

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

**ÇOCUKLUK ÇAĞI AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLERİ'NDE**  
**BCR/ABL ve TEL/AML1 GEN DÜZENSİZLİKLERİNİN**  
**KLİNİK VE HEMATOLOJİK ÖNEMİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Sadriye ÖZDEMİR**

**SAMSUN**

**2014**

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

**ÇOCUKLUK ÇAĞI AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLERİ'NDE**  
**BCR/ABL ve TEL/AML1 GEN DÜZENSİZLİKLERİNİN**  
**KLİNİK VE HEMATOLOJİK ÖNEMİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Sadriye ÖZDEMİR**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Gönül OĞUR**

**SAMSUN**

**2014**

## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamın her aőamasında bilgi ve tecrübesiyle bana yardımcı olan, bir bilimsel çalışmanın nasıl yapıldığını ve özveri ile çalışmanın ne demek olduğunu öğrendiğim saygıdeğer hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Gönül OĞUR' a, bu süreç boyunca yardımını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Canan ALBAYRAK' a ve sayın Prof. Dr. Davut ALBAYRAK' a, ocuk hekimi olarak yetiőmemde çok büyük katkıları olan, bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. Ayhan DAĞDEMİR başta olmak üzere tüm hocalarıma, uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıőtığımız asistan arkadaşlarıma ve tüm sağlık personeline, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Tıbbi Genetik asistanlarından başta Dr. Engin Altundağ, Dr. Ümmet ABUR, Dr. Ömer AKAR, Dr. Sema AYMELEK ve Dr. Ayőegül YILMAZ' a, benim için fazla mesai yapmak zorunda kalan sevgili kimyager Nurdan ÖZTAŐKIN' a ve diğer tüm Tıbbi Genetik ekibine teşekkür ederim.

Bugünlere ulaşmamda büyük emek harcayan, hayatımın her aőamasında maddi manevi desteklerini esirgemeyen, sevgileriyle her zaman yanımda olan, canım annem, babam ve kardeőime,

Her zaman bana yardımcı ve destek olan, sevgisini hep yanımda hissettiğim canım eőim Semih ÖZDEMİR' e sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Sadriye ÖZDEMİR

## ÖZET

Lösemiler, genetik değişikliklerin sonucu olarak hematopoetik hücrelerin klonal proliferasyon gösterdiği, en yaygın çocukluk çağı kanseridir. Çocukluk çağı lösemilerinde, tedavi öncesi yapılan genetik analizler, tanısal ve prognostik önem taşır.

Bu çalışmada, ALL tanısı alan pediatrik hasta popülasyonunda, sitogenetik analizler ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) çalışmaları ile saptanan akut lenfoblastik lösemiye özgün BCR/ABL ve TEL/AML1 ilişkili genetik belirteçlerin klinik, immünolojik, hematolojik ve morfolojik parametrelerle ilişkisinin ve prognostik önemlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, Ocak 2005 ve Kasım 2013 tarihleri arasında, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji Bilim Dalında ALL tanısı ile izlenen ve genetik analiz için Pediatrik Genetik Tanı Laboratuvarlarına başvuran 115 hasta retrospektif olarak incelenmiştir.

Çalışmamızda, metafaz elde edilen 98 hastanın 61 (%62,2)' inde sitogenetik analiz sonucu normaldi, 37 (%37,7)' sinde ise sitogenetik aberasyon olduğu saptandı. Sadece metafaz sayısı optimal olan hastalar incelendiğinde sitogenetik aberasyon oranı %54.4 olarak saptandı. Hiperdiploidi (>46 kromozom) %12 oranında saptandı. Bu grupta en yaygın kromozom kazancının 4, 14 ve 21. kromozomlar olduğu gözlemlendi. Hipodiploidi (<46 kromozom) ise %1,7 oranında saptandı. Sitogenetik aberasyonu olan hastaların relaps-*excitus* oranları sitogenetik sonucu normal olan hastalara göre belirgin yüksek bulundu.

FISH analizi ile hastaların 60 (%52,2)' inda FISH aberasyonu olduğu saptandı. En yüksek anomali oranı %25,2 ile Polizomi 21 (amplifikasyon 21) olarak belirlendi. Hastaların %13,9' unda TEL/AML1 füzyonu, %3,5'inde BCR/ABL füzyonu saptandı. Polizomi 21 saptanan hastalarda TEL/AML1 füzyonu daha az oranda görüldü.

Literatür verileri temelinde iyi prognostik faktör olarak kabul edilen TEL/AML1 füzyonuna sahip olan hastalarda hiç relaps saptanmadı. Sadece bir hasta sepsis nedeni ile *excitus* olmuştu. TEL/AML1 füzyon pozitif olan hastaların genel sağkalım sürelerinin uzun olduğu görüldü (en uzun süre takip edilen hasta için 96 ay). Kötü prognostik faktör kabul edilen BCR/ABL füzyon pozitif olan hastalarda ise *excitus* oranının yüksek olduğu ve sağkalım sürelerinin füzyon negatif olanlara göre belirgin daha kısa olduğu görüldü. Relaps ve *excitus* oranları yüksek ve sağkalım süreleri kısa olan bir grubu tanımlayan amplifikasyon 21' in, 'orta risk grubu' nu tanımlayıcı olabildiğini destekleyen veriler elde edildi.

Çalışmanın sonucunda lösemi hastalarında genetik incelemelerin, diagnostik katkıları yanında prognostik değer taşıdığı; genel sağkalım/olaysız sağkalım ve yüksek/düşük risk belirlemelerinde etkin parametreler oldukları ve istatistiksel anlamlılığı olan veriler sağladıkları görüldü. Akut lenfoblastik lösemide sitogenetik analizlerin yetersiz kaldığı füzyon gen tespitinde, kriptomik düzensizliklerin tespitinde ve de özellikle mitotik indeksin düşük olduğu durumlarda, FISH analizi ile anlamlı ve tamamlayıcı veriler elde edildiği gözlemlendi. Özellikle prognozu belirlemede önemli olan füzyon dışı TEL ve AML 1 delesyon, duplikasyon ve amplifikasyonlarının tesbiti için ya da BCR ve ABL delesyon ve duplikasyonlarının tesbitinde, etkin genetik analiz yönteminin FISH yöntemi olduğu belirlendi.

## ABSTRACT

Leukemia is the most common form of childhood cancer which develops as a result of clonal proliferation in hematopoietic cells, triggered by genetic changes. Genetic analyses done before treatment holds a diagnostic and prognostic value for childhood leukemia.

The aim of this study was to evaluate the prognostic significance of genetic markers detected by cytogenetic analysis and fluorescent in situ hybridization [BCR, ABL and TEL, AML1] which are specific for acute lymphoblastic leukemia (ALL) and to correlate the results with the clinical, hematological and morphological parameters in a population of children who were diagnosed with ALL.

In this study, a sum of 115 patients who were diagnosed with ALL at Ondokuz Mayıs University Pediatric Hematology Department in between January 2005 and November 2013, and who were applied to Laboratories of Pediatric Genetic Department for genetic analysis were observed retrospectively.

As a result, 37.7% of the patients had cytogenetic aberrations. When only the patients with optimal metaphase number were considered, cytogenetic aberration rate was 54.4%. Hyperdiploidy rate was 12%. Chromosome gains were mostly for chromosomes 4, 14 and 21. Hypodiploidy (<46 chromosome) rate was 1.7%. The relapse and mortality ratio were higher for the patients who had cytogenetic aberration.

FISH aberration was found in 60 (52.2%) patients. Polisomy 21 (amplification 21) was the highest anomaly rate with 25.2%. TEL/AML1 fusion rate was found in 13.9% of the patients whereas BCR/ABL fusion rate was 3.5%. TEL/AML1 fusion rate was less in the patient group presenting with polisomy 21.

No relapse was found in patients with TEL AML 1 fusion, which is accepted as a good prognostic factor according to the literature data. Only one patient was deceased because of sepsis. The general survival rate of the patients with a positive TEL/AML1 fusion was high ( 96 months for the longest observed patient). The mortality rate of the patients who had a BCR/ABL fusion, which is accepted as a poor prognostic factor, was higher and the survival rate was shorter when compared to the ones who did not have the fusion. The patient group with amplification 21 described a group with a higher rate of relapse and mortality and a shorter survival rate; thus showed that it could point to a group of a medium risk ALL patients.

As a result of this study it was concluded that genetic analysis of patients with leukemia holds a prognostic value as well as a diagnostic aid; moreover, it is an efficient parameter in determining the general survival/event free survival and high/low risk evaluation and enables us to gather data with statistical value. It was observed that in situations in which the cytogenetic analysis was not efficient enough to have optimal results or was totally inefficient such as the presence of a fusion gene, submicroscopic aberrations and a low mitotic index, FISH analysis supplied complementary and significant results. It was concluded that FISH was the effective type of genetic analysis, especially for the situations such as the presence of deletions, duplications or amplifications in a TEL/AML 1 or BCR/ABL fusion negative patient.

## KISALTMALAR

**ABD** : Amerika Birleşik Devletleri

**ALL** : Akut lenfoblastik lösemi

**AML** : Akut myeloblastik lösemi

**BCR** : “Breakpoint Cluster Region”

**BCR-ABL** : “Breakpoint Cluster Region-Abelson”

**BFM** : Berlin-Frankfurt-Munster

**CGH**: Comperative genomic hybridization

**del** : Delesyon

**der** : Derivatif kromozom

**DI**: DNA indeksi

**DNA** : Deoksiribonükleik asit

**dup** : Duplikasyon

**EBV**: Epstein-Barr virüsü

**FAB** : “French-American-British”

**FISH** : Floresan in situ hibridizasyon

**HLA**: Human leukocyte antigens

**Ig** : Immünglobulin

**KLL** : Kronik Lenfoid Lösemi

**KML** : Kronik myeloid lösemi

**mar** : Belirteç kromozom



**MCG:** May Grünwald-Giemsa

**MLL :** “Mixed Lineage Leukemia”

**MPO:** Miyeloperoksidaz

**MRD:** Minimal Residual Disease

**mtx:** Metotreksat

**NK:** Naturel Killer

**NSE:** Nonspesifik esteraz

**p :** Kromozomun kısa kolu

**PAS:** Periodic Acid–Schiff

**PCR :** Polymerase Chain Reaction

**Ph1 :** “Philadelphia”

**q :** Kromozomun uzun kolu

**RT-PCR:** Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction

**SEER :** “Surveillance Epidemiology End Results”

**SJCRH :** “St. Jude Children’s Research Hospital”

**SKY:** Spectral Karyotyping

**SPSS :** “Statistical Package For Science Studies”

**t :** Translokasyon

**TdT :** Terminal Deoksinükleotil Transferaz

**TSG :** Tümör süpressör genler

**WHO :** Dünya Sağlık Örgütü

## TABLÖLAR

**Tablo 1.** WHO 2008 Sınıflamasına Göre Akut Lösemiler

**Tablo 2.** Akut lenfoblastik lösemilerde FAB sınıflaması

**Tablo 3.** Akut lösemi tanısı için antikor paneli

**Tablo 4.** Akut Lenfoblastik Lösemnin immünolojik sınıflandırması

**Tablo 5.** Çocukluk çağı ALL'de görülen ploidi gruplarının sıklığı

**Tablo 6.** Çocukluk B- prekürsör ALL'inde sitogenetik risk grupları

**Tablo 7.** ALL' de klinik ve laboratuvar özellikler

**Tablo 8.** Çocukluk çağı ALL'inde prognostik faktörler

**Tablo 9.** Hastaların tanı anındaki laboratuvar özellikleri

**Tablo 10.** ALL alt gruplara özgün relaps ve *excitus* değerlendirmesi

**Tablo 11.** Hastalarda saptanan sitogenetik aberasyonlar I

**Tablo 12.** Hastalarda saptanan sitogenetik aberasyonlar II

**Tablo 13.** Genetik verilere özgün relaps ve *excitus* değerlendirmesi

**Tablo 14.** FISH analizinde saptanan diğer aberasyonlar

**Tablo 15.** Hastaların genel ve olaysız sağkalım oranları

**Tablo 16.** FISH alt gruplarında klinik ve hematolojik profil

## ŞEKİLLER

**Şekil 1.** Hastaların başvuru yıllarına göre dağılımı

**Şekil 2.** Çocukluk Çağı ALL hastalarının cinsiyete göre dağılımı

**Şekil 3.** Çocukluk Çağı 115 ALL hastasının yaşa göre dağılımı

**Şekil 4.** Hastaların başvuru anındaki şikayetlerine göre dağılımı (tek başına veya diğer semptomlar ile birlikte).

**Şekil 5.** Hastaların başvuru anındaki fizik muayene bulguları (tek başına veya diğer fizik muayene bulguları ile birlikte).

**Şekil 6.** Hastaların immünofenotip sonuçlarına göre dağılımı

**Şekil 7.** Hastaların risk sınıflamasına göre dağılımı

**Şekil 8.** Hastaların FISH analiz sonuçları

**Şekil 9.** Polizomi 21 saptanan hastalar

**Şekil 10.** Hastaların genel sağkalım eğrisi

**Şekil 11.** Hastaların olaysız sağkalım eğrisi

**Şekil 12.** Hastaların subtiplerine göre olaysız sağkalım eğrisi

**Şekil 13.** Hastaların risk gruplarına göre genel ve olaysız sağkalım eğrileri

**Şekil 14.** Hastaların FISH analiz sonuçlarına göre genel sağkalım eğrisi

**Şekil 15.** Hastaların FISH analiz sonuçlarına göre olaysız sağkalım eğrisi

**Şekil 16.** Polizomi 21 olan hastaların olaysız sağkalım eğrisi

**Şekil 17.** TEL/AML1 füzyon pozitif olan hastaların olaysız sağkalım eğrisi

**Şekil 18.** BCR/ABL pozitifliği olan hastaların olaysız sağkalım eğrisi

**Şekil 19.** Hastaların aldıkları protokollere göre genel ve olaysız sağkalım eğrileri

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
ABSTRACT	IV
KISALTMALAR	VI
TABLolar	VIII
ŞEKİLLER	IX
İÇİNDEKİLER	X
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Kanser Biyolojisi	3
2.2. Hücre Döngüsü, Genler ve Kanser	5
2.3. Proto/onkogen Aktivasyonu	6
2.4. Hematopoez	7
2.5. Lösemiler	8
2.6. Akut Lenfoblastik Lösemi	9
2.6.1. ALL' de Epidemiyoloji	9
2.6.2. ALL' de Etyoloji	10
2.6.3. ALL' de Tanı Yöntemleri	11

2.6.4. ALL de Sınıflama	15
2.6.4.1. Morfolojik Sınıflama	17
2.6.4.2. İmmüfenotipik Sınıflama	18
2.6.4.3. Sitogenetik ve Moleküler Sınıflama	22
2.6.5. ALL' de Klinik ve Hematolojik Özellikler	30
2.6.6. ALL' de Prognostik Faktörler	32
2.6.7. ALL' de tedavi	36
<b>3. HASTALAR VE YÖNTEM</b>	<b>37</b>
<b>4. BULGULAR</b>	<b>39</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>62</b>
<b>6. SONUÇLAR</b>	<b>73</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>77</b>

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Akut lösemiler çocukluk çağının en sık görülen kanseridir. Tüm çocukluk çağı malignitelerinin yaklaşık %30-35'ini oluşturmaktadır. Çocukluk çağı lösemilerinin %97'si akut lösemi, akut lösemilerin de %80'i Akut lenfoblastik lösemidir (ALL) (1). Her yıl Amerika Birleşik Devletleri' nde (ABD) 100.000'de 2,8 insidans ile yaklaşık 2500-3500 arasında yeni çocuk vaka ALL tanısını almaktadır (2, 3). Ülkemizdeki çocukluk çağı lösemi insidansı 100.000'de 1,5'dir (4).

Çocukluk çağı lösemilerinin kesin nedenleri henüz tam olarak aydınlatılmamış olmakla beraber etken olarak radyasyon, kimyasal maddeler, genetik yatkınlık, bazı kalıtsal hastalıklar (Down sendromu, Bloom sendromu, ataksi telenjiektazi) ve bazı virüsler suçlanmaktadır (5). Sitogenetik, FISH ve moleküler yöntemler kullanılarak saptanabilen hastalığa özgü genetik değişiklikler, hastalığın tanısı, sınıflaması, tedaviye yanıtın izlenmesi ve prognozun değerlendirilmesinde çok önemli bir role sahiptirler (6).

Çocukluk çağı lösemilerinde yaş, lökosit sayısı, immüfenotiplendirme gibi verilerin yanı sıra "karyotipleme"de önemli bir diagnostik ve prognostik değer taşımaktadır. Klonal özellik taşıyan kromozomal sayısal yada yapısal düzensizliklerin moleküler analizlerinin yapılması, hastalığın biyolojisinin anlaşılması ve bu düzensizliklerin "lökomogenesis" deki rollerinin aydınlatılması açısından da oldukça önemlidir (7). Özellikle yapısal düzensizlik olan translokasyonlar sonucu oluşan "füzyon" genlerinin sentezlediği yeni protein ürünlerinin hastalığın seyrine etkisinin bilinmesi yeni tedavi prensiplerinin stratejisi açısından yol gösterici olacaktır. Bu spesifik kromozomal düzensizliklerin hastalığın tanısı anında ve tedavisi sonrasında kalitatif ve kantitatif olarak saptanması hastalığın takibi, terapötik ilaca verilen yanıtın değerlendirilmesi ve minimal residüel hastalık takibi bakımından da büyük değer taşımaktadır (6,7).

Lösemilerdeki genetik değişiklikler, kültüre edilmiş ya da edilmemiş kemik iliği hücrelerinde sitogenetik, moleküler sitogenetik (Flourescence In Situ

Hybridization) ve Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) yöntemleriyle tespit edilebilmektedir (6).

Genetik düzensizliklerin saptanmasında sitogenetik çalışmalarda, laboratuvarlar arasında değişmekle birlikte, %20-40 arasında kültüre bağlı başarısızlıklar görülmekte, metafaz nukleuslarındaki kalite sorunları, mitotik indeksin düşük olması gibi nedenlerle de gerçek anomaliyi yakalama oranları düşmektedir. Bu nedenlerle ve özellikle kantitatif değerlendirme açısından daha gerçekçi veri sağladığından, FISH yöntemi sitogenetik yöntemlerle kombine olarak kullanılmaktadır (8).

Translokasyonlar, lösemilerde gözlenen en sık karyotipik değişikliklerdir ve bazı tiplerinde diagnostik amaçla kullanılacak kadar sık ve spesifik görülebilirler (6). Çocukluk çağı ALL'lerinde TEL-AML1 [t(12;21)(p13;q22)] genlerinin füzyonu ve yüksek hiperploidi iyi prognoz göstergesi olurken, bunun aksine BCR-ABL [t(9;22)(q34;q11)] geninin füzyonu, MLL (11q23 loküsünde) genine ait düzensizlikler ve düşük hiperploidi kötü prognoz belirtisidir (6).

TEL/AML1 füzyonu çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemilerinde %9-%25 oranlarında en sık bulunan genetik düzensizliktir. Tek başına pozitifliği iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Ancak polizomi 21 ya da amplifikasyon 21'in ve BCR/ABL ve TEL/AML1 ilişkili delesyon ve duplikasyonların prognostik etkileri konusunda literatür verileri yetersizdir. Bu mutasyonları konvensiyonel sitogenetik teknikler ile tanımlamak çok zordur, ancak floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi ile hemen daima tanımlanabilmektedir.

Bu çalışmada, sitogenetik ve FISH ile saptanan BCR, ABL, TEL ve AML1 gen düzensizlikleri ile çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemisinin klinik ve hematolojik ilişkisi, prognoza etkisi retrospektif olarak incelenmiştir. Bu temelde 2005-2013 yılları arasında Çocuk Hematoloji Bölümünde ALL tanısı ile takip edilen ve genetik incelemeye alınan 115 hastanın, tanı anındaki yaşı, şikayeti, fizik muayene bulguları, beyaz küre sayısı, tanı anındaki kemik iliği (veya periferik kan) materyalinden elde edilen sitogenetik ve FISH yöntemleri ile saptanan genetik belirteçleri incelenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. KANSER BİYOLOJİSİ

İnsan bedeni, bölünen ve özgün dokulara farklılaşan hücrelerden gelişir. Hücreler büyüme ve gelişmenin temel ünitesidir. Biyolojik yapı içinde, gerek soy hücreleri ve gerekse somatik hücreler, döllenmiş tek bir hücreden köken alırlar. Sağlıklı bir bedende hücreler bölünür, büyür, farklılaşır ve sonuçta apoptozis adı verilen programlı bir ölüm çerçevesi içinde yaşamlarını sonlandırırlar. Tüm bu işlevler, hücrede bir iş birliği temelinde yürümektedir. Bu bütünlük içinde ortaya çıkabilecek bir değişiklik, örneğin genetik bir mutasyon, işlev dengesini bozacak, kontrolsüz bir hücre çoğalmasına yol açacak, diğer bir deyişle, kanser oluşumuna zemin hazırlayacaktır (15).

Hücresinin büyümesi ve gelişimi ve hücre – hücre iletişimlerini ilgilendiren sistemlerde oluşacak genetik değişiklikler, DNA sentezi ve gücre replikasyonu sırasında somatik mutasyonlar şeklinde oluşabileceği gibi, eşey hücre mutasyonları şeklinde ve kalıtsal özellik göstererek de gelişebilirler. Somatik mutasyonlar sadece belli bir dokuya özgü mutasyonlardır; soy hücre mutasyonları ise vücudun tüm hücrelerini ilgilendirir. Mutasyonlar sonucu hızlı proliferasyon sürecine giren ya da apoptozisten kaçabilen hücreler, çoğalma hızlarını sınırlayabildikleri sürece benign bir davranış sergilerler ve iyi huylu hücre kütlelerini oluştururlar. Komşu organların istilası veya uzak dokulara yayılım söz konusu olduğunda ise hücrelerde artık malign bir davranış biçimi kazanılmış ve kanser ortaya çıkmıştır.

Kanserler köken aldıkları hücre ya da dokulara göre sınıflandırılırlar. Epitelial hücrelerden köken alanlar karsinom, bağ dokusu ya da adele hücrelerinden köken alanlar ise sarkom olarak adlandırılırlar. Sinir sistemi hücre kaynaklı kanserler ve hematopoetik hücre kaynaklı lösemiler bu iki gruba da uygunluk göstermezler. İnsan kanserlerinin %90'ını karsinomlar oluşturur.

Kanser oluşumu pek çok neoplazik dokuda genelde tek bir mutant hücreden köken alarak başlar. Diğer bir deyişle kanser, klonal bir bozukluktur. Metastaz



evresinde bile pek çok kanserde, geriye doğru iz sürerek, tümörün kaynaklandığı dokuya ulaşabilmek mümkündür.

Kanserlerin çoğu DNA dizisinde değişikliğe yol açan ekzojen ya da endojen faktörlerin etkisiyle başlar. Kimyasal karsinojenler, nükleotid zincirinde lokal değişikliklere neden olurlar; X- ışını gibi iyonizan radyasyonlar sıklıkla kromozom kırıklarına ve translokasyonlara yol açarlar. Virüsler ise, hücreye yabancı DNA entegre ederek kansere neden olabilmektedirler. Epigenetik etki, diğer bir deyişle DNA dizisinde bir değişiklik olmaksızın, gen ekspresyon modelinde oluşan değişimle ortaya çıkan kanser türleri de söz konusu olmakla birlikte enderdir.

Karsinogenez, tek bir mutasyon sonucu gelişmemekte, birbirinden bağımsız pek çok olayın birleşik etkisi ile oluşmaktadır. Bunun yanında ender de olsa, yüksek dozda karsinojenik olduğu hemen hemen kesin olarak bilinen ajanlar da mevcuttur (Betanaftilamin-mesane kanseri, polisiklik aromatik karbonlar-akciğer kanseri gibi).

Kansere neden olan ajan ile karşılaşmadan sonra kanserin ortaya çıkışı, genelde uzun bir süreyi gerektirmektedir. Ağır sigara içimini takiben, akciğer kanserinin gelişimi 10-20 yıl içinde olmaktadır; Hiroşima ve Nagasaki'de atomik bombardımandan yaklaşık 5 yıl sonra lösemi insidansındaki artış fark edilmiş hastalık sıklığı 8. yılda doruk noktasına ulaşmıştır. Belirli bir süre kimyasal karsinojenlerle karşılaşmış olan endüstri işçilerinde ilgili kanser genelde 10 ya da 20 yıl, hatta daha da sonra ortaya çıkmaktadır. Bu uzun inkübasyon döneminde, kanser adayı hücreler bir seri değişime uğrarlar. Kronik myeloid lösemi (KML) bu gelişimin iyi bir örneğidir. KML, önceleri beyaz kan hücrelerinin aşırı çoğalımı şeklinde başlar; yıllarca bu konumunu sürdürdükten sonra, birkaç ay içinde ölümlü sonlanan agresif bir forma dönüşür. Erken kronik fazda, lösemik hücreler özgün bir kromozomal translokasyon olan Philadelphia kromozomunun varlığı ile tanınırlar. Takiben hastalığın akut fazında, sadece bu özgün translokasyon değil, başka kromozomal değişiklikler de görülür.

## 2.2. HÜCRE DÖNGÜSÜ, GENLER VE KANSER

Vücut hücreleri, diploid yapıdaki tek hücre zigotun, defalarca tekrarlanan mitotik bölünmeleri sonucu oluşmaktadır. Hücreler mitotik bölünmenin hemen ardından G1 fazına girer ve bu evrede saatler-günler hatta aylar boyu kalabilirler. Bu DNA sentezinin olmadığı bir fazdır. DNA sentezi G1 fazını izleyen S fazında gerçekleşir. Bu evrede tek bir DNA molekülü içeren her bir kromozom, replikasyona uğrar ve 2 sentromer içeren bir 'çift yapı' haline dönüşür. Böylece her bir kromozom kendi DNA'sının bir kopyasını oluşturmuş olur. S fazı sonunda hücre G2 fazına geçer. Bu evrede tüm siklus boyunca devam eden ribonükleik asitler, proteinler oluşturmaya devam eder, ve hücre tüm kütlelerini ikiye katlar. Kromozomların yoğunlaşmış görünür hale geldikleri anda hücrede yine bölünme fazı, yani mitotik faz (M) başlamıştır. Özgün bir davranış biçimini kontrol eden G0 fazı ise, nöronal hücreler ve eritrositler gibi kimi bölünmeyen-tam farklılaşmış hücreleri barındıran ve bir anlamda G1 süreci içinde yer alan bir fazdır.

Normal hücre döngüsünün regülasyonu, genler aracılığı ile gerçekleşir. Bu genler hücre döngüsünün fenotipik etkileri paralelinde hücrenin büyümesi, gelişimi, farklılaşması ya da programlanmış ölümü (apoptozis) ile ilgili genlerdir. **Proto-onkogen** adı verilen gen grubu, ağırlıklı olarak hücre büyümesi, farklılaşması ve çoğalması ile ilgilidir; programlanmış bir biçimde hücre ölümünü sağlayan genler ise apoptotik genler, **tümör süpressör genler (TSG)** adını alırlar.

Kanserin karakteristiğini yansıtan hücre çoğalımı, hücrenin normal işlevlerini yürüten sistemlerden sorumlu olan bu genlerde, kromozom ya da gen düzeyinde gerçekleşen mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Mutasyonlar, hücre siklusunda 2 ana mekanizmayı etkileyerek kanser oluşumuna zemin hazırlar. Bu mekanizmaların ilkinde, hücre gelişimi ve çoğalımını uyarıcı bir gen, mutasyon sonucu aktif duruma geçer ve takiben hücre döngüsü içinde kontrolsüz hücre çoğalımına yol açacak bir seri olayı harekete geçirir. Proto-onkogenlerin mutasyona uğrayarak **onkogenik** aktivite göstermeleri ve sürekli hücre bölünmesine yol açmaları bunun en iyi örneğidir. Bu tür bir mutasyonda kanser gelişimi, hücrede bu fonksiyona yönelik genin 2 allelinden

sadece birisinin mutasyonu sonucu gerçekleşebildiğinden, bu değişim dominant etkili bir mutasyon olarak kabul edilmektedir. Mutant proto-onkogenler onkogen olarak adlandırılırlar ve in vivo ve in vitro koşullarda, normal bir hücrenin neoplazik özellik kazanmasına yol açan bir potansiyele sahiptirler.

