



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TİBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

***AKUT MYELOİD LÖSEMİ HASTALARINDA KOPYA SAYISI
DEĞİŞİKLİKLERİNİN DİZİN TEMELLİ KARŞILAŞTIRMALI
GENOMİK HİBRİDİZASYON YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ***

UZMANLIK TEZİ

DR. AYŐEGÜL ÖZCAN

ANKARA, 2015



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

***AKUT MYELOİD LÖSEMİ HASTALARINDA KOPYA SAYISI
DEĞİŞİKLİKLERİNİN DİZİN TEMELLİ KARŞILAŞTIRMALI
GENOMİK HİBRİDİZASYON YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ***

UZMANLIK TEZİ
DR. AYŐEGÜL ÖZCAN

TEZ DANIŐMANI: PROF. DR. FERİDE İFFET ŐAHİN

ANKARA, 2015

**BU TEZ BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ ARAŞTIRMA FONU TARAFINDAN
DESTEKLENMİŞTİR.**

PROJE NO: KA15/213

ÖZET

Dizin temelli karşılaştırmalı genomik hibridizasyon yöntemi dengesiz değişiklikleri tüm genom düzeyinde tespit etme olanağı sağlayan, yüksek çözünürlüklü bir yöntemdir. AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek kopya sayısı değişikliklerinin saptanması, aCGH yönteminin rutin tanı uygulamalarındaki avantaj ve dezavantajlarının belirlenmesi amacı ile NimbleGen 630K Array platformu kullanılarak 18 AML tanılı hasta örneği çalışılmıştır. Hastalar karyotip sonuçlarına göre 3 grupta değerlendirilmiştir. Analiz edilen 18 hastanın tamamında kopya sayısı değişikliği tespit edilmiştir. Tüm genom düzeyinde saptanan artışlar kayıplardan fazla bulunmuştur. Ancak kompleks karyotip saptanan grupta kayıplar literatürle uyumlu olarak artışlardan fazla tespit edilmiştir. Normal karyotip grubunda AML patogenezi ile ilişkili birçok gende kopya sayısı değişikliği tespit edilmiştir. Tekrarlayan kopya artışı gözlemlediğimiz *USP18* (n=4), *AATF* (n=2), *CTFI* (n=2) genlerinin AML patogenezinde anlamlı olabileceği düşünülmüştür.

Karyotip anomalisi saptanan grupta aCGH yöntemi mozaikliğin tespitinde başarılı olmuştur ancak hassasiyeti FISH kadar yüksek değildir. Translokasyonu olan 1 hastada, translokasyona dahil olan kromozomlarda kopya değişikliği saptanmamıştır. Bu durum hastadaki translokasyonun dengeli olmasına ya da NimbleGen array platformunda problemlerin bu bölgeleri kapsamamasına bağlanmıştır. Kompleks karyotip saptanan grupta hastaların sitogenetik sonuçları ile aCGH sonuçları tam olarak uyuşmamaktadır. Bu durum kompozit karyotip yapısına sahip hastalardaki alt klonların sayısının düşüklüğüne bağlanmıştır. Sadece kompleks karyotip grubunda kopya kaybı saptanan *NFI* (n=2) ve *TP53* (n=2) genlerinin hastalardaki genomik instabiliteden sorumlu olduğu düşünülmüştür. Kromozom analizinde metafaz plağı elde edilemeyen bir hastada aCGH yöntemi ile çok sayıda kopya sayısı değişikliği saptanmıştır. Sonuç olarak aCGH yöntemi AML hastalarında patogenezi ve prognozda etkili olabilecek genlerin ve mikroRNA'ların tespitinde, kromozom elde edilemeyen ve normal karyotip saptanan hastaların değerlendirilmesinde rutin tanıda başarı ile kullanılabilir bir yöntemdir.

Anahtar kelimeler: Akut myeloid lösemi, dizin temelli karşılaştırmalı genomik hibridizasyon, kopya sayısı değişiklikleri

ABSTRACT

Evaluation of copy number variations by array comparative genomic hybridization in patients with AML

Array based comparative genomic hybridization is a high resolution method which allows to detect unbalanced chromosomal alterations throughout the genome.

We have performed an aCGH analysis for 18 patients with AML by using Nimblegen 6x630K array platform to determine advantages and disadvantages of aCGH in routine diagnostic pipeline and detect copy number alterations related to disease pathogenesis and prognosis. Patients were evaluated in 3 groups according to their karyotype results. Copy number alterations were determined in all AML patients. Although copy number gains were observed more frequently than losses, frequency of copy number losses were higher in complex karyotype group among other groups in accordance with the literature.

We have observed recurrent copy gains at *USP18* (n=4), *AATF* (n=2), *CTFI* (n=2) genes in the normal karyotype group which made us think that these genes might have significant effects in the pathogenesis of AML. aCGH method was able to detect mosaicism in the abnormal karyotype group, but the sensitivity was not as high as FISH. aCGH did not detect any cryptic copy number alteration in a translocation carrier patient. This may be due to the balanced rearrangement translocation or the probes may not cover the translocation region in the patient. Cyogenetic and aCGH results were not concordant in patients with complex karyotype. It might be related to the low number of subclones in composite karyotype patients. It was thought that copy losses of the *NFI* (n=2) and the *TP53* (n=2) genes might be responsible for the genomic instability in complex karyotype group. Several copy number alterations were detected by aCGH analysis in a patient whose karyotype analysis revealed no metaphase spread. As a conclusion, aCGH can be utilized to detect the genes and microRNAs which affect the pathogenesis and prognosis of AML, and can also be used to evaluate patients with normal karyotype or patients without karyotype analysis

Key words: Acute myeloid leukemia, array based comparative genomic hybridization, copy number alterations

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	v
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hematopoez	3
2.2. Akut Myeloid Lösemi	4
2.2.1. Epidemiyoloji	4
2.2.2. Etiyoloji.....	5
2.2.3. Sınıflama	5
2.2.4. AML’de genetik bulgular.....	11
2.2.5 AML’de Klinik.....	19
2.2.6. AML’de Prognoz.....	21
2.2.7. AML’de tedavi	21
2.3. Array temelli CGH.....	22
2.3.1. Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (CGH) Yöntemi	23
2.3.2. Array CGH Yöntemi	24
2.3.3. aCGH Avantaj ve Dezavantajları	25
3. HASTALAR VE METOD	26
3.1. ETİK KURUL ONAYI.....	26
3.2. HASTA GRUBU.....	26
3.2.1. Normal Karyotip Saptanan Hastalar	28
Hasta 7.....	30
3.2.2. Kromozomal anomali saptanan hastalar	31
3.2.3. Kompleks Karyotip Saptanan Hastalar	33
3.3 METOD.....	35
3.3.1. DNA Örnekleri.....	35
3.3.2. DNA’nın Konsantrasyon ve Saflığının Ölçümü	35
3.3.3. aCGH çalışması.....	35
4. BULGULAR	40
4.1. Tüm Hasta Gruplarında Saptanan Kopya Sayısı Değişiklikleri.....	40
4.2. Normal Karyotip Saptanmış Hastaların aCGH bulguları.....	41

