleri arasında maligniteler önemli bir yer tutar. İlk sırada %30 oranla akut lösemiler gelmekte; bunu merkezi sinir sistemi tümörleri ve lenfomalar izlemektedir.

**Amaç:** Vitamin D reseptör (VDR) geninin belirli bölgelerinde genetik farklılıklar saptanmış ve kanser ile ilişkili olup olmadığı üzerine araştırmalar yapılmıştır. Erişkin yaş grubu çalışmalarında Taq-1, Fok-1 ve Bsm-1 bölgelerindeki polimorfizmlerin prostat, meme ve kolon kanserleriyle ilişkili olabileceği saptanmıştır. Çocukluk çağı kanserlerinde ise literatürde bu konuda yeterli sayıda çalışma bulunmadığından bu çalışmanın yapılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve yöntem:** Kesitsel bir çalışmadır. Katılımcıların serum Ca, P, ALP ve 25-OH-D<sub>3</sub> düzeylerine bakılmış, EDTA'lı kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır ve PCR yöntemi ile polimorfizmler incelenmiştir. Veriler elektronik ortama kaydedilip SPSS 20.0 ile analiz edilmiştir.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş; allellerin risk olasılığı %95 güven aralığında değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** 40'ı hasta, 59'u kontrol olmak üzere 99 katılımcıdan oluşmaktadır. %52,5'i kız, yaş ortalaması  $9,1 \pm 4,4$ 'tür. Grupların yaş, fosfor ve 25-OH-D<sub>3</sub> karşılaştırmasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kalsiyum düzeyi medyanı hasta grupta 9,3 mg/dL (IQR=0,9), kontrol grupta ise 9,9 mg/dL (IQR=0,4) ( $p=0.0001$ ); ALP düzeylerinde ise hasta grupta  $183,87 \pm 101,31$  U/L, kontrol grupta  $230,96 \pm 119,52$  U/L ( $p=0.015$ ) saptanmıştır. Grupların genotipik özellikleri karşılaştırmasında farklılık gözlenmemiştir. BB/Bb vs bb karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p=0.046$ ) ve "B" alleli taşımanın kanser riskini azaltabileceği (%95 CI; OR: 0.39 (0.15-0.99)) bulunmuştur.

**Sonuç:** Çocukluk çağı lösemi-lenfoma tanılı hastalarda, VDR genindeki Bsm-1 polimorfizminin malignite ile ilişkili olabileceği bulunmuştur.

**Anahtar sözcükler:** Çocukluk çağı kanserleri, lösemi, lenfoma, VDR, polimorfizm

## ABSTRACT

**Introduction:** Malignancies hold an important place among the causes of childhood deaths. Acute leukemia takes first place with the rate 30%, this is followed by central nervous system tumors and lymphomas.

**Objective:** Genetic differences have been identified in specific regions of the Vitamin D receptor (VDR) gene and many researches were done whether it is associated with cancer. In the studies of the adult age group, polymorphisms in the Taq-1, Fok-1, and Bsm-1 regions can be associated prostate, breast and colon cancer. In the case of childhood cancer, there is not enough studies on this subject in the literature, so it is aimed to make this study.

**Material and Methods:** This is a cross-sectional study. Participants had serum Ca, P, ALP, 25-OH-D<sub>3</sub> levels, DNA was isolated from blood samples that contain EDTA, and polymorphisms were examined by PCR. The data were recorded electronically and analyzed with SPSS 20.0. A value of  $p < 0.05$  was considered statistically significant; the odds of allele risk was assessed at the 95% confidence interval.

**Results:** Of the participants consist of 40 patient, 59 of whom are control subjects. 52,5% of the girls, the average age is  $9,1 \pm 4,4$ . There was no significant difference in the age, phosphorus and 25-OH-D<sub>3</sub> level comparisons of the groups. The median calcium level was 9,3 mg/dL (IQR=0,9) in the patient group and 9,9 mg/dL (IQR=0,4) in the control group ( $p=0.0001$ ); ALP levels were  $183,87 \pm 101,31$  U/L in the patient group and  $230,96 \pm 119,52$  U/L ( $p=0.015$ ) in the control group. There was no difference in comparing the genotypic characteristics of the groups. It was found to be statistically significant in the comparison of BB/Bb vs bb and that the "B" allele could reduce the risk of cancer (95% CI, OR: 0.39 (0.15-0.99)) ( $p=0.046$ ).

**Conclusion:** It was found that Bsm-1 polymorphism in the VDR gene may be associated with malignancy in childhood leukemia-lymphoma patients.

**Keywords:** Childhooh cancers, leukemia, lymphoma, VDR, polymorphism

## KISALTMALAR

AAP	:American Academy of Pediatrics
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
ALK	:Anaplastic Large cell Kinase
ALCL	:Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma
ALL	:Akut Lenfoblastik Lösemi
ALP	:Alkalen fosfataz
AML	:Akut Myeloid Lösemi
BFM	:Berlin-Frankfurt-Münster
BMD	:Kemik mineral dansitesi
Ca	:Kalsiyum
CALLA	:Common Leukemia-Associated Antigen
CD	:Cluster of Differentiation
CDK	:Cyclin Dependent Kinasese
CI	:Confidence Interval
COG	:Children's Oncology Group
CVID	:Common Variable Immune Deficiency
DLBCL	:Difüz Büyük B Hücreli Lenfoma
DNA	:Deoksiribonükleik asit
EBV	:Epstein-Barr Virüsü
EDTA	:Etilendiamin tetraasetik asit
FAB	:French-American-British
FISH	:Florasın in situ hibridizasyon
HDL	:Hodgkin Dışı Lenfoma
HIV	:Human Immundeficiency Virus
HL	:Hodgkin Lenfoma
HR	:Hazard Ratio
iAMP21	:Intrachromosomal amplification of chromosome 21
ICCC	:International Classification of Childhood Cancer
IGF-I	:İnsulin-like Growth Factor



IGFBP	:İnsulin-like Growth Factor and its Binding Proteins
IQR	:Interquartile Range
MLL	:Myeloid/lenfoid ya da Mixed Lineage Leukemia
MSS	:Merkezi Sinir Sistemi
MDD	:Minimal Disseminated Disease
MRD	:Minimal Residual Disease
mRNA	:Mesenger Ribonükleik asit
NCI	:National Cancer Institute
NEC	:Non Eritroid Cell
NSE	:Nöron Spesifik Enolaz
PCR	:Polimeraze Chain Reaction
RBC	:Red Blood Cell
SBB	:Sudan Black Boyama
SS	:Standart Sapma
SEER	:Surveillance, Epidemiology and End Results
Skp2	:S-phase kinase-associated protein 2
OR	:Odd's Ratio
P	:Fosfor
PXase	:Peroksidaz
TdT	:Terminal deoksittransferaz
VDR	:Vitamin D Reseptörü

## TABLolar

**Tablo 1.** Uluslararası Çocukluk Çağı Kanser Sınıflaması

**Tablo 2.** FAB sınıflamasına göre ALL

**Tablo 3.** FAB sınıflamasına göre AML

**Tablo 4.** ALL'de Translokasyonlar ve Sıklıkları

**Tablo 5.** ALL'de B Lenfosit ve Progenitörlerinin İşaretleyicileri

**Tablo 6.** ALL'de T Lenfosit ve Progenitörlerinin İşaretleyicileri

**Tablo 7.** ALL'de Risk Gruplaması ve Tedavi Önerileri

**Tablo 8.** Hodgkin Lenfomada Ann Arbor (Cotswold) Evreleme Sistemi

**Tablo 9.** Hodgkin Lenfomada Hastalık Risk Gruplaması ve Olaysız Sağlıkım Oranları

**Tablo 10.** Hodgkin Dışı Lenfoma Sınıflaması

**Tablo 11.** Çocukluk Çağı Hodgkin Dışı Lenfomaların Morfolojik, İmmunolojik ve Genetik Özellikleri

**Tablo 12.** Çocukluk Çağı Hodgkin Dışı Lenfomada St. Jude Evreleme Sistemi

**Tablo 13.** Grupların Cinsiyet Dağılımı

**Tablo 14.** Grupların Yaş, Alkalen fosfataz Değerleri ve Karşılaştırılması

**Tablo 15.** Grupların Kalsiyum, Fosfor, 25-OH-d3 Düzeyleri ve Karşılaştırılması

**Tablo 16.** Katılımcıların Fok1 genotipleri

**Tablo 17.** "F" alleli taşıyıcılığının gruplar arası karşılaştırılması

**Tablo 18.** Katılımcıların Bsm1 genotipleri

**Tablo 19.** "B" alleli taşıyıcılığının gruplar arası karşılaştırılması

**Tablo 20.** Katılımcıların Taq1 genotipleri

**Tablo 21.** "T" alleli taşıyıcılığının gruplar arası karşılaştırılması

## GİRİŞ

Birleşmiş Milletler İnsan Hakları Evrensel Bildirgesine göre onsekiz yaşına kadar her insan çocuk sayılır (1). Çocukluk çağı doğumla başlayıp, büyüme ve gelişmeyle ergenliğin tamamlandığı, erişkin bir insan oluncaya kadarki dönemi kapsamaktadır.

Çocukluk çağının süt çocukluğu dönemi hariç tüm dönem ölümlerinde kasıtsız kazalar ilk sırayı alırken, kanser nedenli kayıplar üçüncü sırada yer almaktadır (2). ABD’de her yıl 1,2 milyon yeni kanser vakası bildirilmekte ve bunların oniki bini çocuklarda gözükmemektedir (3). Çocuk kanserleri, uluslararası çocuk kanserleri sınıflamasına göre 12 ana grup altında incelenmektedir (4). Çocukluk çağı kanserlerinde ilk sırada %30 oranla akut lösemiler gelmektedir. Bunu merkezi sinir sistemi tümörleri ve lenfomalar izlemektedir (5).

Günümüz gerçeği olan kanserin kalıtımı, moleküler genetiği, tedavisi ve kanserle yaşamda hayat kalitesi, sağkalımı arttırmaya yönelik araştırmalar yapılmaktadır. Artan bilgi ve teknoloji sayesinde moleküler düzeyde çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Hatta kişinin kendi genom dizilimine göre kişiye özel kemoterapi uygulamaları, önümüzdeki yıllarda uygulanacak rutin tedavi modalitesi haline gelmesi de beklenmektedir.

## AMAÇ

İntraselüler özgün reseptörüne bağlanarak etki eden, hücrenin proliferasyonunda, inflamasyonda rol alan vitamin D hormonu ve bu hormon reseptörü ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Son yıllarda vitamin D reseptör (VDR) geninin, belirli bölgelerinde genetik farklılıklar saptanmış ve bu farklılığın mortalite sıralamasında önemli yere sahip olan kanser ile ilişkili olup olmadığı üzerine araştırmalar yapılmıştır. Yapılan erişkin yaş grubu çalışmalarda prostat, meme kanserleri başta olmak üzere melanom, renal, kolon kanserlerinde Taq-1, Fok-1 ve Bsm-1 bölgelerinde polimorfizmler saptanmış ve bunun kanserle ilişkili olabileceği söylenmiştir. Çocukluk çağı kanserlerinde ise yeterli düzeyde çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada da 0-18 yaş arası çocukluk çağı döneminde en sık görülen lösemi ve üçüncü sıklıkta yer alan lenfoma tanısı almış hastalarda, vitamin D reseptör geninde en sık görülen Fok-1, Bsm-1 ve Taq-1 gen polimorfizmlerinin malignite üzerine rolü hakkında bilgi edinmek amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

Çocuklarda kanser görülme sıklığı 15 yaş altında 110-150/milyondur (4). Ülkelerin gelişmişlik seviyesi arttıkça enfeksiyon ve dehidratasyon nedenli ölümler azalmakta, kanser nedenli ölümlerde artış olmaktadır.

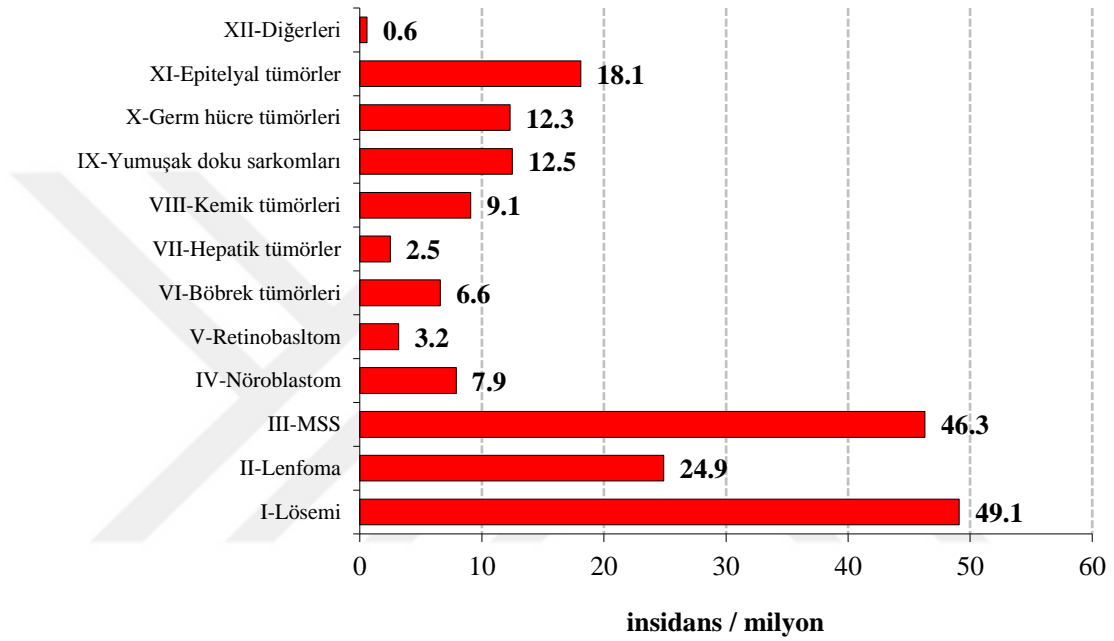
Çocuk kanserleri, uluslararası çocuk kanserleri sınıflamasına göre 12 ana grup altında incelenmektedir (Tablo 1):

**Tablo 1.** Uluslararası Çocukluk Çağı Kanser Sınıflaması (ICCC, 1996)

- 
- 1.Lösemiler
  - 2.Lenfomalar
  - 3.Beyin ve spinal kanal tümörleri
  - 4.Sempatik sistem tümörleri
  - 5.Retinoblastoma
  - 6.Böbrek tümörleri
  - 7.Karaciğer tümörleri
  - 8.Kemik tümörleri
  - 9.Yumuşak doku sarkomları
  - 10.Gonad ve germ hücreli tümörler
  - 11.Epitelyal tümörler
  - 12.Diğer malign neoplazmları
-

SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) verilerine göre Grafik 1'de görüldüğü üzere, yıllık insidansı 49,1/milyon ile lösemiler ilk sırada gelmektedir. Bunu merkezi sinir sistemi tümörleri ve lenfomalar izlemektedir.

**Grafik 1.** 2008-2012 SEER Verilerine Göre Her iki Cinsiyette, Tüm Irklarda Çocukluk Çağı Kanser İnsidansı (3)



Ülkemizde ise 2009 yılında Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı tarafından yayınlanan bildiriye göre kanser görülme oranları 0-14 yaş her iki cinsten de %32 ile lösemi ilk sırada yer alırken sırasıyla bunu; erkeklerde %18,2 ve %17,1 ile lenfoma ve MSS; kızlarda ise %19,8 ve %11,1 ile MSS ve lenfoma izlemektedir.

## LÖSEMİ

Lösemi ve lenfoma, lenfohematopoetik hücrelerin olgunlaşmaları aşamasındaki duraklama sonucu malign özellikteki klonların çoğalması ile karakterize olan heterojen hastalıklardır. Dünya Sağlık Örgütüne göre hematolojik malignensiler B ya da T hücre olmalarına göre ikiye ayrılır ve kemik iliğinde %25'ten fazla blast olması ile lösemi adını almaktadır (6). Farklılaşmadaki duraklama sonucu sıklıkla normal fonksiyonunu yapamayan immatür görünümlü malign hücreler başta kemik iliği ve periferik dolaşım olmak üzere retiküloendotelyal sistem, merkezi sinir sistemi ve diğer vücut bölgelerinde birikirler. Kemik iliğinin kontrolsüz olarak çoğalan lösemik hücrelerle infiltre olması sonucu ise anemi, trombositopeni ve nötropeni gelişir. Sonuçta solukluk, halsizlik, kanamalar, kemik ağrıları ve hayatı tehdit eden enfeksiyonlar ortaya çıkar.

Çocukluk çağı kanserleri arasında %30 oranla lösemiler ilk sırada yer almaktadır. Lösemilerin %97'sini akut lösemiler oluşturmaktadır ve Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL), Akut Myeloid Lösemilerden (AML) beş kat daha fazla görülmektedir (5). ABD verilerine göre ALL görülme sıklığı, beyazlarda (36/milyon) ve Hispaniklerde (41/milyon), siyah Amerikalılara (15/milyon) göre biraz daha yüksektir (7). Ailesel bir hastalık olmayan lösemide, tek yumurta ikizlerinde insidans fazlasıyla artmışken; kardeşlerde bu durum, normal popülasyona göre hafif artmıştır (8). Akut lösemiler, 2-5 yaş aralığında zirve yapar (5). Cinsiyete göre bakıldığında ise kızlara oranla erkeklerde daha sık; T hücreli ALL'de ise bu erkek predominansı daha da belirgindir (4:1).

