



T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**KRONİK MYELOİD LÖSEMİ OLGULARINDA İLAVE
KLONAL KROMOZOM ANOMALİLERİNİN
RETROSPEKTİF İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mert Burak RAŞAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Beyhan DURAK ARAS

AĞUSTOS 2020



T.C.

**ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**KRONİK MYELOİD LÖSEMİ OLGULARINDA İLAVE
KLONAL KROMOZOM ANOMALİLERİNİN RETROSPEKTİF
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mert Burak RAŞAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Beyhan DURAK ARAS

AĞUSTOS 2020

Özet

KRONİK MYELOİD LÖSEMİ OLGULARINDA İLAVE KLONAL KROMOZOM ANOMALİLERİNİN RETROSPEKTİF İNCELENMESİ

Kronik myeloid lösemi (KML) kan hücrelerini oluşturan projenitör kök hücrelerde tutulum gösteren bir kanser türüdür. Hastalarda 9 ile 22 numaralı kromozomların resiprokal translokasyonu ile karakterizedir. KML hastaların %15-%20'sinde Philadelphia kromozomuna ek olarak gözlenen ek sitogenetik anomaliler (ACA) bulunur. Bu ACA'lar prognostik etkilerine göre major ve minor ACA'lar olmak üzere iki gruba ayrılır.

Biz çalışmamızda 2009-2019 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda KML tanılı olguların kemik iliği örneklerinden çalışılan konvansiyonel sitogenetik ve FISH testleri sonucunda saptanan varyant t(9;22) ve Ph kromozomuna ek kromozomal anomalilerin tespit edilme sıklığını belirlemeyi amaçladık. Ayrıca çalışmamız sırasında klinik bilgilerine ulaşılan hastaların yanıt oranlarını da çalışmamıza ekledik ve bu oranlardan yola çıkarak gözlenen bu ek anomalilerin tedaviye olan etkilerini de değerlendirdik.

Bölümümüze KML tanısı alarak yönlendirilen dört yüz elli iki hasta içerisinde varyant ph kromozomu veya ph kromozomuna ek sitogenetik anomalisi bulunan otuz altı (%8) hasta tespit ettik. Bu hastalar içerisinde en sık gözlenen anomalinin 6 olgu ile (% 17) ile ilave Philadelphia kromozomu olduğunu gördük. Ayrıca olgularımızın 4 tanesinde (%11) trizomi 8, 3 tanesinde (%8) Y kromozomu kaybı, 3'ün de (%8) varyant Philadelphia translokasyonu, 1 hastamızda trizomi 9, 1 hastamızda 9q34 delesyonu ve 1 hastamızda ise 6 numaralı kromozomun trizomisini gözledik.

Çalışmamızın sonunda KML olgularında ACA saptama oranımız literatür verisinin altındadır. Ayrıca literatür verilerine göre sınıflandırdığımızda 10 olgunun (%28) major yolak anomalilerine, 26 olgunun da (%72) minor yolak anomalilerine sahip olduğunu gördük. Major ve minor yolakta ki bu dağılım verisinin literatürde yer alan oranlar ile uyumlu olduğunu saptadık.

Tespit edilen anomalilerin tedaviye yanıt oranları incelediğinde varyant t(9;22)'ler haricinde major ve minör yolağa ait anomali gruplarındaki verilerin literatür ile uyumlu olduğunu gözledik. Ancak varyant translokasyona yönelik beklenen kötü yanıtı bizim olgu grubumuzda görmedik. Bununla birlikte hem çalışmamızda hem de literatürde olgu sayımızın az olması sebebiyle saptanan anomalilerin tedaviye olan etkileri konusunda kesin sonuçlar elde edemedik. Ayrıca

Çalışmamızda hastaların bir kısmında elde edilen metafaz plaklarının sitogenetik değerlendirme için yetersiz olduğunu gördük. Bu nedenle tüm KML vakalarımız arasında ortaya çıkarılamayan ACA ve varyant t(9,22)'lere sahip olgular olduğunu düşünmekteyiz. Bu da bize konvansiyonel sitogenetik analiz yapılmasının kanser genetiğinde çok önemli olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: KML, ACA, Trizomi 8, Philadelphia kromozomu, Varyant t(9;22), FISH, Sitogenetik

Summary

RETROSPECTIVE INVESTIGATION OF ADDITIONAL CLONAL CHROMOSOMES ANOMALIES IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Chronic myeloid leukemia (CML) is a type that shows involvement in progenitor stem cells in blood cells. It is characterized by reciprocal translocation of chromosomes 9 to 22 in patients. 15% -20% of chronic myeloid leukemia patients have additional chromosomal anomalies (ACA) observed in addition to the Philadelphia chromosome. In our study, we detected variant t (9; 22) and additional chromosomal abnormalities in the Ph chromosome, which were detected as a result of conventional cytogenetic and FISH tests, which were studied from bone marrow samples of patients with CML at Eskişehir Osmangazi University (ESOGÜ) Medical Genetics Department between 2009-2019. We aimed to determine the frequency of occurrence. In addition, we included the treatment response rates of patients whose information was obtained during our study, and based on these rates, we aimed to evaluate the effects of these additional anomalies on treatment.

Among 452 patients who were referred to our department with a diagnosis of CML, we established a case series of 36 patients, in which we found that variant ph chromosome or additional cytogenetic anomaly to the ph chromosome. In this series, with 6 cases (17%), the additional Philadelphia chromosome is the most common additional anomaly. In addition to that, trisomy 8 in 4 of our cases (11%), Y chromosome loss in 3 cases (8%), variant Philadelphia translocation in 3 cases (8%), trisomy 9 in 1 patient, 9q34 deletion in 1 patient, and trisomy of chromosome number 6 in 1 patient were also observed.

At the end of our study, our ACA detection rate in CML cases is below the literature data. In addition, when we classified according to the literature data, we found that 10 cases (28%) had major pathway anomalies and 26 cases (72%) had minor pathway anomalies. We found that this distribution data in the major and minor pathway is compatible with the rates in the literature.

When we examined the response rates of the detected anomalies to treatment, we observed that the data in the anomaly groups belonging to the major and minor pathways, except for the variant t (9; 22), were compatible with the literature. However, we did not see the expected poor response to variant translocation in our case group. However, due to the small number of cases in our study and in the literature, we could not obtain definitive results about the effects of the detected anomalies on treatment. In addition, in our study, we found that the metaphase plates obtained in some of the patients were insufficient for cytogenetic evaluation. For this reason, we think that there are cases with ACA and

variant t (9.22) that cannot be detected among all our CML cases. This has shown us that conventional cytogenetic analyzes are very important for cancer genetics.

Key words: CML, ACA, Trisomy 8, Philadelphia chromosome, Variant translocation, FISH, Cytogenetic,

İçindekiler

1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2- GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Kronik Miyeloid Lösemi(KML)	2
2.1.1 KML'de kronik, akselere ve blastik fazlar:.....	2
2.2. KML Moleküler Patogenezi:	3
2.2.1 BCR geni:	4
2.2.2 ABL1 geni:.....	6
2.2.3 BCR/ABL1 füzyon geni:.....	6
2.2.4 BCR/ABL1 füzyon geninin patogenezi:	7
2.2.4.1 Mitojenik sinyal yollarının aktivasyonu:	8
2.2.4.2 Programlanmış hücre ölümü (Apoptoz) inhibisyonu:	9
2.2.5 Füzyon geninin azalmış adezyon ile bağlantısı:.....	10
2.3 KML'de Gözlenen Sitogenetik Anomaliler:	10
2.4. KML'de Major Ve Minör Yolak Anomalileri:	11
2.5 KML'de Tedaviye Moleküler Bakış	12
2.6 KML Tedavisinde Kullanılan Tirozinkinaz İnhibitörlerinin Çalışma mekanizmaları:.....	13
3- GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	15
3.1 –Hasta Grubu Seçimi:	15
3.2 Hasta Dosyalarının Toplanması:.....	15
4- BULGULAR:	17
4.1 – Sitogenetik Ve FISH Sonuçları.....	17
Tablo 4.1: Olgularımıza ait cinsiyet, yaş, KS ve FISH sonuçları:	18
Tablo 4.2: Hastalara ait moleküler analiz sonuçları, yanıt düzeyi/takip süresi bilgileri ve tedavide kullanılan ilaç bilgileri:	24
5- TARTIŞMA	27
5.1 - Majör Yolak Anomalilerin Saptanma Sıklığı.....	28
Tablo 5.1: Major yolak anomalilerinin literatür ile kıyaslanması:	29
5.2 Minör Yolak Anomalilerinin-Saptanma Sıklığı	29
5.3 - Ek Anomalilerin Prognostik Seyri	30

5.3.1. Olguların prognostik seyirlerinin literatür ile kıyaslanması:	30
5.3.1.1. Major yolak anomalilerinin prognostik seyri:.....	30
5.3.1.1.1 İlave Ph kromozomu saptanan olguların prognostik seyri:.....	30
5.3.1.1.2 Trizomi 8 saptanan olguların prognostik seyri:	32
5.3.1.2 Minör yolak anomalilerinin prognostik seyri:.....	34
5.3.1.2.1 Varyant translokasyon saptanan olguların prognostik seyri: ..	34
5.3.1.2.2 Y kromozomu kaybı saptanan olguların prognostik seyri:	36
5.3.1.2.3 Trizomi 9 saptanan olguların prognostik seyri:	38
5.3.1.2.4 Trizomi 6 saptanan olguların prognostik seyri:	38
5.3.1.2.5 9q34 bölgesine yönelik delesyon saptanan olguların prognostik seyri:.....	39
5.4 Major Ve Minör Yolak Anomalilerinin Belirlenmesi:.....	40
6- SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR DİZİNİ	45
Özgeçmiş	50

Tablo Dizini

Tablo 4.1: Olgularımıza ait cinsiyet, yaş, KS ve FISH sonuçları:	18
Tablo 4.2: Hastalara ait moleküler analiz sonuçları, yanıt düzeyi/takip süresi bilgileri ve tedavide kullanılan ilaç bilgileri:.....	24
Tablo 5.1: Major yolak anomalilerinin literatür ile kıyaslanması:.....	29

Şekil Dizini

Şekil 2.1: KML'de spesifik olarak gözlenen 9. ve 22. kromozomların resiprokal translokasyonunu gösteren karyotip örneği (Ai D. 2015).....	4
Şekil 2.2: BCR gen yapısının şematik gösterimi(Laurent vd. 2001)	5
Şekil 2.3: KML'de gözlenen füzyon geninin moleküler sinyal yolları ile olan genel etkileşimi.(Cilloni & Saglio 2011)	8
Şekil 2.4: BCR/ABL1 füzyon proteininin sinyal yolları üzerindeki etkisinin şematik gösterimi. (Massimino vd. 2018)	9
Şekil 2.5: İmatinibin çalışma mekanizmasının basit şematik gösterimi. (Mughal & Goldman 2006)	13
Şekil 4.1: Olgu serimizin içerisinde minör ve major yolak anomalilerinin sayısal olarak grafikte gösterimi.....	23
Şekil 4.2: ACA saptanan 36 hastanın anomali türlerinin dairesel grafikte gösterimi.....	23
Şekil 5.1: İlave ph kromozomu gözlediğimiz 47,XY,t(9;22)(q34;q11),+der(22)t(9;22) karyotipine sahip yirmi iki numaralı olgumuzun karyotip görüntüsü:.....	31
Şekil 5.2: Trizomi 8 ile birlikte Y kromozomu kaybı gözlediğimiz karyotipini 46,X,-Y,+8,t(9;22)(q34;q11) olarak ortaya koyduğumuz otuz iki numaralı olgumuzun karyotip görüntüsü:	33
Şekil 5.3: 46,XY,t(9;22;1)(q34;q11;p36.2?) karyotipine sahip otuz üç numaralı olgumuzun karyotip görüntüsü:	36
Şekil 5.4: 45,X,-Y,t(9;22)(q34;q11) karyotipine sahip Y kromozomu kaybı gözlediğimiz yirmi altı numaralı olgumuzun karyotip görüntüsü:.....	37
Şekil 5.5: 9q34 delesyonu saptanan olgunun ASS gen bölgesini işaretleyen FISH probu ile yapılan çalışma (Mutlu T., 2011):	40

Simge ve Kısaltmalar Dizini

KML: Kronik Miyeloid Lösemi.

FISH: Floresan in-sitü hibridizasyon

Cep Probu: Sentromer bölgesine ilişkin prob

DAPI: 4'6'-diamino-2-fenilindol

ml: Mililitre

gr: Gram

NaCl: Sodyum klorid

NaOH: Sodyum hidroksit

PBS: Fosfat buffer saline çözeltisi

SSC: Saline-Sodyum-sitrat çözeltisi

WHO: Dünya Dağlık Örgütü

μ l: Mikrolitre

Ph kromozomu: Philadelphia kromozomu

RT-PCR: Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu

MMR: Major Moleküler Yanıt

KS: Konvansiyonel Sitogenetik

ACA: Philadelphia kromozomuna Ek Sitogenetik anomali

ELN : Avrupa Lösemi Net

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik miyeloid lösemi (KML), granülositlerde meydana gelen bir kanser olup, granülositlerin sayısal artışı ile karakterizedir. Granülositlerin yanı sıra zaman zaman trombositlerde de artış gözlenir. Kronik miyeloid lösemnin görülme sıklığı kırklı yaşlardan sonra önemli ölçüde artmaktadır. Çocukluk çağında nadir olarak gözlenen KML herediter aktarım göstermez. Her yüz lösemi hastasının yaklaşık onbeş ile yirmi kadarı kronik miyeloid lösemidir.

KML olgularında 9 numaralı kromozomun uzun kolu ile 22 numaralı kromozomun uzun kolu arasında gerçekleşen resiprokal bir translokasyon gözlenir. Oluşan aberan 22 numaralı kromozom "philadelphia kromozomu" olarak adlandırılır ve kodladığı kimerik protein ise hastalarda KML fenotipinin ortaya çıkmasından sorumludur. Bu resiprokal translokasyonun dışında hastanın konvansiyonal sitogenetik analizlerinde ek anomaliler gözlenebilmektedir.

KML'de gözlenen bu ilave anomaliler, literatürde beklenen prognostik katkılarına göre majör ve minör olmak üzere 2 grupta incelenir. Major yolak anomalilerinin prognostik bakımdan minör yolak anomalilerine göre daha agresif seyrettiği bildirilmiştir. Bu anomalilerin prognostik katkıları hakkında farklı görüşler de bulunmaktadır.

Bizim çalışmamızdaki temel amacımız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na 2009 ile 2019 yılları arasında gelen KML olgularında saptanan varyant t(9;22) ve ekstra kromozomal anomalilerin (Additional cytogenetic abnormalities:ACA) oranını ortaya koymaktır. Buna ek olarak saptadığımız majör ve minör yolak anomalilerinin tedaviye etkilerini literatür bilgileri ile kıyaslamak da amaçlarımız arasında yer almaktadır. Bu sayede tanı anında gözlenen bu anomalilerin prognostik etkisini ve tedavi sürecini yönetecek tedavi protokollerine katkıda bulunabilmeyi istedik.