4.2.1. Hasta 1	46
4.2.2. Hasta 2	47
4.2.3. Hasta 3	47
4.2.4. Hasta 4	47
4.2.5. Hasta 5	48
4.2.6. Hasta 6	48
4.2.7. Hasta 7	48
4.2.8. Hasta 8	49
4.2.9. Hasta 9	49
<i>4.3. Karyotip anomalisi saptanmış hastaların aCGH bulguları</i>	<i>50</i>
4.3.1. Hasta 10	54
4.3.2. Hasta 11	54
4.3.3. Hasta 12	54
4.3.4. Hasta 13	55
<i>4.4. Kompleks karyotip saptanmış hastaların aCGH bulguları</i>	<i>56</i>
4.4.1. Hasta 14	61
4.4.2. Hasta 15	62
4.4.3. Hasta 16	63
4.4.4. Hasta 17	64
4.4.5. Hasta 18	65
<i>4.5. AML Patogenezi ile İlişkili mikroRNA' larda Saptanan Kopya Sayısı Değişiklikleri</i>	<i>65</i>
5. TARTIŞMA.....	67
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	75
KAYNAKLAR.....	76

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

aCGH:	Array temelli karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
ALL:	Akut lenfositik lösemi
AML:	Akut myeloid lösemi
APL:	Akut promyelositik lösemi
ATRA:	All-trans-retinoik asit
CBFB:	Çekirdek bağlayıcı faktör beta (<i>Core binding factor b</i>)
CGH:	Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
Cy:	Cyanin
FAB :	Fransız-Amerikan-İngiliz
FISH :	Fluoresan In-situ Hibridizasyon
FLT3:	Fms benzeri tirozin kinaz 3
GLÖ:	Genel lenfoid öncül
GMÖ:	Genel myeloid öncül
HDARA-C:	Yüksek doz sitozin arabinozid
HKH:	Hematopoetik kök hücre
ITD:	İnternal tandem duplikasyon (ardışık iç duplikasyon)
Kd:	Kilodalton
KML:	Kronik myeloid lösemi
KMT2A:	Lizin (K)-spesifik metiltransferaz 2A
KSD:	Kopya sayısı değişiklikleri
MDS:	Myelodisplastik Sendrom

MEÖ:	Megakaryositik/eritroid öncül
MKLI:	Megakaryositik lösemi-1
MLL:	Myeloid/Lenfoit ya da karışık serili lösemi
MMÖ:	Myelo-monositik öncül
MPN:	Myeloproliferatif neoplazm
MPO :	Myeloperoksidaz
MPÖH:	Multipotent öncül hücreler
MYH11:	Miyozin ağır zincir geni 11 (myosin heavy chain 11)
NK:	Doğal öldürücü
NK-AML:	Normal karyotipli AML
NPM1:	Nükleofosmin 1
PML:	Promyelositik lösemi
PZR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
RARA:	Retinoik asit reseptör alfa
RAR α :	Retinoik Asit Reseptör Alfa
RBM15:	RNA bağlayıcı motif 15
RFLP :	Restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi
RT-PCR:	Revers-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (Reverse transcription polymerase chain reaction)
SB :	Sudan siyahı
SNP:	Tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphisms)
SSS:	Santral sinir sistemi
STC:	Örnek takip kontrol (Sample tracking control)

TKD: Tirozin kinaz domain

WHO : World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil-1. Hematopoez	4
Şekil-2. CGH ve aCGH yöntemlerinin karşılaştırılması	24
Şekil-3. aCGH analizi sonucunda saptanan kopya sayısı değişikliklerinin tüm genom düzeyinde gösterimi	41
Şekil-4. Normal karyotip hasta grubunda ortak kopya sayısı değişikliklerinin kromozomlar üzerinde gösterimi.....	40
Şekil-5. Karyotip anomalisi olan hasta grubunda ortak kopya sayısı değişikliklerinin kromozomlar üzerinde gösterimi.....	50
Şekil-6. Kompleks karyotip hasta grubunda ortak kopya sayısı değişikliklerinin kromozomlar üzerinde gösterimi.....	56

TABLolar DİZİNİ

Tablo-1. AML'ye yatkınlık oluşturan durumlar	5
Tablo 2. AML'de FAB sınıflaması	8
Tablo-3. AML'de WHO sınıflaması.....	9
Tablo-4. AML'de prognostik genetik göstergeler	21
Tablo-5. Hastaların yas, cinsiyet ve aCGH analizinde kullanılan materyal bilgileri ile genetik test sonuçları	27
Tablo-6. İşaretleme öncesi hazırlık için gereken kimyasallar	36
Tablo-7. Hasta ve referans örneklerinin işaretleme için kullanılan kimyasallar ve kullanım miktarları	37
Tablo-8. dNTP/Klenow Master karışım içeriği	37
Tablo-9. Hibridizasyon karışım içeriği	39
Tablo-10. Normal karyotip hasta grubunda ortak KSD saptanan bölgelerin içerdikleri genler	41
Tablo-11. Hasta 2'nin aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	47
Tablo-12. Hasta 3'ün aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	47
Tablo-13. Hasta 4'ün aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	47
Tablo-14. Hasta 5'in aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	48
Tablo-15. Hasta 6'nın aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	48
Tablo-16. Hasta 7'nin aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	49
Tablo-17. Hasta 8'in aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	49
Tablo-18. Hasta 9'un aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	50
Tablo-19. Karyotip anomalisi saptanan hastalarda kopya sayısı değişikliği saptanan bölgelerdeki ortak genler	51
Tablo-20. Hasta 11'in aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	54
Tablo-21. Hasta 12'nin aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	55

Tablo-22. Hasta 13'ün aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	55
Tablo 23. Kompleks karyotip hasta grubunda kopya sayısı değişikliği saptanan bölgelerdeki ortak genler	57
Tablo-24. Hasta 14'ün aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	61
Tablo-25. Hasta 15'in aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	62
Tablo-26. Hasta 16'nın aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	63
Tablo-27. Hasta 17'nin aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	64
Tablo-28. Hasta 18'in aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler	65
Tablo-29. AML patogenezi ile ilişkilendirilmiş kopya sayısı değişikliği saptananlar mikroRNA'lar.....	66

1.GİRİŞ

Akut non lenfoblastik lösemi, akut myeloblastik lösemi veya akut myeloid lösemi (AML) erişkinlerde en sık çocuklarda ise ikinci en sık görülen akut lösemi tipidir. AML fenotipik olduğu kadar genetik olarak da heterojenite gösteren oldukça kompleks bir hastalıktır. Genetik değişiklikler AML'nin tanısı, risk durumunun belirlenmesi, prognozu ve tedavi seçimi açısından oldukça önem teşkil etmektedir.

