

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**ÇOCUKLUK ÇAĞI LÖSEMİLERİNDE
KROMOZOM ANALİZLERİ VE
FLORESAN İN SİTU HİBRİDİZASYON ÇALIŞMALARI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehtap ADAR

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Gönül OĞUR

SAMSUN

2008

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**ÇOCUKLUK ÇAĞI LÖSEMİLERİNDE
KROMOZOM ANALİZLERİ VE
FLORESAN İN SİTU HİBRİDİZASYON ÇALIŞMALARI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehtap ADAR

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Gönül OĞUR

SAMSUN

2008

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında katkı ve yardımlarıyla yanımda olan, bir bilimsel çalışmanın ne demek olduğunu, zamanın en verimli nasıl kullanılabileceğini, özveri ile çalışmanın ne demek olduğunu öğrendiğim saygıdeğer hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Gönül OĞUR' a, bu süreç boyunca her ne zaman yardıma ihtiyacım olduğunda yardımını esirgemeyen, manevi olarak desteğini hissettiğim saygıdeğer Prof. Dr. Feride DURU' ya, hasta popülasyonumun sağlanmasında emeği geçen başta Doç. Dr. Tunç FIŞGIN olmak üzere Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı öğretim üyesi tüm hocalarıma, çocuk hekimi olarak yetişmemde katkıları olan, başta bölüm başkanımız saygıdeğer Prof. Dr. M. Kemal BAYSAL olmak üzere tüm hocalarıma, beş yıllık uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm doktor, hemşire ve yardımcı personel arkadaşlarıma, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Tıbbi Genetik asistanlarından başta Dr.Berk ÖZYILMAZ olmak üzere tüm Tıbbi Genetik asistanlarına, bu uzun süreç boyunca uyum ve huzur içinde çalıştığımız Pediatrik Genetik Laboratuvarında emeği geçen herkese, bugünlere ulaşmamda büyük emek harcayan aileme sonsuz teşekkürler...

Tez dönemi boyunca yardımlarını esirgemeyen eşime ve varlığı ile mutluluk kaynağımız olan oğlumuza sonsuz teşekkürler...

ÖZET

Dr.Mehtap Adar, Uzmanlık Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 2008

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

Bu çalışmada, lösemi tanısı alan pediatrik hasta popülasyonunda, kemik iliği sitogenetik analizleri ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) çalışmaları ile lösemi alt gruplarına özgün genetik belirteçlerin saptanması ve bu verilerin klinik, immünolojik, hematolojik ve morfolojik parametrelerle ilişkisinin ve prognostik önemlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma, Ocak 2005 ve Ocak 2007 tarihleri arasındaki 24 aylık sürede, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji Bilim Dalında izlenen, ve genetik analiz için Pediatrik Genetik Tanı Laboratuvarlarına yönlendirilen 39 hastada prospektif olarak yürütülmüştür. Kemik iliğinin sitogenetik inceleme için hazırlanmasında “Direkt”, “MTX senkronizasyon” ve “İnkübasyon” metodları uygulanmış, periferik kan analizlerinde ise kemik iliğinde uygulanan metodlara ek olarak “konvansiyonel” yöntem kullanılmıştır.

Çalışmada 29 hastada 43 FISH analizi uygulandı. 18 ALL tanılı hastaya TEL/AML1 probu, 3 infantil lösemi tanılı hastaya MLL probu, 6 ALL tanılı hastaya BCR/ABL probu, 3 miks lösemi tanılı hastaya BCR/ABL probu, 6 AML tanılı hastaya MLL probu, 6 AML tanılı hastaya inv(16) probu ve 1 KML tanılı hastaya BCR/ABL probu uygulandı.

Çalışmamızda 20 **ALL tanılı hastanın** 19’ unda sitogenetik sonuç alındı ve bunların 8’ inde (%42) **kromozomal aberasyon** saptandı. FISH analizi ile elde edilen veriler eklendiğinde **ALL de kromozomal aberasyon oranı %78 olarak belirlendi.** %15,8 oranında **hiperdiploidi** (>50 kromozom) saptandı. Bu grupta en yaygın kromozom kazancınının 14, 20 ve 21. kromozomlar olduğu gözlemlendi. Hipodiploidi (35-45 kromozom) ise belirlenemedi. Sitogenetik analiz ve 2 hastadaki FISH çalışmaları ile ALL tanılı hastaların %10,5’ unda MLL gen düzenlemesi saptandı. FISH analizi ile ALL tanılı hastalarda TEL/AML1 füzyonu %27,8’ inde ve AML1 geninde

amplifikasyon %38,9' unda saptandı. FISH analizi ile AML1 geninde amplifikasyon saptanan hastalarda TEL/AML1 füzyonu yoktu. Kötü prognostik faktör kabul edilen MLL gen düzenlemesi olan hastaların, kısa süre içerisinde kaybedildiği (2 ve 3 ay) tesbit edildi. TEL/AML1 füzyonuna sahip olanlarda ise sağkalım sürelerinin göreceli uzun olduğu (en uzun süre takip edilen hasta için 21 ay) görüldü.

AML tanılı hastalarda kromozomal aberasyon oranını %66,7 olarak saptandı. Sitogenetik analiz ve 2 hastadaki FISH çalışmaları ile AML tanılı hastalarda MLL gen düzenlemesi oranı %22,2 olarak bulundu. Sitogenetik analiz ile AML tanılı hastalarda t(8;21) sıklığı %22 olarak tesbit edildi. MLL delesyonu olan bir hastanın kısa süre içinde (4 ay) kaybedildiği görüldü.

İnfanıl lösemi tanılı hastalarda MLL gen düzenlemesi üç hastanın tümünde tesbit edildi. İki hasta tanıdan sonra kısa sürede kaybedildi (2. ve 3. ayda), diğer bir hastada 8. ayda relaps gelişti.

8 mikslösemi tanılı hastanın 7' sinde sitogenetik sonuç alındı. **Mikslösemi** tanılı hastalar değerlendirildiğinde hastaların birinde 11q23 düzensizliği, bir diğerinde Ph1 pozitifliği, 3' ünde normal karyotip, 1' inde t(9;11)(q34;q13), birinde 12p delesyonu saptandı.

KML tanısı alan bir hastamızın sitogenetik analizinde **Ph1 kromozomu** tesbit edildi ve FISH analizinde de füzyon gösterildi.

Çalışmamızda t(1;19)(q23;p13) ve inv(16) saptanmadı.

Çalışmanın sonucunda lösemi hastalarında sitogenetik incelemelerin, diagnostik katkıları yanında prognostik değer de taşıdığı görüldü. Sitogenetik analizlerin yetersiz kaldığı füzyon gen tesbitinde, kriptik düzensizliklerin tesbitinde ve de özellikle mitotik indeksin düşük olduğu durumlarda, FISH analizi ile anlamlı tamamlayıcı veriler elde edilir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Lösemi, sitogenetik analiz, FISH, prognoz

ABSTRACT**Mehtap Adar, MD, Residency Thesis****Ondokuz Mayıs University, 2008**

Childhood leukemia is the commonest form of childhood cancer and represents clonal proliferation of transformed hematopoietic cells as a result of genetic changes. Genetic alterations in childhood leukemia are powerful prognostic indicators.

The aim of this study was to define genetic markers that are specific subgroups of leukemia by cytogenetic analysis of bone marrow/peripheral blood specimens and by fluorescence in situ hybridization (FISH) studies and to correlate these data with clinical, immunological, hematologic and morphologic parameters in pediatric patients with hematologic malignancies.

The study was conducted prospectively between January 2005 and January 2007 and included 39 patients referred to pediatric genetic laboratory for genetic studies by the Department of Pediatric Hematology at Ondokuz Mayıs University.

Bone marrow aspirates were prepared by 'Direct', 'MTX (Methotrexate) synchronization' and 'incubation' methods for cytogenetic analysis. Peripheral blood was analyzed with the same methodology as bone marrow in addition to the conventional method.

In this work 43 FISH analysis performed on 29 patients. For 18 ALL patient TEL/AML1 probe, 3 infantile leukemia patient MLL probe, 6 ALL patient BCR/ABL probe, 3 mixed leukemia patient BCR/ABL probe, 6 AML patient MLL probe, 6 AML patient inv(16) probe and 1 KML patient BCR/ABL probe were used.

Cytogenetic results were obtained in 19 out of 20 **ALL patients** and 8 patients **(42%) had chromosomal aberrations**. The addition of FISH analysis increased **chromosomal aberration rate of ALL to 78%**. Hyperdiploidy (>50 chromosome) was present in 15,8% of ALL cases and the most common chromosome gains were 14, 20 and 21. We did not detect any hypodiploidy (chromosomes 35-45). With cytogenetic analysis of all patients and FISH analysis of two patients; 10,5% of ALL patients showed MLL gene rearrangement. FISH analysis of ALL patients showed 27,8% TEL/AML1 fusion and 38,9% AML1 amplification. In the patients showing AML1

amplification there were no TEL/AML1 fusion with FISH analysis. The survival rate of patients having MLL gene rearrangement, a known poor prognostic factor, was reduced (2 and 3 months). Patients having TEL/AML1 fusion had relatively longer survival (twenty one months for the patient having the longest follow up period).

We found **chromosomal aberration rate as 66,7% in AML patients**. With cytogenetic analysis of all patients and FISH analysis of two patients; 22,2% of AML patients showed MLL gene rearrangement. Cytogenetic analysis of AML patients revealed 22% t(8;21). One patient with MLL deletion died in a very short period (four months).

MLL gene rearrangement was detected in all 3 **infant leukemia patients**. The survival of two patients was poor (two and three months). Relapse occurred at eighth month in another patient.

Cytogenetics results were obtained in 7 out of 8 mixed leukemia patients. Evaluation of **mixed leukemia** patients yielded 11q23 translocation in one, Ph1 positivity in one, normal karyotype in three, t(9;11)(q34;q13) in one, 12p deletion in another patient.

Cytogenetic analysis of the only **CML** patient revealed **Ph1** chromosome and fusion was shown via FISH analysis.

We did not detect any t(1;19)(q23;p13) and inv(16) in our study population.

Briefly we suggest that cytogenetic and FISH analyses have a diagnostic value as well as prognostic impacts in childhood leukemia. FISH analysis is critical for detecting cryptic rearrangements and fusion transcripts, especially in cytogenic studies with low mitotic index.

KEY WORDS: Leukemia, cytogenetic analysis, FISH, prognosis

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
AML	: Akut myeloblastik lösemi
ANNL	: Akut non lenfoblastik lösemi
APL	: Akut promiyelositik lösemi
AT	: Ataksi Telenjiektazi
BCR	: "Breakpoint cluster region"
BCR-ABL	: "Breakpoint Cluster Region-Abelson"
BFM	: Berlin-Frankfurt-Munster
CBF	: AML1 ve CBF β içeren bir heterodimerik transkripsiyon faktörü
Cdc	: Hücre bölünme döngüsü
Cdk protein	: Siklin bağımlı kinaz proteini
cDNA	: Komplementer DNA
cen	: Sentromer
c-onc	: Konakçı hücrenin DNA dizileri
CSF-1	: Koloni stimüle edici faktör-1
cyCD3	: Hücre içi CD3
del	: Delesyon
der	: Derivatif kromozom
dic	: Disentrik kromozom
DMS	: Çift minik kromozomlar
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dup	: Duplikasyon
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
EGIL	: "European Group for the Immunological Characterization of Leukemia"
FAB	: "French-American-British"
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
G-CSF	: Granülosit-Koloni Stimüle Edici Faktör

GDP	: Guanozin di fosfat
GTP	: Guanozin tri fosfat
HD	: Histon deasetilaz
HSR	: Homojen boyanma bölgeleri
Ig	: Immünglobulin
IGF-1	: Insuline benzer büyüme faktörü
i	: İzokromozom
ins	: İnsersiyon
inv	: İversiyon
JMML	: Jüvenil myelomonositer lösemi
KLL	: Kronik Lenfoid Lösemi
KML	: Kronik myeloid lösemi
mar	: Belirteç kromozom
MDS	: Myelodisplastik sendrom
MLL	: "Mixed lineage leukemia "
MMR	: "Mismatch repair"
NCoR	: Nükleer ko-represör kompleks
NF1	: Nörofibromatosis tip 1
p	: Kromozomun kısa kolu
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyon
PDGF	: Trombosit kökenli büyüme faktörü
Ph1	: "Philadelphia"
PLZF	: "Promyelocytic zinc finger"
Pol	: Polimeraz enzimi
q	: Kromozomun uzun kolu
RARE	: Retinoik asit cevap elementleri
RAR α	: Retinoik asit reseptör α
RNA	: Ribonükleik asit
RSV	: Rous sarkoma virüs
RXR	: Retinoid X reseptör
sCD3	: Yüzey CD3
SEER	: "Surveillance Epidemiology End Results"

SJCRH	: "St. Jude Children's Research Hospital"
SPSS	: "Statistical Package For Science Studies"
SRC-1	: Histon asetilaz aktiviteli koaktivatör
t	: Translokasyon
TCR	: T hücre reseptör
TSG	: Tümör baskılayıcı genler
v-abl	: "Murine abelson leukemia virus"
VHL	: "Von Hippel- Lindau"
v-onc	: Viral onkogen
v-sis	: Simian sarkoma virüs
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

TABLO LİSTESİ

		Sayfa No
Tablo-1	Bazı malignensi örneklerinde kromozom translokasyonlarının özellikleri	12
Tablo-2	Tümör baskılayıcı genlerin ürünlerinden bazıları	14
Tablo-3	Akut lenfoblastik lösemilerde FAB sınıflaması	18
Tablo-4	Akut myeloid lösemilerde FAB sınıflaması	18
Tablo-5	Akut lösemi tanısı için antikor paneli	19
Tablo-6	Akut Lenfoblastik Löseminin immünolojik sınıflandırması	21
Tablo-7	AML FAB alt tipleri ile immünolojik yüzey işaretleyiciler	22
Tablo-8	EGIL puanlama sistemi	23
Tablo-9	AML gelişimine yatkınlık oluşturan faktörler	26
Tablo-10	Çocukluk B-prekürsör ALL’inde sitogenetik risk grupları	28
Tablo-11	Çocukluk ALL’inde risk faktörleri	29
Tablo-12	Uzun süreli remisyona ilişkili özellikler	29
Tablo-13	Akut myeloid lösemide WHO sınıflandırması	31
Tablo-14	AML alt tiplerinin, kromozomal anomaliler ve klinik/laboratuvar özellikleri ile ilişkileri	32
Tablo-15	Akut myeloid lösemili hastalarda sitogenetik risk grupları	43
Tablo-16	ALL, AML ve KML olgularında spesifik sitogenetik aberasyonlar, ilişkili lösemi tipleri ve genler	45
Tablo-17	ALL, AML ve KML olguları ile ilişkili izokromozomlar	47
Tablo-18	ALL, AML ve KML olguları ile ilişkili inversiyonlar	47
Tablo-19	ALL olguları ile ilişkili duplikasyonlar	47
Tablo-20	ALL ve AML olguları ile ilişkili delesyonlar	47
Tablo-21	ALL ve AML olguları ile ilişkili sayısal anomaliler	48
Tablo-22	Hastaların lösemi tiplerine göre başvuru anındaki yaşları	58
Tablo-23	Hastaların immünofenotip ve morfoloji sonuçlarına göre dağılımı	59
Tablo-24	Hastaların başvuru esnasındaki lökosit değerleri	60
Tablo-25	Hastalardaki başvuru anındaki lökositöz ve lökopeni oranları	60

XII

Tablo-26	ALL tanılı hastaların sitogenetik analiz sonuçları	60
Tablo-27	Miks lösemi tanılı hastaların sitogenetik analiz sonuçları	61
Tablo-28	AML tanılı hastaların sitogenetik analiz sonuçları	62
Tablo-29	KML tanılı hastanın sitogenetik analiz sonuçları	63
Tablo-30	‘TEL/AML1’ Probu ile yapılan FISH analizi sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağ kalım ayları	63
Tablo-31	“LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe” ile yapılan FISH analizi sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım ayları	64
Tablo-32	“LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe” ile yapılan FISH analizi sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım ayları	65
Tablo-33	“MYH11 (16p13.1) Breakpoint Region Probe” ile yapılan FISH analizi sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım ayları	66

ŞEKİL LİSTESİ

		Sayfa No
Şekil-1	Hücre döngüsü ve kültürdeki bir insan hücresinde, tam bir hücre döngüsünün her bir evresi için harcanan süre	3
Şekil-2	Viral genom	7
Şekil-3	Hücre döngüsü ve sinyal ileti yolları	9
Şekil-4	Hematopoetik hiyerarşi	16
Şekil-5	CBF, AML1 ve CBF β içeren bir heterodimerik transkripsiyon faktörüdür. AML1 direkt olarak DNA ile ilişkilidir. CBF'nin transaktivasyon potansiyeli, DNA ile direkt ilişkili olmayan CBF β 'nin bağlanması ile artırılır	36
Şekil-6	CBF füzyonları, histon deasetilazın (HD) da dahil olduğu nükleer co-represör kompleks (NCoR) üzerinde dominant negatif inhibitör olarak rol alır. HD inhibitörleri terapotik amaçlı olarak klinik çalışmalarda araştırılmaktadır	37
Şekil-7	MLL gen bölgesi ve MLL gen düzenlemesine eşlik eden kromozom bölgeleri	40
Şekil-8	Hastaların cinsiyet ve yaşa göre dağılımı	58
Şekil-9	Hastaların yaş ve lösemi tipine göre dağılımı	59

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
TEŞEKKÜR	III
TÜRKÇE ÖZET	IV
İNGİLİZCE ÖZET (Abstract)	VI
KISALTMALAR	VIII
TABLO LİSTESİ	XI
ŞEKİL LİSTESİ	XIII
İÇİNDEKİLER	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. HÜCRE DÖNGÜSÜ VE KANSER BİYOLOJİSİ	3
2.2. MİTOZ BÖLÜNME	4
A)Profaz	4
B)Prometafaz ve metafaz	4
C)Anafaz	5
D)Telofaz	5
2.3. HÜCRE DÖNGÜSÜ GENETİK OLARAK DÜZENLENMEKTEDİR	5
2.4. DÖNGÜDEKİ KONTROL NOKTALARI	5
2.4.1. G1/S kontrol noktası	5
2.4.2. G2/M kontrol noktası	6
2.4.3. M kontrol noktası	6
2.5. TÜMÖR OLUŞUMU VE GENETİK FAKTÖRLER	6
2.5.1. RAUS SARKOMA VİRÜSÜ TÜMÖRE NASIL YOLAÇAR?	6
2.6. İNSAN VE KANSER GENLERİ	8
2.6.1. ONKOGENLER	8
A)Salgılanan ve hücre membranının dış yüzeyinde bulunan proteinler	8
B)Hücre membranının iç yüzeyinde veya sitoplazmada bulunan onkoproteinler	10
C)Nukleusta lokalize olan onkoproteinler	10
2.6.2. TÜMÖR BASKILAYICI GENLER	13
2.6.3. DNA TAMİR GENLERİ (MISMATCH REPAIR GENES)	15
2.7. HEMATOPOEZ	15
2.8. LÖSEMİLER	16
2.9. LÖSEMİLERDE SINIFLANDIRMA	17

2.9.1. MORFOLOJİK SINIFLAMA (FAB Sınıflaması)	17
2.9.2. İMMÜNOFENOTİPİK SINIFLAMA	18
1. a) B hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi	19
1. b) T hücre Akut Lenfoblastik Lösemi	21
2. Akut Myeloid Lösemi	22
3. Akut Miks Lösemi	22
4. Akut Farklılaşmayan (Undiferansiye) Lösemi	23
2.10. LÖSEMİLERDE EPİDEMİYOLOJİ	23
2.11. LÖSEMİLERDE YAŞ VE CİNSİYET	24
2.12. LÖSEMİLERDE ETİYOLOJİ	24
2.13. ALL'DE PROGNOSTİK FAKTÖRLER	26
2.15. AML'DE PROGNOSTİK FAKTÖRLER	29
2.16. KRONİK MYELOİD LÖSEMİ	33
2.17. LÖSEMİLERDE PROGNOSTİK ÖNEMİ OLAN KROMOZOM ANOMALİLERİ	34
2.17.1. Philadelphia kromozomu(Ph1) ve translokasyon t(9;22)(q34;q11) sonucu oluşan BCR-ABL(Breakpoint Cluster Region-Abelson proto-onkogeni) füzyon geni	34
2.17.2. Translokasyon (8;21)(q22;q22) sonucu oluşan AML1-ETO füzyon geni	35
2.17.3. Retinoik asit reseptör translokasyonları	37
2.17.4. İnversiyon (16)(p13q22) sonucu oluşan CBFβ-MYH 11 füzyon geni(core binding factor β gene-smooth muscle myosin heavy chain gene)	39
2.17.5. 11q23 Translokasyonları	40
2.17.6. Translokasyon (12;21)(p13;q22) sonucu oluşan TEL/AML1 füzyon geni	42
2.18. KLİNİK PRATİKTE GENETİK İNCELEME	43
2.18.1. AKUT MYELOİD LÖSEMİ	43
2.18.2. AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ	44
2.19. FISH (Floresan in situ hibridizasyon) Uygulamaları	49
3. HASTALAR VE YÖNTEM	51
3.1. Kemik iliğinin Sitogenetik İnceleme İçin Hazırlanması	51
A-Kemik İliği “Direkt” Metodu	52
B-Kemik İliği “MTX senkronizasyon” Metodu	52
C-Kemik İliği “İnkübasyon” Metodu	52
3.2. Periferik Kanın Sitogenetik İnceleme İçin Hazırlanması	53
3.3. Konvansiyonel Sitogenetik Analiz Amaçlı Boyama İşlemi	53

3.4. FISH METODU	54
3.4.1. Kullanılan Problar	54
3.4.2. Probların Tanımlanması	54
A-TEL/AML1 probu	54
B-BCR/ABL probu	55
C-MLL probu	55
D-İNV(16) probu	56
3.4.3. FISH (Floresan in situ hibridizasyon) Metodu	56
3.4.4. FISH SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	57
3.5. ETİK ONAY	57
3.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	57
4. BULGULAR	58
4.1. Hastaların cinsiyet ve yaşa göre dağılımı	58
4.2. Hastaların yaş ve lösemi tipine göre dağılımı	58
4.3. Hastaların immünofenotip ve morfoloji sonuçlarına göre dağılımı	59
4.4. Hastaların başvuru esnasındaki lökosit değerleri	60
4.5. Hastaların sitogenetik analiz sonuçları	60
4.6. Materyallerden elde edilen metafaz sayısı	63
4.7. Hastalara uygulanan FISH analizi (TEL/AML1 probu ile) sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım süreleri	63
4.8. Hastalara uygulanan FISH analizi (BCR/ABL probu ile) sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım süreleri	64
4.9. Hastalara uygulanan FISH analizi (MLL probu ile) sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım süreleri	65
4.10. Hastalara uygulanan FISH analizi (İNV(16) probu ile) sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım süreleri	66
4.11. Lösemili hastalar	67
5. TARTIŞMA	109
6. SONUÇLAR	122
7. KAYNAKLAR	124

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çocukluk çağı kanserlerinde, akut lösemiler tüm yeni vakaların %25-30' unu oluşturmaktadır. Santral sinir sistemi tümörleri, akut lösemilerden sonra en sık ikinci malignite olarak yer almaktadır. Daha sonra sırayla, lenfoma, nöroblastoma, Wilms tümörü, yumuşak doku sarkomları ve kemik tümörleri çocukluk çağının sık kanserleri olarak öne çıkmaktadır. Ülkemizde çocukluk çağı lösemi insidansı 100.000'de 1,5' dir (173).

Lösemilerde; radyasyon, kimyasal maddeler, genetik yatkınlık, bazı kalıtsal hastalıklar ve kimi virüslerin sorumluluğu bilinmekle birlikte, gerek erişkin gerekse çocukluk çağı lösemilerinin kesin nedenleri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Sayısal ya da yapısal kromozomal düzensizlikler genelde çocukluk çağı lösemilerinin başlangıcındaki ya da hastalığın gelişimindeki ilk olaylardır. Özellikle son zamanlarda sitogenetik, floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve moleküler yöntemler kullanarak saptanabilen hastalığa özgü bu genetik değişikliklerin, hastalığın tanısı, tedaviye yanıtın izlenmesi ve prognozun değerlendirilmesi açısından rolleri artmıştır (183).

Çocukluk çağı ALL'lerinde t(9;22)(q34;q11) BCR-ABL, 11q23 (MLL) ve t(1;19)(q23;p13) E2A-PBX1 translokasyonları çeşitli çalışmalarda değişmekle birlikte sırasıyla %2, %2-6 ve %2' ler civarında saptanmaktadır ve kötü prognoz belirtisini oluştururlar. t(12;21)(p13;q22) TEL-AML1 (B-ALL' lerde %25 civarında saptanır) ve t(8;14)(q24;q32) MYC-IGH yapısal değişimleri ise iyi prognozla ilişkilendirilmektedir. t(12;21)' in sitogenetik olarak saptanması oldukça güç olduğundan FISH veya moleküler yöntemlerle analizi gerekmektedir (183).

Çocukluk çağı AML' lerinde t(8;21)(q22;q22) ETO-AML, t(15;17)(q22;q11-21) PML-RAR α ve inv(16)(p13;q22) CBF β -MYH 11 gibi yapısal anomaliler AML alt tiplerinde farklı oranlarda görülürler ve tanısız değer taşırlar. Yine monozomi 7, monozomi 5, del 7q31 ve del (5q) anomalileri çeşitli alt tiplerde ve farklı oranlarda görülürler ve kimi zaman kötü prognoz belirtisini oluştururlar (183).

Kronik myeloid lösemi (KML) ve Kronik lenfoid lösemi (KLL) adolesanlarda nadir oranlarda görülmektedir. Erişkinlerdeki gibi, KML' de BCR-ABL füzyon geni varlığı, KLL' de ise p53, retinoblastoma (Rb) gen delesyonları, 11q22.3 ve 12.

kromozoma ait sayısal anormallikler daha spesifik anomaliler olup hastalık takibinde önemli yeri olan yeni düzenlemelerdir (183).

Çocukluk çağı lösemilerinde yaş, lökosit sayısı, immünofenotiplendirme gibi verilerin yanısıra lösemili hücrede karyotip tayini de önemli bir prognostik değer taşımaktadır. Sitogenetik analizler tedavi öncesi ve sonrası izlemlerin yanı sıra çocukluk çağı lösemilerinde yeni hedef genlerin keşfinde de önemli yer tutmaya başlamıştır (183).

Kromozomal anomalilerin saptanmasında en klasik ve en değerli yöntemlerden olan sitogenetik analizlerde, laboratuvarlar arasında değişmekle birlikte, %20-40 arasında kültüre bağlı başarısızlıklar görülmekte, ayrıca 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 (183).

Ülkemizde pediatrik yaş grubu lösemi hastalarında kısıtlı sayıda sitogenetik inceleme yapıldığı dikkati çekmektedir. FISH çalışmaları ise yok denecek kadar azdır.

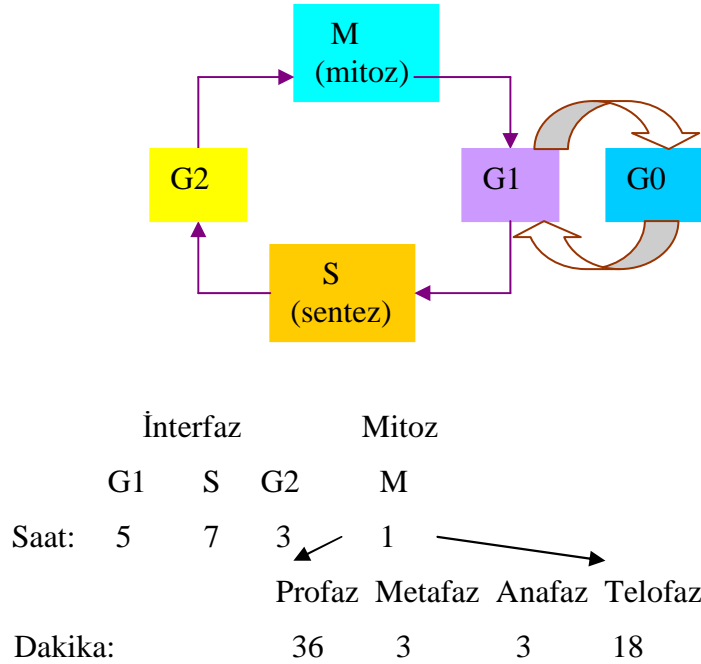
Bu çalışmanın amacı; çocukluk çağı lösemi hastalarında sitogenetik ve FISH incelemeleri ile lösemilere özgün kromozomal düzensizlikleri saptamak ve bu verilerin tanı ve alt grup tanımlamasına, remisyon ve relaps değerlendirmelerine katkılarını ve prognostik değerlerini belirlemektir. Bunun yanında yöntemlerin fakültemizde rutin hasta hizmetine sunulması ve farklı neoplazilerde daha sonra gerçekleştirilebilecek benzer çalışmalar için de örnek teşkil etmesi hedeflenmiştir. Bu temelde Ocak 2005 ve Ocak 2007 tarihleri arasındaki 24 aylık sürede, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Hematoloji Bilim Dalında Lösemi tanısı alan 39 hastanın tanı anındaki kemik iliği ve/veya periferik kan materyalleri Çocuk Genetik Laboratuvarlarında çalışılmış ve sitogenetik sonuçlar ile hastanın klinik durumu ve prognoz ilişkisi incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. HÜCRE DÖNGÜSÜ VE KANSER BİYOLOJİSİ

Hücre döngüsünü oluşturan süreç, hücrede bir bölünmenin tamamlanmasından bir sonraki bölünmeye kadar geçen olaylar dizisidir. Normal dokularda, hücrenin bölünerek sayısını arttırması, organizmanın o andaki ihtiyacının uzantısı olan bir fonksiyondur. Hücrede, gereğinde çoğalma hızı azaltılır veya hücre ölümü hızlandırılır ve böylece, uygunsuz hücre artışları önlenmiş olur. Hücre bölünmeleri arasındaki dönemde (interfaz) ise DNA'nın replikasyonu gerçekleştirilir. DNA'nın sentezlendiği bu döneme S fazı denilmektedir (179).

Hücre döngüsü konusundaki invitro çalışmalar, hücre döngüsünün tamamının yaklaşık 16 saatlik bir süreyi kapsadığını, mitoz bölünmenin bunun yaklaşık bir saatlik bir kısmını içerdiğini, interfazın S ve G2 evre uzunluklarının çeşitli hücre tipleri arasında oldukça sabit olduğunu, ve en çok çeşitliliğin G1 evresinde harcanan zamanı ilgilendirdiğini göstermiştir (179).



Şekil 1. Hücre döngüsü ve kültürdeki bir insan hücresinde, tam bir hücre döngüsünün her bir evresi için harcanan süre

Hücre döngüsü ve DNA replikasyonu dış uyarılar sonucu başlatılan bir seri fazdan geçer ve bu olaylar hem dış hem de iç büyüme faktörleri tarafından düzenlenir; bu esnada bazı genler ve proteinler hücre siklusu boyunca senkronize bir şekilde aktifleştirilir ve sonra gereğinde inaktifleştirilirler. Hücre döngü sürecinde, **G0 fazı (istirahat fazı)** nda hücreler genellikle spesifik bir işlevi görmek üzere programlanır. **G1 fazı (ara faz, interfaz)** nda spesifik hücre fonksiyonları için gereken proteinler ve RNA sentezlenir; geç G1 fazında bol miktarda RNA sentezlenir ve DNA sentezi için gereken birçok enzim üretilir. **G2 fazı**'nda DNA sentezi durur, protein ve RNA sentezi devam eder; mitotik iğlerin mikrotübüler prekürsörleri üretilir. **M fazı (mitoz)**' nda ise protein ve RNA sentez hızı aniden yavaşlar ve genetik materyal oluşan iki yeni hücreye dağılır. Mitozu takiben oluşan yeni hücreler ya G0 ya da G1 fazına girerler (179).

Hücre çoğalması ve çoğalmanın kontrolünde G1 evresinin rolü büyüktür, G1'in geç bir döneminde hücreler ya döngüden çıkarak G0 dinlenme evresine girer ya da DNA sentezini başlatarak döngüyü tamamlar. G0'a giren hücreler canlı ve metabolik olarak aktif kalırlar fakat çoğalamazlar. Kanser hücreleri belirgin bir şekilde G0'a girmekten kaçınırlar ve burayı çok hızlı bir şekilde geçerler. Diğer hücreler G0'a girerler ve hücre döngüsüne tekrar katılmazlar (179).

2.2. MİTOZ BÖLÜNME

G1, S ve G2 evreleri tamamlandıktan sonra mitoz bölünme başlar. Mitoz bölünmenin evreleri,

A)Profaz: İlk olay “sentrozom” adı verilen farklılaşmış sitoplazma bölgesinde iki çift sentriolün oluşması ve hücrenin zıt uçlarına doğru hareket etmesidir. Sentrioller sitoplazmik mikrotübüllerin iğ iplikleri şeklinde organizasyonundan sorumludur. Kutuplara göçten sonra çekirdek zarı yıkılır, çekirdekçik de çekirdek içinde dağılır. Kromatin yoğunlaşmaya başlar, zaman içerisinde kromozomlar görünür hale gelir. Her bir kromozom sentromer denilen tek bir boğum noktası hariç, boylu boyunca ayrılmış bir çift yapı olarak görülür; bu durumdaki kromozomun her bir parçasına “kromatid” denir (kardeş kromatid).

B)Prometafaz ve metafaz: Kromozomlar hücrenin ekvatoryal düzlemine doğru hareket ederler. Metafazın bitiminde kromozomlar, sentromerleri ile metafaz plağı boyunca dizilmiştir.

C)Anafaz: Bu evrede her bir çift kromozomal yapıdaki kardeş kromatidler birbirinden ayrılır ve hücrenin zıt uçlarına doğru geç ederler, artık her bir kromatid yavru kromozom olarak adlandırılır.

D)Telofaz: Mitozun son evresi olup her bir kutupta iki kromozom takımı vardır. En önemli olay, sitoplazmanın bölünmesi ya da ayrılması anlamına gelen **sitokinez**dir. Sitoplazma ortadan bölünür, sonuçta iki hücre oluşur. Geç telofaz aşamasında her bir yeni hücrede kromozomlar çözülmeye başlar (dekondansasyon) ve dağınık hale gelirler, hücre zarı kromozomlar etrafında şekillenmeye başlar. Çekirdekçik giderek yeniden şekillenir. Erken interfaz sırasında çekirdek tamamen görünür hale gelir ve iğ iplikleri de ortadan kaybolur. Telofazın tamamlanmasından sonra hücre interfaza girer (179).

2.3. HÜCRE DÖNGÜSÜ GENETİK OLARAK DÜZENLENMEKTEDİR

Hücre döngüsünün bütün ökaryotik organizmalarda temelde benzer olması, hücre döngüsünün evrim boyunca korunmuş bir genetik program tarafından yönetildiğini ve düzenlendiğini ortaya koyar. Bu düzenin ortadan kalkması kanserleşmeyi karakterize eden kontrolsüz hücre bölünmesine yol açar (179).

İlk önce mayalarda keşfedilmiş olan ve günümüzde insanlar dahil tüm organizmalarda tesbit edilen hücre döngüsünü etkileyen mutasyonlara **cdc mutasyonları (cell division cycle mutations; hücre bölünme döngüsü mutasyonları)** adı verilmektedir. Hücre döngüsü sırasında en az üç önemli kontrol noktası olduğu saptanmıştır. Bu noktalar, hücrenin bir sonraki döngüye girmesinden önce kontrol edilip izlendiği noktalar. Cdk kinazlar ana kontrol molekülleri olarak görev yapar ve siklin isimli proteinlerle birlikte çalışırlar. Siklinleri fosforile ederek bunların döngü kontrol noktalarındaki aktivitelerini etkiler. Bu aktiviteler de hücre döngüsünü düzenler. Bir cdk kinaz, bir siklinle birlikte çalıştığında, buna **Cdk protein (Cyclin-dependent kinase protein=siklin bağımlı kinaz proteini)** denir (179).

2.4. DÖNGÜDEKİ KONTROL NOKTALARI

2.4.1. G1/S kontrol noktası: Bir önceki mitozu takip eden fazda, hücrenin ulaştığı boyutu ve DNA'da hasar olup olmadığını kontrol eder. Hücre eğer uygun boyutta değilse ya da DNA'sı hasar görmüşse bu şartlar düzeltilene kadar döngünün

ilerleyişi durdurulur; hücre uygun boyutta ise ve DNA'da hasar yoksa kontrol noktası aşılır ve hücre, döngünün S evresi boyunca ilerler .

2.4.2. G2/M kontrol noktası: Mitoz bölünme öncesinde hücrenin fizyolojik koşulları gözden geçirilir, DNA replikasyonu ya da herhangi bir DNA hasarının onarımı tamamlanmamışsa hücre döngüsü bu olaylar tamamlanana kadar durdurulur.

2.4.3. M kontrol noktası: Sentromerlerle bir araya gelmiş kinetokorlara iğ ipliklerinin tutunup tutunmadığı ve iğ iplikleri sisteminin başarılı bir şekilde oluşup oluşmadığı kontrol edilir. Tutunma uygun değilse ve iğ iplikleri uygun bir biçimde oluşmamışsa mitoz bölünme durdurulur. M kontrol noktasında etkili olan p53 gen proteini, programlanmış hücre ölümü olan apoptozun düzenlenmesinde işlev görür. Normal p53 geninin ürünü var olduğunda, DNA'sı hasar görmüş ve bölünmekte olan bir hücre M kontrol noktasında apoptoza yönlendirilir ve dolayısıyla hücre popülasyonundan etkin bir biçimde uzaklaştırılır. Eğer p53 geni mutasyona uğramış ve anormal fonksiyonlu p53 geni oluşmuşsa, hasarlanan hücre kontrol noktasını geçerek kontrolsüz bir biçimde çoğalmaya devam eder (179).

2.5. TÜMÖR OLUŞUMU VE GENETİK FAKTÖRLER

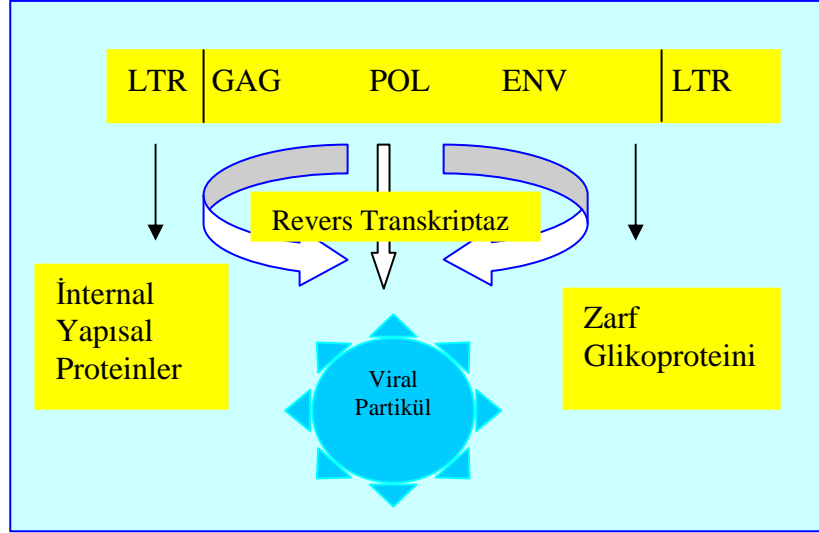
Kanser gelişimde genetik faktörlerin rolü hakkında ilk kanıtlar RNA tümör virüslerinden (retrovirüsler) elde edilmiştir. 1910 yılında Francis Peyton Rous, tavuklarda gelişen tümörlerden elde ettiği hücreleri sağlıklı tavuklara enjekte etmiş ve sarkoma oluştuğunu gözlemiştir. Bu tümörlerde bir virüsün varlığı diğer araştırmacılar tarafından ancak 10 yıl sonra ortaya konulmuş ve ilgili virüs, Rous Sarkoma Virüs (RSV) olarak adlandırılmıştır. Tüm diğer RNA virüsleri gibi Rous sarcoma virüsü de bir retrovirüstür ve genomik yapısı içinde "src" onkogeni'ni taşır (113).

2.5.1. RAUS SARKOMA VİRÜSÜ TÜMÖRE NASIL YOLAÇAR?

"Src" geni, hücre içi sinyal molekülü olan protein kinazı kodlar. Hücre içi moleküller, reseptörlerden, hücre içi enzimlere veya bağlanma proteinlerine bilgi iletirler. Protein kinaz ise, protein ya da protein bileşenlerini fosforilize eden enzim sınıfına verilen isimdir. Hücrenin iç yüzüne bağlanarak hücresel proteinleri fosforile eder. Normal hücrelerde bu fosforilasyon serin ve treonin ile yapılırken, **src** geni ürünü olan protein kinaz, tirozini fosforile eder. Fosfat ilavesi hücre bölünmesine yolaçan

olayların ve kanserleşmenin ilk evresidir. Viral onkogenler sadece **src** ile sınırlı değildir; **v-erb-B**, **v-myc**, **v-fms** gibi onkogenler de vardır. Onkogenler, virüslerin kendi replikasyonları için gerekli değildir fakat konakçı hücrenin malign transformasyonundan sorumludurlar (113).

Retrovirüsler, doğal yapılarında, strüktürel proteinleri kodlayan “env” ve “gag” adlı genlere ve “revers transkriptaz” enzimini kodlayan “pol” genine sahiptirler.



Şekil 2. Viral genom (2)

Normalde polimeraz enzimleri DNA’yı kalıp olarak kullanıp RNA sentezlerken, revers transkriptaz enzimi RNA’yı kalıp olarak kullanarak cDNA sentezlerler. Burada sentez edilen DNA, kopyalanan RNA’ya “komplementer” olduğu için, cDNA olarak adlandırılmaktadır. Retrovirüsler konakçıya girdiklerinde RNA’sını revers transkriptaz ile cDNA’ya çevirdikten sonra bu cDNA’yı çift sarmallı hale getirip konakçı DNA’sına entegre olabilirler. Virüslere transforme edici özellik kazandıran bu özgün DNA dizileri, **viral onkogenler** (v-onc) olarak adlandırılır. İsimler ilk tanımlandıkları tümörlerden köken almaktadır: v-sis, **simian sarcoma virus**; v-abl, murine **abelson leukemia virus** gibi (113).

Araştırmalar, retroviral onkogen yapılarının (v-onc), virüslerin enfekte ettikleri konakçı hücre DNA dizilerine (cellular oncogenes; c-onc=proto-onkogen) çok yakın benzerlik gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Konakçı hücreye özgün bu genetik yapıların viral genoma entegre olduktan sonra virüse onkogenik potansiyel kazandırdığı düşünülmektedir (113).

Retrovirüsler, memeliler de dahil pekçok türde kansere yolaçarlar fakat insanda neden oldukları tümörler enderdir. İnsanlarda viral kökenli tümörlerin çoğundan DNA virüsleri sorumlu tutulmaktadır (113).

2.6. İNSAN VE KANSER GENLERİ

İnsan bedeni bölünen ve özgün dokulara farklılaşan hücrelerden meydana gelir. Sağlıklı bir bireyde hücreler bölünür, büyür, farklılaşır ve sonuçta **apoptozis** adı verilen programlı bir ölüm çerçevesinde yaşamlarını sonlandırırlar. Eğer bu bütünlük içinde ilgili genlerde bir mutasyon ortaya çıkarsa kontrolsüz bir hücre çoğalması olacak ve kanser oluşumuna zemin hazırlanacaktır (113).

Tümör oluşumundan sorumlu genler, onkogenler, tümör baskılayıcı genler, DNA tamir genleri olmak üzere üç ana gruba ayrılır:

2.6.1. ONKOGENLER: Protoonkogenler normal hücre döngüsünde görev alan genlerdir. Mutasyona uğradıklarında onkogenik aktivite kazanırlar ve tümör oluşumuna yol açarlar; çeşitli mutasyonlarla aktiflenerek onkogene dönüşebilir ve bir tümörün başlaması ya da ilerlemesine katkıda bulunabilirler. Proto-onkogenin aktif hale gelmesi için tek bir mutant allel yeterlidir (dominant etki)(113).

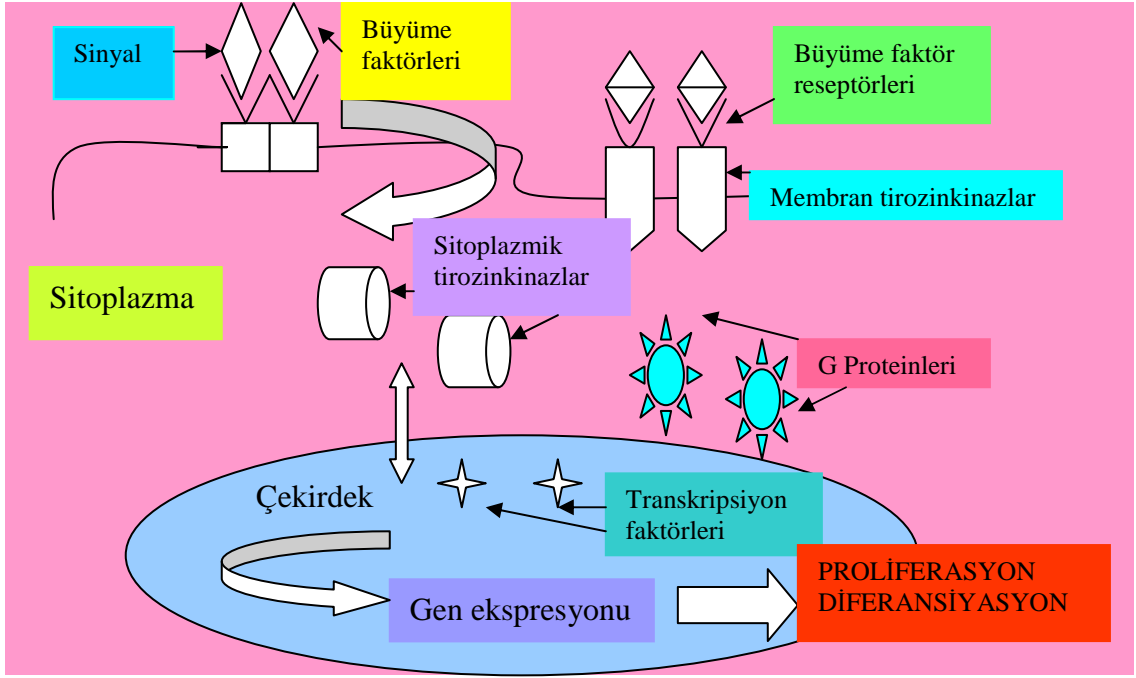
Proto-onkogenlerin kodladığı gen ürünleri, polipeptid büyüme faktörleri, büyüme faktör reseptörleri, transmembran reseptörler, GTP-bağlayan proteinler, protein kinazlar, transkripsiyon faktörleri, gen regüle eden proteinler gibi proteinleri içerir. Tüm bu moleküller normal şartlarda hücrenin büyüme, farklılaşma ve çoğalımı ile ilgili sinyal ileti mekanizmalarını aktive ettiklerinden, sağlıklı bir hücre döngüsü içinde denetim altındadırlar. Hücre döngüsü kontrol mekanizmalarının herhangi bir yerinde oluşacak aksama, **proto-onkogenlerin onkogenik aktivite kazanmasına** ve sonuçta kontrolsüz hücre çoğalmasının uyarılmasına yol açacaktır (113).