2- GENEL BİLGİLER

2.1 Kronik Miyeloid Lösemi(KML)

Kronik Myeloid Lösemi(KML), bir diğer ismiyle Kronik granülositik lösemi Kronik Myeloproliferatif Hastalıkların(KMPH) 7 alt grubundan bir tanesidir. (Greer vd. 2003) Kronik miyeloid lösemi, ilk kez John Hughes Bennet tarafından 1845 yılında "dalakta ve karaciğerde büyüme, kanda artmış iltihap sonucunda ölüm ile sonuçlanan bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Ancak moleküler anlamda tanımlanması ilk kez Nowel ve Hungerford tarafından 1960 yılında KML'ye spesifik olan kromozomal anomalinin tespiti ile gerçekleşmiştir. Gördükleri bu abnormal kromozomu yaşadıkları şehrin ismi olan "Philadelphia" ile isimlendirilmiştir.(Kırkızlar 2012)

Philadelphia kromozomu 9. ve 22. kromozomların uzun kolları arasındaki dengeli resiprokal translokasyon [t(9;22)(q34;q11)] sonucunda meydana gelen abnormal 22 numaralı kromozomdur.(Rastgeldim. Y. 2016) Bu kromozom KML fenotipinin ortaya çıkmasında başlıca etmendir. KML, kök hücrelerinin malign hastalığı olup kemik iliğinde aşırı myeloid hiperplazi, splenomegali ve ayrıca periferik kanda matür ve genç myeloid hücrelerden oluşan yüksek lökosit sayısı (bazofili ile birlikte) ile karakterizedir. Akut lösemide varolan patolojik tablonun aksine, lösemi hücreleri farklılaşma yeteneklerini kaybetmemiştir. Üç fazlı bir hastalık olan KML' nin klinikopatolojik seyri; kronik faz, akselere faz ve blastik faz olarak incelenir ve fazlar arasında prognostik değerlerde kötüleşme gözlenir.(Rastgeldim 2016)

2.1.1 KML'de kronik, akselere ve blastik fazlar:

Kronik fazda, çevre kanı ve kemik iliğinde blast yüzdesi %10'dan az olarak karşımıza çıkmaktadır. Blast yüzdesinin %10'nun üzerine çıkması, akselere ve blastik krize geçişin bir göstergesi olabileceği olarak değerlendirilmektedir.

Akselere fazda, blast yüzdesi, %10-19 olarak gözlenmektedir. Bununla birlikte periferik kanda bazofili oranı %20'nin üzerinde gözlenebilir. Hastalarda tedaviden bağımsız trombositopeni veya tedaviye cevapsız trombositozda gözlenebilir. Ayrıca hastaların lökosit sayısının artması ve dalak boyutunda artışta akselere fazda görülen endikasyonlar arasında yer almaktadır.

Blastik krizde ise, kanda ve kemik iliğinde, blast sayısı %19'un üzerine çıkmaktadır. Blastik kriz, miyeloid, lenfoblastik veya miks tipte görülebilir. Miyeloid blast krizi daha sık görülmekte olup, daha ağır seyirle izlenmektedir. Hastaların üçte birinde, lenfoblastik kriz gözlenir. Lenfoblastik tip blastik kriz genellikle B öncül hücre kökenlidir. Akselere ve blastik krize giren KML'li hastalarda, çift ph kromozomu veya başka ek kromozom anomalilerinin bulunduğu literatürlerde bildirilmektedir.(Özyürek 2011)

2.2. KML Moleküler Patogenezisi:

KML fenotipinden sorumlu olan kimerik protein 9 ve 22. kromozomlar arasındaki resiprokal translokasyondan meydana gelen BCR ve ABL1 genlerini füzyonundan ortaya çıkmaktadır.



Şekil 2.1: KML'de spesifik olarak gözlenen 9. ve 22. kromozomların resiprokal translokasyonunu gösteren karyotip örneği (Ai D. 2015)

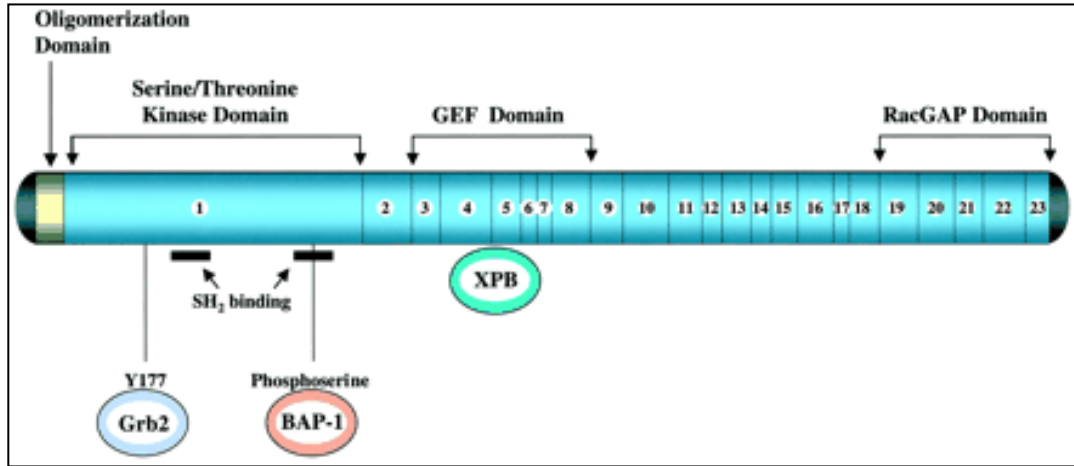
2.2.1 BCR geni:

22. kromozomun uzun kolunda bulunan 130kb uzunluğunda olan ve 23 ekzon bulunan BCR geni sürekli ifadesi olan bir genidir. İnsanlarda sıklıkla hematopoetik hücrelerde ve beyinde ekspresyonu gözlenir. Hematopoetik hücrelerde myeloid farklılaşmanın erken evrelerinde etkin olduğu, ve ekspresyon miktarının hücre olgunluğa ulaştıkça azalacak şekilde değiştiği ortaya konmuştur. BCR proteini, 160 kd ağırlığındadır. Sitoplazmada bulunan BCR geni Serin/Treonin kinaz görevine sahiptir. (Laurent vd. 2001)

BCR geninin ilk ekzonu bir serin/treonin kinaz bölgesi, birçok Src Homology 2 (SH2) bağlayıcı bölgeleri ve bir oligomerizasyon bölgesi kodlamaktan sorumludur. SH2 bölgeleri, reseptörler ya da hücre içi sinyal proteinleri üzerinde belirli peptid dizilerindeki fosforillenmiş tirozinlere bağlanan yüksek oranda korunmuş bölgelerdir. (Alberts 2002)

BCR üzerinde bulunan SH2 bölgeleri sinyal iletim moleküllerinin bağlanarak önemli sinyal yollarının aktive olmasında görevlidir. Yapısında bulunan tirozinin (177. aminoasit konumunda yer alır) otoposforilasyonu, GRB2 (Growth factor receptor-bound protein 2) için bir bağlanma bölgesi oluşturur. BCR, GRB2 üzerinden Ras yolağını aktive ederek büyüme ve farklılaşma için uyarıcı olarak görev almaktadır. (Goldman & Melo 2008)

Ayrıca BCR proteininin santral ve karboksi terminal bölgeleride önem arz etmektedir. Bu bölgelerin özellikle G-proteinleri ile olan çok yönlü ilişkileri dikkat çeker. G-proteinleri hücre büyümesinde hücre içi iletim sistemlerinde ve hücre iskeleti organizasyonunda görev alan proteinlerdir. BCR'ın karboksil ucunda bulunan GAP bölgesi (GTPase activating protein domain) G-proteinlerinin aktive olmasında görev almaktadır. (Balcı 2009)



Şekil 2.2: BCR gen yapısının şematik gösterimi(Laurent vd. 2001)

Ayrıca yeni yapılan çalışmalarda, BCR'ın santral bölgesinin DNA tamir mekanizmasında görevli Xeroderma pigmentosum – B (XPB) proteinini fosforillediği ve fonksiyonunu engellediği gösterilmiştir. Böylece, BCR-ABL1

onkogeninin DNA onarım mekanizmaları üzerinden genomik instabiliteye katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. (Goldman & Melo 2008)

2.2.2 ABL1 geni:

ABL1 geni 9 numaralı kromozomun uzun kolunda bulunur ve 145 kd ağırlığında bir nonreseptör tirozin kinazı kodlamaktadır. İlk keşfi farede tanımlanmıştır. ABL1 geni Abelson murine leukemia virusunun onkogeni olan v-abl geninin insandaki homoloğudur.

ABL1 geni sürekli ifadesi bulunan bir gendir. Strese yönelik cevapların oluşturulması, hücre farklılaşması, hücre bölünmesi ve adezyonunda görevleri bulunur. ABL1 geni hücre çekirdeğinde ifadelenmesine rağmen gen ürünü sitoplazma ve çekirdek arasında gidip gelebilen bir proteindir. (Sattler & Griffin 2003)

N terminalinde 3 farklı Src homoloji(SH) bölgesi bulunmaktadır. Bunlar: proline zengin proteinlerle bağlanmasını sağlayan SH3 bölgesi, fosfotirozinlerle bağlanmasını sağlayan SH2 bölgesi ve tirozin kinaz görevine sahip SH1 (tirozin kinaz bölgesi) bölgesidir.(Melo & Deininger 2004)

ABL1 geninde, C terminalinde nükleer lokalizasyon sinyallerini oluşturan bir bölge, 3 adet DNA bağlayıcı bölge ve aktin bağlayıcı bölgeye sahiptir. ABL1 proteininin ilk ekzonun alternatif splicing'i ile oluşan iki izoformu bulunmaktadır. Sitoplazmik ABL1 proteininin aktivitesi SH2 ve SH3 bölgeleri üzerinden kısıtlanmaktadır. Dolayısıyla bu bölgelerde gözlenecek bir delesyon ya da mutasyon sonucu ABL1 geninin aktifleşmesi gözlenebilir.(Sattler & Griffin 2003)

2.2.3 BCR/ABL1 füzyon geni:

ABL1 geninde kırık 5' ucunun 300 kb'lık bir bölge içerisindeki farklı bölgeler üzerinde görülebilmektedir. En sık gözlenen kırıklar ise 1. ekzonlar

arasındaki intron bölgesi üzerinde meydana gelmektedir. BCR geninde ise kırıklar sıklıkla 3 farklı noktada gerçekleşir. Bu kırık bölgeleri:

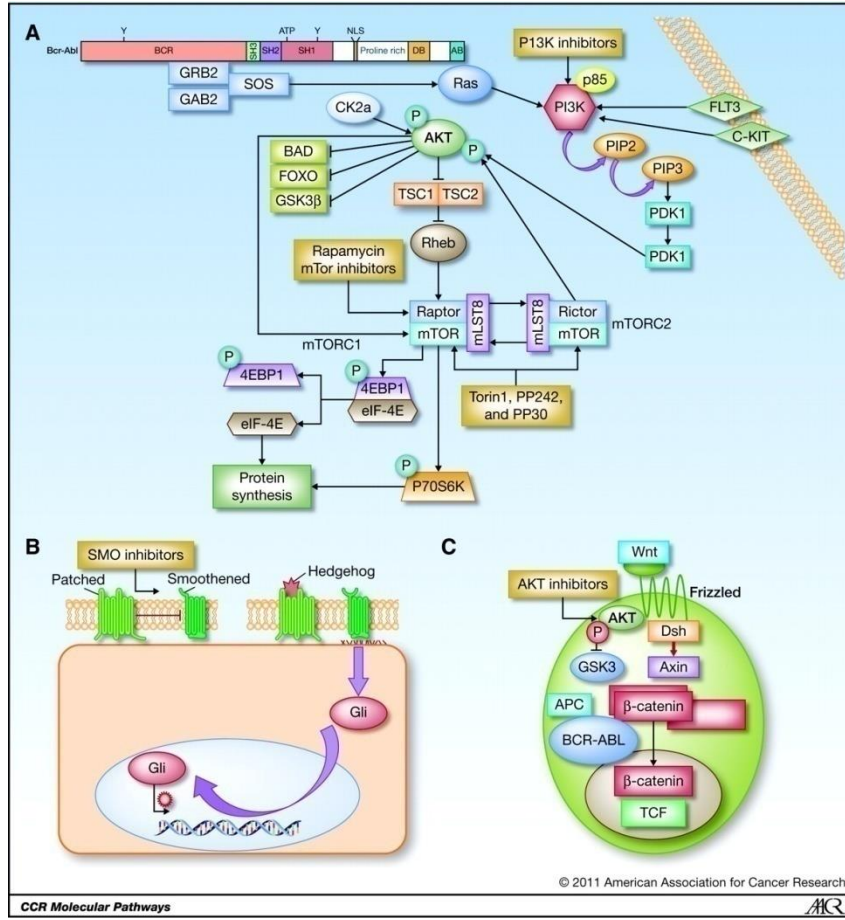
1. KML hastalarının %95'inde ve Ph+ ALL hastalarının yaklaşık 3'te 1'inde kırık Majör BCR (M-BCR) denilen bölgede gözlenir ve sıklıkla ya 13. ekzondan (e13-b2) ya da 14. ekzondan (e14-b3) sonraki intronda meydana gelir. Her iki durumda da 210 kd ağırlığında bir füzyon proteini oluşur ve bu kimerik protein ve p210 BCR-ABL1 olarak adlandırılır. (Sattler & Griffin 2003)

2. p190 BCR-ABL1(minör) olarak adlandırılan kimerik proteinin oluşmasına neden olan kırık Ph+ ALL hastalarının 3'te 2'sinde, KML ve AML hastalarının çok az bir kısmında görülen hibrid transkript e1a2 birleşimini içeren ve 190 kd ağırlığında bir protein kodlanmasına yol açar. (Melo & Deininger 2004)

3. KML olgularının çok az bir kısmında üçüncü kırık noktası mikro BCR(μ -BCR) olarak adlandırılır ve 19. ekzondan (c3) sonra gelen bölgede oluşur. Hibrid transkript e19a2 birleşiminden oluşur ve 230 kd ağırlığındaki p230 BCR-ABL1 proteinini kodlar. (Melo & Deininger 2004)