AML'de prognostik sınıflama klinik ve genetik değişikliklere dayanmaktadır. Hastalar prognostik olarak iyi, orta ve kötü olmak üzere 3 prognostik gruba ayrılır. Genetik prognostik değişiklikler temel olarak sitogenetik değişikliklere dayanmaktadır. Ancak moleküler genetik değişiklikler hastalığın yönetiminde her geçen gün daha da önemli hale gelmektedir. Moleküler genetik analizlerle hastalığın prognozunun belirlenmesi kadar patogenezinin anlaşılması da amaçlanmaktadır (1).

AML hastalarının %45-50'lik kısmında rutin sitogenetik incelemelerle anomali saptanmamakta ve bu hastalar normal karyotip AML (NK-AML) adı altında orta prognostik grupta yer almaktadır. NK-AML hastaları aynı prognostik grupta değerlendirilmelerine rağmen moleküler seviyede oldukça fazla heterojenite göstermektedir. AML'de kanser gelişim sürecinin aydınlatılması onkogenik süreçte etkili submikroskopik değişikliklerin ortaya çıkarılması hastaların yönetimi için oldukça önemlidir (2). Günümüzde AML'de genetik değişiklikler; konvansiyonel sitogenetik, Flurosan insitu hibridizasyon (FISH) yöntemlerine ek olarak gen ve ifadenme analizleri, dizin temelli karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (aCGH), tek nükleotid polimorfizm array (SNP-array) ve güncel bir yöntem olan yeni nesil dizileme gibi güçlü teknolojik yöntemlerle ayrıntılı olarak tespit edilebilmektedir (3).

Rutin konvansiyonel sitogenetik analiz, sayısal kromozomal değişiklikleri ve 5-10 Mb'dan büyük yapısal değişiklikleri tespit edilebilmektedir. FISH yöntemi kromozomlarda belirlenmiş spesifik bölgelerin floresan işaretli deoksiribonükleik asit (DNA) problemleri değerlendirilmesini sağlamaktadır. Sitogenetik analizin tespit edemeyeceği değişiklikleri tespit edebilmekte ancak sadece hedeflenmiş bölgelerin analizine olanak sağlamaktadır (4).

Moleküler karyotipleme olarak da adlandırılan aCGH yöntemi 100 kb'dan küçük dengesiz değişiklikleri tüm genom düzeyinde tespit edebilen, oldukça yüksek çözünürlüklü bir yöntemdir (5).

Bu çalışmada aCGH yönteminin AML hastalarındaki genetik değişikliklerin tespitindeki öneminin gösterilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla AML tanılı hasta örneklerinde konvansiyonel karyotipleme ve FISH analizi yapılmış hastalarda bu yöntemlerin belirlemeyeceği olası dengesiz kromozomal yeniden düzenlenmeler aCGH yöntemi ile incelenerek bulgular karşılaştırılmıştır. Bu veriler değerlendirilerek oldukça heterojen bir hastalık olan AML'nin patofizyolojisinin açıklanmasında, prognoz ve tedavi seçeneklerinin belirlenmesi açısından önemi değerlendirilmiştir. Türkiye'de daha önce akut lösemi hastalarının oligo nükleotid aCGH yöntemi ile değerlendirildiği bir çalışma olmakla beraber bu çalışmanın sadece AML tanılı hastaların değerlendirildiği ilk çalışma olması nedeniyle literatüre katkı sağlayacağı düşünölmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

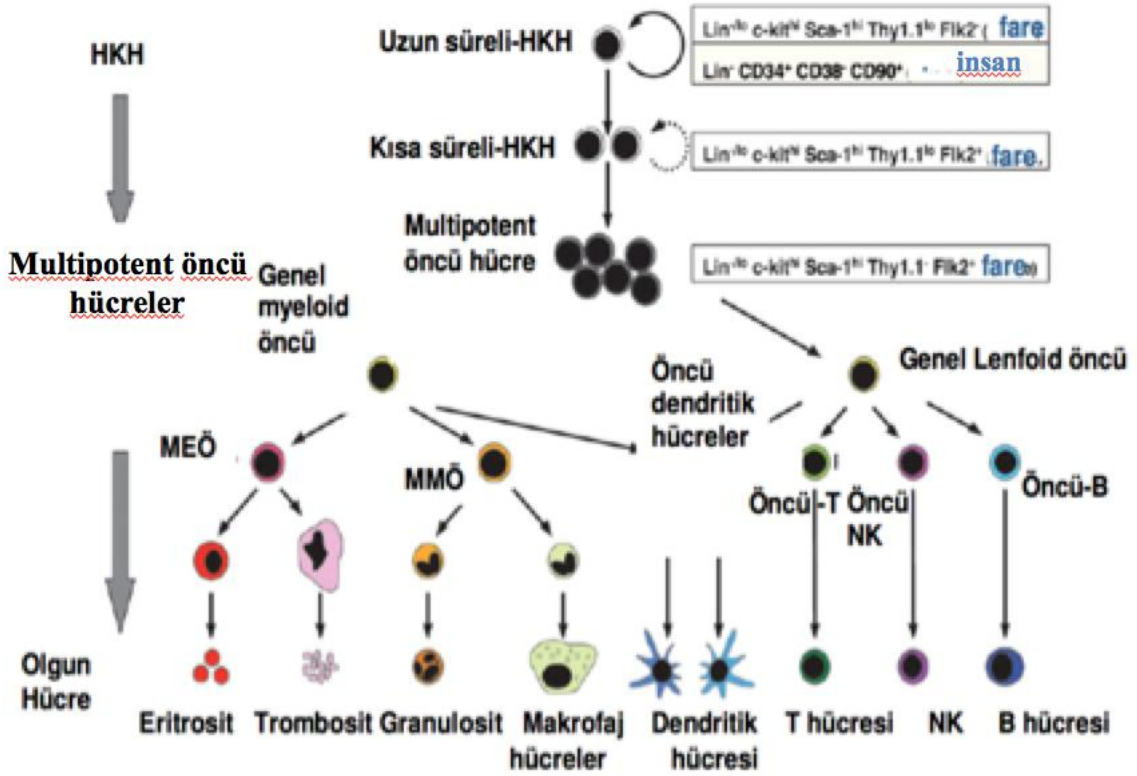
2.1. Hematopoez

Hematopoez kendini yenileme özelliğine sahip pluripotent kök hücrelerin üretim, farklılaşma ve gelişim süreci olarak tanımlanabilir. Pluripotent kök hücreler giderek daha az kendini yenileme özelliğine sahip, daha kısıtlı farklılaşma gösteren öncül hücreleri (myeloid ve lenfoid öncül hücreleri) oluşturur. Daha sonra bu öncül hücrelerden kendini yenileme kapasitesini kaybetmiş olgun kan hücreleri gelişir (6).