SEER çalışmasına göre 1975'ten 2010'a kadar ALL insidansı yıllık yaklaşık % 0,7 artmıştır (5). Çoğu kanserde görülen yıllar içerisindeki artışa rağmen lösemide mortalite azalmış; standardize edilmiş protokollerle, akut toksisite ve geç dönem yan etkileri azaltılarak 1980'lerden günümüze beş yıllık olaysız sağkalım %40'lardan %85'e çıkmıştır (9).

## Çocukluk Çağı Lösemilerin Sınıflaması

Tarihi anlam ve önemi olan FAB sınıflaması 1976 yılında Fransız, Amerikan ve İngiliz hematologları tarafından ortaya konulmuş ve son olarak 1985 yılında modifiye edilmiştir. Kemik iliği aspiratından elde edilen tümör hücrelerinin çekirdek sitoplazma oranı, vakuol ve çekirdekçiği varlığı, sitoplazma bazofillerine dayanarak oluşturulan morfolojik bir sınıflandırmadır (10). Lösemi hücreleri ALL'de L1-3, AML'de M0-7 olmak üzere gruplandırılır (Tablo 2,3). İmmunfenotipleme, sitogenetik ve moleküler genetik çalışmaların gelişmesi neticesinde FAB sınıflaması günümüzde eski önemini kaybetmiştir (10).

**Tablo 2.** FAB sınıflamasına göre ALL (10)

Sitoloji	L1	L2	L3
Hücre boyutu	Küçük	Büyük, heterojen	Büyük, homojen
Nükleer kromatin	Homojen	Değişken, heterojen	Noktalı, heterojen
Nükleus şekli	Düz konturlu, nadiren çentikli	İrregüler, sıklıkla çentikli	Düzgün konturlu, oval-yuvarlak
Nükleolus	Görülmez/silik,küçük	≥1, sıklıkla belirgin	≥1, belirgin, veziküler
Sitoplazma	Dar	Değişken, sıklıkla büyük	Orta dereceli büyük
Sitoplazmik bazofil	Hafif-orta,nadiren belirgin	Değişken, bazen koyu	Çok koyu
Sitoplazmik vakuol	Değişken	Değişken	Sıklıkla belirgin



**Tablo 3.** FAB sınıflamasına göre AML (10)

<b>FAB tipi</b>	<b>Blast (%)</b>	<b>Blast % (NEC)</b>	<b>E.P</b>	<b>Morfoloji</b>	<b>Sitokimya</b>
<b>M0</b>	>30	>90	<50	ALL L2 benzeri blastlar; sitoplazmik granüller ve Auer rodlar görülmez	<%3 pxase+/SBB+
<b>M1</b>	>30	>90	<50	>%30dan fazla tip 1,2 blastlar; <%10 diferansiye olmuş myeloid hücreler; %50 kadar Auer rodlar	>%3 pxase+/SBB+
<b>M2</b>	>30	>30-89	<50	>%30 tip 1-2 blastlar; >%10 diferansiye myeloid hücreler; %70'inde Auer rodlar görülebilir	Pxase+ SBB+ NSE+ <%20 PAS-
<b>M3</b>	>30	>30-89	<50	>%20 anormal hipergranüler progranulositler, blastlar <%30'dan az olabilir; Auer rodlar görülür	Pxase+ SBB+ PAS- NSE+
<b>M3v</b>	>30	>30-89	<50	>%20 anormal hipogranuler progranulositler; blastlar %30'dan az olabilir; Auer rodlar görülür	Pxase+ SBB+ PAS- NSE±
<b>M4</b>	>30	>30-79	<50	>%20 promonosit ve monosit; >%20 granulosit, periferall monositoz±yükselmiş serum/idrar lizozim; %65'inde Auer rodlar görülür	Pxase+ >%20 NSE+
<b>M4eo</b>	>30	>30-79	<50	>%5 eozinofil ve bazofilik-eozinofilik granüllü hücreler + M4 özellikleri	Pxase+ >%20 NSE+
<b>M5a</b>		>80	<50	>%80 monoblast; genelde Auer rodlar görülmez	NSE+
<b>M5b</b>		>80	<50	>%80 monosit-promonosit-monoblast; %30'unda Auer rodlar görülebilir	NSE+
<b>M6</b>		>30	>50	Eritroid displazi hakimiyetinde; >%30'unda non-eritroid hücreler arasında blastlar, %60'ında Auer rodlar görülür	PAS+ (eritroid hücreler) Pxase+
<b>M7</b>	>30		<50	Sitoplazmik kabarcıklı blastlar; kemik iliği fibrozisi; Auer rodlar görülmez	Trombositler Pxase+

Ondokuzuncu yüzyılda patologlar tarafından tümör hücresindeki mitotik değişiklik fark edilmiş, 1960'ta kronik miyeloid lösemide Philadelphia kromozomu bulunmuştur. Standart karyotip incelemeleri ile hiperdiploidi/hipodiploidi varlığı saptanırken, FISH (fluorescence in situ hybridization) ve diğer moleküler çalışmalar ile tümör hücresindeki translokasyonlar, mutasyonlar hakkında bilgiler edinilmiştir (11). Sitogenetik çalışmalar ile risk grupları oluşturulmuş, prognostik faktörler belirlenmiştir.

**Tablo 4.** ALL'de Translokasyonlar ve Sıklıkları (12)

Hücre tipi	Translokasyon	Sıklığı (%)
Pre-B/Erken Pre-B	t(9;22) (q34q11)	3-5
Pre-B/Erken Pre-B	t(1;19) (q23p13)	5-6
Pre-B/Erken Pre-B	t(11;V) (q23V)	3
Pre-B/Erken Pre-B	t(4;11) (q21q23)	2
Pre-B/Erken Pre-B	t(1;11) (p32q23)	<1
Pre-B/Erken Pre-B	t(10;11) (p14-p15q22)	<1
Pre-B/Erken Pre-B	t(9;11) (p21-p22q23)	<1
Pre-B/Erken Pre-B	t(11;19) (q23p13)	<1
Pre-B/Erken Pre-B	t(12;V) (p12-p13p12)	5
T hücre	t(11;14) (p3q11)	1
T hücre	t(10;14) (q24q11)	<1
T hücre	t(7;V) (q35V)	2
B hücre	t(8,14) (q24q32)	2
B hücre	t(8;22) (q24q11)	0.3

İmmünofenotipleme; hücre yüzeyinde bulunan monoklonal antijenler olan CD (cluster of differentiation)'a karşı antikor prezentasyonuna dayanır. Löseminin B ya da T hücre kaynaklı olduğu, hatta B hücreli lösemilerin Progenitor, erken PreB, PreB, B ALL olduğunu saptamaktadır. Bu sayede hastalığın net tanısı dışında prognozu belirlenmekte; tedavisi de en iyi şekilde düzenlenmektedir.

## **Prognostik Faktörler**

Lösemide birçok klinik ve laboratuvar özellik prognostik önem taşımaktadır. Hastalığın tanınmasından tedavi süresine, standart tedavi protokollerinden ek ajan kullanımına, sağkalım süresinden nükse kadar pek çok değişkeni etkilemektedir. Yaş, cinsiyet ve tanı anındaki lökosit sayısı gibi yıllar içinde önemini kaybetmeyen bazı temel prognostik faktörler halen çoğu çalışma grubu tarafından risk gruplamasında kullanılmaktadır. Moleküler teknikler ve tedavi modalitelerindeki gelişmeler ile daha çok tedavi üzerine yoğunlaşmış; tedavideki başarılarla ırk, malnütrisyon, immünglobulin düzeyleri, mediastinal kitle, organomegalilenfadenomegali varlığı, başlangıç hemogloblin ve trombosit değerleri gibi faktörler önemini kısmen veya tamamen kaybetmiştir (12). Ancak zaman zaman bunlardan bazıları tekrar gündeme gelmekte ve yeni koşullarda tekrar değerlendirilmektedir.

### **Cinsiyet**

Lösemi, erkeklerde kızlara oranla biraz daha fazla görülmektedir (5). Lösemnin erkeklerde kızlara oranla daha ileri yaşta görülmesi, T-immünolojisi, başlangıç lökosit sayılarının fazla oluşu ve testis nüksleri nedeniyle erkek olmak bir risk faktörüdür. Neden erkek cisiyette prognozun daha kötü olduğu halen tam açıklanamamaktadır. BFM grubunun ALL-BFM 90 protokolü ile 2178 hastanın dahil edildiği çalışmasında erkeklerde %75, kızlarda %82 (p:0.0001) 6 yıllık olaysız sağkalım bildirilmiştir (13). Testis nüksleri ve T hücreli lösemi nedeniyle yüksek doz metotreksat kullanımı tedavi protokollerinde yer almış olsa da üçüncü yılda kemik iliği nüksleri erkeklerde daha fazla görülmüş ve tedavi 3 yıla uzatılmıştır (14). Hossain ve arkadaşlarının 14192 hasta ile yaptığı bir çalışmada, sütçocukluğu dönemi hariç tüm yaşlarda ALL tanısı alan erkeklerin daha fazla olduğu ve erkeklerde mortalitenin 1.29 kat fazla olduğu (p <0.0001, HR (95% CI) = 1.29 (1.20–1.39)) saptanmıştır (15). Holmes ve arkadaşlarının 15215 hasta ile yaptıkları kohortda da ırk, lösemi tipi, tanı yaşı erkeklerde anlamlı derecede farklı bulunmuş; bu bağımsız değişkenleri kontrol ettiklerinde, kızlarda mortalite azalmış, erkeklerde

sağkalım üzerine bir etki yaratmamıştır ve neden erkeklerde mortalitenin daha fazla olduğu net olarak açıklanamamıştır (16).

### **Yaş**

Lösemiler, 2-5 yaş aralığında zirve yapmaktadır. Tanı anındaki yaş ve başlangıç lökosit sayısı en önemli prognostik faktörlerden olup bu konu üzerine pek çok araştırma yapılmıştır. National Cancer Institute (NCI), B hücreli lösemilerde daha prediktif öneme sahip olmakla birlikte 1-10 yaş aralığını en iyi prognoza sahip yaş aralığı olarak belirlemiştir (12). Sütçocukluğu dönemi (<1yaş) en kötü prognoza sahiptir ve sağkalım süresi 11 ay olarak bulunmuştur (15). Lösemik hücrenin biyolojisinin farklı olmasından dolayı bu yaş grubunda mortalite yüksektir. Sütçocuklarının %60-80'inde 11q23 translokasyonu saptanmıştır ve translokasyonun ekspresse ettiği MLL geni (myeloid/lenfoid ya da mixed lineage leukemia; ALL1/HRX) tedavinin erken döneminde yüksek başarısızlığa neden olmaktadır (17, 18). Hossain ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sütçocukluğu döneminden sonra 15-19 yaş aralığının prognozu kötü olup bu grupta T hücreli lösemilerin sıklığının artması ve BCR/ABL füzyon geninin olma ihtimalinden dolayı mortalite yüksektir ve ortalama sağkalım 22 ay olarak bulunmuştur (15). ALL tanılı hastalar 164 ay boyunca izlenmiş, 1-4 yaş aralığı prognoz açısından en iyi grup bulunmuş, bunu 5-9 yaş grubu izlemiştir.

### **Lökosit Sayısı**

Tanı anındaki lökosit sayısı, en önemli prognostik faktörlerden biridir. Lökosit sayısı ile prognoz arasında ters bir ilişki olduğu konusunda farklı gruplar hemfikir olsalar da sayısal değer olarak farklılıklar mevcuttur. Risk gruplaması ve tedavinin belirlenmesinde önemli yere sahip bu sayısal değer için çalışmalar yapılmış, %80 olaysız sağkalım elde edilen  $<50.000/\text{mikroL}$  değeri kabul görmüştür ve COG (Children's Oncology Group)-NCI tarafından standart risk grubu olarak kabul edilmiştir (19).

Diğer taraftan, Avrupa ve dünyada yaygın olarak uygulanan BFM protokollerinde uzun yıllar toplam blast yükünü yansıtan ve karaciğer-dalak büyüklüğü ile mutlak blast sayısına göre hesaplanan bir risk faktörü geliştirilmiş, yaş dahil edilmemiştir. BFM-95 protokolünde ise 1-6 yaş ve  $20.000/\text{mikroL}$  lökosit sayısını temel alan yeni bir risk grubu sınıflaması oluşturulmuştur (20,21). Standart ve orta risk grupları oluşturmak, standart risk grubunu genişletmek ve %90 olaysız sağkalım elde edilen bu grupta toksisiteyi en aza indirecek şekilde tedaviyi hafifletebilmek amaçlanmıştır.

### **Sitogenetik**

ALL risk sınıflamasında sitogenetik önemli bir yere sahiptir. Kromozom sayısı ve/veya kromozom yapısındaki translokasyonlar, inversiyon, delesyonlar prognozda etkilidir.

**Sayısal anormallikler:** Lösemik hücrelerin hiperdiploik ya da hipodiploid olmasına dayanır. 50 ve üzeri kromozom içeren hiperdiploidiler (DNA indeksi 1.16-1.6) iyi prognostik faktöre sahiptirler. Kromozom 4, 10 veya 17'nin de beraber olduğu hiperdiploidilerin prognozu en iyiye yakın (22); triploidide yakın (68-80) kötü; tetraploidik olanlarda ise ( $>80$ ) çok kötü; hipoploidiklerde ( $<46$ ), özellikle 24-28 kromozomlu hücrelerde prognoz en kötüdür (23).

**Yapısal anormallikler:** ETV6/RUNX1 (TEL-AML fuzyon proteini ile ilişkili t[12;21] translokasyonu) ve hiperdiploidinin birlikteliği iyi prognostik özelliğe

sahipken; iAMP21, Philadelphia kromozomu olarak adlandırılan t(9;22) translokasyonu ve bununla ilişkili BCR-ABL fuzyon proteinin varlığı, 11q23'deki MLL geni, t(1;19)'un oluşturduğu E2A-PBX1 fuzyon proteini, anormal 17p ve 13q delesyonu relaps riskini arttıran kötü prognostik faktörlerdir (24,25).

### **İmmüfenotip**

Hücrelerin yüzey ve sitoplazmik antijenik özelliklerine göre sınıflandırılmasına dayanan immüfenotipleme 1970'lerde başlamış, 1980'lerde "common leukemia-associated antigen"(CALLA)'nın gösterilmesi ve intrasitoplazmik zincirlerin  $\mu$ (clg) zincirlerinin tanımlanmasıyla alt gruplar ortaya çıkmıştır. 2010'da Barselona'daki Proceedings of the 9th International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens ile 364 CD (cluster of differentiation) bulunmuştur.

Blastlar terminal deoksitranferaz (TdT) içerirken, eksprese ettikleri işaretleyicilerle erken pre-B, Pre-B, geç Pre-B, olgun B ya da T hücreli olmak üzere sınıflandırılabilmiştir.

Çocukluk çağı ALL'lerin yaklaşık %70-80'i B hücre orijinli olup CD10+, CD19+ ve bazen CD20+'tır. Prognozu kötü olan L3 morfolojisindeki olgun B hücreli ALL'de ise CDs 10 ± 19, 20, 22, 25 ve yüzey immunglobilini pozitifdir (Tablo5).

**Tablo 5.** ALL'de B Lenfosit ve Progenitörlerinin İşaretleyicileri (26)

	Erken Pre-B	Pre-B	İmmatür B	Matür B
cIg		■		
sIg			■	■
HLA-DR	■	■	■	■
CD19	■	■	■	■
CD24	■	■	■	■
CD10	■	■	■	
CD20		■	■	■
CD21		■	■	■
CD22	■	■	■	■
CD23				■
CD34	■	■		
TdT	■	■	■	■

Prognozu kötü olan T hücre orijinli ALL'ler, tüm ALL'lerin yaklaşık %17'sini oluşturmaktadır ve CD 2, 3, 4, 5, 7, and 8 pozitifdir (Tablo 6). T hücreli ALL'lerin yaklaşık %10'unda CD8-, CD5dim ve ETP ALL (early T cell precursor phenotype) saptanmıştır (26). ETP ALL, çok erken evrede T hücre farklılaşmasında duraklamaya neden olup AML'lerde tipik olan myeloid işaretçiler eksprese etmektedir ve bu durum yüksek oranda remisyon başarısızlığına, düşük sağkalıma neden olmaktadır (27).