2.2.4 BCR/ABL1 füzyon geninin patogenezi:

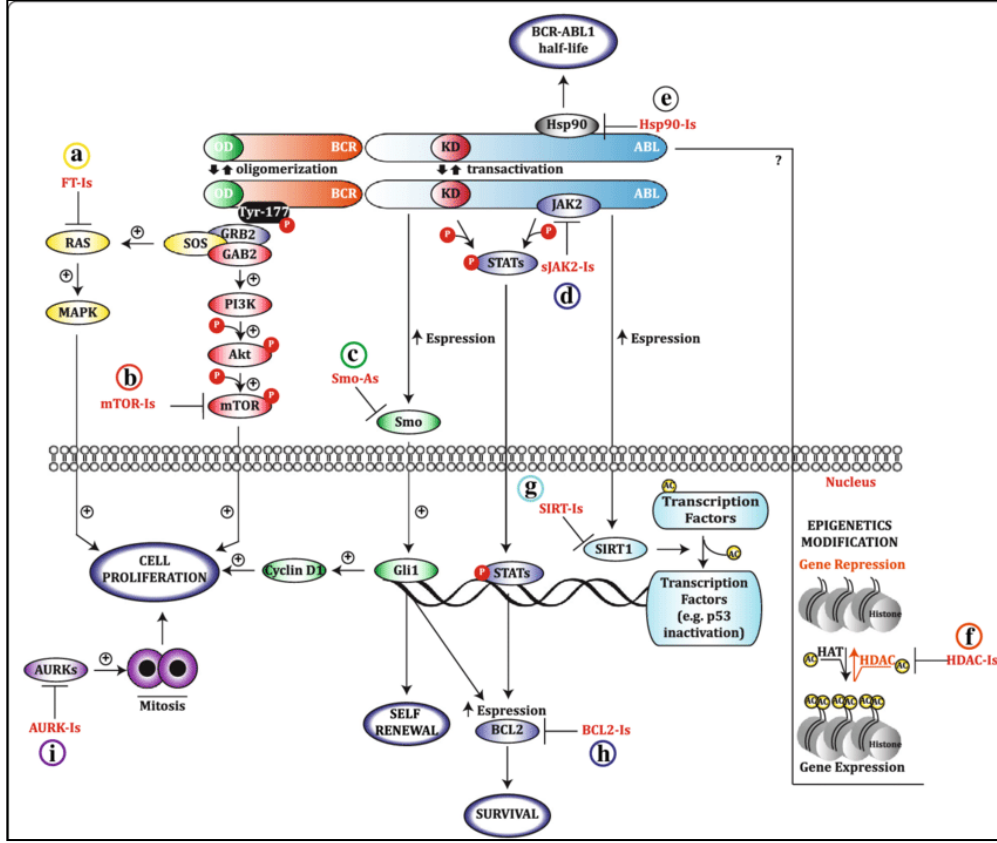
BCR ve ABL1 füzyon geninden oluşan kimerik protein BCR üzerindeki oligomerizasyon bölgesiyle füzyon proteini, dimerizasyona ya da tetramerizasyona uğrar. İlk önce BCR üzerinde 177. Pozisyonda bulunan tirozin aminoasitinin otofosforilasyonunu gerçekleştirmektedir. Sonrasında ABL1 üzerinde bulunan tirozinlerin transfosforilasyonunu sağlar. Bu sayede ABL1 kinazı herhangi bir dış etki olmadan aktive olur.(Goldman & Melo 2008) Fosforile olan tirozinler bölgeleri hedef proteinler üzerinde bulunan SH2 bölgeleri ile birleşmeye yönelik yapısal değişim geçirirler. Böylece BCR-ABL1 hücre içinde farklı görevleri olan sinyal iletim molekülleri ile etkileşime girer.(Balcı 2009) Bu etkileşim birçok sinyal yolağının aktivasyonu veya deaktive olması şeklinde devam etmektedir. Bu yollarından ve aktivasyonlarına dair mekanizmalar çalışmanın devamında açıklanacaktır.



Şekil 2.3: KML’de gözlenen füzyon geninin moleküler sinyal yolları ile olan genel etkileşimi.(Cilloni & Saglio 2011)

2.2.4.1 Mitojenik sinyal yollarının aktivasyonu:

BCR-ABL1 füzyon geninin hematopoetik kök hücre transformasyonu üzerine etkileri RAS, PI3K, STAT5 ve Myc sinyal yollarının aktivasyonu üzerinden gerçekleşir. (Balcı 2009)



Şekil 2.4: BCR/ABL1 füzyon proteininin sinyal yolları üzerindeki etkisinin şematik gösterimi. (Massimino vd. 2018)

2.2.4.2 Programlanmış hücre ölümü (Apoptoz) inhibisyonu:

BCR-ABL1 füzyon genini taşıyan hücreler, apoptoza karşı direnç göstermektedir. Dirence neden olan mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır ancak araştırmacılar füzyon proteininin sitokrom C salınımını engellediğini ve bunun kaspaz aktivasyonunu neden olduğunu bu sayede hücrelerin apoptoza karşı dirençli olabileceklerini düşünmektedirler. Kaspaz aktivasyonu aynı zamanda Bcl-2 protein ailesi tarafından da düzenlenmektedir ve Bcr-Abl1 füzyon protein, RAS ile PI3k sinyal yollarını kullanarak Bcl-2 aktivasyonun kontrolünde rol oynar. (Martõ-An-Zanca & SaAnchez-GarcõAa 1997) KML pozitif hücrelerde bir antiapoptotik protein olan BclXL transkripsiyonu da STAT5 aracılığıyla aktive edilir. (Kırkızzlar 2012)

2.2.5 Füzyon geninin azalmış adezyon ile bağlantısı:

KML hematopoeitik progenitor hücrelerinin kemik iliği stromasına ve ekstraselüler matrikse olan adezyonunu azaltmaktadır. Bu adezyonun hücrelerin çoğalması üzerinde düzenleyici bir etkisi bulunduğu bilinmektedir. Bu nedenle KML pozitif hücreler dolaylı yoldan hücre bölünmesi yönünden pozitif bir avantaja sahip olmaktadır. Stroma ve öncü hücreler arasındaki bu ilişkide β -integrinler aracılığıyla sağlanır. KML pozitif hücrelerde, adezyonu inhibe edici özelliğe sahip bir β -integrin proteinini kodlandığı ortaya konmuştur. Ayrıca BCR-ABL1 fosforilasyonu sonucu oluşan Crk1, paksillin, Fak (fokal adezyon kinaz), p130 Cas ve Hef1 hücre motiliteyi ve integrin ilişkili hücre adezyonunu düzenlemektedir. (Deininger, Vieira, Mendiola, Schultheis, Goldman & Melo 2000)

2.3 KML’de Gözlenen Sitogenetik Anomaliler:

KML’de standart beklenti 9. ve 22. kromozomlar arasında gözlenen resiprokal translokasyon sonucu oluşan anormal 22. numaralı philadelphia kromozomudur. Philadelphia kromozomu morfolojik yapısı normal homologuna kıyasla sitogenetik incelemede farkedilebilecek kadar küçüktür. KML’den sorumlu BCR-ABL1 füzyon onkogenide bu kromozom üzerinde yer almaktadır. Bu klasik translokasyon tüm KML hastalarında saptanmakla birlikte hastalığın tüm evrelerinde de gözlenmektedir. (Kantarjian, Talpaz, Giles, O’Brien, Cortes 2013)

KML’deki t(9;22)(q34;q11) resiprokal translokasyona yönelik bazı teoriler bulunmaktadır. Bu teorilerden birisi, kromozomlardaki bu kırık ve birleşmenin tamamen tesadüfi gerçekleştiği yönündedir. Ortaya çıkan onkogenik ürün hücreye selektif büyüme yönünde avantajı kazandırmaktadır. Bu nedenle translokasyonu taşıyan hücrelerin hayatta kalma şansları artar.

Ph kromozomunun B ve T lenfositler dahil olmak üzere tüm kan hücrelerinde bulunur. Bu durum neoplastik formdaki klonun ilkel bir pluripotent kök hücre üzerinden kaynaklandığına dair bir kanıt teşkil etmektedir.

Başka bir teori ise translokasyonun tesadüfi olmadığını ve özellikle iyonize radyasyon maruziyetinin KML olgu insidansını arttırdığını kaynak göstererek savunur. Bununla birlikte radyasyon etkisiyle meydana gelen kırıklar özellikle hot-spot olarak kabul gören noktalarda gözlenir.

Hücre bölünmesinin interfaz aşamasında 9 numaralı ve 22 numaralı kromozomların hücre içerisindeki topografik yerleri birbirlerine oldukça yakın olduğu gözlenmiştir. Bu yakınlığın spesifik olarak bu translokasyon mekanizmasında yanlış birleşmeye yatkınlık oluşturabileceği düşünülmektedir. (Melo & Deininger 2004)

KML'de beklenen kromozomal anomali philadelphia kromozomu olmasına karşın hastalarda philadelphia kromozomuna ek başka anomaliler de gözlenebilir. Klasik translokasyona ek olguların %15'inde derivatif 9. kromozom üzerinde gözlenen interstisyel delesyonlar dikkat çekmektedir. Delesyonu bulunan hastalarda prognozun kötüye gittiği gözlenmiş ancak imatinib yaygınlaşması sonrasında çalışmalar hastaların genel sağkalımlarının bu delesyonlarla ilişkisiz olduğu yönünde bildirilmiştir. (Melo & Deininger 2004)

Olguların %5 ila %10 kadarında 3. bir kromozomun bulunduğu varyant translokasyonlar gözlenir. Oluşan bu varyant translokasyon sıklıkla; 1p36, 3p21, 5q13, 6p21, 9q22, 11q13, 12p13, 17p13, 17q21, 17q25, 19q13, 21q22, 22q12 ve 22q13 bölgeleri eşlik etmektedir. (Johansson, Fioretos, Mitelman 2002)

2.4. KML'de Major Ve Minör Yolak Anomalileri:

Sitogenetik varyant translokasyonlar dışında farklı kromozomal anomaliler görmekte mümkündür. Bu anomaliler anomaliler ACA olarak tanımlanmaktadır ve 2 farklı kategoride incelenirler. Major yolak anomalileri olarak sınıflandırılan anomaliler: trizomi 8, ilave bir ph kromozomu, ve izokromozom 17q gözlenir. Bu grupta belirtilen anomaliler dışında kalanlar ise minör yolak olarak sınıflandırılmıştır. Bu grupta sıklıkla 7 numaralı ve 17 numaralı kromozomların trizomisi, 17 ve 21 numaralı kromozomların kaybı ile

cinsiyet kromozomu kayıpları tanımlanır. KML hastalarının yaklaşık %15'lik kısmında major, %10 civarındaki bir kısmında da minör yolak anomallileri gözlenir. (Safaei vd. 2018; Cortes vd. 2003; Fabarius vd. 2011)

Bu ek anomaliler klonal evrim olarak tanımlanmıştır ve tanı anında bu anomalilerin görülmesi kötü prognostik olarak ve kısa sağkalımla ilişkilendirilmiştir. (Safaei vd. 2018; Cortes vd. 2003; Fabarius vd. 2011) Tedavi esnasında ortaya çıkan anomalilerin ise kötü prognostik olarak yorumlanmaması gerektiği belirtilmekte birlikte tedavide kullanılan kemoterapik ilaçların neden olduğu düşünülen bu anomalilerin tedavi sürecinde kaybolduğu bildirilmiştir.(Wang, Chen, Hu, Yin, Li, Bai & Bueso-Ramos 2016)

2.5 KML'de Tedaviye Moleküler Bakış

Standart tedavide hastalar oral yoldan imatinib ile tedavi edilmektedirler. Imatinibe intoleransı olan veya imatinibe direnç geliştiren hastaların ise nilotinib ile tedaviye devam etmesi önerilmektedir. Nilotinib ayrıca kronik faz dışında akselere fazın tedavisinde de kullanılmaktadır. İleri evre KML vakalarında (akselere veya blastik kriz fazı) 100mg dasatinib ile tedavi önerilmektedir. (Greer, Foerster, Lukens, Rodgers, Frixos & Bertil 2003).

2013 yılında yayınlanan ELN(Avrupa Lösemi Net) kılavuzunda yanıt değerlendirilmesi optimal yanıt, uyarı ve yanıtız olarak üçe ayrılmıştır

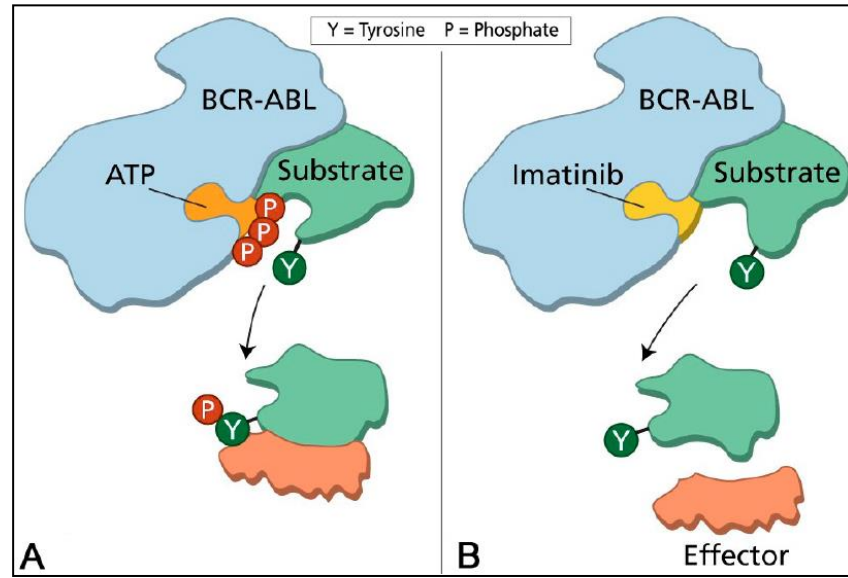
Hematolojik değerlendirme: Tanı sonrasında tam hematolojik yanıt sağlanana kadar 15 günde bir, daha sonra en az 3 ayda bir veya gerek olduğunda yapılmalıdır.

Sitogenetik değerlendirme: Tanıda, 3. ve 6. ayda, tam sitogenetik yanıt elde edilmesine kadar 6 ayda bir, TSY elde edilmesini takiben 12 ayda bir (düzenli moleküler izlem yapılamıyorsa) RT-QPCR ile moleküler izlem: MMY (MY3.0 veya daha derin yanıt) elde edilmesi ve doğrulanmasına kadar 3 ayda bir, daha sonra 3-6 ayda bir yapılmalıdır.

Moleküler mutasyon analizi: Yanıtsızlık durumunda ve diğer tirozin kinaz inhibitörleri veya başka tedavilere geçmeden önce daima bakılmalıdır.