Hematopoetik süreç uzun ömürlü pluripotent hücrelerin oluşumu ile başlar. Tüm kan hücrelerinin öncülü multipotent hematopoetik kök hücrelerdir. Hematopoetik kök hücreler (HKH) kendilerini yenileme kapasitelerine göre; uzun süreli HKH ve kısa süreli HKH'ler olmak üzere iki gruba ayrılır. Uzun süreli-HKH'ler oldukça kapsamlı kendini yenileme özelliğine sahiptir ve ömür boyu hematopoezi sürdürebilir. Kısa süreli-HKH'ler kısıtlı kendini yenileme özelliğine sahiptirler ve multipotent öncül hücreleri (MPÖH) oluştururlar (6). MPÖH'ler daha sınırlı farklılaşma kapasitesine sahip öncülleri (oligo-lineage restricted progenitörler) oluşturur. Bu öncül hücreler de kendini yenileme özelliğini tamamen kaybetmiş olgun hücrelere farklılaşır.

Sınırlı farklılaşma kapasitesine sahip hücreler; genel lenfoid öncül hücreleri (GLÖH) ve genel myeloid öncül hücreleri (GMÖH) olmak üzere iki gruba ayrılır. GLÖH'lerden T ve B lenfositler, doğal öldürücü (NK) hücreler gelişir. GMÖH'lerden önce myelo-monositik öncül hücreleri (MMÖH) ve megakaryotik/eritroid öncül hücreleri (MEÖH) oluşur. MMÖH'den monosit, makrofaj ve granüositler farklılaşırken, MEÖH'den megakaryosit/trombosit ve eritrositler farklılaşır. Ayrıca hem GLÖH hem de GMÖH dendritik hücrelere farklılaşabilir (Şekil-1) (7).

Hematopoezin bu hiyerarşik sürecinde hücrenin kaderi ve farklılaşma yönü büyüme faktörleri veya büyüme faktör reseptörleri, spesifik transkripsiyon faktörleri ve mikroçevre tarafından kontrol edilir (8).



Şekil-1. Hematopoez (7)

2.2. Akut Myeloid Lösemi

AML hematopoetik kök hücrelerinde genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimi sonucu kritik sinyal iletim yollarının etkilenmesi ve farklılaşmamış myeloid hücrelerin birikimiyle karakterize bir hematopoetik malignensidir (9).

2.2.1. Epidemiyoloji

AML erişkinlerde en sık görülen lösemi türü olup; akut lösemilerin yaklaşık %80'ini oluşturur. Çocuklarda görülme sıklığı daha düşüktür. On yaş altı çocuklarda AML insidansı %10'dan azdır (10).

AML her yaşta görülebilen bir hastalık olmakla beraber ileri yaş hastalığıdır. Erişkinlerde ortalama tanı yaşı 65'dir. 65 yaşından sonra sıklığı genç hastalara (10-40 yaş) göre 30 kat artar. Erkeklerde kadınlara oranla daha sık gözlenir (10). Hastalık farklı ırklarda benzer insidanslara sahip olmakla beraber bir çalışmada en yüksek insidansın non hispanik beyazlarda olduğu gözlenmiştir (11).

2.2.2. Etiyoloji

AML çevresel faktörler, genetik anomaliler ve benign ya da malign hematolojik hastalıklar sonucu oluşabilir. Tablo 2.1.2 'de AML'ye yatkınlık oluşturan durumlar gösterilmiştir (12).

Tablo-1. AML'ye yatkınlık oluşturan durumlar (11)

Çevresel Faktörler	
Radyasyon Kimyasallar	Kemoterapodik ilaçlar Sigara
Genetik anomaliler	
Down Sendromu Fankoni anemisi Bloom Sendromu Ailesel RUNX1 mutasyonları Konjenital amegakaryositik trombositopeni Bloom sendromu Kostmann sendromu Diamond-Blackfan Sendromu	Shwachman Diamond sendromu Diskeratozis konjenita Nörofibromatöz Werner sendromu Diskeratozis konjenita Nörofibromatöz Werner sendromu
Hematolojik hastalıklar	
Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri Aplastik anemi Myelodisplastik Sendrom Kronik myeloid lösemi	İdiyopatik miyelofibrozis Primer trombositemi Polistemia vera

2.2.3. Sınıflama

İlk kez 1976 yılında bir grup Fransız, Amerikan ve İngiliz bilim adamı tarafından oluşturulan French-American-British (FAB) sınıflaması 1985 yılında gözden geçirilerek tekrar düzenlenmiştir. FAB sınıflamasında temel olarak morfolojik bulgular ve histokimyasal boyama yöntemleri göz önüne alınır ve AML 8 alt gruba ayrılır (13). FAB sınıflamasına göre AML alt grupları Tablo 2'de gösterilmiştir. Bu sınıflamada AML tanısı için kemik iliğindeki hücrelerin en az %30'unun blastlardan oluşması gerekmektedir.

İlerleyen yıllarda sitogenetik ve moleküler genetik tekniklerin gelişmesi ile prognostik ve terapötik açıdan ilişkili olan genetik ve klinik özellikleri de tanımlamak amacıyla Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) tarafından 2001 yılında yapılan yeni sınıflama Tablo 3'de gösterilmektedir. FAB sınıflamasından farklı olarak AML'de genetik değişiklikler ve klinik özellikler de değerlendirmeye dahil edilmiştir (14).

AML FAB Sınıflaması

AML-M0 (Farklılaşma göstermeyen akut myeloid lösemi)

En sık erişkin yaş grubunda görülür. Tüm AML hastalarının yaklaşık %5'inden azını oluşturur. Blastların %3'ünden azının myeloperoksidaz (MPO) veya Sudan black (SB) pozitif olması, B ya da T hücre immün belirteçleri (CD3, CD10, CD19 ve CD5) negatif olması ve myeloid hücre ilişkili CD13, CD14, CD15, CD33, CD34 immün belirteçlerinin pozitif olması ile tanı konur. Hemen hemen hiç olgun myeloid hücre, auer cisimleri ve sitoplazmik granüller gözlenmez. Yalnızca morfolojik değerlendirme ile Akut lenfositik lösemi'den (ALL) ayırımını yapmak mümkün değildir (15). AML-M0 alt tipi genellikle kötü prognoz ile ilişkilidir (16). Spesifik bir sitogenetik değişiklik tanımlanmamıştır.

AML-M1 (Olgunlaşma göstermeyen akut myeloid lösemi)

En yüksek görülme sıklığı erişkinler ve 1 yaşın altındaki infantlarda olmakla beraber tüm yaş gruplarında yüksek sıklıkla rastlanır. Myeloblastların %3'den fazlasında MPO ve SB pozitifdir. Myeloblastlarda azurofilik granüller ve auer cisimleri gözlenir. CD13, 14, 15, 33 ve CD34 sıklıkla pozitifdir. Hastaların yaklaşık %50'sinde lösemik hücrelerde kazanılmış genetik anomalilere rastlanır. En sık görülen sitogenetik anomali t(9;22)(q34;q11)'dir (16).