Kansere zemin oluşturan etkin ikinci mutasyonel mekanizma ise, hücrenin programlanmış ölümünü denetleyen, apoptozis ile ilgili genlerin inaktivasyonudur. İnaktivasyon sonucu işlevlerinin kaybeden bu gen grubu, tümör süpressör genlerdir. Bu genlerin tümör oluşturmaları, ilgili her iki allelin de mutasyonunu gerektirdiğinden, resessif etkilidir. Kansere gelişiminde rolü olan bir üçüncü gen grubu ise DNA-tamir mekanizması genleridir.

### **2.3. PROTO/ONKOGEN AKTİVASYONU**

Proto-onkogenlerin onkogene dönüşümünde farklı genetik değişiklikler rol alır. Bu proto-onkogen yapısındaki bir nokta mutasyon veya amplifikasyon olabileceği gibi delesyon, duplikasyon, kromozomal translokasyon da olabilir ya da retroviral DNA gibi mobil bir genetik elemanın genoma insersiyonu söz konusu olabilir.

Kromozomal translokasyonlar genelde kromozom kırık noktalarında yer alan iki genin etkileşimine yol açar; sonuçta ya genlerden birinde uygunsuz bir ekspresyon gerçekleşir ya da hibrid bir gen ortaya çıkarak ilgili proteine yeni bir işlev kazandırır. Kromozomal translokasyon sonucu oluşan onkogen aktivasyonunun ilk örneği Burkitt lenfoma'da etkin olan c-myc geni'dir. Burkitt lenfoma, bir B-lenfosit malignitesidir. Olguların hemen tümünde 8. kromozomun uzun kolunda yer alan c-myc geni ile, 14., 2. ya da 22. kromozomdaki immünglobulin (Ig) genleri arasında yeni bir yapılanma söz konusudur. Tümör hücre popülasyonunda en sık görülen translokasyon tipi t(8;14)(q24;q32) dir. C-myc, normalde büyüme faktör uyarısına yanıt olarak ortaya çıkan bir transkripsiyon faktörünü kodlamaktadır. Translokasyonlar sonucu immünglobulin gen zincirlerindeki özgün bir bölge ('enhancer' ya da diğer

transkripsiyonu aktive edici bölgeler), myc geninin yanına yerleşir. Böylece myc, aşırı yapıma uğrar ve hücre proliferasyonu uyarılır.

Kimi translokasyonlar ise, ortaya çıkan hibrid genler nedeni ile anormal bir protein yapımına neden olurlar. Örnek bir translokasyon, kronik myeloid lösemide görülen Philadelphia kromozomu, t(9;22)(q34;q11)'dir. Translokasyon sonucu, 9. kromozomun uzun kolunda yer alan abl geni, 22. kromozomdaki bcr (breakpoint cluster region) geni ile füzyon oluşturur (bcr/abl transkript). Bu arada abl geninin tirozin kinaz aktivitesi korunmuş ancak bcr etkisi ile işlev ve ekspresyonu değişerek yeni bir protein oluşmuştur. Oluşan bu proteinin tirozin kinaz aktivitesi artmıştır. Bu da hücre transformasyonuna yol açar. Halen gerek hematolojik malignitelerde, gerek solid tümörlerde tanı, sınıflama ve prognozu belirleyici pek çok özgün kromozomal translokasyon tanımlanmış durumdadır.

## 2.4. HEMATOPOEZ

**Hematopoetik kök hücreler**, kendi kendini yenileme ve matür kan hücrelerine farklılaşabilme yeteneğine sahiptirler. İlk hücreler, lenfoid ve miyeloid projenitör olarak adlandırılan seriyi meydana getirir. Lenfoid öncüller tekrar bölünürler ve T, B lenfosit ve doğal öldürücü hücrelere farklılaşırlar. Miyeloid öncül hücreler, granülosit-monosit prekürsörler ve megakaryosit-eritrosit prekürsörlerini ortaya çıkarır. İlk hücre soyundan granülositler ve monositler gelişirken, diğerinden trombosit ve eritrositler gelişir.

Lösemilerin tek bir hematopoetik hücrenin transformasyonu ve lösemik bir klon oluşturması ile meydana geldiğine inanılmaktadır. Bu durum **Klonal Ekspansiyon Teorisi** olarak adlandırılmaktadır. Lyon hipotezine göre dozaj kompensasyonuna bağlı olarak, hücrede X kromozomlarından rastgele biri inaktifleşmekte ve bu hücreden oluşan hücrelerde de hep aynı X kromozomu inaktif kalmaktadır. Kronik Lenfoid Lösemi'de (KLL) transforme olmuş tüm lenfositlerin yüzeyinde aynı tip Ig (immünglobulin) bulunması, ALL'de lösemik hücrelerin, aynı tip Ig ve T hücre reseptör

(TCR, T cell receptör) geninin yeni yapılanmasını içermesi, klonal ekspansiyon teorisini desteklemektedir (16).

## 2.5. LÖSEMİLER

Lösemiler, hematopetik hücrelerdeki genetik bozuklukların yol açtığı kontrolsüz ve klonal hücre proliferasyonu ile ortaya çıkan malign hastalıklar grubu olarak tanımlanır. Çocukluk çağı malignitelerinin %30-35'ini oluşturur (9).

Akut lösemiler çocukluk çağı akut lösemilerinin %97'sini oluşturur ve dört alt tipi vardır (22):

**1- Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL):** Çocuklarda lösemilerin %80-85'ini oluşturur. Morfolojik olarak L1, L2, L3; immonfenotipik olarak ise B hücreli [erken öncül (Pre) B, öncül B, transizyonel öncül B, olgun B], T hücreli (öncül T, erken T, ortak T, olgun T) ve Myeloid İşaretleyici Pozitif ALL (My + ALL) olarak sınıflandırılır.

**2- Akut Myeloblastik Lösemi (AML):** Akut nonlenfoblastik lösemi (ANLL) olarak da bilinir. Akut lösemilerin %17'sini oluşturur. Morfolojik ve immunolojik olarak M0-M7 alt grupları belirlenmiştir; ayrıca Lenfoid İşaretleyici Pozitif AML (Ly + AML) alt tipi de vardır.

**3- Akut Miks Lösemi:** İmmünolojik ve moleküler çalışmalar, bazı akut lösemilerde bir veya daha fazla hematopoetik serinin rol aldığını gösterir. Blastları eş zamanlı olarak birden fazla hematopoetik seriyi gösteren akut lösemiler, “akut miks lösemi, hibrid, kimerik veya bifenotipik lösemi” olarak adlandırılır (8).

**4- Akut Farklılaşmayan (Undiferansiye) Lösemi:** Akut lösemilerin az bir kısmını (<%5) oluşturur. Bazı akut lösemi vakalarını morfolojik ve immünfenotipik çalışmalara rağmen sınıflandırmak çok zordur. Bu tip lösemiler “akut farklılaşmayan lösemi” olarak adlandırılır. Bu lösemi tipinde blastlar morfolojik olarak ALL veya

AML' yi taklit edebilir, ancak miyeloperoksidaz ve sudan black B negatiftir, immünofenotiplemede lenfoid, myeloid veya megakaryositik antijenler yoktur (31).

Kronik myeloid lösemi, çocukluk çağında enderdir; lösemilerin %3'ünü oluşturur.

Akut lösemiler, olgunlaşmamış öncül kan yapıcı hücrelerin artışı, kronik lösemiler ise olgunlaşmış kemik iliği elemanlarının artışı ile giden lösemilerdir. Akut lösemilerde kemik iliğindeki blastlar, tüm çekirdekli hücrelerin %20 ya da fazlasını oluşturmalıdır.

## **2.6. AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ (ALL)**

Akut lösemiler, çocuklarda en sık görülen kanser türüdür ve çocukluk çağı malignitelerinin %30-35'ini oluşturur. AML'den 5 kat daha sık görülmektedir (9,10). Her yıl Amerika Birleşik Devletleri (A.B.D)' nde yaklaşık 2500-3500 arasında yeni çocuk vaka ALL tanısını almaktadır (insidans 100.000'de 2,8) (2, 3). Ülkemizdeki çocukluk çağı lösemi insidansı 100.000'de 1,5'dir (4).

ALL' de 1980'den itibaren yaşam süresi dramatik bir şekilde iyileşmiştir. Ortalama 5 yıllık yaşam süresi %85'in üzerine çıkmıştır (10). Bu durum uygulanan tedavi protokollerinin risk bazlı olması, gerekli hastalara daha yoğun, agresif tedaviler uygulanması ve protokollerde MSS profilaksisinin yer alması ile ilişkilendirilmiştir.

### **2.6.1. ALL'de EPİDEMİYOLOJİ**

ALL, çocuklarda lösemilerin %80-85'ini oluşturarak, AML' den çok daha sık görülür. Sıklık batı ülkelerinde 15 yaş altındaki çocuklarda yaklaşık 100.000'de 4 olup, kalıtsal veya çevresel etkenler nedeni ile en düşük Afrika'da olmak üzere dünyanın değişik yörelerinde önemli farklılıklar gösterebilmektedir (9).

ALL' nin pik yaptığı dönem 2-5 yaş arasındadır (11-12). Bu yaş grubunda yoğunlaşma gelişmiş ülkelerde daha belirgin ve erken yaşta (en sık 1-4 yaş arasındaki çocuklarda). ALL sıklığı gelişmiş ülkelerde endüstrileşmeye geçiş dönemlerinde artış göstermiştir. Çocukluk çağı ALL insidansında 1971'den 1993'e kadar %20' lik kümülatif bir artış gözlenmiştir. Bu durumun karsinogenik maddelere artmış maruziyetle ilişkili olabileceği dolayısıyla çevresel etkenlerin lösemiye katkısını düşündürmüştür (4, 9, 10). Cinsiyete göre dağılım gelişmiş ülkelerde 1,2 oranında erkeklerde fazladır ancak immünojenotipe göre değişiklik göstermektedir. T hücreli ALL'de erkek/kız oranı 4'e çıkmaktadır. Ülkemizde yılda ortalama 250 olgunun giriş yapıldığı Türk BFM Çalışma Grubu protokolü TR-ALL BFM 2000'de ortanca yaş 5 ve erkek/kız oranı 1,2'dir (9). Cinsiyet prognoz açısından önemli bir gösterge olup, kızlarda yaşam oranı daha yüksektir (13).

### **2.6.2. ALL' de ETYOLOJİ**

Akut lösemilerin etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. ALL olgularının %1'den azının bilinen belli bir nedeni vardır. Genetik faktörlerin rolü, ailevi olguların varlığı, ikizlerde sıklığın yüksek olması, ALL' nin bazı yapısal karyotipik değişiklikler, genetik instabilite sendromları veya genetik hastalıklar ile lösemi ilişkisinden anlaşılmaktadır. Genetik kökenli lösemilerin belli ailelerde kümelenmesi çok nadirdir. Bunlara bir örnek oluşturan tümör supresör geni p53 mutasyonu ile ilişkili Li-Fraumeni sendromu olan 24 ailede kanserlerin %7' sinin ALL olduğu bildirilmiştir. Özellikle ikizlerde aynı immünolojik antijenleri veya aynı füzyon genini gösteren blastların bulunması lösemilerin intrauterin başlangıcına işaret etmiştir (9, 22). Trizomi 21 (Down sendromu), Fanconi anemisi, Bloom sendromu, Schwachman-Diamond sendromu, Diamond-Blackfan anemisi, nörofibromatoz gibi çeşitli genetik hastalıklarda ve 47, XXY ya da 45, X gibi cinsiyet kromozom anomalilerinde, akut lösemi sıklığı artmıştır (5,17).

Lösemi gelişiminde rol oynayan çevresel etmenler arasında radyasyon, kimyasal maddeler ve ilaçlar vardır. İkinci Dünya Savaşı'nda atılan atom bombası

sonrası hayatta kalanlarda izleyen 12 yıl içinde 60'da 1 oranında lösemi gelişmiş ve ALL 8 yıl içinde yoğunlaşarak daha fazla görülmüştür (9). Düşük frekanslı noniyonize radyasyona (Örnek: Elektromagnetik alan) maruz kalmanın lökomogenik olup olmadığını ele alan çalışmalar da mevcuttur. Bazı çalışmalarda, magnetik alanlara maruz kalan çocuklarda, artmış bir akut lösemi riski bulunmamıştır (18, 19).

ALL gelişimiyle ilişkisi bilinen en önemli enfeksiyon etkeni Epstein-Barr virüsü (EBV) olup, Burkitt lenfoma/ lösemi (ALL-L3) olgularının Afrika' da %95, Avrupa ve Kuzey Amerika'da %20' sinde EBV genomu gösterilmiştir.

Greaves ve ark. (1988), fetal dönemde meydana gelebilen genetik değişikliklerin hazırladığı zeminde, çocukluk çağındaki viral enfeksiyonların uyarısı ile artan lenfoid hücre çoğalması sırasında oluşan ikinci bir değişikliğin B-öncül ALL gelişimine yol açabileceği hipotezini geliştirmiştir (14). Arada geçen yirmi yıldan sonra Greaves ve ark. (2009), tezini yeni yöntemlerin sağladığı veriler ile destekleyerek ikinci vuruşun kromozom sayı anomalileri ve delesyonlar gelişmesi şeklinde olduğunu savunmuştur (9,20).

### **2.6.3. ALL' de TANI YÖNTEMLERİ**

Hücre morfojisini ve sitokimyanın tek tanı ve inceleme yöntemi olduğu 70'li yıllardan günümüze gelişen tanısal yöntemler, beraberinde, lösemi sınıflamalarında ve tanımlarında önemli değişiklikleri de getirmiştir. Klasik sitogenetik, floresans in situ hibridizasyon (FISH), moleküler genetik ve immünofenotip tayini rutin incelemeler arasına girmiştir (21). Klonal karyotipik değişiklikler akut lösemilerde %50-70 oranında görülmekte, gelişen moleküler yöntemler ve klinik çalışmalar ile elde edilen moleküler genetik belirteçler ile birlikte lösemilerin biyolojisinin, patogenezi ve prognozunun belirlenmesinde baş rol oynamaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), önce 2001 yılında AML tanısında, sonra da 2008 yılında ALL tanısında sitogenetik ve moleküler genetiği sınıflamanın temeline oturtmuştur (9).



Kromozom analizi DNA da >5-10 Mb görülebilen genetik anomalileri, FISH ise daha küçük submikroskopik değişiklikleri gösterir. Moleküler teknikler ise minimal rezidüel hastalık (MRD) izlemi için en duyarlı yöntemdir. Tüm bu yöntemlerin akılcı bir şekilde birlikte kullanımı ile hızlı şekilde doğru bir sınıflama yapılabilmesi ve MRD izlemi için uygun belirteçlerin saptanabilmesi mümkündür (21).

### **Analiz öncesi hazırlıklar**

İncelemelerin başarısı için çevresel kan ve kemik iliği örneklerinin alım, saklama ve nakil koşullarının standardize edilmesi önerilmektedir (9).

- Doğrudan yapılan yaymaların yanı sıra sitomorfoloji için EDTA'lı kemik iliği/çevresel kan kullanılabilir. Heparin sitomorfolojiyi olumsuz etkiler.

- Sitogenetik için heparinli tüpe alınmış kemik iliği ve kan gereklidir.

- Akut lösemide kemik iliği biyopsisi sadece aspirasyonda materyal sağlanamayan 'punctio sicca' durumlarında veya diğer teknik sorunlar varlığında gerekir. Bu durumda, sitomorfoloji için çevresel kan ve biyopsi silindirinden hazırlanan yaymalar kullanılır. Parafindeki örneklerden morfoloji ve immün-histokimya için yararlanılabilir.

- Sitogenetik çalışmalar için materyalin steril olması ve hücrelerin canlılığını koruyor olması ve oda ısısında transfer gerekmektedir.

- Laboratuara nakil oda ısısında yapılmalı, kuru buz veya soğutulmuş paketler kullanılmamalıdır. Süre 24 saati geçmemelidir. Bu da lösemiler için merkezi bir referans laboratuvarının her gün ulaşılabilir durumda olması anlamına gelmektedir.

## **Sitomorfoloji ve sitokimya**

Akut lösemiden şüphelenilen olgularda, en az beş çevresel kan ve beş kemik iliği yayması hazırlanmalıdır. Yaymalar tespit yapılmadan havada kurutulmalı ve May Grünwald-Giemsa (MGG) ile boyanmalıdır. Miyeloperoksidaz (MPO) ve nonspesifik esteraz (NSE) AML ayırıcı tanısı için yararlıdır, ancak PAS, asid fosfataz ve klorasetat esteraz artık sınıflamadaki yerini kaybetmiştir.

## **Çok parametrelili akım sitometresi (MFC)**

İmmünofenotipleme, özellikle ALL sınıflamasında sitokimyadan önde gelmektedir. Değişik hücre popülasyonları büyüklük, granül içeriği ve antijen ekspresyonları açısından incelenebilir. Çok sayıda hücrenin kısa sürede incelenmesi ile yüksek duyarlılık sağlanır. EDTA veya heparin kullanılabilir, ancak nakil süresi uzun ise heparin tercih edilmelidir. İnceleme olasıncaya kemik iliği örneğinden yapılmalıdır.

## **Sitogenetik**

Sitogenetik için kemik iliği çevresel kana tercih edilir. Yeterli metafaz elde edilebilmesi için 48 saate varan sürelerde paralel birçok kültür yürütülür ve gereğine göre sitokin kokteylleri akut lösemi çeşidine göre ortama eklenir. Kolşisin ile mitoz durdurularak metafaz toplanır. Hücre yetersiz ise kolşisin sonrası kültür süresi uzatılabilir. Akut lösemilerde yaklaşık 20-25 metafaz incelenmelidir. Klonal bir değişiklik varsa, 15 metafaz yetebilir. Kompleks değişiklikler varsa inceleme FISH ile genişletilmelidir (9).

## **Floresans in situ hibridizasyon (FISH)**

Son yıllarda geliştirilen FISH tekniği hem hematolojik hem de solid tümörlerle ilişkili olan kromozomal aberasyonların belirlenmesinde oldukça yararlı olmaktadır. Klasik bantlama yöntemlerinde analiz metafaz üzerinden yapılmaktadır; bu olgularda kimi zaman yeterli ve incelenabilir metafazlar elde edilememesi, yeni teknikler kullanılmasını gerektirmiştir. Hem interfaz hem de metafaz hücrelerinde analize olanak sağlayan FISH tekniği, son yıllarda kromozomal aberasyonların analizinde uygulanan konvensiyonel sitogenetik yöntemlere ek olarak güçlü bir tamamlayıcı tetkik olarak gösterilmiştir (24).

Bu teknikte özgün nükleik asit bölgeleri içeren DNA probları, lam üzerinde fikse edilmiş kromozomların içerdiği DNA ile hibridize edilir. Cam üzerine fikse olmuş metafaz kromozomundaki DNA, DNA'nın iki zincirini ayırtırmak için, yerinde (in situ) denature edilir. Bu durum işaretli bir probun kromozomal DNA'ya hibridize olmasına olanak sağlar. Kromozomlar ile in situ hibridizasyon için problemlerin işaretlenmesindeki en yaygın metod, bir floresan boya ile işaretlenmiş olanıdır. Floresan işaretli prob, test edilen DNA ile hibridize olduğu zaman, kromozomlar floresan boyadan yayılan ışığın bir dalga boyunda absorblanması ile görünür hale gelirler. Bu prob ile hibridize olan DNA segmentinin lokalizasyonu daha sonra mikroskop altında belirlenir (25).

Hematolojik malignitelerde kromozomal aberasyonların belirlenmesi, tanı ve prognozun değerlendirilmesi, sınıflama, remisyon ve relapsın belirlenmesi açısından son derece önemlidir. FISH tekniği bu tip değişimlerin belirlenmesinde hızlı, kolay ve güvenilir bir yöntem olarak son yıllarda önem kazanmıştır (24). Bunun yanında FISH analizi ile elde edilen sonuçların, klasik bantlama yöntemleri ile elde edilen sonuçlara göre daha duyarlı olduğunu ortaya koyan çalışmalar da son yıllarda artış göstermektedir (26, 27). İnterfaz hücrelerinde yapılan FISH analizi, maskelenmiş/varyant translokasyonların belirlenmesinde klasik bantlama yöntemlerinden daha başarılıdır (96).

Konvensiyonel bantlama yöntemlerine göre daha hızlı ve kolay analiz olanağı sağlayan FISH yöntemi özellikle hematolojik kanserlerde hem ön tanıda hem de izlemdeki olguların kromozomal aberasyonlarının belirlenmesinde oldukça önemli bir tekniktir. Bu yöntemle sadece işaretlenen bölgenin analizinin yapılabilmesi ve diğer aberasyonların aynı anda tespit edilememesi, tekniğin dezavantajlarından biri olmakla birlikte, metafaz elde edilemeyen durumlarda tek alternatif olarak görülmektedir. Kriptik delesyon ve duplikasyonların ve amplifikasyonların belirlenmesinde halen rutin kullanımda olan yöntemler arasında yine tek alternatiftir.

### **Moleküler yöntemler**

PCR, RT-PCR, real-time PCR ve dizi analizi gibi moleküler yöntemler moleküler mutasyonların yüksek özgüllükle gösterilmesini sağlar. Kantitatif real-time PCR ile remisyon süresi dahil tüm hastalık boyunca bu mutasyonlar izlenebilir. Bu teknikler ayrıca sitogenetik veya FISH ile saptanan bulguların doğrulanması, yani ilgili füzyon genlerinin gösterilmesi için kullanılır. Bu yöntemlerin bir diğer avantajı canlı hücre gerektirmemesidir.

#### **2.6.4. ALL'DE SINIFLAMA**

Akut lenfoblastik lösemi modern sınıflamaya göre morfolojik, immünofenotipik, sitogenetik ve moleküler olarak sınıflandırılır (Tablo 1) (2008 WHO).

**Tablo-1. WHO 2008 Sınıflamasına Göre Akut Lösemiler (9)**

---

**Akut miyeloid lösemi ve ilgili neoplaziler**

**Hücre dizisi belirsiz akut lösemiler**

Akut indifferensiye lösemi

Mikst fenotip akut lösemi, t(9;22)(q34;q11.2); BCR/ABL ile birlikte

Mikst fenotip akut lösemi, tv;11q23); MLL yeniden düzenlenmesi ile birlikte

Mikst fenotip akut lösemi, B-miyeloid, ayrıca tanımlanmamış

Mikst fenotip akut lösemi, T-miyeloid, ayrıca tanımlanmamış

*'Provisional entity'*: doğal öldürücü (NK) hücre lenfoblastik lösemi/lenfoma

**B lenfoblastik lösemi/lenfoma**

B lenfoblastik lösemi/lenfoma, ayrıca tanımlanmamış

B lenfoblastik lösemi/lenfoma, tekrarlayan genetik anomaliler ile birlikte

- t(9;22)(q34;q11.2); BCR/ABL1 ile birlikte
- t(v;11q23); MLL yeniden düzenlenmesi ile birlikte
- t(12;21)(p13;q22); TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) ile birlikte
- Hiperdiploidi ile birlikte
- Hipodiploid ile birlikte
- t(5;14)(q31;q32); IL3-IGH ile birlikte
- t(1;19)(q23;p13.3); TCF3-PBX1 ile birlikte

**T lenfoblastik lösemi/lenfoma**

#### 2.6.4.1. MORFOLOJİK SINIFLAMA

Lösemi tanı ve sınıflaması, May-Grünwald-Giemsa (MCG) gibi Romanowsky boyalı çevresel kan ve kemik iliği yaymalarının morfolojik incelemesiyle başlar. Sitolojik özellikler lenfoid veya miyeloid farklılaşmaya işaret edebilmekle birlikte, Auer cisimi dışında hücre tipine özgü bulgu yoktur. Lenfoblastlar tipik olarak görece küçük (küçük bir lenfositin yaklaşık iki katı) hücreler olup, genellikle dar açık mavi sitoplazma içinde yuvarlak, girinti veya çentikli nüve, ince-gevşek veya hafif kabalaşmış kromatin ve belirgin olmayan nükleolus ile karakterizedir. Bazı lenfoblastların sitoplazmasında vakuoller veya granüller olabilir. Bu granüller primer veya sekonder miyeloid granüllerden farklı, açık tondadır. Akut lösemide bu boyalar genellikle hücre tipini belirlemek için yeterli olmaz (28).

ALL'de blastların morfolojik ve sitokimyasal özellikleri B veya T hücre dizileri ile ilişkiyi belirlemeyi sağlamaz. Bu nedenle tarihsel olarak bu hastalığın morfolojik sınıflaması hücre büyüklüğü, sitoplazma genişliği, boyanma özellikleri, kromatin yapısı ve nüve şekli ile vakuol veya nükleolus varlığı gibi özelliklere dayandırılmıştır. Yetmişli yıllardan itibaren geliştirilerek uzun süre yaygın olarak kullanılan French-American-British (FAB) sınıflaması sadece bu sitomorfolojik ve sitokimyasal detaylara dayanıyordu (29). FAB sınıflamasında morfolojik özelliklere göre tanımlanan L1 ve L2, hiçbir immünofenotipik, genetik veya klinik korelasyon göstermemektedir. L3 tipi hücre ise büyük veya orta büyüklükte ve homojen görünümlü olup, ince kromatin, belirgin nükleoller ve orta-geniş bazofilik sitoplazma içinde bol vakuol ile tanımlanır (Tablo 2). Bu morfoloji ile tanımlanan hücreler, olgun B- hücreli lenfoblastlar olup, 8q14 kromozom bölgesinde yer alan MYC ile ilgili translokasyonlardan birini ve immünofenotipik olarak yüzey immün globulini taşır. Burkitt lenfoma ile aynı biyolojik ve klinik özellikleri gösteren L3 lösemi, çocuklarda, ALL'nin %2 sini oluşturmaktadır. FAB sınıflaması, L3 dışında lenfoblastların alt tiplerini ayırt etmedeki yetersizliği nedeni ile ALL' de tamamen terkedilmiş, yerini immünofenotipik ve genetik şemalar almıştır.

**Tablo 2. Akut lenfoblastik lösemilerde FAB sınıflaması (30)**

<b>Sitolojik özellikler</b>	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>
<b>Hücre büyüklüğü</b>	Küçük hücreler dominant	Büyük, heterojen	Büyük, homojen
<b>Çekirdek kromatini</b>	Homojen	Değişken, heterojen	İnce noktalar şeklinde homojen
<b>Çekirdeğin şekli</b>	Düzdün kenarlı, nadiren yarık veya çentiklenmiş	Düzensiz, sıklıkla yarık ve çentikli	Düzdün kenarlı, oval veya yuvarlak
<b>Çekirdekçik</b>	Belirgin değil, veya küçük ve göze çarpmayan	Bir veya daha çok, sıklıkla büyük	Belirgin, bir veya daha fazla
<b>Sitoplazma miktarı</b>	Çok az	Değişken, genellikle bol	Bol
<b>Sitoplazma bazofilisi</b>	Hafif veya orta, nadiren koyu	Değişken, bazılarında koyu	Çok koyu
<b>Sitoplazmada vakuol</b>	Değişken	Değişken	Genellikle belirgin

#### **2.6.4.2. İMMÜN FENOTİPİK SINIFLAMA**

Çocukluk lösemilerinin tanı ve tedavisi, lösemik hücre popülasyonunun hücre serisi ve matürasyon evresine dayanır. Lösemik blastlarda myeloperoksidaz, “Auer rods” veya monosit ilişkili esteraz varlığı birçok AML olgularını kolayca tespit etmeye yarar. Aksine akut lenfoblastik lösemilerin blastlarında tek bir morfolojik veya sitokimyasal özellik yoktur. Malign megakaryoblastlarda da tanımlayıcı sitolojik ve sitokimyasal özellikler olmadığından ALL ile karıştırılabilir (31).