2.6 KML Tedavisinde Kullanılan Tirozinkinaz İnhibitörlerinin Çalışma mekanizmaları:

Tirozin kinazlar ATP'den fosforu koparıp tirozin amino asidine transfer eden enzimlerdir ve hücre büyümesi, proliferasyonu, apoptozisi ve hücre içi uyarı iletiminde önemli rol oynar.(Massimino vd. 2018) KML'de meydana gelen füzyon proteininin yapısında bulunan SH2 bölgeleri kendi kendilerini otofosforillenme özelliğine sahiptirler. Bu nedenle hastalarda kontrolsüz bir hematopoetik hücre proliferasyonu gözlenir. Geliştirilen tirozin kinaz inhibitörleri SH2 bölgelerine bağlanarak ATP'lerin bu aktivasyon bölgelerine bağlanmasını bloke etmeye çalışırlar. Bu bölgeye çok yakın bir konumda bulunan aspartat, fenilalanin, glisin aminoasit kombinasyonunun olduğu bölgeye bağlanan imatinib, füzyon proteininin aktivitesini durdurmaktadır. Ancak bağlanması için Abl kinazın inaktif konumda bulunması gerekmektedir.(Tuğlu & Melli 2012)



Şekil 2.5: İmatinibin çalışma mekanizmasının basit şematik gösterimi. (Mughal & Goldman 2006)

Kritik noktada gözlenebilen mutasyonlar imatinibe karşı dirence neden olur. Direnç geliştiren hastalarda kullanılmak üzere 2. ve 3. kuşak tirozin kinaz inhibitörleri tasarlanmıştır. İkinci jenerasyondan olan nilotinibin çalışma mekanizması imatinibe çok benzemektedir. Nilotinib de imatinib gibi Abl kinazın yalnızca inaktif olduğu durumlarda hedefine bağlanabilmektedir. Nilotinib imatinibden 10-25 kat daha güçlü olduğu bildirilmiş ve imatinibe karşı dirence neden olan mutasyonların bazılarında yanıt verebilmektedir.(Tuğlu & Melli 2012)

Dasatinib imatinib ve nilotinibden farklı olarak Abl kinazın hem aktif hem inaktif bölgesine bağlanmaktadır. İmatinibe kıyasla 100-300 kat daha potent bir ilaçtır. İmatinibe karşı direnç gösteren hastalarda kullanılabilir. Ancak T3151 mutasyonuna karşı dasatinibin etkisiz olduğu literatürde bildirilmiştir. (Tuğlu & Melli 2012)

Bununla birlikte Avrupa birliğinde kullanılmak üzere FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından hastaların kullanımına onay verilmiş toplamda 5 adet tirozin kinaz inhibitörü bulunmaktadır. Bunlar imatinib, dasatinib, nilotinib, bosutinib ve ponatinibdir.

3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 –Hasta Grubu Seçimi:

Çalışmamızda 2009 ile 2019 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı'nda tanı almış, ESOĞÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda konvensiyonel sitogenetik ve FISH analizleri yapılmış hastaların, sitogenetik ve FISH raporlarına arşivden ulaşılmıştır.

Konvensiyonel sitogenetik (KS) ve FISH çalışmaları sonucunda philadelphia kromozomunun (Ph) saptanması hastanın KML tanısı alması için gerekli kabul edilmektedir. Biz çalışmamıza Ph kromozomuna ek FISH veya KS analizlerinin en az birinde saptanan ek bir kromozomal anomali bulundurması veya varyant sinyal saptanması kriterini sağlayan toplamda otuz altı olguyu dahil ettik.

Hastalar bu kriterle seçilmiş olup, hastaların tedavi süreçleri moleküler analizler ile incelenmiş, sonuçlarına ulaşılabilen hastaların klinik bilgileri çalışmamıza eklenmiştir. Sitogenetik ve moleküler sitogenetik düzeyinde yanıt gösteren hastalar devamında RT-PCR sonuçlarında BCR/ABL1 kimerik cDNA yüzdesine göre yanıt değerlendirilmesi 2013 yılında yayınlanan ELN(Avrupa Lösemi Net) kılavuzuna göre gerçekleştirilmiştir. Bu kılavuza göre 3 aya erişmiş takip sürecinde hematolojik yanıtın, 6 aylık takip sürecinde sitogenetik yanıtın, on iki aylık süreçte moleküler yanıtın varlığı iyi yanıtı olarak kabul edilmektedir.

3.2 Hasta Dosyalarının Toplanması:

Çalışmamıza dahil edilen hastaların sitogenetik ve FISH raporlarına bölümümüz ESOĞÜ Tıbbi Genetik Anabilim dalı arşivinden ulaşılmıştır. Olguların tedavi ve takip süreçleri ile ilgili ulaşılan veriler ve moleküler sitogenetik

raporları Eskişehir Osmangazi Üniversitesi hastanesinde kullanılmakta olan ENLİL isimli hasta giriş portalı taranarak elde edilmiştir.

4- BULGULAR:

Bölümümüz Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda KML olgularında saptanan varyant t(9;22) ve ekstra kromozomal anomalilerin (Additional cytogenetic abnormalities:ACA) oranını ortaya koymayı ve buna ek olarak saptadığımız major ve minör yolak anomalilerinin tedaviye etkilerini literatür bilgileri ile kıyaslamayı amaçladığımız çalışmamızda dört yüz elli iki KML hastasının raporları incelenmiştir. Varyant t(9;22) ve philadelphia kromozumuna ek kromozomal anomali saptanan otuz altı olgu (Tablo 4) çalışmaya dahil edilmiştir.

Tüm KML olgularımızda ACA saptanma oranı %8 olarak ortaya konmuştur. Otuz altı olgumuzun 8'i kadın (%22) ve yirmi sekizi (%78) erkektir. Olgularımızın yaş aralığı 22 ile 83 arasında değişmektedir. Tanı anındaki ortalama yaşları ise 48.61 olarak ortaya konmuştur.

4.1 – Sitogenetik Ve FISH Sonuçları

Tüm analizler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na gelen kemik iliği numunelerinden gerçekleştirilmiştir. Sitogenetik anomali olarak hastalarda kromozom kayıp ve kazanımlarının yanı sıra kompleks yeniden düzenlenmelerde görülmüştür. FISH bu kazanım ve kayıpların ortaya çıkarılmasında kullanılmış olsa da varyant t(9;22)'lerde translokasyona katılan kromozomları açığa çıkarmak için tek başına yeterli değildir. Ayrıca t(9;22) translokasyonuna ek olarak BCR ve ABL1 genlerinin kayıpları da FISH analizlerinde ortaya konmuştur. Hastalarımıza ait bulgular tablo 4.1'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1: Olgularımıza ait cinsiyet, yaş, KS ve FISH sonuçları:

Olgu no	Cinsiyet	Konvansiyonel Sitogenetik sonucu	T(9;22) için FISH Sonucu (sinval paterni)
1	E	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[16]/46,XY[6]	%15.51 (2f/1k/1y) %6.93 (1f/1k/1y)
2	E	-	%78 (2f/1k/1y) %21 (1f/1k/1y)
3	E	-	%6 (2f/1k/1y) %5 (1f/1k/1y)
4	K	-	%32 (2f/1k/1y) %64 (1f/1k/1y)
5	E	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[5]	%66 (1f/1k/1y) %31 (2f/1k/1y)
6	K	46,XX,t(9;22)(q34;q11)[16]/46,XX[2]	%14 (1f/1k/1y) %7 (2f/1k/1y)
7	E	-	%62 (2f/1k/1y) %34 (1f/2k/2y)
8	E	-	%68 (1f/2k/2y) %29 (2f/1k/1y)
9	E	-	%62 (2f/1k/1y) %34 (1f/2k/2y)
10	E	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[8]	%16 (1f/2k/2y) %81 (2f/1k/1y)
11	E	-	%86.95 (1f/2k/2y)
12	K	46,XX,t(9;22)(q34;q11)[16]/47,sl,+mar[2]/46,XX[1]	-
13	E	-	%79 (2f/2k/1y) (ABL1 trizomisi)

Olgu no	Cinsiyet	Konvansiyonel Sitogenetik sonucu	T(9:22) için FISH Sonucu (sinyal paterni)
14	E	-	%93.54 (1f/1k) BCR delesyonu
15	K	46,XX,t(9;22)(q34;q11)[5]	%98.5 (1f/1k/2y) (9q34 delesyonu)
16	E	-	%99 (1f/1k/2y) %5 (1f/1k/1y)
17	E	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[22]	%98 (1f/2k/1y)
18	E	-	%52 (2f/1k/1y) %46 (1f/2k/2y)
19	E	46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[19]/47,s1,+der(22)t(9;22)[4]	%87 (2f/1k/1y) %10 (3f/1k/1y)
20	K	-	%95.78 (1f/2k/1y)
21	E	-	%99.05 (3f/1k/1y)
22	E	47,XY,t(9;22)(q34;q11),+der(22)t(9;22)[5]	%8.33 (2f/1k/1y) %33.87 (3f/1k/1y)
23	K	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[15]/47,s1,+9[6]	%97 (2f/2k/1y)
24	K	47,XX,t(9;22)(q34;q31),+der(22)t(9;22)[20]	%40.27 (2f/1k/1y) %56.10 (3f/1k/1y)
25	E	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[8]/47,s1,+8[2]/46,XY[10]	-
26	E	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[18]/45,X,-Y,t(9;22)(q34;q11)[6]	%99 (2f/1k/1y)

Olgu no	Cinsiyet	Konvansiyonel Sitogenetik sonucu	T(9:22) için FISH Sonucu (sinyal paterni)
27	E	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[10]/47,sl,+der(22)t(9;22)[2]/46,XY[10]	%18.69 (2f/1k/1y)
28	E	46,XY,t(9;22)(q34;q31)[4]/46,XY,t(5;9;22;7)(q31;q34;q11;q31)[2]/46,XY[14]	%99 (2f/1k/1y)
29	E	İlk tanı	%23 MYB trizomi Ph negatif
		1. takip	%12.44 trizomi 8 %3.84 (2F/1K/1Y)
		2. takip	%26.47 MYB Tri %9.56 (2F/1K/1Y)
30	K	45,X,-Y,t(9;22)(q34;q31)[20]	%98.21 (2f/1k/1y) %98.13 Ykaybı
31	E	-	%14 (1f/1k/1y) %8 9q34 delesyon
32	K	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[2]/46,X,-Y,+8,t(9;22)(q34;q11)[1]	%57 (2f/1k/1y) %11 tri8 %32 Y kaybı
33	E	46,XY,t(9;22;1)(q34;q11;p36.2?) [5]	%46 (1f/1k/1y)
34	E	47,XY,+8,t(9;22)(q34;q11)[8]	%81 trizomi 8 %58 (1f/1k/1y)
35	E	-	%99.5 (3f/1k/1y)
36	E	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[8]	%91 (2f/1k/1y)

∴ Başarısız

Tüm olguların raporlarını incelediğimizde;

Çalışmaya dahil edilen otuz altı hastamızın 6 tanesinde (olgu no:1,2,3,4,5 ve 6) klasik t(9;22) pozitif sinyal paternine (2F/1K/1Y) ilave olarak 1F/1K/1Y sinyal paterni, 5 tanesinde (olgu no: 7, 8, 9, on ve on sekiz) 1F/2K/2Y sinyal paterni gözlemlendi (Tablo 4.1). Bu on bir olgunun 8'inde sitogenetik çalışma başarısızlıkla sonuçlanmış olup, geriye kalan 3 olgunun sitogenetik analizlerinde klasik t(9;22) saptanmıştır, İlave sinyal paterninin nedeni açıklanamamıştır.

Olgularımızın 6 tanesinde (olgu no: on dokuz, yirmi bir, yirmi iki, yirmi dört, yirmi yedi ve otuz beş) ilave bir philadelphia kromozomu saptanmıştır (tablo 4.1)(şekil 5.1)

Olgularımızın 4 tanesinde (olgu no: yirmi beş, otuz iki, otuz dört ve otuz altı) ise philadelphia kromozomuna ek olarak 8 numaralı kromozomun trizomisi gözlemlenmiştir. (tablo 4.1) Bahsi geçen 4 olgunun içinde otuz iki numaralı olgumuzun sitogenetik analizlerinde trizomi 8 anomalisine Y kromozom kaybının eşlik ettiği(şekil 5.2) saptanmıştır.

Olgularımız içerisinde 3 hastamızda varyant t(9;22) saptanmıştır. Bunlardan 2 tanesinde varyant t(9;22) sitogenetik analizle ile aydınlatılmıştır (şekil 5.3)(olgu noları yirmi sekiz ve otuz üç). Bir hastada (olgu no: yirmi) ise sitogenetik analizi kromozom kalitesinin kötü olması sebebiyle başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Ancak metafaz plağında gözlenen FISH sinyalleri ile bir C grubu kromozomunun dahil olduğu varyant bir t(9;22) gözlemlenmiştir. Konvansiyonel sitogenetik ile saptanan varyant translokasyonlardan birine 3 kromozomun dahil olduğu, diğer translokasyona ise 4 kromozomun katıldığı saptanmıştır. (tablo 4.1).

FISH analizlerinde 3 olgumuzda (olgu no: on bir, on altı, on yedi) (tablo 4.1) beklenen sinyal paterninin dışında varyant bir yeniden düzenlenmeye ait olduğunu düşündüren sinyal paterni gözlemlenmiştir. Ancak on bir ve on altı numaralı olgularımızın sitogenetik analizlerinin başarısız olması sebebiyle

sitogenetik olarak t(9;22) tanımlanamamıştır. Olgu numarası on yedi olan hastamızın da FISH analizi sonucunda 1f/2k/1y sinyal paterni gözlenmiş ancak sitogenetik analizleri sonucunda ise klasik t(9;22) saptanmıştır.

İki olgumuzda (olgu no: on beş ve otuz bir) FISH analizi sonucunda 9q34 bölgesinin kaybı gözlenmiştir(şekil 5.5) ancak sitogenetik analiz sonuçlarının normal olduğu saptanmıştır.

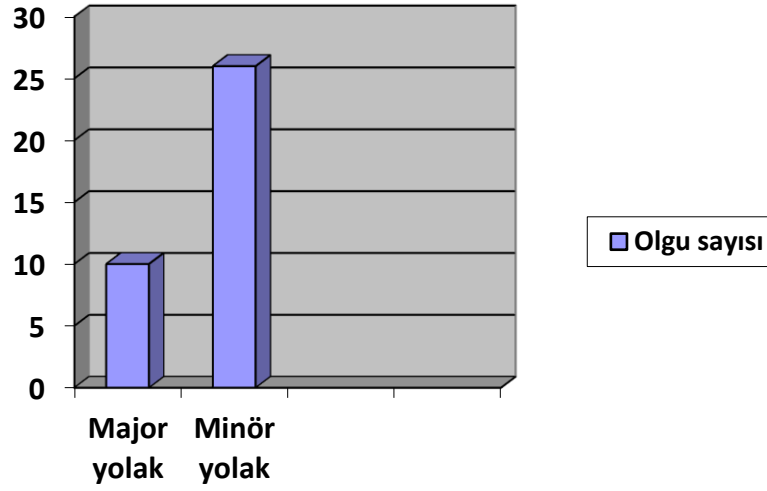
Erkek hastalarımızdan 2'sinde (olgu no: yirmi altı ve otuz) Y kromozom kaybı Ph kromozomuna ek olarak gözlenmiştir.