AML-M2 (Olgunlaşma gösteren akut myeloid lösemi)

Tüm AML hastalarının yaklaşık %10'unu oluşturur. Auer cisimleri sıklıkla gözlenir. Kemik iliğinde azurofilik granüller içeren ve içermeyen blastlar mevcuttur. Nötrofillerde anormal nükleer segmentasyon gözlenir. İmmünofenotipleri CD13, CD33, CD34, CD38, HLA-DR sıklıkla pozitifdir (17). Beklenen spesifik sitogenetik anomali t(8;21)(q22;q22) translokasyonudur. İyi prognozla ilişkilidir. Nadir de olsa t(6;9)(q23;q34), t(8;16)(p11;p113) ve del(12p) gibi anomaliler eşlik edebilir. Ancak ek anomalilerin varlığının klinik önemi gösterilememiş.

AML-M3 (Akut Promyelositik Lösemi)

Tüm AML hastalarının yaklaşık %10'unu oluşturur. Kemik iliğinde promyelosit hakimiyeti vardır. Böbrek şekilli ya da bilobule nükleus görülür. Azurofilik granüllere ve auer cisimlerine rastlanır. MPO, SB pozitifdir. İmmünofenotipleri CD13, CD15, CD33 pozitifdir. HLA-DR ve CD34 negatifdir. Yaygın damar içi pıhtılaşma ve fibrinolizise rastlanır. Spesifik sitogenetik anomalisi hastaların %90'dan fazlasında görülen

t(15;17)(q22;q22) translokasyonudur. İyi prognozla ilişkilidir. Blast oranına bakılmaksızın görüldüğü an AML-M3 tanısı konulur. t(15;17)(q22;q22) translokasyonuna en sık eşlik eden anomali trizomi 8'dir.

AML-M4 (Akut Myelomonositik Lösemi)

Tüm AML hastalarının %5-10'unu oluşturur. Çocuklarda görülme sıklığı yaklaşık %3'tür. Kemik iliğinde blast oranı %20'den fazladır. Myeloblastların yanı sıra kemik iliğindeki hücrelerin en az %20'sini monositler ve monositik öncül hücreleri oluşturur (17). Monositler nonspesifik esterazla boyanır ve immünofenotipleme ile CD14, CD11c, CD64 pozitifdir. Spesifik bir sitogenetik anomalisi yoktur.

AML-M5 (Akut Monoblastik/Monositik Lösemi)

Tüm AML hastalarının %5'inden azını oluşturur. FAB sınıflandırmasına göre blast ve monositik hücrelerin oranlarındaki değişikliklere göre M5a ve M5b olmak üzere 2 gruba ayrılır. M5a'da blast oranı %30'dan fazla olup monositik hücrelerin oranı %50-80'dir. M5b'de ise blast oranı %30 iken monositik hücrelerin oranı %80'den fazladır. Auer cisimleri nadirdir, hemofagositoz bulunabilir. İmmünofenotiplemede monositik farklılaşma markırları olan CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD68, CD36, lizozimden en az ikisi ile reaksiyon izlenir (18). MLL ili ilgili anomaliler (translokasyon, delesyon) görülebilir.

AML-M6 (Akut Eritroid Lösemi)

Tüm AML hastalarının %5'inden azını oluşturur (17). Hücrelerin %50'sinden fazlasını eritroid öncül hücreleri, %30'undan fazlasını ise myeloblastlar oluşturur. Eritroblastlarda megaloblastik değişiklikler ve myelodisplazi gibi nükleer anomaliler gözlenir (16). Myeloperoksidaz boyanmazlar. PAS ve esteraz pozitiflerdir. Auer cisimleri vakaların yarısından fazlasında gözlenir. Tipik olarak myelodisplazi ile ilişkili sitogenetik değişikliklere rastlanır. Kötü prognozla ilişkilidir. Hücre hakimiyetine göre eritroid/myeloid ve eritroid olmak üzere 2 tipi mevcuttur.

AML-M7 (Akut Megakaryoblastik Lösemi)

Tüm AML hastalarının %5'inden azını oluşturur. Kemik iliğinde blastlar toplam hücrelerin %20'sinden fazladır ve blastların en az %50'sini megakaryositik seri oluşturur (17). Sıklıkla MPO ve SB boyanmazlar, PAS pozitiflerdir. CD41, CD61, trombosit proteinleri,

Von Willebrand Faktör Antijenleri saptanabilir. Kemik iliği fibrozisine rastlanabilir. Sıklıkla Down Sendromlu çocuklarda görülmektedir.

Tablo 2. AML'de FAB sınıflaması

M0 - Farklılaşma göstermeyen AML
M1 - Olgunlaşma göstermeyen AML
M2 - Olgunlaşma gösteren AML
M3 -Akut promyelositik lösemi
M4 -Akut myelomonositik lösemi
M4eo -Eozinofili ile birlikte görülen akut myelomonositik lösemi
M5 -Akut monositik lösemi
M5a -Monoblastik (farklılaşma göstermeyen akut monositik) lösemi
M5b -Farklılaşma ile birlikte görülen akut monositik lösemi
M6 -Eritrolösemi (Akut eritroid lösemi)
M7 -Akut megakaryositik lösemi

AML WHO Sınıflaması

AML'de yeni tekniklerin geliştirilmesi moleküler genetik ve sitogenetik anomalilerin tespitini sağlamış, bunların prognostik önemleri anlaşılması sonucunda da akut lösemilerin sınıflandırılması için 2001 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından WHO sınıflaması adı verilen yeni bir sınıflama yapılmıştır. Tablo-3'de AML WHO sınıflaması gösterilmektedir.

WHO sınıflaması FAB sınıflamasına göre bazı önemli değişiklikler içermektedir (19);

- ✓ FAB sınıflamasında AML tanısı için gereken blast oranı %30 iken WHO sınıflamasında bu oran %20'ye indirilmiştir.
- ✓ Sitogenetik ve moleküler değişiklikler sınıflamaya dahil edilmiştir.
- ✓ Öncesinde myelodisplastik ya da kronik myeloproliferatif hastalık öyküsü olan vakalar dahil edilmiştir.
- ✓ Çoğul seri displazileri ve sitotoksik ajanlara sekonder AML vakaları dahil edilmiştir
- ✓ Yeni morfolojik alt tipler eklenmiştir.