**Tablo 6.** ALL'de T Lenfosit ve Progenitörlerinin İşaretleyicileri (26)

	<b>Lenfoid kök H</b>	<b>Erken T</b>	<b>mid-timik T</b>	<b>Matür T</b>
CD1			■	
CD2		■	■	
CD3				■
CD4			■	■
CD8			■	■
CD7		■	■	■
TdT	■	■	■	■

Bu bilgiler ışığında çocukluk çağının en sık görülen malignitesi ALL'de düşük risk grubu özellikleri şu şekilde belirtilebilir:

- 1-10 yaş aralığı
- Tanı anında lökosit sayısı  $<50000/\text{mm}^3$
- Erken Pre-B Hücre immüfenotipi varlığı
- DNA indeksi  $>1.16$  olması
- Kromozom 4, 10, 17 hiperdiploidilerinin olması
- Tanı anında MMS ve testis tutulumunun olmaması
- İndüksiyon tedavisine erken yanıtın olması

Düşük risk grubundaki hastalarda beş yıllık olaysız sağ kalım %95 üzerindedir (Tablo 7).



**Tablo 7.** ALL’de Risk Gruplaması ve Tedavi Önerileri (12)

Risk grubu	Özellikler	Görülme sıklığı (%)	Önerilen tedavi	Olaysız beş yıllık sağkalım (%)
<b>Düşük</b>	Aşağıdakilerin hepsi olmalıdır: 1. Standart risk grubu 2. Düşük risk sitogenetik özelliklerinden biri -trizomi 4 ya da 10 -ETV-RUNX1 -hiperdiploidi 3. Tedaviye hızlı yanıt	15	Konvensiyonel antimetabolit bazlı tedavi	>95
<b>Orta</b>	Aşağıdakilerden herhangi biri olmalıdır: 1. Standart risk grubu+ tedaviye hızlı yanıt 2. Standart risk grubu+düşük sitogenetik risk+tedaviye yavaş yanıt	36	Yoğunlaştırılmış antimetabolit tedavi	90-95
<b>Yüksek</b>	Aşağıdakilerden herhangi biri olmalıdır: 1. Yüksek risk grubu+tedaviye hızlı yanıt 2. Standart risk grubu+tedaviye yavaş yanıt 3. MSS tutulumu 4. Testiküler tutulum	25	Yoğunlaştırılmış çoklu ajanlı kemoterapi	88-90
<b>Çok yüksek</b>	Aşağıdakilerden herhangi biri olmalıdır: 1. 29.gün MRD+ 2. Başlangıç hataları 3.MLL rearanjmanları ya da iAMP21 amplifikasyonu 4. <1	24	İlk remisyonda allojenik KİT (sütçocuğuna önerilmez)	<80
<b>Diğer</b>	T hücreli ALL		Yoğun çok ajanlı kemoterapi	66-80
	Philadelphia kromozom varlığı [t (9; 22)]		Yoğun çok ajanlı kemoterapi+ BCR-ABL tirozinkinaz inhibitörü	70

## LENFOMA

Lenfoma, lenforetiküler hücrelerden köken alan, çoğu zaman lenf bezinin tümoral büyümesi ile klinik semptom oluşturan malign özellikte heterojen hastalıklardır. Hodgkin lenfoma (HL) ve Hodgkin dışı lenfoma (HDL) olmak üzere iki önemli alt grubu vardır.

### Hodgkin Lenfoma

Çocukluk çağı kanserlerinin %7 sini, lenfomaların %10'unu ve kanser nedeni ABD'deki ölümlerin %1'lik kısmını oluşturur (28). Hodgkin lenfoma insidansı, görülme yaşı, cinsiyet dağılımı yaşanan coğrafya, sosyoekonomik durum ve immüniteyle değişiklik gösterse de çocukluk çağında infantlarda nadiren olup çoğunlukla 15-19 yaş grubunda görülmektedir. Tüm yaşlara bakıldığında kızlarda daha fazla saptanmakta (E/K:0.8); 15 yaş altında yaş küçüldükçe erkeklerde görülme sıklığı kızlara oranla fazlasıyla artmaktadır (29). Olaysız sağkalıma bakıldığında 1970'lerde % 81 iken 2002'de %94'e kadar çıkmıştır (30).

Hodgkin lenfoma, lenf nodundaki germinal merkezdeki B hücrelerinden kaynaklanır ve hücrelerin %1 kadarını oluşturan Reed-Sternberg hücreleri, HL için patognomoniktir (31). Dünya Sağlık Örgütüne göre Hodgkin lenfoma ikiye ayrılır:

***Klasik HL:*** Dört alt tipi mevcuttur:

**Noduler sklerozan tip:** Yüzde 80 oranla en sık görülen tiptir. Büyük çocuk ve ergenlerde daha sık görülmektedir. Yoğun kollajen bantlar lenf nodunu, nodullere ayırmaktadır.

**Miks selüler tip:** On yaş altı çocukların %20'sinde, ergenlerin yarısında görülmektedir. Biyopsi materyalindeki yoğun eozinofilden dolayı HDL ile karışabilmektedir.

**Lenfositten fakir tip:** Çocuklarda nadiren görülmektedir.

**Lenfositten zengin tip:** Çocuklarda nadiren görülmekle, Reed-Sternberg hücreleri CD15 and CD30 eksprese ederler.

***Noduler Lenfosit Predominant HL:*** Yüzde 5-10 oranında görülmekte olup klasik tipten farklı immunolojiye sahiptir. CD19, CD20, CD79A, bazen CD30 ekspresyona sahipken CD15 içermezler. Prognozu klasik tipe göre daha iyidir.

HL'ların %80'inde ağrısız, genelde servikal yerleşimli olmakla supraklavikular, aksillar, daha az sıklıkla inguinal, lastik kıvamlı lenfadenopati; %75'inde mediastinal kitle, daha az sıklıkla da ateş, kilo kaybı, halsizlik, gece terlemesi gibi sistemik semptomlar saptanmaktadır.

HL'da kitlenin yeri, bazı semptomları oluşturma durumuna göre Ann Arbor evreleme sistemi (Tablo 8) ile düşük, orta, yüksek risk grupları oluşturulmuştur ve tedavileri düzenlenmiştir.

**Tablo 8.** Hodgkin Lenfomada Ann Arbor (Cotswold) Evreleme Sistemi (32)

<b>Evre</b>	<b>Özellik</b>
<b>I</b>	Tek bir lenf bezi tutulumu ya da tek bir ektranodal lokalize organ tutulumu
<b>II</b>	Diaframın sadece bir tarafında iki ve üzeri lenf bezi tutulumu
<b>III</b>	Diaframın her iki tarafında
<b>IV</b>	Karaciğer±Kemik iliği; diğer ektranodal yaygın organ tutulumu
<b>A</b>	Semptom yoksa
<b>B</b>	Semptom varsa (enfeksiyon ya da başka nedenle açıklanamayan) * 38 dereceden fazla olan ateş * Diyet vs ile açıklanamayan 6 ayda %10'dan fazla kilo kaybı * Ciddi gece terlemesinin olması
<b>E</b>	Ektranodal tutulum
<b>S</b>	Dalak tutulumu
<b>X</b>	Kitle hastalığı (>6 cm)

HL tedavisinde, ilk basamak hastalığın risk sınıflamasının yapılmasıdır. Bunu takiben çoğu protokolda kemoterapi ve düşük/standart doz radyoterapi kombinasyonu kullanılmaktadır. Olaysız sağkalım %92'lere kadar çıkmaktadır (Tablo 9).

**Tablo 9.** Hodgkin Lenfomada Hastalık Risk Gruplaması ve Olaysız Sağkalım Oranları

<b>Risk grubu</b>	<b>Özellik</b>	<b>Olaysız sağkalım oranları (%)</b>
<b>Düşük</b>	Bası yapmayan Evre IA ya da IIA	92
<b>Orta</b>	Evre IB ya da IIB; bası yapan IA ya da IIA; bası yapmayan Evre IIAE, Evre IIIA ya da Evre IVA	85
<b>Yüksek</b>	Evre IIIB ya da Evre IVB	83

## Hodgkin Dışı Lenfoma

Hodgkin Dışı Lenfomalar (HDL), lenfoid dokuyu oluşturan progenitör ya da olgun B ya da T hücrelerden oluşan farklı malign hastalık grubudur. Erişkinlerde çocuklara oranla çok daha sık görülmekte ve HDL'lar çocukluk çağında agresif seyretmektedir (33).

Çocukluk çağı kanserinin %8-10'unu, lenfomaların da %60'ını oluşturmaktadır. Sütçocuklarında nadiren görülmekle ortalama görülme yaşı yaklaşık 10'dur ve yaş arttıkça hastalığın görülme riski artmaktadır (34). Toplumdan topluma HDL alt tipleri ve insidansları farklılık göstermektedir. Erkeklerde kızlara oranla 2.5 kat fazla ve beyaz ırkta daha sık görülmektedir.

Etyolojiye yönelik net bir bilgi yoktur. Epstein-Barr virüsü (EBV) ve malarya ile infekte olan bölgelerde, çene yerleşimli Burkitt Lenfomanın endemik olarak saptanması, virüsün hastalık patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (35-37). Yaygın değişken immün yetmezlik (CVID), Wiskott- Aldrich gibi konjenital immün yetmezlik ve HIV, transplant nedenli immüsupresif kullanımı gibi edinilmiş immün yetmezlik durumlarında da HDL insidansının arttığı bildirilmiştir.

Hodgkin dışı lenfomada tam kan sayımı normal olabilmekle, kemik iliği tutulumuna bağlı açıklanamayan lökopeni, anemi, hipersplenizme bağlı trombositopeni; yüksek tümör yükü ve yıkım nedeniyle, özellikle Burkitt lenfomada, hiperürisemi ve yüksek serum laktat dehidrogenaz değerleri biyokimyasal olarak saptanabilmektedir.

HDL'da tümoral kitlenin yerleşim yerine göre solunum yolu obstrüksiyonu, superior vena kava sendromu, spinal kord basısı, kardiyak tamponad, intussepsiyon gibi bası semptomları tanı anında karşımıza çıkmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü, 2008 yılında tüm lenfoid neoplaziler uzun bir tablo şeklinde sınıflandırmış olsa da genel anlamda çocukluk çağı HDL'ları temel olarak T ya da B hücreli oluşlarına göre iki grupta incelenebilir (Tablo10):

**Tablo 10.** Hodgkin Dışı Lenfoma Sınıflaması (38)

Hücre tipi	Alt grup
B-hücreli	Prekürsör B neoplazi * B lenfoblastik Periferal B neoplazi * Foliküler * Diffüz büyük B hücreli * Primer Mediastinal * Burkitt * Yüksek evreli Burkitt ve benzeri
T-hücreli	Prekürsör T neoplazi * T lenfoblastik Periferik T hücreli * PTL tanımlanamayan * Anaplastik büyük hücreli * Non-spesifik/intermediate

Çocukluk çağında HDL'ların %40'ını Burkitt ve Burkitt benzeri lenfoma (BL)/lösemi (B-ALL), %30'unu prekürsör B veya T hücreli lenfoblastik lenfoma (LBL), %20'sini difüz büyük B hücreli lenfoma (DLBCL) ve %10'unu anaplastik büyük hücreli lenfomalar (ALCL) oluşturmaktadır (37). Birçok alt grubu olan Hodgkin dışı lenfomalar, gelişen immunfenotipleme, sitogenetik ve moleküler çalışmalarla sınıflandırılabilmiş, uygun tedavi rejimleriyle sağkalımlarda artış olmuştur (37).

**Burkitt Lenfoma (BL):** HDL'ların %40'unu oluşturmaktadır. Burkitt Lenfomanın iki alt grubu mevcuttur: Endemik tip olarak adlandırılan, çene tutulumlu BL, Afrika ekvator bölgesinde, sıklıkla 4-7 yaş aralığında, erkeklerde kızlara oranla

iki kat fazla görülmektedir. Hızla büyüyen baş-boyun bölgesindeki lenfadenopati ve diş dökülmeleri ile prezente olur. %20 olguda kemik iliği tutulumu vardır. Sporadik tipi ise dünyanın her yerinde görülebilir. Genelde büyük çocuk ve genç erişkinlerde batın içi tutulum gözlenmektedir ve altı yaş üstü çocuklarda invajinasyonun en sık nedenidir. %1-2 olguda kemik iliği tutulumu mevcuttur. Ülkemizde ise endemik ve sporadik tiplerin ara formu şeklinde prezente olmaktadır (37). Tablo 11’de görüldüğü üzere BL olgularında saptanan en sık ve en önemli genetik anomali 8 nolu kromozomun q24 bandına lokalize MYC geninin, 14 nolu kromozomun q32 bandına lokalize Ig ağır zincir bölgesine translokasyonudur t(8;14). Bu translokasyon dışında daha az sıklıkla da olsa; MYC geni lambda hafif zincir bölgesini ilgilendiren 22q11 lokusu arasındaki translokasyon ve yine MYC geni ile kappa hafif zincir 2p12 arasındaki translokasyondur t(2;8). Türkiye’den Celkan ve ark.’larının yaptığı bir çalışmaya göre BFM-95 ile tedavi edilen hastaların olaysız sağkalımı %76 olarak saptanmıştır (43).

**Difüz Büyük B Hücreli Lenfoma (DBBHL):** Yüzde 30 sıklıkla görülmektedir. Semptomatik hızla büyüyen ve kitle etkisi yaratan lenf nodu ile prezente olmaktadır. Burkitt Lenfomanın aksine spontan tümör lizis sendromu oluşturması nadirdir (31). c-MYC geninde t(8;14)(q24;q32) translokasyonu sıklıkla saptanmaktadır.

**T-Hücreli Lenfoblastik Lenfoma:** Genellikle periferik lenfadenopati ve mediastinal yerleşime bağlı solunum sıkıntısı, superior vena kava sendromu gibi bazı semptomları ile prezente olmaktadır. Batın içi tutulum nadirdir. Tanı yaşı ortalama 12 olup erkeklerde kızlara oranla 2 kat sık görülmektedir. Hastaların %80’inde tanı anında evre, III-IV’tür. Kemik iliği tutulumu olması ve blastların %25’ten fazla olmasıyla akut lenfoblastik lösemi olarak adlandırılmaktadır (31).

**Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma:** HDL’ların %15’ten azını oluşturan çok agresif seyirli gruptur ve çoğu T hücre kaynaklıdır. Hastaların çoğunda sistemik hastalık bulgusu olup periferik ve retroperitoneal lenfadenopati sıklıkla



gözlennmektedir (31,44). Yoğun tedaviye rağmen olaysız sağkalım oranları % 65-75 saptanmıştır (44).

**Tablo 11.** Çocukluk Çağı Hodgkin Dışı Lenfomaların Morfolojik, İmmunolojik ve Genetik Özellikleri (34)

Özellikler	DBBHL	Burkitt	Lenfoblastik	ABHL
<b>Morfoloji</b>				
▪ Hücre boyutu	Büyük	Orta	Küçük-orta	Küçükten büyüğe her tip
▪ Nükleer kromatin	Yoğun,veziküler	Kaba	Belirgin, blastik	Yoğun,veziküler
▪ Nükleolus	Değişken	Değişken	Yok	Değişken
▪ Sitoplazma	Bol	Belirgin vakuoller	Az	Orta-bol
▪ Lenf nodu paterni	Difüz	Difüz, yıldızlı gökyüzü manzarası	Difüz,yıldızlı gökyüzü manzarası	Difüz ya da sinuzoidal
<b>İmmüfenotip</b>	CD 20+, CD 22+	CD 20+, CD 22+	CD2 (%80), CD19 (%20)	T-hücre, CD30 +, ALK+
<b>Genetik özellikler</b>	t(8;14)(q24;q32) 12 kazanımı 21 kazanımı 15 kaybı 3q27 rearanjmanı 6q delesyonu 7q kazanımı 11kazanımı	t(8;14)(q24;q32) t(8;22)(q24;q11) t(2,8)(q11;q24) 1q duplikasyonu 13q anomalisi 6q delesyonu 17p anomalisi 11q anomalisi	T-hücre reseptör rearanjmanları TCL-1 t(7;14)(q35;q32) t(14;14)(q11;q32) TCL-2 t(11;13)(p13;q11) TCL-3 t(10;14)(q24;q11) TAL-1 t(1;14)(q32;q11)	t(2;5)(p23;q25) Kromozom 1,2,3,17 ile ALK translokasyonu

Hodgkin dışı lenfomaların evrelendirmesinde St. Jude sistemi kullanılmaktadır (Tablo 12).

**Tablo 12.** Çocukluk Çağı Hodgkin Dışı Lenfomada St. Jude Evreleme Sistemi (34)

<b>Evre</b>	<b>Tanımlama</b>
<b>I</b>	Tek anatomik bölgede ya da ektranodal hastalık (batın ve toraks yerleşimli hariç)
<b>II</b>	Torakal tutulum hariç; * Ektranodal yerleşimli tek tümör ve bölgesel lenf nodu tutulumu * Diaframın aynı tarafında iki veya daha çok nodal tutulum * Diaframın aynı tarafında iki ektranodal tümör (bölgesel lenf nodları tutulmuş olabilir) * Primer rezeke edilen gastrointestinal tümörler * Tam çıkarılan abdominal hastalık
<b>III</b>	* Diafragmanın iki tarafında iki ektranodal tümör veya iki ya da daha çok nodal alan tutulumu * Bütün primer mediastinal, timik, plevral HDL'lar * Tüm paraspinal/epidural tümörler
<b>IV</b>	Yukarıdaki evrelerden herhangi biri ile beraber merkezi sinir sistemi veya kemik iliği tutulumu (<%25)

## **Prognostik Faktörler**

Agresif seyirli Hodgkin dışı lenfomada, mevcut tedavilerle gelişmiş ülkelerdeki 5 yıllık sağkalım %80 civarındadır. Burkhardt ve ark.'ların 2084 hasta ile yaptıkları bir çalışmada olaysız sağkalım %85±1 olarak bulunmuştur (39).