Onkogenler lokalizasyonlarına, protein ürünlerine ve biyolojik aktivitelerine göre sınıflandırılmaktadır:

A)Salgılanan ve hücre membranının dış yüzeyinde bulunan proteinler:

a)**Büyüme faktörleri:** Hücre bölünmesini sağlamak için hücrenin yüzey reseptörleri ile etkileşime giren moleküllerdir. Reseptöre bağlandıktan sonra ikincil

mesajcılar adı verilen sistemi de içine alan bir yolak aracılığıyla söz konusu sinyali çekirdeğe iletirler. Örneğin Epidermal Büyüme Faktörü (EGF), EGF reseptörüne bağlanır, dimerizasyon ve fosforilasyon gerçekleşir ve hücrede bir seri protein (örneğin ras) aktive olur. Ras/GTP kompleksi, bir protein kinaz olan Raf-1'i aktive eder. Sonuçta fosforilasyon olur ve bu da bir seri transkripsiyon faktörünü aktive eder ve hücre döngüsü tamamlanır (113).



Şekil 3. Hücre döngüsü ve sinyal ileti yolları (125)

Büyüme faktörü olarak görev yapan onkogenler anormal yapım sonucu hücrede devam eden sinyal ileti aktarımına ve otokrin/parakrin uyarıya neden olur. Sonuçta hücre döngüsünün normal akışı bozularak kontrolsüz bir hücre çoğalımı ortaya çıkar. Trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), koloni stimüle edici faktör-1 (CSF-1), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve insüline benzer büyüme faktörü (IGF-1), büyüme faktörü işlevi gösteren onkogenlere örnektir (113).

b) Büyüme faktörü reseptörleri: Büyüme faktörlerinin ilgili reseptörlere bağlanması mitojenik sinyallerin hücreye iletiminin ilk basamağıdır. Büyüme faktör reseptörlerinin çoğu reseptör **tirozinkinaz**lardır; genellikle amino-terminal bölgeleri delesyona uğrayarak onkogenik proteinler haline dönüşürler. Normalde amino-terminaller, hücre dışı büyüme faktörünü bağlar. Hücre içi kinaz bölgesi, mutasyon

sonucu ekstraselüler bölgeden devamlı uyarı sonucu sürekli bir aktivite kazanır aynı zamanda onkogenik protein de sürekli proliferatif sinyal vermeye devam eder. Bu kısır döngü sonucunda hücre sürekli bölünür ve çoğalır. Reseptör tirozinkinazlardan RET RTK mutasyonları, MEN IIA, MEN IIB, familial medüller tiroid karsinom ve Hirschsprung hastalığı gibi pek çok kalıtsal kanserden sorumludur. Hastalığa özgü mutasyonların tanınması klinik açıdan önemlidir; bazen tiroidektomi karsinogenezi önlemektedir (113).

Bazı reseptör tirozinkinaz kodlayıcı onkogenler örneğin, erb B ve erb B-2, gen amplifikasyonu sonucunda aktive olurlar. Src ve abl ise, reseptör olmayan protein kinazları kodlayarak delesyon ile ya da düzenleyici dizilerin mutasyonu sonucu aktive olmaktadır (113).

B)Hücre membranının iç yüzeyinde veya sitoplazmada bulunan onkoproteinler: Bunlar hücre içi sinyal mekanizmasında görevlidirler.

a)Proteinkinazlar

b)G-proteinler

Tirozinkinazların bir bölümü, tümü ile sitoplazmada lokalizedir. Diğer grubun amino terminali ekstraselüler ortamda, karboksi terminali ise sitoplazma içindedir. Bunlar transmembran proteinlerdir ve çoğu kez ekstraselüler faktörler için reseptör görevi görürler. Sinyalleri sitoplazmik bölgeye aktarırlar, bu da tirozin-spesifik protein kinaz sistemini harekete geçirir; enzim aktive olarak sitoplazmada belirli hedef proteinlerin fosforile olmasını sağlar (113).

G-proteinler, hücre döngüsü içinde sinyali DNA dizisinde bir üst bölgeden alır, yakındaki bir alt bölgeye aktarır. Guanozin tri fosfat (GTP) ve Guanozin di fosfat (GDP)'ı bağlayan proteinlerdir. G-proteinlerin GTPaz aktivitesi sonucu GTP, GDP'ye dönüşmektedir. G-proteinler, hücre içi kinaz kaskadını uyarırlar (113).

İnsan tümörlerinde kolon kanserlerinin %50'sinde, pankreatik kanserlerin %90'ında ve akciğer kanserlerinin ise %25'inde en sık gözlenen onkogen **ras** gen ailesidir. Tüm kanserler arasında ise, %15 oranında görülür. Genellikle nokta mutasyonları sonucunda oluşmaktadır (113).

C)Nukleusta lokalize olan onkoproteinler: DNA'ya bağlanarak transkripsiyonu düzenleyen proteinlerdir. Bazı onkogenik etkiler hücre döngüsü içinde G1'den S fazına geçiş, apoptozis, genom stabilitesi ve hücre maturasyonu ile ilgili olan

transkripsiyonel regülatuar proteinler (nükleer onkoproteinler) i hedef olarak seçer. **Fos** ve **myc** proto-onkogeni hücre çekirdeğinde transkripsiyon faktörleri olarak fonksiyon görür. C-myc hem hücre siklusunun devamında hem de apoptozisde son derece etkilidir (113).

Onkogen aktivasyonu, proto-onkogenin yapısında bir nokta mutasyon veya amplifikasyon ile olabileceği gibi delesyon, duplikasyon, kromozomal translokasyon veya retroviral DNA gibi hareketli bir genetik parçanın genoma insersiyonu ile oluşabilmektedir. Gen mutasyonu, proto-onkogenlerin aktivasyonunu uyaran çeşitli mekanizmalardan yalnızca biridir (113).

Gen amplifikasyonu onkogen aktivasyon mekanizmalarından biridir. Normalde bir hücrede iki kopya halinde bulunan genler amplifiye olduklarında düzinelerce, hatta yüzlerce kopya oluştururlar. Duplike bölgeler kromozomlar üzerinde zincirleme tarzda yer aldıklarında uzun, homojen, atipik bir boyanma gösterirler. Bu yapılara kromozom terminolojisinde **homojen boyanma bölgeleri (HSR)** adı verilmektedir. Çekirdekte amplifiye olan bölgeler genelde çiftler halinde bulunduğundan **çift minik kromozomlar (Dms)** olarak adlandırılır. İster HSR ister Dms formda olsun, amplifikasyon, gen ekspresyonunda artışa, bu da kanserin ilerleyişinde hızlanmaya yol açar. İlk kez tümör hücrelerinde amplifiye olduğu saptanan proto-onkogen **MYC**'dir. **MYC**'nin şifrelediği **N-MYC** geni bir çocukluk çağı tümörü olan nöroblastomada amplifiye olmaktadır. Bu gen ileri evre nöroblastoma olgularının %40'nda yaklaşık 200 kez amplifiye durumdadır (113).

Proto-onkogenler genellikle **translokasyon** olarak bilinen kromozomal mutasyonlar tarafından aktive edilir. Sıklıkla lösemi ve lenfomalarda ve nadiren de birkaç sarkomada, tanımlanmışlardır (Tablo 1). Kromozomal translokasyonlar sonucunda kromozomların kırık noktalarındaki genler arasında etkileşim olur. Sonuçta oluşan genler, yeni bir özelliğe sahip (fonksiyon kazandıran) olan yani onkogenik olan kimerik bir protein oluşturur. **Kronik myeloid lösemi**'de görülen Philadelphia kromozomunda 9. kromozomun uzun kolunda yer alan ve bir tirozinkinaz olan **ABL** proto-onkogeni, 22. kromozom uzun kolunda yer alan **BCR** (breakpoint cluster region) geni ile füzyon oluşturur. Sonuçta abl geninin tirozin kinaz aktivitesi korunmuş fakat bcr etkisi ile işlev ve ekspresyonu değişerek yeni bir protein oluşmuştur. Oluşan yeni proteinin artmış olan tirozin kinaz aktivitesi hücre transformasyonuna yolaçar (113).

Tablo 1. Bazı malignensi örneklerinde kromozom translokasyonlarının özellikleri (112, 87)

Neoplazi	Kromozom Translokasyonları	Olguların %'si	Etkilenen Proto-onkogen
Burkitt Lenfoma	t(8;14)(q24;q32) t(8;22)(q24;q11) t(2;8)(p12;q24)	%80 %15 %5	MYC
KML	t(9;22)(q34;q11)	%90-95	BCR-ABL
Akut Lenfoblastik Lösemi	t(9;22)(q34;q11)	%3-5 (çocukluk dönemi), %25 (erişkin dönemi)	BCR-ABL
Akut Lenfoblastik Lösemi	t(1;19)(q23;p13.3)	%5-6 (çocukluk dönemi), %3 (erişkin dönemi)	PRL homeobox gene
Akut Lenfoblastik Lösemi	t(4;11)(q21;q23)	%2 (çocukluk dönemi)	MLL-AF4
Akut Lenfoblastik Lösemi	t(8;14)(q24;q32.3)	%1-2 (çocukluk dönemi)	MYC-IGH
Akut Promyelositik Lösemi	t(15;17)(q22;q21)	%5-10 (çocukluk dönemi)	Retinoik asit reseptör
Kronik Lenfositik Lösemi	t(11;14)(q13;q32)	%10-30	BCL-2
Foliküler Lenfoma	t(14;18)(q32;q21)	%85	BCL-2

Onkogenler genellikle hücre çoğalmasını uyarırlar fakat bazı transkripsiyon faktörlerinin onkogenik aktivitesi, hücre farklılaşmasının inhibisyonu ile sonlanır. Bir seri hücrenin farklılaşması ile ilgili olan tiroid hormonu ve retinoik asit, plazma membranını aşarak ve hücre içi reseptörlere bağlanarak farklılaşma sağlar. Tiroid ve retinoik asit reseptörlerinde oluşan bir mutasyon sonucu, onkogenik proteinler oluşur ve hücre farklılaşması engellenir. Farklılaşmayan lösemik hücreler aktif olarak proliferasyon evresinde kalır. Akut myeloid lösemi M3 tipinde görülen **PML/RAR α** mutasyonu buna örnektir. Yüksek doz retinoik asit tedavisi ile PML/RAR α onkogen proteininin etkisi baskılanabilmekte ve lösemik hücrelerde farklılaşma sağlanmaktadır (113).

Son yıllarda onkogen aktifleşmesinin diğer bir tipi olarak kromozomların uçlarındaki telomerlerin uzatılmasından sorumlu, ribonükleoprotein yapısında olan ve telomerlerin devamlılığını sağlayan **telomeraz enzimi** üzerinde durulmaktadır. İnsanda

telomeraz, telomere, hegzamerik bir DNA yapısını, 'TTAGGG', eklemektedir. İnsan germ hücrelerinde telomerazlar yaklaşık 15 kb'lik telomerik hegzomer tekrarları içerir. Normal gelişme döneminde hücreler farklılaşırken telomerazın fonksiyonu azalır ve telomerler her bir hücre bölünmesinde ortalama 35 bazlık telomerik tekrar DNA'sını kaybederek kısalır. Bölünmeler sonrasında kromozom uçları hasar görür ve telomerlerin yakınlıklarına lokalize genler delesyona uğrayabilir. Hasar gören DNA, p53 ve Rb1 genlerinin rol oynadığı sinyal yolları ile hücre döngüsünün G0 fazına girer ve hücre bölünmesi durur (112, 113).

Telomeraz aktivitesinin kültür ortamında transforme hücrelerde ve tümörlerde yeniden belirdiği gözlenmiştir. Bazı genomik ve kromozomal mutasyonlar telomerazı yeniden aktive edebilmektedir. Şüpheli kanseröz lezyonlarda biyopsi veya iğne aspirasyonu ile elde edilen hücrelerde telomeraz aktivitesinin ortaya çıkışı kanser lehine bir veri olarak değerlendirilmektedir (112,113).

2.6.2. TÜMÖR BASKILAYICI GENLER: Onkogenler tarafından kodlanan proteinler, fonksiyon kazandıran mutasyonlar vasıtasıyla veya genin bir allelinin artmış veya uygun olmayan ekspresyonu ile kansere yolaçarken, genin her iki allelinin fonksiyonunu yitirmesi gibi farklı bir mekanizma ile malignensiye neden olan çok sayıda gen de vardır. Bu genler **tümör baskılayıcı genler (TBG)** olarak bilinir. Tümör baskılayıcı genlerin kansere yolaçabilmesi için proto-onkogenlerden farklı olarak ilgili genin her ikisinin de mutasyon ile **inaktive** olması gerekmektedir. Tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonları, sıklıkla delesyon yani gen kaybı şeklinde bir mutasyon ile olmaktadır (112).

Tümör baskılayıcı genlerdeki inaktivasyonda bilinen üç temel genetik model bulunmaktadır: İlk modelde mutasyon, genin **promoter** (Bir genin 5' kısmında yer alan ve transkripsiyonun algılanmasını sağlayan kısımdır) bölgesini etkiler veya kodlayıcı dizide "erken stop kodon" oluşturur. Her iki durumda da işlevsel protein yapımı engellenmektedir. İkinci model **DNA metilasyonu** ile ilgilidir: bir promoter bölgeye yakın CpG adacıklarının metilasyonu, transkripsiyonun inhibisyonuna neden olur. Tümörün genomik yapısı içinde bir **kromozom kaybı** söz konusu ise ve ilgili kromozom bir tümör baskılayıcı gen taşıyorsa fonksiyon göreceği gen ortadan kalkacağı için tümör baskılayıcı gen yine inaktive olmuş olur (113).

TBG ile ilgili ilk bilgiler 1960 yıllarına dayanır. Kanserin bazı türlerinin bir alleldeki kalıtılan mutasyona ek olarak diğer allelde somatik bir mutasyonun meydana gelmesi sonucunda geliştiği ileri sürülmüş, 1971 yılında bu hipotez **Knudson** tarafından genişletilerek **çift vuruş hipotezi** olarak adlandırılmıştır (124, 125). Tümör baskılayıcı genler çok sayıda sporadik kanserin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Bu hipotez ilk olarak Retinoblastoma gibi kanserlerin hem herediter, hem de sporadik şekillerinin nasıl meydana geldiğini açıklamak için kullanılmıştır; günümüzde ise Ailesel Polipozis Koli, Ailesel Meme Kanseri, Nörofibromatozis Tip1 (NF1), Herediter Nonpolipozis Kolon Karsinomu ve Li-Fraumeni Sendromu gibi pek çok ailesel kanser için önemli bir model olarak kabul edilmektedir (Tablo 2)(112).

Tablo 2. Tümör baskılayıcı genlerin ürünlerinden bazıları (112)

Tümör Baskılayıcı Genler	Gen Ürünü, Olası İşlevi	Hastalıklar	
		Ailevi	Sporadik
Rb1	P110 Hücre siklusu regülasyonu	Retinoblastoma	Retinoblastoma, Küçük hücreli Akc. kanseri
TP53	P53 Hücre siklus regülasyonu	Li-Fraumeni sendr.	Akc. kanseri, Meme kanseri
BRCA1, BRCA2	Brca1, Brca2 Çift zincir DNA kırıklarına yanıt	Ailevi meme kanseri	Meme kanseri, Over kanseri
NF1	Nörofibromin GTPaz'ı aktive eden protein Merlin	Neurofibromatosis Tip-1	Bilinmiyor
NF2	Hücre yüzey molekülleri ile hücre iskelet moleküllerinin bağlantısı	Neurofibromatosis Tip-2	Sporadik Schwannoma ve Meningiomalar
DCC	Dcc Neutrin moleküllerinin aksonal düzlemde reseptörü	Bilinmiyor	Kolorektal kanser
VHL	VHL	Von Hippel-Lindau	Renal karsinom (clear cell)
MLH1, MSH2	Mlh1, Msh2 DNA zincirleri arasında nükleotid uyumsuzluklarının tamiri	Kahtsal nonpolipozis Kolon kanseri	Kolorektal kanser

TBG'lere bağlı kanser oluşumunda tek bir mutant tümör baskılayıcı gene sahip olan (heterozigot olan) hücreler normal fenotipe sahiptirler. Ancak, diğer normal allelin mutasyona uğraması ve fonksiyonunu kaybetmesi ile, ki bu genellikle somatik bir mutasyon ile oluşur, genin tümörü baskılama yeteneği ortadan kalkar. Bazen bu ikinci vuruş transkripsiyonel suskunluktaki gibi mutasyon olmadan da gözlenebilir. DNA'nın artmış metilasyonunun neden olduğu bu DNA suskunluğu, tümör baskılayıcı genlerdeki

fonksiyon kaybının açıklanmasında alternatif bir moleküler mekanizma olarak belirtilmiştir (112).

Apopitozis, çeşitli dış uyarılara karşı ortaya çıkan programlanmış hücre ölümü demektir. Apopitozda hücre DNA'sının parçalanıp ortadan kaybolmasında, kaspazlar olarak bilinen sistein proteaz ailesinin aktivasyonu gerekir; bu olay enerjiye bağımlı gerçekleşir. Bu olayda çekirdek kondansasyonu, parçalanması ve hücrede büzüşme olur; hücre membranı ve iç organelleri göreceli olarak korunur. Kemoterapi, viral enfeksiyonlar, radyasyon, büyüme faktörü veya hormon eksikliği, ve sitotoksik lenfosit ölümü, apopitozu uyaran faktörlerdir (113).

İlk **apopitozis geni**, sporadik B-hücreli lenfomada tanımlanmıştır. Folliküler hücreli hemen tüm B-hücre lenfomalarında, 18q21'de lokalize **bcl-2** geni, t(14;18) sonucunda aktive olur. Bcl-2 tarafından kodlanan protein, bir mitokondriyal iç membran proteinidir ve B-hücrelerinde güçlü antiapopitotik etkileri vardır. Translokasyon sonucu hücrelerin doğal apopitozu engellendiğinden, B-hücre popülasyonunda artış ortaya çıkar. Hücre siklusunu kontrol eden diğer genler, örneğin **c-myc**, **p53** ve **pRb** de apopitozda rol alır (113).

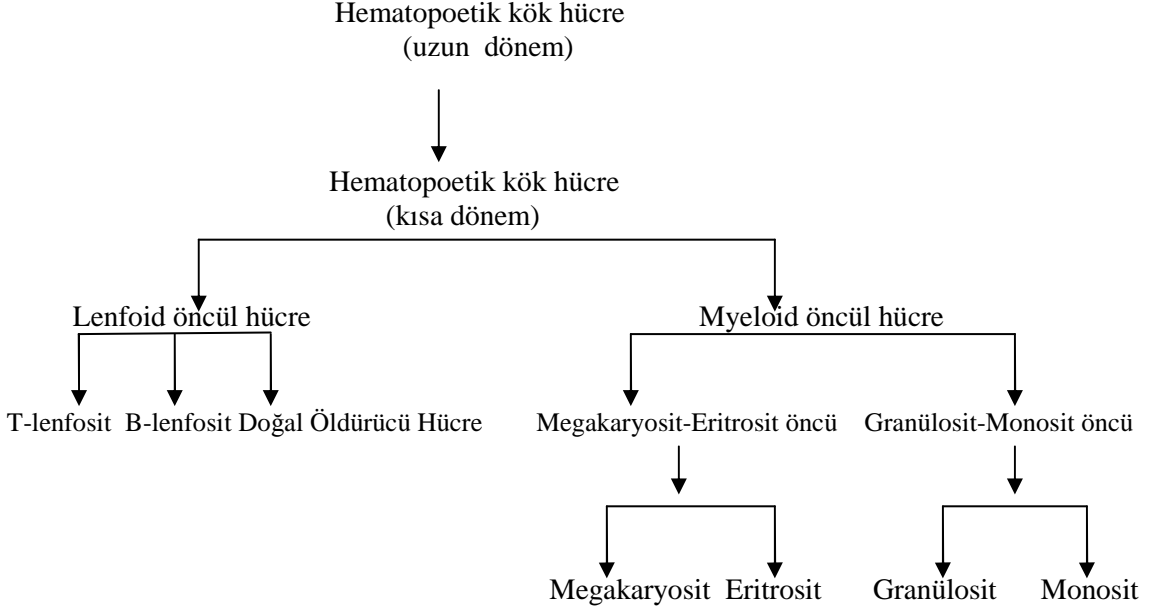
2.6.3. DNA TAMİR GENLERİ (MISMATCH REPAIR GENES)

DNA polimeraz III, DNA'nın kendini eşlemesi sırasında meydana gelen hatayı farkeder ve hatalı nükleotidi keserek değiştirir. Hata okuma sonrası kalan hatalar, yanlış eşleşme onarım (mismatch repair-MMR) mekanizması ile düzeltilir. DNA tamir genleri, DNA'nın kendini eşlemesi (replikasyon) esnasında hata okumadan kaçan yanlış eşleşmeleri düzenleyen, evrimsel olarak korunmuş bir işlemle görevlidir; bu genler genomun stabilitesini korur (84).

2.7. HEMATOPOEZ

Hematopoetik kök hücreler, kendi kendini yenileme ve matür kan hücrelerine farklılaşabilme yeteneğine sahiptirler. İlk hücreler, lenfoid ve myeloid projenitör olarak adlandırılan seriyi meydana getirir. Lenfoid öncüller tekrar bölünürler ve T, B lenfosit ve Doğal öldürücü hücrelere farklılaşırlar. Myeloid öncül hücreler, granülosit-monosit prekürsörler ve megakaryosit-eritrosit prekürsörlerini ortaya çıkarır. İlk hücre soyundan

granüositler ve monositler gelişirken, diğerinden trombosit ve eritrositler gelişir. Hematopoetik kök hücreden olgun kan hücrelerinin oluşumu aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Hematopoetik hiyerarşi (11)

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. KLL'de (Kronik Lenfoid Lösemi) 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 (170).

2.8. LÖSEMİLER

Lösemi, hematopoezin herhangi bir aşamasında hücre farklılaşmasının durması ve hücrelerin klonal olarak çoğalarak kemik iliğini ve/veya kemik iliği dışı dokuları sarmasıdır. Çocukluk çağı malignitelerinin %25-30'unu lösemiler oluşturmaktadır. Bu dönemde görülen lösemiler akut ve kronik olarak ikiye ayrılır.

Çocuklarda lösemilerin %97'sini **akut lösemiler** oluşturur ve dört alt tipi bulunmaktadır (87, 124):

1) Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL): Akut lösemilerin %75'ini oluşturur. Morfolojik tanımlama L1, L2, L3 olarak belirlenmiştir. İmmünofenotip 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) olabilir.

2) Akut Myeloblastik Lösemi: Akut nonlenfositik lösemi olarak da adlandırılır. Akut lösemilerin %20'sini oluşturur. Morfolojik ve immünojenetik olarak M0-M7 alt grupları belirlenmiştir ve ayrıca Lenfoid İşaretleyici Pozitif AML (Ly + AML) mevcuttur.

3) Akut miks lösemi

4) Akut farklılaşmamış lösemi: Akut lösemilerin az bir kısmını (<%5) oluşturur.

Kronik myeloid lösemi, ise çocukluk lösemilerininin %3'ünü oluşturur (87).

Günümüzde, akut lösemi, olgunlaşmamış öncül kan yapıcı hücrelerin artışı ile giden lösemileri, kronik lösemiler ise olgunlaşmış kemik iliği elemanlarının artışı ifade eder. Akut lösemilerde kemik iliğindeki blastlar, tüm çekirdekli hücrelerin %30 ya da fazlasını oluşturmaktadır.

2.9. LÖSEMİLERDE SINIFLANDIRMA

Lösemilerin modern sınıflandırması morfoloji, immünojenotipik, sitogenetik ve moleküler bulgulara dayanır.

2.9.1. MORFOLOJİK SINIFLAMA (FAB Sınıflaması)

1976 yılında Fransız, İngiliz ve Amerikalı grupların ortaya koyduğu FAB (French-American-British) sınıflaması, morfolojiyi esas alarak, akut lenfoblastik lösemiye L1, L2, L3 olmak üzere üç alt gruba (Tablo 3), akut non-lenfoblastik lösemileri, sekiz alt gruba (Tablo 4) ayırmıştır (10).

ALL'de sınıflama, çekirdek-sitoplazma oranı, vakuol ve çekirdekçik varlığı, sitoplazmadaki bazofiliye dayanır. AML'de ise sınıflama myeloblast, monoblast, eritroblast, megakaryoblast gibi kemik iliğine hakim olan hücre türünü, bunların birbirlerine olan oranlarını ve olgunlaşma düzeyini temel alır (10).

Tablo 3. Akut lenfoblastik lösemilerde FAB sınıflaması (10)

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

Tablo 4. Akut myeloid lösemilerde FAB sınıflaması (156)

FAB tipi	Morfolojik tanımlama	Myeloperoksidaz veya Sudan Black	Nonspesifik Esteraz/Sodyum Florid inhibisyonu
M0	Myeloblastik lösemi	-	-/-
M1	Diferansiyasyonun olmadığı myeloblastik lösemi	+	-/-
M2	Diferansiyasyonun olduğu myeloblastik lösemi	+	-/-
M3	Promyelositik lösemi	+	-/-
M4	Myelomonositik lösemi	+	+/+
M5	Monositik lösemi	-	+/+
M6	Eritrositik lösemi	-	±
M7	Megakaryositik lösemi	-	±

(±: Nonspesifik esteraz pozitif, sodyum florid inhibisyonu negatif)

2.9.2. İMMÜNÖFENOTİPİK SINIFLAMA

Çocukluk lösemilerinin tanı ve tedavisi, lösemik hücre populasyonunun hücre serisi ve maturasyon evresine dayanır. Lösemik blastlarda **myeloperoksidaz**, “**Auer rods**” veya **monosit ilişkili esteraz** varlığı birçok AML olgularını kolayca tesbit 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 (124).

ALL, AML ve kronik lösemide prognoz ve tedavi oldukça farklıdır, bu nedenle lösemilerin tipi ve maturasyon evresini ortaya çıkarmak kritik öneme sahiptir. Tanısal morfolojik özelliklerin yokluğunda doğru tanı, immünolojik ve moleküler analizleri gerektirir. İmmünolojik testler veya immüfenotipleme, lösemik hücre serisi ve farklılaşma evresini tesbitte tanısal bir araçtır (124).

İmmüfenotiplendirme, bir hücrenin yüzeyinde, sitoplazmasında veya nükleusunda bulunan spesifik antijenlerin araştırılması temeline dayanır. Akım sitometrisi (Flow cytometry), farklı floresan boyalara sahip monoklonal antikolar ile hücre yüzey antijenlerinin belirlenmesinde kullanılan bir cihazdır. Lösemi örneklerinin immüfenotiplendirilmesi, 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 antikolar akut lösemilerin lenfoid veya myeloid olup olmadığını belirleyeceğimiz monoklonal antikolardan oluşur. Bunun ötesinde, lösemik hücreler lenfoid kökenli iseler, panel, B lenfoid veya T lenfoid özelliğini belirleyecek antikoları içermelidir. Panel, bifenotipik lösemilerin belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Akut lösemi paneli Tablo 5’de verilmiştir (115).

Tablo 5. Akut lösemi tanısı için antikor paneli (6)

	B lenfoid	T lenfoid	Myeloid	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	Antilozim, CD14, CD15, CD36, HLA-DR (*: Sitoplazmik ekspresyon , **: Nükleer ekspresyon)			

1. a) 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 (Tablo 6) (125).

Diğer sınıflandırmalar immünglobulin düzeni, CD10, CD179a veya CD179b ekspresyonunu da içerir (8).

SJCRH sınıflandırması:

- a)Erken Öncül B ALL (pro-B)
- b)Öncül B ALL (pre-B)
- c)Transizyonel Öncül B ALL (Geç pre-B)
- d)Matur B ALL

olarak belirlenmiştir.

a)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 tesbit 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 (158). CD10 ve TDT olguların %90'ından fazlasında ve CD34, %75'inden fazlasında eksprese edilir (125). μ ağır zincirin üretimi ile beraber ortaya çıkan CD20 antijeni bazı olguların blastlarında çeşitli oranlarda bulunur. Erken öncül B ALL'lerin %10 kadarında CD45 tesbit edilemez (7).

b)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, tesbit edilebilir yüzey (sIg) μ zincirleri olmaksızın sitoplazmik immünglobulin (cIg) μ zincirleri bulundururlar (125). Bu lösemilerin bazısında Ig hafif zincir gen düzenlemeleri bulunur ancak κ ve λ proteinler tesbit edilemez. Bu lösemilerin %95'inden fazlasında CD10 ve TDT ekspresyonu 2/3'ünde CD34 ekspresyonu bulunur (125). 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 (18).

c)Transizyonel Öncül B ALL (Geç pre-B): Lösemik blastlar κ veya λ hafif zincirleri olmadan hem sitoplazmik ve yüzey immünglobülin μ ağır zincirlerini eksprese ederler. Pre-B ALL'ye benzer şekilde blastlar CD10, genellikle TDT ve bazen CD34 eksprese ederler (82). İmmünfloresan mikroskobu ile yapılan çalışmalarda çocukluk ALL olgularının %1'inden azında olduğu tesbit edilmiştir. Günümüzdeki çalışmalarda hassas flow sitometrik analizler bu immünfenotipin daha önceden bildirilenlerden daha yaygın olduğunu göstermiştir.

d)Matür B ALL: Çocukluk ALL'lerin %2-4'ünde blastlar yüzey immünglobülin μ zincirine ilaveten ya κ veya λ hafif zincirlerini eksprese ederler. 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. B-ALL'nin L1 veya L2 morfolojili blastlarla karakterize nadir bir tipinde TDT veya CD34 eksprese edebilirler ve CD20' yi zayıf bir şekilde eksprese ederler. Aşağıdaki tabloda (Tablo 6) ALL immunolojik sınıflandırması bulunmaktadır (125).

Tablo 6. Akut Lenfoblastik Löseminin immünolojik sınıflandırması (124, 125)

		İmmünolojik 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 hücre ALL	Pro-B						+	+		+	+	+	+	+
	Pre-B						+	+		+	+	+	+	+
	Geç pre-B						+	+		+	+	+		+
	Matur B						+	+	+	+		+		
T hücre ALL	Pre-T	+	+	+	+									+
	Erken T	+	+	+	+									+
	Ortak T	+	+	+	+	±	±							+
	Geç T	+	+	+	+	+								+

1. b) T hücre Akut Lenfoblastik Lösemi: T ALL'de blastlar, yüzey CD7 ve yüzey ve/veya hücre içi CD3 eksprese eder (125). %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 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 (St. Jude Children’s Research Hospital) sınıflandırması T hücre ilişkili antijen ekspresyonuna dayanır.

2. Akut Myeloid Lösemi: “Akut myeloid lösemi” terimi, myelositik (M0, M1, M2, M3), monositik (M4, M5), eritroid (M6) ve megakaryositik (M7) serileri kapsar. AML’de M0’dan M5’e doğru lösemik hücreler CD13, CD33, CD15, CD117 ve myeloperoksidaz’ın çeşitli kombinasyonlarını eksprese ederler. M6 ve M7, eritroid (CD36, glikoforin A) ve megakaryositik (CD41a, CD61 veya daha az yaygın CD42b) antijen ekspresyonu ile tanımlanır (124). Tablo 7’ de AML’nin FAB sınıflandırması ile immünolojik yüzey işaretleyicileri arasındaki ilişki gösterilmektedir (87).

Tablo 7. AML FAB alt tipleri ile immünolojik yüzey işaretleyiciler (87)

AML FAB alt tipi	İmmünolojik yüzey işaretleyiciler										
	HLA- DR	CD 11b	CD 13	CD 14	CD 15	CD 33	CD 34	Gli ko forin A	CD 41	CD 42	CD 61
M1/M2	+				+	+	+				
M3/ M3v		+	+		+	+	+				
M4/M5	+	+	+	+	+	+	+				
M6	+		+			+	+	+			
M7	+		+			+	+		+	+	+
M0			+			+	+				

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. Bu durum iki veya daha fazla farklı lösemik blastların olduğu “bilineage lösemi” tipiyle karıştırılmamalıdır.

Akut bifenotipik lösemnin sınıflandırması puan sistemine göre yapılmaktadır. Myeloid seriden 2’den fazla puana ilaveten T veya B seriden 2’den fazla puan alma “bifenotipik lösemi” tanısı koydurur. Blastların %20’sinden fazlasının antikorlarla

reaksiyona girmesi işaretleyiciler için pozitif kabul edilmektedir. Tablo 8’ de EGIL (European Group for the Immunological Characterization of Leukemia) puanlama sistemi görülmektedir (8).

Tablo 8. EGIL puanlama sistemi (8)

B seri	T seri	Myeloid	Puanlama
CD79a, hücre içi Ig μ , hücre içi/yüzey CD22	Hücre içi/yüzeyCD3, TCR $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$	MPO	Herbir pozitif işaretleyici: 2 puan
CD19, CD10, CD20	CD2, CD5, CD8, CD10	CD13, CD33, CD65a, CD117	Herbir pozitif işaretleyici: 1 puan
TDT, CD24	TDT, CD7, CD1a	CD14, CD15, CD64	Herbir pozitif işaretleyici: 0,5 puan

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 (30).

4. Akut Farklılaşmayan (Undiferansiye) Lösemi: Bazı akut lösemi vakalarını morfolojik ve immünofenotipik 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 myeloperoksidaz ve sudan black B negatiftir, immünofenotiplemede lenfoid, myeloid veya megakaryositik antijenler yoktur. Lösemik hücreler, CD45 eksprese eder, B (CD19, CD24, hücre içi CD22, hücre içi CD79a), T (CD2, hücre içi CD3, hücre içi TCR β , CD5, CD6), myeloid/monositik (CD13, CD14, CD15, CD64, CD65, MPO) ve megakaryositik/eritrositik (CD36, CD41a, CD42b, CD61, CD235) hücrelere ait yüzey ve sitoplazmik antijen taşımazlar (124).

2.10. LÖSEMİLERDE EPİDEMİYOLOJİ

Çocukluk çağı kanserlerinde, akut lösemiler 15 yaş altında görülen kanserlerin %31’ini oluşturur. ALL, çocukluk akut lösemilerinin %85’ini kapsar. Yıllık görülme

sıklığı ALL için 30/1.000.000 ve AML için 5,6/1.000.000'dur (57). Ülkemizde çocukluk çağında lösemi sıklığı 100.000'de 1.5 olarak bildirilmektedir (173).

2.11. LÖSEMİLERDE YAŞ VE CİNSİYET

Genel olarak lösemi, 5 yaş altında diğer yaş gruplarına göre daha fazla görülmekte ve erkeklerde benzer yaş grubundaki kızlarla kıyaslandığında, 1.1-1.4 kat daha sık görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde ALL en sık 1-4 yaş arasındaki çocuklarda görülmekte olup, SEER (Surveillance Epidemiology and End Results) Programı'nın sonuçlarında, çocukluk çağı ALL insidansında 1971'den 1993' e gelene dek % 20'lik kümülatif bir artış bildirilmektedir; bu durumun karsinogenik maddelere artmış maruziyetle ilişkili olabileceği düşünülmüştür (173).

AML, en sık ilk 2 yaşta görülürken, sıklık daha sonra azalır ve yaklaşık 9 yaş civarında en az görüldüğü yaş dönemine ulaşır; daha sonra adolesan dönemde tekrar bir artış görülür. AML sıklığı, yaş ilişkili cinsiyet farklılığı göstermemektedir (173).

2.12. LÖSEMİLERDE ETİYOLOJİ

Prenatal dönemde iyonize radyasyon ve bazı genetik sendromlar sayılmazsa, çocukluk çağı ALL'lerin nedeni ve risk faktörleri konusunda çok az veri mevcuttur. Genel olarak gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre daha sık gözlenmektedir. ABD gibi gelişmiş ülkelerdeki çocukların, enfeksiyon ajanları ile geç karşılaşmasının ALL patogenezinde rolü olabileceğini savunan görüşler vardır; ancak belli bir enfeksiyon ajanı ile lösemi arasında net ilişki bildirilmemiştir (173).

Enfeksiyon seyirinde B hücre farklılaşmasının uyarılması ile B hücre orjinli lösemi ve malignitelerin, sık enfeksiyon geçiren çocuklarda daha az görüldüğü düşünülmektedir. Bunun yanında sık enfeksiyonun lösemi artışına sebep olduğuna ilişkin bazı epidemiyolojik çalışmalar da bulunmaktadır (173).

Prenatal dönemde tanısız amaçlı yapılan tetkikler sırasında iyonize radyasyona maruz kalmak, ALL ve AML sıklığında 1.5 kat artışa sebep olmaktadır (173). Hiroşima ve Nagazaki'de atom bombasına maruz kalanlarda, uzun bir takip sonrasında lösemi geliştiği gözlenmiştir. Maruziyetten sonraki latent süre 5-21 yıl arasında bildirilmektedir. Risk oranı, atom bombası ile karşılaşmadaki yaş'a ve radyasyon dozuna bağlı görülmüştür (42). Hiroşima'da AML ve KML sıklığında, 30 kat artma

saptanmıştır. En yüksek oranlar maruziyet esnasında 10 yaşından küçük veya 50 yaşından büyüklerde gözlenmiştir (75).

Düşük frekanslı noniyonize radyasyona (Örnek: Elektromagnetik alan) maruz kalmanın lökomogenik olup olmadığını ele alan çalışmalar da mevcuttur. Bir çalışmada, magnetik alanlara maruz kalan çocuklarda, artmış bir akut lösemi riski bulunmamıştır (41, 93).

Down sendromu, nörofibromatosis, Bloom sendromu, Ataksi Telenjektazi ve Klinefelter sendromunda da artmış ALL ve AML sıklığı bildirilmektedir. Down sendromlu çocuklarda lösemi sıklığı normal populasyona göre 10-30 kat artmış olarak rapor edilmektedir. Down sendromlu çocuklarda 5 yaşın üzerinde ALL ve AML sıklığında artış olmazken daha küçük yaştakilerde AML gelişme riski fazladır. Down sendromlu hastalarda AML alt tiplerinin dağılımı 5 yaşın üzerindekiyle benzer olmasına rağmen daha küçük yaştakilerde AML M7 ve eritrolösemi tipi sıklığında belirgin artış gözlenir (188).

Ataksi Telenjektazi (AT)'nin doğumdaki sıklığı 1/300.000'dir (136). Bebeklik döneminde ortaya çıkan progresif serebellar ataksi, anormal göz hareketleri ve dizartri ile karakterizedir. Timik hipoplazi, hipogonadizm, büyüme geriliği, özellikle bulbar konjonktivada telenjektazi varlığı ile karakterizedir. Yüksek AFP (Alfa fetoprotein) seviyeleri hastalığın tipik özelliğidir. AT'nin en önemli özelliklerinden biri, lösemi ve lenfomalara artmış yatkınlıktır. Yapılan çalışmalarda homozigot Ataksi Telenjektazi'li hastaların %10'unda malignite geliştiğini, bu hastaların lösemilere 70 kat, lenfomalara 250 kat artmış risk taşıdıklarını göstermiştir (107).

Akut myeloid lösemide kesin etyolojik bir sebep bilinmemektedir. AML'li çocukların büyük bir kısmında belli bir predispozan faktör yoktur. Bilinen risk faktörleri (Tablo 9) birkaç konjenital/genetik hastalık, iyonize radyasyon ve ilaç veya toksine maruziyettir (41, 50, 51, 93). Örneğin benzen'e mesleki maruziyet ve alkali ajanlarla veya topoizomeras-2 inhibitörleri ile (özellikle epipodofilotoksinler) tedavi, artmış AML sıklığı ile ilişkilidir (121, 169). Epipodofilotoksin tedavisi (etoposid veya teniposid) sonrası gelişen sekonder AML, tedavi planına ve kümülatif doza bağımlı olarak ortaya çıkar. Haftada iki veya haftalık etoposid/teniposid uygulanmasının, riski artırdığından bahsedilmektedir (121). Alkali ajanların sebep olduğu AML 'nin aksine etoposid veya teniposid tedavisi sonrası gelişen lösemiler genellikle FAB M4 veya M5

alt tipleridir. Kısa bir latent dönem (2-4 yıl) sonra ortaya çıkar ve genellikle **11. kromozomda** bant q23'ün (**MLL gen yeniden düzenlenmesi**) dahil olduğu kromozomal translokasyonlara sahiptir (14). Japonya'da atom bombasından sonra radyasyona maruz kalan çocuklarda lösemi sıklığında artma olduğu saptanmış fakat atom bombasının etkilerine prenatal dönemde maruz kalan çocuklarda lösemi sıklığında artma gözlenmemiştir (147).

Tablo 9. AML gelişimine yatkınlık oluşturan faktörler (50, 51, 169)

Genetik faktörler	Konjenital kemik iliği yetersizliği sendromları	İlaçlar
Down sendromu	Kostman sendromu	Benzen
Fankoni anemisi	Diamond Blackfan anemisi	Alkalizan ajanlar
Bloom sendromu		Epipodofilotoksinler
Nörofibromatosis tip1		İyonize radyasyon
Klinefelter sendromu		
Turner sendromu		

2.13. ALL'DE PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Tanı anındaki çok sayıda klinik ve laboratuvar özelliği, ALL tedavisi gören hastaların remisyon süresini tahmin etmede prognostik bir öneme sahiptir. Teknolojideki özellikle moleküler genetik alanında ilerlemeler bazı risk faktörlerinin daha kesin tanımlanmasına yol açmıştır.

Teşhisteki **ilk lökosit sayısı** prognoz için önemli bir prognostik faktördür. $50.000/\text{mm}^3$ 'den daha fazla ilk lökosit sayısına sahip hastalar kötü prognoza sahiptir (100, 131).

Tanı anındaki **yaşın** prognostik önemi vardır: 2 yaşın altındaki ve 10 yaşın üzerindeki hastalar daha kötü prognoza eğilimlidir (60). 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.

İmmünofenotip de prognozla bağlantılıdır ve olgun B hücre veya T hücre immünofenotipli ALL hastaları, B-prekürsör ALL'li hastalardan daha kötü prognoza

sahiptir (32). B-prekürsör ALL'li hastalardaki sitogenetik risk grupları tablo 10' da verilmiştir.

Kimi çalışmalarda **ALL üzerindeki myeloid markır ekspresyonu, ALL'li çocuklarda kötü prognozla ilişkilendirilmektedir** (19).

Morfolojik alt tipler prognoz arasında da bir ilişki vardır. FAB L3 alt tipi B hücre ALL ile ilişkilidir ve kötü prognozu gösterir. Çok sayıda çocukluk ALL çalışmasında L2 tipinin de kötü prognoza sahip olduğu söylenmişse de, bugün artık L1 ile arasında prognoz açısından bir farklılık olmadığı kabul edilmektedir. L1 alt tipi daha iyi prognozla ilişkilidir (105). Bazı çalışmalarda düşük serum immunglobulin M seviyelerinin kötü prognozu gösterdiğinden bahsedilmektedir (89).

Cinsiyet ve ırkın da prognoz üzerine etkisi vardır. Bayan hastalar daha iyi bir prognoza sahiptir. Bu durum kısmen testiküler relapsın etkisi ile ve erkek hastalarda T hücre hastalığının yüksek insidansı ile bağlantılıdır (60, 131).

Etnik köken önemli bir prognostik belirleyicidir. Afrika kökenli Amerikalılar ve Hispanik hastalar daha düşük bir remisyon indüksiyon oranına ve yüksek kemik iliği relapsı olasılığına sahiptirler (76). Bu kötü sonucun sebepleri çok yüksek ilk lökosit sayımları, mediastinel kitleler ve popülasyondaki L2 morfolojisinin bu grupta sık ortaya çıkması ile ilişkilidir (62, 76).

Geçmişte hepatomegali, splenomegali, masif lenfadenopati ve/veya mediastinel kitle ile seyreden tümör yükünün prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir (154). Fakat ALL için yapılan Ulusal Kanser Enstitü sınıflandırmasında ne organomegali ne de lenfadenopati primer prognostik faktör olarak değerlendirilmemektedir (151)

Gelişmiş moleküler tanı, prognoza dair yeni takım anlayışlar sağlamaktadır. **Kromozomal sayı ve prognoz arasındaki ilişki** iyi karakterize edilmiştir. **Hiperdiploidili hastalar** [>50 kromozom (126) veya DNA indeksi >1.16 (167)] iyi prognoza sahiptir. Üstelik, kromozom 4 ve 10'un kombine trizomisi bağımsız bir şekilde B prekürsör ALL'sinde iyi prognozu gösterir (63). Hiperdiploidili hastalarda trizomi 10 ve 17, bu özelliğe sahip olmayan hiperdiploidili hastalara göre daha iyi bir seyre sahiptir (66). 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 (126, 127).