Tablo-3. AML'de WHO sınıflaması

Tekrarlayan genetik anomalilerle seyreden AML

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

t(15;17)(q22;q12) ile ilişkili AML ve varyantları; PML/RAR α

inv(16)(p13.1q22) veya t(16;16)(p13.1;q22); CBF β -MYH11

11q23 (MLL) anomalileri ile ilişkili AML

t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL

t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214

inv(3)(q21q26.2) veya t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EV11

t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1

Çoğul seri displazisi gösteren AML

Öncesinde MDS olan AML

Öncesinde MDS olmayan AML

Tedaviye bağlı AML ve myelodisplastik sendromlar

Alkilleyici ajanlarla ilişkili AML

Topoizomeraz II inhibitör ile ilişkili AML

Tanımlanmış gruplara girmeyen AML

Minimal farklılaşma gösteren AML

Olgunlaşma göstermeyen AML

Akut myelomonositik lösemi

Akut monoblastik lösemi

Akut eritroid lösemi

Akut megakaryoblastik lösemi

Akut bazofilik lösemi

Myelofibrozla giden akut panmiyeloz

Myeloid sarkom

Tedaviye bağı AML ve Myelodisplastik Sendrom

WHO'nun bu sınıflamasında yer alan AML; Hodgkin Lenfoma, Non Hodgkin Lenfoma, romatoid artrit, sarkom, over ve testiküler tümör gibi hastalıklarda kullanılan kemoterapi ve radyoterapiye sekonder gelişir (20). Alkilleyici ajanların ve Topoizomeraz II inhibitörlerinin kullanımı sonrası gelişen 2 formu vardır. Kötü prognozla ilişkilidir.

Alkilleyici ajanlarla ilişkili olan form; genellikle alkilleyici ajanlara ya da radyasyona bağı olarak, maruziyet sonrası ortalama 6 yılda gelişir (20). Hastaların yarısından çoğu direk MDS ile kendini gösterirken diğer hastalarda AML'ye MDS bulguları eşlik eder. Pansitopeni ve çoğul seri displazisi sık rastlanan bulgulardır. Kromozom 5 ve 7'nin delesyon ve monozomileri siktir.

Topoizomeraz inhibitörlerine bağı AML ise maruziyetten ortalama 2-3 yıl sonra ortaya çıkar (21). MDS bulguları olmaksızın monositik komponentin baskın olduğu akut lösemi ile kendini gösterir (22).

Tanımlanmış Gruplara Girmeyen AML

Yukarıda sayılan WHO sınıflama gruplarının hiçbirine girmeyen, FAB sınıflamasına göre belli tiplerdeki AML'lerin morfolojik bulguları baz alınarak gruplandırılmış AML'lerdir. Bunların yarısından fazlasını M0, M1 ve M2 alt grupları oluşturmaktadır. FAB M4 %21, M5 %15, M6 %4, M7 ise %1'ini oluşturur.

Akut Bazofilik Lösemi

Tüm AML hastalarının %1'inden azını oluşturur. Blastlar orta boyuttadır. Bazofilik sitoplazma ve değışken sayıda bazofilik granüller gözlenir. MPO ve SB negatiftir. Myeloid markırlar saptanabilir fakat diğer monositik belirteçler negatiftir. Ayırıcı tanıda bazofilinin gözlendiğı Kronik Myeloid Lösemiden (KML) ayrımı yapılmalıdır.

Akut Panmiyeloza veya Miyelofibrozis

Oldukça nadir görülen bir alt tiptir. Artmış blast sayısı ve oldukça agresif gidişatı nedeni ile AML altında sınıflandırılmıştır. Kemik iliğı hipersellülerdir, yaygın fibrozis nedeniyle kemik iliğı aspirasyonu yapmak oldukça güçtür. Panmiyeloza olarak adlandırılır. Bir çok farklı myeloid seriden blastlar bulunabilir. Kronik ya da primer miyelofibrozisin aksine çok hızlı geliştiğinden hastalarda organomegali ve ekstramedüller hematopoez gözlenmez.

Myeloid Sarkom:

Myeloid sarkom, ekstramedüller myeloid lösemi, ekstramedüller myeloid tümör, granülositik sarkom ve kloroma olarak da adlandırılan myeloid öncül hücrelerin malign neoplazisidir. Oldukça nadir gözlenir. AML için öncüll bir lezyon olarak çıkabildiği gibi hastalıkla eş zamanlı ya da relapsta da ortaya çıkabilir. Kan ve kemik iliği infiltrasyonu ile ilişkisi bulunduğu sıklıkla lösemik hücrelerin kutanöz ve gingival infiltrasyonu gözlenir. Baskın olan monositik hücrelerdir. Tanıda myeloperoksidaz ve lizozim boyama, immünohistokimya, flow sitometri kullanılır.

2.2.4. AML’de genetik bulgular

AML’de tekrarlayan genetik anomaliler

Metafaz hücrelerinden sitogenetik analiz AML ön tanılı ya da yeni tanı almış AML hastalarında tanı ve tedavinin belirlenmesinde, prognozun değerlendirilmesinde vazgeçilmezdir. İlk kez 1970’li yıllarda Rowley ve arkadaşları AML hastalarında quinacrine bantlama yöntemiyle kromozomlarda t(8;21)(q22;q22) ve t(15;17)(q22;21) resiprokal translokasyonlarını göstermiştir (23). AML hastalarında o tarihten günümüze kadar translokasyon, inversiyon ve insersiyonları içeren 100’den fazla dengeli kromozomal yeniden tespit edilmiştir (24). Bu nonrandom kromozomal yeniden düzenlenmeler yetişkin AML hastalarının %55’inde görülmektedir (25).

2008 yılındaki Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) en son güncellemesinde AML’de tekrarlayan genetik anomaliler adı ile bir grup oluşturulmuştur. Tekrarlayan genetik anomaliler tüm AML vakalarının yaklaşık %11’ini oluşturmaktadır (26) . Bu grupta spesifik AML alt tipleriyle ilişkilendirilmiş prognostik açıdan önemli yapısal anomaliler mevcuttur.

t(8;21)(q22;q22) (RUNX1-RUNX1T1 ile birlikte seyreden AML)

t(8;21)(q22;q22) dengeli translokasyonuna yeni tanı anında erişkinlerin yaklaşık %7’sinde rastlanırken AML tanısı almış çocuklarda en sık görülen anomalidir. Kemik iliği blast oranına bakılmaksızın saptandığında AML tanısı koyduran 3 sitogenetik anomaliden biridir (17). Hücre morfolojisine dayanarak FAB M2 sınıflanması içinde yer almaktadır.

Morfolojik olarak tipik özellikleri vardır. Myeloblastlarda dişli nükleus yapısı görülür. Sitoplazma genelde bazofilik olup etrafında belirgin paranükleolar halka mevcuttur. Auer

cisimlerine rastlanır. Kemik iliği eozinofilisi yaygındır. Promyelositler, myelositler, metamyelositler önde gelen hücrelerdir.