**Tedavi yanıtı:** Histolojik tipten bağımsız olarak başlangıç tedavisine yanıtın % 20'den fazla olup olmamasıdır.

**Evre:** Histolojik tipten bağımsız düşük evreler (evre I,II), yüksek evrelere göre daha iyi prognoza sahip olup olaysız sağkalım %90'larda bulunmuştur (40).

**Minimal dissemine hastalık (MDD):** Tanı anında flovsitometri ile submikroskopik kemik iliği tutulumunun olması durumudur. Coustan-Smith ve ark.'ların T hücreli lenfoblastik lenfoma tanılı hastalarda yapmış oldukları bir çalışmada, 2 yıllık olaysız sağkalım MDD<%1 olan grupta %90.7±4.4; MDD≥%1 olan grupta % 68.1±11.1, MDD>%5 ise %51.9±18 (p:0.009) saptanmıştır (41).

**Tanı anında tutulum bölgeleri:** Mediasten, vissera, deri, kemik tutulumları kötü prognoza sahipken, merkezi sinir sistemi tutulumu en kötü prognoza sahiptir. Salzburg ve ark.'larının 2086 hasta ile yaptıkları çok merkezli bir araştırmada merkezi sinir sistemi tutulumu olanlarda olaysız sağkalım %64±5 iken, tutulum olmayanlarda %86±1 olarak saptanmıştır (p<0.001)(42).

**Tümör biyolojisi:** Olgun B hücreli lenfomada 7q kazanımı, 13q delesyonu; Burkitt lenfoma ve difüz büyük B hücreli lenfomada c-myc (8q24) rearanjmanı; T hücreli lenfomada kromozom 6q heterozigot kaybı kötü prognoza sahiptir (34).

**İmmün yanıt:** Çocuklarda yeterli sayıda çalışma ve kullanım alanı olmamakla; kemoterapi ile kombine edilerek tümöre spesifik monoklonal antikolar (CD20-Rituksimab, CD52-Alemtuzumab...) kullanılma imkanı sunmaktadır.

Agresif seyirli HDL’larda ilk basamak tedavi kemoterapidir. Tedavide Hodgkin lenfomanın aksine radyoterapi pek kullanılmamaktadır. Link ve ark.’larının 340 düşük evreli HDL tanılı hasta ile yaptıkları randomize çalışmada, indüksiyon fazında bir gruba sadece kemoterapi, diğer gruba kemoterapi+radyoterapi verilmiş ve dokuzuncu hafta sonunda gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (45). Kitle etkisi yaratan-bası oluşturan mediastinal kitlelerde, kemoterapi sonrası rezidü kalışında ve relapsta radyoterapi kullanılabilir.



## KANSEROGENEZ & D VİTAMİNİ

Kanser, “hücrelerin kontrolsüz çoğalması” şeklinde basit bir tanımla ifade edilebiliyor olsa da mekanizma olarak bu kadar basit değildir. Kanser hücreleri kontakt inhibisyonundan kaçabilme, bölünebilmek için dış sinyallere gereksinim göstermeme, çoğalmayı baskılayıcı sinyallere duyarsızlık, apoptozisten kaçabilme, anjiyogenezi uyarabilme ve metastaz yapabilme gibi yetenekleri olan hücrelerdir (46,47). Herhangi bir basamaktaki pro/anti-apoptotik proteinler, hücre siklusu kontrol proteinleri, DNA tamir proteinlerinden oluşan tümör supresör genlerin inaktive; büyüme faktörleri, büyüme faktörü reseptörleri, sinyal iletim proteinleri, transkripsiyon faktörlerinden oluşan onkogenlerin aktive oluşu ile muntazam dengedeki apoptoz azalır ve kontrolsüz çoğalma gerçekleşir. İyonlaştırıcı radyasyon, cilt kanserlerinin oluşunda etkisi saptanmış ultraviyole ışınlar, elektromanyetik dalgalar, aflatoksin, aromatik amin, arsenik, asbestoz, benzen, sigara, nikel, polisiklik hidrokarbon gibi kimyasal ajanlar, viral enfeksiyonlarla DNA’da kırılma, insersiyon, delesyon, genomik instabilitenin gerçekleşebileceği gösterilmiştir (48).

İnsan genomu 23 çift kromozom üzerine kurulmuş 3 milyar ( $3 \times 10^9$ ) baz çiftinden oluşmaktadır. Genomun yaklaşık %3’ü transkripsiyon ve translasyonla sonuçlanan genler taşımaktadır. Protein kodlayan yaklaşık 27000 gen olduğu bilinmektedir. Bu genlerde de aminoasit kodlayan ekzon parçaları; ekzon parçaları arasında yer alan intronlar mevcuttur.

Tüm insanların DNA’sı % 99.9 benzerlik göstermektedir (49). Genetik farklılaşma ise % 1’den daha az olan bölgelerdeki sekans varyasyonları, sitogenetik ya da epigenetik varyasyonlarla olmaktadır. Tek bir bazdaki nokta mutasyon; sessiz mutasyon olup aminoasit diziliminde hiçbir değişiklik oluşturmamadan, çerçeve kayması (frameshift) mutasyonu ile tüm dizilimi değiştirebilecek kadar etkili olabilir.

Mutasyonlar toplumlarda nadiren görülmektedir. 2003 yılında tamamlanan insan genom projesine göre %90 oranında tek nükleotid polimorfizmleri görülürken, bunu insersiyon (katılma) ve delesyon (eksilme) mutasyonları izlemektedir (50,51). DNA dizilimindeki değişikliğin polimorfizm olarak adlandırılması için toplumun en az %1’inde görülmesi gerekmektedir (49).

Tüm yaşlarda insidansı artan, çağın hastalığı, önemli mortaliteye sahip kanser, kanserogenez ve buna sebep olan nedenler halen araştırılmaktadır. Polimorfizmlerin kanser epidemiolojisinde bir yerinin olup olmadığına dair çalışmalar yapılmaktadır. Yüzyılı aşkın süredir kemik metabolizması ve kalsiyum-fosfor dengesiyle bilinen D Vitamininin otoimmün hastalıklar, metabolik sendrom, infeksiyon hastalıkları, kanserle de ilişkisinin olabileceği savunulmuş ve vitamin D üzerine pek çok çalışma yapılmıştır (52). Çalışmalarda, mevcut durumların öncelikle vitamin D düzeyleri ile ilişkili olabileceği araştırılmış; sonrasında reseptör düzeyinden moleküler çalışmalar aşamasına gelinmiştir.

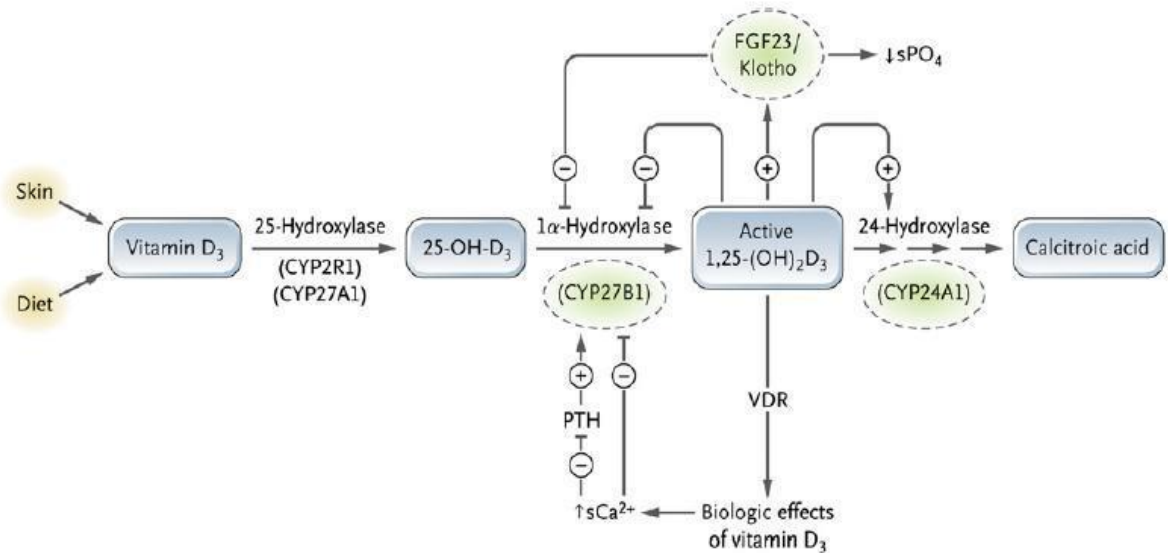


## D Vitamini, Reseptörü ve Polimorfizmleri

1919 yılında Edward Mellanby tarafından keşfedilen D vitamini, yağda çözünen A,D,E,K vitaminleri grubunun bir üyesidir. Deri epitelyal hücrelerinde sentezlenebilmektedir. Steroid yapıda olmasıyla teknik olarak bir vitamin değildir. Deride 7-kolekalsiferolün güneş kökenli UV ışınları ile vitamin D<sub>3</sub>'e dönüşmesi, en önemli D vitamini kaynağıdır (53).

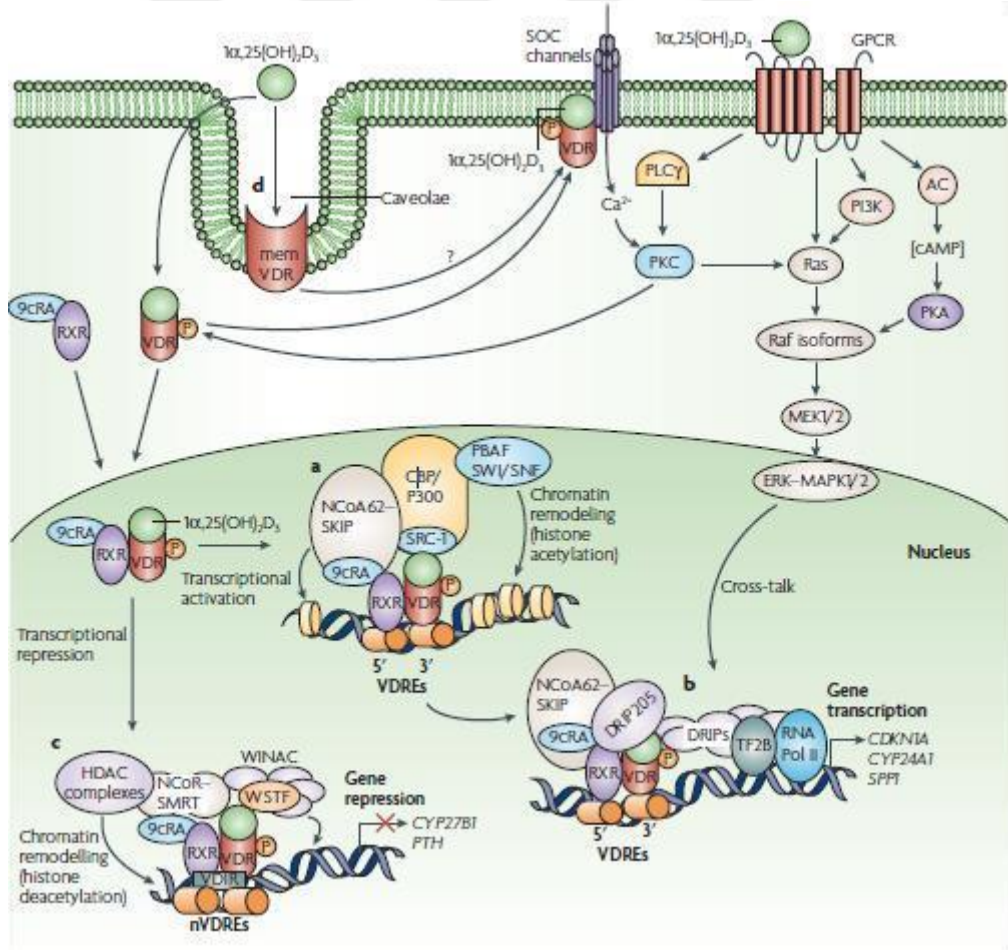
Kalsiyum (Ca) metabolizmasında 25-hidroksivitaminD<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -hidroksilaz (CYP27B1) enzimi en önemli rolü oynamaktadır. Bu enzim 25-(OH)D<sub>3</sub> formunu, aktif D vitamini olan, barsaklardan kalsiyumun ve fosforun emilmesini, böbrek ve kemiklere transportunu sağlayan 1,25-dihidrokokalekalsiferol (1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) formuna çevirir (54). Serum 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> düzeyi yeterli konsantrasyonun üzerine çıktığında, D vitamini deaktif edici enzim 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-24-hidroksilaz (CYP24A1) aktive olur. Mitokondriyal bir enzim olan CYP24A1 24 $\alpha$  hidroksilasyon ile D vitamini inaktif form olan 24,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> formuna çevirir (Şekil 1).

**Şekil 1.** Kalsiyum-Fosfor Metabolizmasındaki Önemli Enzimatik Basamaklar (54)



D vitamini yağda eriyen bir vitamin olduğu için dokulara taşınabilmesi için taşıyıcı proteine (DBP) ihtiyaç duymaktadır. Nükleer bir reseptör olan Vitamin D reseptörü (VDR), Retinoid X Reseptör (RXR) aracılığı ile bağlanır. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-RXR kompleksi VDR'ye bağlandığı zaman aktive olur ve vitamin D'nin fonksiyonlarını yansıtan proteinlerin transkripsiyonunu kodlamaya başlar (Şekil 2). Hürelere özgün genlerle VDR ve RXR kompleksi farklı miktarlarda oluşturulur. Haussler ve ark.'ları, VDR ligandları ve 1,25(OH)D/VDR kompleksinin ekspresyonunun, yaşlanma nedenli gelişen osteoporoz, tip 2 diyabet, kanser gibi hastalıkların daha da gecikmesine sebep olabileceği düşünmüşlerdir (55).

**Şekil 2.** 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün İntraselüler Sinyal Yolları ve Gen Transkripsiyonundaki Rolü (56)





D vitamininin, kemik metabolizması üzerine etkileri dışında, yıllar içerisinde hücre çoğalması ve farklılaşması üzerinde de etkili olduğu bulunmuştur. 1,25 dihidrokolekalsiferol ( $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) (kalsitriol), D vitaminin en aktif biyolojik formudur. Thome ve Campbell tarafından yapılan bir çalışmada kalsitriol, hücre siklusunda G0/G1 fazında duraklama ve p21<sup>Waf1/Cip1</sup>, p27<sup>Kip1</sup> dahil hücre siklus inhibitörlerinin artırılması ile kanser hücrelerinin çoğalmasını baskılamıştır (57). Hücre siklusunun devamı için gerekli olan siklinler CDKs (Cyclin Dependent Kinases) ve CDK inhibitörleri ile Vitamin D, DNA sentezini G1 fazında inhibe etmektedir. Cyclin E-CDK2 ve Skp2 (S-phase kinase-associated protein 2) ubiquitin ligazlar, kalsitriol tarafından baskılanmaktadır (58).

Miyaura ve ark.'ları in vitro insan myeloid lösemi hücreleri ile yapmış olduğu diğer bir çalışmada, nanomolar düzeyde doz bağımlı aktif  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  ile yine çoğalmanın baskılandığı; fagositoz ve C3 rozet formasyonunun arttığı, anti-kanser etkinin olduğu bulunmuştur (59).

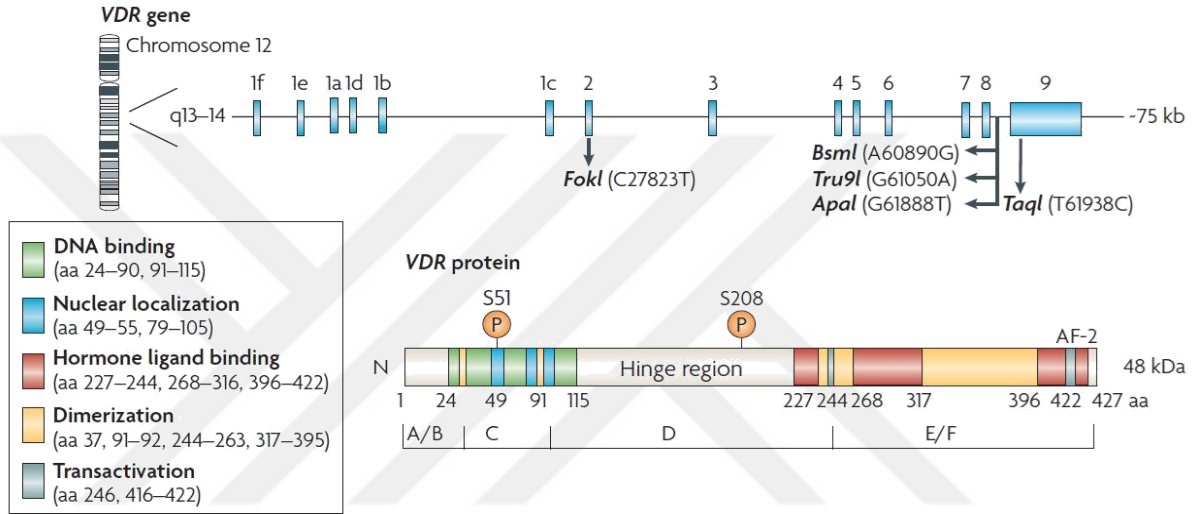
Angiogenesis, yeni damar oluşumu anlamına gelen fizyolojik bir süreç olup büyüme, gelişme, yara iyileşmesinde rol oynadığı gibi; tümörün gelişmesi, invazyonu ve metastazi için de gerekli bir süreçtir. Vitamin D reseptörleri, endotelial hücreler ve vasküler düz kas hücrelerinde tespit edilmiştir. Endotelial dokularda lokal olarak bulunan  $1\alpha$ -hidroksilaz ile  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  sentezlenir ve Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF) aracılıklı angiogenesisi bloke edip, apoptozisi indüklemektedir (60).