Kromozom yapılarındaki değişiklikler aynı zamanda önemli prognostik bilgiyi aktarır. Son teknik gelişmeler daha önceden dikkate alınmamış, prognostik olarak önemli gen yeniyapılanmalarının tanınmasına yol açmıştır. Çok sayıda kromozomal translokasyonlar örneğin, B hücre ALL ile ilişkili **t(8;14)**, Ph kromozomu pozitif ALL’de bulunan t(9;22) **BCR-ABL gen yeni düzenlemesi**, B-prekürsör ALL’de ortaya çıkan t(1;19) **E2A-PBX1 gen yeni düzenlemesi** ve sıklıkla infantlarda ortaya çıkan t(4;11) **MLL translokasyonu** 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 birliktedir (95, 172, 184). Bu kromozomal aberasyonlar tarafından meydana getirilen füzyon proteinleri ve diğer fonksiyonel değişikliklerin teşhisi, gelecekte ALL tedavisini radikal olarak değiştirebilir görülmektedir. Bu düşünce, t(9;22) translokasyonu tarafından meydana getirilen BCR-ABL füzyon tirozinkinaz’ın inhibitörü olan Gleevec (İmatinib mestilat)’in kaydadeğer başarısı (KML’de başarısı kanıtlanmış, ALL’de deneme halinde çalışmalar devam etmektedir) ile ilişkilidir (37).

Başlangıç tedaviye verilen cevap en önemli prognostik faktörlerden biridir. İlk indüksiyon terapi seyrini tamamladıktan sonra tam bir remisyon gerçekleştiremeyen hastalar belirgin bir şekilde remisyon süresini ve hayatta kalma sürelerini azaltmışlardır (46, 77).

Tablo 10. Çocukluk B- prekürsör ALL’inde sitogenetik risk grupları (166)

RİSK GRUBU	SİTOGENETİK BOZUKLUK
İyi prognoz	t(12;21)
	Hiperdiploidi >50
Kötü prognoz	t(9;22), t(4;11), t(1;19)
	Hipodiploidi

Son yıllarda çocukluk ALL’inde klinik ve laboratuvar kriterlerinin kombinasyonuna dayanan risk faktörlerinin değerlendirilmesini içeren bir yaklaşım geliştirilmiştir (Tablo 11) (151).

Tablo 11. Çocukluk ALL'sinde risk faktörleri (151)

RİSK FAKTÖRÜ	İYİ PROGNOZ	KÖTÜ PROGNOZ
Yaş	1-9.99 yaş	≥10 yaş
Beyaz küre sayısı	<50.000/mm ³	≥50.000/mm ³
DNA indeksi	>1.16	≤1.16
Trizomi 4 ve 10	+	-
Kemik iliği (7. ve 14 günlerde tedaviye cevap)	+	-
Periferik blast sayısı(8.gün)	-	+
Sitogenetik		t(9;22)
		t(4;11)
		t(1;19)
İmmünofenotip	B-prekürsör	T-hücre
MSS tutulumu	MSS 1 (blast yok)	MSS 2 (<5 beyaz küre/ mm ³ ve blast) MSS 3 (≥5 beyaz küre/ mm ³ ve blast/MSS tutulumu)

2.14. AML'DE PROGNOSTİK FAKTÖRLER

AML prognozu ile ilişkili az sayıda çalışma vardır ve bunlarda farklı sonuçlar elde edilmiştir (52). AML'de uzun süreli remisyonla ilişkili özellikler tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12. Uzun süreli remisyonla ilişkili özellikler (33)

ÖZELLİK	İYİ PROGNOSTİK
Sitogenetik	t(15;17), t(8;21), inv(16)
Lökosit sayısı	<100.000/mm ³
Sekonder AML	Bulunmaması
FAB subtipi	Auer rod ile M1 ve M2, M3 ve M4E0
Tam remisyon için	Tek kür uygulanması

Tanımda lökosit sayısının >100.000/mm³'den fazla olması, monozomi 7 veya 5, del(5q), 3q yeni düzenlemeleri, kompleks karyotip ve FLT3 internal tandem duplikasyonuna sekonder AML düşük remisyon oranına sahiptir (182).

Çeşitli çalışmalarda M4, M5 alt tipi, yüksek beyaz küre sayısı, 2 yaşın altında olma, SSS dışı ekstramedüller lösemi, ve remisyona girme süresinin uzunluğunun, remisyon üzerinde olumsuz etkisi olduğu gösterilmiştir (52).

Akut lösemili hastaların %5-15'inde birden fazla hematopoetik serinin morfolojik, sitokimyasal, immüfenotipik veya genetik bulgusuna sahip oldukları tahmin edilmektedir. AML hastalarının yaklaşık %10-25'i, myeloid blastların üzerinde lenfoid antijen, benzer şekilde ALL hastalarının %4-25'i blast hücre yüzeyinde en azından bir myeloid antijenin varlığını gösterir (30, 83). AML'de lenfoid antijenlerin ekspresyonunun prognostik önemi yoktur.

Pek çok hibrid ya da miks tip lösemide aynı blastta lenfoid ve myeloid markırların birlikte ekspresyonu söz konusudur. Nadir olarak ise iki farklı blast popülasyonu birarada olabilir. Miks tip lösemilerin patogenezi yeterince anlaşılammıştır. Bunlar ilkel bir "stem" hücresinde lösemik bir transformasyonu veya myeloid lösemide lenfoid genin aberan ekspresyonunu temsil ediyor olabilirler.

Gerçek bifenotipik lösemi örneği az sayıda tanımlandığından prognozu konusundaki bilgiler net değildir. Pediatrik AML'de miks seri ekspresyonunun prognostik öneme sahip olduğu gösterilmemiştir (30, 83). Pediatrik bir çalışmada lenfoid antijen pozitif AML'li 16 hastadan 14'ünün aynı zamanda bir T hücre markırı da taşıdığı gösterilmiştir. İlginçtir ki bu hastaların birkaçı AML indüksiyon tedavisine yeterli cevap vermemiş fakat sonradan ALL indüksiyon rejimine cevap vermişlerdir.

AML geleneksel olarak kemik iliğindeki myeloid serinin morfolojisine göre sınıflandırılır. 1976'da FAB grubu blast hücrelerinin morfolojik ve sitokimyasal özelliklerine dayanan bir sınıflamayı öne sürmüştür. FAB grubuna göre AML tanısı için kemik iliğinde en az %30 blast olması gerektiği belirlenmiş ve 8 AML alt grubu tanımlanmıştır. Daha sonraki düzenlemeler M0 ve M7 alt gruplarını belirlemiştir (9, 24)

Günümüzde Hematopatoloji ve Avrupa Hematopatoloji Birliğinin işbirliği ile Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından hematopoetik ve lenfoid kanserler için yeni bir sınıflama yapılmıştır. DSÖ hematopoetik kanserlerin sınıflandırılmasında sadece morfolojik bulguların değil aynı zamanda genetik, immüfenotipik, biyolojik ve spesifik hastalığı tanımlayacak klinik özelliklerin kullanılmasını da önermektedir (Tablo 13). **DSÖ'nün sınıflandırmasında AML tanısında kullanılan blast sayısının eşik değeri %30'dan %20'ye düşürülmüştür.** Klonal kromozom değişikliklerinden

t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13;q22) veya t(16;16)(p13;q22) ve t(15;17)(p22;q12) blast yüzdesinden bağımsız olarak sınıflandırılmaktadır (175).

Tablo 13. Akut myeloid lösemide WHO sınıflandırması (175)

1. Tekrarlayan genetik değişikliklerle birlikte AML
AML ile t(8;21)(q22;q22), (AML1/ETO)
AML ile kemik iliğinde displazik eozinofiller ve inv(16)(p13;q22) veya t(16;16)(p13;q22), (CBFβ/MYH11)
Akut promyelositik lösemi ve t(15;17)(q22;q12), (PML/RARα) ve varyantları
AML ve 11q23 (MLL) aberasyonları
2. Birden fazla seride displazi ile birlikte AML
3. AML ve MDS, tedavi bağımlı
Topoizomeraz-II inhibitör ilişkili
Diğerleri
4. AML, başka kategoriye girmeyen
Minimal farklılaşma
Maturasyon yok
Maturasyon var
Akut myelomonositik lösemi
Akut monoblastik/akut monositik lösemi
Akut eritroid lösemi
Akut megakaryoblastik lösemi
Akut basofilik lösemi
Akut panmyelosis with myelofibrosis
Myeloid sarkoma

M0 alt tipi çocuklarda nadirdir; özel bir klinik veya biyolojik birliktelikten şu ana dek bahsedilmemiştir. M7 alt tipi 3 yaşından küçük ve de özellikle Down sendromlu çocuklarda yaygındır (180).

Tablo 14. AML alt tiplerinin, kromozomal anomaliler ve klinik/laboratuvar özellikleri ile ilişkileri (33)

FAB alt tipi	Görülme sıklığı (%)	Kromozomal anomali	Klinik/Laboratuvar özellikleri
M0	2	-5 veya del(5), -7 veya del(7)	Genelde CD34 ve terminal deoksinükleotidil transferaz ekspresyon eder.
M1	10-18		
M2	27-29	t(8;21)(q22;q22)	
		t(6;9)(p23;q34)	Myeloblastoma (özellikle orbital)
M3	5-10	t(15;17)(q22;q21)	Dissemine intravasküler koagülasyon
M4eo		inv(16)(p13;q22) veya t(16;16)(p13;q22)	Santral sinir sistemi lösemi, eozinofili
M4	16-25	t(9;11)(p22;q23) t(11;19)(q23;p13.1) t(10;11)(p12;q23)	İnfanıl başlangıç (<2yaş), ekstramedüller lösemi, hiperlökositoz
M5	13-22	t(9;11)(p22;q23) t(11;19)(q23;p13.1) t(10;11)(p12;q23)	İnfanıl başlangıç (<2 yaş), ekstramedüller lösemi, hiperlökositoz, epipodofilotoksine sekonder lösemi
M6	1-3		
M7	4-8	t(1;22)(p13;q13)	<1 yaş ve t(1;22), myelofibrosis, Down sendromu
Tüm tipler		+8	Öncesinde MDS
		-5 veya del(5)(q11-q35)	Geç yetişkin başlangıç, toksik maruziyet, öncesinde MDS
		-7 veya del(7) (q22-q36)	Geç yetişkin başlangıç, toksik maruziyet, öncesinde MDS

Çocukluk akut lösemilerinin büyük bir çoğunluğunda ve AML'li erişkinlerin %54 ile %78'inde, sitogenetik aberasyonlara rastlanır (108). Hem AML hem de ALL'nin büyük çaplı klinik araştırmaları, sitogenetik araştırmanın tedavi öncesinde akut lösemilerin en değerli prognostik belirteçleri olduğunu ortaya koymuştur.

2.16. KRONİK MYELOİD LÖSEMI

Kronik myeloid lösemi (KML) Philadelphia kromozomu olarak bilinen spesifik bir translokasyon ile karakterize, hematopoetik kök hücrenin klonal bir hastalığıdır. Çocukluk lösemilerinin sadece %3-5'ini oluşturur. Bifazik ve trifazik seyir gösterir. Kronik faz 3-4 yıl devam eder; lökosit sayısı düşük doz kemoterapi ile kolayca kontrol altına alınır. Akut lösemiye benzeyen myeloid veya lenfoid blast krizi, hızlı bir şekilde ortaya çıkabilir veya hastalığın akselere fazını takiben gelişir. Akselere faz veya blastik krizde, kan değerlerini kontrol altında tutmak güçleşir ve sıklıkla ek sitogenetik değişiklikler oluşur (31).

KML de başlangıç semptomları genellikle sinsidir ve tanı başka bir nedenle kan sayımı yapıldığı esnada konur. Hastalar splenomegali, kilo kaybı, iştahsızlık ve gece terlemeleri ile gelebilir. Birçok vakada Philadelphia kromozomu, sitogenetik inceleme ile saptanabilir; kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu tekniği, BCR-ABL gen düzenlemesini kantitatif olarak da değerlendirebilen diğer bir yaklaşımdır (31).

Hastalarda lökosit sayısı artmıştır ($100.000/\text{mm}^3$ 'ü aşabilir) ve periferik yaymada tüm myeloid hücre formları görülür. Trombosit sayısı artabilir. Serum vitamin B12 ve ürik asit düzeyi yükselir. Lökosit alkalen fosfataz aktivitesi azalmıştır veya hiç yoktur. Kemik iliği, diferansiyasyonun tüm aşamalarındaki normal myeloid hücreleri içeren hiperselüler yapıdadır. Megakaryositlerin sayısı artmış olabilir. Eozinofili veya bazofili veya her ikisi yaygındır (31).

BCR-ABL'nin direkt olarak KML patogeneğinde yeralması fare modellerinde gösterilmiştir. Bu fare modellerinde fare kemik iliği kök hücrelerinin etkin retroviral transdüksiyonu alıcı farelerin %100'ünde KML-benzeri bir hastalığın ortaya çıkmasına neden olduğu görülmüştür. BCR-ABL'nin tirozin kinaz aktivitesi transformasyon için gereklidir. Bu bilgi ABL kinazın aktif bölgesinin spesifik inhibitörünün dizaynı için temel oluşturur. ST1571 (Imatinib veya Gleevec), adenzin tri fosfatın (ATP) kinaz cebine girmesini bloke eder, bu nedenle kinaz, substratları fosforilleyemez (166).

2.17. LÖSEMİLERDE PROGNOSTİK ÖNEMİ OLAN KROMOZOM ANOMALİLERİ

2.17.1. Philadelphia kromozomu(Ph1) ve translokasyon t(9;22)(q34;q11) sonucu oluşan BCR-ABL (Breakpoint Cluster Region-Abelson proto-onkogeni) füzyon geni

Philadelphia kromozomu (Ph1), kromozom 9 ve 22'nin uzun kolları arasındaki resiprokal translokasyon sonucu, kısalmış görünen 22. kromozom için kullanılan bir tanımlamadır (135). İlk olarak KML hastalarında tarif edilmiş, çok geçmeden ALL hastalarında da varlığı ortaya konulmuştur (120). Ph1 translokasyonu, AML hastalarının %2'sinde, çocukluk çağı ALL hastalarının %3-5'inde ve erişkin ALL hastalarının %15-30'unda gözlenir. Erişkin ALL hastalarında özellikle 50 yaşın üzerindekielerde Ph1 pozitiflik oranı %40'lara kadar çıkabilir (119). Bu hastalar sıklıkla yüksek beyaz küre ve blast sayısına ve bazı yayınlarda yüksek oranda organomegali (dalak, lenf nodları) sıklığına sahiptir (15). İmmüfenotip, tipik olarak prekürsör-B-hücre ALL'dir; CD13 ve CD33 gibi myeloid markırlar hastaların %50'sinde bulunur. CD10 ekspresyonu yaygındır (153).

Ph1 kromozomunun myeloid, eritroid, megakaryosit ve B lenfoid hücrelerde bulunması, KML'nin kök hücre hastalığı olduğunu göstermektedir. Blast krizi esnasında rastgele olmayan sekonder kromozomal değişiklikler, Ph1 kromozomunda duplikasyon ve trizomi 8 ortaya çıkar (13). p16 ve p53 gibi tümör supresör genlerin mutasyon veya delesyonları da ortaya çıkabilir (2).

t(9;22)'nin sonucunda, aktif sitoplazmik tirozinkinaz olan BCR/ABL füzyon proteini oluşur. BCR genindeki kırılma noktalarına göre füzyon proteininin boyutu 185 kd'dan 230 kd'na kadar değişkenlik gösterir. Herbir füzyon gen, ABL tirozinkinazın aynı bölümünü kodlar ancak N-terminal bölgede kalan bcr bölümünün uzunluğu farklıdır. Tipik kronik faz KML hastalarının hemen hemen hepsi 210 kd BCR/ABL proteini eksprese ederken, Ph1 pozitif akut lenfoblastik lösemili hastalar ya 210 kd BCR/ABL proteini veya 190 kd BCR/ABL proteini eksprese eder. Son zamanlarda KML alt grubundan olan, ve KML hastalarındaki beyaz küre sayısından daha düşük beyaz küreye sahip, blast krizine progresyonu daha yavaş olan p230 kd BCR/ABL proteini de tanımlanmıştır (117).

Farklı füzyon proteinlerinin farklı sub-klinik tablolar ile ilişkili olabileceği düşüncesi, proteinlerin, biyolojik aktiviteleri ile ilgili çalışmalara zemin yaratmıştır. Çalışma sonuçları, p190 kd BCR/ABL proteininin, p210 kd proteine göre tirozinkinaz olarak daha yüksek bir aktivite ve daha potent bir onkogen olduğunu göstermektedir (97, 176).

KML hastalarında p210^{bcr/abl} gözlenmesine rağmen pekçok hastada p190^{bcr/abl} da saptanabilir. Kantitatif revers transkriptaz-PCR (RT-PCR) ile yürütülen çalışmalar p190^{bcr/abl} mRNA nin, pek çok kronik fazdaki KML hastasında, hemen tüm KML hastasının lenfoid blast fazında ve p210^{bcr/abl}-pozitif ALL'de saptanabileceğini göstermiştir (174). p190^{bcr/abl} yanında p210^{bcr/abl} eksprese edilse bile p190^{bcr/abl}/p210^{bcr/abl} oranı ALL hastalarında KML hastalarından yaklaşık 10 kat fazladır. KML hastalarında bu oran kronik ve lenfoid blast fazında benzerdir. Çocukluk dönemi ile erişkin dönem Ph-pozitif ALL arasında p190^{bcr/abl} ekspresyonu sıklığı açısından fark vardır: Çocukluk döneminde %80 iken erişkinde %50 oranında gözlenir (78, 144).

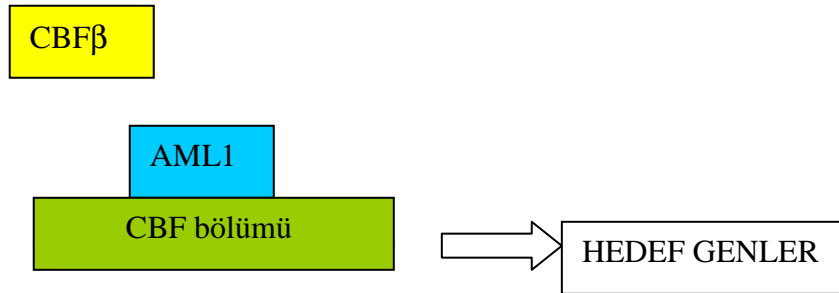
BCR/ABL'nin lösemik aktivitesi. KML hücrelerinin deneysel modelleri hematopoetik öncü hücrelerde BCR/ABL ekspresyonunun anormal proliferasyona ve malign fenotip ekspresyonuna sebep olacağını göstermiştir (35, 118). Bir dizi transgenik fare modelinde p190 bcr/abl DNA yapısı myeloid hem de lenfoid lösemilere sebep olmuştur. Bu durum, p190 bcr/abl'nin akut lösemi tipi hastalığı indükleyebileceğini ve philadelphia ekspresyonu ile lösemi arasında bir ilişki varlığını ortaya koymaktadır (73, 176). Fare hematopoetik hücrelere retrovirüs aracılı gen transferi de kullanılmıştır (39, 79). Fare kemik iliği hücrelerini p210 bcr/abl şifreli retrovirüsle enfekte etmişler ve bunu radyasyon verilmemiş singeneik alıcılara vermişlerdir. Transplant alıcıları farklı hematolojik maligniteler geliştirirken insan KML'sinin kronik fazına benzer bir sendrom gözlenmiştir (34). **ALL hastalarında BCR/ABL ekspresyonu**, günümüzdeki yüksek risk grubundakilere uygulanan tedavi protollerine rağmen **kötü prognoz** ile birlikte (43).

2.17.2. Translokasyon (8;21)(q22;q22) sonucu oluşan AML1-ETO füzyon geni

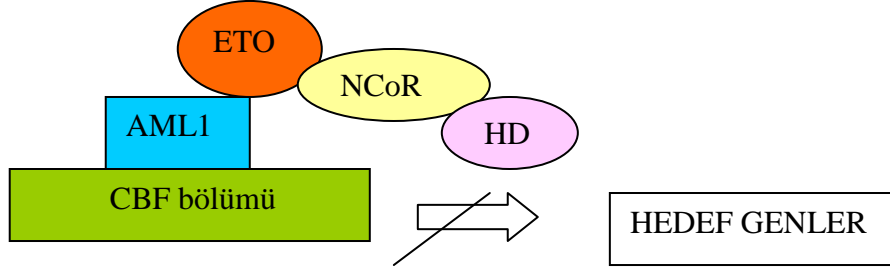
Özelleşmiş kan hücrelerine kök hücrelerin maturasyonu, spesifik serideki spesifik genlerin ekspresyonunu sağlayan transkripsiyon faktörleri ile regüle edilir (148,

163). Gen “knock-out” teknoloji ve aşırı ekspresyon çalışmaları çeşitli transkripsiyon faktörlerinin spesifik hematopoetik serilerde kritik olduğunu tanımlamaya çalışmıştır (148, 164). Bu çalışmalar temelinde kritik transkripsiyon faktörleri iki major kategoriye ayrılmaktadır. 1. kategoride, tüm hematopoetik serinin diferansiyasyonunu etkileyen kök hücre lösemi transkripsiyon faktörü (SCL), GATA-2 ve akut myeloid lösemi transkripsiyon faktör-1 (AML-1); 2. kategoride ise GATA-1, PU.1, CCAAT (C/EBP α) bulunur (163). Bu faktörler sadece soy spesifik gen ekspresyonuna katkı yapmakla kalmaz, aynı zamanda alternatif yolları suprese eder. AML1 (RUNX1) kromozom 21q22’de lokalizedir ve 12 ekzon, 260 kilobazdan fazla DNA ile şifrelenir. Proteinin N terminal bölümü, Drosophila Runt proteini ile aynı yapıda olan RUNT homoloji bölgesidir. RUNT bölgesinin fonksiyonları DNA bağlama, protein-protein etkileşimi, ATP bağlama ve çekirdek lokalizasyonuna katkı sağlamaktır (26). Bu transkripsiyon faktör ailesi, kor bağlayan faktör (CBF) ailesi olarak bilinir; hücrelerin spesifikleşmesi ve myeloid diferansiyasyon ve soy spesifik granulosit fonksiyonlarından sorumludur.

AML1, CBF kompleksin DNA bağlayan α subunitidir. CBF β ile birlikte olduklarında CBF β , α subunitin DNA bağlama afinitesini artırır (177). Farelerde AML1 geninin disrupsiyonu fetal karaciğerde hematopoezin yetersizliğine ve embriyonik dönemde ölümle sonuçlanır (114).



Şekil 5. CBF, AML1 ve CBF β içeren bir heterodimerik transkripsiyon faktörüdür. AML1 direkt olarak DNA ile ilişkilidir. CBF’nın transaktivasyon potansiyeli, DNA ile direkt ilişkili olmayan CBF β ’nın bağlanması ile artırılır (71)



Şekil 6. CBF füzyonları, histon deasetilazın (HD) da dahil olduğu nükleer co-represör kompleks (NCoR) üzerinde dominant negatif inhibitör olarak rol alır. HD inhibitörleri, terapötik amaçlı olarak klinik çalışmalarda araştırılmaktadır (71)

t(8;21), AML'nin M2 alt tipinin yaklaşık %30'unda gözlenir ve tüm AML'de en yaygın translokasyonlardan biridir (85). t(8;21) in AML M2 de iyi prognozla ilişkili olduğu iddia edilmektedir. İhtilafı olmasına rağmen, t(8;21) ilişkili AML'nin iyi prognozu, diğer AML grupları ile kıyaslandığında, yüksek komplet remisyon oranı ve uzun sağkalım ile ilişkisine bağlı görünmektedir (12).

AML1/ETO füzyon geni, AML1 geninin düzenlediği işlevleri değiştirir ve fonksiyonlarını inhibe eder. Çok sayıda deney CBF translokasyonlarının gerekli fakat lösemnin indüksiyonu için tek başına yeterli olmadığını göstermiştir.

AML1/ETO'nun primitif CD34+ hücrelerindeki ekspresyonu, farklılaşmayı yavaşlatmakta ve projenitör hücre yenilenmesini tetiklemektedir. AML1/ETO'nun daha olgun projenitör hücrelerdeki ekspresyonu gelişim duraksaması ile sonuçlanmaktadır (36, 109). Hücre popülasyonlarında ilave mutasyonların kazanımı lösemi gelişimi için önemli bir parametredir.

2.17.3. Retinoik asit reseptör translokasyonları

Akut lösemi tedavisindeki moleküler gelişmeler ve klinik gelişmeler arasındaki ilişkinin en güzel örneklerinden biri **Akut Promiyelositik Lösemi**'dir. t(15;17)(q22;21) translokasyonu ve Akut Promiyelositik Lösemi (APL) karakteristik morfoloji (Auer çomaklarına sahip veya halter şekilli nukleuslu mikrogranüler tip hipergranüler blastlar) si arasındaki ilişki uzunca bir süreden beri bilinmektedir. APL'yi retinoik asitle tedavi edebilme ve bu tedavinin moleküler temelini anlama moleküler tıbbın mükemmel bir örneğidir (20).

Akut promiyelositik lösemi ile ilişkili dört translokasyondan en yaygın olanı t(15;17)(q22;q21)'dir. Bu translokasyon sonucu oluşan füzyon proteininin 5' bölgesi 15q22'deki PML (Promiyelositik lösemi) geni tarafından, 3' bölgesi 17q21'deki RAR α (Retinoik asit reseptör α) geni tarafından şifrelenir. RAR α geni, retinoik asitin hücre üzerindeki etkilerine aracılık eden ligand-bağımlı steroid reseptördür. Kırılma noktası intron 2'dedir ve kırılma hep aynı noktadan olur. PML geninde üç temel kırılma noktası bulunur. En yaygın olan PML-RAR α , PML geninin 554 aminoasiti şifreleyen ilk altı ekzonunu içerir (47).

“Wild” tip RAR α , bir transkripsiyon faktörüdür; miyeloid diferansiyasyonun da dahil olduğu birçok genin “promoter” indaki retinoik asit elementlerine (RARE) bağlanan bir çekirdek reseptörüdür. RAR α , bir heterodimer olarak retinoid X reseptör (RXR) proteini ile bağ meydana getirir (143). Retinoik asit yokluğunda retinoik asit cevap elemanları (RARE) üzerindeki retinoid X reseptör (RXR) ile heterodimer olarak bulunan RAR α , ko-represör proteinler olan SMRT, N-CoR, mSin3 ve Histon deasetilaz proteinlerine bağlanır. Hedef gen “promoter”indaki histonların deasetilasyonu **transkripsiyonel represyona** neden olur (104).

ATRA'nın fizyolojik konsantrasyonlarındaki ligant bağı, RAR α 'da korepresör kompleksin salınımına ve histon asetilaz aktiviteli koaktivatörün (SRC-1) bağlanmasına sebep olan konformasyonel bir değişikliğe yolaçar. Hedef gen promoturlarındaki histon kuyrukların asetilasyonu kromatinin açılmasına ve transkripsiyonel aktivasyonun kolaylaşmasına yolaçar (104).

PML proteini normalde nükleer cisimcikler olarak adlandırılan subnükleer PML onkogenik bölgelerinde lokalizedir. PML, tümör supresör protein olarak görev yapabilir ve apoptozun indüklenmesinin yanısıra büyümenin baskılanmasında da görev alabilir (186).

APL'de PML-RAR α proteinleri, RAR α proteinine benzer afiniteye sahip retinoik asit reseptör elemanları (RARE) ile bağ kurar ve retinoid X reseptör (RXR) ile heterodimerize olabilir. RARE'larına bağlanmak için RAR α ile rekabet eder. PML-RAR α ligant yokluğunda ko-represör proteinleri bağlar. Fakat ATRA'nın fizyolojik seviyeleri (10^{-8} M) PML-RAR α 'yı transkripsiyonel bir aktiviteye dönüştüremezler; farmakolojik konsantrasyonlara (10^{-6} M) ihtiyaç duyulur. Bu APL hastalarının ATRA

ile tedavisinde promiyelosit diferansiyasyonunu indüklemek için tedavinin etkinliğinde bir temel sağlar (56).

APL'nin ATRA'ya olan cevabının mekanizmasını açıklayıcı ek çalışmalar, alternatif bir translokasyon olan t(11;17)(q23;q21)'ye sahip APL hastalarında gerçekleştirilmiştir (91). Bu translokasyona sahip hastalar ATRA'nın farmakolojik dozlarına rezistandırlar. ATRA'nın farmakolojik dozları, füzyon proteininin RAR α bölümünden ko-represörlerin salınımını indüklemesine rağmen PLZF (Promyelocytic zinc finger)'ye bağlı olan ko-represörler etkilenmezler (56, 104). Önemli ölçüde Trichostatin gibi histon deasetilaz (HDAC) inhibitörleri ile birlikte tedavi ATRA hassasiyetini yeniler; çünkü Trichostatin, PLZF kısmı üzerindeki ko-represörlerin deasetilaz aktivitesini engellemektedir (91, 92).

ATRA sensitif ve ATRA dirençli PML-RAR α ve PLZF-RAR α füzyon proteinlerinin karşılaştırması transkripsiyonel represyonda HDAC'ın öncü rolünü göstermiştir ve akut lösemide terapötik ajan olarak HDAC inhibitörlerinin kullanımına olan ilgiyi tetiklemiştir (53).

2.17.4. İnv(16)(p13q22) sonucu oluşan CBF β -MYH 11 füzyon geni(core binding factor β gene-smooth muscle myosin heavy chain gene)

İnv(16)(p13q22) ve t(16;16)(p13;q22) mutasyonları başlıca AML M4E0 alt grubunda gözlenir. Bu hastalar, oldukça **iyi prognoza** ve sitozin arabinozid içeren tedavi rejimlerine cevap vermeleri ile tanınır (108). 16q22'de yeralan CBF β alt ünitesi ya bu kromozomal inversiyon ile veya 16p13'de yeralan MYH11 ile füzyon transkriptine yol açan bir translokasyon ile kesintiye uğrar (94). Ancak AML1-ETO'da olduğu gibi CBF β -MYH 11 ekspresyonu da AML oluşturmak için tek başına yeterli olmamaktadır (21).

AML M4'ün displazik eozinofiller ile karakterize olan tipinde myelomonositik blastlar ile birlikte %5-30 kadar displazik eozinofiller de bulunur (59). Bu varyant, AML olgularının %5-10'unu, ortalama M4 tipinin 1/3'ünü oluşturur. AML M4E0, sıklıkla yüksek beyaz küre sayısı (30.000-100.000/mm³) ve hepatosplenomegali ile prezente olur (1). AML M4E0 varyantında tüm hastalarda 16. kromozomda inversiyon veya homolog iki 16 kromozom arasında dengeli bir translokasyon bulunur. İnv(16) veya t(16;16), 16q22'de bulunan kor bağlama faktör kompleksinin CBF β alt ünitesini ve 16p13'de yeralan düz kas myozin ağır zincir geni (MYH11)'ni hedef alır (28). CBF β -

MYH11 füzyon geni AML1 aracılı transkripsiyon aktivasyonunu baskılar. Myelomonositik lösemili hastalarda tam cevap oranı %50-65 arasında iken AML M4E0 varyantlılarda bu oran %70-80'dir. Ortalama remisyon süresi ve sağkalım diğer akut myelomonositik lösemi olguları ile kıyaslandığında belirgin şekilde uzamıştır.

2.17.5. 11q23 Translokasyonları

Akut lösemi gelişimi, özellikle infant ve çocukluk akut miyeloid lösemilerinde, lösemi gelişiminde önemli rolü olan "Miks lineage lösemi" geni (MLL, 11q23 bölgesi) ile ilgilidir. Akut lösemilerde MLL geninin çeşitli gen "partner"leri (Şekil 7) ve farklı kromozom yeni düzenlenmelerinden söz edilmektedir.

Kırılma noktası	Gen	Yüzdesi
4q21	AF4	40
9p21	AF9	27
19p13.3	ENL	7
6q27	AF-6	6
19p13.1	ELL	5
10p12	AF-10	4
1p32	AF-1p	2
1q21	AF-1q	2
17q21	AF-17	2
17q25	MSF	1
5q31.1	AF-5q31	
6q21	AF-6q21	
10q11.2	ABI-1	
16p13	CBP	
19p13	EEN	
22q11	hCDRel	
22q13	P300	
Xq13	AF-X1	

11q23 (MLL) gen bölgesi

Sık görülen "partner" lar

Şekil 7. MLL gen bölgesi ve MLL gen düzenlemesine eşlik eden kromozom bölgeleri (71)

Kromozom bant 11q23'ü içeren translokasyonlar hem AML hem ALL'de sıklıkla ortaya çıkar. En azından 30 farklı partner kromozom, resiprokal 11q23 translokasyonlarının tekrarında rol almaktadır (165). Bu sayı, Ig lokusunu etkileyen bilinen translokasyonların sayısını geçer. 11q23 kırılma bölgesinin genomik olarak kromozomal rekombinasyon olaylarına yol açan ve stabil olmayan dizileri kapsayabileceği öne sürülmektedir. **11q23'ün katıldığı translokasyonlar akut lösemili**

infantlarda fenotipe bakılmaksızın olguların ortalama %70-80'inde ortaya çıkan en yaygın sitogenetik bozukluktur. 11q23 translokasyonları, Topoizomeraz II inhibitörleri özellikle Etipodofilotoksinleri kullananlarda görülen terapi bağımlı lösemilerde de sıklıkla gözlenir (71).

11q23 translokasyonlarının kromozom partnerleri genellikle hücre soyuna özgüdür. AML'de t(9;11)(p22;q23), t(11;19)(q23;p13.1) ve t(6;11)(q27;q23) en yaygın translokasyonlardır, ALL'de ise t(4;11)(q21;q23) ve t(11;19)(q23; p13.3) hakimdir. MLL geni birkaç araştırmacı tarafından 11q23 kırılma noktasından izole edilerek HRX, ALL-1 ve Htrx gibi isimler de almıştır (187, 55)

11q23 translokasyonları çeşitli FAB alt gruplarında en yaygın olarak M4 myelomonositik ve M5 monoblastik lösemide gözlenmektedir. 11q23 translokasyonuna sahip myeloid lösemiler lenfoid markırları da eksprese eder; 11q23 lenfoid lösemiler ise B hücre markırlarına ilaveten myeloid veya monositik markırları da eksprese etmektedirler. Bu gözlemler MLL yeniden düzenlenmesinin pluripotent kök hücreyi etkileyebileceğini veya MLL'deki yapı bozulunun lenfoid ve myeloid öncül hücrelerce kullanılan ortak diferansiyasyon yolağını etkileyebileceğini göstermektedir.

MLL gen düzenlemeleri çeşitlidir; delesyon, duplikasyon, inversiyonlar ve 11q23 gen bölgesini içeren resiprokal translokasyonları içerir. Bu düzenlemeler, çocukluk ve erişkin dönemi ALL, AML, Bifenotipik lösemi ve Myelodisplazik sendromlu olguların %5-10'unda gözlenir (67).

MLL aberasyonları iki kategoriye ayrılabilir. İlkinde bazıları kriptik olan ve ancak FISH veya PCR ile saptanabilen **translokasyonlar veya insersiyonlar** bulunur. Bu düzenlemeler AML hastalarının %5-10'unda tesbit edilir. Çocukluk dönemi AML hastalarında 11q23 bandının dahil olduğu, genellikle 12 aydan küçük çocukların etkilendiği translokasyonlar, hastaların %48-66'sında bulunur. Diğer kategori, MLL geninin çok sayıda kopyalarına yol açan ya homojen boyanma bölgeleri olarak kromozom içi veya "double minute" (dmin) olarak kromozomlar arası 11q23 bölgesinin **amplifikasyonudur**. MLL geninin dahil olduğu farklı düzenlemelerin çeşitliliğine rağmen AML hastalarında bu aberasyonun varlığı **kötü prognoz** ile birlikte (69, 140, 178).

Translokasyon "partner"ı, telomerik lokalizasyonlu ise bunu tesbit etmekte konvansiyonel sitogenetik analizin yararı kısıtlıdır. Konvansiyonel sitogenetik

11q23+/MLL+ ve MLL tutulumunun olmadığı 11q22-25 bölgesi içinde kümelenen yeni düzenlenmelerde doğru bir ayrımı güçlük yapar (29). Bu durumda farklı FISH yaklaşımları PCR gibi ek genetik testler gerekebilir.

AML'de MLL/AF9 gen füzyonunu taşıyan t(9;11)(p21;q23) ve infant lösemideki MLL/AF4 gen füzyonunu taşıyan t(4;11), en yaygın tiplerdir ve bu translokasyonlar sıklıkla klasik translokasyonlar olarak refere edilir, diğerleri varyantlar **v11q23** olarak adlandırılırlar (106).

11q23+/MLL+, AML vakalarının %3-4'ünde tarif edilir. Kemoterapi sonrası gelişen AML (%10-15) veya de novo AML (%5-7)'li hastalarda daha sıktır. AML'li yaşlı hastalarda (60 yaş üzeri) nadirdir (142). 11q23+/MLL+ AML vakalarının çoğunluğu monositoid diferansiyasyon özelliğine sahiptir ve FAB alt gruplarından M4 ve M5 lösemi olarak sınıflandırılır (58).

2.17.6. Translokasyon (12;21)(p13;q22) sonucu oluşan TEL/AML1 füzyon geni

t(12;21)(p13;q22) çocukluk dönemindeki ALL'de özgün kromozomal translokasyon olarak ilk kez Romano ve ark .tarafından tanımlanmıştır (132). t(12;21)(p13;q22) translokasyonu 12p13'de yer alan ETV6 geni (eski adı TEL) ve 21q22'de bulunan RUNX1 geni (eski adı AML1) tarafından oluşturulur. B-prekürsör ALL 'li hastaların %20-30'unda bulunur (48, 133). ALL' li erişkin hastaların %3-4'ünde gözlenir (86). Bu translokasyon, hastalığın erken yaşta başlaması, B immünofenotip ve sıklıkla CD13 veya CD33 markırların birlikte ekspresyonu (veya ikisi birlikte) ve **iyi prognoz** ile birliktedir (81, 149). t(12;21) yeni tanı almış çocukluk dönemi akut lenfoblastik lösemisinde en yaygın görülen (%15-30) kromozomal aberasyondur (133, 149).

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.

2.18. KLİNİK PRATİKTE GENETİK İNCELEME

Kromozom yapısındaki bazı anomaliler “promoter” genlerin füzyonu ve onkogenik aktivite ile sonuçlanmaktadır; böylece malign potansiyeli olan spesifik mRNA’lar üretir. Bu kromozom anomalilerin çoğu konvansiyonel (klasik) sitogenetik çalışmalarla tesbit edilebilir. DNA düzeyinde ise füzyon genler, FISH, Southern Blot, Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) veya bu tekniklerin kombinasyonu ile, RNA düzeyinde mRNA transkribi, Revers transkriptaz (RT)-PCR ile, protein düzeyinde kimerik gen ürünü ise Western blot ile tesbit edilebilir. Bu alanda yeni tanı metodları da hızla gelişmektedir (72).

Hematolojik malignitelerde birçok tedavi protokolü tedaviye cevabı değerlendirmek için çok sayıda nicel kriterlere ihtiyaç gösteririr. Unutulmamalıdır ki genetik testler de dahil hiç bir tanı testi hematolojik maligniteli hastalarda yorum için tek başına yeterli değildir. Her bir klinik durum için hem kesin hem de kost-efektif test metodlarının kombinasyonunun kullanımı önemlidir (72).

2.18.1. AKUT MYELOİD LÖSEMİ: AML’de dört büyük risk kategorisi klinik pratikte uygulanmaktadır. Doğru sitogenetik risk kategorisini (Tablo 15) tayin etmek için uygun sitogenetik ve FISH çalışmalarını yapmak önemlidir (54, 150).

Tablo 15. Akut myeloid lösemili hastalarda sitogenetik risk grupları (54, 150)

Kategori	Tanımlama
İyi prognoz	İnv(16)/t(16;16)/del(16q) varlığı ve/veya diğer aberasyonların yokluğu; izole t(8;21) varlığı; t(15;17) ve/veya diğer aberasyonlar
Orta seviyede prognoz	+8,-Y,+6, del(12p) veya normal karyotip
Kötü prognoz	-5/del(5q),-7/del(7q), inv(3q)/t(3;3), t(6;9), del(9q), t(9;22), anormal 11q, 20q, veya 21q, anormal 17p veya üç veya daha fazla aberasyon olarak tanımlanan kompleks karyotip
Prognozu bilinmeyen	Tüm diğer klonal kromozom anomalileri

Sitogenetik çalışmalar tedavinin etkinliğini değerlendirmede son derece önemlidir. AML hastaları remisyonunda iken dominant hücreler normal kromozomlardır; relapsda, hastalık başlangıcında saptanan kromozom anomalileri yeniden gözlenebilir; ancak unutulmamalıdır ki FISH veya RT-PCR testleri, klinikte relapsın tayininde

kromozom çalışmalarına göre çoğu zaman daha duyarlıdır. Hematopoetik hücre tranplantasyonundan sonra tümör yükü yok ya da çok az olduğundan, rezidüel hastalığı gözlemek için tercih edilecek pratik genetik metod, RT-PCR veya FISH yöntemi olmalıdır (137).

AML'de tanı anında ilk olarak konvansiyonel sitogenetik incelemeler yapılmalıdır; sitogenetik veriler sonucunda ve klinik ve hematolojik verilerle birlikte ek olarak FISH ve moleküler testler de uygulanabilir. Tedavi sonrasında tedavinin etkinliğini değerlendirmeye yardım etmek için yine klasik sitogenetik analiz yapılabilir. Ancak özgün translokasyon biliniyorsa PCR ve FISH remisyon ve relaps evresinin değerlendirilmesinde daha duyarlıdır.

Klasik sitogenetik analizler t(8;21), t(9;22), t(11;var), t(15;17), inv(16), -5/5q-, -7/7q- değişimlerinin çoğunu tanıyabilmektedir (150).

2.18.2. AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ: ALL, akut çocukluk lösemilerinin %85'ini ve erişkin akut lösemilerinin %20'sini oluşturur. ALL'li hastaların çoğunda konvansiyonel sitogenetik çalışmalar, %85'inden fazlasında anormal klon olduğunu göstermektedir. ALL'de en yaygın kromozom translokasyonları t(9;22)(q34;q11.2), t(12;21)(p13;q22), t(1;19)(q23;p13), t(8;14)(q24;q32) ve t(11;var)(q23;var) olarak belirlenmektedir. Karyotip, yapısal bir aberasyon olmaksızın trizomi 4, 10 ve 17 ile ilişkili olduğunda (hiperdiploidi), klinik iyi prognozla birlikte (96).

t(12;21)(p13;q22) TEL/AML1 füzyonu ile ilişkilidir ve konvansiyonel sitogenetik çalışmalarla tesbiti çok güçtür. Bu translokasyon diğer benzer translokasyonlar gibi FISH ve RT-PCR metodları ile başarılı bir şekilde tesbit edilebilmektedir. Bu anomalilerin kritik prognostik belirteçler oldukları için saptanmaları önemlidir. Örneğin hastada t(9;22)(q34;q11.2) tesbit edildiğinde erken transplantasyon kararı verilebilir. Aksine t(12;21)(p13;q22) veya TEL/AML1 füzyonu saptandığında bu hastanın prognozu iyi olarak yorumlanır ve transplantasyon nadiren düşünülür. Genetik testler ALL tanılı hastalara en uygun tedaviyi sağlamak için kritik önem taşır (72).

Tanı anında konvansiyonel sitogenetik çalışmalar sayısal anomalilerin hastaların %25'inde tesbit edildiği pediatrik hastalarda öncelikli olarak yapılmalıdır. FISH ve moleküler genetik metodlar; kriptik kromozom anomalilerini tesbit etmede değerlidir.

Özellikle klasik kromozom çalışmaları normal çıkmışsa veya kompleks olarak sonuçlanmışsa, tanı aşamasında da özgün FISH panelleri ya da PCR protokolleri uygulanmalıdır. Tanı anında ve tedavi sonrasında yapılan FISH ve/veya moleküler metodlarla tedavinin etkinliği güçlü bir biçimde değerlendirilebilir (72). ALL, AML ve KML olgularında spesifik sayısal ve yapısal aberasyonlar, ilişkili lösemi tipleri ve genler aşağıdaki tablolarda (Tablo 16, 17, 18, 19, 20, 21) verilmiştir.