İmmünofenotiplendirme, bir hücrenin yüzeyinde, sitoplazmasında veya nükleusunda bulunan spesifik antijenlerin araştırılması temeline dayanır. Akım sitometrisi (Flow cytometry), farklı floresan boyalara sahip monoklonal antikorlar ile hücre yüzey antijenlerinin belirlenmesinde kullanılan bir cihazdır. Lösemi örneklerinin immünofenotiplendirilmesi, özelliklerinin belirlenmesinde, tedaviyi takiben minimal rezidüel hastalığın gösterilmesi ve tedavi amacıyla periferik kandan CD34+ kök hücrelerinin izolasyonu ve tiplendirilmesinde kullanılmaktadır. Akut lösemi sınıflandırmasında seçilecek monoklonal antikorlar akut lösemilerin lenfoid veya miyeloid olup olmadığını belirleyebilecek monoklonal antikorlardan oluşur. Bunun ötesinde, lösemik hücreler lenfoid kökenli iseler panel, B lenfoid veya T lenfoid özelliğini belirleyecek antikorları içermelidir. Özgün panel, bifenotipik lösemilerin belirlenmesinde de kullanılmaktadır (33). Akut lösemi paneli Tablo 3'te belirtilmiştir.

**Tablo 3. Akut lösemi tanısı için antikor paneli (32).**

	B lenfoid	T lenfoid	Miyeloid	Klonal olmayan
Primer panel	CD79a*,CD22*, CD19, CD10	CD3*, CD2	Anti-MPO*, CD117,CD13	TdT**
Sekonder panel	Ig(kappa/lambda), sitoplazmik Ig, CD138	CD7	CD33,CD41, CD42,CD61, Glikoforin A	CD45, Hematopoetik olmayan işaretler
Opsiyonel işaretleyiciler	Antilizozim, CD14, CD15, CD36, HLA-DR (*: Sitoplazmik ekspresyon , **: Nükleer ekspresyon)			

**1) B-hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi:** B hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi'nin birkaç klasifikasyonu bulunmaktadır. Bunlardan SJCRH (St. Jude Children's Research Hospital) sınıflandırması, immünglobulin ekspresyon paternlerine dayanır (34).



Diğer sınıflandırmalar immünglobulin düzeni, CD10, CD179a veya CD179b ekspresyonunu da içerir (35).

**St. Jude Children's Research Hospital (SJCRH) sınıflaması:**

- Erken Öncül B ALL (pro-B)
- Öncül B ALL (pre-B)
- Transizyonel Öncül B ALL (Geç pre-B)
- Matur B ALL olarak belirlenmiştir.

**Erken Öncül B ALL:** Lösemik blastlar, immünglobulini olmayan normal kemik iliği B-prekürsör hücreleri gibidir. Bu lösemi tipinde Ig ağır zincir genlerinde düzenleme olsa da immünglobulinler tespit edilemez. Tüm erken öncül B ALL olgularının lösemik hücrelerinde CD19 ve HLA-DR ekspresyonu bulunur. Olguların tamamına yakınında yüzey CD22 ve/veya sitoplazmik CD22 ve sitoplazmik CD79a bulunur (36). CD10 ve TDT olguların %90'ından fazlasında ve CD34, %75'inden fazlasında eksprese edilir (34).  $\mu$  ağır zincirin üretimi ile beraber ortaya çıkan CD20 antijeni bazı olguların blastlarında çeşitli oranlarda bulunur. Erken öncül B ALL'lerin %10 kadarında CD45 tespit edilemez (37).

**Öncül B ALL:** Yeni tanı ALL'lerin %25 kadarı pre-B immünfenotipindedir. Erken pre-B ALL'de olduğu gibi bu tip CD19, CD22, CD79a ve HLA-DR eksprese eder. Lenfoblastlar, tespit edilebilir yüzey (sIg)  $\mu$  zincirleri olmaksızın sitoplazmik immünglobulin (cIg)  $\mu$  zincirleri bulundururlar (34). Bu lösemilerin %95'inden fazlasında CD10 ve TDT ekspresyonu 2/3'ünde CD34 ekspresyonu bulunur (34). Normal kemik iliği pre-B lenfositlerin aksine pre-B ALL blastlarında B hücre aktivasyonu ve proliferasyonunda görev alan yüzey CD20 ekspresyonu yok veya zayıftır. Prekürsör B ALL (Erken öncül ve öncül B ALL) çalışmaları CD20 ekspresyonunun kötü tedavi cevabı ile ilişkili olabileceğini gösterir (38).

**Transizyonel Öncül B ALL (Geç pre-B):** Pre-B ALL' ye benzer şekilde blastlar CD10, genellikle TDT ve bazen CD34 eksprese ederler (39). İmmünfloresan mikroskopu ile yapılan çalışmalarda çocukluk ALL olgularının %1'inden azında olduğu tespit edilmiştir.

**Matür B ALL:** Çocukluk ALL' lerin %2-4'ünü oluşturur. Genotip ve fenotip olarak iki farklı tipi vardır. En yaygın tipi L3 blast özelliği gösterir ve Erken Öncül ve Öncül ALL' lerde olduğu gibi CD19, CD22 ve sıklıkla CD10 eksprese eder, TDT ve CD34 eksprese etmez. Diğer B ALL' lerin aksine L3 B-ALL sürekli ve güçlü bir şekilde CD20 ve yaygın olarak CD23 eksprese eder. Tablo-4'te ALL immünojenik sınıflandırması bulunmaktadır (34).

**Tablo 4. Akut Lenfoblastik Löseminin immünojenik sınıflandırması (31, 34)**

		İmmünojenik yüzey işaretleyiciler												
		CD 2	CD 3	CD 5	CD 7	CD 8	CD 10	CD 19	CD 20	CD 22	CD 34	CD 79	HLA DR	TDT
<b>B-hücre ALL</b>	Pro-B						+	+		+	+	+	+	+
	Pre-B						+	+		+	+	+	+	+
	Geç pre-B						+	+		+	+	+		+
	Matur B						+	+	+	+		+		
<b>T-hücre ALL</b>	Pre-T	+	+	+	+									+
	Erken T	+	+	+	+									+
	Ortak T	+	+	+	+	±	±							+
	Geç T	+	+	+	+	+								+

**2) T hücre Akut Lenfoblastik Lösemi:** T ALL' de blastlar, yüzey CD7 ve yüzey ve/veya hücre içi CD3 eksprese eder (34). %90'dan fazla olguda lösemik blastlar CD2, CD5 ve TDT eksprese ederler. HLA-DR antijeni tüm öncül B ALL'de ve AML'lerin çoğunda yaygın olmasına rağmen T-ALL' de nadiren eksprese edilir. CD45, erken öncül B ALL ve öncül B ALL'dekine göre daha güçlü eksprese edilir. T ALL' de birkaç sınıflandırma önerilmiştir. Bunlardan SJCRH sınıflandırması T hücre ilişkili antijen ekspresyonuna dayanır.

Kimi çalışmalar akut lösemili hastaların %5-15' inin morfolojik, sitokimyasal, immünofenotipik veya genetik bulgularının, birden çok hematopoetik diziyi ilgilendirdiğini göstermiştir. AML hastalarının %10-25 kadarında myeloid blastların üzerinde lenfoid antijen ekspresyonu, ALL'li hastaların %4-25'inde lenfoid blastların yüzeyinde en az bir myeloid antijen varlığı saptanmıştır (40).

#### **2.6.4.3. SİTOGENETİK VE MOLEKÜLER SINIFLAMA**

Sitogenetik analizdeki teknik gelişmelerin, ALL' nin biyolojisini anlamada ve yeni tedavi yaklaşımları geliştirmede büyük katkısı olmuştur. Kromozomal bantlama ve standart FISH çalışmaları ile yeni geliştirilen spektral karyotyping (SKY) ve comparative genomic hybridization (CGH) gibi metodlar kombine edildiğinde ALL' deki sitogenetik aberasyonlar %100 saptanabilmektedir.

ALL' de saptanan sitogenetik aberasyonlar, kromozomal sayı (ploidi) ve/veya yapısal yeni düzenlemeleri içermektedir (30). Sitogenetik aberasyonlar ile prognoz arasındaki ilişki Tablo 6' da belirtilmiştir.

#### **1) SAYISAL KROMOZOMAL ANOMALİLER**

Ploidi, metafazdaki tipik kromozom sayısını ölçen klasik bir direkt yöntemle veya DNA içeriğini ölçen indirekt alternatif bir yöntemle de belirlenebilir. Akım sitometrisi tarafından ölçülen DNA içeriği, DNA indeksi (DI) olarak rapor edilmektedir. DI, tanı anındaki normal bir hücredeki floresan miktarı ile kemik iliğindeki blastların

floresan içeriği (G0/G1) arasındaki orandır. Normal diploid ve psödodiploid (sitogenetik olarak anormal ancak normal DNA içeriğine sahip) hücreler 1.0 DNA indeksine sahiptir. Hiperdiploidi, kromozom sayısının  $> 46$  ve DI' nin  $>1.0$  olmasıdır. Hipodiploidi ise kromozom sayısının  $< 46$  ve DI' nin  $<1.0$  olmasıdır.

ALL hastalarının çoğu diploid veya hiperdiploid yapıya sahiptir (Tablo 5). Ploidi, B-prekürsör ALL için prognostik öneme sahiptir. Hiperdiploidi iyi prognozu, yapısal kromozom anomalisini de içeren psödodiploidi ise daha zayıf bir prognozu ifade etmektedir.

**Tablo 5. Çocukluk çağı ALL'de görülen ploidi gruplarının sıklığı (30)**

<b>PLOİDİ</b>	<b>SIKLIK (%)</b>
Near-haploid	$<1.0$
Hipodiploidi, 30-40	$<1.0$
Hipodiploidi, 41-45	6.0
Psödodiploidi	41.5
Hiperdiploidi, 47-50	15.5
Hiperdiploidi, $>50$	27.0
Near-triploid	$<1.0$
Near-tetraploidi	1.0
Normal	8.0

## **HİPERDİPLOİDİ**

Blastların  $> 46$  ve genellikle  $< 67$  kromozom içerdiği bu lösemide tipik olarak translokasyonlar veya diğer yapısal değişiklikler görülmez. Belirli kromozomların fazlalığı, yani trisomiler ile tanımlanmasının da tartışıldığı belirtilmektedir. En sık fazla kopyası olan kromozomlar 21, X, 14 ve 4'tür. Çocuklarda B-ALL'nin %25' ini

oluşturmaktadır. Süt çocuklarında görülmez, büyük çocuklarda yaşla sıklığı azalır. Blastlar CD19+, CD10+, sıklıkla CD34+ ve CD45-'tir (9). Kromozom sayısının 48-53 arasında olduğu düşük hiperdiploidi, kromozom sayısının 53-58 arasında olduğu hiperdiploidi grubundan daha kötü prognoza sahiptir (116). En iyi prognoza sahip yüksek hiperdiploidi, 56-67 arasındaki kromozom sayısına sahiptir (117). Daha az sıklıkta görülen near -triploid veya near- tetraploid karyotipler (66-73 ve 82-84 arasındaki kromozomlar) ise kötü prognoz ile ilişkilidir. Near-tetraploidi genellikle T-hücreli ALL ile ilişkilidir (118).

Hiperdiploidi içeren hastalar aynı zamanda uygun yaş, düşük lökosit sayısı, B prekürsör fenotipi gibi diğer iyi prognostik kriterleri de içermektedir. Standart karyotipleme, FISH veya akım sitometrik DNA indeksi ile saptanabilir. Prognoz iyi, şifa > %90' dir. En iyi prognoz 4, 10 ve 17 trisomilerinin birlikteliğinde görülür (9,30).

## **HİPODİPLOİDİ**

Lenfoblastlarda < 46 kromozom bulunur. Bu lösemiye klinik bir antite olarak <45, hatta <44 kromozomun daha iyi tanımlayabileceği de belirtilmektedir. Hipodiploidi kötü prognozu belirler, near-haploid (24-28 arasındaki kromozom sayısı) ise ploidi içerisinde en kötü prognoza sahiptir. Yapısal anomaliler nadirdir. Endoreduplikasyon nedeni ile standart karyotiplemede bu olguların atlanabileceği belirtilmektedir. Akım sitometrisinde DNA indeksi ile küçük bir popülasyon bile gösterilebilir. FISH ile bazı hücreler hipodiploid bulunabilir. Klinik, morfolojik ve sitokimyasal bulgular özellik göstermez. Blastlar CD19 ve CD10 pozitifdir. Prognoz kromozom sayısı ne kadar düşükse o kadar kötüdür (9, 115).

## **2) YAPISAL KROMOZOMAL ANOMALİLER**

ALL' de yapısal kromozomal aberasyonlar da sıklıkla görülmektedir. Yapısal aberasyonlar içine en sık 'translokasyonlar' saptanmaktadır. Giemsa bantlama tekniği

ile %40 oranında saptanan translokasyonların FISH, CGH ve SKY gibi daha duyarlı metodlarla gösterilme oranı artmaktadır. Birçok tekrarlayan translokasyonun, ALL' de hücrel fonksiyonu ve regülasyonu değiştirdiği ve lökomogenezde önemli bir role sahip olduğu düşünölmektedir.

### **TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) füzyon geni; t(12;21)(p13;q22)**

**t(12;21)(p13;q22) translokasyonu**, çocukluk dönemindeki ALL'de özgün kromozomal translokasyon olarak ilk kez Romano ve ark. tarafından tanımlanmıştır (110). 12p13'de yeralan ETV6 geni (eski adı TEL) ve 21q22'de bulunan RUNX1 geni (eski adı AML1) tarafından oluşturulur (111). B-prekürsor ALL'de %9-25 oranında en sık görölen translokasyondur (44, 45). ALL' li erişkin hastaların ise sadece %3- 4'ünde gözlenir (112). G-bantlama ile tespiti güçtür. Tanıda daha çok RT-PCR ("revers transkriptaz" polimeraz zincir reaksiyonu) veya FISH gibi metodlardan yararlanılır (44, 45). İnfantlarda görölmez ve büyük çocuklarda yaşla sıklığı azalır. Çoğunlukla B-preküsör ALL'de görölür. Blastlar CD19+, CD10+ ve CD34+ olur. Miyeloid antijenler, özellikle CD13+ olabilir, ancak mikst fenotip ALL anlamına gelmez. Bu translokasyon lösemi gelişiminde erken bir lezyon olarak kabul edilmektedir çünkü uzun yıllar sonra lösemi gelişen çocukların neonatal kan örneklerinde gösterilmiştir. t(12;21)'in oluşturduğu füzyon geninde, normalde AML1'in DNA'ya bağlanmasıyla başlayıp, histonların asetilasyonu ile süren transkripsiyonel aktivite, TEL/AML1'in aynı noktadan DNA'ya bağlanması ve DNA'ya bağlı histonları deasetillemesiyle inhibe olmaktadır. Böylece AML1 aracılı transkripsiyonel süreç durmakta ve hematopoetik hücrenin kendi kendine yenilenme ve diferansiyasyon kapasitesi değişmektedir. Bu lösemide prognoz oldukça iyi, şifa %90 üzerinde ve nüksler geçtir. Yaş ve lökosit sayısı prognozu olumsuz etkileyebilir (9).

TEL/AML1 füzyonun tek başına pozitifliği iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Ancak polizomi 21 ya da amplifikasyon 21' in ve TEL/AML1 ilişkili delesyon ve duplikasyonların prognostik etkileri konusunda literatür verileri kısıtlı sayıdadır (57, 61, 62, 63, 64).

Literatürde AML1 geninde amplifikasyon, ilk olarak Niini ve ark. tarafından 2000 yılında tanımlanmıştır (58). Sıklığı %26-33 oranlarında saptanmaktadır (60). Bazı çalışmalar AML1 gen düzensizliğinin ALL' li hastalarda prognoz üzerine olan etkisi ile ilgili bir fikir belirtmese de bazı çalışmalarda kötü prognoz olarak belirtilmektedir (57, 61, 62, 63). AML1 proteinin birçok neoplastik hematopoetik hastalık üzerinde anahtar lökomogenetik bir role sahip olduğu kesin olarak bilinmektedir ancak AML1 amplifikasyonundaki spesifik rolü henüz tam olarak anlaşılmamıştır (68).

Literatürde TEL/AML1 füzyon oranı, AML1 amplifikasyonu olanlarda olmayanlara göre daha az oranda tanımlanmıştır. AML1 amplifikasyonu olanlarda füzyon sıklığı %18 iken, ekstra kopya taşımayanlarda %33 oranında tespit edilmiştir.

ETV6/RUNX1 gen düzenlemesine sekonder değişikliklerin hastaların prognozunda etkili olmaması, t(12;21)' in prognostik değerinin değişken olmadığı ve ETV6/RUNX1 gen düzenlemesinin iyi prognozu göstermede bağımsız bir gösterge olduğu görüşünü desteklemektedir (64).

### **BCR/ABL füzyon geni; t(9;22)(q34;q11)**

Çocuklarda t(9;22) translokasyonunu taşıyan Ph1+ ALL %3-5 oranında gözlenirken, erişkin ALL hastalarının ise %15-20' sini oluşturmaktadır (107). Philadelphia kromozomu (Ph1), kromozom 9 ve 22'nin uzun kolları arasındaki resiprokal translokasyon sonucu, kısaltılmış görünen 22. kromozom için kullanılan bir tanımlamadır (108). İlk olarak KML hastalarında tarif edilmiş, çok geçmeden ALL hastalarında da varlığı ortaya konulmuştur (109). t(9;22) translokasyonu, aktif sitoplazmik tirozinkinaz olan BCR/ABL füzyon proteinini oluşturmaktadır. BCR genindeki kırılma noktalarına göre füzyon proteininin boyutu 190 kd'dan 230 kd' na kadar değişkenlik gösterir. Her bir füzyon geni, ABL tirozin kinazın aynı bölümünü kodlar ancak N-terminal bölgede kalan bcr bölümünün uzunluğu farklıdır. 210 kd BCR/ABL proteini KML hastalarının çoğunluğunda, Ph1+ ALL hastalarının ise %30'unda eksprese olur. Çocuklarda çoğu Ph1+ALL'de p190 kd BCR/ABL füzyon

proteini oluşur (107). Çoğu hastada yaş ve lökosit sayısı açısından yüksek risk kriterleri bulunmakla birlikte, bunlar dışında klinik bulgular özellik göstermez. İmmüfenotip, tipik olarak prekürsör-B-hücre ALL'dir ancak T hücreli ALL'de de görülebilmektedir. t(9;22) pozitif ALL'de tipik olarak CD10, CD19 ve TdT pozitifliği mevcuttur. CD3 ve CD33 ekspresyon oranı yüksektir, ancak CD117 tipik olarak bulunmaz. Öncül-T fenotipi ise nadirdir. Bu hastalar ALL olguları arasında prognozu en kötü olanlardır; ancak yaş, lökosit sayısı ve özellikle de tedaviye yanıt ile daha iyi prognoz gösterenler ayırt edilebilir. Yüksek doz kemoterapi ile birlikte imatinib tedavisi olaysız sağkalım oranını arttırmıştır (9).

### **Kromozom band 11q23'deki MLL gen düzenlemeleri**

İnfanltardaki ALL vakalarının %80 kadarını, daha büyük çocuklardaki ALL vakalarının %3 kadarını ve topoizomeraz II inhibitörünü ilgilendiren sekonder AML vakalarının %85' ini etkiler (79, 95). Bu gruptaki lösemilerde 11q23 bandındaki MLL geni ile çeşitli farklı genler arasında bir translokasyon bulunur. En sık 4q21'de olan AF4 ile füzyon görülür. Diğerleri 19p13'teki ENL ve 9p22'deki AF9 iledir. MLL-ENL füzyon geni T-ALL'de, MLL-AF9 füzyon geni miyeloid lösemide sıklıkla görülür. Sadece 11q23 delesyonu olan olgular dahil değildir. Prenatal dönemde belirebilen bu translokasyon ile lösemi gelişimi arasındaki süre kısadır. Hatta daha sonra lösemi gelişen bazı çocukların yenidoğan dönemi kan örneklerinde bu translokasyonlar gösterilmiştir. Hastalık, tipik olarak küçük süt çocuklarında görülür, 1 yaşın altındaki en sık lösemidir. Lökosit sayıları sıklıkla 100.000 /mm<sup>3</sup>'nin üzerindedir ve santral sinir sistemi tutulumu sıklıkla görülür. Lenfoblastların beraberinde immüfenotipik olarak gösterilen monoblastik bir hücre popülasyonu olabilen bazı olgular B-miyeloid mikst lösemi olarak tanımlanmalıdır. MLL translokasyonu, özellikle de t(4;11) taşıyan ALL'de hücreler genellikle CD19+, CD10-, CD24- olup, pro-B ile uyumludur. Özellikle t(4;11) translokasyonu yoğun tedaviye rağmen %20' den az sağkalım ile çok kötü prognoz ile ilişkilidir (9).



### **E2A-PBX1füzyon geni; t(1;19)(q23;p13.3)**

Çocuklarda görece sık olan bu lösemi B-ALL'nin %6'sını oluşturur. Klinik, morfolojik ve sitokimyasal bulgular özellik göstermez. Blastlar CD19+, CD10+, sitoplazmik  $\mu$ + olan pre-B-ALL fenotipindedir. CD34-, kuvvetli CD9+ olmaları tipiktir. Bazen 1.kromozomun kaybı dengesiz translokasyona neden olmaktadır. t(1;19) iki formda oluşmaktadır; bir resiprokal translokasyon t(1;19)(q23;p13.3) veya daha sıklıkla normal kromozomlar olan 1 ve 19. kromozomlar ile 19.kromozomun yeniden düzenlenmesinden oluşan der(19)t(1;19)(q23;p13.3) dir. Tanı anında yüksek lökosit sayısı ile ilişkilidir. Önceleri olumsuz olduğu düşünülen prognoz, modern yoğun tedavi ile özellik göstermemektedir (9, 114).

### **t(5;14)(q31;q32); IL3-IGH pozitif B-ALL**

ALL' nin %1'den azını oluşturan bu translokasyonu taşıyan hastalarda değişik derecede eozinofili görülür. Kemik iliğinde blast sayısı düşük bile olsa bu tanı immüfenotipik ve genetik bulgularla konabilmektedir. Hastalık asemptomatik bir eozinofili ile başlayabilir ve periferik kanda blast bulunmayabilir. Blastların morfolojisi özellik göstermez. Blastlar CD19+CD10+ olup, eozinofilili bir hastada bu fenotipi gösteren küçük bir popülasyon bile bu tanıyı akla getirmelidir. Translokasyon nedeni ile artan IL3 gen ekspresyonu eozinofiliye neden olmaktadır. Tanı standart karyotipleme ve uygun prob varsa FISH ile konabilir. Prognozu hakkında bir özellik bilinmemektedir (9).

**Tablo 6. Çocukluk B- prekürsör ALL’inde sitogenetik risk grupları (82)**

<b>SİTOGENETİK RİSK GRUPLARI</b>	
<b>İYİ RİSK</b>	Yüksek hiperdiploidi (51-65 kromozom)
	TEL/AML1(ETV6/RUNX1)
<b>ORTA RİSK</b>	t(1;19)(q23;p13)
	del(6q)
	Anormal 9p
	Anormal 11q
	Normal karyotip
<b>KÖTÜ RİSK</b>	t(9;22)(q34;q11.2)
	iAMP21 (amplifasyon 21)
	<i>MLL</i> translokasyonları
	Near haploidi (<30 kromozom)
	Düşük hipodiploidi (30–39 kromozom)
	t(17;19)(q23;p13)
	Anormal 17p
	del 13q

### 2.6.5. ALL' DE KLİNİK VE HEMATOLOJİK ÖZELLİKLER

Akut lenfoblastik lösemide klinik bulgular kemik iliğinin ve ekstramedüller organların infiltrasyonuna bağlıdır (41). Lenfoblast infiltrasyonu sonucu ortaya çıkan kemik iliği yetersizliği, anemi, kanama ve enfeksiyonlara neden olur. Organ infiltrasyonları ise büyüme ve fonksiyon bozukluğu ile kendini gösterir. Hastalığın başlangıç bulguları hastadan hastaya değişir. Olguların yaklaşık üçte ikisinde belirti ve bulguların süresi 4 haftadan kısarken bazen de aylar süren sinsi bir gidiş görülebilir. En sık bulgu ateştir ve lösemi ya da enfeksiyona bağlı olabilir. Halsizlik, yorgunluk ve solukluk anemiye bağlı belirtilerdir. Kemik ve eklem ağrıları, ayağı üzerine basamama, topallama gibi belirtiler periost veya eklem infiltrasyonu ve kemik iliği alanının genişlemesiyle açıklanır, hata kemik ağrılarının belirgin olduğu hastalarda kan sayımının sıklıkla normal olduğu ve bu nedenle tanının gecikebileceği bildirilmiştir. Birçok hastada başta peteşiler olmak üzere kanama bulguları görülür. Sıklık sırasında iştahsızlık ve karın ağrısı bunları izler. Daha nadir bulgu ve belirtiler arasında baş ağrısı, kusma, solunum sıkıntısı, oligüri ve anüri sayılabilir. Nadiren, ALL erken dönemde belirti vermez ve rutin muayene sırasında saptanır (9).

Fizik muayenede ciltte solukluk, enfeksiyon bulguları, peteşi ve ekimozlar ile kemik ve eklem hassasiyeti dikkati çekebilir. Karaciğer, dalak ve lenf düğümleri infiltrasyon nedeni ile olguların yarısından fazlasında büyümüştür.

Lökositoz ( $>10.000/\text{mm}^3$ ), ALL'li hastaların hemen hemen yarısında saptanmaktadır. %20 hastanın ise lökosit sayısı  $>50.000/\text{mm}^3$ ' dir (101). Anemi ( $\text{Hb}<10 \text{ gr/dl}$ ), yaklaşık %80 hastada tanı anında mevcuttur. Anemi şiddetli olsa dahi eritrositler genellikle normositik, normokromdur ve retikülosit sayısı düşüktür. Trombositopeni ( $<100.000/\text{mm}^3$ ), hastaların yaklaşık %75'inde vardır (30).

**Tablo 7. ALL' de klinik ve laboratuvar özellikler (30)**

<b>Klinik ve laboratuvar özellikler</b>	<b>Hastaların yüzdesi</b>
<b>Semptom ve fizik muayene bulguları</b>	
Ateş	61
Kanama (peteşi, purpura vb.)	48
Kemik ağrısı	23
Lenfadenopati	50
Splenomegali	63
Hepatosplenomegali	68
<b>Laboratuvar özellikleri</b>	
<u>Lökosit sayısı (mm<sup>3</sup>)</u>	
<10.000	53
10.000 - 49.000	30
>50.000	17
<u>Hemoglobin (g/dL)</u>	
<7.0	43
7.0 -11.0	45
>11	12
<u>Trombosit sayısı (mm<sup>3</sup>)</u>	
<20.000	28
20.000 - 99.000	47
>100.000	25

## 2.6.6. ALL'DE PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Tanı anındaki çok sayıda klinik ve laboratuvar özelliği, ALL tedavisi alan hastaların remisyon süresini tahmin etmede prognostik bir öneme sahiptir. Teknolojideki özellikle moleküler genetik alanındaki ilerlemeler bazı risk faktörlerinin daha kesin tanımlanmasına yol açmıştır (Tablo 6 ve Tablo 8).

**Lökosit sayısı:** Teşhisteki ilk lökosit sayısı prognoz için önemli bir prognostik faktördür. 50.000/mm<sup>3</sup>'den daha fazla ilk lökosit sayısına sahip hastalar (ALL'de yaklaşık %20'sinde) kötü prognoza sahiptir. Yüksek lökosit sayısının prognoz üzerindeki biyolojik temeli bilinmemektedir. Ancak bazı diğer risk faktörleri ile birlikteliği gösterilmiştir. T-hücreli ALL tanılı hastalar ve t(4;11) translokasyonu taşıyan infantlar sıklıkla tanı anında yüksek lökosit sayısına sahiptirler (94, 97).

**Yaş:** Tanı anındaki yaşın prognostik önemi vardır: 2 yaşın altındaki ve 10 yaşın üzerindeki hastalar daha kötü prognoza sahiptir (92). Çocuklar arasında 12 aydan küçük infantlar en kötü prognoza sahiptir. t(4;11) translokasyonunda olduğu gibi 11q23 kromozom bandındaki aberasyonlar bu yaş grubunda özellikle yaygındır ve bu ilişki kısmen kötü prognozdan sorumlu tutulabilir. Ayrıca tanı anındaki yüksek lökosit sayısı, masif organomegali, trombositopeni, tanı anında SSS tutulumu, indüksiyon tedavisinin 14.gününde periferik blastların hala mevcut olması gibi kötü prognostik özelliklere sahip olma oranları yüksektir (98). ALL tanısı almış adolesanlarda da prognozun iyi olmamasında, bu yaş grubunun büyük çoğunluğunun T-hücreli immünofenotip özelliği göstermesinin yanı sıra bilinen diğer birçok risk faktörünün de etkisi vardır (93).