Nuclear factor-kappaB (NFkB), pek çok gen ile etkileşip, hücre proliferasyonu ve inflamasyon kontrolünde rol almaktadır. Yapılan araştırmalarda NFkB aktivasyonu yolu ile inflamatuvar süreç olan ülseratif kolitten kolon kanserine giden süreçte önemli rol aldığı düşünülmektedir (61).

Kansere giden süreçte, aktif ve inaktif vitamin D düzeyleri dışında, nükleer bir reseptör olan, hücre içi sinyal yolları ile birçok ilişkisi olan Vitamin D Reseptör (VDR) ile de çalışmalar yapılmıştır. VDR proteini, kromozom 12q12–q14 bölgesinde kodlanmakta olup polimorfik varyasyonları saptanan bir gen dir ve kanser riskini arttırabileceği hipotezi kurulmuştur (62). Bugüne kadar promoter bölgesinde, ekzon 2-9'da ve çevresinde, 3' ucunda bilinen altmıştan fazla polimorfizmi bulunmuştur (63). Örneğin; ekzon 2'nin 5' ucundaki start kodon polimorfizi olan

Fok-1 kesilmiş bir proteine neden olup daha kısa VDR geni kodlanıp daha az fonksiyon gösterdiği hipotezi kurulmuştur (64). Ekzon 8'in 3' ucundaki Bsm-1 mRNA oluşumunu ya da translasyonu bozmayıp proteinde hiçbir değişiklik yaratmazken; ekzon 9'daki Taq-1 sessiz kodon değişimine neden olup (ATT→ATC) 352.pozisyona izolösin eklenmesine neden olan en sık tek nükleotid polimorfizmleridir (57).

**Şekil 3.** Vitamin D Reseptörü Gen Polimorfizm Bölgeleri (62)



Köstner ve ark.'larının 2009 yılında yaptığı bir meta-analize dahil edilen literatürlerde, VDR polimorfizmlerinden meme kanserinde Fok-1, Bsm-1, Taq-1, Apa-1, poly (A); prostat kanserinde Fok-1, Bsm-1, Taq-1, poly (A); cilt kanserinde Fok-1, Bsm-1, A-1210; kolorektal kanserlerde Fok-1, Bsm-1; over kanserinde Fok-1, Apa-1; mesane kanserinde Fok-1; renal hücreli karsinomda ise Taq-1, Apa-1 ile önemli ilişkilerinin olduğu bildirilmiştir (63). Literatürlerin detaylı incelenmesi sonucunda meta-analize göre meme kanserinde Bsm-1, Fok-1; prostat kanserinde Fok-1; malign melanomda yine Fok-1 polimorfizmleri ile kanser-prognoz açısından kuvvetli ilişkiler saptanmıştır.

Raimondi ve ark.'larının 2009 yılında yaptıkları prostat, meme, cilt, over, kolorektal kanserler ve HDL'ların dahil edildiği bir meta-analize göre Fok-1 ff genotipindeki grupta, FF genotipik gruba göre kanser riskinin arttığı (SOR;%95CI:

1.08;1.01-1.17); heterozigot grupta riskin hafif arttığı, fakat anlamlı olmadığı (SOR; 95%CI:1.04; 0.97–1.11) bulunmuştur (64). Yine aynı çalışmada Bsm-1 bir ya da iki B alleli taşıyanlarda kanser riskinin % 16 azalmış olduğu saptanmıştır (SOR; 95%CI: 0.86; 0.74–1.00)

Xu ve ark.'larının prostat kanser tanılı hastalarla yaptığı bir çalışmaya göre ff genotipindeki grupta, FF+Ff grupla karşılaştırıldığında tümör evrelerinin daha yüksek ve hastalığın daha agresif olduğu (p=0.015) saptanmıştır (65). Çicek ve ark.'larının yaptığı diğer bir çalışmada ise FF genotipindeki erkeklerde tümör evresi<T2c ve Gleason skoru<7 bulunmuştur (OR=0.56, %95CI:0.31-1.01; p=0.05) (66).

Purdue ve ark.'larının 584 HDL ve 518 kişiden oluşan kontrol grupla yaptıkları bir çalışmada, Fok-1, Bsm-1 and Taq-1 polimorfizmleri ile HDL arasında bir ilişki bulunamamışken; Bsm-1 ve Taq-1 taşıyıcılığının Difüz Büyük B Hücreli Lenfoma, Fok-1 ff taşıyanlarda da T hücreli lenfoma riskinde artış olabileceği bulunmuştur (67).

Bu ve diğer birkaç varyasyonların meme, prostat ve kolon kanserleri ile ilişkisi olduğunu düşünen pek çok çalışma olduğu gibi, ilişkilendirememiş araştırmalar da mevcuttur. Lakin literatüre bakıldığında çocuklarda yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma kesitsel bir çalışma olup Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

Çalışma grubu, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji bilim dalında takip edilmekte olan, 0-18 yaş arası lösemi ya da lenfoma tanısı almış, tedavisi bitmiş ya da devam etmekte olan ve çalışmaya katılmayı kabul eden, aydınlatılmış onamı alınmış hastalardan oluşmuştur. Kontrol grubu ise Marmara Üniversitesi Çocuk Hastalıkları polikliniklerine tümör, kitle, kronik hastalık dışı herhangi bir nedenle başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden ve aydınlatılmış onam alınan hastalardan oluşmuştur.(Ek 1)

Çalışma için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulundan, 9 Ocak 2015 oturumunda onay alınmıştır.(Ek 2)

Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Proje Komisyonu tarafınca 8 Nisan 2015 tarihinde proje kabul edilmiştir.

Araştırma için gerekli olan kan örnekleri, 2016 yılı Mart ayı içerisinde gün gün alınmış, Marmara Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarına 24 saat içerisinde ulaştırılıp çalışılmıştır.

## **KULLANILAN YÖNTEMLER**

### **DNA İzolasyonu**

Araştırmaya katılan olgulardan 0,5 M Etilendiamintetraasetikasil (EDTA) tüp içerisine 4 cc kan örneği alınmıştır. 15 ml'lik steril falkon tüplere 3.5 ml EDTA'lı kan örneği ve 10,5 ml RBC (Red Blood Cell) lizis solüsyonu eklenmiştir ve 10 dakika karıştırıcıda karıştırılmıştır. İkişer tane 2 ml'lik ependorf tüpleri hazırlanmıştır. 10 dakika karışım sonunda eritrositler parçalanmıştır ve oda sıcaklığında olan bu örnekler santrifüje yerleştirilmiş, 1700 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz atılmış ve altta kalan pellet vortekslenmiştir. Üzerine 650 µl SES tampon solüsyonu eklenmiş ve izopropanol eklenmemiş boş olan 2 ml'lik ependorf içerisinde pipetaj yapılmıştır. 200 µl NH<sub>4</sub>AC eklenmiş ve tekrar vortekslenmiştir. 13000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. İçerisine 850 µl izopropanol konulmuş steril 2 ml'lik ependorf içerisine bu faz eklenmiştir. DNA'lar gözle görülünceye kadar ependorflar halkasal hareketle çevrilmiştir. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiş ve üstte kalan izopropanol dökülmüş, %75'lik etanolden 300 µl eklenmiştir ve 13000 rpm'de 1 dakika daha tekrar santrifüj edilmiştir. Ependorf tüplerdeki alkol dökülmüş ve kurumaya bırakılmıştır. Etanol uçunca 200 µl Tris-EDTA solüsyonu eklenmiş ve bir gece oda sıcaklığında tutulmuştur. İzole edilen DNA'lar -20°C'de saklanmıştır.

## VDR Geni Fok1, Bsm1 ve Taq1 Polimorfizmlerinin Taranması

Bu çalışmada VDR geninde yer alan polimorfizmlerin analizi için PCR (Polimeraze Chain Reaction) kullanılmıştır. PCR içeriğinde; 12,8 µl distile su, 2,5 µl 10x tampon solusyonu, 0,7 µl FP, 0,7 µl RP, 0,1 µl Taq polimeraz, 2 µl template, 3,7 µl deoksinükleotittrifosfatlar [dATG, dGTP, dCTP, dTTP] ve 2,5 µl MgCl<sub>2</sub> eklenerek 25 µl ile PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Fok-1 polimorfizmini içeren gen bölgesi;

VDRFF(23b) 5'- AGGATGCCAGCTGGCCCTGGCAC -3'

VDRFR(26b) 5'-TGGCTGTGAGCGCCGCATGTTCCATG -3'

Bsm-1 polimorfizmini içeren gen bölgesi;

VDRBF 5'- GCAACCTGAAGGGAGACGTAGC -3'

VDRBR 5'- TCCTTGAGCCTCCAGTCCAGG -3'

Taq-1 polimorfizmini içeren gen bölgesi;

VDRTF 5'- AGAGCATGGACAGGGAGCAAGGC -3'

VDRTR 5'- TAGCTTCATGCTGCACTCAGGCTGG -3'

primerleri kullanılarak PCR tekniği ile çoğaltılmış, amplifikasyon sonunda Fok-1 polimorfizmi için 265 bp'lik, Bsm-1 polimorfizmi için 825 bp'lik, Taq-1 polimorfizmi için 740 bp'lik PCR ürünleri elde edilmiştir.

## **Polimerize Zincir Reaksiyonu (PCR) Döngüsü Protokolü**

Sıcaklık koşulları: 1 kez 94°C'de 3 dakika predenatürasyonu takiben her biri 35 döngü olacak şekilde 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 66°C'de 30 saniye bağlanma (hibridizasyon), 72°C'de 45 saniye uzama gerçekleşmiş; son olarak da 1 kez 72°C'de 10 dakika son uzama gerçekleşmiştir. Bağlanma sıcaklıkları Fok-1 için 69°C, Bsm-1 için 66°C, Taq-1 için 68°C'dir.

PCR sonrası, PCR ürünleri %2'lik agoroz jele 5µl yüklenerek agoroz jel elektroforezinde kontrol edilmiş; doğru gen bölgesinin amplifikasyonu görülmüşse restriksiyon endonükleaz ile kesim işlemi yapılmıştır.

### **PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz ile kesimi**

10 µl PCR ürünü, 3 µl 10x kesim tamponu, 1 µl enzim (Fok-1/Bsm-1/Taq-1), 16 µl distile sudan oluşan toplam 30 µl'lik kokteyl, Fok-1 için 37°C'de 3 saat, Bsm-1 ve Taq-1 için 65°C de 3 saat inkübe edilmiştir.

## **Agoroz Jel Elektroforezi**

Restriksiyon enzim kesim sonuçları %3'lük agoroz jelde değerlendirilmiştir. Uygun enzim ile kesim yapılmış ürünler loading dye ile muamele edilerek jele yüklenmiştir.

90-100V akımda 30-50 dk kadar yürütülmüş, sonuçlar jel görüntüleme sisteminde incelenmiştir.

Örnekler UV ışık altında değerlendirildiğinde;

*Fok-1 polimorfizmi için (WT: F→T, Mutant: f→A, C,G)*

FF olan bireylerde 263 bç'lik ve 80 bç'lik,

Ff olan bireylerde 343, 263 ve 80 bç'lik,

ff olan bireylerde 343 bç'lik;

*Bsm-1 polimorfizmi için (WT:B→G, Mutant: b→A)*

BB olan bireylerde 331 ve 200 bç'lik,

Bb olan bireylerde 531, 331, ve 200 bç'lik,

bb olan bireylerde 531 bç'lik;

*Taq-1 polimorfizmi için (WT:T, Mutant: C)*

TT olan bireylerde 479 bç'lik,

TC olan bireylerde 479, 290 ve 189 bç'lik,

CC olan bireylerde 290 ve 189 bç'lik bantlar görülmüştür.



## ANALİZ

Tüm veriler, elektronik ortama kaydedilmiştir ve SPSS 20.0 istatistik programı kullanılmıştır. Araştırmada kategorik tanımlayıcı verilerin karşılaştırılmasında ki-kare (Chi-Square) testi kullanılmış olup veriler frekans tablolarında; ölçümsel veriler ise ortalama±standart sapma tablolarında sunulmuştur. Ölçümsel verilerin normal dağılım gösterip göstermediğine Kolmogorov-Smirnov testi ile karar verilmiştir. Yaş ve ALP bağımsız değişkenleri normal dağılım göstermediğinden Mann-Whitney U ile değerlendirilmiş; Ca, P, Vitamin D değişkenleri ise normal dağılım gösterdiğinden T-testi ile sonuçlandırılıp tablolarda sunulmuştur.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş; allelerin risk olasılığı ise odds oranı (OR) ve %95 güven aralığı (CI) kullanılarak değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Çocukluk çağı lösemi-lenfoma tanılı hastalarda VDR gen polimorfizmlerinin malignite üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışma, toplam 99 katılımcıdan oluşmaktadır. M.Ü.P.E.A.H. Çocuk Hematoloji-Onkoloji Polikliniği izlemi sırasında 4 hastanın lenfopenik oluşu nedeniyle alınan kanlardan DNA izole edilememiş ve 2 hastanın da ani kaybı nedeniyle hasta grup 40 kişiden oluşmuştur. Kontrol grubuna ise 59 katılımcı dahil edilmiştir.

### Cinsiyet Dağılımı

Tüm katılımcıların 47'si (%47,5) erkektir. Hasta ve kontrol grubunda erkek katılımcı sayıları hemen hemen aynıken; hasta grupta 17, kontrol grupta 35 kız mevcuttur. Tablo 13'te görüldüğü üzere her iki grup arasında cinsiyet dağılımında istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır ( $p=0.057$ ).

**Tablo 13.** Grupların Cinsiyet Dağılımı

Gruplar/cinsiyet	Hasta (%)	Kontrol (%)	Toplam (%)
<b>Kız</b>	17 (17,2)	35 (35,4)	52 (52,5)
<b>Erkek</b>	23 (23,2)	24 (24,2)	47 (47,5)
<b>Toplam</b>	40 (40,4)	59 (59,6)	99 (100)

$p=0.057$

Araştırmaya katılan 40 hastanın 30'unu ALL tanısı almış hastalar oluşturmaktadır ve bunların 9'u düşük risk, 16'sı standart risk, 4'ü yüksek risk grubunda yer almaktadır ve tedavileri devam etmektedir. 2 hasta AML, 1 hasta KML tanısıyla takip edilip imatinib tedavisi alırken lenfoma grubunda 4 hasta HL, 3 hasta HDL tanısıyla izlenmektedir.

Kontrol grubuna bakıldığında ise, katılımcıların sağlık kuruluşuna başvuru nedenleri arasında ilk sırada üst solunum yolu enfeksiyonu yer alırken, bunu 3 aydan

kısa süreli demir eksikliği tedavisi almış ve kontrole gelen hastalar, ardından da idrar yolu enfeksiyonu izlemektedir.

### Yaş ve Biyokimya Düzeylerinin Dağılımı

Çalışmaya dahil edilen hasta grubun yaş ortalaması  $8,27 \pm 4,8$  yılı; kontrol grubun ise  $9,66 \pm 4,1$  yıldır. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p=0.057$ ).

Biyokimyasal parametrelerden ALP değerlerine bakıldığında; hasta grubunun ALP düzeyi  $183,87 \pm 101,31$  U/L, kontrol grubunun  $230,96 \pm 119,52$  U/L olup bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0.015$ ).

**Tablo 14.** Grupların Yaş, Alkalin fosfataz Değerleri ve Karşılaştırılması

Gruplar/ Değerler		Ortalama $\pm$ SS	P değeri
Yaş (yıl)	Hasta	$8,27 \pm 4,8$	0.057
	Kontrol	$9,66 \pm 4,11$	
ALP (U/L)	Hasta	$183,87 \pm 101,31$	<b>0.015</b>
	Kontrol	$230,96 \pm 119,52$	

Biyokimyasal parametrelerden serum fosfor ve ve 25-OH-D<sub>3</sub> düzeylerinin hasta ve kontrol grubu karşılaştırmasında, Tablo 15'te görüldüğü üzere istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Kalsiyum değerlerine bakıldığında; fosfor ve 25-OH-D<sub>3</sub> düzeylerinde olduğu gibi gruplar arasında normal bir dağılım izlenmiştir ve T-testi ile değerlendirilmiştir. Hasta grupta Ca düzeyi medianı  $9,3$  mg/dL (IQR= $0,9$ ), kontrol grupta ise  $9,9$  mg/dL (IQR= $0,4$ ) ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır ( $p=0.0001$ ).