Tablo 16. ALL, AML ve KML olgularında spesifik sitogenetik aberasyonlar, ilişkili lösemi tipleri ve genler (49)

ABERASYON TRANSLOKASYONLAR	İLİŞKİLİ LÖSEMI TİPİ	GENLER
t(1;3)(p36;q21)	AML-M1, AML-M4	
der(1;7)(q10;p10)	AML	
t(1;11)(p32;q23)	ALL, AML	TAL1, MLL
t(1;11)(q21;q23)	AML-M4, AML-M5	AF1r, MLL
t(1;14)(p32;q11)	T-ALL	TAL1, TCRad
t(1;17)(p36;q21)	AML-M3	?, RAR α
t(1;19)(q23;p13)	Pre-B-ALL	PBX1, E2A
t(1;22)(p13;q13)	AML-M7	
t(2;8)(p12;q24)	ALL-L3	Ig k, c-MYC
t(3;3)(q21;q26)	AML	Ribophorin I, EVII
ins(3;3)(q26;q21q26)	AML	
t(3;5)(q21;q31)	AML-M6	MLF1, NPM
t(3;5)(q25;q34)	AML	
t(3;21)(q26;q22)	AML, KML Ph+	EAP, AML1
t(4;11)(q21;q23)	ALL, AML	AF4, MLL
t(5;14)(q31;q32)	ALL	IL3, IgH
t(5;17)(p23;q11-12)	AML-M3	NPM, RAR α
t(6;9)(p23;q34)	AML-M1, M2, M4	DEK, CAN
t(6;11)(q27;q23)	AML-M4, M5	AF6, MLL
t(7;11)(p15;p15)	AML, AML-M2	HOXA9, NUP98
t(1;17)(p36;q21)	AML-M3	?, RAR α
t(1;19)(q23;p13)	Pre-B-ALL	PBX1, E2A
t(1;22)(p13;q13)	AML-M7	
t(2;8)(p12;q24)	ALL-L3	Ig k, c-MYC
t(3;3)(q21;q26)	AML	Ribophorin I, EVII

Tablo 16 (devam)

ins(3;3)(q26;q21q26)	AML	
t(3;5)(q21;q31)	AML-M6	MLF1, NPM
t(3;5)(q25;q34)	AML	
t(3;21)(q26;q22)	AML, KML Ph+	EAP, AML1
t(4;11)(q21;q23)	ALL, AML	AF4, MLL
t(5;14)(q31;q32)	ALL	IL3, IgH
t(5;17)(p23;q11-12)	AML-M3	NPM, RAR α
t(6;9)(p23;q34)	AML-M1, M2, M4	DEK, CAN
t(6;11)(q27;q23)	AML-M4, M5	AF6, MLL
t(7;11)(p15;p15)	AML, AML-M2	HOXA9, NUP98
t(8;14)(q11;q32)	ALL	
t(8;14)(q24;q32)	ALL-L3	c-MYC, IgH
t(8;14)(q24;q11)	T-ALL	c-MYC, TCRad
t(8;16)(p11;p13)	AML-M4, M5	
t(8;21)(q22;q22)	AML-M2, M4	ETO, AML1
t(8;22)(q24;q11)	ALL-L3	c-MYC, IgI
t(9;11)(p22;q23)	ALL, AML-M5	AF9, MLL
dic(9;12)(p13;p11)	ALL	
t(9;22)(q34;q11)	ALL, AML-M1, M2, KML	ABL, BCR
t(10;11)(p13;q23)	AML-M4, M5	AF10, MLL
t(10;14)(q24;q11)	T-ALL	HOX11, TCRad
t(11;14)(p13;q11)	T-ALL	Rhom2, TCRad
t(11;17)(q13;q21)	AML-M3	NuMA, RAR α
t(11;17)(q23;q21)	AML-M3	PLZF, RAR α
t(11;17)(q23;q21)	AML-M4, M5	MLL, AF17
t(11;19)(q23;p13)	ALL, AML-M4, M5	MLL, ENL
t(12;21)(p13;q22)	ALL	TEL, AML1
t(16;16)(p13;q22)	AML-M4Eo	MYH11, CBFb
t(16;21)(q24;q22)	AML-M2, M4, çocukluk AML	MTG16, AML-M2
t(16;21)(q24;q22)	AML-M1, M2	FUS, ERG
t(17;19)(q21-22;p13)	ALL	HLF, E2A
t(X;11)(q13;q23)	T-ALL	AF1P, MLL
t(14;22)(q32;q11)	ALL	IgH, BCR
t(15;17)(q22;q21)	AML-M3, KML Ph+	PML, RARa

Tablo 17. ALL, AML ve KML olguları ile ilişkili izokromozomlar (49)

İZOKROMOZOMLAR		
i(6)(p10)	ALL	
i(7)(q10)	ALL, AML	
i(9)(q10)	ALL	
i(10)(q10)	ALL, AML	
i(11)(q10)	AML	
i(17)(q10)	AML, KML Ph+	
i(21)(q10)	AML, ALL	

Tablo 18. ALL, AML ve KML olguları ile ilişkili inversiyonlar (49)

İNVERSİYONLAR		
inv(3)(q21q26)	AML-M4,M6, KML Ph+	Ribophorin I, EVII
İnv(16)(p13q22)	AML-M4Eo	MYH11, CBFb

Tablo 19. ALL olguları ile ilişkili duplikasyonlar (49)

DUPLİKASYONLAR		
dup(1)(q12q32)	ALL	
dup(1)(q21q32)	ALL	

Tablo 20. ALL ve AML olguları ile ilişkili delesyonlar (49)

DELESYONLAR		
del(1)(p22)	AML, ALL	
del(1)(q32)	ALL	
del(2)(p23)	AML	
del(2)(q31)	AML	
del(3)(p21)	ALL	
del(3)(q21)	ALL, AML	
del(5)(q13q33)	AML	
del(6)(p21)	ALL, AML	
del(6)(q13-15q23)	ALL	
del(6)(q21)	ALL, AML	
del(7)(p13)	AML	
del(7)(q11)	ALL, AML	
del(7)(q22q34)	AML	
del(7)(q32)	AML	
del(8)(p21)	ALL	

Tablo 20 (devam)

del(8)(q22)	AML	
del(9)(p13)	ALL	
del(9)(p21)	ALL, AML	
del(9)(q11q13-q22)	AML	
del(10)(p12)	AML	
del(10)(q24)	ALL	
del(11)(q13q14-q23)	AML	
del(11)(q23)	AML, ALL	
del(12)(p12)	ALL, AML-M2, M4	
del(12)(p11p12-p13)	AML	
del(13)(q12-q22)	AML	Rb1, D13S25
del(13)(q12-q14)	AML	
del(16)(q22)	AML, AML-M4Eo	
del(17)(p11)	ALL, AML	P53
del(18)(p11)	AML	
del(18)(q21)	AML	
del(20)(q11)	AML	
del(20)(q11q13)	AML	
del(22)(q11)	AML, ALL	

Tablo 21. ALL ve AML olguları ile ilişkili sayısal anomaliler (49)

SAYISAL ANOMALİLER		
+4	AML	
+6	AML	
+8	AML, ALL	
+9	AML	
+10	AML	
+11	AML	
+12	AML	
+13	AML	
+18	ALL	
+19	AML	
+21	AML, ALL	
+22	AML	
-5	AML	
-7	AML	

Tablo 21 (devam)

-9	AML	
-20	ALL	
-21	AML	
-Y	ALL, AML	

2.19. FISH (Floresan in situ hibridizasyon) Uygulamaları

Son yıllarda geliştirilen FISH (Floresan in situ hibridizasyon) 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 bu olgularda kimi zaman yeterli ve incelenebilir metafazlar elde edilememesi, araştırmacıları yeni teknikler geliştirmeye itmiştir. Hem interfaz hem de metafaz hücrelerinde analize olanak sağlayan FISH tekniği, son yıllarda kromozomal aberasyonların analizinde uygulanan konvansiyonel sitogenetik yöntemlere ek olarak güçlü bir tamamlayıcı tetkik olarak gösterilmeye başlanmıştır (103).

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 ayrıştırmak 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 olanıdır. Floresan işaretli prob hibridize olduğu zaman kromozomlar, floresan boyadan yayılan ışığın bir dalga boyunda absorblanması ile görünür hale gelirler. Bu hibridizasyon sinyalinin lokalizasyonu ve bu prob ile hibridize olan DNA segmentinin lokalizasyonu daha sonra mikroskop altında belirlenir (185).

Hematolojik malignitelerde kromozomal aberasyonların belirlenmesi, tanı ve prognozun değerlendirilmesi, 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 (103). 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 (88, 161).

Bununla birlikte interfaz hücrelerinde yapılan FISH analizi, maskelenmiş/varyant translokasyonların belirlenmesinde klasik bantlama yöntemlerinden daha başarılıdır (4).

Konvensiyonel bantlama yöntemlerine göre daha hızlı ve kolay analiz olanağı sağlayan FISH yöntemi özellikle hematolojik kanserlerde hem ön tanı da hem de izlemdeki olguların kromozomal aberasyonlarının belirlenmesinde oldukça önemli bir tekniktir. Bu yöntemle sadece işaretlenen bölgenin analizinin yapılabiliyor olması ve diğer aberasyonların aynı anda tesbit edilememesi, tekniğin dezavantajlarından biri olmakla birlikte, metafaz elde edilemeyen durumlarda tek alternatif olarak görülmektedir.

3. HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışmada, yeni lösemi tanısı alan pediatrik hasta popülasyonunda, kemik iliği sitogenetik analizleri ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) çalışmaları ile lösemi alt gruplarına özgün genetik belirteçlerin saptanması ve bu verilerin klinik, immünolojik, hematolojik ve morfolojik parametrelerle ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma Ocak 2005 ve Ocak 2007 tarihleri arasındaki 24 aylık sürede, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji Bilim Dalında izlenen, ve genetik analiz için Pediatrik Genetik Tanı Laboratuvarlarına yönlendirilen 39 hastada prospektif olarak yürütülmüştür. Hastaların takipleri Haziran 2007 tarihine kadar sürdürüldü.

Öncelikle bir hasta takip formu oluşturularak, hastanın, yaşı, cinsiyeti, memleketi, geliş şikayetleri, ailede kanser öyküsünün varlığı, başvuru anındaki kan sayımı değerleri, kemik iliği ve periferik kandaki blast oranı, ve immünfenotiplendirme sonuçları kaydedilmiştir. Takiben, tedavi başlanmadan önce alınan **kemik iliği veya periferik kan materyalleri (blast invazyonu % 30'un üstünde olan), sitogenetik açıdan incelenmeye alınmıştır**. Kültür ekimini yönlendirmek açısından, lökosit sayısı irdelenmiş ve eş zamanlı olarak elde edilen periferik kan ya da Kİ yaymalarındaki blastik hücre varlığı incelenmiştir. Yine eş zamanlı blastik hücre görüntüleri kaydedilmiş ve daha sonra sitogenetik, immünolojik ve morfolojik veriler paralelinde, sitogenetik analiz için hazırlanmış boyanmamış preparatlara, hastanın tanısına ilişkin özgün problemler ile **FISH analizleri** uygulanmıştır.

3.1. Kemik iliğinin Sitogenetik İnceleme İçin Hazırlanması

Sitogenetik analiz için, steril koşullarda alınan 1.5-2 cc heparinize kemik iliği, oda ısısında pediatrik genetik laboratuvarına ulaştırıldı. Periferik kandaki blast oranı % 30'un üzerinde olan hastalarda benzer biçimde, steril şartlarda alınan 1.5-2 cc periferik kan laboratuvara gönderildi .

Laboratuara giren kemik iliği, yaklaşık 3 ml transport medium (RPMI 1640) ilave edilerek santrifüj aletinde 1500 rpm de 10 dakika santrifüje edildi. İşlem 2 kez tekrarlandı. Süpernatant kısım atılarak, kalan kısma pipetaj uygulandı. Bu arada, 15 ml

lik steril konik tüplere (3 adet), 4.5 ml üreme besiyeri (RPMI 1640, % 10 fetal bovin serum, % 1 L-glutamin, % 1 penisilin ve streptomisin) eklendi ve üzerine pipetaj yapılan kemik iliği materyalinden, beyaz küre sayısı ile ters orantılı olacak şekilde, ilik damlatıldı. Her hasta için “Direkt”, “MTX senkronizasyon” ve “İnkübasyon” metodları uygulandı. Kemik iliği ekimi her üç metod için eş zamanlı uygulandı (134).

A-Kemik İliği “Direkt Metodu”: 4.5 ml besiyeri üzerine kemik iliğinden yukarıda anlatıldığı biçimde ilik damlatıldıktan sonra, 0.1 ml kolsemid ilave edildi ve 40 dakika 37°C etüvde bekletildi. Sonra 1300 rpm de 10 dakika santrifüj yapıldı; süpernatant atılarak hipotonik şok işlemine geçildi. Bu amaçla vorteksleme yapılarak tüpteki toplam sıvı miktarı 5 ml’ye tamamlanıncaya dek, damla damla 0.075 M KCL eklendi.

30 dakika etüvde bekletildi. 1300 devir 10 dakikada santrifüj edilerek süpernatant atıldı ve Carnoy fiksatif ile hücre yıkaması ve fiksasyon gerçekleştirildi. Bu amaçla vorteksleme esnasında damla damla 3:1 metanol-asetik asit (fiksatif) eklendi; sıvı 5 cc’ye tamamlanıp -20°C de en az 1 saat bekletildi.

Bu süre sonunda 1300 devirde 10 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant atılarak yine vorteks eşliğinde damla damla fiksatif eklendi. Toplam sıvı miktarı 5 ml’ye tamamlandı. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı ve son santrifüjden sonra süpernatant alınıp atılarak, hücre çökeltisinden lamalar üzerine hücre/kromozom yayması yapıldı (134).

B-Kemik İliği “MTX senkronizasyon Metodu”: 4.5 ml besiyerine kemik iliği damlatıldıktan sonra hücreler 24 saat 37 °C etüvde inkübe edildiler. 24 saat sonra 0.5 ml MTX eklendi. 17 saat sonra besiyeri yenilenerek 550 µl Thymidine eklendi. 5 saat 15 dakika sonra 0.1 ml kolsemid eklenerek 37°C etüve kaldırıldı. 20 dakika sonra etüvden çıkarılıp 1300 devirde 10 dakikada santrifüj yapıldı; süpernatant kısmı ayrılıp pelletlere “direkt” metoddakine benzer biçimde hipotonik şok, fiksasyon ve 3 kez fiksatif ile yıkama yapıldı ve hücre/kromozom yayması hazırlandı (134).

C-Kemik İliği “İnkübasyon Metodu”: 4.5 ml üreme besiyeri üzerine kemik iliğinden damlatıldıktan sonra 37°C etüve kaldırıldı. Ertesi sabah 0.1 ml kolsemid damlatılarak 50-65 dakika 37°C etüvde bekletildi. 1300 devirde 10 dakikada santrifüj edilip süpernatant kısım alındı; pelletlere “direkt” metoddakine benzer biçimde

hipotonik şok, fiksasyon ve 3 kez fiksatif ile yıkama yapıldı ve hücre/kromozom yayması hazırlandı (134).

3.2. Periferik Kanın Sitogenetik İnceleme İçin Hazırlanması

Periferik kanda ise kemik iliğinde uygulanan Direkt, MTX senkronizasyon ve İnkübasyon Metodlarına ilave olarak konvansiyonel yöntemde uygulandı.

Periferik kan “Konvansiyonel yöntem”de 4.5 ml kan besiyeri üzerine (RPMI 1640, %10 fetal bovin serum, %1 PHA, %1 L-glutamin, %1 penisilin ve streptomisin) blast ile invazyonu olduğu belirlenmiş periferik kan damlatıldı ve tüp hafifçe çalkalanarak etüve kaldırıldı. 65 saat sonra 37°C’ den çıkarılıp, 2 damla kolsemid ilave edildi ve 65 dakika etüvde bekletildi. 1300 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısım atıldı ve kalan kısım vortekslenirken 0,075 M KCL eklendi. Sıvının toplam miktarı 5 ml’ye tamamlandı. 15 dakika etüvde bekletildi. 1300 devir 10 dakikada santrifüj edilip, süpernatant atıldı. Vorteksleme işlemi ile 5 cc’ye tamamlayacak şekilde fiksatif (metanol-asetik asit 3:1) eklendi. 1 saat -20 °C bekletildi. Bu süre sonunda 1300 devirde 10 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant kısım alınarak hücre çökeltisi vortekslenirken damla damla fiksatif (metanol-asetik asit 3:1) eklendi. Toplam sıvı miktarı 5 ml’e tamamlandı. Takiben 2. ve 3. yıkama işlemleri ve hücre/kromozom yayması, kemik iliğindeki benzer biçimde gerçekleştirildi. Her dört metod ile de üzerine hücrelerin yayıldığı lamalar 1-3 gün 37°C etüvde bekletildi. Daha sonra boyama işlemine geçildi (134).

3.3. Konvansiyonel Sitogenetik Analiz Amaçlı Boyama İşlemi:

Giemsa-Tripsin Bantlama (GTG Bantlama): Bunun için lamalar dört farklı solüsyondan, 15 saniye ve 2 dakikalık süreler için, seri olarak geçirildi:

1.solusyon: 80 ml % 0,5’ lik tripsin ve PBS (Fosfat buffer salin) solusyonu

2.solusyon: 80 ml PBS (Fosfat buffer salin) solusyonu

3.solusyon: A (40 ml) solusyonu (0,1 M anhidrik sitrik asit solusyonu), B (40 ml) solusyonu (0,2 M anhidrik dibazik sodyum fosfat (Na₂HPO₄) ve giemsa (5 ml)

4.ve 5. solusyon: Distile su (134)

Kalan fiksatif ve hücre karışımı, ya da kromozom yayılmış ve boyanmamış lamalar FISH analizleri için -20 °C de saklandı.

Çalışmada kromozomların tanımlanmaları “International System For Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) 2005” e göre yapıldı (146). Yapısal ≥ 2 ve sayısal ≥ 3 kromozomal aberasyon saptanması klonal olarak kabul edildi.

3.4. FISH METODU

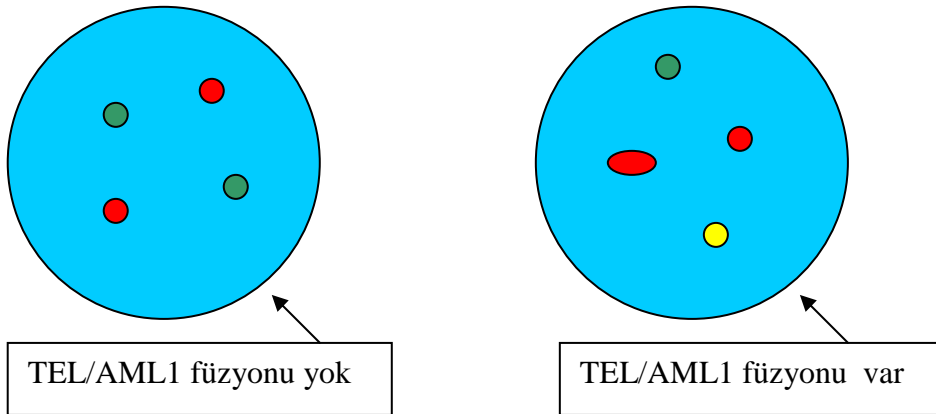
3.4.1. Kullanılan Problar

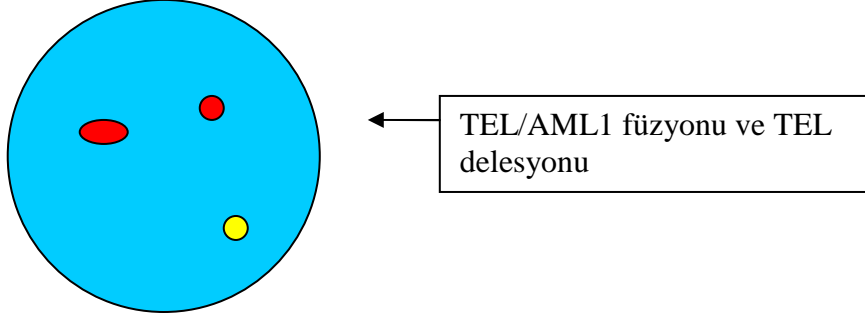
ALL hastalarında TEL/AML1 ve BCR/ABL probları, AML hastalarında ise MLL ve İNV(16) probları uygulandı. İnfantil lösemili hastalara MLL, tek KML hastasına ise BCR/ABL probu uygulandı.

3.4.2. Probların Tanımlanması

A-TEL/AML1 PROBU: FISH analizinde kullanılan ‘LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon’ Probu (Vysis Inc., Downer’s Grove, IL), 12. kromozom için yeşil işaretli TEL probu ve 21. kromozom için kırmızı işaretli AML1 probun karışımıdır.

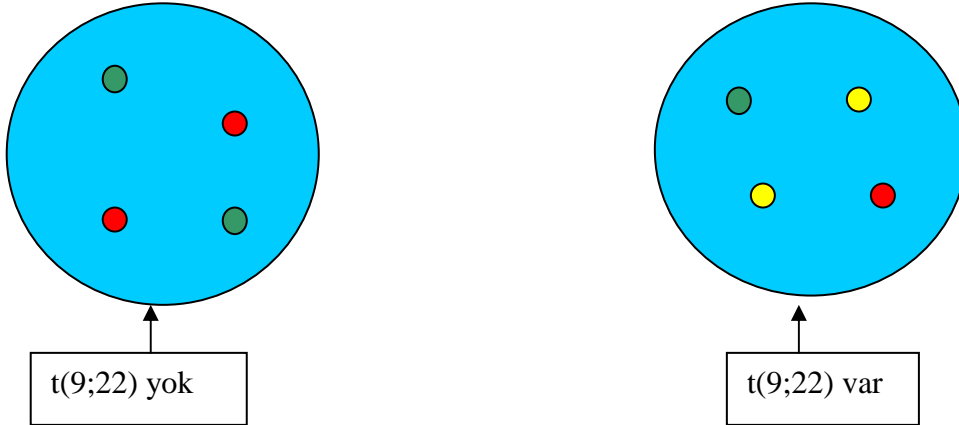
‘LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon’ Probu ile hibridize olan normal bir çekirdekte 2 kırmızı, 2 yeşil sinyal görülür. TEL/AML1 füzyonu içeren bir çekirdekte bir yeşil (TEL), bir büyük kırmızı (AML1), bir küçük kırmızı (rezidüel kırmızı) ve bir sarı sinyal beklenir. Bazı örneklerde transloke olmayan TEL allelinin delesyonundan dolayı yeşil sinyal olmayabilir.



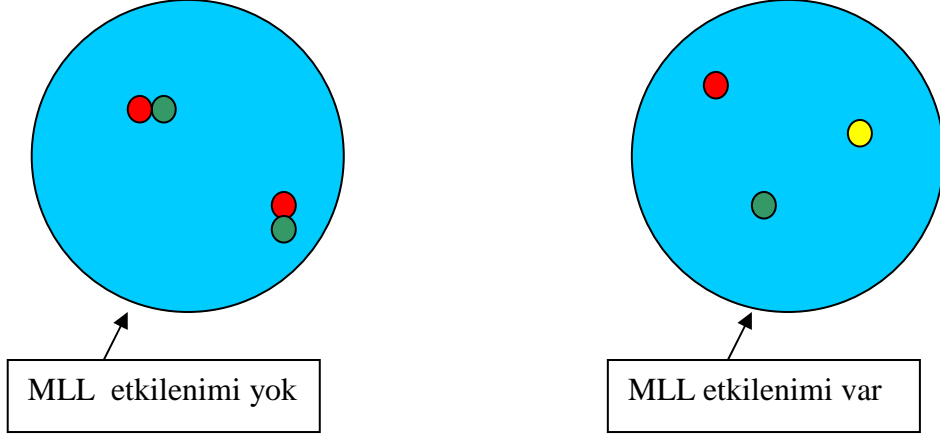


B-BCR/ABL PROBU: FISH analizinde kullanılan 'LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translokasyon' Probu (Vysis Inc., Downer's Grove, IL), 22.kromozom için yeşil işaretli BCR probu ve 9. kromozom için kırmızı işaretli ABL probu karışımıdır.

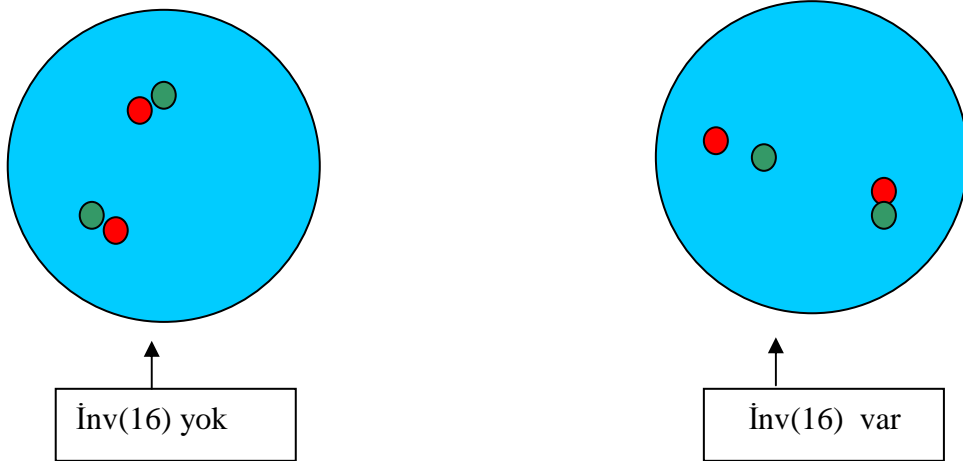
t(9;22) translokasyonu **olmayan** bir çekirdekte iki kırmızı, iki yeşil sinyal görülür. **t(9;22) varlığında** bir kırmızı, bir yeşil sinyal normal 9 ve 22. kromozomlardan; iki sarı sinyal ise derivatif 9 ve 22. kromozomlardan elde edilir. Bazı durumlarda BCR 'nin 3' bölgesinde delesyon ve/veya ABL'nin 5' bölgesinde kırılma, ya ekstra sinyal paternine (ekstra kırmızı veya yeşil) veya tek bir füzyon paternine neden olur.



C-MLL PROBU: FISH analizinde kullanılan 'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu (Vysis Inc., Downer's Grove, IL) ile hücrede MLL gen düzenlemesi yokluğunda iki tane kırmızı/yeşil (sarı) füzyon sinyal paterni görülür. **MLL translokasyonu varlığında** bir kırmızı/yeşil (sarı) füzyon sinyali, bir kırmızı sinyal ve bir yeşil sinyal beklenir.



D-İNV(16) PROBU: FISH analizinde kullanılan 'MYH11 (16p13.1) Breakpoint Region Probe (Cytocell) 'unda intakt MYH11 geni, yan yana bir kırmızı ve bir yeşil sinyal olarak görülür. Eğer gende yeni düzenleme varsa birbirinden ayrı kırmızı ve yeşil sinyaller görülür.



3.4.3. FISH (Floresan in situ hibridizasyon) Metodu

Üzerinde hücre ve kromozom plakları olan kurutulmuş lamalar, içerisinde % 1 HCl ve pepsin olan ve benmaride içinde 37°C' ye ısıtılmış solüsyonda 12 dakika bekletildi. Lam çıkarıldı önce distile su, ve 1×PBS ile çalkalandı. 10 dakika fiksatifte tutuldu. Sonra 1×PBS ile, ve distile su ile yine çalkalandı. Alkol serilerinden (%70-80-96) birer dakikada geçirildikten sonra (**ön işlem**) prob karışımı lamın üzerine konuldu; etrafı sıkıca yapıştırıcı ile kapatıldı. Isı plağı 75°C'ye ayarlandı ve lamalar 5 dakika üzerinde bekletildi (**denaturasyon**). Lamalar nemlendirilmiş, kapalı ve ışık görmeyen bir kutuya konulup 37°C etüvde 1 gece bekletildi (**hibridizasyon**).

İçerisinde 0,4×SSC (Standart Salin Citrate) (80 ml) bulunan ve sıcaklığı 75°C olan sıvıda lamalar, üzerindeki lamel alınarak, 2 dakika tutuldu; takiben 15 saniye 2×SSC/NP40 solusyonlarında bekletildi (**hibridizasyon sonrası yıkama**). Lamın daha önceden işaretlenmiş bölgesine 10µl DAPI damlatıldı ve lamelle üzeri kapatıldı.

3.4.4. FISH SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

FISH analizi yapılırken her hastanın lamından en az 200 hücre sayıldı. Her prob için pozitiflik eşik değeri %3 olarak alındı. Bu değerin üzerindeki pozitiflikler anlamlı olarak kabul edildi.

3.5. ETİK ONAY

Çalışmaya başlamadan önce Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı.

3.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

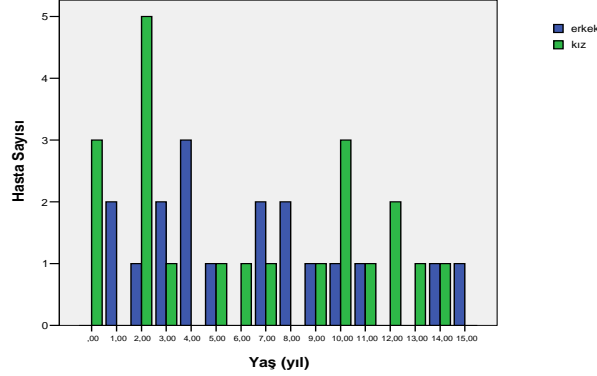
Hastalar SPSS (Statistical Package For Science Studies) For Windows 13,0 İstatistik Paket programı ile değerlendirildi. Veriler ortalama \pm SD ve ortanca (min.-maks.) olarak ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1 Hastaların cinsiyet ve yaşa göre dağılımı

Çalışmaya toplam 39 hasta katıldı. Hastaların 20' si kız, 19' u erkekti.

39 hastanın cinsiyet ve yaşa göre dağılımı aşağıda görülmektedir (Şekil 8).



Şekil 8. Hastaların cinsiyet ve yaşa göre dağılımı

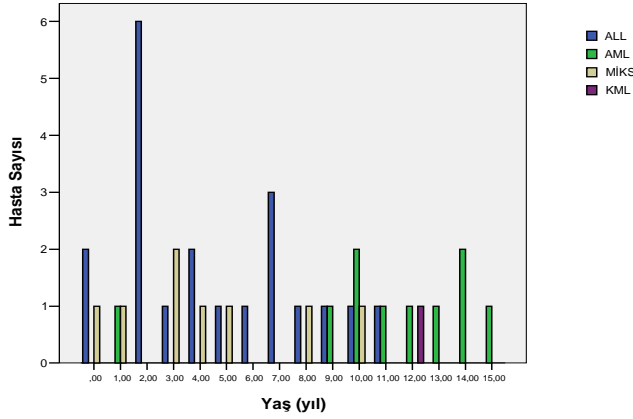
Hastaların başvuru anındaki ortalama yaşları incelendiğinde ALL tanılı hastalarda yaş dağılımı, $5,19 \pm 3,27$, AML tanılı hastalarda yaş dağılımı $11,28 \pm 3,90$, miks lösemi tanılı hastaların yaş dağılımı ise $4,71 \pm 3,39$ yıl olarak belirlendi. KML tanılı hastanın başvuru anındaki yaşı 12 idi (Tablo 22).

Tablo 22. Hastaların lösemi tiplerine göre başvuru anındaki yaşları

TANI	YAŞ (YIL)	YAŞ (YIL)
ALL	$5,19 \pm 3,27$	0,17-11,00
AML	$11,28 \pm 3,90$	1,67-15,00
KML	12,00	12,00
MİKS TİP	$4,71 \pm 3,39$	0,50-10,75

4.2 Hastaların yaş ve lösemi tipine göre dağılımı

Lösemi tanısı ile izlenen 39 hastadan 20' si ALL, 10' u AML, 8' i miks lösemi ve 1' i KML tanısı almıştı. 39 hastanın lösemi tipine göre dağılımı aşağıda görülmektedir (Şekil 9). ALL tanılı hastalardan en küçüğü 2 aylık iken en büyüğü 11 yaşındaydı. AML tanılı hastalardan en küçüğü 20 aylık iken en büyüğü 15 yaşında idi. Miks lösemi tanılı hastalardan en küçüğü 6 aylık iken en büyüğü 11 yaşında idi. KML tanılı hasta 12 yaşında idi. 39 hastanın içerisinde 3 hastanın yaşı, 12 aydan küçüktü.



Şekil 9. Hastaların yaş ve lösemi tipine göre dağılımı

4.3 Hastaların immünofenotip ve morfoloji sonuçlarına göre dağılımı

39 hastadan 38' inin 'Flow sitometri' ile immünofenotiplendirmesinde (Tablo 23):

20 ALL tanılı hastanın 19' unda (%95) B-prekürsör ve 1' inde (%5) T lenfosit immünofenotipi saptandı.

10 AML tanılı hastanın 4' ünde (%40) AML M2, 1' inde (%10) AML M1, 1' inde (%10) AML M7, 2' sinde (%20) AML M4 tesbit edildi. 8 hastanın miks lösemi immünofenotipine sahip olduğu görüldü. 1 hasta KML idi.

Tablo 23. Hastaların immünofenotip ve morfoloji sonuçlarına göre dağılımı

İMMÜNFENOTİP ve MORFOLOJİ	HASTA SAYISI	HASTA YÜZDESİ (%)
ALL (n: 20)		
B- prekürsör	19	95
T lenfosit	1	5
AML (n: 10)		
AML-M1	1	10
AML-M2	4	40
AML-M4	2	20
AML-M7	1	10
Tiplendirilmeyen	1	10
Yapılmayan	1	10
MİKS (n: 8)	8	100

4.4 Hastaların başvuru esnasındaki lökosit değerleri

Hastaların başvuru anındaki lökosit değerleri tablo 24' de verilmiştir. 20 ALL tanılı hastanın 10'unda (%50) tanı anında lökositoz, 6'sında (%30) ise lökopeni mevcuttu. 10 AML tanılı hastanın 5'inde (%50) lökositoz, 3'ünde (%30) lökopeni saptandı. 8 Miks lösemi tanılı hastanın 4'ünde (%50) lökositoz, 3'ünde (%37,5) lökopeni saptandı. KML tanılı hasta lökositoz ile başvurmuştu (Tablo 25).

Tablo 24. Hastaların başvuru esnasındaki lökosit değerleri

TANI	LÖKOSİT SAYISI (/mm ³)
ALL	13.050 (2.170-20.2000)
AML	13.200 (1.100-18.8000)
KML	17.100
MİKS	16.480 (4.000-16.100)

Tablo 25. Hastalardaki başvuru anındaki lökositoz ve lökopeni oranları

TANI	LÖKOSİTOZ	LÖKOPENİ	NORMAL
ALL	10 (%50)*	6 (%30)	4 (%20)
AML	5 (%50)	3 (%30)	2 (%20)
KML	1 (%100)	-	-
MİKS	4 (%50)	3 (%37,5)	1 (%12,5)

4.5 Hastaların sitogenetik analiz sonuçları

Çalışmamızda sonuç alınan 19 ALL tanılı hastanın 8' inde (%42), sonuç alınan 9 AML tanılı hastanın 6' sında (%66,7) kromozomal aberasyon saptandı (Tablo 26 ve 28). Miks lösemi tanılı hastaların ise 4' ünde (%57,14) aberasyon tesbit edildi (Tablo 27). KML tanılı hastanın sitogenetik analiz sonucu tablo 29' da verilmiştir.

Tablo 26. ALL tanılı hastaların sitogenetik analiz sonuçları

No	Yaş (ay)/ Cins.	Tanı	Beyaz küre (/mm ³)	İmmün fenotip	Karyotip, metafaz sayısı	Sağ kalım (ay)
1	31/E	ALL	36.400	B- prekürsör	46,XY (20)	16
2	3,5/K	ALL	199.000	B- prekürsör	46,XX, t(4;11)(q21;q23)(12) (kötü prognoz)	2 (ölüm)
3	64/E	ALL	2.170	B- prekürsör	1)50-53,XXY, t(9;22)(q34;q11),+11, +14,+20, +21, +mar(10) 2)46,XY(20) (kötü prognoz)	16

Tablo 26 (devam)

4	92/E	ALL	3.200	B- prekürsör	46,XY(15)	17
5	59/E	ALL	2.800	B- prekürsör	Poliploidi(2)	9
6	107/E	ALL	11.300	B- prekürsör	46,XY(20)	10
7	35/K	ALL	12.400	B- prekürsör	46,XX(6)	11
8	74/K	ALL	13.600	B- prekürsör	1)46,XX(19) 2)46,XX, t(7;10)(q11;p11)(1)	14
9	114/E	ALL	4.130	B- prekürsör	46,XY(12)	21
10	127/K	ALL	44.500	B- prekürsör	46,XX(6)	22
11	2/K	ALL	202.000	B- prekürsör	46,XX(3)	3 (ölüm)
12	29/K	ALL	4.100	B- prekürsör	1)46,XX, del(6)(q21q25)(4) 2)46,XX(8)	8
13	29/K	ALL	125.000	B- prekürsör	Metafaz yok	12
14	93/K	ALL	73.700	B- prekürsör	46,XX(2)	10
15	35/K	ALL	102.000	B- prekürsör	47, XXX, der(1p)	9
16	88/E	ALL	35.900	B- prekürsör	46,XY(3)	14
17	33/K	ALL	130.000	B- prekürsör	56,XXX,+4,+6,+8,+10,+13,+14,+19 +20,+21(18) (hiperdiploid klon, iyi prognoz)	23
18	132/E	ALL	5.650	B- prekürsör	46,XY(20)	15
19	54/E	ALL	4.300	B- prekürsör	46,XY(17)	11
20	46/K	ALL	46.900	T hücre	1)46,XX,inv(9)(p11;q12),t(7;14)(p11;q11) (4) 2)46,XX,inv(9)(p11;q12),del(7)(p15.3)(2) 3)46,XX(20) “AT- Lösemik Transformasyon” ?	26

Tablo 27. Miks lösemi tanılı hastaların sitogenetik analiz sonuçları

21	22/E	ALL	4.000	Miks	47,XY,der(9)t(9;11)(q34;q13?), +21(22) MDS ? AML ? (AML M4?)	3 (ölüm)
22	63/K	ALL	4.000	Miks	Metafaz yok	10
23	129/E	ALL	26.900	Miks	46,XY(20)	18
24	49/E	ALL	103.000	Miks	46,XY(10)	9 (ölüm)

Tablo 27 (devam)

25	6/K	AML	134.000	Miks	1)46,XX,t(1;11)(p32;q23)(8) 2)46,XX(Non-neoplazik hücre) (11)	8 (relaps)
26	47/E	ALL	5.700	Miks	1)46,XY, del(12)(p11p13)(7) 2)46,XY(3) (AML ? MDS? Kötü prognoz?)	8
27	101/E	ALL	6.060	Miks	46,XY(6)	23
28	36/E	AML	161.000	Miks	46, XY, t(9;22)(q34;q11)(20) (Kötü prognoz)	13 (ölüm)

Tablo 28. AML tanılı hastaların sitogenetik analiz sonuçları

29	20/E	AML	11.300	AML-M2	47, XY, +mar ? t(10;19) (q11;q13) (20)	14
30	168/ E	AML	3.700	AML-M4	48,XY,del(6q), der(11)t(1;11) (q21;22?; q23), -18,+19,-20,+21, +m1,+m2(20) (AML(AML M4/M5?), kötü prognoz? MDS'den lösemiye geçiş?)	4 (ölüm)
31	123/ K	AML	2.670	AML-M7	1)45, X, derX add(X)(q25?), der11 add(10)(p12?)t(10;19)?(p12;q13)?-17,-19, +mar (15) 2)46,XX(8) 3) Poliploidi (5) (AML M5? ALL ? "kötü prognoz"?)	22
32	180/ E	AML	11.200	AML-M1	46,XY(20)	21
33	131/ K	AML	15.600	-	46,XX(20)	19
34	155/ K	AML	1.100	AML	1)46,XX,t(7;14)(p15;q32),t(12;17)(p11;q11)? (1) 2)92, XXXX t(7;14)(p15;q32), t(7;14) (p15;q32), t(12;17) (p11;q11)? (3) 3)46, XX(5) (ALL, erken pre-B?)	6 (ölüm)
35	132/ K	AML	6.100	AML M2	46, XX, t(8;21)(q22;q22)(2) (AML M2)	9
36	156/ K	AML	188.000	AML M4	Metafaz yok	3 gün (ölüm)
37	109/ K	AML	15.200	AML M2	46, XX(20)	11
38	177/ K	AML	22.800	AML M2	45, X, -X, t(8;21)(q22;q22)(25) (AML M2)	20 (ölüm)

Tablo 29. KML tanılı hastanın sitogenetik analiz sonuçları

39	155/ K	KML	171.000	-	46, XX, t(9;22)(q34;q11)(20) (KML)	7
----	-----------	-----	---------	---	--	---

4.9. Materyallerden elde edilen metafaz sayısı

Hasta materyallerinden metafaz elde etme oranımız %92,31 idi.

5' den az metafaz elde edilen hasta materyallerinden birinde 2 metafaz ile tanı konabildi (Hasta no:35).

4.10. Hastalara uygulanan FISH analizi (TEL/AML1 probu ile) sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım süreleri

ALL tanılı hasta grubundan 18 hastaya TEL/AML1 probu uygulandı. 18 B-prekürsör ALL tanılı hastanın 5' inde (%27,8) TEL/AML1 füzyon pozitifliği saptandı. 18 ALL tanılı hastanın 7' sinde (%38,9) ise 21q22' de AML1 gen amplifikasyonu saptandı. B-prekürsör immünofenotipli bir hastada füzyon ile birlikte TEL allelinde delesyon saptandı (Hasta no: 1) (Tablo 30).

Tablo 30. 'TEL/AML1' FISH analiz sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağ kalım süreleri

Hasta no	Karyotip	Tel/aml1 füzyon	Tel delesyon	Aml 1 amplif.	Relaps (ay)	Sağ kalım (ay)
1	46,XY	1füzyon	+	-	-	16
2	46,XX,t(4;11)(q21;q23)	-	-	-	RGM	2(ölüm)
3	1)50-53,XXY,der(9)t(9;22)(q34;q11), +11,14,+20,+21,+mar 2)46,XY	-	-	4 tane 21	-	16
4	46,XY	-	-	3 tane 21	-	17
5	Poliploidi	-	-	4 tane 21	-	9
6	46,XY	1 füzyon	-	-	-	10
7	46,XX	-	-	4 tane 21	-	11
8	1)46,XX 2)46,XX,t(7;10)(q11;p11)	1 füzyon	-	-	-	14
9	46,XY	3 füzyon	-	-	-	21
10	46,XX	-	-	-	-	22

Tablo 30 (devam)

11	46,XX	-	-	-	RGM	3 (ölüm)
12	1)46,XX, del(6)(q21q25) 2)46,XX	-	-	-	-	8
13	Metafaz yok	-	-	-	-	12
14	46,XX	1 füzyon	-	-	-	10
15	47,XXX, der(1p)	-	-	-	-	9
16	46,XY	-	-	4 tane 21	-	14
17	56,XXX,+4,+6,+8,+10,+13,+14, +19, +20,+21	-	-	4 tane 21	-	23
18	46,XY	-	-	6 tane 21	-	15

RGM: Remisyona Girmedir

4.11. Hastalara uygulanan FISH analizi (BCR/ABL probu ile) sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalm süreleri

6 ALL , 3 Miks lösemi ve 1 KML tanılı hastaya BCR/ABL probu kullanılarak yapılan FISH analizi sonucunda, bcr/abl füzyonu tüm Philadelphia tanımlanan hastalarda pozitif olarak saptandı (Tablo 31).

Tablo 31. “LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe” ile yapılan FISH analizi sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalm ayları

Hasta no	Lösemi tipi	Karyotip	Bcr/abl füzyon	Relaps (ay)	Sağkalm (ay)
3	B- prekürsör	1) 50-53,XXY,t(9;22)(q34;q11),+11,+14,+20,+21,+mar 2)46,XY	+	-	16
4	B- prekürsör	46,XY	-	-	17
9	B- prekürsör	46,XY	-	-	21
10	B- prekürsör	46,XX	-	-	22
17	B- prekürsör	56,XXX,+4,+6,+8,+10,+13,+14,+19,+20, +21	-	-	23
18	B- prekürsör	46,XY	-	-	15
23	Miks	46,XY	-	-	18
27	Miks	46,XY	-	-	23
28	Miks	46, XY, t(9;22)(q34;q11)	+	4	13 (ölüm)
39	KML	46, XX, t(9;22)(q34;q11)	+	-	7

4.12. Hastalara uygulanan FISH analizi (MLL probu ile) sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım süreleri

MLL ‘dual color break apart’ probu uygulanan 9 hastadan 2’ si B-prekürsör lösemi (İnfanfil lösemi), 6’ sı AML ve 1’ i miks lösemi (İnfanfil lösemi) tanılı hasta idi.

FISH analizi sonucunda sitogenetik olarak MLL gen bölgesini içeren bir translokasyon tesbit edilen B-prekürsör lösemili (İnfanfil lösemi) bir hastada ve sitogenetik olarak normal karyotip saptanan B-prekürsör lösemili (İnfanfil lösemi) diğer bir hastada, MLL gen yeni yapılanması (rearrangement) bulundu. Miks lösemi tanısı ile takip edilen infanfil lösemili diğer bir hastada sitogenetik olarak saptanan MLL gen bölgesini içeren translokasyonda, FISH analizi ile ‘break apart’ sinyal gösterilemedi.

MLL ‘dual color break apart’ FISH probu ile 6 AML tanılı hastanın 1’ inde MLL delesyonu (Hasta no: 30), 1’ inde MLL amplifikasyonu (Hasta no: 31), 4’ ünde ise normal sinyal (Hasta no: 29, 32, 33, 34) alındı (Tablo 32) .

Tablo 32. “LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe” ile yapılan FISH analizi sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım süreleri

Has ta no	Lösemi tipi	Karyotip	MLL TR	MLL DEL	MLL AMP	Relaps (ay)	Sağ kalım (ay)
2	B- prekürsör	46,XX,t(4;11)(q21;q23)	+	-	-	RGM	2(ölüm)
11	B- prekürsör	46,XX	+	-	-	RGM	3(ölüm)
25	Miks	1)46,XX,t(1;11)(p32;q32) 2)46,XX(Nonneoplazik hücre)	-	-	-	8	8
29	AML	47,XY,+mar?t(10;19)(q11;q13)	-	-	-	-	14
30	AML	48,XY,del(6q), der(11)t(1;11) (q21?: q23), -18,+19,-20,+21,+m1, +m2	-	+	-	RGM	4 (ölüm)
31	AML	1)45, X, derX add(X)(q25?), der11,add(10)(p12?)t(10;19)?(p12;q13)? -17,-19,+mar 2)46,XX	-	-	+	-	22
32	AML	46,XY	-	-	-	-	21
33	AML	46,XX	-	-	-	-	19
34	AML	1)46,XX,t(7;14)(p15;q32),t(12;17)(p11;q11)? 2)92, XXXX, t(7;14)(p15;q32), t(7;14)(p15;q32), t(12;17)(p11;q11)? 3)46, XX	-	-	-	-	6(ölüm) enfek siyon

RGM: Remisyona Girmedi

4.13. Hastalara uygulanan FISH analizi (İNV(16) probu ile) sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım süreleri

6 AML tanılı hastaya inv(16) probu ile uygulanan FISH analizi sonucunda hastalarda inv(16) tesbit edilemedi ancak bir hastada monozomi 16 (Hasta no: 34) tesbit edildi (Tablo 33).