Bunlar dışında;

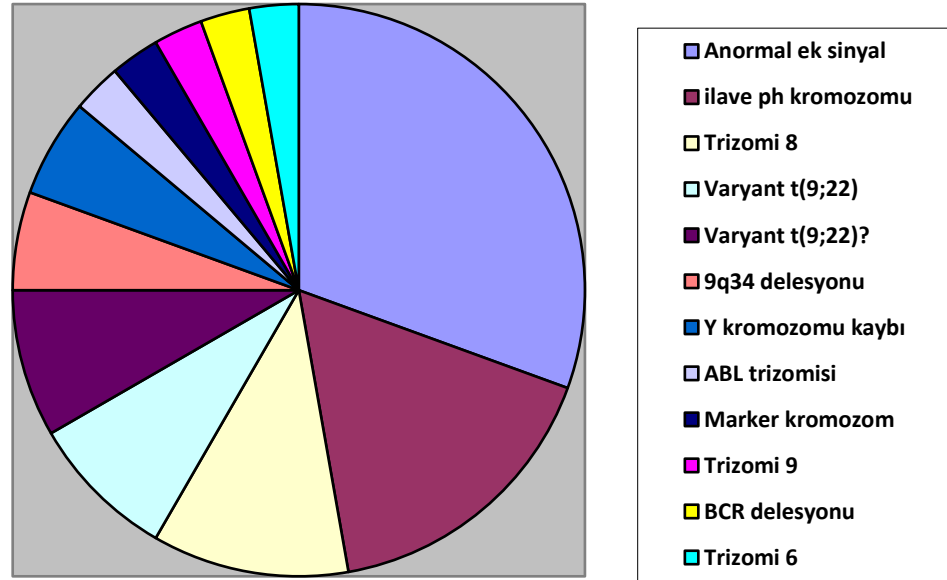
Bir olgumuzda (olgu no: on üç) ABL gen bölgesinin trizomisini gözledik. Hastanın sitogenetik analizlerinden sonuç alınamamıştır. Bir olgumuzda (olgu no: yirmi üç) trizomi 9, bir diğer olgumuzda (olgu no: on iki) ise marker kromozomu saptanmıştır. Bir hastamızda (olgu no: on dört) BCR gen bölgesinin delesyonu gözlenirken, olgu yirmi dokuzda da 6 numaralı kromozomun trizomisi saptanmıştır.

Olgularımızın on tanesinde (%28) major yolak anomalisi gözlenmiştir. Bu major yolak anomalileri trizomi 8 veya ilave Ph kromozomudur(tablo 4.1). Major yolak anomalisi olarak bilinen i(17q) ve trizomi 19'u ise bizim vaka serimizde gözlenmemiştir.

Minör yolak anomalisi konusunda literatürde bir birlik bulunmamaktadır. Genel olarak major yolak anomalisi dışında kalan sayısal ve yapısal anomaliler minör yolak anomalisi kabul edilmektedir. Olgu serimizdeki hastaların yirmi altı tanesinde (%72) minör yolak anomalisi saptanmıştır.



Şekil 4.1: Olgu serimizin içerisinde minör ve major yolak anomalilerinin sayısal olarak grafikte gösterimi



Şekil 4.2: ACA saptanan 36 hastanın anomali türlerinin dairesel grafikte gösterimi

Ek olarak hasta serimizde on sekiz hastaya moleküler analiz sonuçlarına erişilmiştir. Bu bilgilerle hastalarımızın tedaviye yanıt düzeyi ve tedavi izlem süresi kıyaslaması tablo 4.2'de yer almaktadır.

Tablo 4.2: Hastalara ait moleküler analiz sonuçları, yanıt düzeyi/takip süresi bilgileri ve tedavide kullanılan ilaç bilgileri:

Olgu no:	Konvansiyonel Sitogenetik sonucu	Ph için FISH sonucu	Takip süresi (ay)	Tedaviye yanıt
19	46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[19]/47,sl,+der(22)t(9;22)[4]	%87 (2f/1k/1y) %10 (3f/1k1y)	50	Moleküler yanıt var
20	-	%52 (1f/1k/1y) %46 (1f/1k/2y)	48	Moleküler yanıt var
21	-	%99.05 (3f/1k/1y)	24	Moleküler yanıt var
22	47,XY,t(9;22)(q34;q11),+der(22)t(9;22)[20]	%8.33 (2f/1k/1y) %33.87 (3f/1k/1y)	44	Yanıt kaybı
23	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[15]/47,sl,+9[6]	%97 (2f/2k/1y)	32	Moleküler yanıt var
24	46,XX,t(9;22)(q34;q31),+der(22)t(9;22)[20]	%40.27 (2f/1k/1y) 56.10 (3f/1k/1y)	47	Moleküler yanıt var
25	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[8]/47,sl,+8[2]/46,XY[10]	-	38	Moleküler yanıt var
26	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[18]/45,X,-Y,t(9;22)(q34;q11)[6]	%99 (2f/1k/1y)	53	Moleküler yanıt yok
27	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[10]/47,sl,+der(22)t(9;22)[2]/46,XY[10]	%18.69 (2f/1k/1y)	38	Moleküler yanıt var
28	46,XY,t(9;22)(q34;q31)[4]/46,XY,t(5;9;22;7)(q31;q34;q11;q31)[2]/46,XY[14]	%99 (2f/1k/1y)	34	Moleküler yanıt var

Olgu no:	Konvansiyonel Sitogenetik sonucu		Ph için FISH sonucu	Takip süresi (ay)	Tedaviye yanıt
	Tanı adı				
29		47,XY,+6[8]/46,XY[12]	%23 MYB trizomi Ph neg.	43	Yanıt yok
	İlk takip	47,XY,+8[2]/46,XY[4]	%12.44 trizomi 8 %3.84 (2F/1K1Y)		
	İkinci takip	47,XY,+6[2]/46,XY[5]	%26.47 MYB Tri %9.56 (2F/1K1Y)		
30	-	-	%98.21 (2f/1k/1y) %98.13 Y kaybı	45	Yanıt yok
31	-	-	%14 (1f/1k/1y) %8 9q34 delesyon	47	Moleküler yanıt var
32		47,XY,t(9;22)(q34;q11),+der(22)t(9;22)[20]	%57 (2f/1k/1y) %11 tri8 %32 Y kaybı	21	Moleküler yanıt var
33		46,XY,t(9;22)(q34;q11)[15]/47,sl,+9[6]	%46 (1f/1k/1y)	20	Moleküler yanıt yok
34		46,XX,t(9;22)(q34;q31),+der(22)t(9;22)[20]	%81 trizomi 8 %58 (1f/1k/1y)	7	Kardiyak arrest EX Yanıtsız
35		46,XY,t(9;22)(q34;q11)[8]/47,sl,+8[2]/	%99.5 (3f/1k/1y)	17	Moleküler yanıt var
36		46,XY,t(9;22)(q34;q11)[8]	%91 (2f/1k/1y)	43	Moleküler yanıt var

-.: başarısız

Çalışmamızda olgularımızın tedavilerindeki etki düzeyini gözlemek amacıyla ELN (Avrupa Lösemi Net) kılavuzunda yanıt değerlendirme kriterleri kullanılmıştır. Bu klavuza göre 3 aya erişilmiş takip sürecinde hematolojik yanıtın, 6 aylık takip süresinde sitogenetik yanıtın, on iki aylık süreçte ise moleküler yanıtın varlığı iyi yanıtı olarak kabul edilmiştir.

Tedavi bilgilerine ulaşılmış 18 olgumuzun takip süreleri en kısa 7 ay en uzun ise elli üç ay olmak üzere ortalama otuz altı ay olarak ortaya konulmuştur.

5- TARTIŞMA

Çalışmamızdaki birincil amacımız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na 2009 ile 2019 yılları arasında gelen KML olgularında saptanan varyant t(9;22) ve ilave kromozomal anomalilerin (Additional cytogenetic abnormalities:ACA) oranını ortaya koymaktır. Buna ek olarak saptadığımız major ve minör yolak anomalilerinin tedaviye etkilerini literatür bilgileri ile kıyaslamak da amaçlarımız arasında yer almaktadır. Çalışmamız 2009-2019 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı'nda KML tanısı almış ve ESOĞÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na yönlendirilmiş hastalara ait dosyaları ve hastane bilgi sistemindeki hasta bilgileri incelenerek gerçekleştirilmiştir.

Kronik myeloid lösemi yaşlı popülasyon arasında en sık gözlenen lösemi türlerinden birisi olmakla birlikte moleküler patogenezi iyi açıklanmış kanser türüdür. Hastalar tirozin kinaz inhibitörlerine iyi yanıt vermektedir. Ancak literatürde özellikle tanı anında gözlenen ilave anomalilerin, özellikle major yolak anomalilerinin saptandığı hastaların prognostik olarak kötü seyirli olabileceği belirtilmiştir.

Tüm KML olguları içerisinde ACA yakalama oranımız %8 olarak ortaya koyulmuştur. Bu sonuç literatürde paylaşılan %10-%15'lik görülme oranının altındadır. Bizim daha düşük oranda ACA saptamamızın sebebi sitogenetik testlerde analiz için yeterli kalite ve sayıda metafaz plağına ulaşamamış olmamızın etkisi olduğunu düşünmekteyiz. Hastalarda çalışılan FISH analizlerinin t(9;22)'ye spesifik olması nedeniyle, FISH yöntemi kullanılarak hedef bölgelerin dışında kalan ACA'ların tespit edilmesini mümkün olmamaktadır.

5.1 - Majör Yolak Anomalilerin Saptanma Sıklığı

Major yolak anomalileri hakkında literatürde bulunan ortak düşünce trizomi 8, ilave ph kromozomu ve izokromozom 17'nin major yolak anomalisi olarak kabul edilmesidir. (Safaei vd. 2018; Cortes vd. 2003; Fabarius vd. 2011) Bizim çalışmamızda da trizomi 8, ilave Ph kromozomu ve izokromozom 17'nin major yolak anomalisi olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda trizomi 8 ve ilave Ph kromozomu en sık gözlenen anomalilerdir. Toplamda major yolak anomalisine sahip 10 olgumuz bulunmaktadır. Bu major yolak anomalileri %40 oranında trizomi 8, %60 oranında ilave Ph kromozomu olarak saptanmıştır. (tablo 5.1) Literatüre bakıldığında benzer sonuçlar ile karşılaşmaktayız.

Literatür verilerinde genel olarak major yolak anomalisinin tüm ek anomalili olgu sayısına oranınının değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Alhuraiji ve arkadaşları %41, Safaei ve arkadaşları %18, Chen ve arkadaşları %46, Fabarius ve arkadaşları ise %22 oranında majör yolak anomalisi saptamışlardır.(tablo 5.1) Bizim çalışmamızda ise bu oran %28 olarak hesaplanmıştır ve verilerimizin literatür ile (Fabarius vd. 2011; Alhuraiji 2017) uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Literatürde major yolak anomalilerine sahip olgu gruplarının içerisinde en sık rastlanan anomali türü ilave bir philadelphia kromozomu olarak bildirilmiştir.(Safaei vd. 2018; Cortes vd. 2003; Fabarius vd. 2011; Alhuraiji 2017) Bizim çalışmamızda da literatür bilgisiyle benzer sonuçlar elde edilmiş olup, ek anomaliler içerisinde en sık rastladığımız anomali ek philadelphia kromozomu olmuştur. (tablo 5.1)

Tablo 5.1: Major yolak anomalilerinin literatür ile kıyaslanması:

Anomali -> Araştırmacı	+8	+Ph	i(17q)	+19	Major yolak anomalisine sahip hasta sayısı
Alhuraiji vd. (2017)	3(%25)	8(%67)	-	1(%8)	12
Safaei vd. (2018)	2(%50)	-	1(%25)	1(%25)	4
Chen vd. (2016)	76(%60)	71(%57)	29(%23)	-	125
Fabarius vd. (2011)	9(%56)	6(%37)	5(%31)	2(%12)	16
Bizim çalışmamız	4(%40)	6(%60)	-	-	10

5.2 Minör Yolak Anomalilerinin-Saptanma Sıklığı

Minör yolak anomalilerinde standart bir tanımlama olmadığı gibi literatürde bu anomaliler hakkında farklı düşünceler bulunmaktadır. (Fabarius vd. 2011) Genel tanımlama major yolak anomali dışında kalan anomalilerin minör yolak olarak tanımlanması şeklindedir.

Hasta serimiz incelendiğinde otuz altı olgumuzun yirmi altı tanesinde (%72) minör yolak anomali olduğu gözlenmektedir. Literatür verilerini incelendiğinde Ahurajji ve arkadaşlarının %59 (Ahurajji vd. 2017), Safaei ve arkadaşlarının %72 (Safaei vd. 2018), Chen ve arkadaşlarının %54 (Chen vd. 2016) ve Fabarius ve arkadaşlarının ise %54 (Fabarius vd. 2011) oranında minör yolak anomali saptadıkları belirlenmiştir(tablo 5.1). Çalışmamızda ortaya

koyulan %72 oranında minör yolak anomalisi saptama oranının literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

5.3 - Ek Anomalilerin Prognostik Seyri

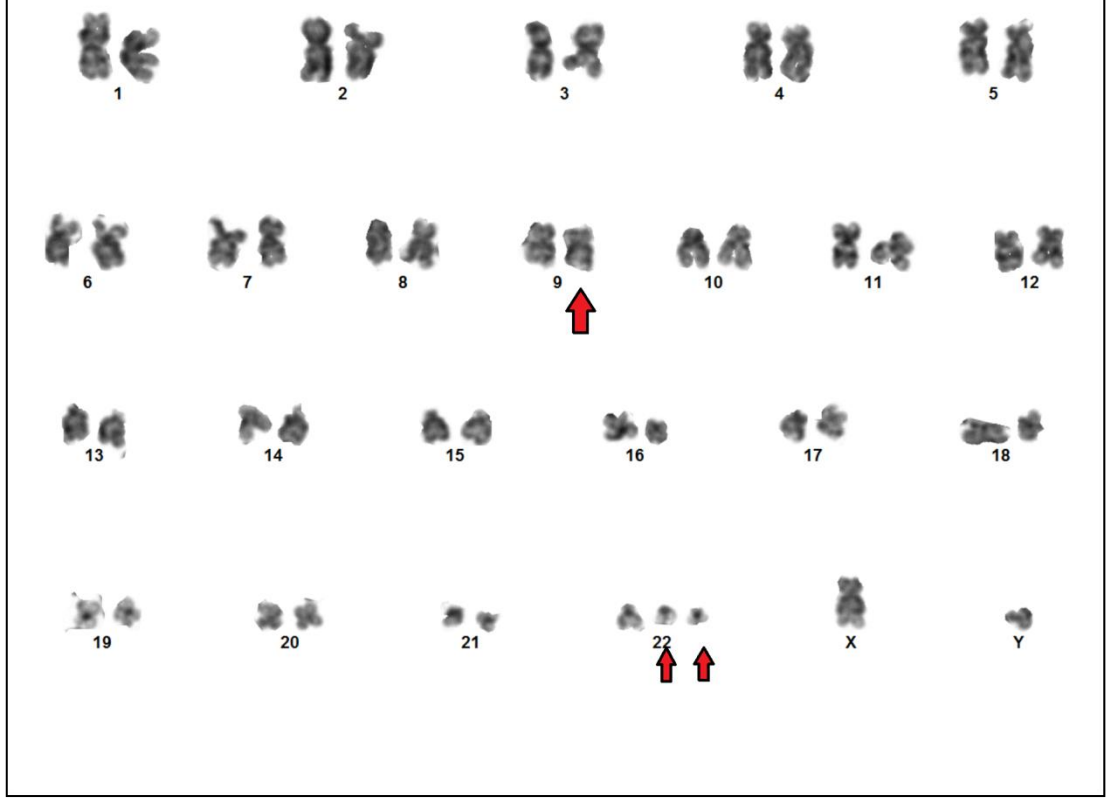
5.3.1. Olguların prognostik seyirlerinin literatür ile kıyaslanması:

Bu bölümde çalışmamızın sonucunda klinik bilgileri elde edilen on sekiz olguya ait verilere dayanılarak literatür ile karşılaştırılması yapılmıştır.