Bu translokasyon ile 21. kromozom'daki *RUNX1* (*AML1*) ve 8. kromozomdaki *RUNX1T1* (*ETO*) arasında füzyon oluşur. Oluşan bu füzyon geni *AML1* geninin DNA bağlayan kısmını ve *ETO* geninin tamamını içerir. İzole translokasyon vakaların %20'sinde görülür. Cinsiyet kromozomlarının kaybı, del(9)(q22), -7, +8 kromozom anomalilerinin eşlik ettiği hastalar da mevcuttur (27). Sitogenetik analiz ile tespit edilemeyen kriptik translokasyonlar, FISH ve revers-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemleri ile tespit edilebilir. t(8;21)(q22;q22) translokasyonu iyi prognozla ilişkilidir. Ancak beraberinde *C-KIT* mutasyonu saptanması orta prognostik grupta ilişkilidir. Hastalarda remisyon oluştuktan yıllar sonra bile RT-PCR yöntemi *RUNX1-RUNX1T1* transkriptleri saptanabilir.

inv(16)(p13;q22) veya t(16;16)(p13;q22) (CBFβ-MYH11) ile seyreden AML

Kromozom 16'yı içeren anomalilere yeni tanı anındaki erişkinlerin yaklaşık %7'sinde rastlanır (28). Hücre morfolojisine dayanarak FAB M4 sınıflaması içinde yer almaktadır. Sıklıkla daha genç hastalarda gözlenir. Tanı ya da relapsta ekstramedüller myeloid sarkom görülebilir. Hem inv(16)(p13;q22) hem de t(16;16)(p13;q22) translokasyonu sonucunda 16q22 bölgesinde bulunan çekirdek bağlayıcı faktör beta (CBFβ-*Core binding factor* β) geni ile 16p22 bölgesindeki miyozin ağır zincir geni (*MYH11*-muscle myosin heavy chain) geninin füzyonu gerçekleşir. Sonuçta *CBFβ-MYH11* füzyon geni oluşur. Hem inv(16)(p13;q22) hem de t(16;16)(p13;q22) iyi prognozla ilişkilidir ancak *C-KIT* mutasyonunun varlığında orta prognostik grupta değerlendirilir (29). Genomik kırık noktalarındaki değişkenliğe bağlı 10'dan fazla farklı boyutta transkript ürünü tanımlanmıştır. 16. kromozomdaki bu değişiklik konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle saptanamadığında FISH yada RT-PZR yöntemleri kullanılmalıdır.

t(15;17)(q22;q21), (PML/RARA) ile seyreden AML :

Yeni tanı anındaki erişkinlerin yaklaşık %13'ünde rastlanır (30). Hücre morfolojisine dayanarak FAB M3 sınıflaması içinde yer almaktadır. Akut promyelositik lösemi (APL) için karakteristiktir. 17q21 bölgesinde bulunan Retinoik Asit Reseptör Alfa (*RARA*) geni ile 15q22 bölgesinde bulunan Promyelositik Lösemi (*PML*) geni füzyona uğrayarak *PML/RARA* füzyon genini oluşturur. APL hastalarının %2 kadarında *PML* ile başka partner

genler füzyon oluşturur (31). *PML* ve *RARA* genleri normal hematopoezde görevli genlerdir. *PML* ek olarak büyümenin baskılanmasını sağlarken proapoptik aktiviteden sorumludur. *RARA* bir transkripsiyon faktörüdür; normal myeloid seri gelişimi için gerekli olan retinoik asidin etkisine aracılık eder. Oluşan bu füzyon geni *RARA* ve non-*RARA* hedef genleri baskılar. Hücre farklılaşması inhibe olur, kontrolsüz hücre çoğalmasına yol açar (32).

APL yaygın damar içi pıhtılaşma ve fibrinolizis nedeniyle medikal acil lösemilerden biri olarak değerlendirilmesine rağmen All-trans-retinoik asit (ATRA) tedavisi ile iyi bir prognoz gözlenmektedir.

Tanımlanmış diğer partner genler arasında *PLZF*, *NPM1*, *NUMA*, *FIP1L1* ve *BCOR* genleri yer almaktadır. Füzyon partnerleri hastalığın biyolojik yapısını değiştirerek trans retinoik asid gibi hedeflenmiş ilaç tedavilerine yanıt etkilemektedir (33). *PLZF-RARA* ve *STAT5B-RARA* füzyonu ile oluşan t(15;17) translokasyonu saptanan hastalar retinoidlere karşı dirençlidir. Ancak diğer füzyon partnerleri ile oluşan translokasyonlar tedaviye iyi yanıt verir (34).

11q23 (*MLL*) Anomalisi İle seyreden AML:

11q yeniden düzenlenmeleri yeni tanı anındaki erişkinlerin %6'sında gözlenir (28). Çocuklarda sıklığı daha fazladır; %12 oranında rastlanır (35). 11q yeniden düzenlenmeleri daha önce AML M5 olarak sınıflandırılan grupta sıklıkla gözlenmekteydi. Yüksek riskli çocukluk çağı, erişkin ve tedavi ilişkili lösemilerde daha sık rastlanır. Tanımlanmış 60'dan fazla partner geni vardır (36).

MLL (Myeloid/Lymphoid ya da mixed-lineage leukemia) hematopoez regülasyonunda görevlidir. AML'de en sık görülen *MLL* translokasyonu yaklaşık %2 sıklığında görülen t(9;11)(p22;q23) translokasyonudur ve orta prognostik risk grubunda değerlendirilir (37).

1 yaş altında görülen t(4;11)(q21;q23) translokasyonu sıklıkla lenfoblastik fenotiple ilişkilidir. Ancak bu hastalarda bazı myeloid belirteçlerin tespit edilmesi ve monoblastik hücrelerin görülmesi 11q23 bölgesindeki bir genin hematopoetik kök hücrelerin farklılaşmasında görevli olabileceğini ya da her iki hücre serisinde (myeloid ve lenfoid) aktif olduğunu düşündürmektedir (38).

KMT2A (Lizin spesifik metiltransferaz 2A) genini içeren 11q23 translokasyonları karışık serili lösemi (MLL) olarak adlandırılmaktaydı. *KMT2A* füzyon proteinlerinin hematopoetik hücrelerin lösemik hücrelere dönüşümünde etkisi olduğu düşünülmele beraber partner genler de bu süreçte önem teşkil etmektedir (39). Partner genler ayrıca myeloid ya da lenfoid dönüşümden de sorumlu olabilir.