Tablo 33. “MYH11 (16p13.1) Breakpoint Region Probe” ile yapılan FISH analizi sonuçları, hastaların relaps durumları ve sağkalım ayları

Hasta no	Lösemi tipi	Karyotip	İnv(16)	Relaps (ay)	Sağkalım (ay)
29	AML	47,XY,+mar?t(10;19)(q11;q13)	-	-	14
30	AML	48,XY,del(6q), der(11)t(1;11)(q21;q23),-18,+19,-20,+21,+m1,+m2	-	RGM	4 (ölüm)
31	AML	1)45, X, derX add(X)(q25?), der11 add(10)(p12?)t(10;19)?(p12;q13)?-17,-19,+mar 2)46,XX	-	-	22
32	AML	46,XY	-	-	21
33	AML	46,XX	-	-	19
34	AML	1)46,XX,t(7;14)(p15;q32),t(12;17)(p11;q11)? 2)92, XXXX, t(7;14)(p15;q32), t(7;14)(p15;q32), t(12;17)(p11;q11)? 3)46, XX	-, monozomi 16+	-	6 (ölüm) (enfeksiyon)

RGM: Remisyona Girmedir

Lösemili hastalar ile ilgili blastik hücre görüntüleri, sitogenetik analiz ve FISH sonuçları, flow sitometrik ve klinik veriler eşliğinde ilişikte sunulmuştur.

4.11. LÖSEMİLİ HASTALAR

HASTA 001: 2^{7/12}, Çarsamba-SAMSUN

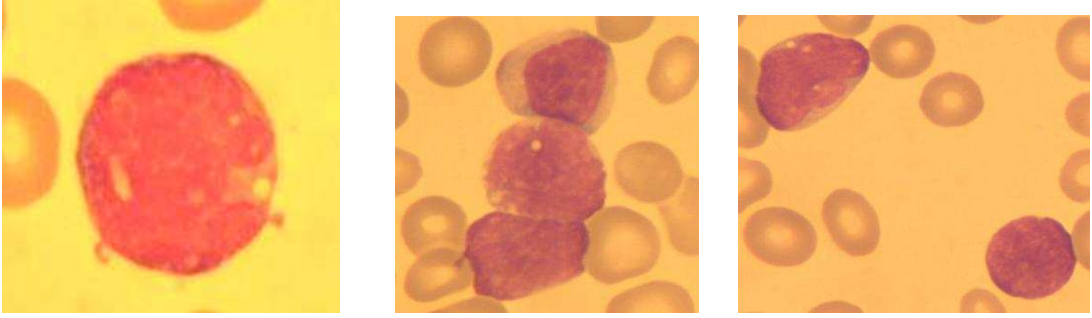
KLİNİK: Ateş, solukluk, lenfadenopati, hepatosplenomegali, yaygın peteşi ve ekimoz

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 36.400/mm ³	Eritrosit: 2.090.000/mm ³	Hb: 5.7/dl	Htc: % 16.5	MCV:79.1fl	PLT:17.000/mm ³
---------------------------------------	---	------------	-------------	------------	----------------------------

*Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS+, Sudan Black-

PERİFERİK YAYMA (WRIGHT BOYAMA)



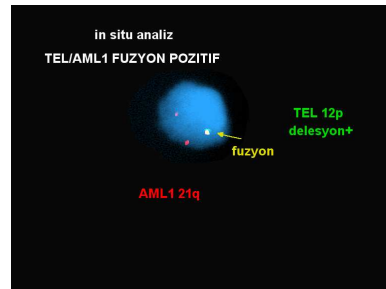
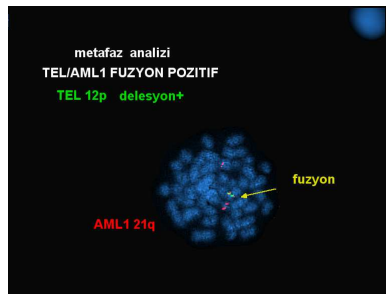
FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %96.5	CD33: %85.8	CD15: %18.7	CD5: %2.9	CD10: %82.6
CD20: %1.4	CD22: %5.2	CD3: %3.8	CD19: % 94.1	MPO: %5.2
TdT: %17.7	HLA-DR: %95.9	CD4: %1.9	CD8: %1.6	Sitoplazmik Ig M: %13.2
YORUM: My + B-prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ

46, XY normal karyotip, Philadelphia kromozomu negatif, incelenen metafaz sayısı: 20

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color' Translokasyon Probu

SONUÇ: TEL/AML1 füzyon pozitif; 12. kromozomun kısa kolunda delesyon

HASTA 002: 3^{15/365}, AMASYA

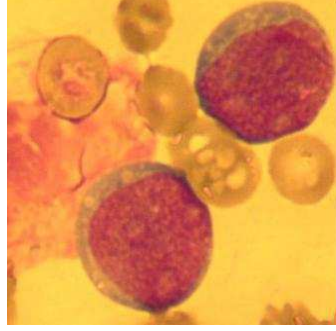
KLİNİK: Emmeme, halsizlik, solukluk, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 199.000/mm ³	Erit:2.200.000/mm ³	Hb: 6.9gr/dl	Htc: %19	MCV: 84 fl	PLT:17.400/ mm ³
--	--------------------------------	--------------	----------	------------	-----------------------------

*Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS+, Sudan Black-

PERİFERİK YAYMA (WRİGHT BOYAMA)

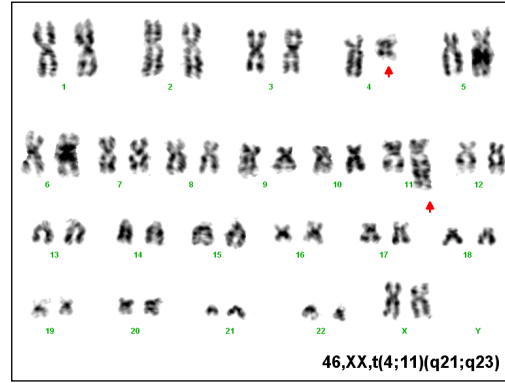
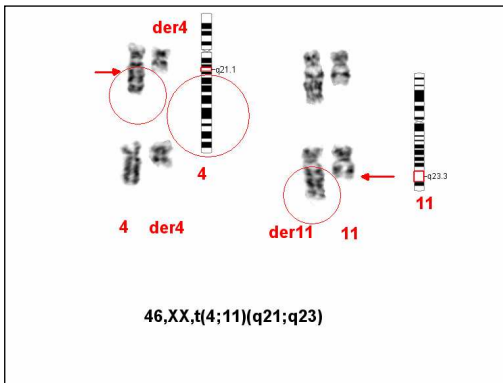


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

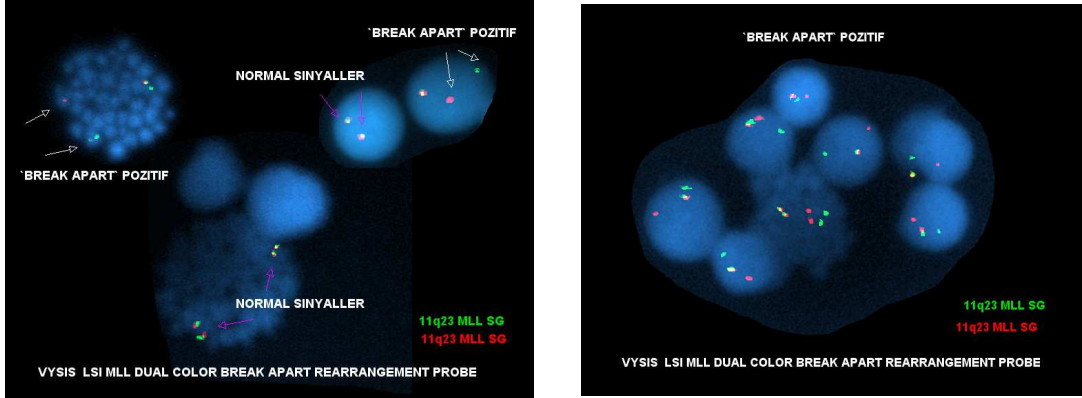
CD45:%98.9	CD33: %30.32	CD33+7:%16.15	CD7:%14.2	CD15: %86
CD19: %94	CD34: %75	CD22: %71	CD71: %76	MPO: -
CD79a: %94	CD79a+TdT:%62	HLA DR: %94		
YORUM: My+ B-prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ

46, XX, t(4;11)(q21;q23)(Pseudodiploidi) (İncelenen metafaz sayısı: 12)



FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 1) 'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu

SONUÇ: Normal bir 11. kromozom mevcut. Diğer 11.kromozomun MLL bölgesinin bir kısmı, 4.kromozomun distal ucunda görülüyor. Sonuç, sitogenetik analiz ile birlikte ele alındığında 11. kromozomdaki MLL gen bölgesinin proksimal bölümünün yerinde kaldığı, distal bölümün ise 4. kromozoma transloke olduğu görülmekte.

2) 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translocation' Probu

SONUÇ: Füzyon negatif

HASTA 003: 5^{4/12}, SAMSUN

KLİNİK: Halsizlik ve iştahsızlık, lenfadenopati

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 2.170/mm ³	Eritrosit: 3.600.000/mm ³	Hb: 9.7gr/dl	Htc: %28	MCV: 77.6fl	PLT: 184.000/ mm ³
--------------------------------------	---	--------------	----------	-------------	----------------------------------

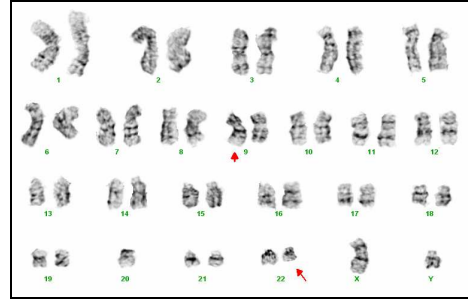
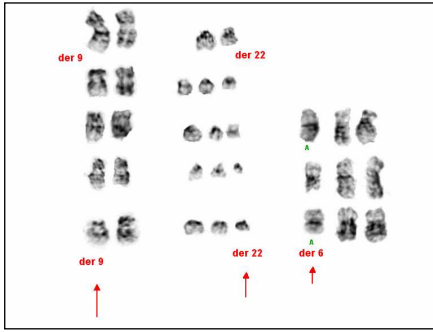
*Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS (Parçalılarda +, lenfoid hücrelerde -), Sudan Black-

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)

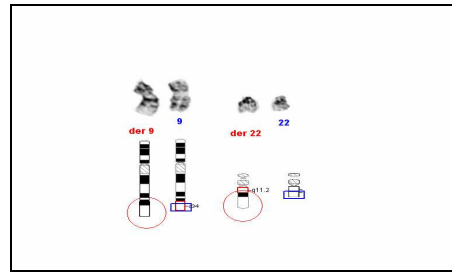
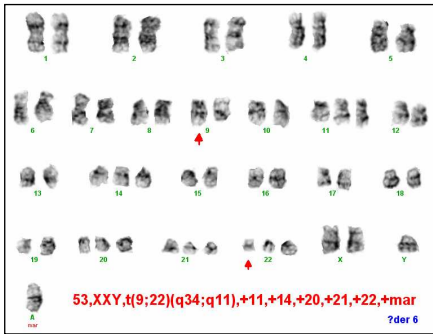


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %69.8	CD33: %12.9	CD15: %17.6	CD5: %7.4	CD10: %57.8
CD20: %3.8	CD22: %1.9	CD3: %9.1	CD34: %66.5	MPO: %13.8
TdT: %0.2	CD19: %64.2	HLA DR: %69.2	Sitoplazmik Ig M %47,9	
YORUM: My+ B- prekürsör ALL				



45, XY, t(9; 22)(q34; q11), -20



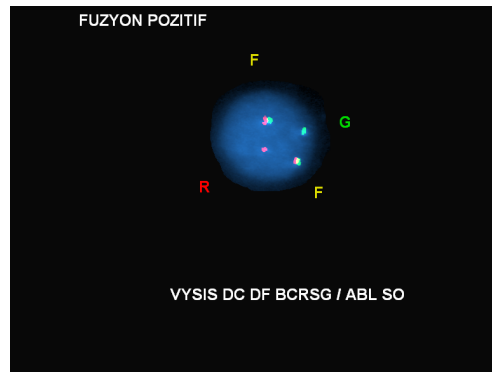
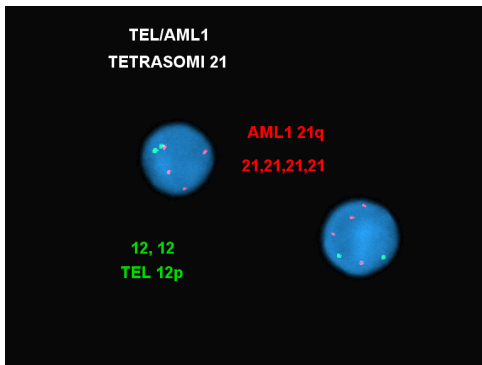
t(9; 22)(q34; q11)

SİTOGENETİK ANALİZ

- 1) 10 metafaz: 50-53, XXY, der(9)t(9; 22)(q34; q11), +11, +14, +20, +21, +mar
Philadelphia pozitif pseudo-hiperdiploid karyotip
- 2) 20 metafaz: 46, XY Normal karyotip

YORUM: ALL , 'kötü prognosis'

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 1)'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon Negatif, AML1 geninde amplifikasyon var.

2) 'LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon Pozitif

HASTA 004: 7^{8/12}, SAMSUN

KLİNİK: Karın şişliği (hepatosplenomegali), halsizlik ve solukluk

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 3.200 /mm ³	Erit:2.400.000/mm ³	Hb: 6.5gr/dl	Htc: %18	MCV: 77fl	PLT: 9.000/ mm ³
---------------------------------------	--------------------------------	--------------	----------	-----------	-----------------------------

-Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS (), Sudan Black -

PERİFERİK YAYMA (WRIGHT BOYAMA)

KEMİK İLİĞİ (WRIGHT BOYAMA)



FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD34: %73.37	CD33: %13.98	CD19: %94.2	TdT: %29.1	CD22: %9.57
CD10: %92.2	Sitoplazmik Ig M: %0.41	HLA DR: %85	CD20: %44	CD56:%51

YORUM: B- prekürsör ALL

SİTOGENETİK ANALİZ

46,XY, normal karyotip (İncelenen metafaz sayısı: 15)

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 1) "LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translocation Probe "

SONUÇ: Füzyon yok, AML1 (3 tane kırmızı sinyal) geninde amplifikasyon var.

2) 'LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translokasyon' Probu"

SONUÇ: Füzyon yok

HASTA 005: 4^{11/12}, Bafra/SAMSUN

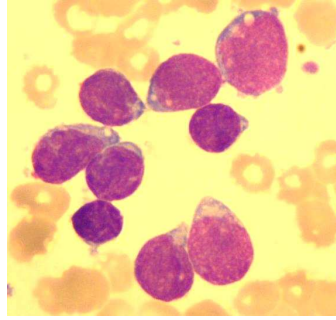
KLİNİK: Bel ağrısı, kilo kaybı, multipl lenfadenopati

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 2.800 /mm ³	Erit:3,230,000 / mm ³	Hb: 10.9gr/dl	Htc: %29,6	MCV: 91fl	PLT: 144.000/mm ³
---------------------------------------	-------------------------------------	---------------	------------	-----------	---------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS (), Sudan Black -

KEMİK İLİĞİ (WRIGHT BOYAMA):

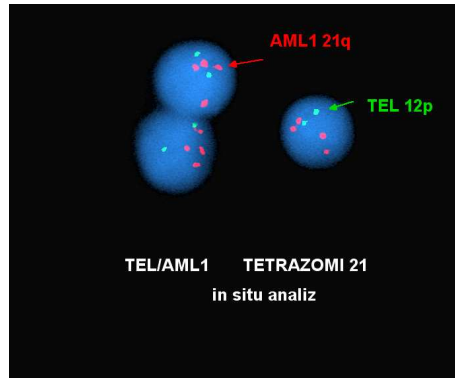


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ:

CD45: %53	CD15: %90	CD10: %93	HLA DR: %91	CD34: %89
CD22: %67	CD56+11: %60	CD19: %92	CD79+TdT: %94	
YORUM: B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ: Metafaz az. Sadece 2 metafazda poliploidi saptandı.

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon yok, AML1 geninde amplifikasyon var.

HASTA 006: 8^{11/12}, SAMSUN

KLİNİK: Burun kanaması, halsizlik ve yorgunluk, hepatosplenomegali

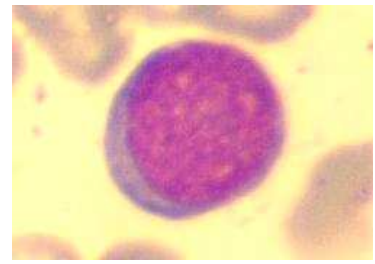
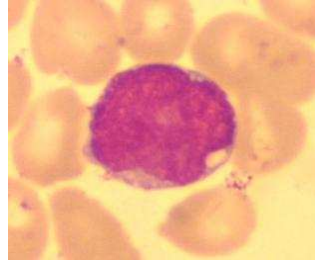
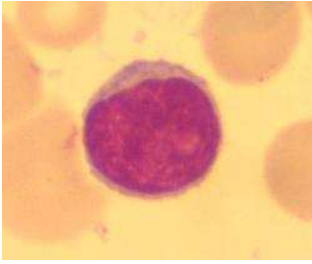
HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 11.300/mm ³	Erit: 1.230.000 /mm ³	Hb: 3.5gr/dl	Htc: %11.2	MCV: 91fl	PLT: 41.000/ mm ³
---------------------------------------	-------------------------------------	--------------	------------	-----------	---------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black -

PERİFERİK YAYMA(WRIGHT BOYAMA)

KEMİK İLİĞİ (WRIGHT BOYAMA)

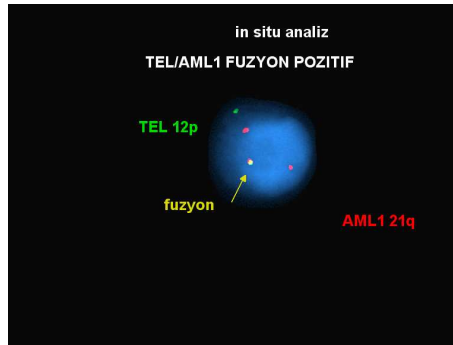


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %93	HLA DR: %88.5	CD15: %53	CD19: %89	CD34: %60
CD22+13: %12	CD22: %23	CD56: %39.9	CD79a: %82	CD79a+TdT : %25.6
YORUM: B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ: 46,XY, Normal karyotip (İncelenen metafaz sayısı: 20)

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: TEL/AML1 füzyon pozitif.

HASTA 007: 2^{11/12}, SAMSUN

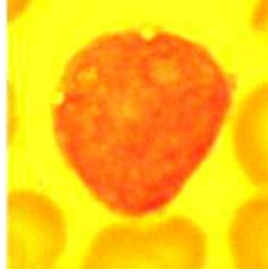
KLİNİK: Ateş, multipl lenfadenopati, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 12.400/mm ³	Eritrosit: 2.030.000/mm ³	Hb: 5.1gr/dl	Htc: % 15.3	MCV: 75 fl	PLT:13.000/mm ³
---------------------------------------	---	--------------	-------------	------------	----------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black -

KEMİK İLİĞİ (WRIGHT BOYAMA)

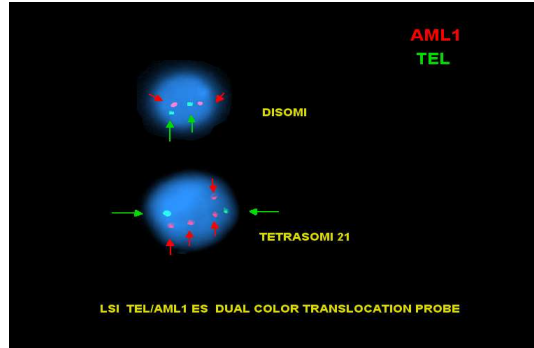


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %38	CD7: %28,5	HLA DR: %78	CD15: %29	CD19: %42
CD10: %53	CD34: %55	CD79a: %67	CD20:%16,8	MPO: (-)
TdT: %34	Sitoplazmik Ig M: %60,9			
YORUM: B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ 46, XX, Normal karyotip (İncelenen metafaz sayısı: 6)

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon yok, AML1 geni ile ilgili 4 tane sinyal görülüyor.

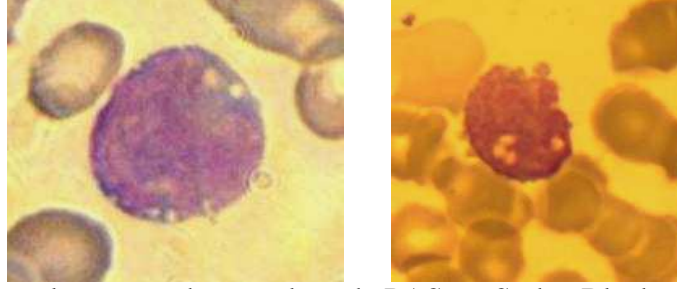
HASTA 008: 6^{2/12}, SAMSUN

KLİNİK: Yüksek ateş, eklem ağrısı, burun kanaması, lenfadenopati

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 13.600 /mm ³	Erit: 2.040.000 /mm ³	Hb: 6.1gr/dl	Htc: % 17.1	MCV: 83.9fl	PLT: 105.000 / mm ³
--	-------------------------------------	--------------	-------------	-------------	-----------------------------------

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black -

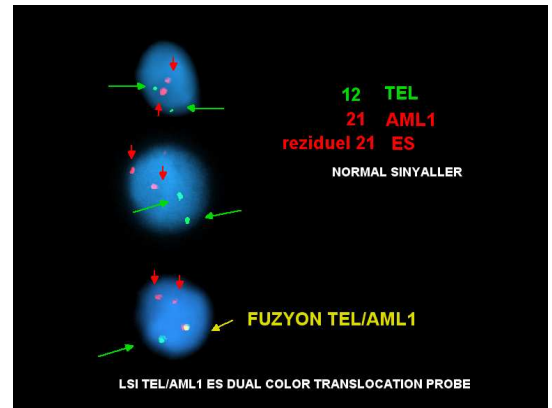
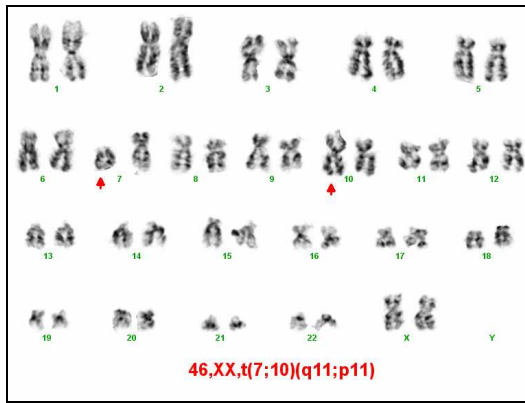
FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD 45: %93.6	CD34: %91	CD13: %36	CD13+22: %48	CD10: %83
CD79a: %90	TdT+79a: %22.2	CD19: %85	HLA DR: %60	MPO: -
YORUM: My+ B prekürsör ALL (calla (+))				

SİTOGENETİK ANALİZ

1)19 metafaz 46, XX (normal karyotip)

2)1 metafaz 46, XX, t(7;10)(q11;p11) (İncelenen metafaz sayısı: 20)



FISH ANALİZİ

KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translocation' Probu

SONUÇ: Füzyon Pozitif

HASTA 009: 9^{6/12}, SAMSUN

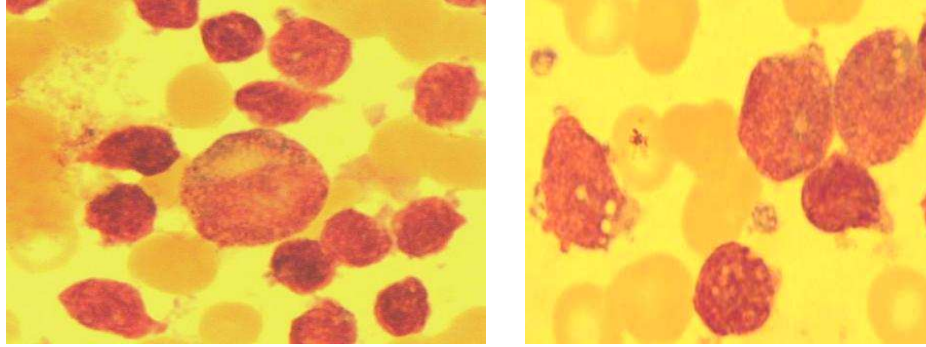
KLİNİK: Kalça ağrısı, kilo kaybı, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 4.130/mm ³	Erit: 3.071.000 /mm ³	Hb: 8.71gr/dl	Htc: %24	MCV: 78.25fl	PLT: 140.000/ mm ³
--------------------------------------	-------------------------------------	---------------	----------	--------------	----------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS +, Sudan Black -

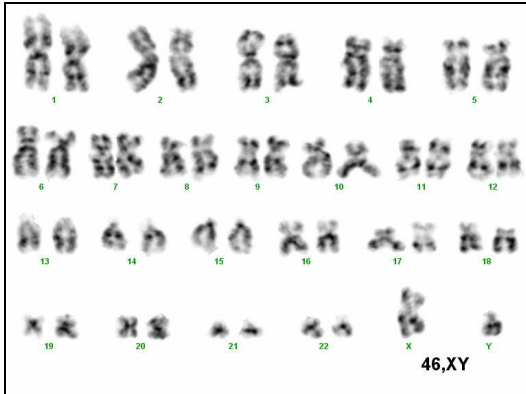
KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



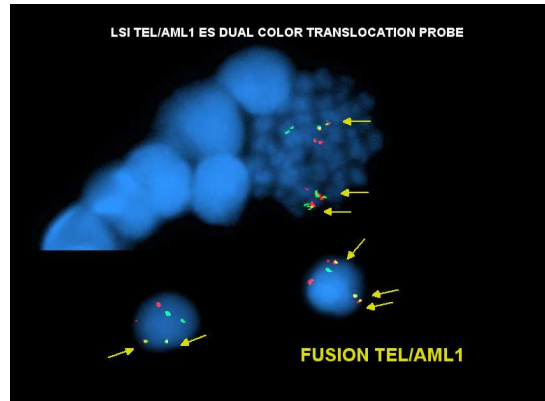
FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %40	CD33: %5	HLA DR: %81	CD5: %15	CD10: %75
CD20: %2	CD22: %81	CD3: %14	CD19: %77	MPO: %0
TdT: %41				
YORUM: B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ 46, XY diploid, Normal karyotip (metafaz sayısı: 12)



KARYOTİP



FISH

KULLANILAN PROB: 1) 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu
SONUÇ: TEL/AML1 üç füzyon pozitif.
2) 'LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translokasyon' Probu
SONUÇ: Füzyon negatif

HASTA 010: 10^{7/12}, Fatsa /ORDU

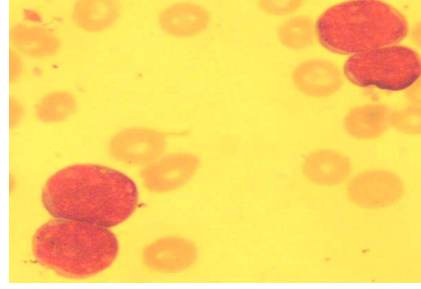
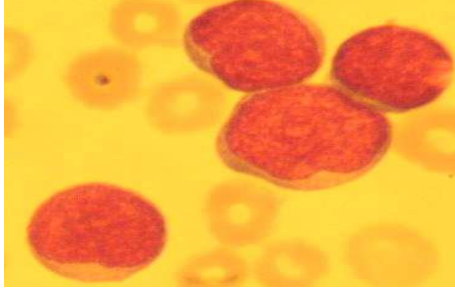
KLİNİK: Karın ağrısı, iştahsızlık, solukluk, splenomegali, lenfadenopati

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 44.500/mm ³	Erit:2.000.000 /mm ³	Hb: 5.4gr/dl	Htc: %17	MCV: 85.2fl	PLT: 47.000/ mm ³
---------------------------------------	------------------------------------	--------------	----------	-------------	---------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS (+), Sudan Black –

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %95.2	CD33: %1.1	CD15: %20.8	CD5: %12.2	CD10: %79.8
CD20: %8.2	CD22: %1.6	CD3: %11.3	Sitoplazmik Ig M: % 30.9	MPO: %3.7
TdT: %10.1	CD19: %84.9	HLADR:%79.9		
YORUM: B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ

- 1) Kİ: 6 metafaz: 46, XX Normal; 3 metafaz: Poliploidi
- 2) PK: 10 metafaz: 46, XX Normal

YORUM: Kemik iliği kromozom analizinde %30 oranında poliploidi varlığı klinikte “iyi prognoz” olarak yorumlanmıştır. Normal olan kan analiz sonuçları non-neoplazik hücre popülasyonunu yansıtmaktadır.

FISH ANALİZİ

KULLANILAN PROB: 1)'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu
SONUÇ: Füzyon negatif
2) 'LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translokasyon' Probu
SONUÇ: Füzyon negatif

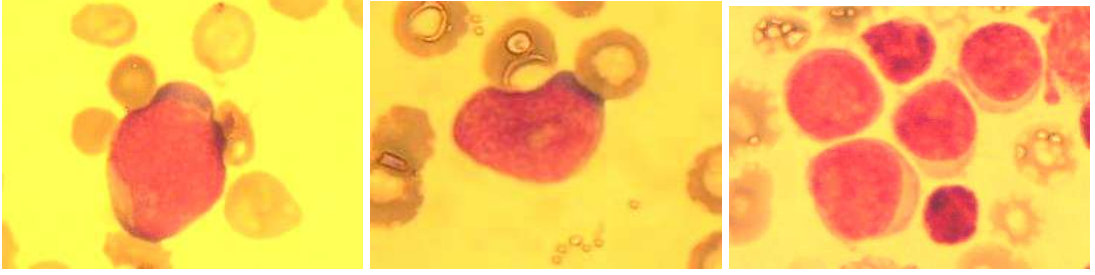
HASTA 011: 36/365, Ulubey/ORDU

KLİNİK: Kabızlık, huzursuzluk, solukluk, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 202.000/mm ³	Erit: 2.130.000 /mm ³	Hb: 5.9gr/dl	Htc: %29	MCV: 136fl	PLT:17.000/mm ³
--	-------------------------------------	--------------	----------	------------	----------------------------

PERİFERİK YAYMA(WRIGHT BOYAMA)

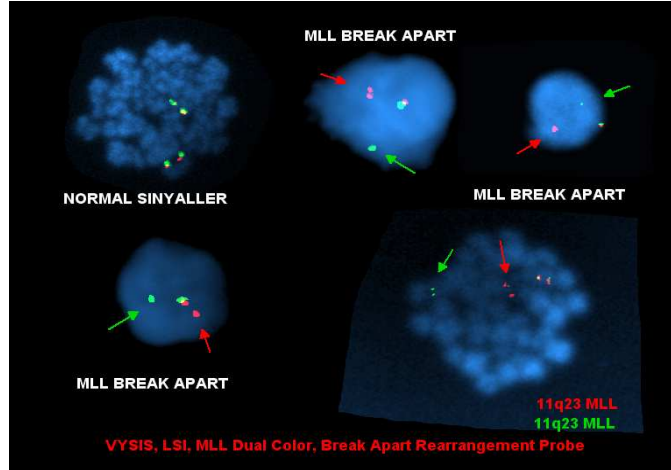


-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black -

FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %97.75	CD34: %65	CD19: %94.67	TdT: %0.31
CD79a: %72.86	CD79a +TdT: %12.9		
YORUM: B- prekürsör ALL			

SİTOGENETİK ANALİZ 46, XX, normal karyotip
FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 1)'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu

SONUÇ: Karyotip analizi normal olan hastada hem metafaz hem de in situ hücrelerde MLL translokasyonunun varlığı (birbirinden ayrı görülen kırmızı ve yeşil sinyaller) tesbit edildi: **"MLL Rearrangement"**

2) 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translocation Probe'

SONUÇ: Füzyon negatif

HASTA 012: 2^{5/12}, SAMSUN

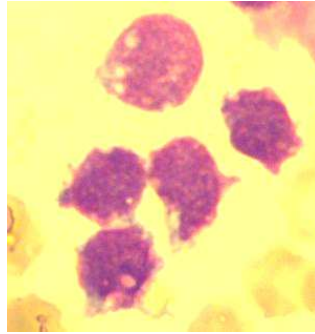
KLİNİK: Bacak ağrısı, ateş

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 4.100 /mm ³	Erit: 3.610.000/mm ³	Hb: 9gr/dl	Htc: %26.3	MCV: 72.8fl	PLT: 183.000/ mm ³
---------------------------------------	------------------------------------	------------	------------	-------------	----------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black -

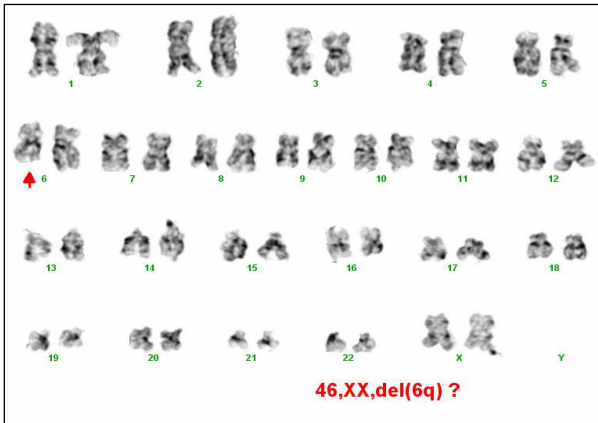
KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %47.6	CD15: %4.7	CD10: %91.9	CD7: %30.3	CD33: %28.9
TdT: %26.1	CD19: %52.4	HLA DR:%84.8	CD13: %57.2	CD24: %93.2
St Ig M: %38.4	CD34: %83.2			

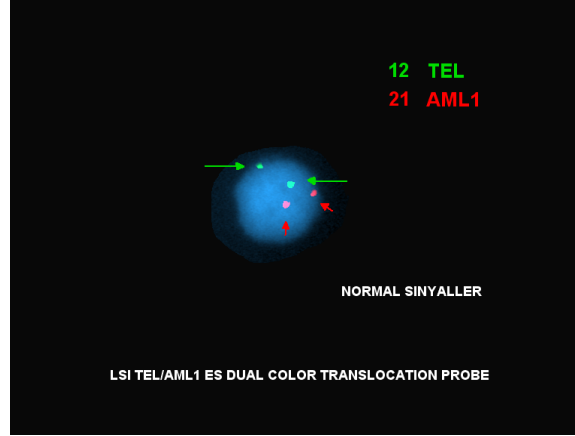
YORUM: Aberan myeloid antijen taşıyan B- prekürsör ALL



SİTOGENETİK ANALİZ

YORUM: Klonal olarak saptanan del 6q aberasyonu , pediatrik lösemide gerek B-hücreli gerek T-hücreli ALL'de göreceli olarak sık (yaklaşık %30) tanımlanmış bir yapısal anomalidir. İzole 6q delesyonunun prognoz ile birebir ilişkisi net değildir

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon Negatif.

HASTA 013: 2^{5/12}, Çarsamba/SAMSUN

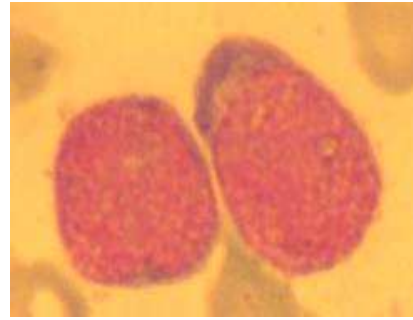
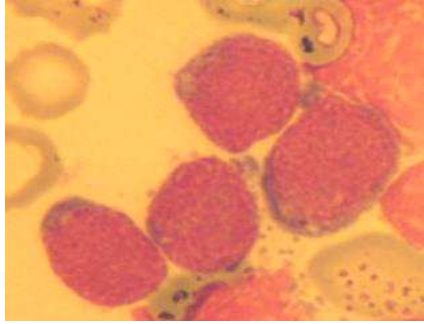
KLİNİK: Halsizlik, ateş, lenfadenopati, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 125.000/mm ³	Erit: 3.650.000/mm ³	Hb: 9.1gr/dl	Htc: %28	MCV: 76.6fl	PLT: 168.000/ mm ³
--	------------------------------------	--------------	----------	-------------	----------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS +, Sudan Black -

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)

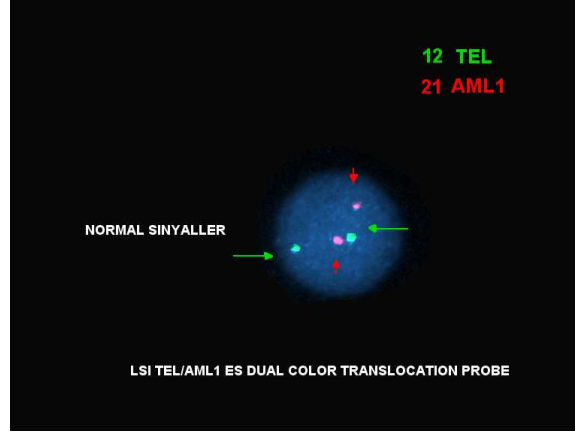


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45:%95	CD33: %0.53	CD15: %19.4	CD5: %3.6	CD10: %57.5
CD20: %35	CD22: %58	CD3: %5	CD34: %21	CD34+20: %33
TdT: %0.08	CD19: %85	MPO : %0.59	CD79a: %91	CD79a+TdT: %17
YORUM: B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ Kemik iliğinden üç farklı yöntemle çalışılmasına rağmen metafaz plağı elde edilememiştir.

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon yok.

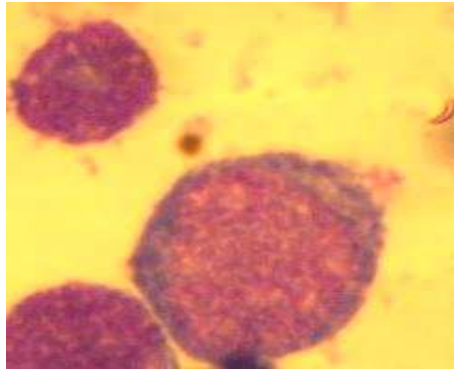
HASTA 014: 7^{9/12}, Çarşamba /SAMSUN

KLİNİK: Kalça ağrısı, gece terlemesi, halsizlik, iştahsızlık ve kilo kaybı, solukluk, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 73.700 /mm ³	Erit: 2.640.000 / mm ³	Hb: 7.2gr/dl	Htc: %21.7	MCV: 82 fl	PLT: 149.000 / mm ³
--	--------------------------------------	--------------	------------	------------	-----------------------------------

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)

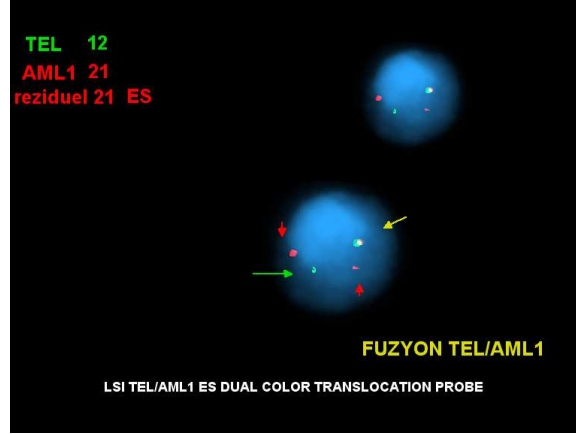


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %90	CD15: %44	HLA DR: %94	CD19: %91	CD10: %88
CD34: %67	CD13: %41.7	CD56: %61	CD79: %40	TdT: %50
YORUM: My+B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ 46,XX (diploid) (İncelenen metafaz sayısı: 2)

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: TEL/AML1 füzyon pozitif.

HASTA 015: 2^{11/12}, V.köprü/SAMSUN

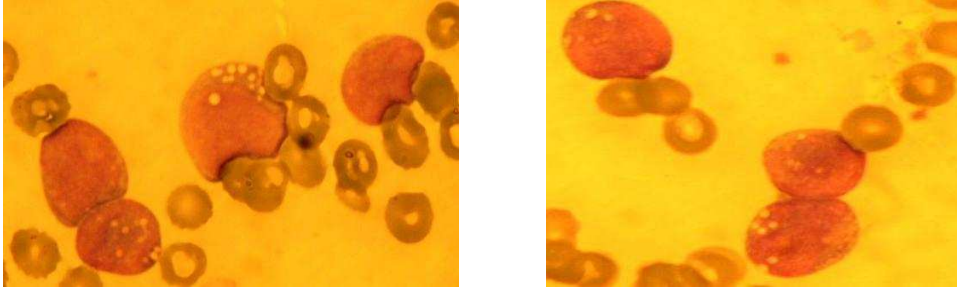
KLİNİK: Karın ağrısı, yüksek ateş, solukluk, hepatomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 102.000/mm ³	Eritrosit: 1.020.000/mm ³	Hb: 3.3gr/dl	Htc: % 10.6	MCV: 103fl	PLT: 91.000 / mm ³
--	---	--------------	-------------	------------	----------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black -

PERİFERİK YAYMA (WRIGHT BOYAMA)

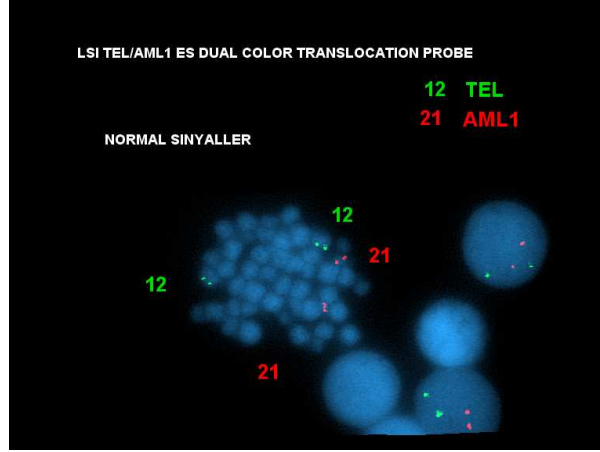


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %97	CD34: %90	CD15: %71	CD13: %34	HLA DR: %95
CD79a: %75	CD79a +TdT: %44	CD19: %94		
YORUM: B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ: 47, XXX, der(1p)

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon Negatif

HASTA 016: 7^{4/12}, Vezirköprü/SAMSUN

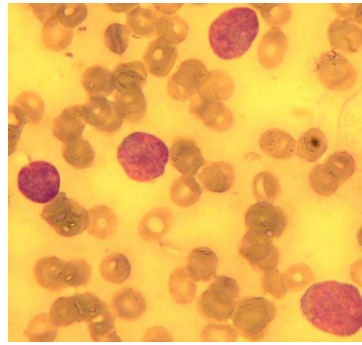
KLİNİK: Solukluk, halsizlik, ekimotik alanlar, multipl lenfadenopati, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 35.900/mm ³	Erit: 1.260.000 /mm ³	Hb: 3.7gr/dl	Htc: %10.3	MCV: 82 fl	PLT: 6.000/mm ³
---------------------------------------	-------------------------------------	--------------	------------	------------	-------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS +, Sudan Black -

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



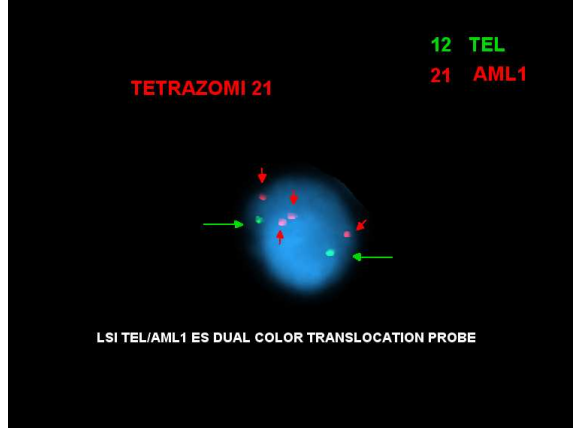
FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %70	CD19: %94	CD34: %72	CD22: %73	CD10: %66
CD79: %92	TdT+CD79: %59	HLA DR: %92		
YORUM: B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ

46, XY(diploid) Normal karyotip (İncelenen metafaz sayısı: 3)

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB:'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon yok, AML1 geninde 4 tane sinyal görülüyor.

HASTA 017: 2^{9/12}, SAMSUN

KLİNİK: İştahsızlık, karın ağrısı, ateş, solukluk, bacaklarda ekimotik alanlar, multipl lenfadenopati, hepatosplenomegali

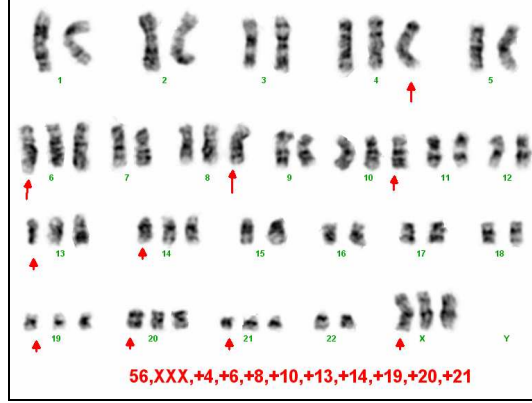
HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 130.000/mm ³	Erit:1.030.000/mm ³	Hb: 3gr/dl	Htc: %10.6	MCV: 94.6 fl	PLT: 3.000 / mm ³
--	--------------------------------	------------	------------	--------------	------------------------------

FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

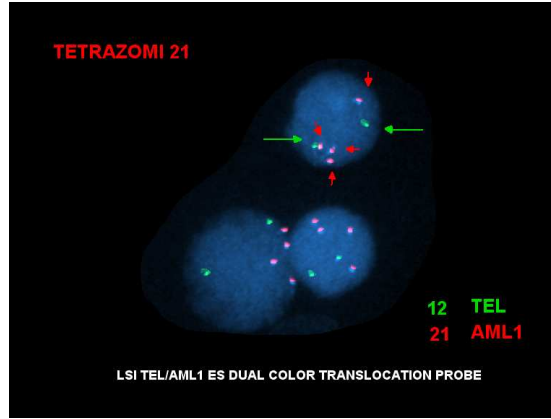
CD45: %51.2	CD33: %6.4	CD15: %7.5	CD8: %3.3
CD20: %14.9	CD22: %29.1	CD3: %7.1	CD19: % 74.5
TdT: %3.4	HLA DR:%94.8	CD4: %4.1	Sitoplazmik Ig M: %1.9
MPO: (-)			
YORUM: B- prekürsör ALL			

SİTOGENETİK ANALİZ



Toplam 18 metafaz plağı incelenmiş, tümünde modal sayı, 56 (hiperdiploid) olarak saptanmış ve 4, 6, 10, 13, 14, 19, 20, 21. kromozomları ilgilendiren trizomi belirlenmiştir. **YORUM:** Hiperdiploid klonların varlığı nedeni ile ‘iyi prognoz’

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: “LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translocation Probe “

SONUÇ: Füzyon negatif. In situ analizde AML1 geninde 4 tane sinyal mevcut.