5.3.1.1. Major yolak anomalilerinin prognostik seyri:

5.3.1.1.1 İlave Ph kromozomu saptanan olguların prognostik seyri:

En fazla olgu sayısına sahip olan, ek philadelphia kromozomu saptanan olgu serisi kendi içlerinde kıyaslandığında 6 olgumuzun 4 tanesi (on dokuz, yirmi bir, yirmi dört, ve otuz beş numara) hastalarımızın ortalama otuz beş aylık takip süresinde moleküler yanıtı bulunmaktadır. İki olgumuzda (yirmi iki ve yirmi yedi numaralı olgular) moleküler yanıt alınmamıştır.



Şekil 5.1: İlave ph kromozomu gözlediğimiz 47,XY,t(9;22)(q34;q11),+der(22)t(9;22) karyotipine sahip yirmi iki numaralı olgumuzun karyotip görüntüsü:

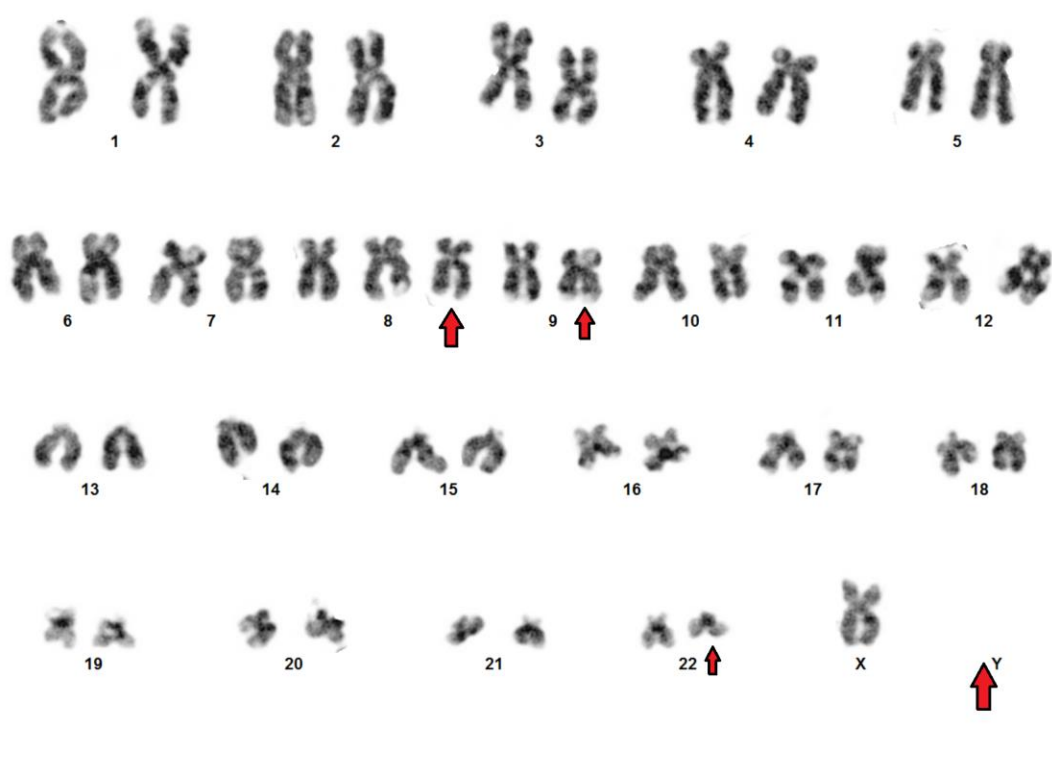
Alice Fabarius ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ek philadelphia kromozomu bulunduran hastaların %67'sinin (2/3) tedaviye kötü yanıt verdiğini belirtmişlerdir. Bizim olgu serimizde ise 2 hastanın kötü yanıt verdiğini gözlenmektedir. Kalan 4 hastamızın moleküler yanıt almaları iyi prognostik olarak değerlendirilmiştir ve hastalarımızın %67'sinin (4/6) tedaviye iyi yanıt verdiğini gözlenmiştir.

İlave philadelphia kromozomu anomalisi olan hastalarda beklenen kötü prognostik etki tamamen philadelphia kromozomunun fiziksel varlığı ile ilişkilidir. Moleküler patogenezi açıklandığı üzere kimerik BCR-ABL1 ürünü yapısındaki sürekli aktif SH2 bölgeleriyle hücreye selektif bir çoğalma avantajı kazandırır. Bir hücrede bu avantajı sağlayan 1 yerine 2 ürün olması normal

seyire göre daha ağır bir prognostik tablo beklentisine neden olmaktadır. Olgularımız arasında kötü prognostik değerlerin saptanması açısından literatür ile uyumlu olduğunu görmekteyiz. Ancak burada unutulmaması gereken durum olgu serilerindeki hasta sayılarının az olduğudur. Hasta serilerinin genişletilmesi ve istatistiksel olarak bir çalışma yapılması daha net ve tutarlı sonuçlar elde edilmesi açısından gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

5.3.1.1.2 Trizomi 8 saptanan olguların prognostik seyri:

Olgularımızın 4'ünde trizomi 8 ek anomalisi gözlenmiştir. Bu olgular arasında yer alan yirmi beş ve otuz iki numaralı hastaların otuz aylık takiplerinde moleküler yanıt alınmış ancak yirmi beş numaralı olgumuzda ikinci nesil tirozin kinaz inhibitörüne geçilmiş ve tedavi yanıtı alınmıştır. Ayrıca otuz iki numaralı olgumuz trizomi 8'e ek Y kromozomu kaybıda karyotipinde gözlenmiştir. Yirmi iki yaşındaki otuz altı numaralı olgunun da kırk üç aylık takibinde moleküler yanıtının olduğu saptanmıştır. Pemmaraju ve arkadaşları genç erişkinlerde görülen KML vakalarının ileri yaş erişkinlerine göre daha ağır seyirli ve iyileşme oranlarının daha az olduğunu belirtmiştir. (Pemmaraju N. vd. 2012) Bizim olgu serimizdeki otuz altı numaralı hastamız genç yaşına ve trizomi 8'i olmasına karşın tedavisinden moleküler yanıt almıştır. Kronik myeloid lösemi için kazanılan bu yanıt düzeyi olumlu bir sonuç alındığına işaret etmektedir. Trizomi 8 ile takipte olan otuz dört numaralı olgumuz da ise 7 ay takip edilebilmiştir. Yedi ayda hastamız tedaviye yanıtızsız kalmıştır ve hastamız 7 ayın sonunda kardiyak arrestten dolayı hayatını kaybetmiştir.



Şekil 5.2: Trizomi 8 ile birlikte Y kromozomu kaybı gözlediğimiz karyotipini 46,X,-Y,+8,t(9;22)(q34;q11) olarak ortaya koyduğumuz otuz iki numaralı olgumuzun karyotip görüntüsü:

Trizomi 8 olgularının Oudat ve arkadaşlarının çalışmalarında belirttiği gibi özellikle yapısında bulundurduğu *C-MYC* geninin kopya sayısının artmasından ötürü hastaya kötü prognostik değer kattığı düşünülmektedir. (Oudat vd. 2000) Bizim olgu serimize bakıldığında hastaların %50'inde moleküler yanıt alındığını görmekteyiz. Literatür bilgileri ile kıyaslandığında Alice Fabarius ve arkadaşlarının bizim olgu serimizdeki gibi en sık trizomi 8 ve ek Philadelphia kromozomu ile karşılaştıklarını görmekteyiz. İzole trizomi 8 (Ph kromozomuna ek olarak) bulunduran hastalarının %50'sinde (2/4) tam moleküler yanıt gözlenirken bir olgu hematolojik yanıtta daha iyi bir yanıt gösterememiş ve allojenik kemik iliği transplantasyonuna gittiği belirtilmiştir. Diğer hastalarının ise blastik krize progrese olduğu ve herhangi bir yanıt alınmadığı raporlanmıştır.(Fabarius vd. 2011) Nature dergisinde 2016 yılında yayımlanan, Wang ve arkadaşlarının 183 olguyla yaptıkları çalışmada, 37 hastada izole olarak trizomi 8 saptanmıştır. Bu

olguların %50'sinde major moleküler yanıt alındığı belirtilmiştir.(Wang W. vd. 2016) Bizim çalışmamızda trizomi 8'li vaka sayısının 4 olması +8'in prognostik etkisinin araştırılmasını güçleştirmiştir. Bununla birlikte 4 olguya ait bilgilerden elde edilen verilerde literatürle uyumlu olarak %50 oranında iyi yanıt aldığımızı görmekteyiz.

5.3.1.2 Minör yolak anomalilerinin prognostik seyri:

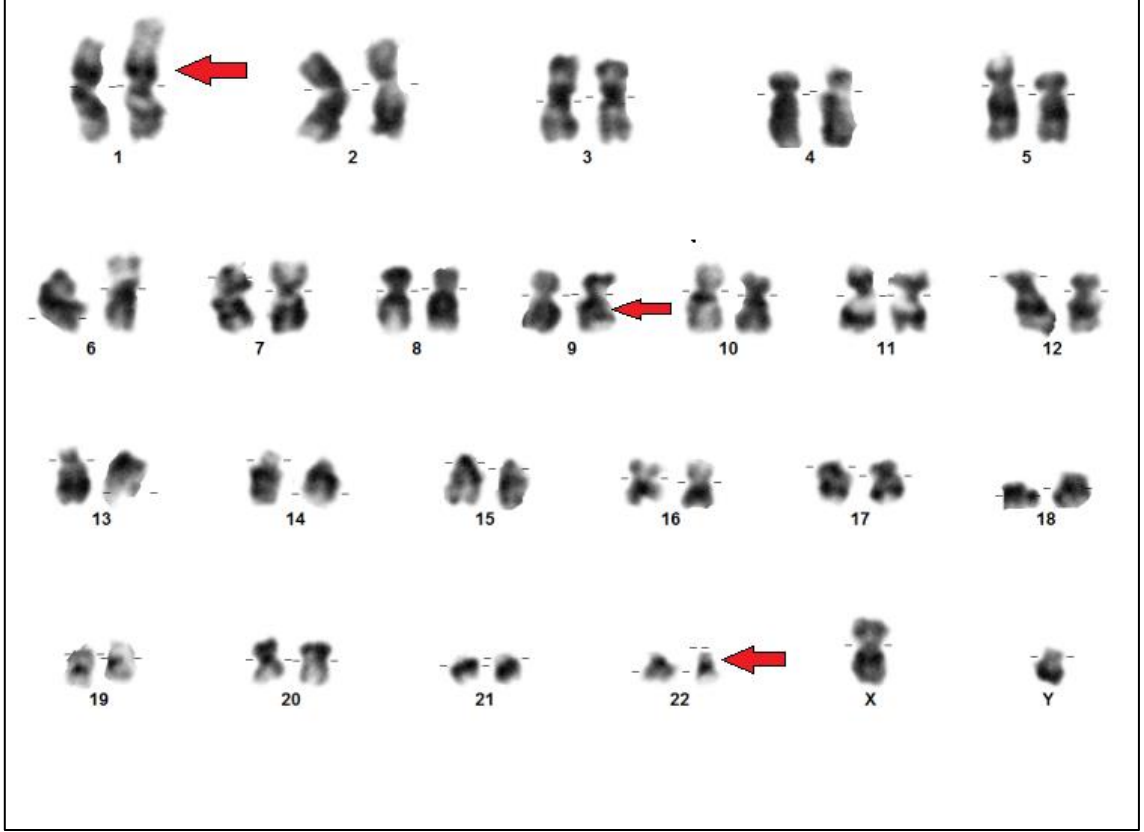
5.3.1.2.1 Varyant translokasyon saptanan olguların prognostik seyri:

Varyant t(9;22) 3 hastamızda gözlenmiş olup, yirmi numaralı olgumuzda metafaz FISH ile aberant sinyal paterni saptanmış ve C grubu bir kromozomun dahil olduğu varyant t(9;22) gözlenmiştir.(tablo 4.1) Sitogenetik analizlerde yeterli kalitede metafaz plağı elde edilememesi sebebiyle hastanın translokasyona katılan kromozomları tespit edilememiştir. Hastamızın moleküler yanıtı bulunmaktadır. Hastanın sitogenetik bilgisinin elde edilememesi sebebiyle literatürde spesifik bir kıyaslama yapılamamıştır ancak genel olarak bakıldığında tüm varyant pozitif olguların kötü prognostik ve tedaviye dirençli olabileceği bildirilmektedir. (Bain 2017) Hastamızın takibi bu açıdan önemlidir.

Yirmi sekiz numaralı olgumuzda 4 adımlı translokasyon gözlenmiştir. Hastanın 9 numaralı ve 22 numaralı kromozomlarına ek olarak 5 ve 7 numaralı kromozomları da translokasyona katılmıştır. Hasta otuz dört aydır takip edilmekte olup, takip süresinde moleküler yanıt devam etmektedir. Literatür verileri incelendiği zaman translokasyona katılan kromozomlar açısından benzer bir veri Reid ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmalarında görülmüştür. Bu çalışmada spesifik olarak hastaların yanıtları tek tek belirtilmemiştir. Ancak varyant translokasyonların istatistiksel olarak ileri düzeyde kısa sağ kalım ile ilişkili olduğu savunulmuştur.(Reid A. G. vd. 2003) Literatürde t(5;9;22;7)(q31;q34;q11;q31) daha önce raporlanmamıştır. Bu sebep ile prognostik etkisinin açığa kavuşması için daha fazla sayıda olgu raporuna ihtiyaç olduğu bir gerçektir.