**Cinsiyet:** Cinsiyetin prognostik önemi birçok çalışmada yer almakta olup modern kemoterapi protokollerinde dikkate alınmaktadır. Kızlar erkeklerden daha iyi bir prognoza sahiptir. Bu durum erkeklerde testiküler relaps riskinin olması, T-hücreli ALL insidansının yüksek olması ve DNA indeksinin daha düşük (kızlardaki %25.1 iken erkeklerde %17.8) olması gibi nedenlere bağlansa da başka genetik, metabolik ve endokrin etkilerin de bu farklılıkta katkısı olduğu düşünülmektedir (99, 100).

**İmmüfenotip:** İmmüfenotipin de prognoz üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Olgun B hücre veya T hücre immüfenotiplerine sahip ALL hastaları, B-prekürsör ALL’li hastalardan daha kötü prognoza sahiptir (101). CD10 negatifliği prognostik bir değer taşımaktadır. İmmüfenotip yeni sınıflandırmada da önemini korumaktadır. Gelecekte immünspezifik terapiler geliştirildikçe immüfenotipin önemi artacaktır (30).

**İrk:** Etnik kökenin prognoz üzerindeki etkisi günümüzde tartışmalı bir konudur. Her ne kadar eski çalışmalar siyah ırkın beyaz ırka göre daha kötü prognoza sahip olduğunu gösterse de, 1980-1990 yılları arasında yapılan diğer çalışmalar tedavi rejimlerinin diğer risk faktörlerine göre dikkatlice seçildiğinde beyaz ve siyah ırk arasında prognozda anlamlı bir fark olmadığını belirtmektedir. Aslında, beyaz ve siyah ırk arasındaki farklılık sosyoekonomik faktörlere bağlanmıştır. Yeni yapılan bazı çalışmalar siyah ırkın beyaz ırktan daha kötü prognoza sahip olduğunu göstermiştir. Bu farklılıklar çalışmalar arasında değişmektedir ve birçok prognostik faktör gibi uygulanan tedavi rejimlerine bağlıdır (30). ALL tanılı 4952 çocuk hasta ile yapılan bir çalışmada siyah, Hispanik ve kızılderi hastaların beyaz ve Asya kökenli olanlardan daha kötü prognoza sahip oldukları belirtilmektedir (102).

**Sitogenetik faktörler:** Gelişmiş moleküler tanı yöntemleri ile birlikte sitogenetik faktörlerin prognoz üzerinde çok önemli bir role sahip olduğu kanıtlanmıştır. Sitogenetik sınıflamada ayrıntılı olarak bahsedildiği gibi kromozomal sayı ve prognoz arasındaki ilişki iyi karakterize edilmiştir. Sitogenetik ile tedaviye cevap arasındaki ilginç bir ilişki metotreksat (mtx) metabolizmasını içermektedir. Hiperdiploid lenfoblastlar, daha yüksek bazal apoptotik aktiviteye sahip mtx poliglutamatlarını içermektedir. Normal ve hipodiploid hücrelerde apoptotik aktivite daha düşüktür (30). Hiperdiploidili hastalar (>50 kromozom veya DNA indeksi>1.16) iyi prognoza sahiptir. Üstelik, trizomi 4, 10 ve 17, B prekürsör ALL’sinde iyi prognozu gösterir (113). Aksine hipodiploidi (kromozom sayısı: 35-45) ve psödodiploidinin (kromozom sayısı 46 ve genellikle yapısal değişiklikler mevcut) prognozu daha kötüdür. Yine near-tetraploidi (kromozom sayısı: 82-94) ise kötü prognozla ilişkilidir (115, 118).

Kromozom yapılarındaki değişiklikler aynı zamanda önemli prognostik bilgiyi aktarır. Çok sayıda kromozomal translokasyonlar; B hücre ALL ile ilişkili Ph kromozomu pozitif ALL’de bulunan t(9;22) BCR-ABL gen yeni düzenlemesi, sıklıkla infantlarda ortaya çıkan t(4;11) MLL translokasyonu gibi düzensizlikler, yüksek oranda indüksiyon başarısızlığı ve erken relaps ile ilişkilidir. Aksine TEL-AML1 yeniden düzenlenmesine sebep olan t(12;21) translokasyonu B prekürsör ALL vakalarının yaklaşık %25’inde mevcuttur ve iyi prognozla birlikte (47, 48, 49, 60).

**Tedaviye cevap:** Tedaviye verilen cevabın hızı prognozda önemli bir belirleyicidir. İndüksiyon periyodunun 4-6 haftaları içerisinde tam remisyona girmeyi başaramayan hastalar belirgin bir şekilde remisyon süresini ve hayatta kalma sürelerini azaltmışlardır (103). Birçok çalışma indüksiyon tedavisi sırasında blastların periferik kandan ve kemik iliğinden temizlenme hızının önemini göstermiştir (104).

**Tablo 8. Çocukluk çağı ALL’inde prognostik faktörler (106)**

RİSK FAKTÖRÜ	İYİ PROGNOZ	KÖTÜ PROGNOZ
Yaş	1-9.99 yas	≥10 yas
Beyaz küre sayısı	<50.000/mm <sup>3</sup>	≥50.000/mm <sup>3</sup>
İmmüfenotip	B-prekürsör	T-hücre
DNA indeksi	>1.16	≤1.16
Sitogenetik	Hiperdiploidi	Hipodiploidi
	Trizomi 4, 10, 7	-
	t(12;21)	t(9;22)
		t(4;11)
MSS tutulumu	MSS 1 (blast yok)	MSS 2 (1-5 beyaz küre/ mm <sup>3</sup> ve blast) MSS 3 (≥5 beyaz küre/ mm <sup>3</sup> ve blast/MSS tutulumu)
Kemik iliği (7. ve 14.günlerde tedaviye cevap)	+	-
Periferik blast sayısı(8.gün, ≥1000/mm <sup>3</sup> )	-	+

Yukarıda bahsedilen prognostik faktörlerin (tanı yaşı, geliş beyaz küre sayısı, immüfenotip, sitogenetik, tedaviye erken cevap) kullanımı ile B-ALL tanılı hastalar risk sınıflamasına tabi tutulmuştur. Geçmiş risk sınıflamasında yer alan cinsiyet, FAB morfoloji sınıflaması, organomegali ve lenfadenopati, hemoglobin düzeyi, ırk, trombosit düzeyi gibi parametreler ise önemini yitirmiştir.

ALL' li olgular genellikle öncelikle immüfenotipe bağlı olarak kategorize edilirler. Erken B-hücreli ALL en sık görülen immüfenotiptir ve buna göre yapılan risk sınıflamasında 4 risk grubu tanımlanmaktadır (106):

**1) Düşük risk:** Uygun yaş (1-10 yaş), düşük beyaz küre sayısı ( $<50.000/mm^3$ ) ve uygun sitogenetik değişiklikler; hiperdiploidi, trizomi 4, 10 ve 17 veya ETV6/RUNX1 (TEL/AML1) füzyon proteini en iyi prognoza sahiptirler. 5 yıllık olaysız sağkalım oranı yaklaşık %90' dır.

**2) Standart risk:** Uygun yaş ve düşük beyaz küre sayısı, ancak kötü prognostik etkili sitogenetik değişiklik yok

**3) Yüksek risk:** 10 yaşın üzerindeki hastalar veya kötü prognostik etkili sitogenetik değişikliğe sahip olanlar

**4) Çok yüksek risk:** Düşük hipodiploidi, t(9;22) translokasyonu; BCR/ABL füzyon pozitifliği, t(4;11) translokasyonu; MLL yeni yapılanması, amplifikasyon 21 ve/veya indüksiyon tedavisinin sonunda remisyona girmeyi başaramayan hastalar bu grupta yer almaktadır. >13 yaş olanlar da yine bu kategoride yer alır. Önceleri çok kötü prognoza sahip olan bu grup halen agresif kemoterapi rejimleri ile daha başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir.

Risk gruplarını baz alarak yapılan 5 yıllık olaysız sağkalım oranları sırasıyla şöyle verilmiştir:

- düşük risk:  $>95$
- standart risk: %90-95
- yüksek risk: %88-90
- çok yüksek risk :  $<80$



## 2.6.7. ALL' DE TEDAVİ

Akut lenfoblastik lösemnin tedavisi remisyon indüksiyonu fazı, konsolidasyon fazı ve rezidüel hastalığı yok etmek için idame tedavisinden oluşur. Tedavi ayrıca SSS'de sekestre olmuş lösemik hücelere bağı gelişebilecek relapsı önlemek için klinik seyrin erken aşamalarında, genellikle konsolidasyondan hemen sonra SSS'ne yönelik tedaviler verilmektedir. Hastaların risk gruplarına uygun kemoterapi protokolleri ile tedavi edilmeleri, SSS profilaksisi ve idame tedavileri ile relapsların gelişmesi azaltılmıştır (105).

### **Remisyon indüksiyonu fazı**

Remisyon indüksiyonu tedavisinin amacı başlangıçtaki lösemik hücre yükünün % 99'undan fazlasını eradike etmektir ve normal hematopoez ve sağlıklı performans durumuna dönüşü sağlamaktır. 4-8 hafta arasında sürmektedir. Bu faz glukokortikoid, vinkristin ve en azından üçüncü bir ilacı içerir. Üç ilaçlı indüksiyon rejimi, çoğu standart risk hasta için yeterli iken yüksek riskli ALL'li çocuklar ve tüm erişkin vakalar remisyon indüksiyonu için dört ilaçlı rejimlerle tedavi edilirler.

### **Konsolidasyon (intensifikasyon) fazı**

Normal hematopoez ve vücut fonksiyonunu kazanmayla birlikte intensifikasyon tedavisi genellikle ilaç dirençli rezidüel lösemi hücrelerini eradike etmek ve böylelikle relaps riskini azaltmak için kullanılır. Sıklıkla kullanılan stratejiler yüksek doz metotreksat ve merkaptopurini içerir, reindüksiyon tedavisi başlangıçta kullanılan ilaçlarla yapılır, 20-30 hafta süre ile vinkristin, kortikosteroid ve yüksek doz asparaginazın sık tekrarlayan pulse tedavileri uygulanır. Güçlendirilmiş rejim ise reindüksiyon tedavisi ve miyelosupresyon dönemlerinde vinkristin, asparaginaz ve intravenöz metotreksat içerir.

### **İdame fazı**

İdame tedavisinde genel prensip, risk gruplarına uygun olacak şekilde relapsı önlemek için tedaviye devam etmektir. Her ne kadar çocukluk çağı vakalarının 2/3'si başarılı bir şekilde tedavinin yalnızca on iki ayı ile kür elde edebilirken, bu süre prospektif olarak kesin bir biçimde tanımlanamamıştır (71). Bundan dolayı tüm hastalar 2,5-3 yıl tedavi alırlar. Günlük merkaptopürin ve her hafta metotreksatü, idame rejimlerinin bel kemiğini oluşturur.

### 3. HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışmada, BCR/ABL ve TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) gen düzensizlikleri ile çocukluk çağı akut lenfoblastik löseminin klinik ve hematolojik ilişkisi ve bu gen düzensizliklerinin prognoza etkisi retrospektif olarak incelenmiştir. Bu temelde Ocak 2005 ve Kasım 2013 tarihleri arasındaki sürede, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji Bilim Dalında ALL tanısı alan ve genetik analiz için Pediatrik Genetik Tanı Laboratuvarlarında kemik iliği ve/veya periferik kan örnekleri (blast invazyonu % 20'nin üstünde olan) çalışılan 115 hasta incelenmiştir. Bu tarihler arasında ALL tanısı alan toplam 194 hasta mevcut idi. Ancak hastaların çalışmaya alınmasında kriter olarak BCR/ABL ve TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) ilişkili sitogenetik ve FISH yöntemleri ile incelenmiş olmaları alındığından 115 hasta incelenmiştir. Ayrıca hastaların tanı anındaki yaşları, cinsiyetleri, şikayetleri, fizik muayene bulguları, beyaz küre sayıları, özgün sistem tutulumları, ALL T- ve B- alt tiplene (akım sitometri sonucuna göre) ve tedaviye alınan cevapları incelenmiştir.

Öncelikle bir 'hasta anket formu' oluşturularak, hastanın yaşı, cinsiyeti, geliş şikayetleri, fizik muayene bulguları, özgün organ tutulumu olup olmadığı, başvuru anındaki kan sayımı değerleri, immünofenotiplendirme sonuçları, sitogenetik ve FISH sonuçları kaydedilmiştir.

Hastaların bilgilerine, arşiv dosyaları, Çocuk Hematoloji Bölümü'ne ait ALL dosyaları ve Genetik Bölümü'ne ait ALL hasta dosyalarının hepsi ayrı ayrı incelenerek ve nucleus bilgi sisteminden faydalanarak ulaşılmıştır.

Genetik analizlerde, özgün bir kromozomal anomalisi olan tüm sitogenetik analiz sonuçları metafaz sayısından bağımsız olarak çalışmaya dahil edilmiştir (sadece 2 metafazda Philadelphia kromozomu görülmesi gibi). Sitogenetik analiz sonucu normal olan hastalarda ise optimalizasyonu sağlamak için  $\geq 7$  metafaz sayısı olanlar

değerlendirilmiştir. FISH analiz sonuçları, yine metafaz sayısından bağımsız olarak tüm 115 hasta için değerlendirmeye dahil edilmiştir.

Hastaların risk sınıflandırması Çocuk Hematoloji Bölümü tarafından değerlendirildiği şekli ile, 'yüksek risk' ve 'standart risk' olarak tanımlanmıştır. Bu tanımlamada, literatürde sözü geçen düşük risk grubu standart risk grubunda, çok yüksek risk grubu ise yüksek risk grubunda değerlendirilmektedir. 'Standart risk' kriteri olarak 2-10 yaş arasındaki hastalar, beyaz küre sayısı <50.000 olanlar, tedaviye erken cevap veren hastalar esas alınmıştır. 'Yüksek risk' kriteri olarak ise 0-2 yaş arasındaki ve 10 yaşından büyük hastalar veya beyaz küre sayısı  $\geq 50.000/\text{mm}^3$  olan, tedaviye geç cevap veren (8.gün periferik kanda  $\geq 1000/\text{mm}^3$  blast ve 15.gün kemik iliğinde  $>5\%$  blast saptanan hastalar), T-hücreli ALL, BCR/ABL füzyon pozitifliği olan hastalar esas alınmıştır.

Hastaların aldıkları tedavi protokolleri de kayıt edilmiş ve ALL- IC BFM 2002 ve ALL-IC BFM 2009 protokollerinin başarısı relaps, excitus, sağkalım oranları açısından karşılaştırılmıştır.

### **3.1. ETİK ONAY**

Çalışmaya başlamadan önce Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alınmıştır. Onay tarihi 31.10.2013 ve dosya numarası 2013/434 olarak kaydedilmiştir.

### **3.2. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME**

Sonuçlar, SPSS ( Statistical Package For Science Studies) For Windows 15,0 İstatistik Paket programı ile değerlendirilmiş ve veriler ortalama  $\pm$ SD ve ortanca (min.-maks.) olarak ifade edilmiştir.

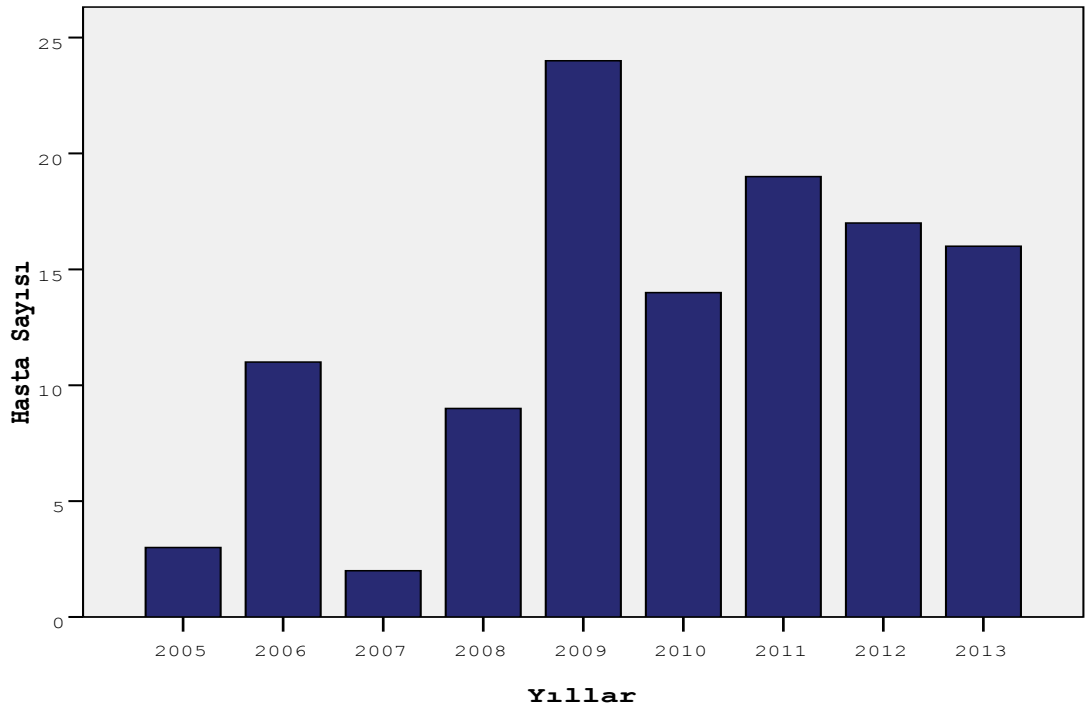
Yöntem olarak, Ki-kare (Fisher'ın kesin ki-kare) testi, Kaplan-Meier sağkalım analizi, - log rank testi, 'cox regression analiz' leri kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

Çalışmada toplam 115 çocukluk çağı Akut Lenfoblastik Lösemi hastası değerlendirildi.

### 4.1. Hastaların başvuru yıllarına göre dağılımı

Hastalar başvuru yıllarına göre incelendiğinde 2005 yılında 3 (%2,6) hasta, 2006 yılında 11 (%9,6) hasta, 2007 yılında 2 (%1,7) hasta, 2008 yılında 9 (%7,8) hasta, 2009 yılında 24 (%20,9) hasta, 2010 yılında 14 (%12,2) hasta, 2011 yılında 19 (%16,5) hasta, 2012 yılında 17 (14,8) hasta, 2013 yılında 16 (%13,9) hasta olarak saptandı (Şekil 1).

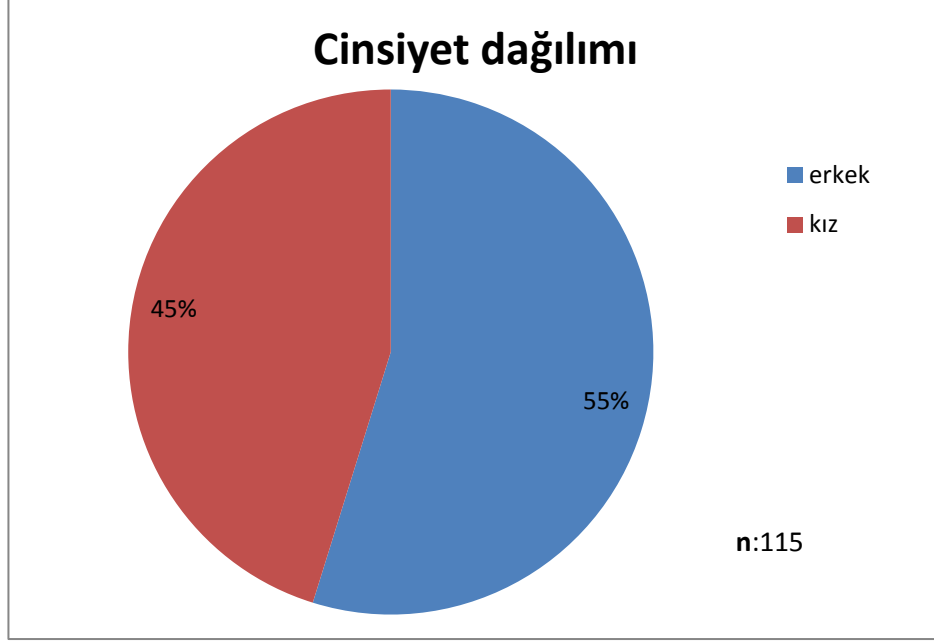


Şekil 1. Hastaların başvuru yıllarına göre dağılımı

#### 4.2. Hastaların cinsiyet ve yaşa göre dağılımı

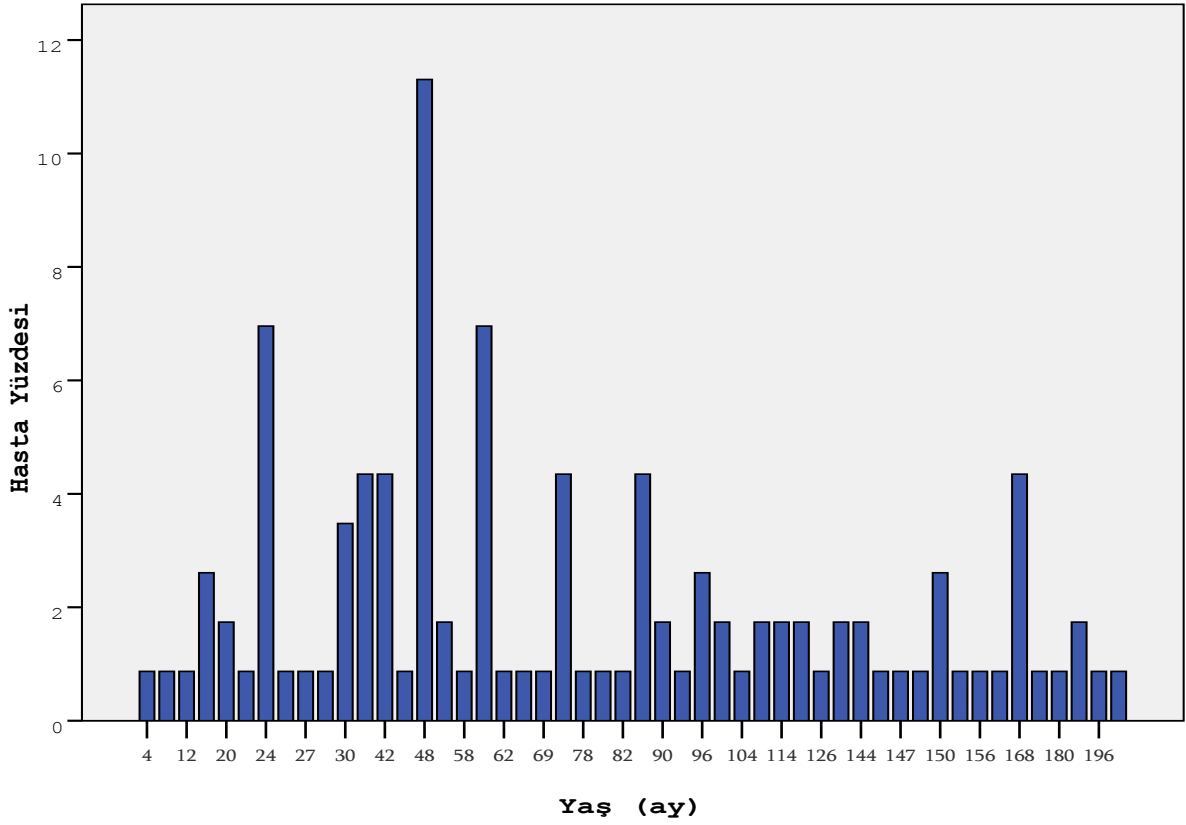
Çalışmaya alınan 115 hastadan 63 (%54,8)'ü erkek, 52 (%45,2) si kızdı (Şekil 2).

B-prekürsor ALL'de erkek/kız oranı eşit, T hücreli ALL'de 14 hastadan 11(%78,6)'i erkek, 3(%21,4)'ü kız olarak saptandı.



Şekil 2. Çocukluk Çağı ALL hastalarının cinsiyete göre dağılımı

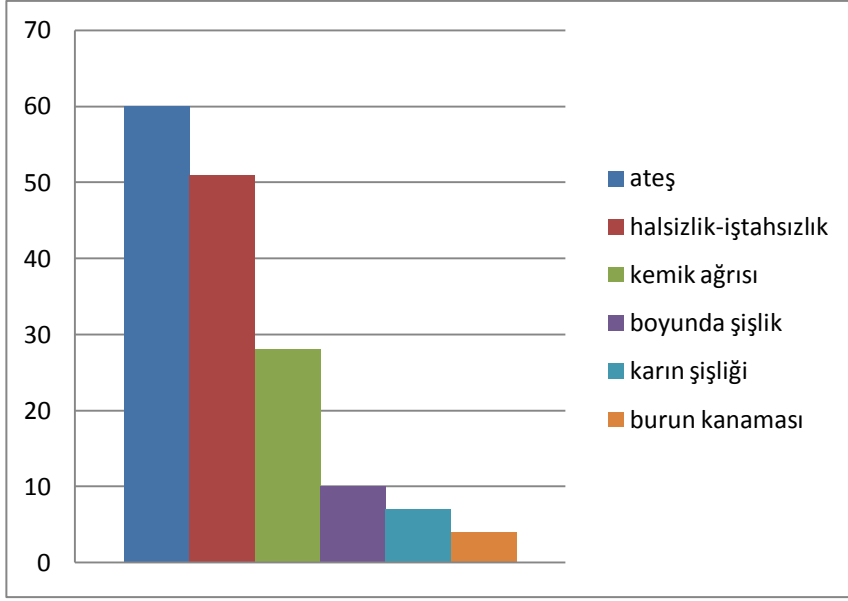
Hastaların başvuru anındaki yaşları incelendiğinde yaş sınırları 4 ay - 198 ay (ortanca 60 ay), yaş ortalaması  $78,89 \pm 4,7$  ay olarak belirlendi (Şekil 3). İki yaş ve altı 15 (%13,1) hasta, 2-10 yaş arasında 75 (%65,2) hasta, 10 yaş ve üzerinde 25 (%21,7) hasta mevcuttu. Bir yaşın altında 3 (%2,6) hasta saptandı.



**Şekil 3. Çocukluk Çağı 115 ALL hastasının yaşa göre dağılımı**

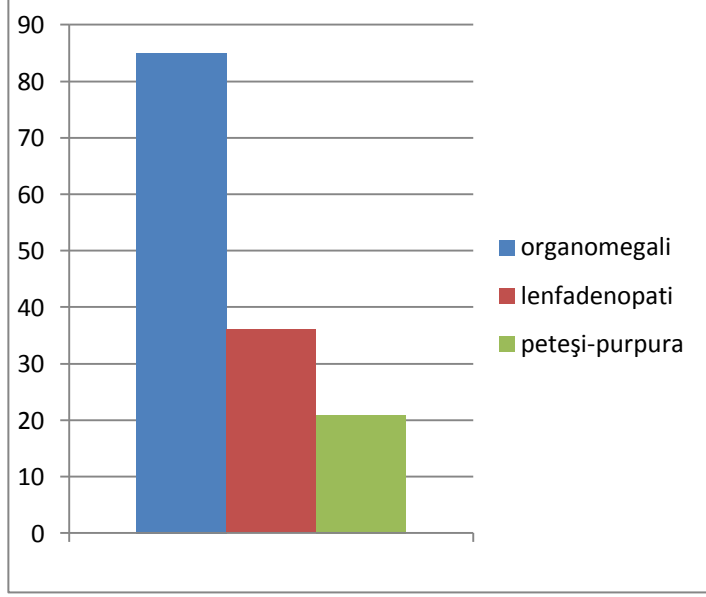
#### **4.3. Hastaların tanı anındaki klinik özellikleri**

Hastaların geliş şikayetleri ve fizik muayene bulguları Şekil 4 ve Şekil 5 'te belirtilmiştir. Tek başına veya diğer semptomlar ile birlikte ateş, hastaların en sık (%60) başvurdukları şikayet olarak saptandı. Ateşi takiben sıklık sırasına göre halsizlik-iştahsızlık (%51), kemik ağrısı (%28,7), boyunda şişlik (%8,7), karın şişliği (%7,8), burun kanaması (%4,3) şikayetleri ile başvurdukları saptandı. Ateşe en sık eşlik eden bulgu halsizlik-iştahsızlık ve kemik ağrısı idi. Tanı anında solunum sıkıntısı ve öksürük ile başvuran 2 hasta mevcuttu. İkisi de T-hücreli ALL idi. İki hasta ise ateş, halsizlik-iştahsızlık ve karın şişliği şikayetleri ile başvuran Down Sendromu tanısı almış olan hastalardı.