2) “LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe”

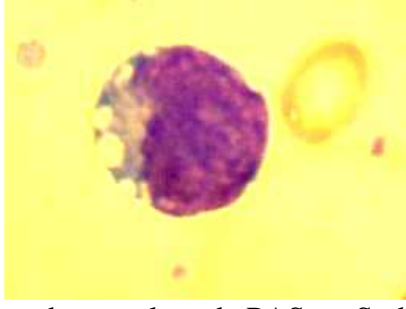
SONUÇ: Füzyon Negatif

HASTA 018: 11 yaş, SAMSUN

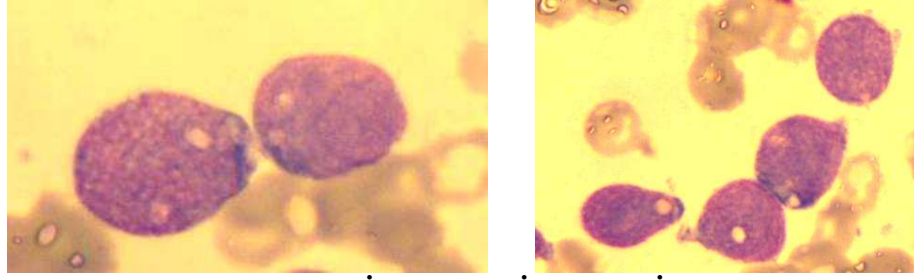
KLİNİK: Multipl lenfadenopati, hepatomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 5.650/ mm ³	Erit:3.431.000/mm ³	Hb: 9.6gr/dl	Htc: %27.9	MCV: 81.4fl	PLT:372.000/mm ³
---------------------------------------	--------------------------------	--------------	------------	-------------	-----------------------------

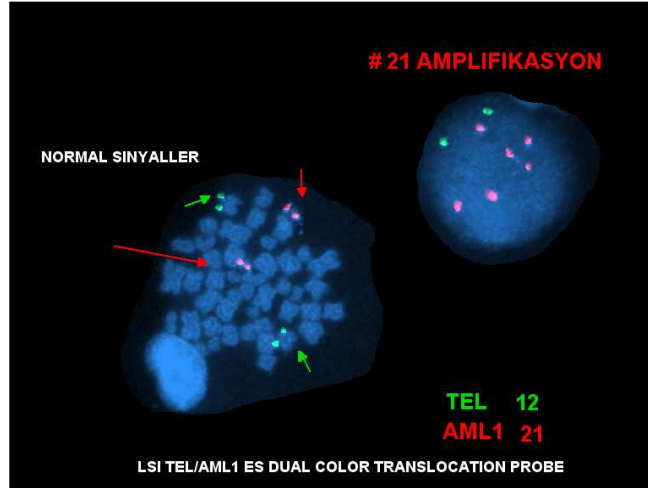
PERİFERİK YAYMA (WRİGHT BOYAMA)

-Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS +, Sudan Black -

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)**FLOW SİTOMETRİK ANALİZ**

CD45: %9.92	CD34: %89	CD19: %93	CD10: %85	CD22: %70
CD79: %67.4	TdT: %47	HLA DR: %90	St Ig M: %29	
YORUM: B- prekürsör ALL (Lenfomatoid tip)				

SİTOGENETİK ANALİZ 46.XY, Normal karyotip (İncelenen metafaz sayısı: 20)

FISH ANALİZİ

KULLANILAN PROB: 1) 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon Negatif. Metafaz analizinde normal sinyaller, in situ analizde **AML1 geninde amplifikasyon (6 tane kırmızı sinyal) görülüyor.**

2) "LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe" SONUÇ: Füzyon Negatif

HASTA 019: 4^{6/12}, SAMSUN

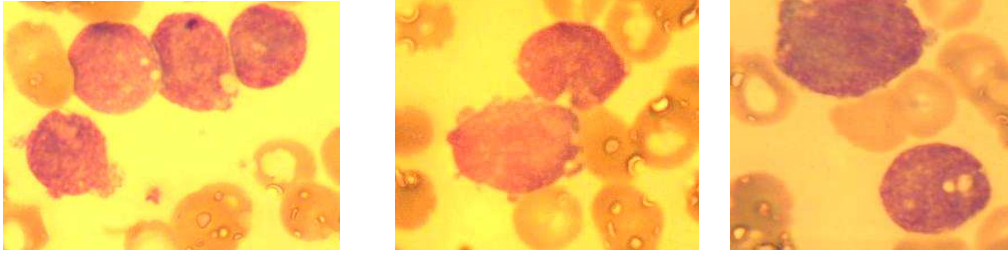
KLİNİK: Kalça ağrısı, solukluk, halsizlik

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 4.300/ mm ³	Erit:2.540.000/mm ³	Hb: 8.8gr/dl	Htc: % 19,3	MCV: 73 fl	PLT: 148.000/ mm ³
---------------------------------------	--------------------------------	--------------	-------------	------------	-------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black –

KEMİK İLİĞİ (WRIGHT BOYAMA)



FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %51.70	CD34: %6.04	CD19: %45.85	TdT: %1.29	CD22: %43
CD79a: %33.9	CD79a +TdT: %15.03	CD10: %72.36		
YORUM: B- prekürsör ALL				

SİTOGENETİK ANALİZ

46, XY, Normal karyotip (İncelenen metafaz sayısı: 17)

HASTA 020: 3^{10/12}, Ünye/ORDU

KLİNİK: Karında kitle, hepatomegali

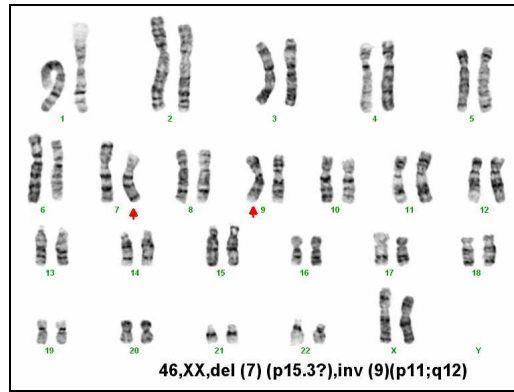
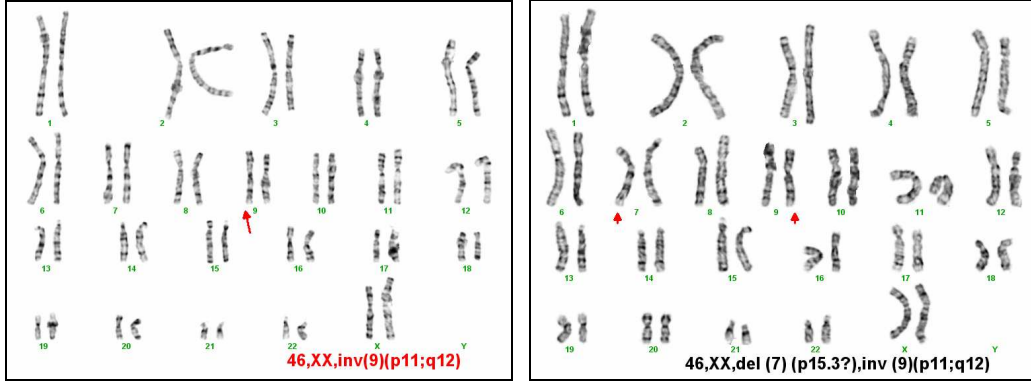
HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 46.900/mm ³	Erit:4.880.000/mm ³	Hb: 14.4gr/dl	Htc: %40.8	MCV: 83.7fl	PLT: 137.000/ mm ³
---------------------------------------	--------------------------------	---------------	------------	-------------	-------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS -, Sudan Black –

FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

T-hücre ALL



SİTOGENETİK ANALİZ

- 1) 4 metafaz: 46, XX, inv(9)(p11;q12), t(7;14)(p11;q11)
- 2) 2 metafaz: 46, XX, inv(9)(p11;q12), del(7)(p15.3), 3) 20 metafaz: 46, XX, normal

YORUM: Klonal olarak saptanan 7. ve 14. kromozom anomalileri "Ataksi Telenjektazi-Lösemik Transformasyon (T-hücre?) lehine yorumlandı.

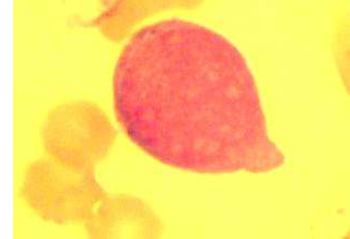
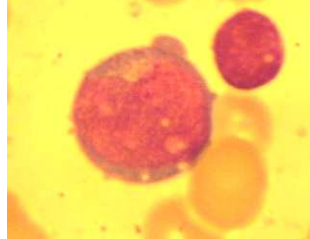
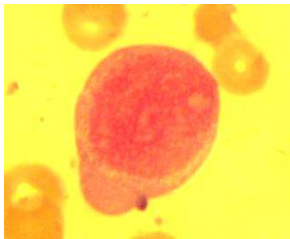
HASTA 021: 1^{10/12}, TOKAT

KLİNİK: Vücudunda morluklar, ateş, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 4.000/ mm ³	Erit: 2.300.000 / mm ³	Hb: 8.3gr/dl	Htc: %21.6	MCV: 92.5fl	PLT: 5.000/mm ³
---------------------------------------	--------------------------------------	--------------	------------	-------------	-------------------------------

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

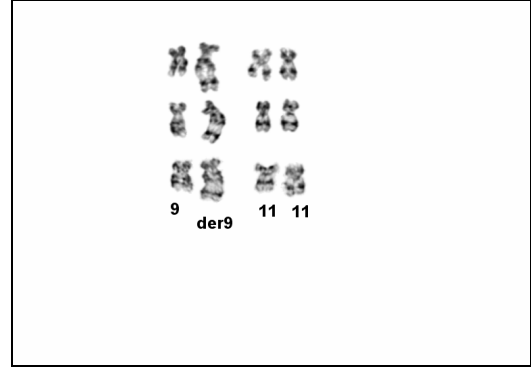
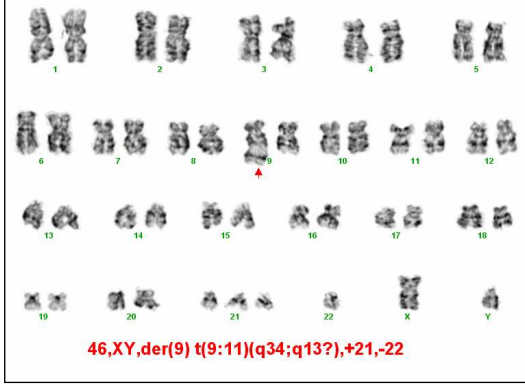
CD45: %86.8	CD33: %28.2	CD15: %11.1	CD5: %47.8	CD10: %0.1
CD8: %25.4	CD22: %3.6	CD3: %56.9	CD19: % 10.3	MPO: %23.8
TdT: %1.1	HLA DR: %38.9	CD4: %31.4		

YORUM: T+ AML (Miks lösemi)

SİTOGENETİK ANALİZ

47, XY, der(9)t(9;11)(q34;q13?), +21 (İncelenen metafaz sayısı:22)

YORUM: Sitogenetik sonuç parsiyel trizomi 11 (ya da duplikasyon 11q) ile uyumludur. Bölge MLL gen lokusunu içermektedir. Ekstra bir 21. kromozom da gözlenmiştir. Klinik Down Sendromu ile uyumlu olduğundan trisomi 21 lösemik hücre ile ilişkilendirilmemiştir. Philadelphia kromozomu negatiftir. Sitogenetik sonuçlar klinikte myelodisplastik sendrom ya da Akut Non-Lenfoid Lösemi(ANLL, AML M4?) lehine değerlendirilmiştir.



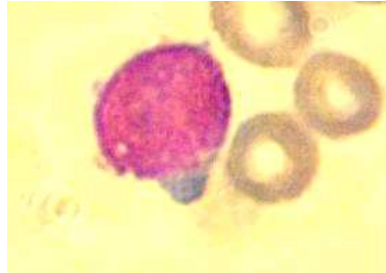
HASTA 022: 5^{3/12}, Terme/SAMSUN

KLİNİK: Halsizlik, solukluk, bacaklarında ve eklem yerlerinde ağrı, hepatomegali

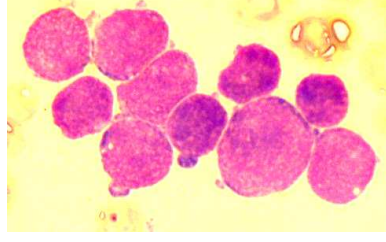
HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 4.000/ mm ³	Erit: mm ³	840.000/	Hb: 3.1gr/dl	Htc: %7.4	MCV: 88 fl	PLT: 29.000/ mm ³
---------------------------------------	--------------------------	----------	--------------	-----------	------------	------------------------------

PERİFERİK YAYMA (WRIGHT BOYAMA)



-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black -

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)**FLOW SİTOMETRİK ANALİZ**

CD45: %33	CD33: %0.13	CD19: %62	CD10: %49	CD22: %10
CD79: %36	TdT+79a: %46	HLA DR: %64	CD117: %2.8	CD15: %1.06
CD34: %31	CD7: %29	CD3:%30	CD2:%39	
YORUM: T +B- Miks lösemi				

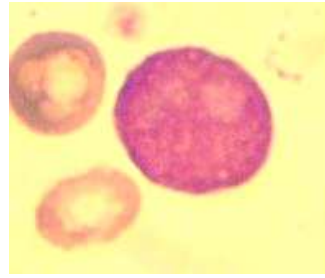
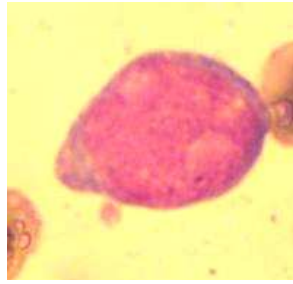
SİTOGENETİK ANALİZ Metafaz gözlenmedi.

HASTA 023: 10^{9/12}, Terme/SAMSUN

KLİNİK: Burun kanaması, solukluk, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 26.900/ mm ³	Erit:2.562.000 / mm ³	Hb: 6.08 gr/dl	Htc: %18.30	MCV: 71.4fl	PLT: 36.300/mm ³
---	----------------------------------	-------------------	-------------	-------------	-----------------------------

PERİFERİK YAYMA (WRİGHT BOYAMA)

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS -, Sudan Black %10 hücrede +

FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45:%100	CD33:%54,6	CD13:%35	CD22:%84	CD10:%33
CD19:%82	CD20:%38	TdT:%1	CD19:%82	MPO:%30
CD2:%38,8	CD3:%32,6	CD79:%0,5	HLA DR:%48	CD15:%47,7
CD34:%28,5	CD24:%70			
YORUM: Miks lösemi				

SİTOGENETİK ANALİZ 46,XY(diploid) Normal karyotip (metafaz sayısı: 20)

FISH ANALİZİ

KULLANILAN PROB: 1) 'SI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu
SONUÇ: Füzyon Negatif
2) 'LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translokasyon' Probu
SONUÇ: Füzyon Negatif

HASTA 024: 4^{1/12}, SAMSUN

KLİNİK: Karın ağrısı, halsizlik, ateş, solukluk, multipl lenfadenopati, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 103.000/mm ³	Erit:1.600.000 / mm ³	Hb: 4.3gr/dl	Htc: %14	MCV: 87.5fl	PLT:35.000/ mm ³
--	----------------------------------	--------------	----------	-------------	-----------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black –

FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %81	CD19: %85	HLA DR: %88	CD33: %23.6	CD13: %40.7
CD13+22: %31	CD22: %10	CD15: %25.54		CD34: %78
CD79: %37	CD79+TdT: %52	MPO: %26		
YORUM: Miks lösemi				

SİTOGENETİK ANALİZ 46,XY, Normal karyotip (İncelenen metafaz sayısı: 10)

FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 'LSI TEL/AML1 ES Dual Color Translokasyon' Probu
SONUÇ: TEL/AML1 iki füzyon pozitif.

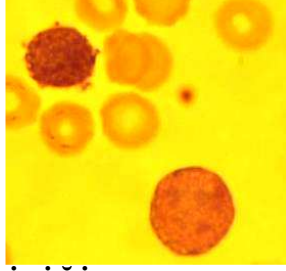
HASTA 025: 6/12, Havza/SAMSUN

KLİNİK: Kasıkta şişlik(lenfadenopati), ateş, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 134.000/mm ³	Erit: 2.190.000/mm ³	Hb: 6.1gr gr/dl	Htc: % 17	MCV: 79fl	PLT: 42.000/ mm ³
--	------------------------------------	-----------------	-----------	-----------	---------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black -



KEMİK İLİĞİ (WRIGHT BOYAMA)

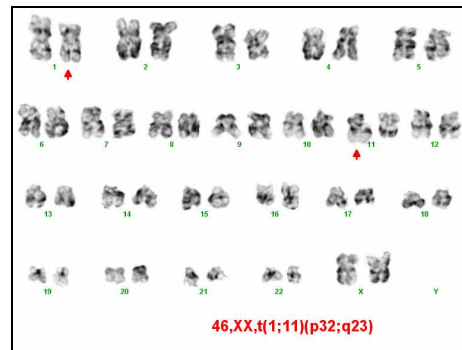
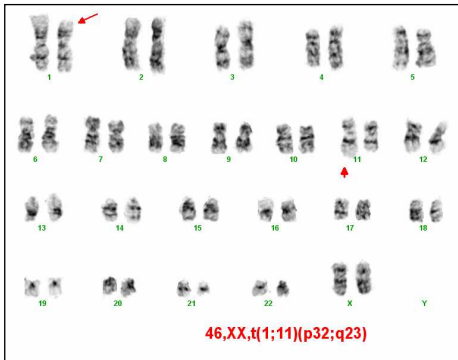
FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %80	CD15: %79	CD14: %19	CD7: %30	CD33: %20
TdT: %16	CD19: %70	HLA DR: %86	CD13: %31	CD16: %17.47
MPO: %16				
YORUM: Miks lösemi				

SİTOGENETİK ANALİZ

- 1) 8 metafaz: 46, XX, t(1;11)(p32;q23)
- 2) 11 metafaz: 46, XX (non-neoplazik hücreler)

YORUM: 8 metafazda 11.kromozom uzun kol MLL gen bölgesini ilgilendiren bir resiprokal translokasyon saptanmıştır. Klinik sitogenetik tanı **Akut İnfantil Lösemi, Akut Monositik Lösemi** lehine ve literatür verileri temelinde **kötü prognoz** olarak yorumlanmıştır.



FISH ANALİZİ

KULLANILAN PROB: 1)'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu
SONUÇ: MLL gen düzenlemesi gözlenmedi (in situ). Kırık noktası MLL proksimalinde?

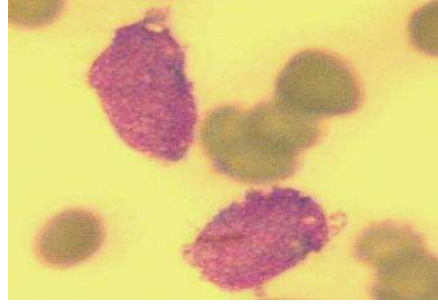
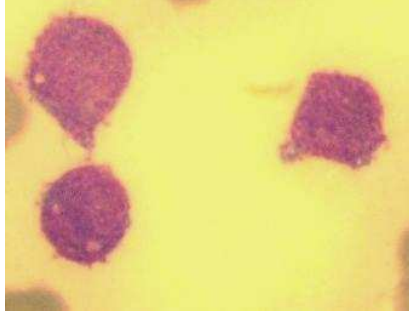
HASTA 026: 3^{11/12}, Zile/TOKAT

KLİNİK: Ateş, bacak ağrısı, solukluk, halsizlik, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre:5.700/ mm ³	Erit: 2.300.000/mm ³	Hb: 6.3gr/dl	Htc:% 13	MCV:76 fl	PLT: 93.000/mm ³
--------------------------------------	------------------------------------	--------------	----------	-----------	--------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS +, Sudan Black -

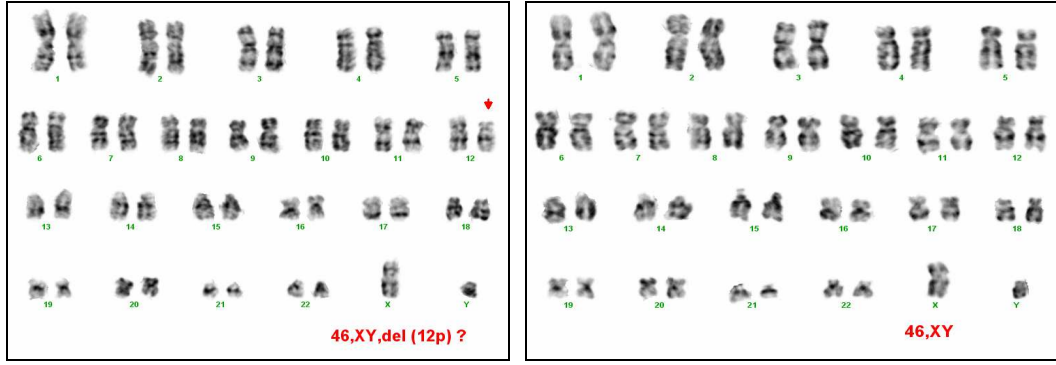
KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)**FLOW SİTOMETRİK ANALİZ**

CD117: %29.85	CD56: %48	HLA DR: %69	CD2: %42	CD10: %44
TdT: %11	CD34: %42	CD22: %11	CD22+13: %23	CD13: %17
CD7: %48				
YORUM: Mıks lösemi				

SİTOGENETİK ANALİZ

1) 7 metafaz: 46, XY, del(12)(p11p13) 2) 3 metafaz: 46, XY, Normal karyotip

YORUM: Klonal olarak saptanan del(12p), klinikte gerek ALL gerekse ANLL ve MDS'de tanımlanmış bir yapısal anomalidir. ANLL'de kötü prognoz ile birlikteliğinden söz edilmektedir.



HASTA 027: 8^{5/12}, SAMSUN

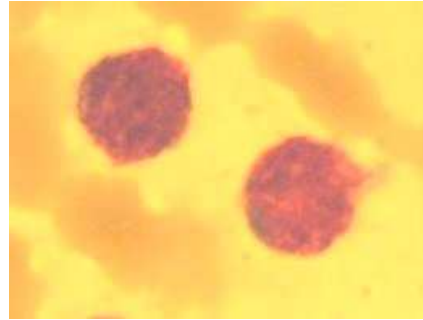
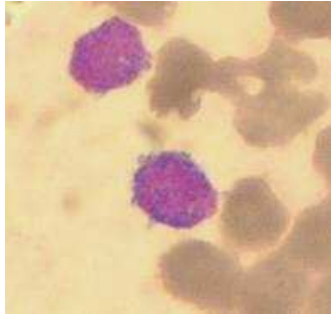
KLİNİK: Ateş, ayak bileklerinde, dizlerinde ve kollarında ağrı, çabuk yorulma, kilo kaybı, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 6.060/ mm ³	Erit:3.290.000/mm ³	Hb: 8.26gr/dl	Htc: %25.30	MCV: 76.89fl	PLT:222.000/mm ³
---------------------------------------	--------------------------------	---------------	-------------	--------------	-----------------------------

-Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS -, Sudan Black -

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %92.2	CD33: %82.2	CD15: %5.1	CD10: %65.3	Sitoplazmik Ig M: %10.6
CD20: %2.6	CD22: %45.3	CD3: %8.3	CD19: %86.8	MPO: %15.9
TdT: %2.1	HLA DR: %88.3	CD4: %6.1	CD8: %5.7	
YORUM: Miks tip lösemi				

SİTOGENETİK ANALİZ

46, XY(diploid) (İncelenen metafaz sayısı: 6)

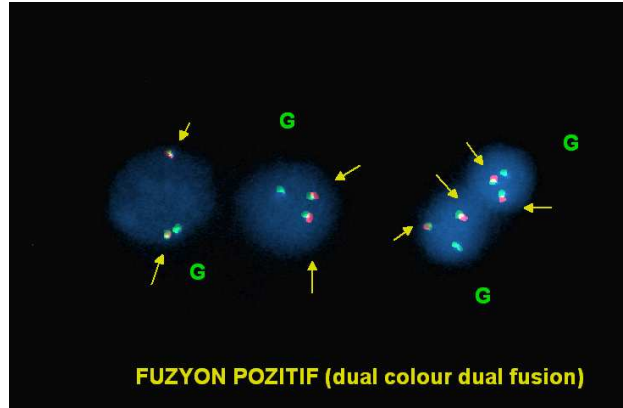
FISH ANALİZİ**KULLANILAN PROB:** "LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe"**SONUÇ:** Füzyon Negatif**HASTA 028:** 3 y, ORDU**KLİNİK:** Ateş, halsizlik, splenomegali**HEMATOLOJİK BULGULAR**

Beyaz küre:161.900/mm ³	Erit: 2.600.000/mm ³	Hb: 6.5/dl	Htc: %21	MCV:101 fl	PLT:133.000/mm ³
------------------------------------	---------------------------------	------------	----------	------------	-----------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS -, Sudan Black +

FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD34: %20	CD33: %46	CD13: %46
HLA DR: %6.7	CD45: %56	CD22: %48
YORUM: Miks lösemi		

SİTOGENETİK ANALİZ46,XY, t(9;22)(q34;q11)(İncelenen metafaz sayısı: 20) **YORUM:** Ph(+)'liği kötü prognoz ile birlikte.**FISH ANALİZİ****KULLANILAN PROB:** 1) 'LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translokasyon' Probu**SONUÇ:** Füzyon Pozitif

HASTA 029:1^{8/12}, Çarşamba/SAMSUN

KLİNİK: Ateş, solukluk ve halsizlik, vücudunda ekimotik alanlar, iki alt ekstremitede belirgin olmak üzere peteşiler, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 11.300/mm ³	Erit:1.700.000/mm ³	Hb: 4.3gr/dl	Htc: %12.4	MCV: 72.6fl	PLT:9.000/mm ³
---------------------------------------	--------------------------------	--------------	------------	-------------	---------------------------

PERİFERİK YAYMA (WRIGHT BOYAMA)

KEMİK İLİĞİ



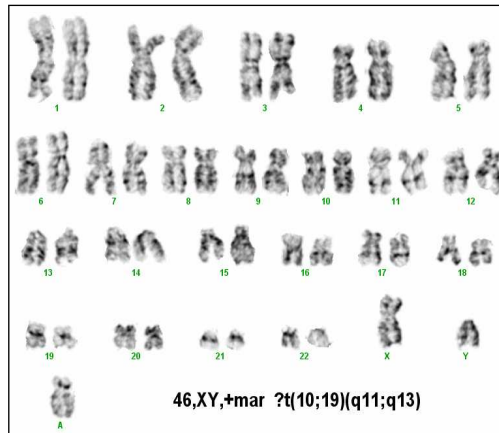
FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %71.8	CD7: %46.65	CD7+33: %30.58	CD117: %38
CD2: %33	CD34: %22.8	CD13: %29.13	MPO: %23
YORUM: AML-M2			

SİTOGENETİK ANALİZ

47, XY,+mar?t(10;19)(q11;13)(İncelenen metafaz sayısı: 20)

YORUM: Tüm metafazlarda tam derive bir fazla kromozom saptandı. t(10;19)?, parsiyel trizomi 10 ve parsiyel trizomi 19? Trizomi 10'un, **pre-B ALL ve AML M0, M1 ve M2** ile, trizomi 19'un ise **AML M7** ile uyumlu olduğunu belirten literatür verileri söz konusudur.



FISH ANALİZİ

KULLANILAN PROB: 1) 'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu
SONUÇ: MLL gen düzenlemesi yok.
2) 'MYH11 (16p13.1) Breakpoint Region' Probu
SONUÇ: İnv(16) Negatif

HASTA 030: 14 y, Bafra/SAMSUN

KLİNİK: Kalça ağrısı, baş dönmesi, hepatosplenomegali (6 yıldır Fankoni Aplastik Anemisi tanısı ile takipte)

HEMATOLOJİK BULGULAR:

Beyaz küre: 3.700/mm ³	Erit:4.150.000/mm ³	Hb:12.5gr/dl	Htc: %35.7	MCV:86 fl	PLT:5.000/mm ³
--------------------------------------	--------------------------------	--------------	------------	-----------	---------------------------

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)

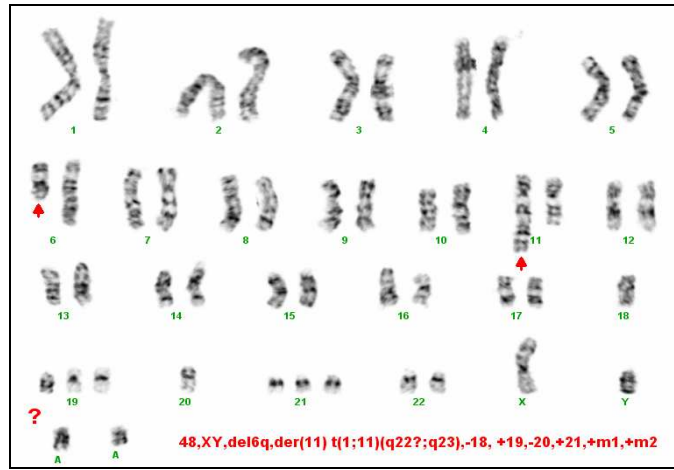
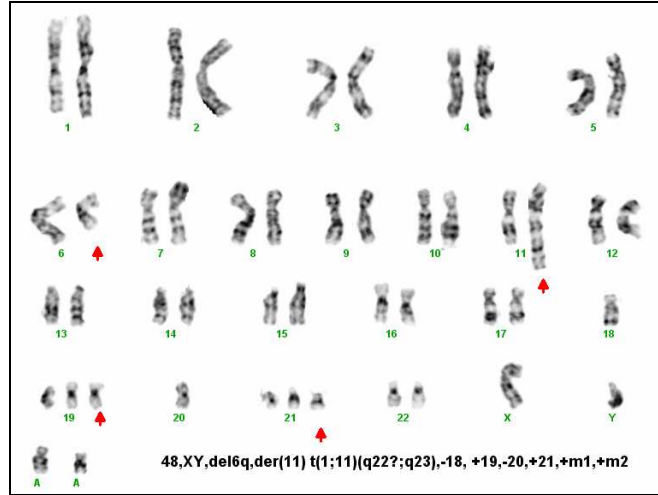


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD14: %94	CD33: %8	CD10: %50	CD15: %83	CD13: %95
CD 11b: %47	CD 11b+33: %50	MPO: %82		
YORUM: AML-M4				

SİTOGENETİK ANALİZ: 48,XY,del(6q),der (11) t(1;11)(q21-22?:q23), -18, +19, -20,+21,+m1,+m2 (İncelenen metafaz sayısı: 20)

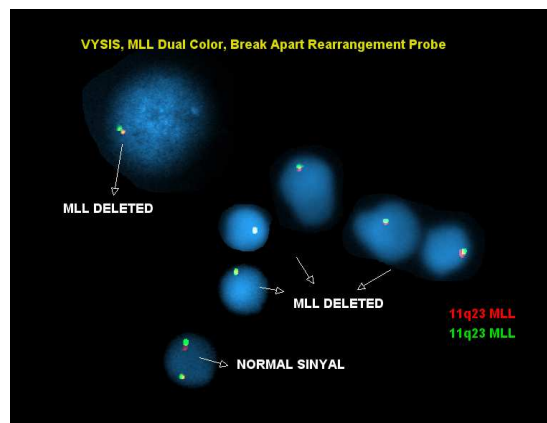
YORUM: Tüm metafazlarda 11 kromozom MLL gen bölgesini ilgilendiren bir yeniyapılanma t(1;11), parsiyel trizomi 1q, delesyon 6q, trizomi 19, trizomi 21, monozomi 18, monozomi 20 ve 2 adet tanımlanamayan "marker" kromozom saptanmıştır.Sitogenetik veriler **AML(AML M4/M5?), kötü prognoz** lehine yorumlanabilir. **+19,+21, MDS'den lösemiye geçişi desteklemektedir.**



FISH ANALİZİ

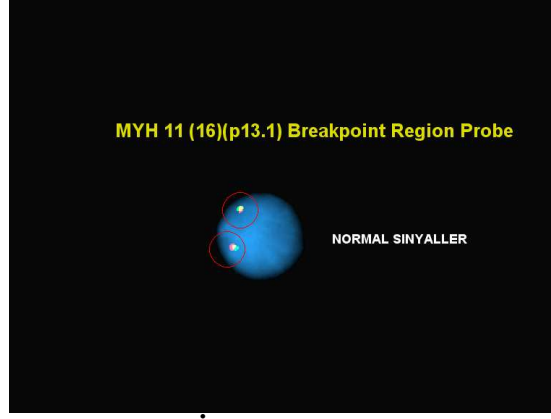
KULLANILAN PROB: 1)'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu

SONUÇ: 11. kromozomlardan birindeki MLL gen bölgesi delesyona uğramış. Bu veri sitogenetik analiz ile değerlendirildiğinde 1 ve 11. kromozomlar arasında translokasyon olduğu ve transloke olan gen bölgesinde ek olarak delesyon olduğunu göstermektedir.



MLL Probu

KULLANILAN PROB: 2) 'MYH11 (16p13.1) Breakpoint Region' Probu
SONUÇ: İnv 16 yok.



İnv 16 Probu

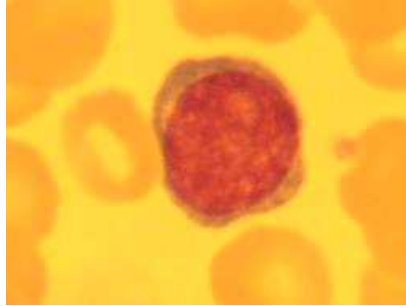
HASTA 031: 10^{3/12}, Fatsa /ORDU

KLİNİK: Ateş, gece terlemesi, halsizlik

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 2.670/ mm ³	Erit: 2.334.000 /mm ³	Hb: 6.77gr/dl	Htc: % 18.86	MCV: 80.80fl	PLT: 85.000/ mm ³
---------------------------------------	-------------------------------------	---------------	--------------	--------------	---------------------------------

PERİFERİK YAYMA (WRIGHT BOYAMA)



-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS -, Sudan Black +

FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

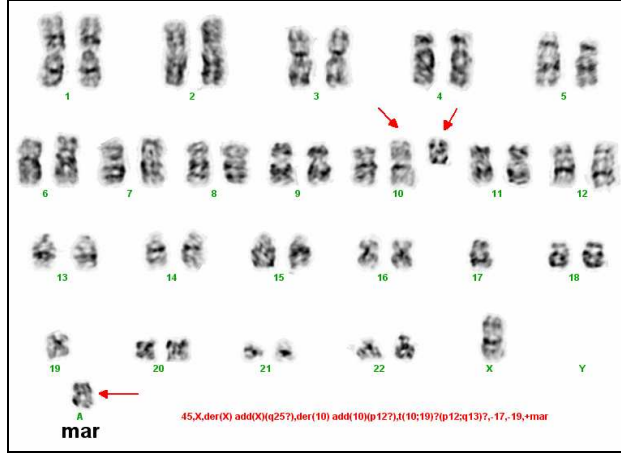
CD45: %82.9	CD33: %60.4	CD15: %25.2	CD19: %1.7	CD10: %3.7
CD20: %5.1	CD22: %1.8	CD3: %26.8	CD13: %25.6	MPO: %24.9
TdT: %1.3	HLA DR: %22.2	CD61: %4,9	CD41: %25,8	CD7:%34
Glikoprotein A:%25,8				
YORUM: AML-M5?, 7?				

SİTOGENETİK ANALİZ

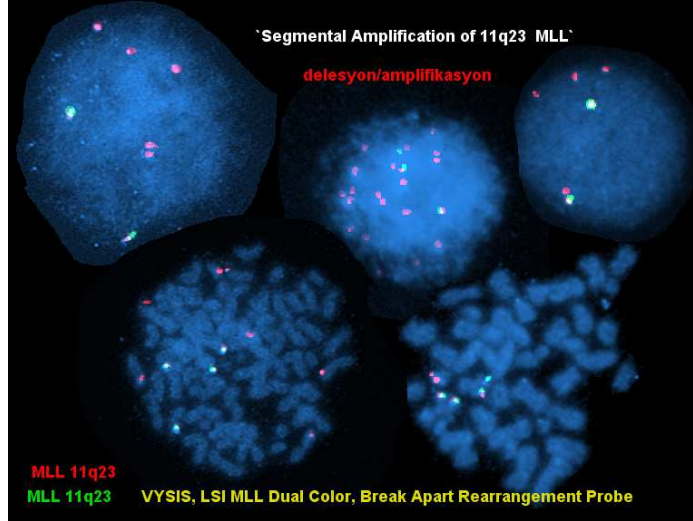
1)15 metafaz: 45, der X add(X)(q25?), der 11, add(10)(p12?)t(10;19)?(p12;q13)?, -17, -19, +mar

2)13 metafaz OV/D: 8 metafaz 46, XX normal, 5 metafaz poliploidi

YORUM: Sonuçlar kromozom kırıkları göz önünde tutulduğunda öncelikle “AML M5?” lehine yorumlanabilir ancak 10p12 lokusu ile ilgili ALL olguları da bildirilmektedir. Klinik takipte, “Pseudohipodiploidi” varlığı ve kompleks anomaliler nedeni ile kötü prognoz göz önünde bulundurulmalıdır.



FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 1)'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu

SONUÇ: İn situ analizde ve metafazda MLL gen bölgesinde amplifikasyon görülüyor.

2) MYH11 (16p13.1) Breakpoint Region' Probu

SONUÇ: İnversiyon 16 yok.

HASTA 032: 15y, V.köprü/SAMSUN

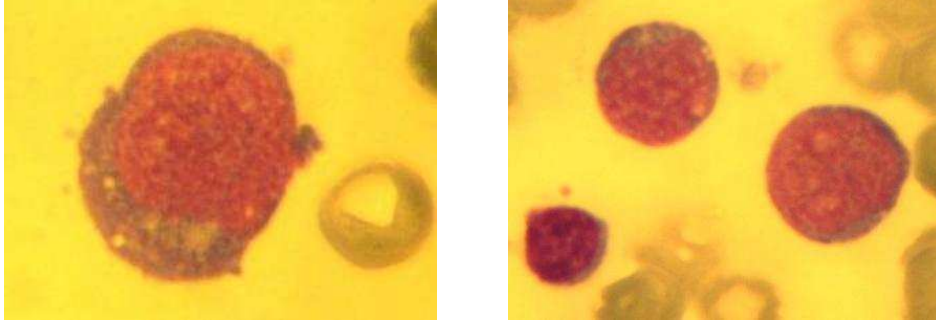
KLİNİK: Halsizlik, ateş, multipl lenfadenopati, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 11.200/ mm ³	Erit:3.190.000/mm ³	Hb: 10/dl	Htc: %29	MCV: 92 fl	PLT:48.000/mm ³
--	--------------------------------	-----------	----------	------------	----------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS zayıf +, Sudan Black -

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD34: %2.7	CD33: %56,8	CD2: %21
MPO: %55,6	CD13: %49.7	TdT: %2,4
YORUM: Lenfoid marker ekspres eden AML		

SİTOGENETİK ANALİZ 46,XY, Normal karyotip (metafaz sayısı: 20)

FISH ANALİZİ

KULLANILAN PROB: 1) 'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu
SONUÇ: MLL gen düzenlemesi yok.
2) 'MYH11 (16p13.1) Breakpoint Region' Probu
SONUÇ: İnversiyon 16 negatif

HASTA 033: 10^{11/12}, Vezirköprü/SAMSUN

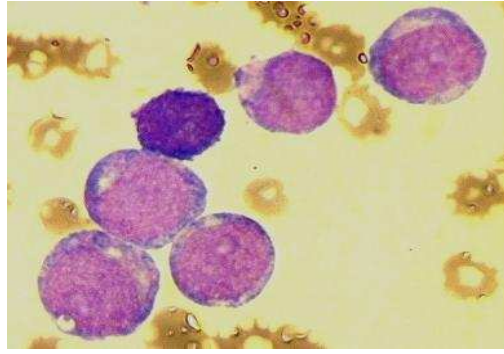
KLİNİK: Dişeti kanaması, burun kanaması, ateş, kilo kaybı, multipl lenfadenopati

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 15.600 / mm ³	Erit: 2.790.000 / mm ³	Hb: 7.9gr/dl	Htc: %24.4	MCV: 87.2fl	PLT: 17.000 / mm ³
---	--------------------------------------	--------------	------------	-------------	----------------------------------

-Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS -

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



SİTOGENETİK ANALİZ

46, XX (diploid) Normal karyotip (İncelenen metafaz sayısı: 20)

FISH ANALİZİ

KULLANILAN PROB: 1)'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu
SONUÇ: MLL gen düzenlemesi yok
2) 'MYH11 (16p13.1) Breakpoint Region' Probu
SONUÇ: İnversiyon 16 Negatif

HASTA 034: 12^{11/12}, Gököy /ORDU

KLİNİK: Yürüyememe, gece terlemesi, multipl lenfadenopati, bilateral skleralarda telenjektazi

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre. 1.100/ mm ³	Erit:2.880.000/mm ³	Hb: 9.5gr/dl	Htc: %22.9	MCV: 79.6fl	PLT:200.000/mm ³
---------------------------------------	--------------------------------	--------------	------------	-------------	-----------------------------

-Kemik iliği preparatları özgül boyamalarında PAS -, Sudan Black -

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



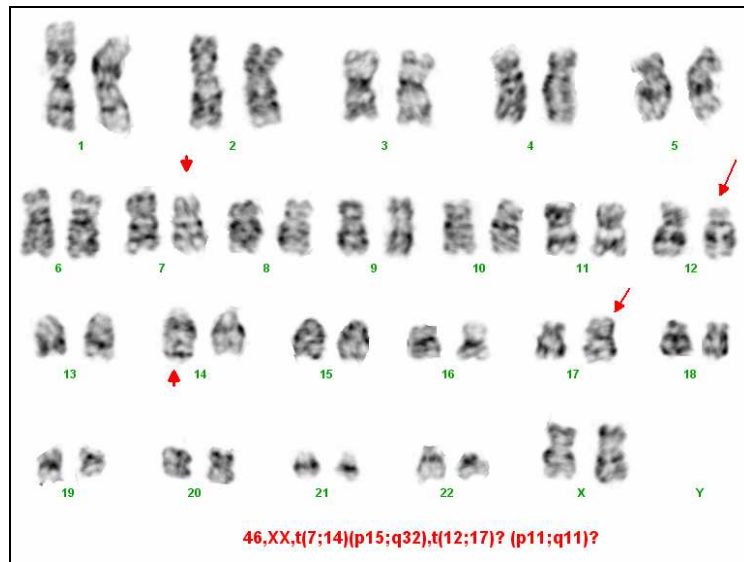
FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

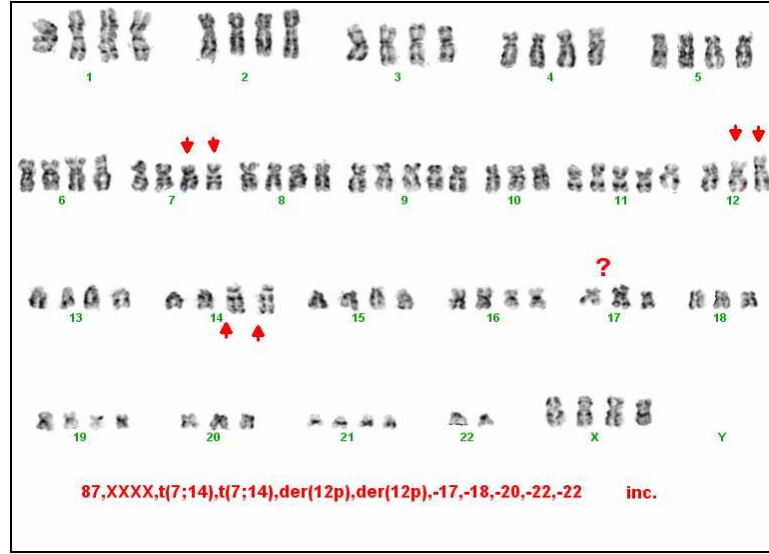
CD7: %31	CD33: %15	CD7+33: %54	CD117: %34	CD34: %70
CD11b+33: %47	CD10: %2.87	MPO: %28		
YORUM: AML				

SİTOGENETİK ANALİZ

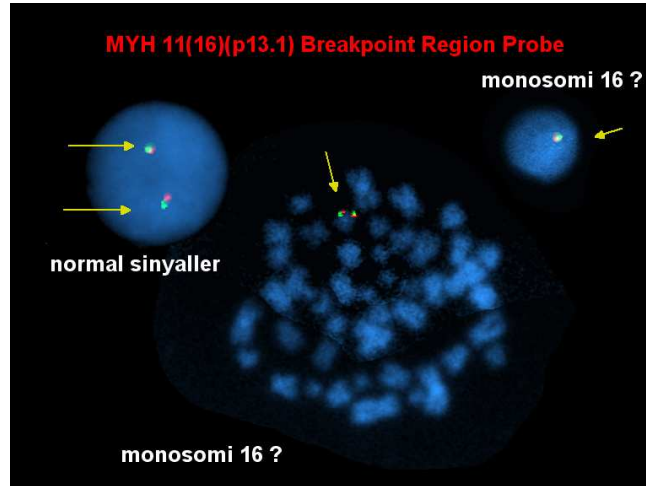
1. 1 metafaz: 46,XX,t(7;14)(p15;q32),t(12;17)(p11;q11)?
2. 3 metafaz: 92,XXXX, t(7;14)(p15;q32), t(7;14)(p15;q32), t(12;17)(p11;q11)?, t(12;17)(p11;q11)?
3. 5 metafaz: 46,XX Normal

YORUM: Klonal olarak saptanan 7. ve 14. kromozom anomalileri klinikte “Ataksi Telenjektazi” tanımları ile uyumlu bulunmuştur. 12. ve 17. kromozom değişiklikleri ile birlikte lösemik transformasyon (ALL, erken pre-B?)u düşündürmektedir.