Otuz üç numaralı olgumuzda ise 9 ve 22 numaralı kromozomlara 1 numaralı kromozomun da katıldığı 3 adımlı translokasyon gözlenmiştir(şekil 5.3). Bu hastada yirmi aylık takip süresinde beklenen moleküler yanıt düzeyine ulaşamamıştır. Bu nedenle tedavisine yanıtının kötü olduğu gözlenmiştir. Bu 3 adımlı translokasyon nadir gözlendiği için literatür bilgisi sınırlıdır. Aynı translokasyona sahip bir hasta Asif ve arkadaşları tarafından 2015 yılında raporlanmıştır. Çalışmalarında hastanın 600mg imatinib ile optimal yanıtla izlediğini belirtilmiştir. Ancak hastanın moleküler takip bilgileri paylaşılmamıştır.(Asif M. vd. 2015) Aydın ve arkadaşları da 2019 yılında yaptıkları çalışmada varyant translokasyon olarak aynı bölgelere sahip bir hasta bildirmişlerdir. Hastanın kötü prognostik olarak seyrettiğini göstermiş ve sağkalımını 4 ay olarak bildirmişlerdir. (Aydın Ç. vd. 2019) Tüm bu veriler doğrultusunda 1. kromozomun eşlik ettiği varyant t(9;22)'lerin olguların progresyonlarını olumsuz etkilediği sonucuna varılmaktadır.

Varyant translokasyonların tanımlanması için rutinde kullanılan t(9;22)'yi hedefleyen probler ile uygulanan FISH analizleri sonucunda gözlenen sinyal paternleri tanıya yardımcı olabilmektedir. Bu nedenle varyant translokasyonların tam olarak tanımlanması ancak konvansiyonel sitogenetik analizler ile gerçekleştirilebilmektedir. Klasik t(9;22) pozitif sinyal paterninin dışında sinyal paterni saptanan olgu on yedide ise sitogenetik analizleri sonucunda klasik t(9;22) gözlenmiştir. Bunun sitogenetik analizlerde gözlenemeyecek boyutlardaki parçaların yeniden düzenlenmeye katılmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Bu gibi olgularda ise metafaz plaklarında FISH testinin uygulanmasının faydalı olabileceğini önermekteyiz.

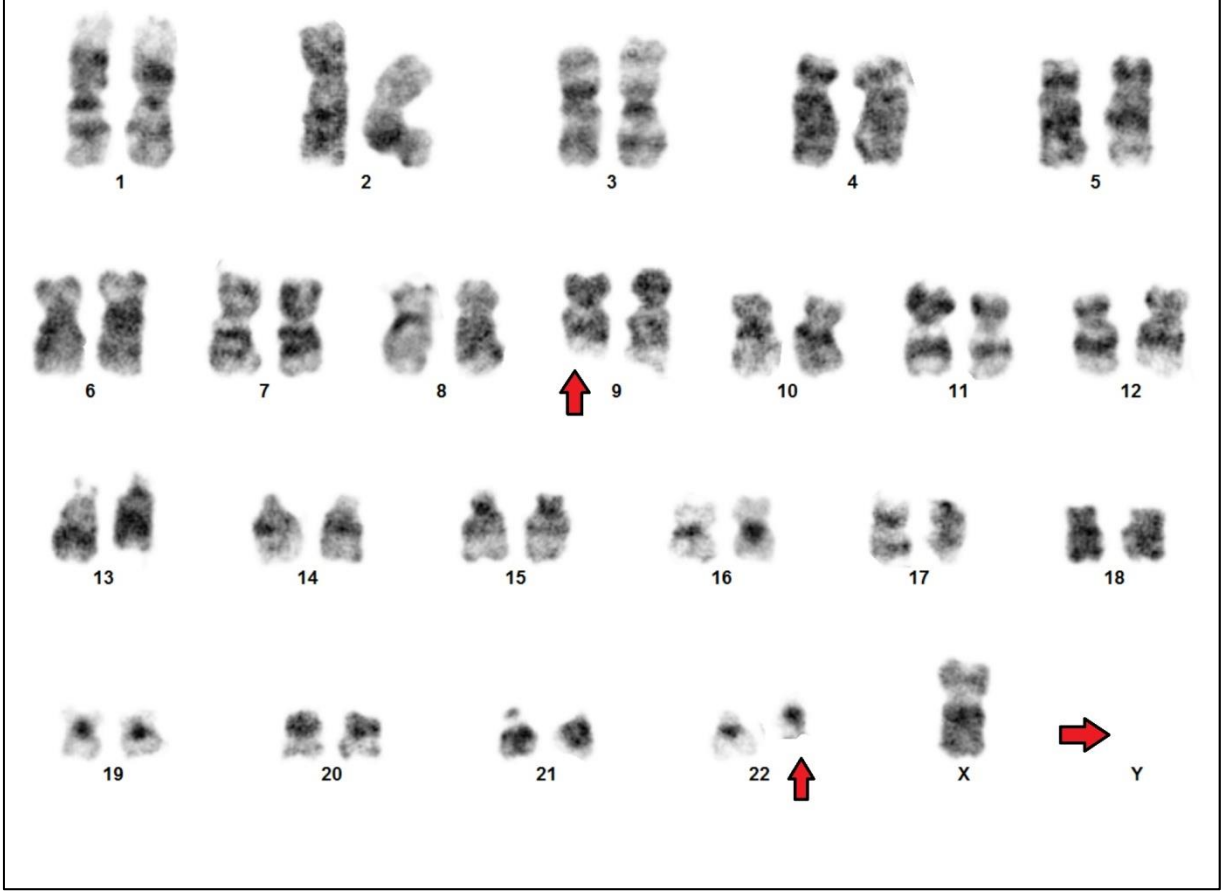


Şekil 5.3: 46,XY,t(9;22;1)(q34;q11;p36.2?) karyotipine sahip otuz üç numaralı olgumuzun karyotip görüntüsü:

Literatür de varyant Ph kromozomları çeşitlilik göstermektedir. Ancak bu çalışmalar ne yazık ki yeteri kadar sayıda olgu içermemektedir. Bu da varyant translokasyonların etkileri açısından çelişkili bilgilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Varyant translokasyonların prognostik etkilerinin açığa çıkması ve kesin bilgilerin ortaya koyulması için daha fazla olgu verisinin literatüre kazandırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

5.3.1.2.2 Y kromozomu kaybı saptanan olguların prognostik seyri:

İzole Y kromozomu kaybı(şekil 5.2) bulunan 2 olgumuzdan otuz numaralı hastamızın kırk beş ay takibi yapılmış olup, bu süreç içerisinde hastanın moleküler yanıtını kaybettiği görülmüştür. Bu nedenle tedavisine 2. nesil tirozin kinaz inhibitörü olan dasatinib ile devam edilmiştir.



Şekil 5.4: 45,X,-Y,t(9;22)(q34;q11) karyotipine sahip Y kromozomu kaybı gözlediğimiz yirmi altı numaralı olgumuzun karyotip görüntüsü:

Yirmi altı numaralı olgumuzda ise moleküler yanıt alınamamıştır. Literatür bilgileri ile kıyasladığımız zaman Y kromozomu kaybı minör yolak anomalisi kabul edilmektedir. Prognostik açıdan major yolak anomalileri kadar ağır bir tablo beklenmemektedir.(Galinsky İ. vd. 2012) Aynı zamanda erkek bireylerde yaş artışına bağlı gelişen Y kaybı bilinen bir fenomendir. Bu da hastalarda standart KML benzeri prognostik beklenti oluşturmaktadır. Lippert ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları çalışmada yirmi dokuz adet Y kaybı olan KML hastasını incelemişler ve kontrol grubuna kıyasla Y kaybı anomalisinin istatistiksel olarak ileri derecede kötü yanıt ile ilişkili olduğunu saptamışlardır.(Lippert E. vd. 2010) Çalışmamızda Y kromozomu kaybı

gözlediğimiz 2 hastamızda tedavisine iyi yanıt vermemiştir. Sonuçlarımızın literatürle uyumlu olduğunu görmekteyiz.

5.3.1.2.3 Trizomi 9 saptanan olguların prognostik seyri:

Trizomi 9 saptanan yirmi üç numaralı olgumuzda otuz iki aylık takip süresince moleküler yanıt gözlenmiştir. Trizomi 9 ile ilgili literatürde çok fazla çalışma yer almamaktadır. Ancak Vargas ve arkadaşlarının, 1999 yılında, Hematologica dergisinde raporladıkları bir olgu sunusunda intersisyal delesyonu bulunan trizomi 9'a sahip bir olgu paylaşılmıştır. Bu yayında hastada İnterferon alfa ve hidroksi üre tedavisi gören hastanın beyaz kan hücresi sayısında azalma gözlenip bazofil sayısının stabil tuttuklarını paylaşmışlardır. Ancak hastanın tedavisi sonrası hematolojik remisyon gözlendiğini paylaşmışlardır. Ancak literatürde başka benzer hasta bulunmadığını söyleyen araştırmacılar intersisyal delesyonlu trizomi 9 için genel bir çıkarım yapmak için uygun literatür bilgisi olmadığını ortaya koymuşlardır.(Vargas vd. 1999) Bizim olgumuzda da tedavisinde moleküler yanıt elde edilmiştir.

5.3.1.2.4 Trizomi 6 saptanan olguların prognostik seyri:

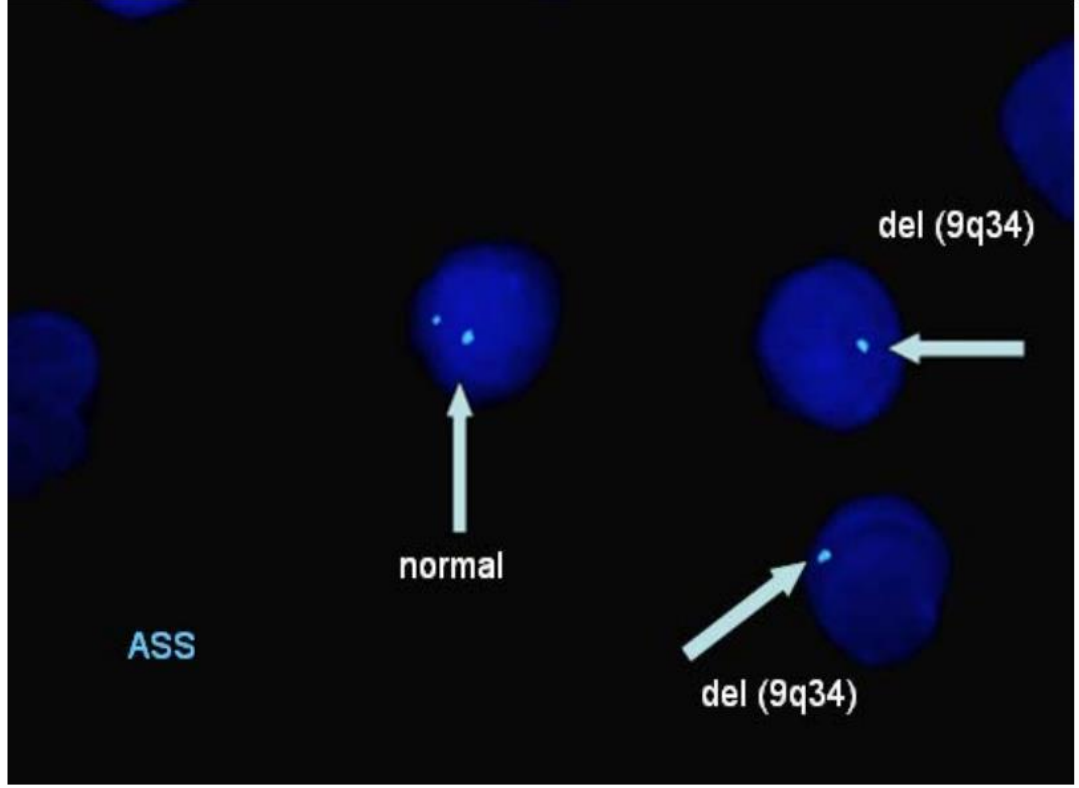
Trizomi 6 bulunduran yirmi dokuz numaralı olgumuz ilk 1 yıl içerisinde gerçekleştirilmiş olan 3 takibinde sitogenetik yanıt alınamadığı görülmektedir. Bu süreçte beklenen moleküler yanıt ulaşılamadığından ötürü hastanın tedaviye kötü yanıt verdiği görülmüştür. Hasta tedavi esnasında +6'ya sahip olan klonunu kaybetmiş ve trizomi 8 geliştirmiştir ancak bu esnada Ph kromozomu yönünden moleküler yanıt düzeyine ulaşamamıştır. Olgu sayımızın 1 ile sınırlı olmasından ötürü anomalinin tedaviye etkisini kesin olarak ortaya koymamız olanaksızdır. Literatür verileri incelendiğinde KML pozitif olgularda +6 ek anomalisinin çok nadir olarak gözlendiği görülmektedir. Adriana Z. ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları çalışmada +6'nın genellikle imatinib tedavisiyle birlikte sonradan kazanılan bir anomali olduğunu düşündüklerini belirtmişlerdir. Bununla birlikte

prognostik katkısı konusunda herhangi bir bilgi ortaya koymamışlardır. (Adriana Z., Soad A. B., Pandita R., 2008).

5.3.1.2.5 9q34 bölgesine yönelik delesyon saptanan olguların prognostik seyri:

Kromozom 9'un uzun kolunda delesyon saptanan olgumuz (olgu no: 31) kırk yedi ay boyunca takip edilmiştir. Bu süreçte imatinib tedavisi almış olan altmış dokuz yaşındaki hasta takiplerine moleküler yanıt ile devam etmektedir. Quintás-Cardama ve arkadaşlarının 2011 de yapıları çalışmada da bizim hastamızla korele sonuçlar alınmıştır. İki yüz kırk beş hastadan yirmi sekizinde 9 numaralı kromozomun delesyonunu gözleyen araştırmacılar bu delesyonların prognostik değer açısından anlamlı düzeyde bir farklılığa neden olmadığını belirtmişlerdir. (Cardama vd. 2011)

Bölümümüzde 2011 yılında yapılmış olan bir tez çalışmasında otuz KML hastasının onbirinde 9q34 delesyonu FISH analizleri aracılığıyla ortaya konmuştur. İncelenen on bir olguluk seride 6 hastada sitogenetik/moleküler sitogenetik yanıt görülmemiştir ve 9q34 delesyonlarının kötü progresyonla ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur. Hasta serimizin tek olguda sınırlı kalmasından ötürü literatürle farklılık görebileceğimizi düşünmekteyiz.