**Tablo 15.** Grupların Kalsiyum, Fosfor, 25-OH-D<sub>3</sub> Düzeyleri ve Karşılaştırılması

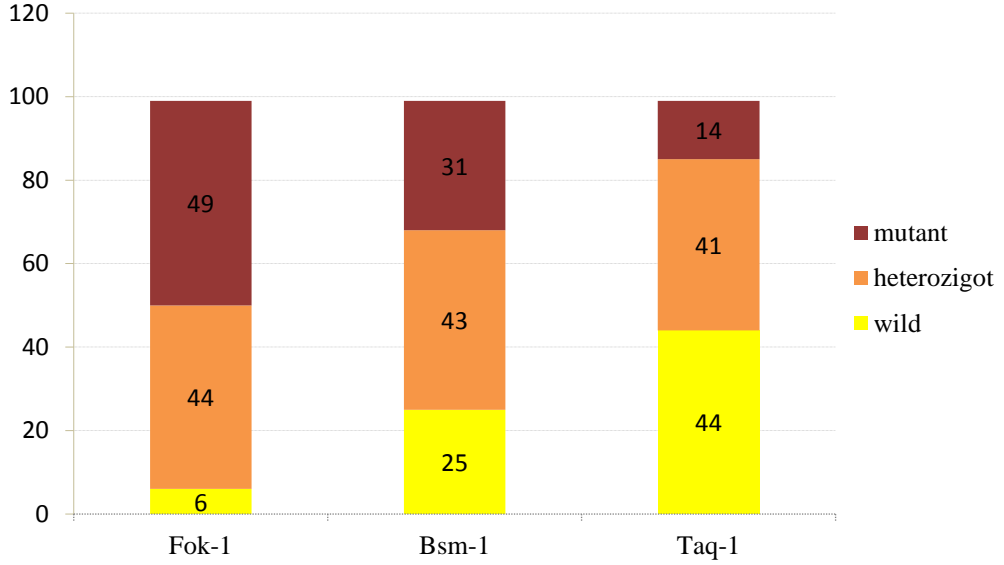
Gruplar/ Değerler		Median	IQR	P değeri
<b>Ca (mg/dL)</b>	Hasta	9,3	0,9	<b>0.0001</b>
	Kontrol	9,9	0,4	
<b>P (mg/dL)</b>	Hasta	4,2	1,3	0.94
	Kontrol	4,2	0,7	
<b>25-OH-D<sub>3</sub> (ul/L)</b>	Hasta	10,4	10,9	0.28
	Kontrol	12,1	10,4	



## Genotipik Özellikler ve Dağılımı

Çalışmada, elde edilen DNA'larda VDR geninde sıklıkla görülen Fok-1, Bsm-1 ve Taq-1 polimorfizmleri incelenmiştir ve frekans dağılımları grafik 2'de gösterilmiştir.

**Grafik 2.** Katılımcıların polimorfizm dağılımı



Fok-1 polimorfizmine bakıldığında hasta grupta 21 kişi, kontrol grubunda 28 kişi ff genotipindedir ve gruplar arasında istatistiksel bir anlamlılık bulunmamaktadır (Tablo 16).

**Tablo 16.** Katılımcıların Fok-1 genotipleri

Grup/Fok-1 polimorfizmi	FF	Ff	ff	Toplam
Hasta	1	18	21	40
Kontrol	5	26	28	59
Toplam	6	44	49	99

$p=0.465$

“F” allelini taşımanın, kanser riskini azalttığı bazı çalışmalarda saptanmışken, bu araştırmada Tablo 17’de görüldüğü üzere istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (OR:1.22, CI%95; 0.54-2.7) ( $p>0.05$ ).

**Tablo 17.** “F” alleli taşıyıcılığının gruplar arası karşılaştırılması

Grup/Fok-1 WT-mutant	FF+Ff	ff	Toplam
<b>Hasta</b>	19	21	40
<b>Kontrol</b>	31	28	59
<b>Toplam</b>	50	49	99

$p=0.62$

Bsm-1 polimorfizmine bakıldığında, tablo 18’de görüldüğü üzere hasta grupta 8 kişi bb alleli taşırken, kontrol grubunda 23 kişide bb genotipi saptanmıştır.

**Tablo 18.** Katılımcıların Bsm-1 genotipleri

Grup/Bsm-1 polimorfizmi	BB	Bb	bb	Toplam
<b>Hasta</b>	14	18	8	40
<b>Kontrol</b>	11	25	23	59
<b>Toplam</b>	25	43	31	99

$p=0.07$

“B” alleli taşımanın, kanser riskini azalttığı hipotezi kurularak yapılan bu araştırmada; BB ya da Bb genotipindeki katılımcıların, homozigot bb genotipindeki katılımcılarla karşılaştırılmasına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p=0.046$ ) ve %95 güven aralığında OR: 0.39 (0.15-0.99) bulunmuştur (Tablo 19).

**Tablo 19.** “B” alleli taşıyıcılığının gruplar arası karşılaştırılması

Grup/Bsm-1 WT-mutant	BB+Bb	bb	Toplam
Hasta	32	8	40
Kontrol	36	23	59
Toplam	68	31	99

$p=0.046$

Taq-1 polimorfizmine bakıldığında her iki grupta da homozigot “T” alleli 22 kişiyle eşit; hasta grupta CC genotipi 3, kontrol grupta 11’dir (Tablo 20).

**Tablo 20.** Katılımcıların Taq-1 genotipleri

Grup/Taq-1 polimorfizmi	TT	TC	CC	Toplam
Hasta	22	15	3	40
Kontrol	22	26	11	59
Toplam	44	41	14	99

$p=0.134$

“T” alleli taşıyıcılığının, taşımayanlarla karşılaştırılmasına bakıldığında, Tablo 21’de görüldüğü üzere gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ) (OR:0.35 (0.09-1.36))

**Tablo 21.** “T” alleli taşıyıcılığının gruplar arası karşılaştırılması

<b>Grup/Taq-1 WT-mutant</b>	<b>TT+TC</b>	<b>CC</b>	<b>Toplam</b>
<b>Hasta</b>	37	3	40
<b>Kontrol</b>	48	11	59
<b>Toplam</b>	85	14	99

$p=0.11$



## TARTIŞMA

Çocukluk çağıının süt çocukluğu dönemi hariç tüm dönem ölümlerinde kasıtsız kazalar ilk sırayı alırken, kanser nedenli kayıplar üçüncü sırada yer almaktadır. Malignitelerde ilk sırada %30 oranla akut lösemiler gelmektedir ve bunu merkezi sinir sistemi tümörleri, lenfomalar izlemektedir. Literatürde kanser üzerine yapılmış pek çok çalışmaya rastlanılmaktadır. İlerleyen bilgi ve teknoloji sayesinde, mevcut veriler güncellenmektedir. Çocukluk çağı lösemi-lenfoma tanılı hastalarda VDR gen polimorfizmlerinin malignite üzerine etkisi olduğu hipotezi kurularak başlanan bu çalışma, Marmara Üniversitesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Polikliniği takibinde olup 2016 Mart ayı boyunca poliklinik kontrolüne gelen ve araştırmaya katılmayı kabul eden 30 ALL, 2 AML, 1 KML, 7 lenfoma tanılı olmak üzere 40 hastadan ve 59'u kontrol grubu, toplam 99 katılımcıdan oluşmaktadır.

Bu araştırmada hasta grubunun %47'sini erkekler oluşturmaktadır ve cinsiyet açısından grupların karşılaştırılmasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Katılımcıların yaş ortalaması  $8,27 \pm 4,8$  yıl olup hasta grubun %40'ı, löseminin zirve yaptığı 2-5 yaş aralığındadır. NCI (12), 1-10 yaş aralığını iyi prognostik faktör olarak tanımlamaktadır ve hastaların %65'i hem yaş grubu hem de tedavide düşük ya da standart risk grubunda oluşlarıyla iyi prognoza sahiptir.

Bu araştırmada katılımcıların serum Ca, P, ALP ve 25-OH-D<sub>3</sub> değerlerine bakılmıştır. Kalsiyum median değerlerine bakıldığında hasta grupta 9,3 mg/dL (IQR:0,9); kontrol grupta 9,9 mg/dL (IQR:0,4) olup her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0.0001). Yapılan araştırmalarda, prostat kanserli vakalarda osteosklerotik kemik metazozları olanlarda osteoblast uyarıcı faktörlere bağlı hipokalsemi görülmüştür (68). Arunkumar ve ark.'larının 40-50 mg/m<sup>2</sup> sisplatin alan 18 invaziv yassı hücreli karsinom tanılı hasta üzerinde yaptıkları çalışmada hipomagnezemi (p=0.029), hipokalsemi (p=0.001), hipofosfatemi (p=0.003), hipokalemi (p=0.001) saptanmış; tüm bu elektrolit bozuklukları ve böbrek fonksiyon testlerindeki bozulma sisplatin nefrotoksitesine bağlanmıştır (69). Zekri ve ark.'larının 21 relaps lenfoma tanılı hastayla yaptıkları bir çalışmada kemoterapiye bağlı hafif derecede hipokalseminin geliştiği; özellikle hipomagnezemi

varlığında kümülatif hipokalsemiye neden olduğu bulunmuştur (70). Lenfoproliferatif hastalıklarda ise kanser-hipokalsemi arasında direkt bir ilişki kurulamamış; kanser kaşeksisine bağlı hipoalbuminemi ve hipokalsemi gelişebileceği düşünülmektedir (71). Bu çalışmada olguların kan potasyum, magnezyum, albumin düzeylerine bakılmamıştır. Arunkumar ve ark.'larının yaptığı çalışma gibi tek bir kemoterapötik ajan da suçlanamamaktadır. Mevcut tedaviler nedeniyle oluşmuş tubüler hasar ve kronik hastalık-kanser kaşeksisi-malnutrisyon nedeni kalsiyum düşüklüğünün olduğu düşünülmektedir.

Katılımcıların fosfor düzeyleri normal aralıklarda olup gruplar arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. ALP değerlerine bakıldığında, hasta grupta  $183,87 \pm 101,31$  U/L, kontrol grupta  $230,96 \pm 119,52$  U/L olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır ( $p=0.015$ ). Crofton ve ark.'larının 15 ALL hastası ile yaptıkları bir çalışmada tedavinin ilk iki yılı içerisinde kemik ve kollajen döngüsü, IGF-I, IGFBP-3 düzeyleri ve alt bacak uzunluğuna ait seri ölçümler yapılmış; ALP düzeyleri bu araştırmada olduğu gibi hasta grupta, sağlıklı çocuklardan anlamlı derecede düşük çıkmıştır (SD score,  $-0.64$ ;  $p<0.0001$ ) (72). Buna karşın kemik yıkımı neticesinde sırt-bacak-diz ağrıları olan ve yüksek ALP değerleri saptanan hastaların hayat kalitesini arttırmak adına idame protokolünde destekleyici ek tedaviler gündeme gelmiştir. Lee ve ark.'larının ALL ve Hodgkin dışı lenfoma tanılı kemik mineral dansite (BMD) Z-skoru  $-2$ 'den az ya da Z-skoru  $0$ 'dan az ve kemik ağrısı olan hastalarla yaptığı bir çalışmada, genellikle osteogenezis imperfektada uygulanan 1-4 ay aralıklarla üç gün boyunca  $1$  mg/kg/gün ikinci kuşak bifosfanat (pamidronat) tedavisi ile Z-skorlarında anlamlı değişiklikler saptanmış ( $p=0.001$ ); serum ALP düzeylerinde anlamlı derecede azalma olduğu görülmüştür ( $p=0.003$ ) (73).

Kanserli hastalarda ALP yüksekliğinin metastaz ve hastalığın evresiyle ilişkili olduğunu savunan araştırmalar da mevcuttur. Avilés ve ark.'larının 102 Hodgkin lenfoma tanılı hastada yaptıkları bir çalışmada, yüksek ALP değerleri olan hastaların olaysız sağkalım süreleri 63 ay iken normal ALP değerleri olan hastalarda 93 ay ( $p<0.001$ ) olarak saptanmış ve yüksek ALP düzeyli hastaların ileri evre olarak sınıflandırılması önerilmiştir (74). Erişkin yaş grubu kolorektal kanserli hastalarla Saif ve ark.'larının yaptığı bir başka çalışmada ise  $160$  U/L'dan yüksek ALP

değerlerinin karaciğer metastazları ile ilişkili olabildiği (OR:12; %95 CI; 4.3-33.3) söylenmiştir (75).

Bu araştırmada katılımcıların D vitamini düzeylerine bakılmıştır. Her iki grupta da 20 ul/L'nin altında ve eksiklik düzeyindedir. González-Gross ve ark.'larının Avrupa'nın 9 ayrı şehrindeki sağlıklı görünen, kronik bir hastalığı olmayan 1006 çocukla yaptıkları bir çalışmada 25-OH-D<sub>3</sub> düzeylerine bakılmış ve %39'unda yetmezlik, %27'sinde eksiklik, %15'inde ciddi eksiklik saptanmıştır (76). Hindistan'da 51 sağlıklı ve 51 kanser tanılı çocuktan oluşan bir çalışmada vitamin D düzeyi ölçümü yapılmış; hasta grubun %80,4'ünde, kontrol grubun %51'inde vitamin eksikliği tespit edilmiştir. Hasta grupta vitamin D düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük (22,8 ng/mL vs 33 ng/mL) bulunmuştur ve diğer çalışmalara benzer şekilde 6 yaşından büyük çocuklarda, küçük olanlara göre vitamin eksikliğinin anlamlı derecede daha fazla olduğu (p=0.038); solid tümörlere göre de lösemi/lenfoma olanlarda bu eksikliğin daha fazla olduğu (p=0.025) bulunmuştur (77).

İlk kez 1981 yılında Colston ve ark.'ları D vitamini ve kanser ilişkisine dikkat çekmiştir. Yaptıkları in vitro çalışmada insan melanom hücrelerine 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> verilmesiyle hücre çoğalmasının baskılandığı görülmüştür (78). Miyaura ve ark.'ları in vitro insan myeloid lösemi hücreleri ile yapmış olduğu diğer bir çalışmada, nanomolar düzeyde doz bağımlı aktif 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ile çoğalmanın yine baskılandığı; fagositoz ve C3 rozet formasyonunun arttığı, anti-kanser etkinliğin sürdüğü saptanmıştır (59). En güncel olarak Ferrer-Mayorga ve ark.'ların yaptıkları bir çalışmada da sağlıklı ve kolorektal kanser tanılı grupta VDR ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> vitamininin hedef iki genine (CD82 and S100A4) bakılmış; 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, fibroblastlarda protümoral aktivasyonu inhibe etmiş ve hasta grupta olaysız sağkalımda artış gözlenmiştir (79).

Klinik çalışmalardan Bjelokovic ve ark.'ların 2009 yılında yayınladıkları meta-analize göre 18 yaş üzerinde, hamile ve kanser hastaları dışlanarak sonuçlar değerlendirildiğinde Vitamin D desteğinin kanserden koruyucu olduğunu göstermişlerdir (80). Gorham ve arkadaşlarının yayınladıkları iki makalede, serum vitamin D düzeylerinin kolorektal kansere karşı kesin koruyucu rolü olduğu; günlük oral 1000-2000 IU D vitamini kullanılmasının kolorektal kanser riskini en aza

indireceği söylenmiştir (81,82). Aksine Purdue ve ark.'ları, Hodgkin dışı lenfoma vaka-kontrol çalışmalarında güneş maruziyeti ve serum 25-OH-D<sub>3</sub> düzeyleri ile ters ilişki kurulmasından yola çıkarak 10 kohort çalışmasını analiz etmişler ve herhangi bir ilişki bulamamışlardır (83). Bu araştırmada da gruplar ile 25-OH-D<sub>3</sub> düzeylerinin karşılaştırmasında istatistiksel bir anlamlılık bulunmamıştır (p>0.05).

Anti-kanser etkisi olsun olmasın, AAP, Institute of Medicine ve Endocrine Society, sütçocukluğu döneminde 400 IU/gün; 1-18 yaş aralığında 600 IU/gün D vitamini önermektedir (84) ve ülkemizde de Sağlık Bakanlığı tarafından sütçocukluğu döneminde 400 IU/gün D vitamini verilmesi desteklenmektedir.

Literatürde D vitamininin metabolizmadaki etkileri, hücre çoğalması, farklılaşması, anjiogenez, kanser ile ilişkisi üzerine yapılmış yukarıdaki örnekler dışında birçok laboratuvar ve klinik çalışma mevcuttur. Lakin süregelen zaman içerisinde serum 25-OH-D<sub>3</sub> ile ilgili çalışmalar, yerini moleküler genetik çalışmalara bırakmıştır. Araştırmaların neredeyse tümü erişkin yaş grubunda ve sıklıkla kolon, meme kanserleri irdelenmiş; prostat, cilt, over, özafagus kanserleri ve lenfoma tanılı gruplarda da çalışmalar yapılmıştır.