FISH ANALİZİ



KULLANILAN PROB: 1) 'MYH11 (16p13.1) Breakpoint Region' Probu

SONUÇ: İnversiyon(16) saptanmadı ancak monozomi 16 tesbit edildi.

2) 'LSI MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement' Probu

SONUÇ: MLL gen düzenlemesi yok.

HASTA 035: 11^{3/12}, SAMSUN

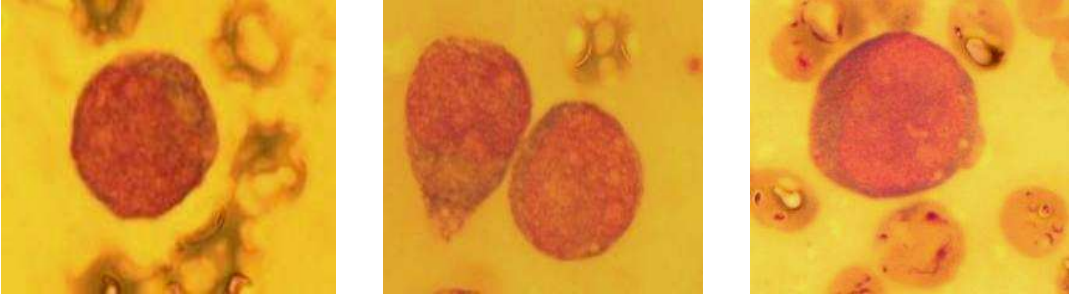
KLİNİK: Ateş, solukluk, halsizlik, iştahsızlık

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 6.100/mm ³	Erit: 2.410.000/mm ³	Hb: 8.1gr/dl	Htc: %23	MCV: 96.7fl	PLT:29.000/mm ³
--------------------------------------	------------------------------------	--------------	----------	-------------	----------------------------

-Kemik iliği preparatları özgün boyamalarında PAS -, Sudan Black +

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)

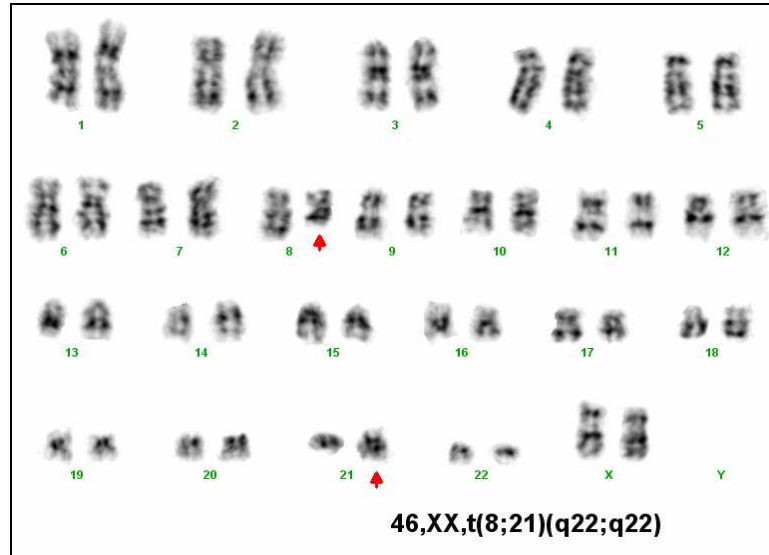


FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD14: %15	CD117: %54.5	CD56+16: %19	HLA DR: %66.9	CD19: %37
CD34: %54	CD13: %81	CD11b: %28	MPO: %80	
YORUM: AML-M2				

SİTOGENETİK ANALİZ 46, XX, t(8;21)(q22;q22) (metafaz sayısı: 2)

YORUM: AML-M2 ile uyumlu.



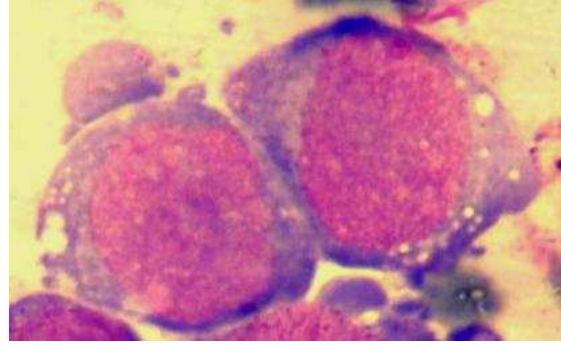
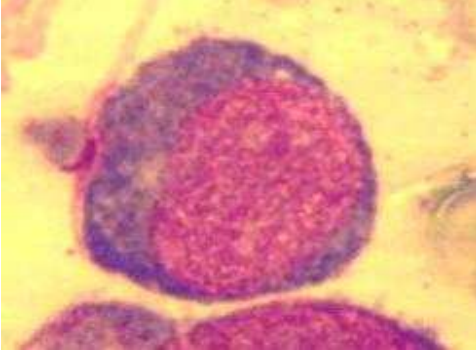
HASTA 036: 13 y/Gerze/SİNOP

KLİNİK: Halsizlik, ateş, multipl lenfadenopati, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 188.000/mm ³	Erit:2.800.000/mm ³	Hb: 8.8gr/dl	Htc: %24	MCV:88 fl	PLT:110.000/mm ³
--	--------------------------------	--------------	----------	-----------	-----------------------------

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %28	CD14+45: %70.9	CD33+7: %26.3	CD33: %61	CD11b+33: %64
CD13: %50	CD13+22: %15	CD56+16: %48	HLA DR+71: %76	MPO: %29
CD4: %63	HLA DR: %83	CD15: %53		
YORUM: AML-M4				

SİTOGENETİK ANALİZ Metafaz görülemedi.

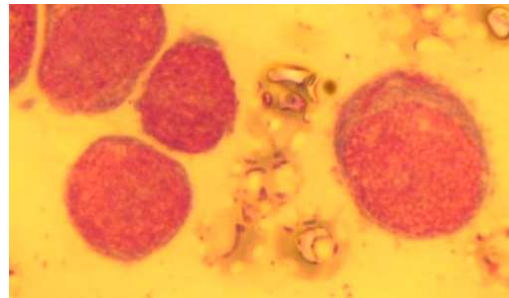
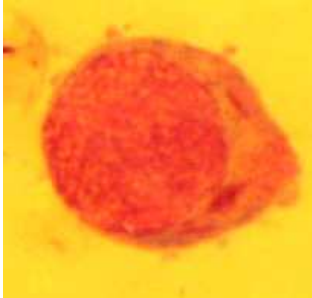
HASTA 037: 9^{1/12} Terme/SAMSUN

KLİNİK: Vücutta yaygın peteşi, purpura ve ekimozu, hepatomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 15.200/mm ³	Erit:3.170.000/mm ³	Hb: 9.7gr/dl	Htc: %26.3	MCV: 86.7fl	PLT:4.000/mm ³
---------------------------------------	--------------------------------	--------------	------------	-------------	---------------------------

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



FLOW SİTOMETRİK ANALİZ

CD45: %64	CD33: %68	CD3+7: %12	CD13: %77	HLA DR+71: %29.4
CD71: %61	CD19: %24	CD2: %39	CD34: %26	MPO: %87
CD117: %30	CD117+15: %55			
YORUM: AML-M2				

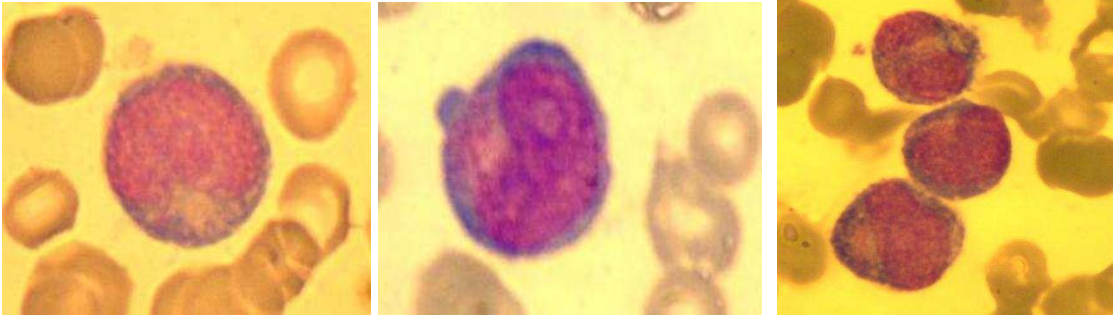
SİTOGENETİK ANALİZ 46,XX, Normal karyotip (metafaz sayısı: 20)

HASTA 038: 14^{9/12}, SAMSUN

KLİNİK: Halsizlik, dizlerde ağrı, ve kilo kaybı, lenfadenopati

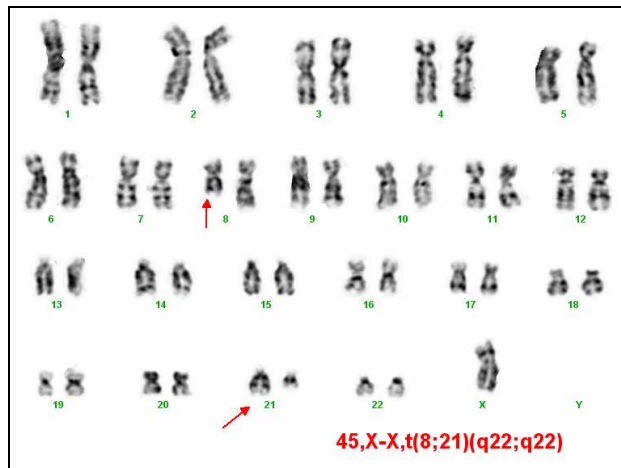
HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 22.800/mm ³	Erit:1.490.000/mm ³	Hb: 5.5gr/dl	Htc: %16.2	MCV: 108fl	PLT:17.000/mm ³
---------------------------------------	--------------------------------	--------------	------------	------------	----------------------------

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)**SİTOGENETİK ANALİZ**

45, X, -X, t(8;21)(q22; q22)

Sitogenetik sonuç klinikte AML-M2 ile uyumlu. Monosomi X nedeni ile "kötü prognoz"?



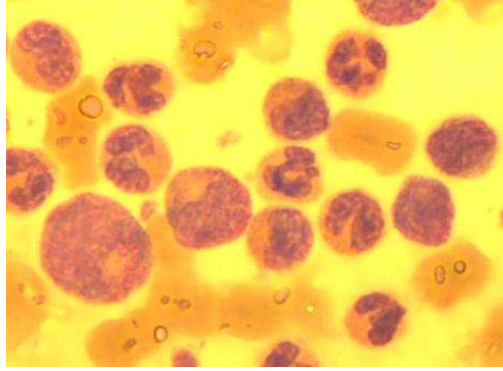
HASTA 039: 12^{11/12}, Bafra/SAMSUN

KLİNİK: Sol bacakta ağrı, hepatosplenomegali

HEMATOLOJİK BULGULAR

Beyaz küre: 171.000/mm ³	Erit: 3.630.000/mm ³	Hb: 10.3gr/dl	Htc: %30.4	MCV: 83.7fl	PLT: 462.000/ mm ³
--	------------------------------------	---------------	------------	-------------	----------------------------------

KEMİK İLİĞİ (WRİGHT BOYAMA)



SİTOGENETİK ANALİZ

46,XX, t(9;22)(q34; q11) Philadelphia pozitif (metafaz sayısı: 20)

YORUM: KML ile uyumlu.

FISH ANALİZİ

KULLANILAN PROB: 'LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translokasyon' Probu

SONUÇ: Füzyon Pozitif.

5. TARTIŞMA

Lösemiler, çocukluk döneminde en sık rastlanılan malignitedir. Ülkemizin verilerinin içinde bulunduğu, 48847 hasta katılımlı bir araştırmada, tüm maligniteler içerisinde %44,8 oran ile en sık rastlanan hasta grubunu, lösemiler oluşturmuştur (155). Van yöresinde 1994-1997 yılları arasında tanı alan çocukluk çağı maligniteleri incelendiğinde, en sık lösemilerin görüldüğü belirlenmiş, Çukurova bölgesini içine alan diğer bir araştırmada, 782 çocukluk dönemi malignitesi arasında ilk sırayı yine %45,3 oranında lösemiler oluşturmuştur (116, 162).

ALL daha çok çocuklarda, AML ise erişkinlerde görülmektedir (68). Çocukluk döneminde görülen lösemilerin %80' ini ALL oluşturur (22, 111). Çalışmamızda da ALL hastalarımız tüm lösemi hasta grubumuzun %51,3' ünü oluşturmuştur.

Lösemilerde tanı ve prognoz kriterleri klinik, hematolojik, morfolojik, immünolojik ve genetik veriler temelinde belirlenmektedir. ALL hastalarında tanı anında hasta yaşının prognostik önemi söz konusudur: 2 yaşından küçük ve 10 yaşından büyük hastaların prognozu kötüdür. 12 aydan 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 (60).

Yüksek lökosit değerlerinin ($>50.000/mm^3$) yine kötü prognoz ile birlikte olduğu belirtilmektedir (70). ALL hastalarımızın %50' sinde lökositoz belirlenmiştir ancak belirgin artmış lökosit sayısı ($>50.000/mm^3$) hastaların %30' unda saptanmıştır. Bu hastaların 2' sinde ölüm görülmüştür. Ölen hastalarda tanı anında yüksek beyaz küreye sahip olmanın dışında 'MLL gen etkilenimi' ve 'infantil dönem' gibi prognostik faktörler de belirlenmiştir (Hasta no: 2 ve 11). AML hastalarında da tanı anında lökosit sayısının $>100.000/mm^3$ olması, kötü prognoz ile birliktedir (182). Hastalarımızın birinde lökosit sayısı $>100.000/mm^3$ saptanmıştır. Bu hasta, başvurudan sonraki ilk 3 günde kaybedilmiştir (Hasta no: 36).

ALL ve AML' nin biyolojik temelini tesbitte genetik belirteçlerin ve sitogenetiğin rolü yaygın olarak kabul görmüş durumdadır (141). Halen ALL ve AML' 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 süreçte yardım etmektedir.

Sitogenetik analiz akut lösemilerin tanı ve prognozunda önemli bir araçtır ve bugünkü klinik uygulamada rutindir. ALL ve AML için tedavi öncesi sitogenetik bulguların en önemli bağımsız faktör olduğu tekrarlayan pek çok çalışma mevcuttur (16, 40).

Literatürde çocukluk dönemi **ALL**' sine hastaların %57-69' unda **kromozomal aberasyon** saptanmıştır (25, 64). Çocukluk ALL' sine sahip 66 hastada yapılan çalışmada G-bantlama ile kromozomal aberasyonlar hastaların %49,2' sine saptanmış iken FISH metodunun kombinasyonu ile bu oran %72.7' ye çıkmaktadır (181). Ülkemizde yapılan 33 kişilik bir hasta grubu araştırmasında, ALL tanılı hastaların %25' inde yapısal kromozomal aberasyon saptandığı bildirilmiştir (152). Çalışmamızda sitogenetik sonuç alınan 19 ALL tanılı hastanın 8' inde (%42) kromozomal aberasyon saptanmıştır. Bulduğumuz oran salt sitogenetik verilerle ülkemizdeki araştırmadan yüksek ancak literatür değerlerinden daha düşüktür. FISH analizi ile elde edilen veriler eklendiğinde ALL de kromozomal aberasyon oranımız %78' e çıkmaktadır. Bu sonuçlar literatürden ve ülkemizde yapılan araştırmada bulunan oranlardan oldukça yüksektir. Tüm bu farkların kullanılan metodolojik yaklaşımlarla ilgili olduğu düşünülmekte, özellikle de FISH yönteminin kriptik değişikliklerin daha yüksek oranda saptanmasına olanak sağladığına inanılmaktadır (88) Farklılıkların, coğrafi dağılım ve ırksal genetik faktörlere bağlı olabileceği de düşünülebilir.

1184 AML hastasının dahil edildiği 4 büyük serilik bir çalışmada, **AML**' de **kromozomal aberasyon** oranı %68-85 olarak tesbit edilmiştir (44, 90, 98, 128). Yaptığımız çalışmada AML tanılı hastalarda kromozomal aberasyon oranı literatürle uyumlu olarak %66,7 saptandı.

Literatürde **hiperdiploidili** ALL sayısı bir seride %42 iken başka bir seride %63 olarak verilmiştir. En fazla kromozom kazancı 21. kromozomda gözlenmiştir (44, 123). Hipodiploidili oranı %2,8 olarak verilmiştir (44). Çalışmamızda ALL tanısı ile izlenen 3 hastada (%15,8) hiperdiploidi saptanmıştır. Hiperdiploidili hastalarımızda en yaygın kromozom kazancı 14, 20 ve 21. kromozomları ilgilendirmiştir. Hipodiploidili hasta bulunmamıştır. Hasta no: 17' de saptanan 4 ve 10. kromozomlara ait trizomi, B-

prekürsör ALL' de iyi prognoz ile birlikte yorumlanmaktadır (63). Bu hastamızın 23 aylık takip süresince remisyonda kaldığı, relaps gelişmediği gözlenmiştir.

Çocukluk çağı ALL' de hipodiploidi ve psödodiploidi kötü prognoz ile birlikte olmasına rağmen en kötü sonuçlar **Philadelphia kromozomu** pozitif ALL' 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 (43). Bu nedenle Ph1 pozitifliğinin bağımsız prognostik faktör olduğu düşünülmektedir. t(9;22)(q34;q11) sıklığı, literatürde %2 ila %5 aralığında bildirilmiştir. ALL tanısı alan hastalarımızın 1' inde (%4) (Hasta no: 3) translokasyon sitogenetik olarak gösterilmiştir (171). Hasta no: 3, tanı aldığı St. Jude Remisyon-İndüksiyon tedavisi başlanmış ardından ALL 2001 Reindüksiyon protokolünü tamamlanmıştır. Tedavi sonrası bakılan kemik iliği sitogenetik incelemede Ph1 kromozomunun negatifleştiği görülmüştür. 16 aylık takip boyunca hastada relaps gelişmemiştir. Ph1 (+)' liği olan lösemi hastalarına ilk remisyonda kemik iliği nakli önerilmektedir; bu nedenle hastaya ilik nakli planlanmıştır. Bcr/abl translokasyon probu ile FISH analizi Ph1 kromozomu varlığını desteklemiştir.

Literatürde t(9;22)' ye sahip olmayan hastalarda 4 yıllık sağkalım %88 olarak verilmekte iken translokasyonu taşıyanlarda %20 olarak verilmektedir (43). Hastamız, henüz 16 aydır takipte olduğundan, takip süresinin uzaması halinde sağkalım oranı hakkında daha net sonuçlar elde edilecektir.

11q23 lokusuna ait yapısal düzensizlikler, çocukluk ve erişkin dönemi ALL ve AML olgularının %5-10' unda gözlenir ve kötü prognoz ile birlikte (67). Sitogenetik analiz ve 2 hastadaki FISH çalışmaları ile ALL tanılı hastalarda tesbit edilen MLL gen düzenlemesi oranı (%10.5) literatürle uyumlu bulunmuştur. Sitogenetik analiz ve 2 hastadaki FISH çalışmaları ile AML tanılı hastalarda tesbit edilen MLL gen düzenlemesinde literatürden daha yüksek değerlerin saptanması (%22,2) bu grupta saptanan kromozomal aberasyon oranının da yüksek olmasına bağlanabilir.

Çocukluk çağı lösemilerinde prognoz infantlarda oldukça kötüdür. **İnfanfil lösemi**, çocukluk dönemi lösemilerinin yaklaşık olarak %5 oranını oluşturur ve başlangıçta yüksek beyaz küre sayısı, ekstramedüller tutulum, immatür immünfenotip, 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 (74). Tedavi sonuçlarının kötü olması ile ilişkili olduğu için 11q23 aberasyonlarının saptanması klinik olarak son derece önemlidir (122).

Literatürde, 77 infant lösemi hastasında 11q23 bölgesini içeren aberasyon, hastaların %66' sında tesbit edilmiştir (17). Diğer çalışmalarda infantil lösemi tanılı hastalarda 11q23 gen düzenlemesi sıklığı sitogenetik veya "Southern blots" tekniği ile %60-%80 oranında tesbit edilmiştir (23, 138). Çalışmamızda infantil lösemi tanılı hastalarda MLL gen düzenlemesi sıklığını literatürden yüksek bulduk (%100). İnfantlarda 11q23 gen bölgesi düzenlemeleri ile ilgili ülkemizde çalışma yapılmadığı için, elde ettiğimiz veri ülkemizdeki infantil lösemi tanılı hastalardaki MLL gen düzenlemesi sıklığını yansıtıyor olabilir ancak hasta sayısının azlığı bu yorumun değerini sınırlı kılmaktadır.

Çalışmamızda üç infantil lösemi tanılı hastamızın (Hasta no: 2, 11 ve 25) ikisinde MLL gen bölgesini içeren translokasyon sitogenetik olarak tesbit edilmiş (2 ve 25 numaralı hastalar), 3. hastada ise (11 numaralı hasta) FISH analizi ile gösterilmiştir.

İnfanfil lösemi tanılı hastaların 4 yıllık olaysız sağkalımları incelendiğinde MLL gen bölgesi aberasyonunu taşıyanlarda oran %20 iken bu aberasyonu taşımayanlarda oran %64 olarak tesbit edilmiştir (17). Çalışmamızdaki iki hasta tedavinin 2. (Hasta no: 2) ve 3. ayında (Hasta no: 11) kaybedilmiştir. 3. hastada ise tanıdan sonraki 8. ayda relaps gelişmiştir. Takip süremizin azlığı nedeni ile hastaların sağkalım oranları hakkında yorum yapmak güçtür.

2 numaralı hasta, 3,5 aylık, infantil lösemi, B-prekürsör ALL tanısı ile izlenen, yüksek beyaz küre sayısı (199.000/ mm³) ile başvuran periferik kan sitogenetik incelemesinde **t(4;11)(q21;q23)** saptanan bir hasta idi. Hastaya infantil ALL indüksiyon tedavisi başlandı. Tedavinin seyri sırasında sepsis gelişmesi nedeni ile kemoterapisi tamamlanamadı ve tanıdan 2 ay sonra hasta kaybedildi. Hastada MLL 'dual color break

apart' FISH probu ile 4. ve 11. kromozomlarda MLL genine ait 'break apart' sinyaller belirlendi.

11 numaralı hasta, 2 aylık, infantil lösemi, B-prekürsör ALL tanısı ile izlenen yüksek beyaz küre ($202.000/mm^3$) ile başvuran bir diğer hasta idi. Hastaya infantil ALL indüksiyon tedavisi başlandı; ancak hastanın remisyona girmediği görüldü. Ardından intensifikasyon tedavisi ve BFM-AML 93-98 İndüksiyon protokolü uygulandı. Sitogenetik incelemede karyotip normal olarak saptandı ancak MLL 'dual color break apart' FISH probu ile MLL bölgesinde 'break apart'' sinyaller saptandı. MLL gen etkilenimi mevcuttu. Tanıdan 3 ay sonra hasta kaybedildi.

25 numaralı hasta, 6 aylık, infantil lösemi, miks lösemi tanısı ile izlenmekte idi; hastanın kemik iliği sitogenetik analizinde **t(1;11)(p32;q23)** saptandı. Bu hastada yoğun tedaviye karşın lösemi tanısı aldıktan 8 ay sonra relaps gelişti. MLL 'dual color break apart' FISH probu ile MLL lokusunda aberasyon saptanmadı; MLL değişimi saptanmaması kırık noktasının farklılığı ya da analizde neoplazik olmayan normal hücre popülasyon varlığı ile ilişkilendirildi.

MLL "dual color break apart" FISH probu ile **6 AML** hastasının 1' inde MLL delesyonu (Hasta no: 30), 1' inde MLL amplifikasyonu (Hasta no: 31), 4' ünde ise normal sinyal (Hasta no: 29, 32, 33, 34) görüldü.

MLL genomik amplifikasyonuna literatürde hematolojik malignitelerde nadir rastlanmaktadır. Amplifikasyonlar "double minutes" veya "homojen boyanma bölgeleri" olarak ortaya çıkarlar. 11q23 amplifikasyonu, MLL ve/veya bu bölgede haritalanan diğer genlerin aşırı ekspresyonuna sebep olur.

AML tanılı hastalarda sitogenetik inceleme ile tesbit edilebilen gen amplifikasyonları sıklığı %1' dir. **11q23 bölgesinin amplifikasyonu**, tanı anında kompleks karyotip veya tedaviye sekonder olarak gelişen lösemiler ile ilişkilendirilmiştir ve bu hastaların tedaviye rezistan olduğundan bahsedilmektedir (160). Kompleks karyotipe sahip de novo AML hastalarında da tanımlanmıştır (130).

AML tanısı ile izlenen hastada (Hasta no: 31) sitogenetik incelemede kompleks karyotip saptanmıştır. Tedavisine 22 aydır devam edilmektedir. Literatürde çocukluk dönemi de novo AML hastalarında MLL amplifikasyonunun prognozu hakkında bilgiye rastlanamamıştır.

Otozomal resesif geçişli **kromozomal instabilite sendromları** olan Ataksi Telenjipektazi, Fankoni Anemisi, Bloom Sendromu ve Kseroderma Pigmentosum'da lösemi riski artmaktadır. Bu sendromlarda DNA hasarına yatkınlık söz konusudur. Bu nedenle malignensiler göreceli olarak daha kolay ortaya çıkmaktadır. İlgili birçok gen izole edilmiş, bu genlerin normal hücrelerde DNA tamirinde, kromozom ile genetik materyalin bütünlüğünün korunmasında görevli oldukları gösterilmiştir.

30 numaralı hasta **Fankoni aplastik anemisi** tanısı ile izlenirken Myelodisplastik Sendrom zemininde **AML** gelişen bir hasta idi. Sitogenetik incelemede tüm metafazlarda 11. kromozom MLL gen bölgesini ilgilendiren bir yeni yapılanma (t(1;11)), parsiyel trizomi 1q, delesyon 6q, trizomi 19, trizomi 21, monozomi 18, monozomi 20 ve 2 adet tanımlanmayan belirteç kromozom saptandı. 11q23 aberasyonları, konvensiyonel sitogenetik inceleme ile tanınmasına rağmen kimi zaman bu yöntemle tesbit edilemeyeceği için, tamamlayıcı FISH çalışmaları yapılmalıdır. Çalışmamızda MLL FISH probu ile sitogenetik inceleme ile tanınması mümkün olmayan, 11. kromozomdan birinde 11q23 bölgesinin delesyona uğradığı gösterildi.

MDS ile birlikte olan MLL gen düzenlemeleri ve 11q23 delesyonları da kötü prognoz ile birlikte; bu hastalarda 4 yıllık olaysız sağkalım oranı %23,8±4,8 olarak verilmektedir (129). Fankoni Aplastik Anemisi tanısı alan ve MDS zemininde AML gelişmiş olan hastamız da kötü prognozlu bir hasta idi. Hasta kemoterapi ile remisyona girmedi ve tanıdan 4 ay sonra kaybedildi.

Periferik kan sitogenetik incelemesinde klonal olarak 7. ve 14. kromozomlar arasında translokasyon [t(7;14)(p11;q11)] saptanan 20 numaralı hastamız T hücre ALL tanısı almış olan bir hasta idi. Hasta bir ataksi telenjipektazi ailesi üyesi idi. Hastanın anne ve babası arasında 3°den akrabalık mevcuttu. Hastanın 4 yaşında iken T hücreli lenfomadan kaybedilen bir erkek kardeşi, 3 yaşında ataksisi olan bir diğer kardeşi ve lenfoma tanısı ile takip edilen dayısı mevcuttu. Hastamız da yürümeye başladıktan sonra dengesizlik farkedilmiş ve sık sık düştüğü ifade edilmişti ancak muayenesinde telenjipektazi saptanmamıştı.

14q11 lokusu, T-hücre antijen reseptörün α subunitini kodlamaktadır. Literatürde hastamızda (Hasta no: 20) saptanan 7. kromozomun p11 lokusu ile 14. kromozom arasında translokasyon belirlenen bir AT hastasına rastlanmamıştır. AT' nin tanısı, erken çocukluk döneminde konulabildiğinden hücreler lökomogenezin erken

fazında tesbit edilebilir. Hastamızda halen 75. hafta idame tedavisine devam edilmektedir.

34 numaralı hastada **t(7;14)(p15,q32)** saptanmıştı. Klonal olarak saptanan 7. ve 14. kromozom anomalilerine kromozom instabilitesi hastalıklarında özellikle Ataksi Telenjiektazi' de rastlanmaktadır. Bu hastamızın anne ve babası arasında da 3°den akrabalık mevcuttu. Ailede malignite öykülü birey yoktu. Hastada ataksi ve bulbar konjonktivada telenjiektazi mevcuttu.

AT sorumlu geni olan ATM (11q22-23) geninde mutasyonlar sonucunda DNA'nın X ışını ve radyasyona duyarlılığı artar ve özellikle 7. ve 14. kromozomlarda kırıklar oluşur. Hastamızda da saptanan kırık noktası olan 7p14-p15 lokusu, T hücre antijen reseptör γ subunitini kodlamaktadır. 14q32 lokusu ise Ig ağır zinciri (IgH) ile ilgilidir. B hücre malignitelerinde ve erişkin T-hücre lenfoma/lösemisinde, T-hücre lenfomasında, T-hücre kronik lenfositik lösemisinde, mikozis fungoides ve nadiren akut myeloid lösemide 14q32 ilgili değişikliklere rastlanır (101, 159). Hastamıza AML BFM 93-98 indüksiyon tedavisi ve ardından AML BFM konsolidasyon tedavisi verildi ancak tanıdan 6 ay sonra nötropenik sepsis nedeni ile kaybedildi. MLL FISH probu ile translokasyon saptanmamıştı. Inv(16) FISH probu ile hastada sitogenetik incelemede saptanmamış olan monozomi 16 tesbit edildi.

12 numaralı hastada saptanan del 6q aberasyonu, pediatrik lösemide gerek B-hücreli gerek, 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 tesbit edilmiştir (del (6q) için %77 iken diğer grupta %74) (65). BFM İndüksiyon protokolü başlanan hasta, halen remisyondadır ve kemoterapi protokolüne devam edilmektedir.

Pek çok genetik sendromda örneğin Down sendromu, Nörofibromatosis, Schwachman Sendromu ve Klinefelter Sendromu'nda artmış ALL ve AML sıklığı bildirilmektedir. Down sendromlu çocuklarda lösemi sıklığı normal popülasyona göre 10-30 kat artmış olarak bildirilmektedir. Pediatrik lösemi vakalarının yaklaşık %2' sini Down sendromlu çocuklar oluşturmaktadır. Bu hasta grubunda 5 yaşından küçüklerde AML gelişme sıklığı, genel popülasyona göre daha fazladır. 21 numaralı hastada,

incelenen tüm metafazlarda 47 kromozom saptanmış, ve yapısal olarak 9.. kromozomun uzun kolunda fazla bir kromozomal segment gözlenmiştir. GTG bantlama özellikleri bu fazla segmentin 11. kromozomun uzun kolundan geldiğini göstermekte idi. Sitogenetik olarak parsiyel trizomi 11 ve serbest trizomi 21 mevcuttu. Trizomi 21 klinik temelde lösemik hücre karyotipi ile ilişkilendirilmedi. Hasta hematolojik veriler paralelinde MDS zemininden akut lösemiye transforme olmuştu. Sitogenetik sonuç da MDS veya AML lehine yorumlandı. Hastaya ALL remisyon indüksiyon tedavisi başlandı, ancak tedavisi tamamlanamadan araya giren enfeksiyonlar nedeni ile tanıdan 3 ay sonra kaybedildi.

Miks lösemi tanılı hastalarda göreceli olarak sık görülen kromozom aberasyonu t(9;22) ve 11q23 translokasyonlarıdır. Çalışmamızdaki 8 miks lösemili hastadan 1'inde 11q23 translokasyonu, 3'ünde normal karyotip, 1'inde t(9;11)(q34;q13), 1'inde 12p delesyonu ve 1'inde Ph1 pozitifliği saptanmıştı, 1'inde metafaz elde edilememiştir. 12p aberasyonları AML ve MDS hastalarının yaklaşık %5'inde saptanır ve kötü prognoz ile birlikte olup ALL'lerde de sık görülür (157). del(12p)(p11p13) saptanan 26 numaralı hastamız miks lösemi tanısı ile izlenmekte olan bir hasta idi. BFM indüksiyon tedavisi alan (yüksek risk protokolü) hastanın kemoterapi protokolüne 8 aydır devam edilmektedir.

Ph translokasyonu AML tanılı hastaların %2' sinde, çocukluk çağı ALL tanılı hastaların %5' inde gözlenir ve varlığı kötü prognoz ile birlikte dir. Miks lösemi tanısı ile takip edilen 28 no.lu hastamızda t(9;22)(q34;q11) tesbit edilmişti. Hastaya tanı konulduktan sonra tedavi başlandı, ancak 2. kür sırasında relaps oldu.

Ph1 kromozomu pozitif lösemi hastalarına ilk remisyonda kemik iliği nakli önerilmektedir. Hastamıza da kemik iliği nakli planlanmış ancak tedaviye karşın hiç remisyon sağlanamamıştır. Tanıdan sonraki 4. ayda relaps olan hasta 13. ayda kaybedilmiştir.

t(8;21), AML' nin M2 alt tipinin yaklaşık %30' unda gözlenir ve %18 sıklıkta görülmesi ile AML'de en yaygın translokasyonlardan biridir (85). Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak AML tanılı hastalarda t(8;21) sıklığını %22 olarak tesbit ettik. t(8;21)' li AML M2 alt tipinin iyi prognozla ilişkili olduğu iddia edilmektedir. İyi prognoz yüksek komplet remisyon oranı ve uzun sağkalım ilişkisine bağlı görünmektedir (12). Tedavi ile ilişkili olarak t(8;21) taşıyan hastalarda ise kötü

prognozun varlığına değinilmektedir (27). Son çalışmalarda t(8;21)' i taşıyanlarda "KIT gen mutasyonları" varlığının kötü prognozun nedeni olduğu ve 4 yıllık sağkalım oranının "KIT mutasyonu" taşımayanlarda %97,4 iken mutasyonu taşıyanlarda %50 olduğu gösterilmiştir. 35 numaralı hastamızda sitogenetik incelemede t(8;21)(q22;q22) saptandı. AML M2 tanısı alan hastaya kemoterapi (BFM AML 93-98) başlandı. Ardından AML BFM 93 konsolidasyon tedavisi verildi. 9 aydır takibine devam edilen hastada idame tedavisine devam ediliyor. Diğer AML M2 tanısı alan bir hastada (Hasta no: 38) sitogenetik incelemede t(8;21)(q22;q22) ve monozomi X tesbit edildi. 3 kür tedavi verildi. Tanı aldıktan 17 ay sonra relaps gelişti. Relapstan 3 ay sonra hasta kaybedildi.

KML, çocukluk lösemilerinin sadece %3-5' ini oluşturur. Sitogenetik analiz ile Ph1 kromozomu tanı anında KML hastalarının ortalama %90'ında tesbit edilir. Kalan %10 KML hastasında ise moleküler teknikler ile Ph1 tesbit edilebilir (27). 39 numaralı hastamız KML tanısı alan bir hastamız idi, sitogenetik analizde Ph1 kromozomu tesbit edildi. FISH analizinde LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe kullanılarak füzyon gösterildi. Hastaya Glivec (İmatinib mestinat) temin edene kadar hidroksiüre başlandı. 1 aylık tedavi sonrası Glivec (İmatinib) başlandı. Tedavinin 6. ayında kemik iliğine FISH analizi uygulandığında Ph kromozomunun tümü ile negatifleştiği gözlemlendi.

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 araştırmacıların yeni teknikler geliştirmeye itmiştir. 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 alternatif bir yöntem olarak bile gösterilmeye başlanmıştır (103). G-bantlama tekniği ile kromozomal aberasyonların %49,2'si tanınabilirken, FISH analizinin de kullanılması ile gen düzenlemelerinin %73,8 tanımlanmıştır (181). Tanaka ve ark. 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 bulurken, t(15;17)'nin pozitiflik oranını G bantlama ile beklenenin altında gözlemlemişlerdir. Tanaka ve ark. bu sonucu, t(15;17)'ye sahip hücrelerin kültür ortamında daha yavaş çoğaldığı veya çoğalmadığı, dolayısıyla da analiz için metafaz hücrelerini kullanan G bantlama yönteminin bu translokasyon için uygun olmadığı şeklinde açıklamışlardır. Yine aynı çalışmada monozomi 7, trizomi 12 ve del 13q14'ün pozitiflik oranı GTG bantlamayla %10-20 oranında düşük gözlemlenmiştir (161). Lee ve ark. 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 analizlerdeki 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 (88).

t(12;21)' nin G-bantlama ile tesbiti güçtür. Tanıda daha çok RT-PCR ("revers transkriptaz" polimeraz zincir reaksiyonu) veya FISH gibi metodlardan yararlanılır. Çalışmalarda t(12;21) sıklığının çocukluk çağı B-prekürsör ALL içinde %20-30 arasında olduğu ve çocukluk ALL grubu içinde en yaygın kromozomal değişiklik olduğu belirtilmektedir (48, 133, 149).

Literatürde en düşük t(12;21) oranına Japonya'da yapılan çalışmalarda rastlanılmıştır. 74 ALL tanılı çocuk hastanın 7'sinde (%9.5) TEL/AML1 füzyonu saptandığı tesbit edildiği bildirilmiştir (38). Füzyon saptanan hastaların hepsinde, B hücre fenotipi, tanı anında nisbeten düşük beyaz küre sayısı, organomegali ve LAP gibi invazyon gösteren bulgular görülmüştür. İyi prognozu gösteren t(12;21) pozitif hastaların 7'sinden 6'sının 1. remisyonda olduğu (hastaliksız sağkalım >5yıl), diğer hastada ise tanıdan 2 sene sonra relaps gözlemlendiği belirtilmektedir.

Çocukluk dönemi ALL tanılı hastalara, t(12;21)(p13;q22) tesbit etmek için uyguladığımız FISH analizi sonucunda t(12;21)' nin dünya çapında görülme sıklığına benzer oranda, hastaların 5' inde (%27,8) TEL/AML1 füzyonu tesbit edildi. Hastaların tümü B-prekürsör ALL immünofenotipine sahipti.

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 (102, 133, 149). 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 (102), BFM (Berlin-Frankfurt-Münster) klinik çalışmasında füzyonun görülme sıklığına benzer oranda % 20-24 hastada relaps gözlendiği belirtilmektedir (61, 145).

75 Çinli 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 remisyonda kalma süresinin (ortalama 48,6 ay) TEL/AML1 negatif ALL hastalarından (ortalama 14,6 ay) önemli ölçüde uzun olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar TEL/AML1 pozitif ALL hastalarında daha az agresif tedavilerin uygulanmaması gerektiğini düşündürmektedir (168).

t(12;21) füzyonuna sahip hastalarımızdan en uzun süre takibi olan hasta halen remisyondadır ve tedavisine devam edilmektedir (takip süresi 21 ay). Hastaların sağkalımları hakkında bilgiler takip sürelerinin uzaması ile daha da net olarak ortaya konacaktır.

Literatürde **AML1 geninde amplifikasyon**, ilk olarak Niini ve ark. tarafından tanımlanmıştır. 112 ALL hastasında FISH analizi ile AML1 geninde en az bir ekstra kopya görülme oranı %33 olarak verilmektedir (110). AML1 genindeki ekstra kopyalar, normal gen ürününde düzensizliğe yol açar ve sonuçta ALL patogenezine katkıda bulunur (45). Çalışmamızda, literatürle uyumlu olarak TEL/AML1 probu ile FISH analizi yapılan 18 ALL hastasının 7' sinde (%38,9) AML1 geninde amplifikasyon saptandı. Literatürde TEL/AML1 füzyonu, AML1 amplifikasyonu olanlarda daha az oranda tanımlanmıştır: AML1 amplifikasyonu olanlarda füzyon sıklığı %18 iken, ekstra kopya taşımayanlarda %33 oranında tesbit edilmiştir. Çalışmamızda TEL/AML1 füzyonu olanlarda amplifikasyon gözlenmedi. Bu sonuç hasta sayımızın azlığına bağlı olabilir ancak bağımsız bir önemi olabileceği de düşünülmüştür.

Literatürde füzyon pozitif olanlarda duplike kromozom 21'e bağlı gelişen AML1 genindeki ekstra kopyaların kötü prognoz ile ilişkili olduğuna değinilmektedir. Füzyonu olmayanlarda AML1 genindeki ekstra kopyaların prognoza etkisi hakkında literatürde bilgiye rastlanmamıştır. Bu nedenle literatür ile karşılaştırma yapılamamıştır.

Alvarez ve ark. 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 füzyon tesbit 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. Füzyon gende duplikasyon hastaların %19.6' sında gözlenmiştir; bunların da 5' inde normal ETV6 allelinde de kayıp bildirilmiştir. 4 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 (3).

Attarbashi ve ark. 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 (5). Füzyona sahip hastalarda normal TEL allelindelesyonu sıklığı %8,6-87,5 aralığında verilmektedir (80, 99). Çalışmamızda hastalardan 1' inde (%18) transloke olmayan TEL allelinde kayıp saptandı. TEL allel delesyonu olan hastanın 16 aylık takipte halen remisyonda olduğu görüldü. TEL/AML1 füzyonuna eşlik eden sekonder değişikliklerin prognoza etkisinde farklı sonuçlar olması nedeni ile bu konuda daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Hastamızın klinik takip süresinin uzaması ile TEL delesyonu hakkında literatüre katkı yapılabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda TEL/AML1 füzyonu saptadığımız hastalardan birinde (Hasta no: 9) üç füzyon tesbit edilmiş olup, bu veriye literatürde sadece bir vakada rastlanılmıştır, bu vakanın 81 aydır remisyonda olduğundan bahsedilmektedir (149). Bu nedenle de üç füzyonun klinik önemi hakkında yeterli bilgi yoktur.

Çocukluk çağı ALL' de %5 sıklıkta görülen t(1;19)(q23;p13)'e bizim çalışmamızda rastlanmamıştır. Bunun nedeni vaka sayımızın azlığı ile ilişkili olabilir.

Ülkemizde ALL tanılı hastalarda (44 yeni tanı, 12 relaps ALL) yapılan bir araştırmada da t(1;19)' a rastlanmamıştır (139). Çalışmamızdaki t(1;19)' nun hastalarımızda rastlanamama nedeni olarak hasta sayımızın azlığı yanısıra, ırksal farklılıkların etkisi de düşünülebilir. t(1;19) daha çok Japonya'dan bildirilmekte ve daha çok beyaz ırk dışında tanımlanmaktadır

İnv(16), AML tanılı hastaların %10'unda görülür ve iyi prognoz ile birlikte dir. Çalışmamızda, FISH analizi yaptığımız AML tanılı hastalarda inv(16)' ya rastlayamadık. Ülkemizde AML tanılı hastalarda (18 hasta) yapılan bir çalışmada da inv(16)' ya rastlanmamıştır (139). Çalışmamızda inv(16) saptayamadığımızın nedeni, FISH uyguladığımız hasta sayısının azlığı olabilir (AML tanılı hastalardan 6'sına FISH analizi uygulandı).

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 artırdığını belirgin olarak göstermiştir. Çalışmada literatürde tanımlanmış olan kromozomal değişiklerin yanı sıra farklı ve hatta kendi popülasyonumuza özgün olabileceğini düşündüren veriler de elde edilmiştir. ALL tanılı hastalarda t(1;19) gözlenmemesi ve AML de inversiyon 16 saptanmaması, TEL/AML1 probu uygulanan hastalarda AML1 amplifikasyonu gözlenmesi ve bu hastalarda füzyon saptanmamış olması, infantil lösemide %100 MLL aberasyonu saptanması bu veriler için birer örnek olarak kabul edilebilir. Hasta sayısı kısıtlılığı bu değerlendirmeleri sınırlı kılmaktadır.

Bu çalışmayı takiben, lösemide sitogenetik ve FISH analizleri, fakültemizde rutin olarak uygulamaya konulmuş ve benzer birçok hasta grubuna hizmet vermeye başlanmıştır.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamız Ocak 2005 ve Ocak 2007 tarihleri arasındaki 24 aylık sürede, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji Bilim Dalında izlenen, ve genetik analiz için Pediatrik Genetik Tanı Laboratuvarlarına yönlendirilen 39 hastada prospektif olarak gerçekleştirildi. Hastaların takipleri Haziran 2007 tarihine kadar sürdürüldü.

2. ALL tüm lösemi hasta grubumuzun %51,3' ünü oluşturdu.

3. ALL hastalarının %50' sinde lökositöz belirlendi; belirgin artmış lökosit sayısı ($>50.000/ \text{mm}^3$) ise hastaların %30' unda saptandı. Bu hastaların 2' si kaybedildi.

4. AML hastalarının birinde lökosit sayısı $>100.000/ \text{mm}^3$ saptandı. Bu hasta, başvurudan sonraki ilk 3 günde kaybedildi (Hasta no: 36).

5. Hasta materyallerinden metafaz elde etme oranımız %92,31 idi.

6. 19 ALL hastasının 8' inde (%42) kromozomal aberasyon saptandı. FISH analiz sonuçları eklendiğinde kromozomal aberasyon oranı % 78 olarak belirlendi.

7. AML hastalarında kromozomal aberasyon oranı %66,7 olarak saptandı.

8. ALL tanılı 3 hastada (%15,8) hiperdiploidi saptandı. En yaygın kromozom kazancı 14, 20 ve 21. kromozomlar idi.

9. ALL hastalarında hipodiploidi saptanmadı.

10. ALL hastalarında sitogenetik analiz ve 2 hastadaki FISH çalışmaları ile MLL gen düzenlemesi oranı %10,5; AML hastalarında sitogenetik analiz ve 2 hastadaki FISH çalışmaları ile MLL gen düzenlemesi oranı %22,2 olarak saptandı.

11. Infantil lösemili hastalarda MLL gen düzenlemesi sıklığı %100 idi. Üç infantil lösemili hastanın (Hasta no: 2, 11 ve 25) ikisinde MLL etkilenimi sitogenetik olarak, 3. hastada (11 numaralı hasta) ise FISH analizi ile gösterildi.

12. MLL FISH probu ile 6 AML hastasının 1' inde MLL delesyonu (Hasta no: 30), 1' inde MLL amplifikasyonu (Hasta no: 31), 4' ünde ise normal sinyal (Hasta no: 29, 32, 33, 34) görüldü.