Şekil 5.5: 9q34 delesyonu saptanan olgunun ASS gen bölgesini işaretleyen FISH probu ile yapılan çalışma (Mutlu T., 2011):

5.4 Major Ve Minör Yolak Anomalilerinin Belirlenmesi:

Literatür verilerine bakıldığında major yolak anomalilerinin prognostik beklentisi minor yolak anomalilerine kıyasla daha kötü olduğu bildirilmektedir. Ancak bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile literatür verileri göz önünde bulundurulduğunda standart bir prognostik etki gözlenmediğini görmekteyiz. Major anomalilerin dışında gözlenen diğer yapısal ve sayısal anomaliler ise minor yolak anomalisi olarak kabul edilmiştir. Minör yolak anomalisi grubunda tedaviye yanıt beklentisinin daha iyi olması gerektiği literatürlerde belirtilmektedir. Ancak minor yolak anomalisi olarak tanımlanmış olan 3. kromozom yeniden düzenlenmeleri ve 11q23 yeniden düzenlenmelerinin kötü prognostik etkileri literatürde belirtilmiştir. Bununla birlikte minor yolak anomalisi olarak sınıflandırılmasına rağmen kötü prognostik olduğu düşünülen

varyant yeniden düzenlenmelerde kendi hasta grubumuzda %66 oranında iyi yanıt alındığını gözledik. (Tablo 4.2)

Chen ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada major ve minor yolak kavramları görülme yüzdelerine göre yeniden düzenlenmiştir. Bu çalışmalarında izokromozom 17'nin ve trizomi 19'un görülme yüzdesinin düşüklüğünden dolayı bu iki anomaliyi major yolak dışında göstermişlerdir. Bunun dışında minor yolak olarak kabul gören 3. kromozom yeniden düzenlenmeleri 11. kromozom delesyonlarında kötü prognostik olarak değerlendirilmesi gerektiğini savunmuşlardır. (Chen vd. 2016)

Bu iki olgu grubu dışında varyant yeniden düzenlenmiş Ph kromozomları da minor yolak anomalisi olarak kabul görmektedir. Varyant yeniden düzenlenmelere genellikle bir veya daha fazla kromozomun ek olarak eşlik etmesiyle yeniden düzenlenme şemasını değiştirmektedir. Bu katılan kromozom sıklıkla 1. kromozom olmakla birlikte literatür incelendiğinde hemen hemen her kromozomun rastgele olarak katılabildiği görülmektedir. Bu yeniden düzenlenmeler oluşacak kimerik Bcr-Abl1 füzyon proteininin 3 boyutlu yapısı üzerinde etkili olabilir. Bu nedenle her biri ayrı olarak değerlendirilmeli ve literatür bilgileri hastada saptanan kromozom kırık bölgelerine spesifik olarak taranmalıdır. Ancak hali hazırda düşük bir hasta havuzuna sahip olan ek anomali grupları varyant translokasyon açısından daha düşük bir havuza sahiptirler ve hastalığın prognoz bilgisini ön görmek için yetersiz oldukları gözlenmektedir. Bu nedenle yapısal anomali olmalarından dolayı minor yolak olarak kabul edilse de bu anomalilerin saptandığı hastaların yakın takibinin gerektiğini düşünmekteyiz.

Yukarıda belirtilen nedenler değerlendirildiğinde KML hastalarında gözlenen ek anomalilerin major ve minor yolak olarak ayrılmasında, prognostik değerleri farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle hastaların ek anomaliye sahip olması durumunda standart bir tedavi izlenmesinden çok hastanın yakın takip altında tutulması önemlidir. Bu sayede hastanın minor yolak anomalisinde iyi

beklenen prognozunun kötüye gidiş i kısa sürede fark edilebilir ve tedavi prosedürü yeniden optimize edilebilir. Ayrıca major ve minor yolak anomalilerinin çok yüksek hasta sayısına sahip olmamasından dolayı literatürde net olarak kabul görececek bir çalışma olmadığı gözlenmiştir. Uygun parametreler ışığında yapılacak bir meta analizle hasta profilili arttırılmasıyla daha net major minor yolak anomalisi tanımlamaları yapılabilecektir.

Şu anki literatur bilgileri ve bizim verilerimiz doğrultusunda standart olarak görülen KML hastalığının ek anomaliler gözlenmesi durumunda karmaşık bir hal alabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu sebeple varyant translokasyonların tanımlanması ve ek anomalilerin ortaya konması için, hasta tanı ve takiplerinde sitogenetik testlerin altın standart olduğu bir kez daha vurgulanmaktadır.

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Bizim çalışmamızdaki temel amacımız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na 2009 ile 2019 yılları arasında gelen KML olgularında saptanan varyant t(9;22) ve ACA oranını ortaya koymak ve ek olarak saptadığımız major ve minör yolak anomalilerinin tedaviye etkilerini literatür bilgileri ile kıyaslamaktır. Çalışmamızda:

- İncelenen dört yüz elli iki olguda ACA yakalama oranımız otuz altı olguyla %8 olarak ortaya konmuştur.
- Otuz altı olgunun içinde en sık rastladığımız anomaliler ilave ph kromozomu, trizomi 8, varyant t(9;22) olmuştur.
- Major anomali saptama oranımız on olgu ile %28 olarak ortaya konmuştur.
- Minör yolak anomalisi saptanma oranımız yirmi altı olgu ile %72 olarak ortaya konmuştur.
- Majör yolak anomalisi saptanan on hastamızın 6'sında moleküler yanıt gözlenmiştir.
- Olgu grubumuzda varyant t(9;22) saptanan grupta hastaların 2/3'si moleküler yanıt vermiştir.

Çalışmamız sonucunda majör ve minör yolak anomali saptama oranlarımız literatür ile uyumlu bulunmuştur. Ancak tüm KML hasta grubu içerisinde varyant t(9;22) ve ACA'ların görülme oranı literatürden düşük olarak gözlenmiştir. Bu duruma bazı olgularda sitogenetik analizler için yeterli kalite ve sayıda metafaz plağına ulaşılmaması sebebiyle ACA ve varyant t(9;22)'lerin saptanamamasının etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

Ayrıca bizim olgu grubumuzda varyant t(9;22) alt grubuna ait olguların literatüre göre, tedavilerine daha olumlu yanıt verdikleri gözlenmiş olup, bu durumun olgu serimizin ve literatürün sahip olduğu az örnek havuzundan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak varyant t(9;22)'lerin ve ACA'ların saptanması için konvansiyonel sitogenetik analizlerin altın standart olduğu bir kez daha ortaya koyulmuş ve daha fazla varyant t(9;22) ve ACA saptanan olguların literatüre kazandırılmasına ihtiyaç olduğu gözlenmiştir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Adriana Z., Soad A. B., Pandita R., (2008) *Trisomy 6 in a CML patient receiving imatinib mesylate therapy*, doi:10.1016/j.leukres.2008.01.011

Ai D., Liu W., Lu G., Patel K. P., Chen Z., (2015) *Extramedullary blast crisis as initial presentation in chronic myeloid leukemia with the e1a2 BCR-ABL1 transcript: A case report*, doi:10.3892/mco.2015.641

Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M, Roberts K., Walter P. *Molecular Biology of the Cell, Fourth Edition*. ABD. New York Academic Press. 2002

Antman K. H., (2001) *Introduction: The History of Arsenic Trioxide in Cancer Therapy*, doi:10.1634/theoncologist.6-suppl_2-1

Arber A. D., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M. J., Beau M. M. L., Bloomfield C. D., Cazzola M., Vardima J. W., (2016) *The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia*, doi:10.1182/blood-2016-03-643544.

Babick L., Zemanov Z., Pavlistov L., Brezinov J., Ransdorfov S., Houskov L., Moravcov J., Klamov H., Michalov K. (2005) *Complex Chromosomal Rearrangements in Patients With Chronic Myeloid Leukemia*, doi:10.1016/j.cancergencyto.2005.11.017

Balcı T. B. (2009) *İlaç Direnci Gelişen Kronik Miyeloid Lösemi Olgularında BCR-ABL1 T315I Mutasyonları ve AHI1 Gen İfadeleme Düzeylerinin Belirlenmesi*. Uzmanlık Tezi, Başken Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

Baykara O. (2016) *Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar*, doi:10.5505/bsbd.2016.93823

Bain B. J., *Leukaemia diagnosis (2017)*, Hoboken, NJ John Wiley & Sons, Inc 2017

Cardama A. Q., Kantarjian H., Shan J., Jabbour E., Abruzzo L. V., Verstovsek S, Garcia-Manero G., O'Brien S. Cortes J. 2011 *Prognostic Impact of Deletions of Derivative Chromosome 9 in Patients With Chronic Myelogenous Leukemia Treated With Nilotinib or Dasatinib*, doi:10.1002/cncr.26147

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Cilloni D., Saglio G. (2011) *Molecular Pathways: BCR-ABL*, doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-1613
- Cortes J. E., Talpaz M., Giles F., O'Brien S., Rios M. B., Shan J., Garcia-Manero G., Faderl S., Thomas D. A., Ferrajoli A., Jeha S., Kantarjian H. M. (2003) Prognostic significance of cytogenetic clonal evolution in patients with chronic myelogenous leukemia on imatinib mesylate therapy, doi:10.1182/blood-2002-09-2790.
- Deininger W. M. N., Melo J. V., (2004) *Biology of chronic myelogenous leukemia—signaling pathways of initiation and transformation*, doi: 10.1016/j.hoc.2004.03.008
- Deininger M. W. N., Vieira S., Mendiola R., Schultheis B., Goldman J. M., Melo J. V. (2000) *BCR-ABL Tyrosine Kinase Activity Regulates the Expression of Multiple Genes Implicated in the Pathogenesis of Chronic Myeloid Leukemia*. *CancerResearch* 60, 2049–2055
- Fabarius A., Leitner A., Hochhaus A., Müller M. C., Hanfstein B., Haferlach C., Göhring G., Schlegelberger B., Jotterand M., Reiter A., Jung-Munkwitz S., Proetel U., Schwaab J., Hofmann W., Schubert J., Einsele H., Ho A. D., Falge C., Kanz L., Neubauer A., Kneba M., Stegelmann F., Pfreundschuh M., Waller C. F., Spiekermann K., Baerlocher G. M., Lauseker M., Pffirmann M., Hasford J. (2011) *Impact of additional cytogenetic aberrations at diagnosis on prognosis of CML: long-term observation of 1151 patients from the randomized CMLStudy IV* doi: 10.1182/blood-2011-08-373902.
- Goldman J. M., Melo J. V. (2008) *BCR-ABL in Chronic Myelogenous Leukemia – How Does It Work?*, doi:10.1159/000140633
- Greer, John P., Foerster J., Lukens J. N., Rodgers G. M., Frixos P., Bertil G. (2003) *Wintrobe's Clinical Hematology, 11th Ed.* Lippincott Williams & Wilkins Publishers
- Johansson B., Fioretos T., Mitelman F. (2002) *Cytogenetic and Molecular Genetic Evolution of Chronic Myeloid Leukemia Acta Haematol* 2002;107:76–94, doi: 10.1159/000046636

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

- Kantarjian H. M., Talpaz M., Giles F., O'Brien S., Cortes J., (2013) *New Insights into the Pathophysiology of Chronic Myeloid Leukemia and Imatinib Resistance*. Ann Intern Med. 2006;145:913-923.
- Kırkızlar H. O. (2012) *Kronik Miyeloid Lösemi Olgularımızın Geriye Dönük Değerlendirilmesi Tek Merkez Deneyimi*. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, Edirne
- Laurent E., Talpaz M., Kantarjian H., Kurzrock R., (2001) *The BCR Gene and Philadelphia Chromosome-positive Leukemogenesis*. Cancer Research 61, 2343–2355
- Martínez-Zanca D., Sánchez-García I. (1997) Regulation of Bcl-2 Gene Expression by BCR-ABL is Mediated by Ras. J. Mol. Biol. (1997) 267, 225±228
- Massimino M., Stella S., Tirrò E., Romano C., Pennisi M. S., Puma A., Manzella L., Zanghì A., Stagno F., Raimondo F. D., Vigneri P. (2018) *Non ABL-directed inhibitors as alternative treatment strategies for chronic myeloid leukemia*. Blood. 2009;114:1126, doi:10.1186/s12943-018-0805-1
- Melo J, V., Deininger M. W. N. (2004) *Biology of chronic myelogenous leukemia—signaling pathways of initiation and transformation*, doi:10.1016/j.hoc.2004.03.008
- Mughal T. I., Goldman J. M. (2006) *Molecularly targeted treatment of chronic myeloid leukemia: beyond the imatinib era*. Frontiers in Bioscience 11, 209-220
- Özyürek E (2011) Çocuk ve Ergenlikte Kronik Miyeloid Lösemi 37. Ulusal Hematoloji Kongresi Ankara 19-22 Ekim 2011
- Rastgeldim. Y. (2016) *Hematoloji Kliniğimizde Son Bir Yılda Değerlendirilen Hematolojik Maligniteli Hastaların Retrospektif Olarak İncelenmesi* Uzmanlık tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa
- Safaei A., Monabati A., Safavi M., Atashabparvar A., Hosseini M., (2018) *Additional cytogenetic aberrations in chronic myeloid leukemia: a single-center experience in the Middle East*. doi:10.5045/br.2018.53.1.49

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

Sattler M., Griffin J. D. (2003) *Molecular Mechanisms of Transformation by the BCRABL Oncogene*. doi:10.1053/shem.2003.50034

Talpaz M., Shah N. P., Kantarjian H., Donato N., Nicoll J., Paquette R., Cortes J., O'Brien S., Nicaise C., Bleickardt E., Blackwood-Chirchir A. B., Iyer V., Chen T., Phil M., Huang F., Decillis A. P., Sawyers C. L. (2006) *Dasatinib in Imatinib-Resistant Philadelphia Chromosome-Positive Leukemias*, doi:2006;354:2531-41.

Mutlu T. (2011) *Philadelphia pozitif kronik miyelositer lösemili olgularda ASS gen bölgesi yeniden düzenlenmelerinin araştırılması*.Yüksek lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir

Tuğlu, M. M., Melli M. (2012) *İmatinib: Etki Mekanizması ve Direnç Geliştirme Mekanizmaları*. doi:10.1501/Tıpfak_000000813

Vargas M. T., Gonzalez-Ruano R., Fernandez-Nóvoa M. D. C. (1999) *Chronic myeloid leukemia in chronic phase with a partial trisomy 9 mosaicism*. Haematologica vol. 84(12):December 1999

Wang W., Chen Z., Hu Z, Yin C. C., Li S, Bai S., Bueso-Ramos CE. (2016) *Clinical significance of trisomy 8 that emerges during therapy in chronic myeloid leukemia*, doi:10.1038/bcj.2016.96

Wayteck L., Breckpot K., Demeester J., Smedt S. C D., Raemdonck K., (2013) *A Personalized View On Cancer Immunotherapy*, doi:10.1016/j.canlet.2013.09.016

Zhou J. (2014). *Advances and Prospects in Cancer Immunotherapy*, doi:10.1155/2014/745808

Özgeçmiş

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı :Mert Burak RAŞAN
Doğum tarihi ve yeri :16.05.1994 Eskişehir
Uyruğu :TC
Medeni durumu :Bekar
İletişim adresleri :Gökmeydan mahallesi, 19 mayıs caddesi,
Tayfunkent sitesi Kat:3 daire:7

Eğitim Durumu

2005-2008 Ticaret Borsası İlköğretim Okulu
2008-2012 Toki Şehit Savaş Kubaş Anadolu Lisesi
2012-2017 Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler
Biyoloji ve Genetik :
2017- Devam etmekte ESOGÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik
Bölümü

Mesleki Deneyim :

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

Yayımlar :

(Makale, Sözlü Bildiri, Poster Bildiri, Kitap, Kitap Bölümü vd.)

Bilimsel Etkinlikler

Burslar :
Ödüller :
Projeler :
Sözlü Konferans veya Seminerler :
Kurslar ve Eğitim Programları :