**Şekil 4. Hastaların başvuru anındaki şikayetlerine göre dağılımı (tek başına veya diğer semptomlar ile birlikte).**

Fizik muayenede en sık organomegali (%85) ve takiben sırası ile lenfadenopati (LAP) (%35,7), peteşi-purpura (%21) tespit edildi (Şekil 5). LAP'ı olan hastaların %87,8'inde birlikte organomegali olduğu belirlendi. Özgün organ tutulumu olan 9 hasta vardı. Bunlardan 5'inde kemik tutulumu, 4'ünde mediasten tutulumu mevcuttu. Başvuru anında SSS tutulumu olan hasta yoktu.



**Şekil 5. Hastaların başvuru anındaki fizik muayene bulguları (tek başına veya diğer fizik muayene bulguları ile birlikte).**

#### **4.4. Hastaların tanı anındaki laboratuvar özellikleri**

Hastaların tanı anındaki laboratuvar sonuçları Tablo 9'da belirtilmiştir. Başvuru anındaki beyaz küre sınırları  $600 - 356.900/\text{mm}^3$  (ortanca  $12.635/\text{mm}^3$ ) arasında idi. Ortalama beyaz küre sayısı  $38.135 \pm 6342/\text{mm}^3$  olarak belirlendi. Beyaz küre sayısı  $\leq 10.000$  olan 52 (%45,2) hasta,  $10.000-50.000$  arasında olan 42 (%36,5) hasta,  $\geq 50.000$  olan 21 (%18,3) hasta vardı. 115 hastanın 93 (%80)'ünde Hb değeri  $10\text{gr/dl}$ 'nin altında idi. Trombosit değerleri ise 74 (%64,4) hastada  $100.000$ 'nin altında idi.

T hücreli ALL'de, hastaların %64,3'ünün beyaz küre sayısının  $\geq 50.000$  olduğu saptandı.

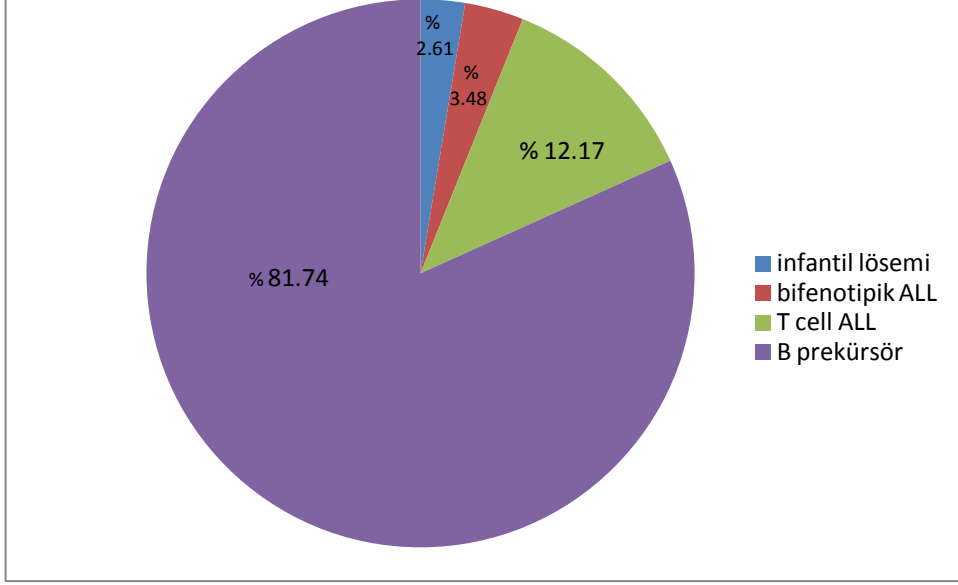


**Tablo 9. Hastaların tanı anındaki laboratuvar özellikleri**

Laboratuvar özellikleri	Hasta yüzdeleri
<b><u>Beyaz küre sayısı (mm<sup>3</sup>)</u></b>	
< 10.000	45,2
10.000 - 50.000	36,5
≥ 50.000	18,3
<b><u>Hemoglobin (gr/dl)</u></b>	
<7.0	40
7.0 - 10.0	40
≥ 10.0	20
<b><u>Trombosit değerleri (mm<sup>3</sup>)</u></b>	
< 20.000	26,3
20.000 - 100.000	38,6
≥ 100.000	35,1

#### **4.5. Hastaların immünofenotip (akım sitometri) sonuçlarına göre dağılımı**

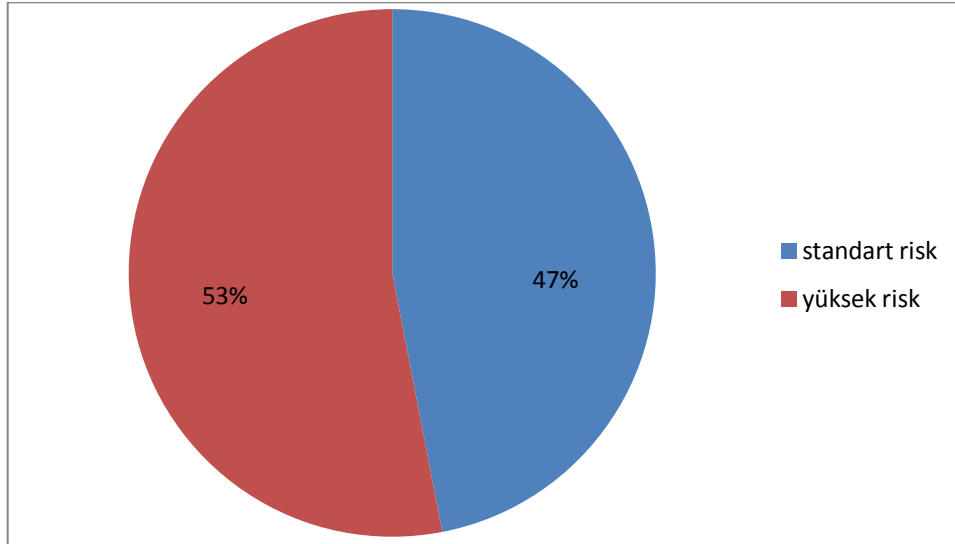
Çalışmaya alınan 115 hastanın 94 (%81,7)'ü B prekürsor ALL, 14 (%12,2)'ü T hücreli ALL, 4 (%3,5)'ü bifenotipik ALL, 3 (%2,6)'ü infantil lösemi olarak saptandı (Şekil 6).



**Şekil 6 . Hastaların immünofenotip sonuçlarına göre dağılımı**

#### 4.6. Hastaların risk sınıflamasına göre dağılımı

Çalışmaya alınan 115 hastanın 54 (%47)'ü standart risk, 61(%53)'i yüksek risk grubunda idi (Şekil 7).



**Şekil 7. Hastaların risk sınıflamasına göre dağılımı**

#### 4.7. Hastaların relaps - mortalite açısından değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 115 hastadan 15 (%13) 'inde bir veya birden fazla relaps söz konusu idi. 16 (%13,9) hastanın tedavi sırasında ya da tedavi sonrasında *excitus* olduğu saptandı (Tablo 10). Relaps olan 15 kişinin 10'unda ( %66,6) *excitus* gerçekleşmiş, 4'ü ise remisyona girmişti; bir hastanın tedavisi ve takibi halen devam ediyordu. Relaps olan hastalarda olmayanlara göre *excitus* oranının anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı ( $p<0,05$ ). Relaps olan hastaların 4 (%26,6)'ünde SSS tutulumu mevcuttu. Bu hastaların 3 (%75)'ü *excitus* olarak saptandı. SSS relapsı olan hastalarda *excitus* oranı SSS relapsı olmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ).

Standart risk grubunda olan 54 hastadan 4 (%7,4)'ü relaps, 5 (%9,2)'i *excitus*; yüksek risk grubunda olan 61 hastadan 11(%18)'i relaps; 11(%18)'i *excitus* (10'u relaps olan hastalar) olarak saptandı (Tablo 10). Yüksek risk grubunda, standart riske göre 2 kat artış olmasına karşın iki grup arasında relaps-*excitus* oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).

B- prekürsör ALL olan 94 hastadan 10 (%10,6)' u relaps, 11(%11,7)'i *excitus*; T-hücreli ALL olan 14 hastadan 3 (%21,4)' ü relaps, 3 (%21,4)' ü *excitus* (2'si relaps olan hastalar); bifenotipik ALL olan 4 hastadan 1 (%25)' i relaps, 1 (%25)' i *excitus* (relaps olan hasta); infantil lösemi olan 3 hastadan 2 (%66,6)' si relaps, 2 (%66,6)' si *excitus* (relaps olan hastalar) olarak saptandı (Tablo 10). İnfantil lösemi tanılı hastaların relaps-*excitus* oranları anlamlı olarak yüksek bulundu.

**Tablo 10. ALL alt gruplara özgün relaps ve *excitus* değerlendirmesi**

<b>HASTA GRUPLARI</b>	<b>RELAPS</b>	<b><i>EXCITUS</i></b>
Tüm Hastalar (n=115)	15 (%13)	16 (%13,9)
Standart risk (n=54)	4 (%7,4)	5 (%9,2)
Yüksek risk (n=61)	<b>11 (%18)</b>	<b>11 (%18)</b>
B-Prekürsör ALL (n=94)	10 (%10,6)	11 (%11,7)
T-Hücreli ALL (n=14)	<b>3 (%21,4)</b>	<b>3 (%21,4)</b>
Bifenotipik ALL (n=4)	<b>1 (%25)</b>	<b>1 (%25)</b>
İnfantil Lösemi (n=3)	<b>2 (%66,6)</b>	<b>2 (%66,6)</b>

#### **4.8. Hastaların sitogenetik analiz sonuçları**

Çalışmaya alınan 115 hastanın 17 (%14,7)' sinde hiç metafaz elde edilemedi. 30 (%26)' unda ise incelenebilen metafaz sayısı optimalin altında (<7 metafaz) idi. Metafaz elde edilen 98 hastanın 61 (%62,2)' inde sitogenetik analiz sonucu normaldi, 37 (%37,7)' sinde ise sitogenetik aberasyon olduğu saptandı. Sadece metafaz sayısı optimal olan hastalar incelendiğinde sitogenetik aberasyon oranı %54,4 olarak saptandı. Sitogenetik aberasyonu olan hastaların sonuçları ayrıntılı olarak Tablo 11 ve Tablo 12' de belirtilmiştir.

**Tablo 11. Hastalarda saptanan sitogenetik aberasyonlar I**

<b>t(9;22)</b> <b>4 hasta</b>	48, XY, +6, t(9;22)(q34;q11), +17
	46, XX, del(6q), t(9;22)(q34;q11)
	46, XY, t(9;22)(q34;q11)
	52, XXY, t(9;22)(q34;q11),+11,+14,+20,+21,+mar
<b>Hiperdiploidi</b> <b>14 hasta</b>	49, XY, +21, +21, +22
	48, XXY, t(2;15)(p11;q26), +mar
	47, XY, +21
	53, XX, +4,+5,+6,+14,+19,+21,+21
	Poliploidi (61)
	47, XX, +der(11)
	62,XXX,+4,+5,+der(6)del(6q),+8,+4,+10,+12,+13,+14,+15,+16,+17,+18,+20,+21,+22
	Psödohiperdiploidi
	50, XY,-8,+14,+16,+18,+21,+21
	47, XX,+21; 48,XXX, +21
	Hiperdiploidi (54)
	64,XXXX,+3,+4,+5,+6,+8,+9,+10,+11,+12,+14,+15,+16,+17,+21,+21+m
	47, XX,+mar
	47, XY, ?+der(1)
<b>del (6q) 8 hasta</b>	46, XX, del (6q) 6 hasta; 46, XY, del (6q) 2 hasta

**Tablo 12. Hastalarda saptanan sitogenetik aberasyonlar II**

<b>Diğer sitogenetik aberasyonlar</b>	46, XX, t(4;11)(q21;q23)
	46, XY, t(1;19)(q23;p13)
	46, XX, t(7;10)(q11;p11)
	45, XY, der(3q),del(6q),-14 hipodiploidi
	46,XX, inv(9) tek alan kompleks anomali
	46,XY, der(22)
	46, XY, der(6q)
	46, XY, t(13;21)(q10;10)
	46, XY, der(1p), t(7;15)(q32;q22), der(8)
	46, XX, t(12;17)(?p13.32;q12)

Sitogenetik aberasyonu olan 37 hastadan 10 (%27)' unda *excitus* saptandı; 9 (%24,3)' unda ise relaps mevcuttu. Relaps olanların 7' si *excitus* ile sonlanan hastalar; 2'si halen remisyonda ve takipte idi. *Excitus* olan 10 hastanın 7' si relaps olan hastalar, 3'ü remisyonda iken kaybedilen hastalar idi. Sitogenetik aberasyonu olan hastaların relaps - *excitus* oranları sitogenetik analiz sonucu normal olan hastalara göre istatistiki olarak yüksek bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo 13).

**Tablo 13. Genetik verilere özgün relaps ve *excitus* değerlendirmesi**

<b>HASTA GRUPLARI</b>	<b>RELAPS</b>	<b>EXCITUS</b>
Sitogenetik Aberasyonu Pozitif (n=37)	<b>9 (%24,3)</b>	<b>10 (%27)</b>
Sitogenetik Normal (n=61)	5 (%8,1)	4 (%6,5)
FISH Aberasyonu pozitif (n=60)	<b>9 (%15)</b>	<b>10 (%16,7)</b>
FISH normal (n=55)	6 (%10,9)	6 (%10,9)
Polizomi 21 (n=29)	<b>5 (%17,2)</b>	<b>3 (%10,3)</b>
TEL/AML1 pozitif (n=16)	yok	1(%6,3)
BCR/ABL pozitif (n=4)	<b>1 (%25)</b>	<b>2 (%50)</b>
FISH - Diğer aberasyonlar (n=11)	<b>3 (%27,3)</b>	<b>4 (%36,3)</b>

Sitogenetik aberasyonu olan 37 olgunun 4 (%10,8)'ünde t(9;22), 2 (%5,4)'sinde MLL düzensizliği [t(4;11), der (11)], 14 (%37,8)'ünde hiperdiploidi, 8 (%21,6)'inde del (6q) saptandı. Tüm hasta grubu için (115 hasta) bu oranlar; t(9;22) için %3,4, MLL gen düzensizliği için %1,7, hiperdiploidi için %12, del (6q) için %6,9 idi. Hiperdiploidide en yaygın kromozom kazancı 4, 14 ve 21. kromozomlarda idi.

t(9;22)(q34;q11) saptanan 4 hastadan 2 (%50)'sinin *excitus*, 1 (%25)'nin relaps olduğu saptandı.

t(4;11)(q21;q23) olan 1 hasta mevcuttu. Bu hastanın remisyona girmeden tanı aldıktan 2 ay sonra *excitus* olduğu saptandı. der(11) olan 1 hastanın relaps olduğu ve takibinde *excitus* olduğu saptandı.

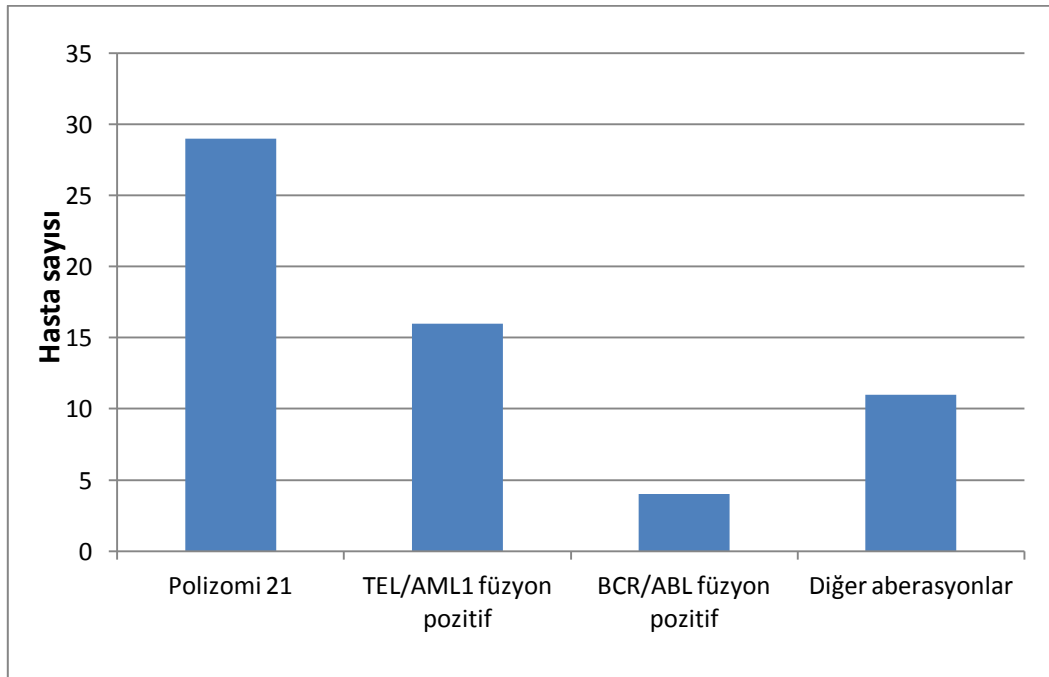
Hiperdiploidi 14 hastadan 1 (%7,1)'inde *excitus*, 2 (%14,2)'sinde relaps olduğu saptandı. Hipodiploidi olan 1 hasta (45,XY, der(3q), del(6q), -14) mevcuttu, tedavisini tamamlamış, remisyonda idi.

t(1;19)(q23;p13) saptanan 1 hastanın relaps olduğu ve sonrasında da *excitus* olduğu saptandı.

del(6q) saptanan 8 hastadan 2 (%25)'sinin relaps ve sonrasında *excitus* olduğu saptandı.

#### 4.9. FISH analiz sonuçları

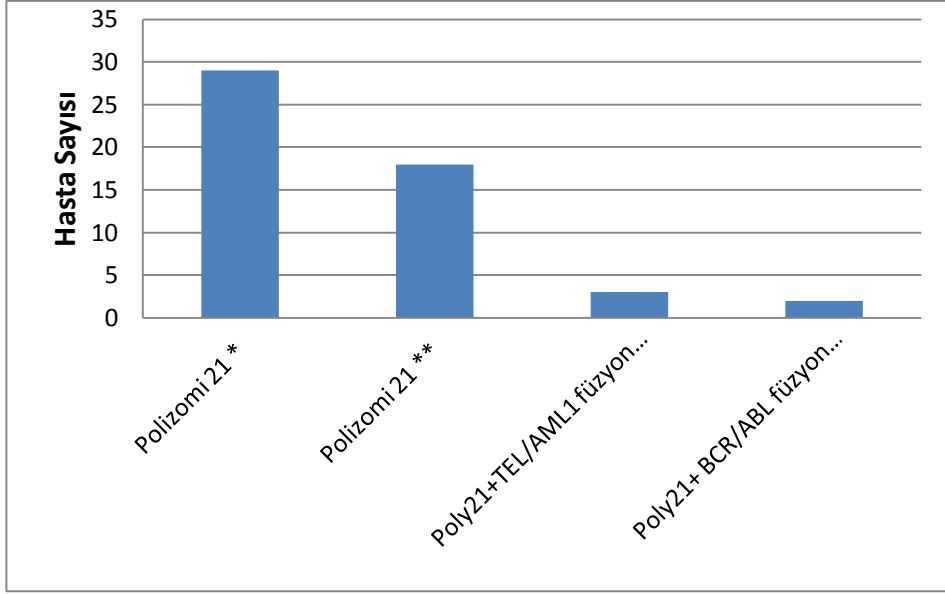
Çalışmaya alınan 115 hastadan 60 (%52,2)' nda FISH aberasyonu olduğu saptandı. En yüksek anomali oranı polisomi 21 olarak belirlendi (29/115; %25,2). 16 (%13,9) hastada TEL/AML1 füzyon pozitifliği, 4 (%3,5) hastada BCR/ABL füzyon pozitifliği ve 11 (%9,6) hastada diğer aberasyonlar saptandı (Şekil 8).



Şekil 8. Hastaların FISH analiz sonuçları

Polizomi 21 ile TEL/AML1 füzyon birlikteliği sadece 3 (%10,3) hastada mevcuttu (Şekil 9).





\* diğer aberasyonlar ile birlikte tüm polizomi 21, \*\* tek başına polizomi 21

### Şekil 9. Polizomi 21 saptanan hastalar

Diğer aberasyonlar ayrıntılı olarak Tablo 13' te belirtilmiştir. 3 hastada trizomi 22; 2 hastada trizomi 9 dup 9q34; 2 hastada del TEL, 1 hastada del TEL ve trizomi 9, [dup (9q34)]; 1 hastada del 21q22; 1 hastada MLL yeni yapılanması ve 1 hastada BCR/ABL poliploidi ve ETV6/RUNX1 füzyon pozitif 'near' hiperdiploidi ve MLL yeni yapılanması saptandı.

**Tablo 13. FISH analizinde saptanan diğer aberasyonlar**

FISH analizinde saptanan diğer aberasyonlar	
trizomi 22	3 hasta
trizomi 9, dup 9q34	2 hasta
del TEL	2 hasta
del TEL, trizomi 9, dup (9q34)	1 hasta
del 21	1 hasta
MLL yeni yapılanması	1 hasta
BCR/ABL poliploidi, ETV6/RUNX1 füzyon pozitif 'near' hiperdiploidi, MLL yeni yapılanması	1 hasta

#### 4.10. Hastaların FISH analiz sonuçları ile risk ilişkisi

Polizomi 21 olan hastaların 11 (%38)' u standart risk, 18 (%62)' i yüksek risk; TEL/AML1 füzyon pozitif olan hastaların 13 (%81,3)' ü standart risk, 3 (%18,7)' ü yüksek risk; BCR/ABL füzyon pozitif olan hastaların tamamı (%100) yüksek risk; diğer aberasyonu olan hastaların 3 (%27,3)' ü standart risk, 8 (%72,7)' i yüksek risk olarak saptandı.

TEL/AML1 füzyon pozitif dışındaki tüm aberasyonlar yüksek risk grubunu belirlemekte idi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

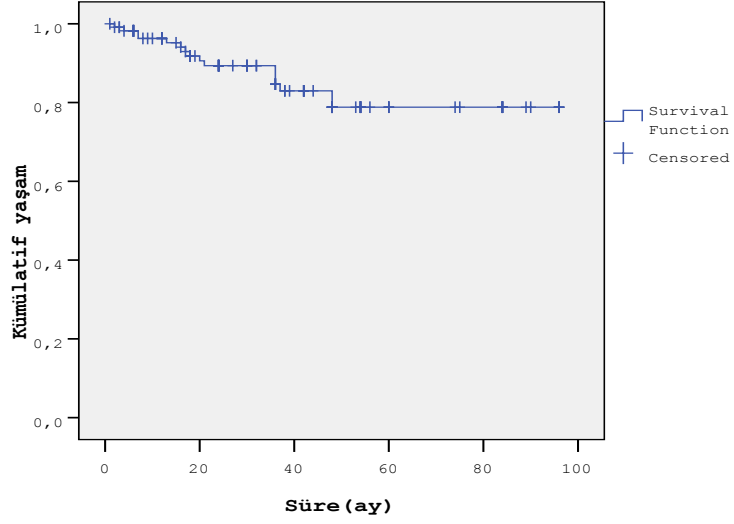
#### 4.11. FISH analiz sonuçları ile relaps-mortalite ilişkisinin değerlendirilmesi

FISH aberasyonu olan 60 hastanın 9 (%15)'unun relaps, 10 (%16,7)' un *excitus* (5'i relaps olan hastalar); FISH analiz sonucu normal olan 55 hastanın 6 (%10,9)' sının relaps, 6 (%10,9)' sının *excitus* (5'i relaps olan hastalar) olduğu saptandı (Tablo 13). Aberasyon grubunda relaps ve *excitus* oranları FISH sonuçları normal olan gruptan fazla idi. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0,005$ ).

Polizomi 21 olan 29 hastanın 5 (%17,2)'i relaps, 3 (%10,3)'ü *excitus* (2'si relaps olan hastalar) olarak saptandı. TEL/AML1 füzyon pozitifliği olan 16 hastada relaps olan yoktu, *excitus* olan 1 (%6,3) hastanın da sepsis nedeni ile *excitus* olduğu saptandı. BCR/ABL füzyon pozitifliği olan 4 hastanın 2 (%50)' si *excitus*, 1 (%25)' i relaps olarak saptandı. Diğer aberasyonları olan 11 hastanın 3 (%27,3)' ü relaps, 4 (%36,3)' ü *excitus* (3'ü relaps olan hastalar) olarak saptandı (Tablo 13). Relaps olan 3 hastadan 1'i del TEL, 1'i MLL yeni yapılanması ve diğeri trizomi 22 idi. Bu 3 hastanın hepsinin *excitus* olduğu belirlendi. del TEL olan 3 hastadan 2 (%66,6)' sinin *excitus* olduğu saptandı. TEL/AML1 füzyon pozitif hastaların 4 (%25)' ünde del TEL saptandı. Bu hastaların ise hiçbirinde relaps ya da *excitus* yoktu.

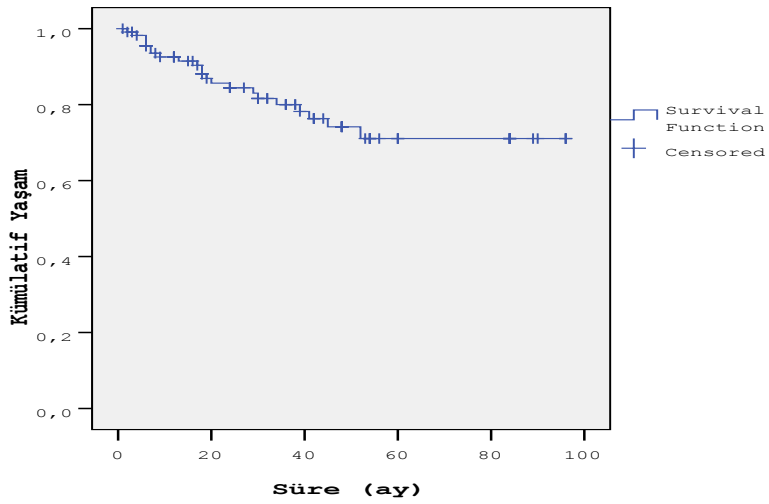
#### 4.12. Hastaların genel ve olaysız sağkalım süreleri

Çalışmaya alınan 115 hastanın genel ve olaysız sağkalım süreleri Kaplan-Meier analizi ile belirlendi. Hastaların genel sağkalım süresi  $81,3 \pm 3,3$  ay (%78,8) olarak saptandı (Şekil 10) (Tablo 14).



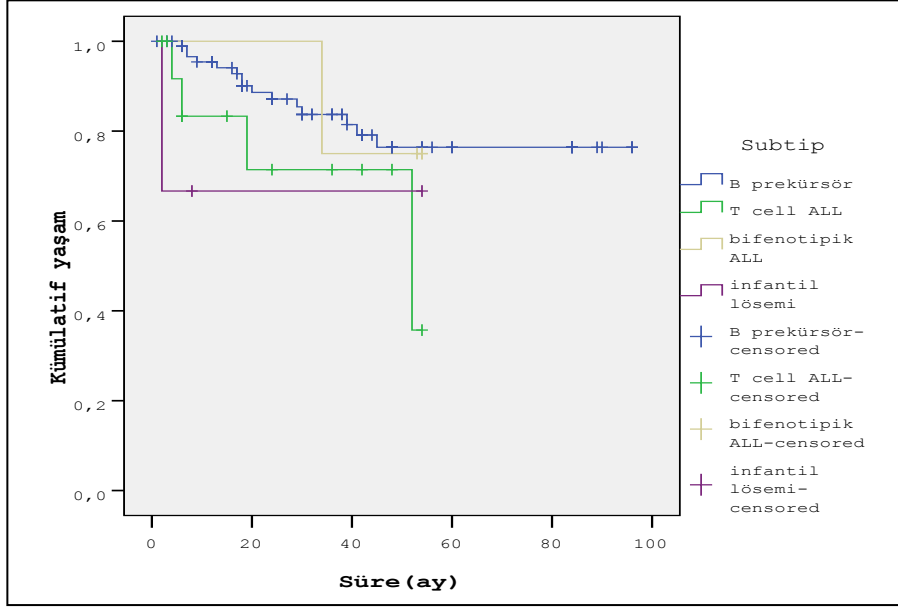
Şekil 10. Hastaların genel sağkalım eğrisi

Hastaların olaysız sağkalım süresi ise  $75,6 \pm 3,8$  ay (%71,1) olarak saptandı (Şekil 11) (Tablo 14).