13. AML hastalarında t(8;21) sıklığını %22 olarak tesbit edildi.

14. FISH analizi yaptığımız AML hastalarında inv(16)' ya rastlayamadık

15. Miks lösemili hastaların 1' inde 11q23 translokasyonu, 3' ünde normal karyotip, 1' inde t(9;11)(q34;q13), 1' inde 12p delesyonu ve 1' inde Ph1 pozitifliği saptanırken 1 tanesinde metafaz saptanamadı.

16. ALL hastalarında %27,8 oranında TEL/AML1 füzyonu tesbit edildi. Hastaların tümü B-prekürsör ALL immünotipine sahipti.

17. TEL/AML1 probu ile FISH analizi yapılan 18 ALL hastasının 7' sinde (%38,9) AML1 geninde amplifikasyon saptandı. TEL/AML1 füzyonu olanlarda amplifikasyon gözlenmedi.

18. TEL/AML1 probu ile FISH analizi yapılan 18 ALL hastasının 1' inde (%18) transloke olmayan TEL allelinde kayıp saptandı.

19. TEL/AML1 füzyonu saptadığımız hastalardan birinde (Hasta no: 9) üç füzyon tesbit edildi.

7. KAYNAKLAR

1. Adriaansen, H. J., Boekhorst, A. W., Hagemeyer, A. M., Schoot, E., Denwel, H. R., Dongen, J. M. (1993). Acute myeloid leukemia M4 with bone marrow eosinophilia (M4E0) and inv(16)(p13q22) exhibits a specific immunophenotype with CD2 expression. *Blood*, **81**, 3043.
2. Ahuja, H., Bar-Eli, M., Arlin, Z., et al. (1991). The spectrum of molecular alterations in the evolution of chronic myelogenous leukemia. *J. Clin. Invest.*, **87**, 2042-7.
3. Alvarez, Y., Coll, M. D., Ortega, J. J., Bastida, P., Dastugue, N., Robert, A., Cervera, J., Verdeguer, A., Tasso, M., Avent'in, A., Guitart, M., Caball'in, M.R. (2005). 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*, **162**, 21-29
4. Amare, P.S., Baisane, C., Saikia, T., Nair, R., Gawade, H., Advani, S. (2001). fluorescence in situ hybridization: a highly efficient technique of molecular diagnosis and predication for disease course in patients with myeloid leukemias. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **131**, 125-134.
5. Attarbashi, A., Mann, G., Konig, M., Dworzak, MN, Trebo, MM., Mühlegger, N., Gadner, H., and Hass, OA., on behalf of the Austrian Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) Cooperative Study Group (2004). Incidence and relevance of secondary chromosome abnormalities in childhood TEL/AML1 + acute lymphoblastic leukemia: an interphase FISH analysis. *Leukemia*, **18**, 1611-6.
6. Bain, B.J., Barnett, B., Linch, D., Matutes, E., Reilly, J.T. (2002). Revised guideline on immunophenotyping in acute leukaemias and chronic lymphoproliferative disorders. *Clinical & Laboratory Haematology*, **24** (1), 1-13.
7. Behm, F.G., Raimondi, S. C., Schell, M. J. (1992). Lack of CD45 antigen on the blast cells in childhood acute lymphoblastic leukemia is associated with chromosome hyperdiploidy and other favorable prognostic features. *Blood*, **79**, 1011-1016.
8. Bene, M.C., Castoldi, G., Knapp, W. (1995). Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia*, **9**, 1783-1786.

9. Bennett, J.M., Catovsky, D., Daniel, M.T., Flandrin, G., Galton, D. A., Gralnick, H. R., Sultan, C. (1985). Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French- American- British Cooperative Group. *Ann. Intern. Med.* **103**, 620-625.
10. Berg, L, S., Steuber, C, P., Poplack, D. G (2005). Clinical manifestations of acute lymphoblastic leukemia. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*, Fourth edition, Ed(s), Hofmann, R., Benz, E, Jr., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H.J., Silberstein, L, E., McGlave, Philip. Elsevier pres, Philadelphia, 1155-1162.
11. Berg, L, S., Steuber, C, P., Poplack, D. G. (2005). Stem cell model of hematopoiesis. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*, Fourth edition, Ed(s), Hofmann, R., Benz, E, Jr., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H.J., Silberstein, L, E., McGlave, Philip. Elsevier pres, Philadelphia, 200-211.
12. Berger, R., Bernheim, A., Ochoa-Noguera, M., Daniel, M. T., Valensi, F., Sigaux, F., Flandrin, G., Boiron, M. (1987). Prognostic significance of chromosomal abnormalities in acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **28**, 283-299.
13. Bernstein, R. Cytogenetics of chronic myelogenous leukemia. *Semin. Haematol.*, **25**, 20-34.
14. Biondi, A., Cimino, G., Pieters, R., Pui, C. H. (2000). Biological and therapeutic aspects of infant leukemia. *Blood*, **96**, 24-33.
15. Bloomfield, C. D., Peterson, L. C., Yunis, J. J., Brunning, A. D. (1977). The Philadelphia chromosome (Ph¹) in adults presenting with acute leukemia, a comparison of Ph¹ + and Ph¹ - patients. *Br. J. Haematol*, **36**, 347-358.
16. Bloomfield, C. D., Secker-Walker, L. M., Goldman, A., Ruutu, T., Alimena, G., Garson, O. M., Golomb, H. M., Rowley, J. D. (1989). Six-year follow-up of the clinical significance of karyotype in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **40**, 171-185.
17. Borkhardt, A., Wuchter, C., Viehmann, S., Pils, S., Teigler-Sclegel, A., Stanulla, M., Zimmermann, M., Ludwing, W-D, Janka-Schaub, G., Schrappe, M., Harbott, J. (2002). Infant acute lymphoblastic leukemia-combined cytogenetic, immunophenotypical and molecular analysis of 77 cases. *Leukemia*, **16**, 1685-1690.

18. Borowitz, M. J., Hunger, S. P., Carroll, A. J. (1993). 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*, **82**, 1086-1091.
19. Borowitz, M., Shuster, J., Land, V., et al. (1991). Myeloid-antigen expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, **325**, 1378-1383.
20. Borrow, J., Goddard, A.D., Sheer, D., et al. (1990). Molecular analysis of acute promyelocytic leukemia breakpoint cluster region on chromosome 17. *Science*, **249**, 1577-1580.
21. Castilla, L. H., Garrett, L., Adya, N., Orlic, D., Dutra, A., Anderson, S., Owens, J., Eckhaus, M., Boodine, D., Liu, P. (1999). The fusion gene CBF β blocks myeloid differentiation and predisposes mice to acute myelomonocytic leukemia. *Nat. Genet.*, **23**, 144.
22. Champlin, R., Golde, D. W. (1991). The leukemias. In: *Harrison's Principles of internal medicine II Philadelphia*: Saunders, 1552-1561.
23. Chen, C. S., Sorensen, P. H. B., Domer, P. H., Reaman, G. H., Korsmeyer, S.J., Heerema, N., Hammond, G. D., Kersey, J. H. (1993). Molecular rearrangements on chromosome 11q23 predominate in infant acute lymphoblastic leukemia and are associated with specific biologic variables and poor outcome. *Blood*, **81**, 2386-2393.
24. Cheson, B. D., Cassileth, P. A., Head, D.R., Schiffer, C.A., Bennett, J.M., Bloomfield, C.D., Brunning, R., Gale, R.P., Grever, M. R., Keating, M. J. (1990). Report of the National Cancer Institute-sponsored workshop on definitions of diagnosis and response in acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.*, **8**, 813-819.
25. Chessells, J. M., Swansbury, G. J., Reeves, B., Bailey, C. C., Richards, S. M. (1997). Cytogenetics and prognosis in childhood lymphoblastic leukemia: results of MRC UKALL X. *Br. J. Haematol.*, **99**, 93-100.
26. Coffmann, J. (2003). Runx transcription factors and the developmental balance between cell proliferation and differentiation. *Cell Biol. Int.* **27**, 315-324.
27. Cortes, J.E., Talpaz, M., Beran, M., O'Brien, S. M., Rios, M. B., Stass, S., Kantarjian, H. M. (1995) Philadelphia chromosome-negative chronic myelogenous leukemia with rearrangement of the breakpoint cluster region. Long-term follow-up results. *Cancer*, **75**, 464-470.

28. Costello, R., Sainy, D., Lecine, R., Cusenieri A., Mozziconacci, M-J., Arnoulet, C., Maraninchi, D., Gastaut, J-A., Imbert, J., Lafage-Pochitaloff, M., Gabert, J. (1997). Detection of CBF β /MYH11 fusion transcripts in acute myeloid leukemia: Heterogenicity of cytological and molecular characteristics. *Leukemia*, **11**, 644.
29. Cox, C., Pannetta, P., Lo-Coco, F., Del Poeta, G., Venditti, A., Maurillo, L., Del Principe, M. I., Mauriello, A., Anemona, L., Bruno, A., Mazzone, C., Palombo, P., Amadori, S. (2004). Chromosomal aberration of the 11q23 locus in acute leukemia and frequency of MLL gene translocation. *Am. J. Clin. Pathol.*, **122(2)**, 298-306.
30. Creutzig, U., Harbott, J., Sperling, C., Ritter, J., Zimmermann, M., Loffler, H., Riehm, H., Schellong, G., Ludwig, W.D. (1995). Clinical significance of surface antigen expression in children with acute myeloid leukemia: results of study AML-BFM-87. *Blood*, **86**, 3097-3108
31. Crist, M. W., Smithson, W. A. (2000). The leukemias. In: *Nelson Textbook of Pediatrics*, **16th edition**, Ed(s), Behrman, R. E., Kliegman, R. M., Jenson, H.B. W. B. Saunders Company, USA, 1543-1548.
32. Crist, W., Grosse, C., Pullen, J. et al. (1985). Immunologic markers in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Sem. Oncol.* **12**, 105-121.
33. Dahl, G. V., Weinstein, H. J. (2005). Acute myeloid leukemia in children. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*, **Fourth edition**, Ed(s), Hofmann, R., Benz, E. Jr., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H. J., Silberstein, L. E., McGlave, P., Elsevier Press, Philadelphia, 1121-1133.
34. Daley, G. Q., Van, Etten, R. A., Baltimore, D. (1990). Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the p210^{bcr/abl} gene of the Philadelphia chromosome. *Science*, **247**, 824-830.
35. Dazzi, F., Capelli, D., Hasserjian, R., et al. (1998). The kinetics and extent of engraftment of chronic myelogenous leukemia cells in non-obese diabetic/severe combined immunodeficiency mice reflect the phase of the donor's disease: an in vivo model of chronic myelogenous leukemia biology. *Blood*, **92**, 1390-1396.
36. De Guzman, C. G., Warren, A. J., Zhang, Z., et al. (2002). Hematopoietic stem cell expansion and distinct myeloid developmental abnormalities in a murine model of the aml1-eto translocation. *Mol. Cell Biol.*, **22**, 5506-5517.

37. Druker, B. J. (2002). STI571 (Gleevec) as a paradigm for cancer therapy. *Trends Mol. Med.* **8**, S14-S18.
38. Eguchi-Ishimae, M., Eguchi, M., Tanaka, K., Hamamoto, K., Ohki, M., Ueda, K., Kamada, N. (1998). Fluorescence in situ Hybridization Analysis of 12;21 Translocation in Japanese Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Jpn. J. Cancer Res.*, **89**, 783-788.
39. Elefantyi, A., G., Cory, S. (1992). Haematologic disease induced in BALB/c mice by a bcr/abl retrovirus is influenced by the infection conditions. *Mol. Cell Biol.*, **12**, 1755-1763.
40. Fenaux, P., Preudhomme, C., Lai, J. L., Morel, P., Beuscart, R., Bauters, F. (1989). Cytogenetics and their prognostic value in de novo acute myeloid leukemia: a report on 283 cases. *Br. J. Haematol.*, **73**, 61-67.
41. Feychting, M., Ahlbom, A. (1993). Magnetic fields and cancer in children residing near Swedish high-voltage powers lines. *Am. J. Epidemiol.*, **138**, 467-481.
42. Finch, S.C. (1997). Lessons from the Japanese experience. *Stem Cells. Leukemia*, **15**, 135.
43. Fletcher, J. A., Lynch, E. A., Kimball, V. M., et al. (1991). Translocation (9;22) is associated with extremely poor prognosis in intensively treated children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, **77**, 435-439.
44. Forestier, E., Johansson, B., Borgström, G., Kerndrup, G., Johannsson, J. (2000). Cytogenetic findings in a population-based series of 787 childhood acute lymphoblastic leukemias from the Nordic countries. *Eur. J. Haematol.*, **64**, 194-200
45. Garcia-Casado, Z., Cervera, J., Verdeguer, A., Tasso, M., Valencia, A., Pajuelo, J. C., Mena-Duran, A. V., Barragan, E., Blanes, M., Bolufer, P., Sanz, M. A. (2006). High-level amplification of the RUNX1 gene in two cases of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, **170**, 171-174
46. Gaynon, P., Bleyer, W., Steinherz, P., et al. (1990). Day 7 marrow response and outcome for children with acute lymphoblastic leukemia and unfavorable presenting features. *Med. Pediatr. Oncol.* **18**, 273-279.
47. Geng, J. P., Tong, J. H., Dong, S., Wang, Z. Y., Chen, s. J., Chen, Z., Zelent, A., Berger, R., Larsen, C. J. (1993). Localization of the chromosome 15 breakpoints and

- expression of multiple PML-RAR alpha transcripts in acute promyelocytic leukemia: A study of 28 Chinese patients. *Leukemia*, **7**, 20-26.
48. Golub, T. R., Barker, G. F., Bohlander, S. K., Hiebert, S. W., Ward, D. C., Bray-Ward, P., Morgan, E., Raimondi, S. C., Rowley, J. D and Gilliland, D. G. (1995). Fusion of the TEL gene on 12p13 to the AML1 gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 4917-4921.
49. Gordon, W., Dewald, K., Rhett, P., K. (2005). Conventional cytogenetics and molecular cytogenetics in hematologic malignancies. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*, Fourth edition, Ed(s), Hofmann, R., Benz, E, Jr., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H.J., Silberstein, L, E., McGlave, Philip. Elsevier press, Philadelphia, 928-939.
50. Greaves, M. (1993). A natural history for pediatric acute leukemia. *Blood*, **82**, 1043-1051.
51. Greaves, M. F., Maia, A. T., Wiemels, J.L., Ford, A. M. (2003). Leukemia in twins: Lessons in natural history. *Blood*, **102**, 2321-2333.
52. Grier, H.E., Gelber, R. D., Camitta, B. M., Delorey, M. J., Link, M. P., Price, K.N., Leavitt, p.r., Weinstein, H. J. (1987). Prognostic factors in childhood acute myelogenous leukemia. *J. Clin. Oncol.*, **5**, 1026-1032.
53. Grignani, F., De Metteis, S., Nevri, C., et al. (1998). Fusion proteins of the retinoic acid receptor-a-recruit histone deacetylase in promyelocytic leukemia. *Nature*, **391**, 815-818.
54. Grimwade, D., Walker, H., Oliver, F., Wheatley, K., Harrison, C., Harrison, G., Rees, J., Hann, I., Stevens, R., Burnett, A., Goldstone, A. (1998). The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: Analysis of 1612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukemia Working Parties. *Blood*, **92**, 2322-33.
55. Gu, Y., Nakamura, T., Alder, H., Prasad, R., Canaani, O., Climino, G., Croce, C. M., Canaani, E. (1992). The t(4;11) chromosome translocation of human acute leukemias fuses the ALL-1 gene , related to *Drosophila trithorax*, to the AF4 gene. *Cell*, **71**, 701-708.
56. Guidez, F., Ivins, S., Zhu, J., Söderström, M., Waxman, S., Zelent, A. (1998). Reduced retinoic acid-sensitivities of nuclear receptor co-repressor binding to PML

- and PLZF-RAR α underlie molecular pathogenesis and treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood*, **91**, 2634-2642.
57. Gurney, J. G., Severson, R. K., Davis, S. (1995). Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age specific rates by histologic type. *Cancer*, 2186-2195.
58. Haferlach, T., Schoch, C., Schnittger, S., Kern, W., Löffler, H., Hiddemann, W. (2002). Distinct genetic patterns can be identified in acute monoblastic and monocytic leukemia (FAB AML M5a and M5b): A study of 124 patients. *Br. J. Haematol.*, **118**, 426-431.
59. Haferlack, T., Winkemann, M., Löffler, H. et al. (1996). The abnormal eosinophils are part of the leukemic cell population in acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils (AML M4E0) and carry the pericentric inversion 16: A combination of May-Grünwald-Giemsa staining and fluorescence in situ hybridization. *Blood*, **87**, 2459.
60. Hammond, D., Sather, H., Nesbit, M. (1986). Analysis of prognostic factors in acute lymphoblastic leukemia. *Med. Pediatr. Oncol.*, **14**, 124-134.
61. Harbott, J., Viehmann, S., Borkhardt, A., Henze, G., Lampert, F. (1997). Incidence of TEL/AML1 fusion gene analyzed consecutively in children with acute lymphoblastic leukemia in relapse, *Blood*, **90**, 4933-7.
62. Harousseau, J., Tobelem, G., Schaison, G., Chastang, Cl., Auclerc, M. F., Weil, M., Jacquillat, Cl., Bernardi J. (1980). High risk lymphocytic leukemia: A study of 141 cases with initial white blood counts over 100.000/cu/mm. *Cancer*, **46**, 1996-2003.
63. Harris, M., Shuster, J. J., Carroll, A. A., Look, T., Borowitz, M. J., Crist, W. M., Nitschke, R., Pullen, J., Steuber, C. P., Land, V. J. (1992). 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*, **79**, 3316-3324.
64. Heerema, N. A., Nachman, J. B., Sather, H. N., Sensel, M. G., Lee, M.K., Hutchinson, R., Lange, B. J., Steinherz, P. G., Bostrom, B., Gaynon, P. S., Uckun, F. (1999). Hypodiploidy with less than 45 chromosomes confers adverse risk in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *Blood*, **94**, 4036-4045.

65. Heerema, N. A., Sather, H. N., Sensel, M. G., Lee, M.K., Hutchinson, R., B. J. Lange, Bostrom, B. C., Nachman, J. B., Steinherz, P. G., Gaynon, P. S., Uckun, F. M. (2000). Clinical significance of deletions of chromosome arm 6q in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group, *Leuk. Lymphoma*, **36(5-6)**, 467-478.
66. Heerema, N.A., Sather, H. N., Sensel, M. G., Zhang, T., Raymond, J., Hutchinson, R. J., Nachman, J. B., Lange, B. J., Steinherz, P. G., Bostrom, B. C., Reaman, G. H., Gaynon, P.S., Uckun, F. M. (2000). Prognostic impact of trisomies of chromosomes 10, 17 and 5 among children with acute lymphoblastic leukemia and high hyperdiploidy(>50 chromosomes). *J. Clin.Oncol.*, **18**, 1876-1887.
67. Heim, S., Mitelman, E. (1995) Chromosomal and molecular aberrations of tumor cells. In: *Cancer cytogenetics*, **Second edition**, John Wiley and Sons, New York.
68. Henderson, E.S. (1991). Acute leukemia: General considerations, in Williams W.J., Beutler, E., Erslev, A. J., Hichtman M.A editors. Hematology 4th ed. McGraw Hill Publishing Company, 236-251.
69. Hilden, J.M., Smith, F. O., Frestedt, J. L., McGlennen, R., Howells, W.B., Sorensen, P, H, B., Arthur, D. C., Woods, W. G., Buckley, J., Bernstein, I. D., Kersey, J. H. (1997). MLL gene rearrangement, cytogenetic 11q23 abnormalities, and expression of the NG2 molecule in infant acute myeloid leukemia. *Blood*, **89**, 3801-3805.
70. Hofmann, R., Benz, E, Jr., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H.J., Silberstein, L, E., McGlave, Philip. (2005). 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, 1155-1160.
71. Hofmann, R., Benz, E, Jr., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H.J., Silberstein, L, E., McGlave, Philip. (2005). Pathobiology of acute myeloid leukemia. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*, Fourth edition, Ed(s), Berg, L, S., Steuber, C, P., Poplack, D. G. Elsevier press, Philadelphia, 1057-1069.
72. Hofmann, R., Benz, E, Jr., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H.J., Silberstein, L, E., McGlave, Philip. (2005). Conventional cytogenetics and molecular cytogenetics in hematologic malignancies. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*, Fourth edition, Ed(s), Berg, L, S., Steuber, C, P., Poplack, D. G. Elsevier press, Philadelphia, 928-939.

73. Honda, H., Oda, H., Suzuki, T., et al. (1998). Development of acute lymphoblastic leukemia and myeloproliferative disorder in transgenic mice expressing p210 bcr/abl: A novel transgenic model for human Ph1 positive leukemias. *Blood*, **91**, 2067-2075.
74. Huret, J.L., Dessen, P., Bernheim, A. (2001). An atlas of chromosomes in hematological malignancies. Example: 11q23 and MLL partners. *Leukemia*, **15**, 987-989.
75. Ichimaru, M., Tomognaga, M., Amenomori, T., Matsuo, T. (1991). Atomic bomb and leukemia. *J.Radiat. Res.*, **32**, 162.
76. Kalwinsky, D., Rivera, G., Dahl, G., et al. (1985). Variation by race in presenting clinical and biologic features of childhood acute lymphoblastic leukemia: Implications for treatment outcome. *Leu. Res.*, **9**, 817-823.
77. Kalwinsky, D., Roberson, P., Dahl, G. (1985). Clinical relevance of lymphoblast biological features in children with acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* **3**, 477-484.
78. Kantarjian, H.M., Talpaz, M., Dhingra, K., et al. (1991). Significance of the p210 versus p190 molecular abnormalities in adults with Philadelphia chromosome-positive acute leukemia. *Blood*, **78**, 2411-2418.
79. Kelliher, M. A., McLaghlin, J., Witte, O., et al.(1990). Induction of a chronic myelogenous leukemia-like syndrome in mice with v-abl and BCR/ABL. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 6649-6653.
80. Kempfski, H. M., Sturt, N. T. (2000). The TEL/AML1 fusion accompanied by loss of the untranslocated TEL allele in B-precursor acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Leuk. Lymphoma*, **40**, 39-47.
81. Kempfski, H., Chalker, J., Chessells, J., Sturt, N., Brickell, P., Webb, J., MacDonald Clink, J., Reeves, B. (1999). An investigation of the t(12;21) rearrangement in children with B-precursor acute lymphoblastic leukemia using cytogenetic and molecular methods. *Br. J. Haematol.*, **105**, 684-689.
82. Koehler, M., Behm, F. G., Shuster, J. (1993). 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*, **7**, 2064-2068.

83. Kuerbitz, S.J., Civin, C. I., Krischer, J. P., Ravindranath, Y., Steuber, C. P., Weinstein, H. J., Winick, N., Ragab, A.H., Gresik, M. V., Crist, W. M. (1992). Expression of myeloid-associated and lymphoid-associated cell-surface antigens in acute myeloid leukemia of childhood: a Pediatric Oncology Group study. *J. Clin. Oncol.*, **10**(9), 1419-29.
84. Kunkel, A. T., Erie, D. A. (2005). Dna mismatch repair. *Annual Review of Biochemistry*, **74**, 681-710
85. Kurokawa, M., Hirai, Hisamaru. (2003). Role of AML1/RUNX1 in the patogenesis of hematological malignancies. *Cancer Sci.*, **94**(10), 841-846.
86. Kwong, Y. L. (1997). Low frequency of TEL/AML1 in adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **98**, 137-8.
87. Lanskowsky, P. (2005). *Manual of pediatric hematology and oncology*, **Fourth edition**, 415-452.
88. Lee, D. Y., Cho, H. I., Kang, Y. H., Yun, S. S., Park, S. Y., Lee, Y.S., Kim, Y., Lee, D. S. (2004). 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.*, **152**, 1-7
89. Leiken, S., Miller, D., Sather, H., Albo, V., Esber, E., Johnson, A., Rogentine, N., Hammond, D. (1981). Immunologic evaluation in the prognosis of acute lymphoblastic leukemia. A report from Children's Cancer Study Group. *Blood*, **58**, 5601.
90. Leverger, G., Bernheim, A., Daniel, M-T, Flandrin, G., Schaison, G., Berger, R. (1988). Cytogenetic study of 130 childhood acute nonlymphocytic leukemias. *Med. Pediatr. Oncol.*, **16**, 227-232.
91. Licht, J., Chomienne, C., Goy, A., Chen, A., Scott, A. A., Head, D.R., Michaux, J. L., Wu, Y., DeBlasio, A., Miller, W. H. (1995). Clinical and molecular characterization of a rare syndrome of acute promyelocytic leukemia associated with translocation (11;17). *Blood*, **85**, 1083.
92. Lin, R. J., Nagy, L., Inoue, S, et al. (1998). Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukemia. *Nature*, **391**, 811-814.

93. Linet, M. S., Hatch, E.E., Kleinerman, R. A., Leslie, Robison, L. L. (1997). Residential exposure to magnetic fields and acute lymphoblastic leukemia in children. *N. Engl. J. Med.*, **337**, 1-7
94. Liu, P., et al. (1993). Fusion between transcription factor CBF β /PEP2B and a myosin heavy chain in acute myeloid leukemia. *Science*, **261**, 1041.
95. Loh, M.L., Rubnitz, J. E. (2002). TEL-AML1 positive pediatric leukemia: Prognostic significance and therapeutic approaches. *Curr. Opin. Haematol.* **9**, 345-352.
96. Look, A. T. (1997). Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. *Science*, **278**, 1059-64.
97. Lugo, T. G., Pendergast, A. M., Muller, A. J., Witte, O. N. (1990). Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr/abl onkogene products. *Science*, **247**, 1079-83.
98. Martinez-Climent, J. A., Lane, N. J., Rubin, C. M., Morgan, E., Johnson, H., Mick, R., Murphy, S. B., Vardiman, J. W., Larson, R. A., Le Bea, M. M. (1995). Clinical and prognostic significance of chromosomal abnormalities in childhood acute myeloid leukemia de novo. *Leukemia*, **9**, 95-101.
99. Martinez-Ramirez, A., Urioste, M., Contra, T., Cantalejo, A., Tavares, A., Portero, J. A., Lopez-Ibor, B., Bernacer, M., Soto, C., Cigudosa, J.C., Benitez, J. (2001) 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
100. Mastrangelo, R., Poplack, D., Bleyer, R. Riccardi, R., Sather, H., D'Angio, G. (1986). Report and recommendations of the Rome Workshop concerning poor-prognosis acute lymphoblastic leukemia in children. Biologic bases for staging , stratification, and treatment.
101. McAlpine, P. J., Shows, T. B., Miller, R. L., Pakstis, A. J. (1985). Catalogue of mapped genes and report of the nomenclature committee. Eighth international human gene mapping workshop. *Cytogenet. Cell Genet.*, **40**, 8
102. McLean, T.W., Ringold, S., Neuberg, D., Stegmaier, K., Tantravahi, R., Ritz, J., Koeffler, H.P., Takeuchi, S., Jansenn, J., Seriu, T., Bartram, C.R., Sallan, S.E., Gilliland, G., Golub T. R. (1996). TEL/AML1 dimerizes and is associated with a

- favorable outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, **88**, 4252-4258.
103. McNeil, N., Ried, T. (2000). Novel molecular cytogenetic techniques for identifying complex chromosomal rearrangement: technology and applications in molecular medicine. *Expert Rev. Mol. Med.* **2000**, 1-14.
104. Melnick, A., Licht, J. D. (1999). Deconstructing a disease : RAR α its fusion partners and their roles in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Blood*, **93**, 3167-3215.
105. Miller, D., Krailo, M., Bleyer, W., et al. (1985). Prognostic implications of blast cell morphology in childhood acute lymphoblastic leukemia: A report from the Children's Cancer Study Group. *Cancer Treat. Rep.* **69**, 1211-1221.
106. Mitelman, F. (1998). *Catalog of chromosome abnormalities in cancer and leukemias*, sixth ed. Wiley-Liss, New York.
107. Morrell, D., Cromartie, E., Swift, M. (1986). Mortality and cancer incidence in 263 patients with ataxia telangiectasia, *J. Natl. Cancer Inst.* **77**, 89.
108. Mrozek, K., Heinonen, K., Bloomfield, C. D. (2001). Clinical importance of cytogenetics in acute myeloid leukemia. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* **14**, 19-47.
109. Mulloy, J. C., Cammenga, J., Mackenzie, K.L., et al. (2002). The AML1-ETO fusion protein promotes the expansion of human hematopoietic stem cells. *Blood*, **99**, 15-23.
110. Nıını, T., Kanerva, J., Vettenranta, K., Saarinen-Pihkala, U. M., Knuutila, S. (2000). AML1 gene amplification: a novel finding in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, **85**, 362-366.
111. Niemeyer, C.M., Sallan, S.E. (1993). Acute lymphoblastic leukemia. In: Oski, F.A, Nathan, D. G. Ed(s). *Hematology of infancy and childhood II*. Philadelphia; Saunders, 1249-1353.
112. Nussbaum, R.L., McInnes, R. R., Willard, H. F. (2005). Genetik ve kanser. *Thompson & Thompson, Tıbbi Genetik (çeviri)'de*, Altıncı baskı , Aktaş, D. Güneş kitabevi, 311-333.
113. Oğur, G. (2005). Kanser, kromozomlar ve genler. *Türkiye Klinikleri J. Pediatr. Sci.*, **1(2)**: 73-92

114. Okuda, T., Van, Deursen, J., Hiebert, S., et al. (1996). AML-1, the target of multiple chromosomal translocations in human leukemia, is essential for normal fetal hematopoiesis. *Cell*, **84**, 321-330.
115. Okur, H., Tuncer, A. M. (2004). 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, 364-371.
116. Öner, A. F., Arslan, Ş., Abuhandan, M., Çaksen, H., Güven, B. (1999). Van yöresinde 1994 ile 1997 yılları arasında tanı alan çocukluk çağı malignensileri, *6*(1)24-27.
117. Pane, F., Frigeri, F., Sindona, M., et al. (1997). Neutrophilic-chronic myeloid leukemia: a distinct disease with a specific molecular marker. *Blood*, **88**, 2410-4.
118. Pierce, A., Owen-Lynch, P. J., Spooncer, E., et al. (1998). P210 bcr/abl expression in a primitive multipotent hematopoietic cell line models the development of chronic myeloid leukemia. *Onkogene*, **17**, 667-672.
119. Preti, H. A., O'Brien, S., Giralt, S. et al. (1994). Philadelphia chromosome-positive adult lymphocytic leukemia: characteristics, treatment results, and prognosis in 41 patients. *Am. J. Med.*, **97**, 60-65.
120. Propp, S., Lizzi, F. A. (1970). Philadelphia chromosome in acute lymphocytic leukemia. *Blood*, **36**, 353-360.
121. Pui, C.H., Ribeiro, R. C., Hancock, M. L. (1991). Acute myeloid leukemia in children treated with epipodophyllotoxins for acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, **325**, 1682-1687.
122. Pui, C-H, Behm, F. G., Downing, J.R., Hancock, M. L., Shurtleff, S. A., Riberio, R. C., Head, D. R., Mahmoud, H. H., Sandlund, J. T., Fyurman, W. L., Roberts, W. M., Crist, W. M., Raimondi, S. C. (1994). 11q23/MLL rearrangement confers a poor prognosis in infants with acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* , **12**, 909-915.
123. Pui, CH. (1995). Childhood leukemias. *N. Engl. J. Med.* , **332**, 1618-1630
124. Pui, C-H. (2006). Immunophenotyping. In: *Childhood Leukemias*, Second edition, Cambridge University Press, New York, 150-209.

125. Pui, C-H., Behm, F.G., Crist, W. M. (1993). Clinical and biological relevance of immunologic marker studies in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, **82**, 343-362.
126. Pui, C-H., Carroll, A. J., Raimondi, S. C., Land, V. J., Crist, M. W., Shuster, J. J., Williams, D. L., Pullen, D. J., Borowitz, M. J., Behm, F. G. (1990). Clinical presentation, karyotypic characterization and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with a near- haploid or hypodiploid <45 line. *Blood*, **75**, 1170-1177.
127. Pui, C-H., Crist, W., Look, A. (1990). Biology and clinical significance of cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, **76**, 1449-1463.
128. Raimondi S. C., Kalwinsky, D. K., Hayashi, Y., Behm, F. G., Mirro, Jr, J., Williams, D. L. (1989). Cytogenetics of childhood acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **40**, 13-27.
129. Raimondi, S.C., Chang, M. N., Ravindranath, Y., Behm, F. G., Gresik, M. V., Steuber, C. P., Weinstein, H. J., Carroll, A. J. (1999). Chromosomal abnormalities in 478 children with acute myeloid leukemia: Clinical characteristics and treatment outcome in a cooperative pediatric oncology group study-POG 8821
130. Reddy, K. S., Parsons, L., Mak, L., Dighe, P., Saphner, T., Crow, M. K., Scott, M. (2001). Segmental amplification of 11q23 region identified by fluorescence in situ hybridization in four patients with myeloid disorders: a review. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, **126**, 139-146.
131. Robison, L., Sather, H., Coccia, P., M. E., Nesbith. (1980). Assesment of the interrelationship of prognostic factors in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* **2(1)**, 3-5.
132. Romana, S. P., Le Coniat, M. And Berger, R. (1994). t(12;21): a new recurrent translocation in acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosom. Cancer*, **9**, 186-191.
133. Romano, S. P., Poirel, H., Le Coniat, M., Flexor, M. A., Mauchauffe, M., Jonveaux, P., Macintyre, E. A., Berger, R. And Bernard, O.A. (1995). High frequency of t(12;21) in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, **86**, 4263-4269.

134. Rooney, D. E., Czepulkowski, B. H. (1986). Human cytogenetics a practical approach (modifiye).
135. Rowley, J. D. (1970). A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluoerscence and Giemsa staining. *Nature*, **243**, 290-293.
136. Rowley, J. D. (1999). The role of chromosome translocations in leukemogenesis. *Semin. Hematol*, **36**, 59-72.
137. Rowley, J. D., Olney, H. J. (2002). International workshop on the relationship of prior therapy to balanced chromosome aberrations in therapy-related myelodysplastic syndromes and acute leukemia. *Genes chromosomes cancer*, **33**, 4075-83.
138. Rubnitz, J. E., Link, M. P., Shuster, J. J., Carroll, A. J., Hakami, N., Frankel, L. S., Pullen, D. J., Cleary, M. L. (1994). Frequency and prognostic signfinance of HRX rearrangements in infant acute lymphoblastic leukemia: a pediatric Oncology Group study. *Blood*, **84**, 570-573.
139. Salper, N. (1998). Çocukluk çağı lösemilerinde translokasyonların polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile belirlenmesi ve prognostik önemi, İstanbul, yan dal uzmanlık tezi.
140. Satake, N., Maseki, N., Nishiyama, M., Kobayashi, H., Sakurai, M., Inaba, H., Katano, N., Horikoshi, Y., Eguchi, H., Miyake, M., Seto, M., Kaneko, Y. (1999). Chromosome abnormalities and MLL rearrangements in acute myeloid leukemia of infants. *Leukemia*, **13**, 1013-1017.
141. Scandura, J. M., Boccuni, P., Cammenga, J., Nimer, S. D. (2002). Transcription factor fusions in acute leukemia: Variations on a theme. *Oncogene*, **21**, 3422-3444.
142. Schoch, C., Schnittger, S., Klaus, M., Kern, W., Hiddemann, W., Haferlach, T. (2003). AML with 11q23/MLL abnormalities as defined by the WHO classification: incidence, partner chromosomes, FAB subtype, age distribution and prognostic impact in an unselected series of 1897 cytogenetically analyzed AML cases. *Blood*, **102**, 2395-2402.
143. Schulman, I. G., Juguilon, H., Evans, R. M. (1996). Activation and repression by nuclear hormone reseptors-hormone modulates an equilibrium between active and repressive states. *Mol. Cell Biol.*, **16**, 3807-3813.

144. Secker-Walker, L.M., Craig, J. M. (1993). Prognostic implications of breakpoint and lineage heterogeneity in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia: A review. *Leukemia*, **7**, 147-151.
145. Seeger, K., Buchwald, D., Taube, T., Peter, A., Von Stackelberg, A., Schmitt, G., Kochling, J., Henze, G., Berlin-Frankfurt-Munster Study Group. (1999). TEL/AML1 positivity in relapsed B cell precursor acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Leukemia*, **13**, 1469-70.
146. Shaffer, L.G., Tommerup, N. (2005). An International System for Human Cytogenetic Nomenclature
147. Shimizu, Y., Schull, W.J., Kato, H. (1990). Cancer risk among atomic bomb survivors. The RERF Life Span Study. Radiation Effects Research Foundation. *JAMA*, **264**, 601-604.
148. Shivdasani, R. A., Orkin, S. H. (1996). The transcriptional control of hematopoiesis. *Blood*, **87**, 4025-4039
149. Shurtleff, S. A., Buijs, A., Behm, F. G., Rubnitz, J. E., Raimondi, S. C., Hancock, M. L., Chan, G. C., Pui, C. H., Grosveld, G. And Downing, J. R. (1995). TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. *Leukemia*, **9**, 1985-9.
150. Slovak, M.L., Kopecky, K.J., Cassileth, P. A., Harrington, D. H., Theil, K. S., Mohammed, A., Paietta, E., Willman, C. L., Head, D.R., Rowe, J. M., Forman, S. J., Appelbaum, F. R. (2000). Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: A Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood*, **96**, 4075-4083.
151. Smith, M., Arthur, D., Camitta, B., et al. (1996). Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin.Oncol*, **14**, 18-24.
152. Sönmez, Y. (1992). Çocukluk çağı akut lösemi ve lenfomalarında kromozomal düzensizlikler, Erzurum, Uzmanlık Tezi
153. Specchia, G., Mininni, A., Guerrasio, A., et al. (1995). Ph positive acute lymphoblastic leukemia in adults: molecular and clinical studies. *Leuk. Lymphoma*, **18**, 37-42.

154. Steinherz, P., Siegel, S., Bleyer, A., et al. (1986). Lymphomatous presentation of acute lymphoblastic leukemia. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **5(153)**, 599.
155. Steliarova-Foucher, E., Stiller, C., Kaatsch, P., Berrino, F., Coebergh, W., Lacour, B., Perkin, M. (2004). Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCIS Project): an epidemiological study.
156. Steuber, C. P. (1999). Acute myeloid leukemia. In: *Oski's Pediatrics: Principles and Practice, Third edition*, Ed(s), McMillan, A. J., DeAngelis, D. J., Feigin, R. D., Warshaw, J. B. Lippincott Williams&Wilkins, USA, 1501-1504.
157. Strubel, B., Sauerland, C., Heil, G., Frund, M., Bartels, H., Lengfelder, E., Wandt, H., Ludwig, W-D., Nowotny, H., Baldus, M., G-P, B., Buchner, t., Fonatsch, C. (1998). Correlation of cytogenetic, molecular cytogenetic, and clinical findings in 59 patients with ANLL or MDS and abnormalities of the short arm of chromosome 12, 100, 521-533.
158. Sun, T., Sangaline, R., Ryder, I. (1997). Gating strategy for immunophenotyping of leukemia and lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* **108**, 152-157.
159. Takeuchi, J., Ochi, H., Minowada, J., Barcos, M., Ozer, H., Henderson, E. S., Sandberg, A. A. (1985). Cytogenetic studies of a diffuse mixed cell lymphoma of T cell origin. *Cancer genet. Cytogenet.*, **14**, 257.
160. Tanaka, K., Arif, M., Eguchi, M., Kyo, T., Dohy, H. and Kamada, N. (1997). Frequent jumping translocations of chromosomal segments involving the ABL oncogene alone or in combination with CD3-MLL genes in secondary leukemias. *Blood*, **89**, 596-600.
161. Tanaka, K., Arif, M., Eguchi, M., Shintani, T., Kumaravel, T.S., Asaoku, H., Kyo, T., Dohy, H., Kamada, N. (1999). Interphase fluorescence in situ hybridization overcomes pitfalls of G- banding analysis with special reference to underestimation of chromosomal aberration rates. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **115**, 32-38.
162. Taneli, A., Kılınc, Y., Erkman, H. (1995). Çukurova bölgesinde çocukluk çağı maligniteleri. *Çukurova Tıp Fakültesi Dergisi*, **20**, 157-161.
163. Tenen, D. G. (2003). Disruption of differentiation in human cancer: AML shows the way. *Nat. Rev. Cancer*, **3**, 89-101.

164. Tenen, D. G., Hromas, R., Licht, J. D., Zhang, D. E. (1997). Transcription factors, normal myeloid development and leukemia. *Blood*, **90**, 489-519.
165. Thirman, J. M., Larson, L. A. (1996). Therapy-related myeloid leukemia. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, **10**, 293-320.
166. Thompson, M. A. (2004). Molecular genetics of acute leukemia. In: *Wintrobe's clinical hematology, Eleventh edition*, Ed(s), Greer, J.P., Foerster, J., Lukens, J. N. Rodgers, G. M., Paraskevas, F., Glader, B. 2045-2062.
167. Trueworthy, R., Shuster, J., Look, T., Crist, W., Borowitz, M., Carroll, A., Frankel, L., Harris, M., Wagner, H., Haggard, M. (1992). 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.*, **10**, 606-613.
168. Tsang, K. S., Li, C. K., Chilk, k. W., Shing, M. M. K., Tsoi, W. C., Ng, M. H. L., Lau, T. T., Leung, Y., Yuen, P. M. P. (2001). Tel/aml1 rearrangement and the prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukemia in Hong Kong. *Am. Jour.Haem.*, **68**, 91-98.
169. Tucker, M. A., Meadows, A.T., Boice, J. D. Jr. (1987). Leukemia after therapy with alkylating agents for childhood cancer. *J. Natl. Cancer Ins.*, **78**, 459-464.
170. Tunalı, A. (1990). Kan hastalıkları. İç hastalıkları'nda, **Dördüncü baskı**, Editör: Öbek, A., 769-773.
171. Tuszyński, A., Dhut, S., Young, B. D., Lister, T. A., Rohatiner, A. Z., Amess, J., Chaplin, T., Dorey, E., Gibbons, B. (1993). Detection and significance of bcr/abl mRNA transcripts and fusion proteins in Philadelphia-positive adult acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, **7**, 1504-1508.
172. Uckun, F.M., Pallisgaard, N., Hokland, P., et al. (2001). Expression of TEL-AML1 fusion transcripts and response to induction therapy in standard risk acute lymphoblastic leukemia. *Leuk. Lymphoma*, **42**, 41-56.
173. Ünal, Ş., Tuncer, A. M. (2004). Lösemide epidemiyoloji, tanısal yaklaşım ve sınıflandırma. *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, 338-349

174. Van, Rhee, F., Hochhaus, A., Lin, F., et al. (1996). P190 bcr-abl m RNA is expressed at low levels in p210-pozitif chronic myeloid and acute lymphoblastic leukemias. *Blood*, **87**, 5213-5217.
175. Vardiman, J. W., Harris, N.L., Brunning, R.D. (2002). The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood*, **100**, 2292-2302.
176. Voncken, J. W., Kaartinen, V., Pattengale, P. K., Germeraad, W. T., Groffen, J., Heisterkamp, N. (1995). Bcr/abl p210 and p190 cause distinct leukemia in transgenic mice, *Blood*, **86**, 4603-11.
177. Wang, C. Y., Petryniak, B., Ho, I. C., et al. (1992). Evolutionarily conserved Ets family members display distinct DNA binding spesificities. *J. Exp. Med.* **175**, 1391-1399.
178. Watanabe, N., Kobayashi, H., Ichiji, O., Yoshida, M. A., Kikuta, A., Komada, Y., Sekine, I., Ishida, Y., Horiukoshi, Y., Tsunematsu, Y., Yano, M., Nakadate, H., Kaneko, Y. (2003). *Cryptic insertion and translocation or nondividing leukemic cells disclosed by FISH analysis in infant acute leukemia with discrepant molecular and cytogenetic findings. Leukemia*, **17**, 876-882.
179. Williams, S. K., Cummings, M, R. (2002). Mitoz ve mayoz. *Genetik kavramlar(çeviri)'da,Altıncı Baskı*, Editör, Öner, C. Palme yayıncılık, 17-43.
180. Windebank, K.P., Tefferi, A., et al. (1989). Acute megakaryocytic leukemia (M7) in children. *Mayo Clin. Proc.* **64**, 1339-1351.
181. Woo, H. Y., Kim, D, W., Park, H., Seong, K. W., Koo, H. H., Kim, S. H. (2005). Molecular cytogenetic analysis of gene rearrangements in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J. Korean Med. Sci.* **20**, 36-41.
182. Woods, W.G., Nesbit, M.E., Buckley, J., et al.(1985). Correlation of chromosome abnormalities with patient characteristics, histologic subtype and induction success in children with acute nonlymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.*, **3**, 3-11.
183. Yakut, T. (2007). Çocukluk çağı lösemilerinde sitogenetik ve moleküler çalışmaların akılcı planlanması. *Türk Çocuk Hematoloji Dergisi*, **1(1)**: 38-39

184. Yeoh, E. J., Ross, M. E., Shurtleff, S. A., et al. (2002). Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell*, **1**, 133, 143.
185. Yılmaz, E. (2005). İnsan moleküler genetiği için araçlar. Tıbbi genetik (çeviri)'de, **Altıncı baskı**, Editörler, Nussbaum, R. L., McInnes, R., R., Willard, H. F., Güneş kitapevi, 33-49.
186. Zhong, S., Muller, S., Ronchetti, S., et al. (2000). Role of SUMO-1 modified PML in nuclear body formation. *Blood*, **95**, 2748-2752.
187. Zieman-van der Poel, S., et al. (1991). Identification of a gen , MLL, that spans the breakpoint in 11q23 translocations associated with human leukemias. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 10735-10739.
188. Zipursky, A., Brown, E. J., Christensen, H., Doyle, J. (1999). Transient myeloproliferative disorder and hematologic manifestations of Down syndrome. *Diag. Pediatr. Hematol.*, **19**, 157-167.