Kanser ve VDR genine bakıldığında literatürde Fok-1, Bsm-1, Taq-1, poly (A), Apa-1 polimorfizmlerine bakılmış; Fok-1, Bsm-1, Taq-1 polimorfizmleri kanserle en çok ilişkilendirilebilmiş ve bu konuda daha çok çalışma yapılmıştır. Araştırmaların hipotezlerine bakılacak olursa; Fok-1'de "f", Bsm-1'de "b", Taq-1'de "C" mutant allelin, özellikle homozigot taşınması durumunda kanser riskini arttırdığı şeklindedir.

Yapılan araştırmaların çoğunluğu kolorektal, meme ve prostat kanseri üzerinedir. Raimondi ve ark.'larının 2009 yılında yaptıkları prostat, meme, cilt, over, kolorektal kanserler ve HDL'ların dahil edildiği bir meta-analize göre Fok-1 ff genotipindeki grupta, FF genotipik gruba göre kanser riskinin arttığı (SOR;%95CI: 1.08; 1.01-1.17); heterozigot grupta riskin hafif arttığı, fakat anlamlı olmadığı (SOR; 95%CI:1.04; 0.97-1.11) bulunmuştur (64). Yine aynı çalışmada kanser türü belirtmeksizin, Bsm-1 bir ya da iki B alleli taşıyanlarda kanser riskinin % 16 azalmış olduğu saptanmıştır (OR: 0.86; 95%CI; 0.74-1.00).

Oh ve Barret-Connor, ABD toplumunun %35'inde bb genotipinin bulunduğunu ve bunun düşük 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> düzeyleri ile ilişkili olduğunu; BB

genotipine göre kolon kanseri riskinin 2 kat fazla olduğunu söylemişlerdir (85). Rasool ve ark.'larının 368 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada, homozigot bb genotipindekilerde, BB genotipine göre 2.7 kat daha fazla kanser riski (%95 CI: 1.49-4.86) tespit edilmiştir (86).

Meme kanserine yönelik "b" alleleine dair benzer iki çalışma da İngiltere'den yayınlanmıştır: Bretherton-Watt ve Guy'ın önderlik ettiği bu çalışmalarda bb genotipindekilerde BB genotipine göre kanser riskinin artmış olduğu (OR: 2.32; 95% CI: 1.23-4.39 ve 1.79; 95% CI: 1.12-2.86; p=0.0221) saptanmıştır (87,88). Bunun aksine, Zhang ve Song'un 39 çalışmadan derledikleri meta-analizde meme kanserinde Fok-1 polimorfizminin etkisinin olduğu saptanmışken (ff vs. Ff+FF, OR: 1.09, 95%CI:1.02-1.16, p=0.007); poly-A, Bsm-1, Taq-1 ya da Apa-1'in bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir (89). Benzer şekilde Luo ve ark.'larının 2013 yılında yayınladıkları 8254 vakadan oluşan meta-analizde, Apa-I polimorfizminin meme kanserinde belirleyici bir rolünün olmadığı gösterilmiştir (90). Tang ve ark.'larının 2009 yılında yayınladığı meta-analizde Bsm-1, Apa-1, Taq-1 ve Fok-1 polimorfizimleri incelenmiş; yalnızca "ff" genotipindeki bireylerde, belirgin şekilde artmış meme kanseri riski olduğu (OR:1.16, 95% CI: 1.04–1.30) belirtilmiştir (91). Yang ve ark.'larının Kafkas toplumundaki kadınlarda meme kanserine yönelik yaptıkları meta-analizde ise, yukarıdaki çalışmaların aksine Fok-1, Bsm-1, Taq-1 ve Apa-1 polimorfizmlerinin bir anlamı olmadığı saptanmıştır (92).

ABD'de kadınlardaki meme kanseri insidansına benzer sıklıkta prostat kanseri görüldüğünden bu konuda da fazlaca çalışma mevcuttur. Eski bir yayın olmasına rağmen Taylor ve ark.'ları tarafından radikal prostatektomi yapılmış hastaların dahil edildiği vaka-kontrollü bir çalışmada, Taq-1 "T" alleleine sahip olmanın kanserden koruyucu olduğu (OR:0.34; %95CI; 0.16-0.76; p=0.01) savunulmuştur (93). Benzer şekilde Guo ve ark.'larının 10 vaka-kontrol çalışmadan derledikleri Asya toplumlarındaki prostat kanseri ve Taq-1 polimorfizmine dair meta-analizde TT genotipiklerde de kanser riskinin azaldığı (OR:0.81; 0.70-0.94) bildirilmiştir (94). Xu ve ark.'larının yaptığı diğer bir çalışmaya göre ff genotipindeki grupta, FF+Ff grupla karşılaştırıldığında tümör evrelerinin daha yüksek ve hastalığın daha agresif olduğu (p=0.015) saptanmıştır (65). Çicek ve ark.'larının çalışmasında ise FF genotipindeki erkeklerde tümör evresi<T2c ve Gleason skoru<7 bulunmuştur

(OR=0.56, 95%CI: 0.31-1.01; p=0.05) (66). Aksine Berndt ve ark.'larının 2005 yılında yayınladıkları makalede ise Taq-1, poly(A), Bsm-1, Apa-1 ve Fok-1 polimorfizmlerinin prostat kanseri için risk faktörü olmadığı belirtilmiştir (95).

Literatürde çocukluk çağı dönemde VDR gen polimorfizmlerine dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu araştırma grubunu oluşturan katılımcıların yaklaşık yarısı “F”, %31’i “b”, %14’ü ise “C” allelini homozigot olarak taşımaktadır. Mutant alleli homozigot taşıyanların, homozigot wild tip (normal) ya da heterozigot taşıyanlarla karşılaştırmasında Fok-1 ve Taq-1 polimorfizmleri açısından anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (p=0.68 ve p=0.14). Lakin Bsm-1’e bakıldığında katılımcıların genotipik dağılımları arasında anlamlı bir fark bulunmazken, “B” allelini taşıyanların mutant “bb” genotiplilerle karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0.046) (OR: 0.39 %95CI; 0.15-0.99). Literatürde lenfoproliferatif maligniteli hastalarda VDR gen polimorfizmlerinin incelendiği araştırmaya pek rastlanılmamıştır. Erişkin yaş grubunda Purdue ve ark.'larının 584 Hodgkin dışı lenfoma ve 518 kişiden oluşan kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada, Fok-1, Bsm-1 and Taq-1 geni polimorfizmleri ile Hodgkin dışı lenfoma arasında bir ilişki bulunamamış; Bsm-1 gen polimorfizminin diffüz büyük B hücreli lenfoma riskinde artışa yol açabileceğini ifade edilmiştir (67).

## SONUÇ VE ÖZET

Bu çalışma, 2016 Mart ayı içerisinde Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji-Onkoloji polikliniği ve hasta çocuk polikliniklerinden araştırmaya katılmayı kabul eden 99 kişi ile gerçekleştirilmiştir. Lösemi ya da lenfoma tanısı ile izlenen hasta grubun yaş ortalaması  $8,27\pm 4,8$  yıl; sağlıklı, kronik bir hastalığı olmayan kontrol grubun yaş ortalaması ise  $9,66\pm 4,1$  yıldır. Bu araştırmada yaş, cinsiyet, serum fosfor ve 25-OH-D<sub>3</sub> değerlerinin analizinde istatistiksel farklılık bulunmamıştır. Kalsiyum ve ALP değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında ise istatistiksel anlamlılık saptanmıştır.

Literatürde 25-OH-D<sub>3</sub>'ün metabolizmadaki etkileri, hücre çoğalması, farklılaşması, kanser ile ilişkisi üzerine yapılmış birçok çalışmaya ulaşılmaktadır. Moleküler genetik bilgi ve teknolojisi sayesinde güncel veriler elde edilmekte; araştırmaların neredeyse tümü erişkin yaş grubunda ve sıklıkla kolon, meme, prostat, cilt, over, özafagus kanserleri ile ilgilidir. Literatürde çocukluk çağı dönemde VDR gen polimorfizmlerine dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmadığından bu araştırma planlanmış ve yürütülmüştür.

Bu çalışmada katılımcıların yaklaşık yarısı "f", %31'i "b", %14'ü ise "C" allelini homozigot olarak taşımaktadır. Mutant alleli homozigot taşıyanların, homozigot wild type (normal) ya da heterozigot taşıyanlarla karşılaştırılmasında Fok-1 ve Taq-1 polimorfizmleri açısından anlamlı bir sonuç elde edilememiştir ( $p=0.68$  ve  $p=0.14$ ) ve malignite ile ilişkilendirilememiştir. Lakin Bsm-1 polimorfizmi olan kişilerde, araştırmaya başlarken kurduğumuz hipotezdeki gibi lösemi-lenfoma olma riskinin arttığı; "B" allelini taşımanın riski az da olsa azalttığı bulunmuştur.

Olgular, 0-18 yaş aralığından seçilmiş ve kontrol grubuna dahil edilen katılımcıların akut lösemi ya da lenfoma olmayacağı düşünülerek genotipik gruplandırma yapılmıştır. Gelecekte aynı çalışma tekrar analiz edilirse, daha farklı, belki daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Kesitsel bir araştırma olması ve araştırma grubunun geniş olmaması sebebiyle çalışmanın genişletilmesi, daha büyük gruplar üzerinde, belki de tüm çocukluk çağı malignitelerinin dahil edildiği ve başka

parametrelerin incelenmesi ile daha anlamlı sonuçlara ulařılabileceęi dűřünűlmektedir.

Araştırmamızın kısıtlılıkları olmasına rağmen gelecekte bu konu hakkında yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacağını tahmin etmekteyiz.





## KAYNAKLAR

1. Birleşmiş Milletler Çocuk Hakları Evrensel Bildirgesi, 20 Kasım 1959, A/RES/1386(XIV) <http://ohchr.org>
2. Centers for disease control and prevention, Injury Prevention and Control: Data and Statistics (WISQARS), 2013
3. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Result Program. <http://seer.cancer.gov/>
4. Kutluk T. Çocukluk Çağı Kanserlerinin Epidemiyolojisi, Herkes için çocuk kanserlerinde tanı sempozyum dizisi no:49 Mayıs 2006; 11-15
5. Ward E, DeSantis C, Robbins A, et al. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64:83.
6. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC Press, Lyon 2008.
7. Ries LG, Smith MA, Gurney JG, et al. Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975-1995, National Cancer Institute, SEER Program. 1999. NIH Pub. No. 99-4649.
8. Kharazmi E, da Silva Filho MI, Pukkala E, et al. Familial risks for childhood acute lymphocytic leukaemia in Sweden and Finland: far exceeding the effects of known germline variants. *Br J Haematol* 2012; 159:585
9. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61:212.
10. Horton T, Steuber C. Overview of the presentation and diagnosis of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents, Feb 04, 2016
11. Harrison CJ. The detection and significance of chromosomal abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Blood Rev* 2001; 15:49.
12. Horton T, Steuber C. Clinical risk assignment and suggested therapies in childhood acute lymphoblastic leukemia. Feb 03, 2016

13. Schrappe M, Reiter A, Ludwig W-D, et al. Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM90. *Blood* 2000;95:3310-22
14. Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, Henze G, Schrauder A, Gadner H, ... & Klingebiel T. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia* 2010;24(2),265-284.
15. Md Jobayer Hossain, Li Xie and Suzanne M. McCahan. Characterization of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Survival Patterns by Age at Diagnosis. Hindawi Publishing Corporation *Journal of Cancer Epidemiology* Volume 2014
16. Holmes L, Hossain J, desVignes-Kendrick M, Opara F. Sex Variability in Pediatric Leukemia Survival: Large Cohort Evidence. *ISRN Oncol.* 2012;2012: 439070.
17. Crist W, Pullen J, Boyett J, et al. Clinical and biologic features predict a poor prognosis in acute lymphoid leukemias in infants: A Pediatric Oncology Group Study. *Blood* 1986;67:135-140
18. Hilden JM, Frestedt JL, Moore RO, Heerema NA, Arthur DC, Reaman GH, Kersey JH SO. Molecular analysis of infant acute lymphoblastic leukemia: MLL gene rearrangement and reverse transcriptase-polymerase chain reaction for t(4; 11)(q21; q23). *Blood.* 1995;86(10):3876.
19. Smith M, Arthur D, Camitta B, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1996;14:18-24
20. Schrappe M, Reiter A, Welte K, et al. Risk adapted treatment in childhood acute lymphoblastic leukemia: Data from the BFM Group. *Haematol Blood Transfus* 1997;38:601-610
21. Mutlu N. BFM-20000 protokolu almış ALL'li çocuklarda myeoid işaretliyiçi pozitifliliğin prognostik değeri ve diğer prognostik faktörler ile ilişkisi, *Uzmanlık Tezi*, 2005
22. Heerema NA, Sather HN, Sensel MG, Zhang T, Hutchinson RJ, Nachman JB, Lange BJ, Steinherz PG, Bostrom BC, Reaman GH, Gaynon PS, Uckun FM. Prognostic impact of trisomies of chromosomes 10, 17, and 5 among children

- with acute lymphoblastic leukemia and high hyperdiploidy (>50 chromosomes). *J Clin Oncol*. 2000;18(9):1876.
23. Nachman JB, Heerema NA, Sather H, Camitta B, Forestier E, Harrison CJ, Dastugue N, Schrappe M, Pui CH, Basso G, Silverman LB, Janka-Schaub GE. Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2007;110(4):1112.
  24. Moorman AV, Ensor HM, Richards SM, Chilton L, Schwab C, Kinsey SE, Vora A, Mitchell CD, Harrison CJ SO. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol*. 2010;11(5):429.
  25. Pui CH, Gaynon PS, Boyett JM, Chessells JM, Baruchel A, Kamps W, Silverman LB, Biondi A, Harms DO, Vilmer E, Schrappe M, Camitta B. Outcome of treatment in childhood acute lymphoblastic leukaemia with rearrangements of the 11q23 chromosomal region. *Lancet*. 2002;359(9321):1909.
  26. Inukai T, Kiyokawa N, Campana D, Coustan-Smith E, Kikuchi A, Kobayashi M, Takahashi H, Koh K, Manabe A, Kumagai M, Ikuta K, Hayashi Y, Tsuchida M, Sugita K, Ohara A. Clinical significance of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results of the Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15. *Br J Haematol*. 2012 Feb;156(3):358-65.
  27. Haydu JE, Ferrando AA. Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Curr Opin Hematol*. 2013 Jul;20(4):369-73.
  28. Ward E, DeSantis C, Robbins A, Kohler B, Jemal A. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin*. 2014;64(2):83.
  29. Percy CL, Smith MA, Linet M. Lymphomas and reticuloendothelial neoplasms. In: *Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program, 1975-1995*, Ries LA, Smith MA, Gurney JG, et al. (Eds), National Cancer Institute, Bethesda, MD 1999. pp.35.
  30. Smith MA, Seibel NL, Altekruse SF, Ries LA, Melbert DL, O'Leary M, Smith FO, Reaman GH. Outcomes for children and adolescents with cancer: challenges for the twenty-first century. *J Clin Oncol*. 2010;28(15):2625.