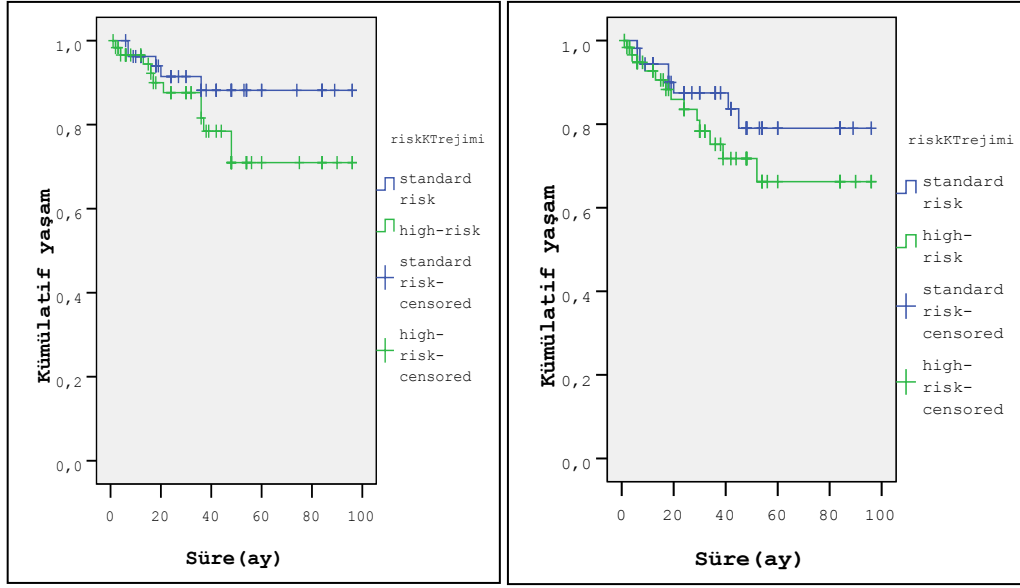
Şekil 11. Hastaların olaysız sağkalım eğrisi

Hastaların alt gruplara göre olaysız sağkalım süreleri Şekil 12'de gösterilmiştir. B-prekürsör ALL tanılı hastaların olaysız sağkalım süresi  $79,2\pm 3,8$  ay (%76,4), T-hücreli ALL tanılı hastalarınki  $40,9\pm 5,9$  ay (%35,7), bifenotipik ALL tanılı hastalarınki  $49\pm 4,3$  ay (%75), infantil lösemi tanılı hastalarınki  $5,3\pm 1,4$  ay (%33,3) olarak saptandı (Tablo 14).



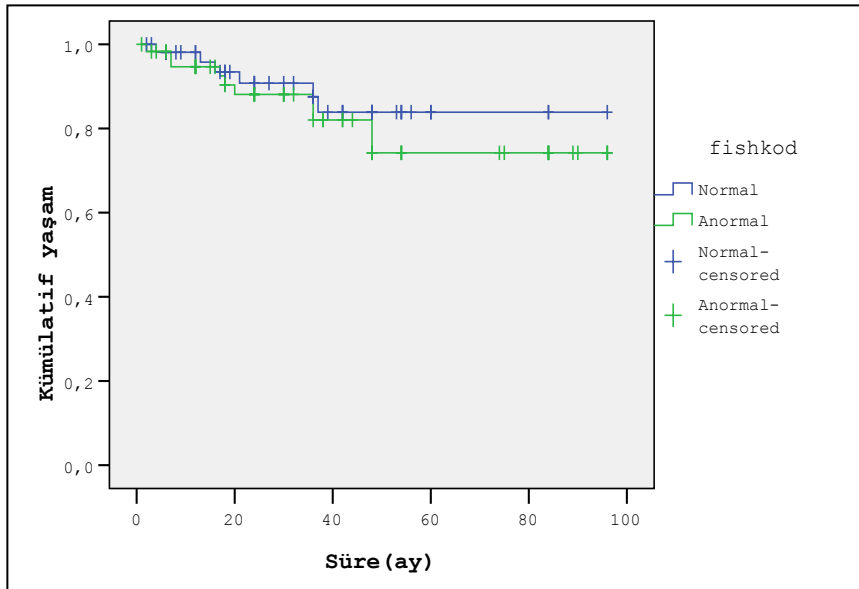
**Şekil 12. Hastaların subtiplerine göre olaysız sağkalım eğrisi**

Standart risk grubunda olan hastaların genel sağkalım süresi  $87\pm 3,8$  ay(%88,2), yüksek risk grubunda olan hastalarınki ise  $76,6\pm 5$  ay (%71) olarak saptandı. Olaysız sağkalım süreleri standart risk grubu için  $81,1\pm 4,7$  ay (%79), yüksek risk grubu için ise  $72,4\pm 5,5$  ay (%66) olarak saptandı (Şekil 13) (Tablo 14).



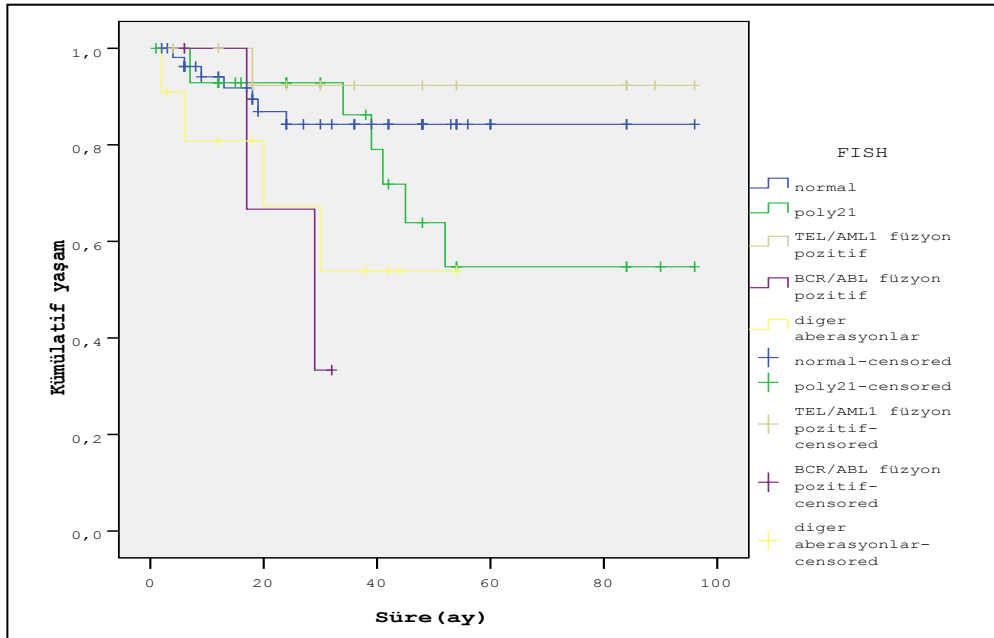
**Şekil 13. Hastaların risk gruplarına göre genel ve olaysız sağkalım eğrileri**

FISH analiz sonucu normal olan hastaların genel sağkalım süresi  $84,3 \pm 4,4$  ay (%83,9); FISH aberasyonu olan hastalarınki ise  $78,6 \pm 4,8$  ay (%74,2) olarak saptandı. İki arasında genel sağkalım süresi açısından anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ) (Şekil 14) (Tablo 14).

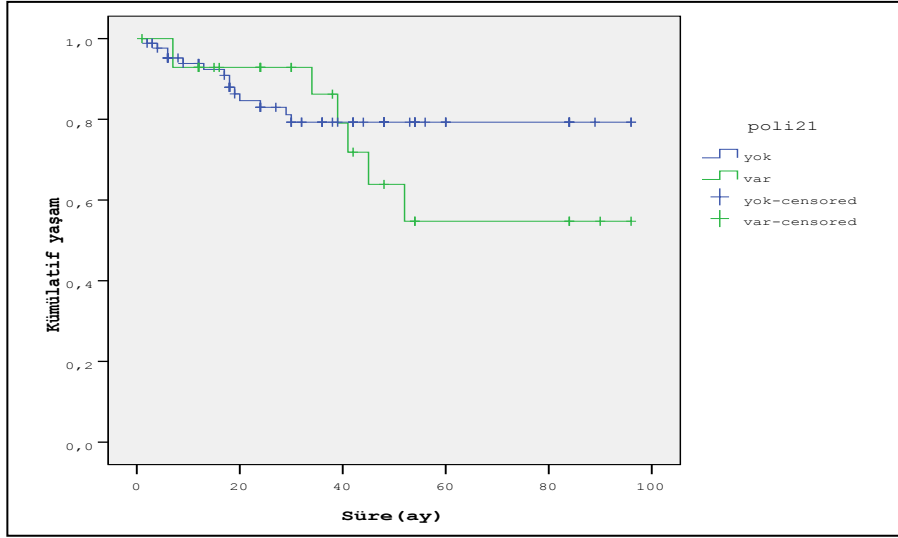


**Şekil 14. Hastaların FISH analiz sonuçlarına göre genel sağkalım eğrisi**

Hastalar genetik analiz gruplarına göre ayrılarak incelendiğinde FISH analiz sonucu normal olan hastalar için olaysız sağkalım süresi  $82,7 \pm 4,6$  ay(%82), polizomi 21 olan hastalar için  $69,3 \pm 7,7$  ay (%54,7), TEL/AML1 füzyon pozitifliği olan hastalar için  $90 \pm 5,7$  ay (%92,3), BCR/ABL füzyon pozitifliği olan hastalar için  $26 \pm 3,7$  ay (%33,3), diğer aberasyonu olan hastalar için ise  $36,6 \pm 6,7$  ay(%26) olarak saptandı (Şekil 15, 16, 17, 18) (Tablo14).



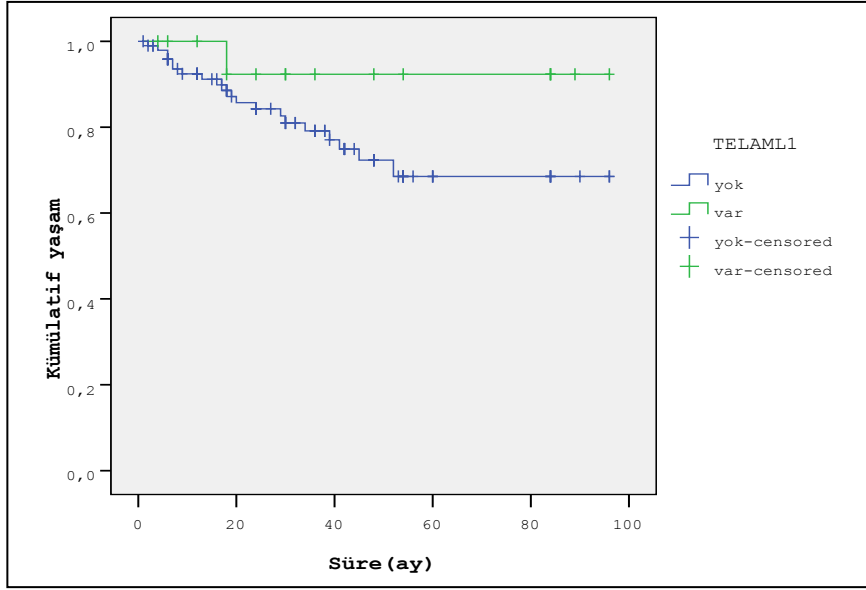
Şekil 15. Hastaların FISH analiz sonuçlarına göre olaysız sağkalım eğrisi



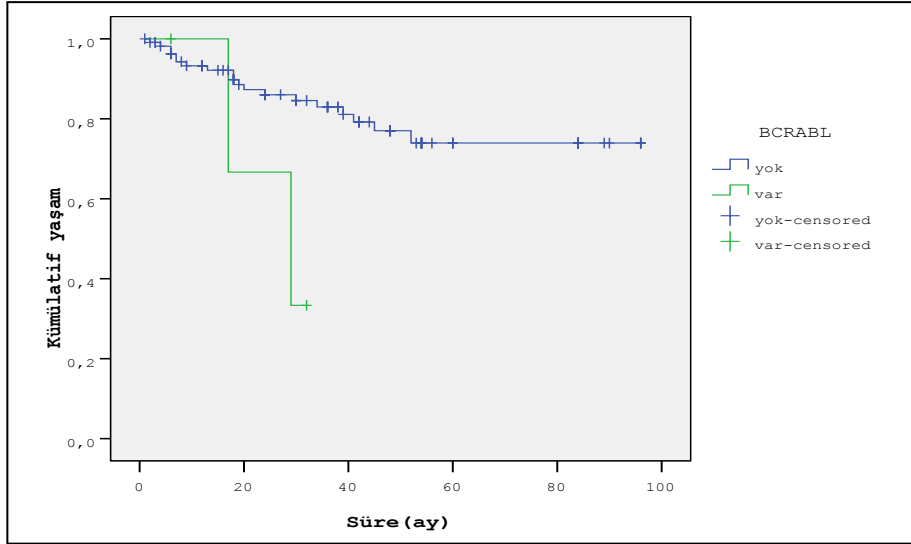
**Şekil 16. Polizomi 21 olan hastaların olaysız sağkalım eğrisi**

Polizomi 21 olan hastaların sağkalım süresi FISH analiz sonucu normal olan hastalara göre belirgin olarak düşük bulundu. Ancak bu fark istatistiki anlamlılık göstermedi ( $p>0.05$ ).

Kaplan-Meier analizi, log rank testi ile yapılan sağkalım analizinde polizomi 21, TEL/AML1 ve BCR/ABL analizlerinden sadece BCR/ABL füzyon pozitifliği olan hastaların genel ve olaysız sağkalım süresi anlamlı olarak düşük bulundu ( $p<0,05$ ) (Şekil 15, 18).



Şekil 17. TEL/AML1 füzyon pozitif olan hastaların olaysız sağkalım eğrisi



Şekil 18. BCR/ABL pozitifliği olan hastaların olaysız sağkalım eğrisi



**Tablo14. Hastaların genel ve olaysız sağkalım oranları**

<b>HASTA PROFİLİ</b>	<b>GENEL SAĞKALIM</b>	<b>OLAYSIZ SAĞ KALIM</b>
<b>115 hasta</b>	81,3 ± 3,3 ay(%78,8)	75,6 ± 3,8 ay (%71,1)
<b>Standart risk</b>	87±3,8 ay(%88,2)	81,1±4,7 ay (%79)
<b>Yüksek Risk</b>	76,6±5 ay (%71)	72,4±5,5 ay (%66)
<b>B-Prekürsör</b>	83.3±3.4 ay (%82,1)	79,2±3,8 ay(%76,4),
<b>T-ALL</b>	57.4±8.3 ay (%60,2)	40,9±5,9 ay(%35,7),
<b>Bifenotipik</b>	49.5±3.8 ay (%75)	49±4,3 ay(%75)
<b>İnfantil ALL</b>	36.6±14.1 ay (%66,7)	5,3±1,4 ay(%33,3)
<b>FISH Normal</b>	84,3 ± 4,4 ay(%83,9)	82,7 ± 4,6 ay(%82)
<b>FISH Anormal</b>	78,6 ± 4,8 ay(%74,2)	70.8±5.5 ay (%61,9)
<b>Polizomi 21</b>	85.6±5.6 ay (%86,2)	69,3 ± 7,7 ay(%54,7)
<b>TEL/AML1</b>	90±5.7 ay (%92,3)	90 ± 5,7 ay (%92,3)
<b>BCR/ABL</b>	29.6±7.3 ay (%66,7)	26 ± 3,7 ay(%33,3)
<b>DİĞER aberasyonlar</b>	41.7±5.3 ay (%53,9)	36,6 ±6,7 ay(%26)

#### **4.12. FISH alt gruplarında klinik ve hematolojik profil**

Polizomi 21 olan 29 hastanın erkek/kız oranı 1.4 idi; tüm hastalar 1-10 yaş arasında, sadece %10.3'ünün beyaz küre sayısı >50.000 idi; %86,2'si B prekürsör ALL, %10,3'ü T hücreli ALL ve %3.5'i bifenotipik ALL olarak saptandı. Tablo 15' te diğer hasta gruplarının klinik ve hematolojik özellikleri belirtilmiştir.

**Tablo 15. FISH alt gruplarında klinik ve hematolojik profil**

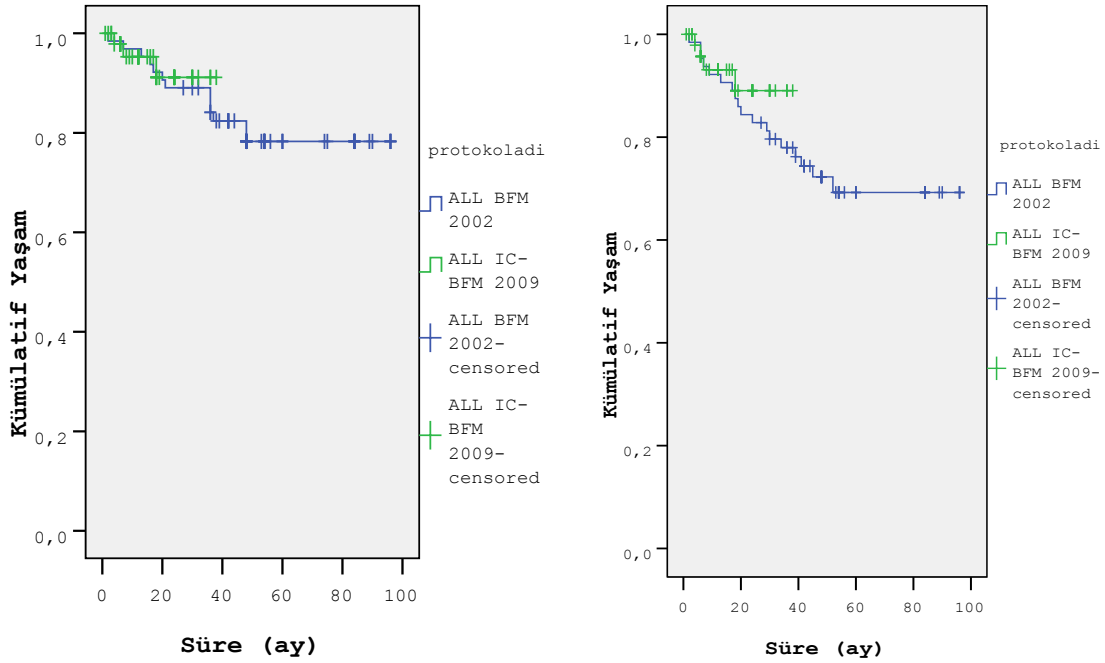
	E/K	≥ 10 yaş	Lökosit sayısı >50.000/mm <sup>3</sup>	B-prekürsör	T- hücre
<b>Tüm hastalar (n=115)</b>	1.2	%21,7	%18,3	%81,7	%12,2
<b>Standart risk (n=54)</b>	1.2	%3,7	%3,7	%96	Yok
<b>Yüksek Risk (n=61)</b>	1.1	%41	%31	%69	%23
<b>BCR/ABL (n=4)</b>	1.0	%50	%25	%100	Yok
<b>Polizomi 21 (n=29)</b>	1.4	Yok (1-10yaş arasında)	%10,3	%86,2	%10,3
<b>TEL/AML1 (n=16)</b>	1.3	yok (1-10yaş arasında)	%6,2	%100	yok
<b>Diğer (n=11)</b>	0.8	%44	%27,2	%77,7	%22

#### **4.9. Hastaların aldıkları kemoterapi rejimlerine göre dağılımı, relaps - mortalite açısından değerlendirilmesi**

Hastaların 64 (%55,7)' ünün ALL BFM 2002 protokolünü, 51 (%44,3)' inin ALL-IC BFM 2009 protokolünü aldığı saptandı. ALL-IC BFM 2009 protokolü Ocak 2011 tarihinden itibaren uygulanmıştır.

ALL BFM 2002 protokolünü alan hastaların 15 (%23,4)' i relaps, 13 (%20,3)' ü *excitus* (bu hastaların 10'u relaps olan hastalar); ALL-IC BFM 2009 protokolünü alan hastaların 1 (%1,9)' i relaps, 3 (%5,8)' ü *excitus* olarak saptandı. ALL BFM 2002 alan hastalarda relaps ve *excitus* oranları ALL-IC BFM 2009 protokolünü alan hastalardan anlamlı olarak daha fazla saptandı ( $p<0,05$ ).

ALL BFM 2002 protokolünü alan hastaların genel sağkalım süresi  $81 \pm 3,7$  ay (%78,3); ALL-IC BFM 2009 protokolünü alan hastalarinki ise  $35,6 \pm 1,3$  (%91,2) ay olarak saptandı. Olaysız sağkalım süreleri ise 2002 protokolü için  $74,1 \pm 4,4$  ay (%69,2) iken 2009 protokolü için bu süre  $34,9 \pm 1,4$  (%89,1) olarak saptandı (Şekil 13). ALL-IC BFM 2002 protokolünü alan hastaların genel ve olaysız sağkalım süreleri ALL-IC BFM 2009 protokolünü alan hastalardan anlamlı olarak düşük saptandı ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 19. Hastaların aldıkları protokollere göre genel ve olaysız sağkalım eğrileri**

## 5. TARTIŞMA

Akut lenfoblastik lösemi, çocukluk çağında görülen en sık kanserdir (1). Tüm çocukluk çağı kanserlerinin %30'unu, lösemiler içinde ise %80'ini akut lenfoblastik lösemi oluşturmaktadır. Kür oranı 1980'lerde %5 iken günümüzde %85'in üstüne çıkmıştır. Bu dramatik iyileşmenin en büyük nedeni verilen tedavi rejimlerinin riske yönelik olarak planlanmasına bağlanabilir (42, 43).

Akut lenfoblastik lösemide tanı ve prognoz kriterleri klinik, hematolojik, morfolojik, immünolojik, genetik ve moleküler veriler temelinde belirlenmektedir. ALL hastalarında tanı anında **hasta yaşının** prognostik önemi söz konusudur: İki yaşından küçük ve 10 yaşından büyük hastaların prognozu kötüdür. Bir yaşından küçük çocuklar en kötü prognoza sahiptir. t(4;11) translokasyonunda olduğu gibi 11q23 kromozom bandını içeren kromozomal anomalilerin özellikle bu yaş grubunda yaygın olması, kötü prognozdan sorumlu olabilir (30,78,92). Çalışmamızda 12 aydan küçük, infantil lösemi tanılı 3 hasta mevcuttu. Bu hastalardan 2'sinin relaps ve takibinde *excitus* olduğu saptandı. Bu hastalarda aynı zamanda t(4;11) translokasyonu olduğu gösterilmişti.

ALL tanısı almış adolesanlarda da prognoz iyi değildir; bu yaş grubunun büyük çoğunluğunun T-hücreli immünofenotip özelliği göstermesi kötü prognozun nedeni olarak yorumlanmaktadır; yanı sıra diğer birçok risk faktörünün de prognostik etkisinin olduğu belirtilmiştir (93). Çalışmamızda 10 yaşından büyük 25 (%21,7) hasta mevcuttu. Bu hastaların 8 (%32)'inde T-hücreli ALL saptandı. Çalışmamızda yaş tek başına prognostik bir değişken olarak bulunmadı.

Ülkemizde yılda ortalama 250 olgunun giriş yapıldığı Türk BFM Çalışma Grubu protokolü TR-ALL BFM 2000'de ortalama yaş 60 ay ve erkek/kız oranı 1,2 olarak kaydedilmiştir. **Cinsiyet** prognoz açısından önemli bir gösterge olup, kızlarda yaşam oranı daha yüksektir (9). Ancak son yayınlarda cinsiyetin prognoz üzerindeki önemini yitirdiği belirtilmektedir (106). Çalışmamızda da ortalama yaş 60 ay ve erkek/kız oranı 1.2 olarak saptandı.

ALL tanılı hastaların yaklaşık %20'sinde görülen yüksek **lökosit değerlerinin** ( $\geq 50.000/ \text{mm}^3$ ) yine kötü prognoz ile birlikte olduğu belirtilmektedir (79, 94). Hastalarımızın %54,8'inde lökositoz ve %18,3' ünde belirgin artmış lökosit sayısı ( $\geq 50.000/ \text{mm}^3$ ) saptanmıştır. Bu hastaların %23,8' inde *excitus* gözlenmiştir. Ölen hastalarda tanı anında yüksek beyaz küreye sahip olmanın dışında T-hücreli ALL, BCR/ABL füzyon pozitifliği, 'MLL gen etkilenimi' ve 'infantil dönem' gibi prognostik faktörler de belirlenmiştir.

ALL' nin biyolojik temelini tespitinde **genetik belirteçler** ve sitogenetik büyük önem taşımaktadır (69). ALL' de pek çok özgün kromozom aberasyonları tanımlanmış durumdadır; lösemi ilişkili pek çok translokasyon, inversiyon ve yeni yapılanmalar gösterilmiştir. Bu kromozomal değişiklikler birçok kanser ilişkili genin aktivasyonu veya inaktivasyonunu sağlamakta ve böylece neoplazik sürece yardım etmektedir. Sitogenetik analiz ALL' nin tanı ve prognozunda önemli bir yöntemdir ve klinik uygulamada rutine girmiştir. ALL için tedavi öncesi sitogenetik bulguların, en önemli bağımsız faktör olduğunu tekrarlayan pek çok çalışma mevcuttur (80, 81, 82, 83).

Literatürde çocukluk dönemi ALL' sinde hastaların %52-64'ünde kromozomal aberasyon saptanmıştır (70, 80, 83). Çocukluk ALL' sine sahip 66 hastada yapılan çalışmada G-bantlama ile kromozomal aberasyonlar hastaların %49,2' sinde saptanmış iken FISH metodunun kombinasyonu ile bu oran %72,7' ye çıkmaktadır (71). Ülkemizde yapılan 33 kişilik bir hasta grubu araştırmasında, ALL tanılı hastaların %25' inde yapısal kromozomal aberasyon saptandığı bildirilmiştir (72).

Çalışmamızda 115 ALL tanılı hastanın 37 (%37,7)' isinde kromozomal aberasyon saptanmıştır. Sadece metafaz sayısı optimal olan hastalar incelendiğinde sitogenetik aberasyon oranı %54,4 olarak saptandı. Her iki durumda da oranlarımız sadece sitogenetik veriler dikkate alınarak karşılaştırıldığında ülkemizdeki araştırmadan yüksek, literatür değerlerine ise yakın bulunmuştur. FISH analizi ile elde edilen veriler eklendiğinde ALL de kromozomal aberasyon oranımız tüm hastalar ele alındığında %52,2'ye ve metafaz sayısı yetersiz olan hastalar dışlandığında ise %71,7'ye çıkmaktadır. Bu sonuçlar ülkemizdeki araştırmadan yüksek, literatür değerleri ile birebir

örtüşmektedir. Sitogenetik analiz ile sonuçların farklı bulunmasının kullanılan metodolojik yaklaşımlar ile ilgili olduğu düşünülmekte, özellikle de FISH yöntemi kriptik değişikliklerin daha yüksek oranda saptanmasına olanak sağlamaktadır (73).

Literatürde hiperdiploidili ALL sayısı bir çalışmada %32 iken başka bir çalışmada % 63 olarak verilmiştir. En fazla kromozom kazancı 21. kromozomda gözlenmiştir (74, 84). Hiperdiploidi iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir (116, 117). Çalışmamızda, 14 (%37,8) hastada hiperdiploidi saptanmıştır. Hiperdiploidili hastalarımızda en yaygın kromozom kazancı 4, 14 ve 21. kromozomları ilgilendirmiştir. Hiperdiploidili 14 hastadan 1 (%7,1)' inde *excitus*, 2 (%14,2)' sinde relaps olduğu saptandı. Hipodiploidili oranı % 2,8 olarak verilmiştir (74). Kötü prognoz olarak belirtilmiştir (115). Çalışmamızda hipodiploidi saptanan 1 (%1,7) hasta mevcuttu; kromozom sayısı 45 idi; tedavisini tamamlamış, remisyonunda olarak takip edilmekte idi.

Çocukluk çağı ALL' de hipodiploidi ve psödodiploidi kötü prognoz ile birlikte olmasına rağmen en kötü sonuçlar Philadelphia kromozomu pozitif ALL (BCR/ABL füzyon pozitif; t(9;22)' de görülmektedir. Literatürde daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda t(9;22)' nin yüksek başlangıç beyaz küre sayısı ile birlikte olduğu belirtilmekte idi. Çocukluk dönemi ALL' sinde kötü prognoz ile birlikte olan yüksek beyaz küre sayısının, t(9;22)' nin kötü prognoza etkisine katkı yaptığı düşünülmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda düşük beyaz küre sayısına sahip olan t(9;22)'li hastalarda da oldukça kısa sağkalım oranları görülmüştür. t(9;22)' yi taşımayan ancak beyaz küre sayısı ve tanı yaşına göre yüksek risk grubundaki hastalarda prognozun göreceli olarak daha iyi olduğu gösterilmiştir (85, 91). Bu nedenle BCR/ABL füzyon pozitifliğinin bağımsız prognostik faktör olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yüksek doz kemoterapi ile birlikte imatinib tedavisi olaysız sağkalım oranını arttırmıştır (9).

t(9;22)(q34;q11) sıklığı, literatürde %2 ila %5 aralığında bildirilmiştir (85). Çalışmamızda 4 (%3,5) hastada translokasyon sitogenetik olarak gösterilmiştir. Bu oran literatür değerleri ile uyumludur. 4 hastadan 2 (%50)' si *excitus* olarak saptanmıştır. Diğer t(9;22)(q34;q11) translokasyonu gösterilen hastalar ise 6. ve 15. ayına kadar izlenebildi. Bu 2 hastanın tedavileri halen devam etmekte olup remisyonunda olarak

saptanmıştır. Kontrol kemik iliği sitogenetik incelemede Ph1 kromozomunun negatifleştiği görülmüştür. Bu 2 hastada 6 ve 15 aylık takibi boyunca relaps gelişmemiştir. BCR/ABL translokasyon probu ile FISH analizi t(9;22) translokasyonunu desteklemiştir. Literatürde t(9;22)' ye sahip olmayan hastalarda 4 yıllık olaysız sağkalım %88 olarak verilmekte iken translokasyonu taşıyanlarda %20 olarak verilmektedir (91). Çalışmamızda olaysız sağkalım oranı %33.3 olarak saptanmıştır. BCR/ABL füzyonu bağımsız bir risk faktörü olarak saptanmıştır.

Çocukluk çağı lösemilerinde prognoz infantlarda oldukça kötüdür. İnfantil lösemi, çocukluk dönemi lösemilerinin yaklaşık olarak %3'ünü oluşturur (79, 95). Başlangıçta yüksek beyaz küre sayısı, ekstramedüller tutulum, immatür immüfenotip, 11q23 bölgesinde yer alan MLL gen yeni yapılanmaları ile karakterizedir. 11q23' ün eşlik ettiği "partner" kromozom lokusu 35'den fazladır; t(4;11) ve t(11;19) en sık karşılaşılan MLL ilgili translokasyonlardır (75). Tedavi sonuçlarının kötü olması ile ilişkili olduğu için 11q23 aberasyonlarının saptanması klinik olarak son derece önemlidir (87).

Literatürde, 77 infant lösemi hastasında 11q23 bölgesini içeren aberasyon, hastaların %66' sında tespit edilmiştir (76). Diğer çalışmalarda infantil lösemi tanılı hastalarda 11q23 gen düzenlemesi sıklığı sitogenetik veya "Southern blots" tekniği ile %60-%80 oranında tespit edilmiştir (90, 89). Çalışmamızda infantil lösemi tanılı hastalarda MLL gen düzenlemesi sıklığını %66,6 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda üç infantil lösemi tanılı hastamızın ikisinde MLL gen bölgesini içeren translokasyon sitogenetik ve FISH analizi ile gösterilmiştir. Bir hastamızda ise MLL gen düzenlemesi bakılmamıştı. İnfantil lösemi tanılı hastaların 4 yıllık olaysız sağkalımları incelendiğinde MLL gen bölgesi aberasyonunu taşıyanlarda oran %20 iken bu aberasyonu taşımayanlarda oran %64 olarak tespit edilmiştir (76). Çalışmamızdaki bir hasta tedavinin 2. ayında kaybedilmiştir; 3,5 aylık, infantil lösemi, B-prekürsör ALL tanısı ile izlenen, yüksek beyaz küre sayısı (199.000/ mm<sup>3</sup>) ile başvuran periferik kan sitogenetik incelemesinde t(4;11)(q21;q23) saptanan bir hasta idi. Hastada MLL 'dual color break apart' FISH probu ile 4. ve 11. kromozomlarda MLL genine ait 'break

apart' sinyaller saptanmıştır. Diğer bir hasta da 3.ayında relaps olmuş ve takibinde *excitus* olmuştu. Üç hastadan sadece bir tanesi 45 aydır takipte olup , kemoterapi tedavisini bitirmiş, remisyonda olup hiç relapsı olmayan hasta idi. Bu hastaya MLL bakılmamıştı. Bu tranlokasyon yoğun tedaviye rağmen % 20'den daha az sağkalım ile çok kötü prognoz taşımaktadır (95). Çalışmamızda infantil lösemi tanılı hastaların olaysız sağkalım oranı %33,3 olarak saptandı.

del 6q aberasyonu, pediatrik lösemide gerek B-hücreli gerekse T-hücreli ALL' de göreceli olarak sık ( $\pm\%30$ ) tanımlanmış bir yapısal anomalidir. Lökomogenezin erken faz bulgusu olarak yorumlanmaktadır. Prognostik değeri açık değildir. 167 del (6q) aberasyonuna sahip ve 1713 del (6q)'ya sahip olmayan akut lösemili çocuk arasında yapılan bir çalışmada iki hasta grubunda 6 yıllık olaysız sağkalım oranlarının benzer olduğu tespit edilmiştir (del (6q) için %77 iken diğer grupta %74) (77). Çalışmamızda 8 (%21,6) hastada 6q delesyonu saptanmıştır. Bu hastalardan 2 (%25)'sinin relaps ve sonrasında *excitus* olduğu saptandı.

Miks lösemi tanılı hastalarda göreceli olarak sık görülen kromozom aberasyonu t(9;22) ve 11q23 translokasyonlarıdır. Çalışmamızdaki 4 miks lösemili hastadan 1'inde normal karyotip, diğer 3 hastada farklı kromozomal aberasyonlar saptandı. Bu hastalardan 1'inde t(12;17)(p13.32;q12), 1' inde der(1), 1'inde del(6q) saptanmıştır.

Son yıllarda sık olarak uygulanan **FISH tekniği** hem hematolojik hem de solid tümörlerle ilişkili olan kromozomal aberasyonların belirlenmesinde oldukça yararlı olmaktadır. Klasik bantlama yöntemlerinde analizi yapılan materyalin metafaz hücresi olması ve in situ hücre genomu hakkında bilgi vermemesi, ayrıca bu olgularda yeterli sayı ve kalitede metafazlar elde edilememesi yeni tekniklerin geliştirmesini gerektirmiştir. Hem interfaz hem de metafaz hücrelerinde analize olanak sağlayan FISH tekniği, kromozomal aberasyonların analizinde konvensiyonel sitogenetik yöntemleri tamamlayıcı bir yaklaşımdır, kimi özgün aberasyonların tesbiti için ise alternatif bir yöntem olarak kullanılmaktadır (24). G-bantlama tekniği ile kromozomal aberasyonların %49,2'si tanınabilirken, FISH analizinin de kullanılması ile gen düzenlemelerinin %73,8' i tanımlanmıştır (71). Tanaka ve ark. (1999), yaptıkları bir



çalışmada 288 lösemi/lenfomalı olguda t(9;22), t(8;21), del 11q23, t(11;n)(q23;n), t(15;17), del(5q)-5, del(13q)-13,+8,-7 ve +12'yi hem G bantlama hem de FISH yöntemi ile araştırmış ve sonuçları karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında t(8;21), t(9;22), 11q23 ve trizomi 8 için her iki yöntemle de benzer sonuçlar bulunmuştur (88). Çalışmamızda da t(9;22) için hem sitogenetik hem de FISH analizi ile aynı sonuç elde edilmiştir. Lee ve ark. (2004), ise hematolojik maligniteli 919 olguda 18 ayrı FISH probu ile yaptıkları çalışmada, tanıda t(9;22) ve t(8;21)'in hem G bantlama hem de FISH yöntemi ile yapılan analizlerindeki farklılığın kabul edilebilir sınırlar içinde (%4.8) olduğunu ancak del(7q), t(15;17) ve trizomi 21 için G bantlamanın hata payının %12.5 ile %20 arasında değiştiğini; izlemdeki olgular için ise t(9;22) ve t(8;21)'in pozitiflik oranındaki hatanın %25'in üzerine çıktığını saptadıklarını bildirmişlerdir (73).

t(12;21)(p13;q22)' nin G-bantlama ile tespiti güçtür. Tanıda daha çok RT-PCR ("revers transkriptaz" polimeraz zincir reaksiyonu) veya FISH gibi metodlardan yararlanır. Çalışmalarda t(12;21) sıklığının çocukluk çağı B-prekürsör ALL içinde yaklaşık %25 oranında olduğu ve çocukluk ALL grubu içinde en yaygın kromozomal değişiklik olduğu belirtilmektedir (44, 45 ). Bu füzyon geninin görülme sıklığı farklı coğrafik bölgeler arasında değişiklik göstermektedir. ABD'de görülme sıklığı genellikle %25 iken, Hindistan (%9), Japonya (%10) ve İspanya (%3) gibi ülkelerde bu sıklığın çok daha az olduğu belirtilmektedir (45). Japonya'da yapılan bir çalışmada 74 ALL tanılı çocuk hastanın 7'sinde (%9,5) TEL/AML1 füzyonu saptandığı tespit edildiği bildirilmiştir (46). Füzyon saptanan hastaların hepsinde, B hücre fenotipi, tanı anında nispeten düşük beyaz küre sayısı saptanmıştır. İyi prognozu gösteren t(12;21) pozitif hastaların 7'sinden 6'sının 1. remisyonda olduğu (hastalısız sağkalım >5yıl), diğer hastada ise tanıdan 2 sene sonra relaps gözleendiği belirtilmektedir.

Çalışmamızda 115 hastanın hepsine t(12;21)(p13;q22) tespit etmek için FISH analizi uygulanmıştır. FISH analiz sonucunda hastaların 16 (%13,9)'sında TEL/AML1 füzyonu tespit edilmiştir. Literatür değerleri ile benzer sonuç elde edilmiştir. Hastaların tümü B-prekürsör ALL immüfenotipine sahipti ve beyaz küre sayısı >50.000/mm<sup>3</sup>'ün üzerinde olan hasta yoktu. Bazı çalışmalarda t(12;21)(p13;q22) ile B-prekürsör ALL tanılı hastaları arasındaki iyi prognoz ilişkisinin istatistiksel olarak önemli ve bağımsız

bir faktör olduğu gösterilmiştir, böylece bu füzyonu taşıyan hastalara daha az yoğun tedaviler uygulanabileceği önerilmektedir (47, 48, 49, 60). Füzyonu taşıyanlarda relaps sıklığı değişken olmasına karşılık genellikle uzun bir remisyon periyodundan sonra, %20 olarak tanımlanmıştır. 1980-1991 yılları arasında Dana Farber Kanser Merkezinde uygulanan ALL protokolü ile, TEL/AML1 t(12;21) füzyonu olan 22 hastanın hiçbirinde relaps gözlenmezken (53), BFM (Berlin-Frankfurt-Münster) klinik çalışmasında füzyonun görülme sıklığına benzer oranda % 20-24 hastada relaps gözlendiği belirtilmektedir (54, 55). Çin’ de yapılan 75 ALL tanılı çocukta yapılan çalışmada TEL/AML1 pozitif ALL hastasındaki relaps oranının TEL/AML1 negatif ALL hastaları ile benzer olduğu ancak TEL/AML1 pozitif ALL hastalarında ilk tam remisyonunda kalma süresinin (ortalama 48,6 ay) TEL/AML1 negatif ALL hastalarından (ortalama 14,6 ay) önemli ölçüde uzun olduğu görülmüştür. Relaps oranlarının benzer olması, TEL/AML1 pozitif ALL hastalarında daha az agresif tedavilerin uygulanmaması gerektiğini düşündürmektedir (56). Yine Fransa’da yapılan bir çalışmada ETV6/RUNX1 pozitif olan hastalarda relaps oranının füzyon negatif olan hastalarinkine benzer oranda (%19.4) görüldüğünü ancak relapsların geç (36 aydan sonra) olduğunu ve tekrar remisyonla girmelerinin hızlı olduğunu belirtmektedir (50). Bazı çalışmalarda ise füzyon pozitif veya negatif hastaların prognozu arasında anlamlı bir fark gösterilememiştir (51,52).

Çalışmamızda, TEL/AML1 füzyonuna sahip olan 16 hastadan en uzun süre takibi olan hastanın tedavisi bitmiş durumdadır ve remisyonudadır (takip süresi 96 ay). Hastaların hiçbirinde relaps gözlenmemiştir. Sadece bir hastanın sepsis nedeni ile *excitus* olduğu gözlenmiştir. Çocukluk çağı ALL tanılı ve aynı zamanda ETV6/RUNX1 füzyon pozitifliği bulunan 368 hasta ile yapılan bir çalışmada genel ve olaysız sağkalım oranları %96 ve %86 olarak saptanmıştır (57). Çalışmamızda TEL/AML1 füzyonuna sahip hastaların genel ve olaysız sağkalım oranları her iki sağkalım için de eşit (%92.3) olarak saptanmıştır. TEL/AML1 pozitif olan hastaların toplamında 1 *excitus* mevcut olup olaysız sağkalımı etkileyecek relaps durumu olmadığından oran eşit bulunmuştur. Çalışmamızda TEL/AML1 füzyon pozitifliği olan hastaların sağkalım oranı tüm hastaların sağkalım oranına (%72.2) göre daha yüksek bulunmuş olmasına rağmen istatistiksel bir anlamlılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Ancak diğer FISH aberasyonları ile

karşılaştırıldığında relaps oranını belirgin az saptanmış ve bu sonuç istatistiki olarak da anlamlı bulunmuştur. Ayrıca TEL/AML1 füzyon pozitif dışındaki tüm aberasyonlar yüksek risk grubunu belirlemekte idi ve aradaki fark istatikselsel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Tüm bu veriler ile birlikte çalışmamız, TEL/AML1 füzyon pozitifliğinin iyi prognoz olduğunu kuvvetle desteklemektedir.

Literatürde AML1 geninde amplifikasyon, ilk olarak Niini ve ark. tarafından 2000 yılında tanımlanmıştır (58). Bu çalışmada 112 ALL hastasında FISH analizi ile AML1 geninde en az bir ekstra kopya görülme oranı %33 olarak verilmektedir. Yine başka bir çalışmada AML1 amplifikasyon sıklığını %26.5 olarak belirtilmektedir. Bu ekstra kopyaların çoğu trizomi21 ve tetrazomi21 olarak gösterilmiştir (60). AML1 genindeki ekstra kopyalar, normal gen ürününde düzensizliğe yol açar ve sonuçta ALL patogenezinde katkıda bulunur (59). Her ne kadar bazı çalışmalar AML1 gen düzensizliğinin ALL'li hastalarda prognoz üzerine olan etkisi ile ilgili bir fikir beyan etmese de bazı çalışmalarda kötü prognoz olarak belirtilmektedir (57, 61, 62, 63). Meksika'da yapılan bir çalışmada ALL tanılı ve aynı zamanda RUNX1 ekstra kopyası saptanan 86 hasta incelenmiştir. Bu hastaların büyük çoğunluğu 6-15 yaş arasında, beyaz küre sayısı  $<100.000/mm^3$ , B-prekürsor ALL immünofenotipinde ve 3 ila 8 arasında ekstra runx1 kopyasının saptandığı belirtilmiştir. En sık görülen ekstra kopyanın 21.kromozomda olduğu belirtilmiştir. 86 hastadan 69'u takipte kalmış. 69 hastanın 21'inde relaps veya *excitus* olduğu tespit edilmiş. Her ne kadar 36 aydan daha kısa bir takip süresine sahip olsalar da bu veriler RUNX1 amplifikasyonunun kötü prognoz olduğunu desteklemektedir. Ancak kesin sonuca ulaşabilmek için daha uzun bir takip süresinin gerektiği, RUNX1' in biyolojik önemini anlayabilmek için daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (61).

Çalışmamızda, literatürle uyumlu olarak TEL/AML1 probu ile FISH analizi yapılan 115 hastanın 29 (%25,2)' unda AML1 geninde amplifikasyon saptandı. Bu hastalarda erkek/kız oranı 1.4 ve tüm hastalar 1-10 yaş arasında idi. Hastaların %89,7' sinin beyaz küre sayısı  $<50.000/mm^3$  olarak belirlendi. Hastaların %86,2' si B-prekürsor ALL, %10,3' ü T- hücreli ALL, %3,4' ü bifenotipik ALL olarak saptandı. Bu veriler de literatür ile uyumlu idi. Meksika'da yine bir çalışmada incelenen 8 RUNX1

amplifikasyonlu hastaların, erkek hakimiyetinde olduğu, ortalama yaşın 9,5 yaş olduğu, düşük beyaz küre sayısının saptandığı belirtilmiştir. Bu 8 hastadan sadece 1'inde relaps ve buna bağlı *excitus* gerçekleşmiş, diğer 7 hasta halen hayatta ve remisyonda olarak saptanmış; ortalama 50 ay (14-114 ay) izlenmiştir. RUNX1 proteinin birçok neoplastik hematopoetik hastalık üzerinde anahtar lökogenetik bir role sahip olduğu kesin olsa da RUNX1 amplifikasyonundaki spesifik rolü henüz tam olarak bilinmemektedir (68). RUNX1 amplifikasyonun bağımsız bir risk faktörü olup olmadığını ve RUNX1 amplifikasyonu olan hastalarda spesifik bir tedavi rejimi gereksinimini belirlemek için daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmektedir (68).

Çalışmamızda AML1 amplifikasyonu olan 29 hastanın 5 (%17,2)' i relaps, 3 (%10,3)'ü *excitus* (2'si relaps olan hastalar) olarak saptandı. Olaysız sağkalım süresi polizomi 21 olan hastalar için  $69,3 \pm 7,7$  ay (%54,7) olarak saptandı. Bu standart risk grubu sağkalım süresinden kısa idi. Çalışmamızda relaps sayısının daha fazla olması ve sağkalım süresinin daha kısa olması, AML1 amplifikasyonunun orta-kötü prognoz olarak düşündürmektedir. FISH analiz sonucu normal olan hastalarla karşılaştırıldığında sağkalım süresi yine daha düşük olmasına rağmen aralarında istatistiksel anlamlılık bulunamadı.

Literatürde TEL/AML1 füzyon oranı, AML1 amplifikasyonu olanlarda olmayanlara göre daha az oranda tanımlanmıştır. AML1 amplifikasyonu olanlarda füzyon sıklığı %18 iken, ekstra kopya taşımayanlarda %33 oranında tespit edilmiştir. Çalışmamızda AML1 amplifikasyonu olan 29 hastanın 3 (%10,3)'ünde TEL/AML1 füzyonu pozitifliği saptanmıştır. Bu sonuç AML1 amplifikasyonu olanlarda TEL/AML1 füzyon pozitifliğinin daha az görüldüğü yorumunu desteklemektedir. Bizim çalışmamızda füzyon pozitif olup polizomi 21 (trizomi 21) olan 3 hastadan 2'si remisyonda olup relaps saptanmamıştır, 1'inde ise relaps ve sonrasında *excitus* gerçekleşmiştir. Bu durum TEL/AML1 füzyon pozitifliğinin diğer kromozomal aberasyonlardan etkilenmeden bağımsız değişken olduğunu desteklemektedir.

Alvarez ve ark. (2005), t(12;21)(p13;q22) ye sahip çocukluk dönemi B-prekürsör ALL' li 56 hastada translokasyonla ilişkili sitogenetik ve moleküler

değişiklikler ve bunların hastaların sağkalımı üzerine etkisini araştırmıştır. 1991-2002 yılları arasında 6 farklı merkezden B-prekürsör ALL' li TEL/AML1 füzyon tespit edilen 56 hastanın 24'ünde (%42,9) normal ETV6 (TEL) allelinde kayıp ve bunların 3'ünde RUNX1 (AML1) geninde ekstra sinyal gözleendiği bildirilmiştir. RUNX1 geninde ekstra sinyal 56 hastanın 11' inde (%19,6) gözlenmiştir.

Dört yıllık period içerisinde hastaların füzyona ilave olarak normal ETV6 allel kaybı, ekstra RUNX1 sinyalinin varlığı ve füzyon geninde duplikasyonun etkisi ayrı ayrı incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ETV6/RUNX1 gen düzenlemesine sekonder değişikliklerin hastaların prognozunda etkili olmaması, t(12;21)' in prognostik değerinin değişken olmadığı ve ETV6/RUNX1 gen düzenlemesinin iyi prognozu göstermede bağımsız bir gösterge olduğu görüşünü desteklemektedir (64).

Attarbashi ve ark. (2004), yaptığı çalışmada ise ETV6/RUNX1 gen düzenlemesinin prognostik değerinin RUNX1 geninde ekstra sinyal veya füzyon geninde duplikasyondan etkilenmediği, ancak normal ETV6 allelinde kaybın kötü prognoz ile birlikte olduğu bildirilmektedir (65). Füzyona sahip hastalarda normal TEL allelin delesyon sıklığı %8,6-%87,5 aralığında verilmektedir (60, 64, 66).

Çalışmamızda 16 (%13,9) hastada ETV6/RUNX1 füzyon mevcuttu. Füzyona sahip olan bu hastalardan 4 (%25)'ünde normal TEL allelin delesyonu saptanmıştır ve bu hastaların hiçbirinde relaps ya da *excitus* görülmemiştir. ETV6/RUNX1 füzyon negatif hastalardan 3' ünde TEL allel delesyonu mevcuttu; bu 3 hastadan 2 (%75)'sinin *excitus* olduğu saptandı. Bu sonuç Attarbashi ve ark. (2004), yaptığı çalışmada olduğu gibi, ETV6/RUNX1 füzyonu olmaksızın TEL allel delesyonunu varlığının ALL hastalarında prognozu kötü yönde etkilediğini düşündürmektedir.

Çocukluk çağı ALL' de %5 sıklıkta görülen t(1;19)(q23;p13)'e bizim çalışmamızda 1 (%1,5) hastada tespit edilmiştir. Ülkemizde ALL tanılı hastalarda (44 yeni tanı, 12 relaps ALL) yapılan bir araştırmada t(1;19)' a hiç rastlanmamıştır (67). Bu nedenle çalışmamızdaki t(1;19)' nun hastalarımızda az sayıda saptanmasının nedeni olarak coğrafi ve ırksal farklılıklar olduğu düşünülebilir. t(1;19) daha çok Japonya'dan

bildirilmekte ve daha çok beyaz ırk dışında tanımlanmaktadır. Önceleri olumsuz olduğu düşünülen prognoz, modern yoğun tedavi ile özellik göstermemektedir (9, 114). Ancak bizim t(1;19)' lu hastamız relaps olup *excitus* ile sonlandı.

Çalışmamız, çocukluk çağı lösemilerinde sitogenetik ve FISH analizlerinin, klinik tanı ve takipteki önemini bir kez daha ortaya koymuş, FISH uygulamalarının kromozomal düzensizlik açısından veri kapsamını arttırdığını belirgin olarak göstermiştir. BCR/ABL füzyon pozitifliği bağımsız yüksek risk faktörü olarak bir kez daha doğrulanmıştır. ETV6/AML1 füzyon pozitifliği olan hastalarda hiç relaps görülmemesi ve sağkalım sürelerinin daha uzun olması ile iyi bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir. TEL delesyonu tek başına kötü prognoz olarak etki ederken TEL/AML1 füzyonu ile birlikte olan hastalarda hiç relaps ya da *excitus* saptanmaması TEL/AML1 füzyonunun sekonder değişikliklerden etkilenmeden bağımsız iyi prognostik faktör olduğunu kuvvetle desteklemektedir. Polisomi 21 varlığı 115 serilik bu çalışmada ALL' li hastalarda orta-kötü prognostik etki yaptığı saptanmıştır. Bu hastaların relaps oranları yüksek ve sağkalım süreleri kısa olarak saptandı.

## 6. SONUÇLAR

1. Çalışmamız, Ocak 2005 ve Kasım 2013 tarihleri arasındaki sürede, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji Bilim Dalında ALL tanısı ile izlenen ve genetik analiz için Pediatrik Genetik Tanı Laboratuvarlarında kemik iliği ve/veya periferik kan örnekleri (blast invazyonu % 20'nin üstünde olan) çalışılan 115 hastada retrospektif olarak gerçekleştirildi.

2. Hastaların 63 (%54,8)'ü erkek, 52 (%45,2) si kızdı.

3. Hastaların ortanca yaşı 60 ay olarak saptandı. İki yaş altında 15 (%13,1) hasta, 2-10 yaş arasında 75 (%65,2) hasta, 10 yaş ve üzerinde 25 (%21,7) hasta mevcuttu. Bir yaşın altında 3 (%2,6) hasta saptandı.

4. Hastaların %54,8'inde lökositöz belirlendi; belirgin artmış lökosit sayısı ( $\geq 50.000/mm^3$ ) ise hastaların %18,3'ünde vardı. Bu hastaların %23,8'i *excitus* olarak saptandı.

5. Hastaların 94 (%81,7)'ü B-prekürsor ALL, 14 (%12,2)'ü T-hücreli ALL, 4 (%3,5)'ü bifenotipik ALL, 3 (%2,6)'ü infantil lösemi olarak saptandı.

6. Hastaların 54 (%47)'ü standart risk, 61(%53)'i yüksek risk olarak saptandı.

7. Metafaz elde edilen 98 hastanın 61 (%62,2)'inde sitogenetik analiz sonucu normaldi, 37 (%37,7)'sinde ise sitogenetik aberasyon olduğu saptandı. Sadece metafaz sayısı optimal olan hastalar incelendiğinde sitogenetik aberasyon oranı %54,4 olarak saptandı.

8. Hastaların 14 (%37,8)'ünde hiperdiploidi saptandı. En yaygın kromozom kazancı 4, 14 ve 21. kromozomlar idi. Hipodiploidi saptanan 1(%1) hasta vardı.

9. t(9;22) translokasyonu 4 (%3,4) hastada saptandı.

**10.** İnfantil lösemili hastalarda MLL gen düzenlemesi sıklığı %66,6 idi. 3 infantil lösemili hastanın 2'sinde MLL etkilenimi hem sitogenetik hem de FISH analizi ile gösterildi. Bir hastaya MLL geni bakılmamıştı.

**11.** t(1;19)(q23;p13) translokasyonu saptanan 1 hasta mevcuttu.

**12.** del(6q) saptanan 8 (%6,9) hasta mevcuttu.

**13.** Miks lösemili 4 hastadan 1'inde normal karyotip, diğer 3 hastada farklı kromozomal aberasyonlar saptandı; 1'inde t(12;17)(p13.32;q12), 1'inde der(1), 1'inde del(6q) saptandı.

**14.** Hastaların 55 (%47,8)'inde FISH analiz sonucu normal, 60 (%52,2)'inde FISH aberasyonu olduğu saptandı.

**15.** Hastaların 29 (%25,2)'unda Polizomi 21, 16 (%13,9)'sında TEL/AML1 füzyon pozitifliği, 4 (%3,5)'ünde BCR/ABL füzyon pozitifliği ve 11 (%9,6)'inde diğer aberasyonlar saptandı.