31. McClain K, Kamdar K, MD. Overview of Hodgkin lymphoma in children and adolescents. Feb 2016. [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
32. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *J Clin Oncol* 1989;7:1630.
33. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*. 2006;107(1):265.
34. Lanzkowsky. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*, Fifth Edition, 2011. Chapter 20, Non-Hodgkin Lymphoma; s:624
35. Kaatsch P. Epidemiology of childhood cancer. *Cancer Treat Rev*. 2010 Jun;36(4):277-85.
36. Pizzo PA, Poplack DG. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. Malignant non-Hodgkin Lymphomas in Children. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2011
37. Kebudi R. Çocukluk çağı Burkitt lenfoma ve Diffüz Büyük B Hücreli lenfoma ile Burkitt lenfoma arası ayırededilemeyen B hücreli lenfoma. *Hematolog*. 2013;3-2
38. Özkan A. Çocukluk Çağı Lenfomaları. *Hematolog olmayanlar için hematolojik maliniteler sempozyum dizisi no:45*. Kasım 2005; s.161-170
39. Burkhardt B, Zimmermann M, Oschiles I, Niggli F, Mann G, Parwaresch R, Riehm H, Schrappe M, Reiter A; BFM Group. The impact of age and gender on biology, clinical features and treatment outcome of non-Hodgkin lymphoma in childhood and adolescence. *Br J Haematol*. 2005 Oct;131(1):39-49
40. Patte C, Auperin A, Gerrard M, et al.: Results of the randomized international FAB/LMB96 trial for intermediate risk B-cell non-Hodgkin lymphoma in children and adolescents: it is possible to reduce treatment for the early responding patients. *Blood* 2007;109 (7): 2773-80
41. Coustan-Smith E, Sandlund JT, Perkins SL, et al.: Minimal disseminated disease in childhood T-cell lymphoblastic lymphoma: a report from the children's oncology group. *J Clin Oncol* 2009;27 (21): 3533-9
42. Salzburg J, Burkhardt B, Zimmermann M, et al.: Prevalence, clinical pattern, and outcome of CNS involvement in childhood and adolescent non-Hodgkin's

- lymphoma differ by non-Hodgkin's lymphoma subtype: a Berlin-Frankfurt-Munster Group Report. *J Clin Oncol* 2007;25(25):3915-22
43. Celkan TT, Baris S, Ozdemir N, Ozkan A, Apak H, Dogru Ö, ... & Adaletli I. Treatment of pediatric Burkitt lymphoma in Turkey. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 2010;32(7), e279-e284.
  44. Celkan TT, Barış S, Ozdemir N, Lowe EJ, Gross TG. Anaplastic large cell lymphoma in children and adolescents. *Pediatric Hematology Oncology*. 2013 Sep;30(6):509-19
  45. Link MP, Shuster JJ, Donaldson SS, et al. Treatment of Children and Young Adults with Early-Stage Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med* 1997;337:1259-1266
  46. Genes and Cancer. In: Weaver RF, Hedrick PW; eds. *Genetics*. 3rd ed. Wm. Dubuque C: Brown Publishers; 1997:482-503.
  47. Çefle K. Kanser Genetiği. [www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/kg22\\_3/9.pdf](http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/kg22_3/9.pdf)
  48. Ertan EA, Şengelen M, Vaizoğlu SA. Önlenebilir Çocukluk Çağı Kanseri. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2004;6(1):48–54
  49. Bozkaya OG. Klinisyenler için Mutasyon ve Polimorfizm. *Türkiye Klinikleri J Pediatr* 2009;18(2):47-53
  50. Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Gibbs RA, Hurles ME, McVean GA; A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*. 2010;467(7319):1061
  51. Wang DG. et al. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*. 1998;280,1077–1082
  52. Pearce SHS, Cheatham TD. Diagnosis and management of vitamin D deficiency. *J Of British Med* 2010(340);142-147
  53. Greenbaum LA. Rickets and Hypervitaminosis D. Ed: Kliegman RM, Stanton BF, St Geme III JW et al. *Nelson Textbook of Pediatrics* 19th edition. Elsevier Saunders 2011; Pp.200-209
  54. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. 25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): Its important role in the degradation of vitamin D. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2012;523, Pp 9–18

55. Haussler MR, Whitfiel GK, Kaneko I et al. Molecular Mechanisms of Vitamin D Action. *Calcif Tissue Int* 2013;92:77–98
56. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics *Nature Review* 2007;7:684-700
57. Thorne J, Campbell M.J. The vitamin D receptor in cancer. *Proceedings in Nutrition Society* 2008;67,15-22
58. Trump DL, Deeb K, Johnson CS. Vitamin D: Considerations in the Continued Development as an Agent for Cancer Prevention and Therapy. *Cancer Journal*. 2010;16(1):1–9
59. Miyaura C, Abe E, Kuribayashi T, Tanaka H, Konno K, Nishii Y & Suda T. 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> induces differentiation of human myeloid leukemia cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1981;102,937–943.
60. Ma Y, Johnson CS, Trump DL. Vitamin D and Angiogenesis. Ed: Trump DL, Johnson CS *Vitamin D And Cancer*. 1st ed. Pp: 99-114 Springer Science. 2011
61. Maeda S, Omata M. Inflammation and cancer: Role of nuclear factor-kappaB activation. *Cancer Science*. 2008;99-5:836-842
62. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nature Reviews Cancer*. 2007;7(9):684-700.
63. Köstner K, Denzer N, Muller CSL, Klein R, Tilgen W, Reichrath J. The Relevance of Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms for Cancer: A Review of the Literature. *Anticancer Research*. 2009;29:3511-3536
64. Raimondi S, Harriet Johansson H, Patrick Maisonneuve P, Gandini S. Review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk. *Carcinogenesis* 2009;30:1170–1180.
65. Xu Y, Shibata A, McNeal JE, Stamey TA, Feldman D and Peehl DM: Vitamin D receptor start codon polymorphism (Fok1) and prostate cancer progression. *Cancer Epidemiol Biomarkers Programme* 2003;12: 23-27
66. Cicek MS, Liu X, Schumacher FR, Casey G and Witte JS: Vitamin D receptor genotypes/haplotypes and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15:2549-2552

67. Purdue MP, Lan Q, Krickler A, Vajdic CM, Rothman N, Armstrong BK. Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2007;92:1145-1146
68. Abramson EC, Gajardo H, Kukreja SC. Hypocalcemia in cancer. *Bone and mineral* 1990;10(3):161-169
69. Arunkumar PA, Viswanatha GL, Radheshyam N, Mukund H, Belliyappa MS. Science behind cisplatin-induced nephrotoxicity in humans: A clinical study. *J Trop Biomed.* 2012;2(8):640–644
70. Zekri J, Cheah NL, Evans L, Hancock B. Serum potassium, calcium and magnesium in patients receiving ESHAP chemotherapy for relapsed lymphomas. *J R Coll Physicians Edinb.* 2009;39(4):301-306
71. Van Eys J. Nutrition in the treatment of cancer in children. *Journal of the American College of Nutrition* 1984;3(2):159-168
72. Crofton PM, Ahmed SF, Wade JC, Elmlinger MW, Ranke MB, Kelnar CJ & Wallace WHB. Bone turnover and growth during and after continuing chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric research.* 2000;48(4):490-496
73. Lee JM, Kim JE, Bae SH, Hah JO. Efficacy of pamidronate in children with low bone mineral density during and after chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. *Blood Res.* 2013 Jun;48(2):99–106
74. Aviles A, Talavera A, Garcia EL, Guzmán R, Díaz-Maqueo JC. Alkaline phosphatase as a prognostic factor in Hodgkin's disease. *Revista de gastroenterologia de Mexico.* 1989;55(4):211-214
75. Saif MW, Alexander D, Wicox CM. Serum alkaline phosphatase level as a prognostic tool in colorectal cancer: a study of 105 patients. *The journal of applied research.* 2005;5(1),88
76. González-Gross M, Valtueña J, Breidenassel C, Moreno LA, Ferrari M, Kersting M, De Henauw S, Gottrand F, Azzini E, Widhalm K, Kafatos A, Manios Y, Stehle P, HELENA Study Group. Vitamin D status among adolescents in Europe: the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence study. *British Journal of Nutrition* 2012;107(5):755-64.

77. Mohan R, Mohan G, Scott JX, Rajendran A, Paramasivam V, Ravindran M. Vitamin D insufficiency among children with cancer in India. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology: Official Journal of Indian Society of Medical & Paediatric Oncology* 2016;37(1), 14.
78. Colston K, Colston MJ, Feldman D. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and malignant melanoma: The presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology* 1981;108:1083–1086
79. Ferrer-Mayorga G, Gomez-Lopez G, Barbachano AA, Fernandez-Barral A, Pena C, Pisano DG, Cantero R, Rojo F, Munoz A, Larriba MJ. Vitamin D receptor expression and associated gene signature in tumour stromal fibroblasts predict clinical outcome in colorectal cancer. *Gut* 2015-310977
80. Bjelakovic G, Gluud LL, Nikolova D, Whitfield K, Krstic G, Wetterslev J, Gluud C. Vitamin D supplementation for prevention of cancer in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2014: 6.
81. Gorham ED, Garland CF, Grant WB et al. Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2005;97: 179–194
82. Gorham ED, Garland CF, Grant WB et al. Optimal Vitamin D Status for Colorectal Cancer Prevention. *Am J Prev Med* 2007;32(3): 210-216
83. Purdue MP, Freedman DM, Gapstur SM, Helzlsouer KJ, Laden F, Lim U, Maskarinec G, Rothman N, Shu XO, Stevens VL, Zeleniuch-Jacquotte A, Albanes D, Bertrand K, Weinstein SJ, Yu K, Irish L, Horst RL, Hoffman-Bolton J, Giovannucci EL, Kolonel LN, Snyder K, Willett W, Arslan AA, Hayes RB, Zheng W, Xiang YB, Hartge P. Circulating 25-Hydroxyvitamin D and Risk of Non-Hodgkin Lymphoma. *American Journal of Epidemiology* 2010;172(1),58-69
84. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM, Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911.



85. Oh JY, Barrett-Connor E. Association between vitamin D receptor polymorphism and type 2 diabetes or metabolic syndrome in community-dwelling older adults: the Rancho Bernardo Study. *Metabolism*. 2002;51(3):356–359
86. Rasool S, Kadla SA, Rasool V, Qazi F, Khan T, Shah NA, Ganai BA. Role of the VDR Bsm1 and Apa1 polymorphisms in the risk of colorectal cancer in Kashmir. *Oncology Research and Treatment*. 2014;37(6):345-9
87. Bretherton-Watt D, Given-Wilson R, Mansi JL, Thomas V, Carter N, Colston KW. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Br J Cancer*. 2001;85(2):171–175.
88. Guy M, Lowe LC, Bretherton-Watt D, Mansi JL, Colston KW. Approaches to evaluating the association of vitamin D receptor gene polymorphisms with breast cancer risk. *Recent Results Cancer Res*. 2003;164:43–54.
89. Zhang K, Song L. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk: a meta-analysis of 39 studies. *PLoS One*. 2014;9(4),e96125
90. Luo S, Guo L, Li Y, Wang S. Vitamin D receptor gene ApaI polymorphism and breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *Tumor Biology*. 2014; 35(1): 785-790.
91. Tang C, Chen N, Wu M, Yuan H, Du Y. Fok1 polymorphism of vitamin D receptor gene contributes to breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *Breast cancer research and treatment* 2009; 117(2), 391-399.
92. Yang B, Liu S, Yang X, Wang Y, Zhao X, Zheng D, Gao J, Chen K, Gao Y, Liu L, Ren H, Wang W, Qi Y, Yu G. Current evidence on the four polymorphisms of VDR and breast cancer risk in Caucasian women. *Meta gene*. 2014;2:41-49
93. Taylor JA, Hirvonen A, Watson M, Pittman G, Mohler JL, Bell DA. Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. *Cancer research* 1996;56(18):4108-4110.
94. Guo YJ, Shi ZM, Liu JD, Lei N, Chen QH, Tang Y. Meta-analysis of the relation between the VDR gene TaqI polymorphism and genetic susceptibility to prostate cancer in Asian populations. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2012;13(9):4441-4444.

95. Berndt SI, Dodson JL, Huang WY, Nicodemus KK. A systematic review of vitamin D receptor gene polymorphisms and prostate cancer risk. *J Urol* 2006;175:1613–1623



## **EKLER**

### **EK 1: Bilgilendirme ve Gönüllü Onam Formları**

Sayın .....

Sizi Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı tarafından yürütülen “lösemi/lenfoma tanısı alan hastalarda Vitamin D reseptör gen polimorfizmlerinin malignite üzerine etkisi” başlıklı araştırmaya davet ediyoruz.

Bu araştırmaya katılıp katılmama kararınızı vermeden önce, araştırmanın neden yapıldığını, nasıl yapılacağını ve bu araştırmanın gönüllü katılımcılara getireceği olası faydaları, riskleri ve rahatsızlıklarını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Aşağıda verilen bilgileri dikkatlice okuyunuz. İsterseniz bu bilgileri aileniz, yakınlarınız ve doktorunuzla tartışınız. Eğer anlayamadığınız bir durum varsa ve daha fazla bilgi isterseniz sormaktan çekinmeyiniz. Katılmayı kabul ettiğiniz takdirde formda gerekli yerler siz, doktorunuz ve kurumda çalışan bir görevli tanık tarafından doldurulacak ve bir kopyası saklamanız için size verilecektir.

Bu araştırmada, siz değerli hastalarımızda vitamin D reseptör geni polimorfizmleri araştırılmaktadır. Kimlik bilgileriniz belirtilmeden sadece klinik ve laboratuvar bulgularınız bilgisayar ortamında kaydedilecektir. Bu çalışma için hastanıza vitamin d reseptör gen polimorfizmleri için bir tüp kan alınıp test yapılacaktır. Bu çalışma ile mevcut durumunuz ile gen polimorfizmi arasında bir bağlantı olup olmadığının istatistiksel çalışması yapılacaktır. Çalışma için herhangi bir masraf söz konusu değildir, sizden herhangi bir ödeme talep edilmeyecektir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Alınan bilgileriniz gizli tutulacaktır. Çalışmaya katılmama veya herhangi bir zamanda çalışmadan çıkma hakkına sahiptir. Bu durumda tedavinizde herhangi bir aksama olmayacaktır. Yine benzer şekilde bir ceza veya hakkınız olan yararların kaybı söz konusu olmayacaktır. Hasta açısından kan alınmasından veya uygulanacak diğer testlerde doğacak herhangi bir risk mevcut değildir. Bu çalışma kapsamında 100 hasta toplanması planlanmaktadır. Bu çalışma kapsamında, analiz edilen sonuçlarla

Türk çocuklarındaki genetik nedenlerini öngörmek ve aileyi bu konuda bilgilendirmek hedeflenmektedir.

Bu çalışmada vereceğiniz bilgiler izniniz olmadan başka herhangi bir üçüncü kurum ya da kişi ile paylaşılmayacaktır.

Araştırma Sorumlusu  
Prof. Dr. Ayşe Gülnur TOKUÇ

Araştırma Yürütücüsü  
Dr.Sinem GÜLCAN KERSİN



## GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Sayın Dr.Sinem GÜLCAN KERSİN tarafından Marmara Üniversitesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi amacıyla araştırmacı tarafından araştırmadan çıkartılabileceğimi de biliyorum. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğimi biliyorum.

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Sinem GÜLCAN KERSİN'i 05552574050; Marmara Üniversitesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji BD'nı 02166254545-9087/9088 nolu telefonlardan arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir

memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalamış bulunduğum bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Adı-soyadı, İmza, Adres,Telefon No

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin adı-soyadı, imzası, adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Açıklamaları yapan araştırmacının adı-soyadı, imzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin adı-soyadı, imzası, görevi

**EK 2: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu**  
Dökümü



**Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi**  
**Klinik Araştırmalar Etik Kurulu**

KURULU BAŞKANLIĞI	PROTOKOL KODU	09.2015.0136	7072486080604
	PROJE ADI	L-İsomeri-L-enfeksiyöz enfeksiyon hastalarında vitamin D reseptörüne genetik polimorfizmlerin malignite üzerine etkisi	
	SCRUMLU ARAŞTIRICI İSME ADI	Prof.Dr. Ayşe Gülneş TOKUÇ	

AĞA KLİNİKLERİ	Tarih	09.01.2015
	Notlar: Bu belgeyi sadece araştırma bizzatı ile ilgili belgeye atılmaması, protokolün gerektirdiği değişiklikler için komisyonun onaylanması ve ilgili de karar verilmesi. Önemli değişiklikler için etik kurul toplantılarında karar alınması ve etik kurulun onaylanması için komisyonun onaylanması ve ilgili de karar verilmesi. Önemli değişiklikler için etik kurul toplantılarında karar alınması ve etik kurulun onaylanması için komisyonun onaylanması ve ilgili de karar verilmesi.	

ÜYE ADI / NO	Ünvan / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kuruluş / EK Üyesi	Öncelikli Proje ile İlgili	Toplantıya Katılım	İmza		
1	Prof.Dr. İsmail İBREMENÇELİ	Neuroloji	M.Ü. Tıp Fakültesi Başhekim	Var	Yok	Evet	Hayır	
2	Prof.Dr. Tuna ERGÜN	İnfüzyon Hastalıkları	M.Ü. Tıp Fakültesi Başhekim Yard.	Var	Yok	Evet	Hayır	
3	Prof.Dr. Handan SAVA	Psikiyatri	M.Ü. Tıp Fakültesi Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
4	Prof.Dr. Mehmet GÜLLÜOĞLU	Genel Cerrahi	M.Ü. Tıp Fakültesi Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
5	Prof.Dr. Ahsan KARANLIP	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
6	Prof.Dr. Sevil YARDAK	Enfeksiyon Hastalıkları	M.Ü. Eczacılık Fak. Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
7	Prof.Dr. Mustafa İDİGÜN	Oran Hastalıkları	M.Ü. İktisadi İdari Bilimler Fak. Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
8	Prof.Dr. İzzet SAĞINER KAHAROC	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Hastalıkları	M.Ü. Tıp Fakültesi Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
9	Doç.Dr. İsmail YILMAZ ATANCI	Hüman Genetik	M.Ü. Tıp Fakültesi Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
10	Doç.Dr. Mehmet KURBAN	İnfüzyon Hastalıkları	İstanbul Üni. İktisadi İdari Bilimler Fak. Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
11	Doç.Dr. Fatma GÜVEN	Tıp Fakültesi Üye	M.Ü. Tıp Fakültesi Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
12	Doç.Dr. Gülşah SERT	Hastalıkları	M.Ü. Tıp Fakültesi Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
13	Yrd.Doç.Dr. Tugay DEMİR	Halk Sağlığı	Ankara Üni. Tıp Fak.	Var	Yok	Evet	Hayır	
14	Yrd.Doç.Dr. Pınar Şişir ÖZER	Biyofizik	M.Ü. Tıp Fakültesi Üye	Var	Yok	Evet	Hayır	
15	Asistan ERDOĞAN	Sağlık Yönetimi	Sevket	Var	Yok	Evet	Hayır	