**16.** FISH analizinde saptanan diğer aberasyonlar: 3 hastada trizomi22; 2 hastada trizomi 9 dup 9q34; 2 hastada del TEL , 1 hastada del TEL + trizomi 9, dup (9q34); 1 hastada del 21; 1 hastada MLL rearrangement ve 1 hastada BCR/ABL poliploidi + ETV6/RUNX1 füzyon pozitif 'near' hiperdiploidi+ MLL rearrangement olarak belirlendi.

**17.** TEL/AML1 füzyon pozitifliği olan hastaların 4(%25)'ünde TEL allelinde delesyon saptandı. Tek başına TEL delseyonu 3 hastada mevcuttu.

**18.** TEL/AML1 füzyon pozitifliği ile polizomi 21 birlikteliği 3 (%10.3) hastada saptandı.

**19.** TEL/AML1 füzyonu saptanan hastaların tümü B-prekürsör ALL immünofenotipine sahip, erkek/kız oranı 1.3 idi; tüm hastalar 1-10 yaş arasında ve %6.2'sinin beyaz küre sayısı >50.000/mm<sup>3</sup> idi.



20. Polizomi 21 saptanan hastaların %86,2'si B prekürsör, %10,3'ü T hücreli ALL, erkek/kız oranı 1.4 idi; tüm hastalar 1-10 yaş arasında ve %10,3'ünün beyaz küre sayısı  $>50.000/\text{mm}^3$  idi.

21. BCR/ABL pozitifliği saptanan hastaların tümü B-prekürsör ALL, erkek/kız oranı eşit, %50'si 10 yaşın üzerinde, %25 'nin beyaz küre sayısı  $>50.000/\text{mm}^3$  idi.

22. Sitogenetik aberasyonu olan 37 hastadan 10 (%27)'unda *excitus* saptandı; 9 (%24,3)'unda ise relaps mevcuttu.

23. FISH aberasyonu olan 60 hastanın 9 (%15)'unun relaps, 10 (%16,7)'un *excitus* (5'i relaps olan hastalar); FISH analiz sonucu normal olan 55 hastanın 6 (%10,9)'sının relaps, 6 (%10,9)'sının *excitus* (5'i relaps olan hastalar) olduğu saptandı

24. Polizomi 21 olan 29 hastanın 5 (%17,2)'i relaps, 3 (%10,3)'ü *excitus* (2'si relaps olan hastalar) olarak saptandı.

25. TEL/AML1 füzyon pozitifliği olan 16 hastada relaps olan yoktu, *excitus* olan 1(%6,3) hastanın da sepsis nedeni ile *excitus* olduğu saptandı.

26. BCR/ABL füzyon pozitifliği olan 4 hastanın 2 (%50)'si *excitus*, 1 (%25)'i relaps olarak saptandı.

27. Diğer aberasyonu olan hastalardan 4(%36.3)'ünde *excitus*, 3(%27.3)'ünde relaps saptandı. Bu grupta relaps-*excitus* oranlarının yüksek olmasında TEL allel delesyonunun ve MLL gen yeni yapılanmasının katkısı olduğu belirlendi. del TEL olan 3 hastadan 2(%66.6)'si *excitus*, 1(%33.3)'i relaps olarak saptandı. MLL gen yeni yapılanması olan bir hasta relaps ve *excitus* idi.

28. TEL/AML1 füzyon pozitifliği ile birlikte olan del TEL hastalarının hiçbirinde relaps ya da *excitus* saptanmadı.

29. Tüm hastaların genel ve olaysız sağkalım oranları sırası ile %78.8 ve %72.2 olarak belirlendi.

**30.** Polizomi 21 saptanan hastaların olaysız sağkalım oranı %54,7,

**31.** TEL/AML1 füzyon pozitif olan hastaların olaysız sağkalım oranı %92,3 idi.

**32.** BCR/ABL füzyon pozitif olan hastaların olaysız sağkalım oranı %33,3 idi.

**33.** Diğer aberasyonların olaysız sağkalım oranı %26 idi.

**34.** Çalışmamızda BCR/ABL füzyon pozitifliği bağımsız risk faktörü olarak bulundu.

**35.** Hastaların 53 (%46)'ü ALL-IC BFM 2002 protokolünü, 62 (%53,9)'si ALL-IC BFM 2009 protokolünü aldığı saptandı.

**36.** ALL-IC BFM 2002 protokolünü alan hastaların genel ve olaysız sağkalım süreleri ALL-IC BFM 2009 protokolünü alan hastalarinkinden anlamlı olarak düşük saptandı ( $p<0,05$ ).

**37.** Çalışmamız, çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemide sitogenetik ve FISH analizlerinin, klinik tanı ve takipteki önemini ortaya koymuş; özellikle FISH uygulamalarının kromozomal düzensizlik açısından veri kapsamını arttırdığını belirgin olarak göstermiştir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Kliegman, Stanton, Geme, Schor, Behrman. Nelson Textbook of Pediatrics, 19th Edition, Elsevier. 2011; 1694-1696
2. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. CA Cancer J Clin. 2008; 58:71.
3. McNeil DE, CotéTR, Clegg L, Mauer A. SEER update of incidence and trends in pediatric malignancies: Acute Lymphoblastic Leukemia. Med Pediatr Oncol. 2002;39:554.
4. Ünal S, Tuncer AM. Lösemide epidemiyoloji, tanısal yaklaşım ve sınıflandırma. Katkı pediatri dergisi: Lösemiler. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü Yayını. 2004; 338-349.
5. Buffler PA, Kwan ML, Reynolds P, Urayama KY. Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence. Cancer Invest. 2005;23:60.
6. Yakut T. Çocukluk çağı lösemilerinde sitogenetik ve moleküler çalışmaların akılcı planlanması. *Türk Çocuk Hematoloji Dergisi*. 2007; 1: 38-39.
7. Nordgren A, Schoumans J, Söderhall S, Nordenskjöld M, Blennow E. Interphase fluorescence in situ hybridization and spectral karyotyping reveals hidden genetic aberrations in children with acute lymphoblastic leukemia and a normal banded karyotype. Br J Haematol 2001; 114:786-793.
8. Raimondi SC, Mathew S. Conventional cytogenetic techniques in the diagnosis of childhood acute lymphoblastic leukemia. Methods Mol Biol 2003; 220: 73-82.
9. Soycan LY. Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL). Anak S, Aydoğan G, Çetin M et al (eds). *Pediatric Hematoloji*. İstanbul Tıp Kitabevi, 1.Baskı, İstanbul, 2011; 597-610.

10. SEER Cancer Statistic Review, 1973-1999. National Cancer Institute, Bethesda, MD, 2000. P.467.
11. Svendsen AL, Feychting M, Klaeboe L, Langmark F, Schüz J. Time trends in the incidence of acute lymphoblastic leukemia among children 1976-2002: a population-based Nordic study. *J Pediatr.* 2007;151:548.
12. Dores GM, Devesa SS, Curtis RE, et al. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001-2007. *Blood.* 2012; 119:34.
13. Arceci RJ, Hann IM, Smith OP, et al. *Pediatric Hematology* 3th ed Malden, Massachusetts Blackwell 2006; pp 450-481.
14. Greaves MF. Speculations on the cause of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 1988;2:120-125.
15. Oğur G. Kanser, kromozomlar ve genler. *Türkiye Klinikleri J. Pediatr.Sci.*, 2005; 1: 73-92.
16. Tunalı, A. Kan hastalıkları. İç hastalıkları'nda, Dördüncü baskı, Editör: Öbek A. 1990; 769-773.
17. Gurney JG, Bondy ML. Epidemiologic research methods and childhood cancer. In: *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, 4th ed, Pizzo PA, Poplack DG (Eds), Lippincott-Raven, Philadelphia 2001. p.13.
18. Feychting M, Ahlbom A. Magnetic fields and cancer in children residing near Swedish high-voltage powers lines. *Am. J. Epidemiol.*, 1993; 138; 467-481.
19. Linet MS, Hatch EE, Kleinerman RA, Robison LL. Residential exposure to magnetic fields and acute lymphoblastic leukemia in children. *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337; 1-7.

20. Greaves M. Darwin and evolutionary tales in leukemia. *Hematology* 2009;1:3-12
21. Haferlach T, Kern W, Schnittger S, Schoch C. Modern diagnostics in acute leukemias. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2005 ;56:223-234.
22. Redner A. Leukemias. Lanskowsky P (ed). In *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*, 4th ed. Burlington, San Diego London, Elsevier Academic Press, 2005;14:415-452.
23. Haferlach T, Bacher U, Kern W, Schnittger S, Haferlach C. Diagnostic pathways in acute leukemias: a proposal for a multimodal approach. *Ann Hematol.* 2007;86:311-327.
24. McNeil N, Ried T. Novel molecular cytogenetic techniques for identifying complex chromosomal rearrangement: technology and applications in molecular medicine. *Expert Rev. Mol. Med.* 2000, 1-14.
25. Yılmaz E. İnsan moleküler genetiği için araçlar. Tıbbi genetik (çeviri)'de, Altıncı baskı, Editörler: Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Güneş kitapevi, 2005. 33-49.
26. Lee DY, Cho HI, Kang YH, Yun SS, Park SY, Lee YS, Kim Y, Lee DS. The role of fluorescence in situ hybridization (FISH) for monitoring hematologic malignancies with BCR/ABL or ETO/AML1 rearrangement: a comparative study with FISH and G-banding on 919 consecutive specimens of hematologic malignancies. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 2004. 152; 1-7.
27. Tanaka K, Arif M, Eguchi M, Shintani T, Kumaravel TS, Asaoku H, Kyo T, Dohy H, Kamada N. Interphase fluorescence in situ hybridization overcomes pitfalls of G- banding analysis with special reference to underestimation of chromosomal aberration rates. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1999. 115; 32-38.

28. Camitta BM. Childhood Leukemias by C-H Pui MD (ed); Cambridge University Press; 1999, 567 pages. *Leukemia*. 2000 ;14:1332.

29. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976 ;33:451-458.

30. Margolin JF, Karen RR, Steuber CP, Poplack DG. Acute Lymphoblastic Leukemia. Pizzo PA, Poplack DG. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, 6th edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2011; 518-566.

31. Pui C-H. Immunophenotyping. In: *Childhood Leukemias*, Second edition, Cambridge University Press, New York, 2006:150-209.

32. Bain BJ, Barnett B, Linch D, Matutes E, Reilly JT. Revised guideline on immunophenotyping in acute leukaemias and chronic lymphoproliferative disorders. *Clinical & Laboratory Haematology*, 2002; 24; 1-13.

33. Okur H, Tuncer AM. Akım sitometrisi (flow cytometry) ile lösemide immünofenotiplendirme. *Katkı pediatri dergisi: Lösemiler*, Editörler, Kale G, Tuncer A M, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü Yayını, 2004:364-371.

34. Pui C-H, Behm FG, Crist WM. Clinical and biological relevance of immunologic marker studies in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1993;82; 343-362.

35. Bene MC, Castoldi G, Knapp W. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia*,1995: 1783-1786.

36. Sun T, Sangaline R, Ryder I. Gating strategy for immunophenotyping of leukemia and lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 1997. 108; 152-157.
37. Behm FG, Raimondi SC, Schell MJ. Lack of CD45 antigen on the blast cells in childhood acute lymphoblastic leukemia is associated with chromosome hyperdiploidy and other favorable prognostic features. *Blood*, 1992;79; 1011-1016.
38. Borowitz, M. J., Hunger, S. P. Carroll, A. J. Predictability of the t(1;19)(q23;p13) from surface antigen phenotype: implications for screening cases of childhood acute lymphoblastic leukemia for molecular analysis: a Pediatric Oncology Group study, *Blood*, 1993: 82; 1086-1091.
39. Koehler M, Behm FG, Shuster J. Transitional pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia of childhood is associated with favorable prognostic clinical features and an excellent outcome: a Pediatric Oncology Group study. *Leukemia*, 1993;7; 2064-2068.
40. Kutluk T, Yeşilipek A. Turkish national pediatric cancer registry 2002-2008 (Turkish Pediatric Oncology Group and Turkish Pediatric Hematology Society). *Pediatric Blood Cancer* 2009;53:851.
41. Pui C-H ve Crist WM. Acute lymphoblastic leukemia. In: Pui C-H, ed. *Childhood Leukemias*. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.p. 288-312.
42. Pui CH, Sandlund JT, Pei D, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIIIIB at St Jude Children's Research Hospital. *Blood* 2004; 104:2690.
43. 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.
44. Zen PR, Capra ME, Silla LM, Loss JF, Fernandes MS, Jacques SM, Paskulin GA. *ETV6/RUNX1* fusion lacking prognostic effect in pediatric patients

with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2009;188; 112-117.

45. Aldrich MC, Zhang L, Wiemels JL, Ma X, Loh ML, Metayer C, Selvin S, Feusner J, Smith MT, Buffler PA. Cytogenetics of Hispanic and White children with acute lymphoblastic leukemia in California. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15; 578-581.

46. Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Tanaka K, Hamamoto K, Ohki M, Ueda K, Kamada N. Fluorescence in situ Hybridization Analysis of 12;21 Translocation in Japanese Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Jpn. J. Cancer Res.*, 1998;89; 783-788.

47. Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 2008; 371:1030-1043.

48. A. Borkhardt, G. Cazzaniga, S. Viehmann, M.G. Valsecchi, W.D. Ludwig, L. Burci, S. Mangioni, M. Schrappe, H. Riehm, F. Lampert, G. Basso, G. Masera, J. Harbott, A. Biondi Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica and the Berlin-Frankfurt-Münster Study Group. Incidence and clinical relevance of *TEL/AML1* fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials *Blood*, 1997; 90; 571–577.

49. M.L. Loh, M.A. Goldwasser, L.B. Silverman, W.M. Poon, S. Vattikuti, A. Cardoso, D.S. Neuberg, K.M. Shannon, S.E. Sallan, D.G. Gilliland Prospective analysis of *TEL/AML1*-positive patients treated on Dana-Farber Cancer Institute Consortium Protocol 95-01 *Blood*, 2006;107; 4508–4513.

50. Gandemer V, Chevret S, Petit A, Vermylen C, Leblanc T, Michel G, Schmitt C, Lejars O, Schneider P, Demeocq F, Bader-Meunier B, Bernaudin F, Perel Y, Auclerc MF, Cayuela JM, Leverger G, Baruchel A; FRALLE Group. Excellent prognosis of late relapses of *ETV6/RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: lessons from the FRALLE 93 protocol. *Haematologica.* 2012;97:1743-1750.



51. Hann I, Vora A, Harrison G, Harrison C, Eden O, Hill F, Gibson B, Richards S; UK Medical Research Council's Working Party on Childhood Leukaemia. Determinants of outcome after intensified therapy of childhood lymphoblastic leukaemia: results from Medical Research Council United Kingdom acute lymphoblastic leukaemia XI protocol. *Br J Haematol* 2001;95:103–114.
52. Pui CH, Sandlund JT, Pei D, Campana D et al. Evans Total Therapy Study XIIIIB at St Jude Children's Research Hospital. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIIIIB at St Jude Children's Research Hospital *Blood*, 2004;104; 2690–2696.
53. McLean TW, Ringold S, Neuberg D, Stegmaier K et al. TEL/AML1 dimerizes and is associated with a favorable outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 1996;88; 4252-4258.
54. Harbott J, Viehmann S, Borkhardt A, Henze G, Lampert F. Incidence of TEL/AML1 fusion gene analyzed consecutively in children with acute lymphoblastic leukemia in relapse, *Blood*, 1997; 90; 4933-4937.
55. Seeger K, Buchwald D, Taube T, Peter A et al. Berlin-Frankfurt-Munster Study Group. TEL/AML1 positivity in relapsed B cell precursor acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Leukemia*, 1999;13; 1469-1470.
56. Tsang KS, Li CK, Chilk KW, Shing MMK, Tsoi WC et al. TEL/AML1 rearrangement and the prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukemia in Hong Kong. *Am. Jour.Haem.*, 2001;68; 91-98.
57. Moorman AV, Ensor HM, Richards SM, et al. 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; 11:429.

58. Niimi T, Kanerva J, Vettenranta K, Saarinen-Pihkala UM, Knuutila S. AML1 gene amplification: a novel finding in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2000; 85; 362-366.
59. Garcia-Casado Z, Cervera J, Verdeguer A, Tasso M et al. High-level amplification of the RUNX1 gene in two cases of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2006;170; 171-174.
60. Martinez-Ramirez A, Urioste M, Contra T, Cantalejo A, Tavares A, Portero JA, Lopez-Ibor B, Bernacer M, Soto C, Cigudosa JC, Benitez J. Fluorescence in situ hybridization study of TEL/AML1 fusion and other abnormalities involving TEL and AML1 genes. Correlation with cytogenetic findings and prognostic value in children with acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2001;86:1245-1253.
61. Pérez-Vera P, Montero-Ruiz O, Frías S, Rivera-Luna R et al. Multiple copies of RUNX1: description of 14 new patients, follow-up, and a review of the literature. *Cancer Genet Cytogenet*. 2008;180:129-134.
62. Harewood L, Robinson H, Harris R, Jabbar M et al. Amplification of *AML1* on a duplicated chromosome 21 in acute lymphoblastic leukemia: a study of 20 cases. *Leukemia*, 2003; 17; 547–553.
63. Robinson HM, Broadfield CJ, Cheung K, Harewood L et al. Amplification of *AML1* in acute lymphoblastic leukemia is associated with poor outcome. *Leukemia*, 2003;17; 2249–2250.
64. Alvarez Y, Coll MD, Ortega JJ, Bastida P, Dastugue N, Robert A, Cervera J, Verdeguer A. Genetic abnormalities associated with the t(12;21) and their impact in the outcome of 56 patients with B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2005;162; 21-29.
65. Attarbashi A, Mann G, König M, Dworzak MN et al. on behalf of the Austrian Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) Cooperative Study Group. Incidence and

relevance of secondary chromosome abnormalities in childhood TEL/AML1 + acute lymphoblastic leukemia: an interphase FISH analysis. *Leukemia*, 2004; 18, 1611-1616.

66. Kempfski HM, Sturt NT. The TEL/AML1 fusion accompanied by loss of the untranslocated TEL allele in B-precursor acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Leuk. Lymphoma*. 2000;40; 39-47.

67. Salper N. Çocukluk çağı lösemilerinde translokasyonların polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile belirlenmesi ve prognostik önemi. İstanbul, yan dal uzmanlık tezi.1998.

68. Reichard KK, Kang H, Robinett S. Pediatric B-lymphoblastic leukemia with RUNX1 amplification: clinicopathologic study of eight cases. *Modern pathology*. 2011; 24, 1606-1611.

69. Scandura JM, Boccuni P, Cammenga J, Nimer SD. Transcription factor fusions in acute leukemia: Variations on a theme. *Oncogene*, 2002;21; 3422-3444.

70. Chessells JM, Swansbury GJ, Reeves B, Bailey CC, Richards SM. Cytogenetics and prognosis in childhood lymphoblastic leukemia: results of MRC UKALL X. *Br. J. Haematol*. 1997; 99; 93-100.

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

72. Sönmez, Y. Çocukluk çağı akut lösemi ve lenfomalarında kromozomal düzensizlikler. Erzurum, Uzmanlık Tezi, 1992.

73. Lee DY, Cho HI, Kang YH, Yun SS, Park SY, Lee YS, Kim Y, Lee DS. The role of fluorescence in situ hybridization (FISH) for monitoring hematologic malignancies with BCR/ABL or ETO/AML1 rearrangement: a comparative study with FISH and G-banding on 919 consecutive specimens of hematologic malignancies. *Cancer Genet. Cytogenet*. 2004;152; 1-7.

74. Forestier E, Johansson B, Borgström G, Kerndrup G, Johannsson J. Cytogenetic findings in a population-based series of 787 childhood acute lymphoblastic leukemias from the Nordic countries. *Eur. J. Haematol.* 2000;64; 194-200.
75. Huret JL, Dessen P, Bernheim A. An atlas of chromosomes in hematological malignancies. Example: 11q23 and MLL partners. *Leukemia.* 2001;15; 987-989.
76. Borkhardt A, Wuchter C, Viehmann S, Pils S, Teigler-Sclegel A et al. Infant acute lymphoblastic leukemia-combined cytogenetic, immunophenotypical and molecular analysis of 77 cases. *Leukemia.* 2002;16; 1685-1690.
77. Heerema NA, Sather HN, Sensel MG, Lee MK et al. Clinical significance of deletions of chromosome arm 6q in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group, *Leuk. Lymphoma.* 2000;36; 467-478.
78. Mazloumi SH, Kumari P, Madhumathi DS, Appaji L. Rare and recurrent chromosomal abnormalities and their clinical relevance in pediatric acute leukemia of south Indian population. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2012; 33: 166–169.
79. Hofmann R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B et al. Clinical manifestations of acute lymphoblastic leukemia. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*, Fourth edition, Ed(s), Berg, L, S., Steuber, C, P., Poplack, D. G. Elsevier press, Philadelphia. 2005:1155-1160.
80. Haltrich I, Csóka M, Kovács G, Fekete G. Cytogenetic and FISH findings are complementary in childhood ALL. *Magy Onkol.* 2008;52:283-291.
81. McGregor S, McNeer J, Gurbuxani S. Beyond the 2008 World Health Organization classification: the role of the hematopathology laboratory in the diagnosis and management of acute lymphoblastic leukemia. *Semin Diagn Pathol.* 2012;29:2-11.
82. Moorman AV, Ensor HM, Richards SM, Chilton L, Schwab C, Kinsey SE, Vora A, Mitchell CD, Harrison CJ. 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;11:429-438.

83. Gil EA, Lajus TBP, Fernandes AL, Alves GVA. Banding cytogenetic analysis in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in a Brazilian population. *Mol Cytogenet.* 2013; 6: 37.

84. Safaei A, Shahryari J, Farzaneh MR, Tabibi N, Hosseini M. Cytogenetic findings of patients with acute lymphoblastic leukemia in fars province. *Iran J Med Sci.* 2013;38:301-307.

85. Artigas ACG, Cabrera CME, Melo AA, Páez FE et al. Frequency of TEL/AML1 and BCR/ABL fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia. *Rev Med Chil.* 2006 ;134:1367-1376.

86. Heim S, Mitelman E. Chromosomal and molecular aberrations of tumor cells. In: *Cancer cytogenetics*, Second edition, John Wiley and Sons, New York.1995.

87. Pui C-H, Behm FG, Downing JR, Hancock ML et al. 11q23/MLL rearrangement confers a poor prognosis in infants with acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.*1994;12: 909- 915.

88. Tanaka K, Arif M, Eguchi M, Shintani T et al. Interphase fluorescence in situ hybridization overcomes pitfalls of G- banding analysis with special reference to underestimation of chromosomal aberration rates. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1999;115: 32-38.

89. Rubnitz JE, Link MP, Shuster JJ, Carroll AJ, Hakami N, Frankel LS, Pullen DJ, Cleary ML. Frequency and prognostic significance of HRX rearrangements in infant acute lymphoblastic leukemia: a pediatric Oncology Group study. *Blood.* 1994; 84: 570-573.

90. Chen CS, Sorensen PHB, Domer PH, Reaman GH, Korsmeyer SJ, Heerema N, Hammond GD, Kersey JH. Molecular rearrangements on chromosome 11q23

predominate in infant acute lymphoblastic leukemia and are associated with specific biologic variables and poor outcome. *Blood*. 1993;81: 2386-2393.

91. Fletcher JA, Lynch EA, Kimball VM et al. Translocation (9;22) is associated with extremely poor prognosis in intensively treated children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1991;77: 435-439.

92. Kosaka Y, Koh K, Kinukawa N, Wakazono Y, Isoyama K, Oda T et al. Infant acute lymphoblastic leukemia with MLL gene rearrangements: outcome following intensive chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2004; 12:3527-3534.

93. Pulte D, Gondos A, Brenner H. Trends in survival after diagnosis with hematologic malignancy in adolescence or young adulthood in the United States, 1981-2005. *Cancer*. 2009;115:4973-4979.

94. Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2004;350:1535-1548.

95. Uzunhan TA, Karakaş Z. Çocukluk Çağı Akut Lenfoblastik Lösemisi. *Çocuk Dergisi*. 2012; 12: 6-15.

96. Amare PS, Baisane C, Saikia T, Nair R, Gawade H, Advani S. Fluorescence in situ hybridization: a highly efficient technique of molecular diagnosis and predication for disease course in patients with myeloid leukemias. *Cancer Genet. Cytogenet*. 2001;131: 125-134.

97. Smith M, Arthur D, Camitta B, Carroll AJ, Crist W, Gaynon P et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 1996;14:18-24.

98. Reaman G, Zeltzer P, Bleyer WA, Amendola B, Level C, Sather H, Hammond D. Acute lymphoblastic leukemia in infants less than one year of age: a

cumulative experience of the Children's Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 1985;3:1513-1521.

99. Pui CH, Boyett JM, Relling MV, et al. Sex differences in prognosis for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 1999 ;17:818-824.

100. Shuster JJ, Wacker P, Pullen J, et al. Prognostic significance of sex in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol.* 1998 ;16: 2854-2863.

101. Crist W, Grosse C, Pullen J et al. Immunologic markers in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Sem. Oncol.* 1985;12: 105-121.

102. Kadan-Lottick NS, Ness KK, Bhatia S, et al. Survival variability by race and ethnicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *JAMA.* 2003;290:2008-2014.

103. Miller DR, Leikin S, Albo V, et al. Use prognostic factors in improving the design and efficiency of clinical trials in childhood leukemia: Children's Cancer Study Group Report. *Cancer Treat Rep.* 1980;64:381-392.

104. Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet.* 2008;371:1030-1043.

105. Pui CH, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 2006;354:166-178.

106. Schultz KR, Pullen DJ, Sather HN, et al. Risk- and response-based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children's Cancer Group (CCG). *Blood* 2007; 109:926.

107. Jones LK, Saha V. Philadelphia positive acute lymphoblastic leukaemia of childhood. *Br J Haematol.* 2005; 130:489.

108. Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*. 1970; 243: 290-293.
109. Propp S, Lizzi FA. Philadelphia chromosome in acute lymphocytic leukemia. *Blood*. 1970; 36: 353-360.
110. Romana SP, Le Coniat M, Berger R. t(12;21): a new recurrent translocation in acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosom. Cancer*. 1994; 9: 186- 191.
111. Golub TR, Barker GF, Bohlander SK, et al. Fusion of the TEL gene on 12p13 to the AML1 gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92:4917.
112. Kwong YL. Low frequency of TEL/AML1 in adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet*. 1997; 98: 137-8.
113. Harris M, Shuster JJ, Carroll AA, Look T, Borowitz MJ, Crist WM, Nitschke R, Pullen J, Steuber CP, Land VJ. Trisomy of leukemic cell chromosomes 4 and 10 identifies children with B-progenitor cell acute lymphoblastic leukemia with a very low risk of treatment failure: A Pediatric Oncology Group Study. *Blood*. 1992; 79: 3316-3324.
114. Pui CH, Raimondi SC, Hancock ML, et al. Immunologic, cytogenetic, and clinical characterization of childhood acute lymphoblastic leukemia with the t(1;19) (q23; p13) or its derivative. *J Clin Oncol* 1994; 12:2601.
115. Heerema NA, Nachman JB, Sather HN, Sensel MG, Lee MK, Hutchinson R, Lange BJ, Steinherz PG, Bostrom B, Gaynon PS, Uckun F. Hypodiploidy with less than 45 chromosomes confers adverse risk in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the children's cancer group. *Blood*. 1999;94:4036-4045.



116. Trueworthy R, Shuster J, Look T, Crist W, Borowitz M, Carroll A, Frankel L, Harris M, Wagner H, Haggard M, et al. Ploidy of lymphoblasts is the strongest predictor of treatment outcome in B-progenitor cell acute lymphoblastic leukemia of childhood: a Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 1992;10:606-613.

117. 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;18:1876-1887.

118. Pui CH, Carroll AJ, Head D, Raimondi SC, Shuster JJ, Crist WM, Link MP, Borowitz MJ, Behm FG, Land VJ, et al. Near-triploid and near-tetraploid acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Blood.* 1990;76:590-596.