Genel olarak bakıldığında *MLL* yeniden düzenlenmeleri hem lenfoid hem de myeloid seride gözlenebilir. İnfant ALL hastalarında saptanan t(4;11)(q21;q23) translokasyonu kötü prognozla ilişkilidir. Hastalar yüksek risk protokolüne göre tedavi edilir (40).

t(6;9)(p23;q34) (*DEK-NUP214*) ile seyreden AML:

Nadir görülen bir değişikliktir ve tüm AML hastalarında sıklığı %1 civarındadır (28). Bazofili, pansitopeni, displazi sıklıkla mevcuttur (41). 6p23 bölgesindeki *DEK* geninin, 9q34 bölgesindeki *NUP214* geni ile füzyonu gerçekleşir. Çoğunlukla eşlik eden ek sitogenetik anomaliye rastlanmaz (42). Bağımsız prediktif prognostik belirteç değildir. Ancak *FLT3* (Fms benzeri tirozin kinaz 3) geni ITD (İnternal tandem duplikasyonu) mutasyonunu t(6;9)(p23;q34) translokasyonuna sıklıkla eşlik eder. Kötü prognostik gidişat gösterir (41).

inv(3)(q21q26.2) veya t(3;3)(q21;q26.2) ile seyreden AML:

Nadir görülen bir değişikliktir ve tüm AML vakalarında sıklığı %1 civarındadır (28). Hem *de novo*, hem de tedavi ilişkili AML'de görülebilir. Bu hastaların kemik iliğinde atipik megakaryositler artmıştır, periferik kanda trombositoz mevcuttur (43). Ek anomali olarak monozomi 7 eşlik edebilir (44).

inv(3) ve t(3;3); 3q26.2 bölgesinde bulunan *MECOM* (*EVII*) gen aktivasyonuna yol açar. *MECOM* geni bir çok transkripsiyonel ve epigenetik regülatörle ilişki içindedir. *MECOM* geni kromatin modifikasyonuna ve DNA hipermetilasyonuna aracılık eder. Bağlanan partner gene bağlı *MECOM* fonksiyonu değişiklik gösterir; hematopoetik kök hücre çoğalmasını uyarabilir ya da eritroid seri farklılaşmasını baskılayabilir (44).

t(3;21)(q26.2;q22) sonucu *RUNX1/MECOM* füzyonu gerçekleşir. Oluşan bu füzyon ile sonucu *RUNX1* kesintiye uğrayıp aktivitesini kaybederken hematopoetik hücrelerde *MECOM* aktivasyonu gerçekleşir.

NK-AML hastalarında da anormal *MECOM* ifadelenmesi gözlenebilir ve kötü prognostik gidişat ile ilişkilidir (45).

t(1;22)(p13;q13) (RBM15-MKL1) ile seyreden AML:

Oldukça nadir görülen bir değişikliktir. Yeni tanı AML hastalarında sıklığı yaklaşık %0.5'tir (28). Tipik olarak infantlarda ve 3 yaş altındaki çocuklarda akut megakaryoblastik lösemi ile ilişkilidir. Translokasyon sonucu 1p13 bölgesindeki *RBM15* (RNA bağlayıcı motif 15) ve 22q13 bölgesindeki *MKL1* (megakaryositik lösemi-1) füzyonu oluşur. *MKL1* geni platelet maturasyonuna etki etmektedir. Ancak oluşan bu kimerik proteinin lökomogenez üzerine etkisi tam anlaşılamamıştır. Sarkom benzeri kitleler eşlik edebilir. Çok nadir bir değişiklik olması sebebiyle prognostik etkisi de henüz net değildir.

t(9;22)(q34;q11) (BCR/ABL1) ile seyreden AML:

t(9;22)(q34;q11) translokasyonu sonucunda 9q34 bölgesindeki *ABL1* geni ve 22q11 bölgesindeki *BCR* geninin füzyonu oluşur. Oluşan bu BCR/ABL kimerik geni tirozin kinaz aktivitesi gösterir (46). Sıklıkla Kronik myeloid lösemi ile ilişkilendirilmiş bir kromozomal yeniden düzenlenmedir ve AML'de oldukça nadir gözlenir. Yeni tanı AML hastalarında sıklığı %1 civarındadır (47, 48). Kronik myeloid lösemideki myeloid blastik krizden ayırımı laboratuvar ve klinik bulgulara göre yapılır (49). Kötü prognozla ilişkilidir.

Kromozomal kayıp ve artışlar

AML hastalarında her kromozomda kayıp ya da artış görülebilir. Ancak trizomi 8, monozomi 7, monozomi 5 daha sık görülen sayısal kromozomal anomalilerdendir. Özellikle tedavi ilişkili AML'de 5. ve 7. kromozom monozomi ve delesyonları karakteristiktir ve sıklıkla kompleks karyotipe eşlik eder (50). Bu değişiklikler kötü prognozla ilişkilidir.

Trizomi 22 AML'de oldukça nadir görülen bir sayısal kromozomal anomalisidir ancak saptandığında inv(16) akla gelmelidir (51).

Otozomal değişikliklere ek olarak cinsiyet kromozomlarında da kayıplar gözlenebilir. Y kromozom kaybı sık görülen bir değişiklik olmakla beraber ileri yaşta ve hematolojik olarak normal olan erkeklerde de gözlemlenen bir bulgudur. Klinik önemi net değildir. Tek X kromozomunun kaybı sıklıkla t(8;21) translokasyonuna eşlik eder ve genç erişkinlerde gözlenir. *TP53* tumor supresor genini içeren 17p delesyonlarına rastlanabilir.

Kompleks karyotip

Sayısal ve veya yapısal üç ve üstü sayıda kromozomal anomalinin gözleendiği kompleks karyotip; özellikle çoğul seri displazisi olan ve MDS /Myeloproliferatif Neoplazmlardan (MPN) dönen AML hastalarında daha sıklıkla gözlenir. -5/del(5q), -7/del(7q), -16, -18, kromozom 1 ve 11'de artış kompleks karyotipte sık saptanan kromozomal anomalilerdir. Kompleks karyotipli hastalarda en önemli prognostik faktör *TP53* gen değişiklikleridir, hastalar allojenik kök hücre transplantasyonuna rağmen oldukça kötü gidişat gösterirler (52).

Normal karyotip

Tüm AML'nin yaklaşık %45-50'sinde rutin sitogenetik yöntemlerle normal karyotip saptanır (28). Ancak bu vakalar moleküler düzeyde oldukça yüksek oranda heterojeniteye sahiptirler. aCGH ve diğer ileri düzey moleküler yöntemler normal karyotip saptanan hastalarda birçok gen değişikliği saptanmaktadır. AML'de normal karyotip orta prognostik grupta yer alır. Ancak *NPM1* veya biallelik *CEBPA* mutasyonu varlığında iyi prognostik grupta değerlendirilirken *FLT3* ITD mutasyonu varlığında kötü prognostik grupta değerlendirilir.

AML'de moleküler genetik bulgular

Genetik değerlendirme AML hastalarının risk düzeylerinin belirlenmesinde ve yönetiminde oldukça önemlidir. Sınıflama ve risk değerlendirmesi temel olarak sitogenetik analize dayanmakla beraber moleküler testler tamamlayıcı bir rol oynamaktadır (1). Bir çok prognostik sınıflama sistemi klinik ve sitogenetik bulguları baz alarak iyi, kötü ve orta prognoz olarak sınıflamaktadır. İyi prognostik gruptaki hastalara standart tedavi protokolleri uygulanırken kötü prognostik grup allojenik kök hücre nakline gitmektedir (53). Yaklaşık %45-50 oranını ile ara prognostik gruptaki bireylerde sıklıkla normal karyotip saptanmaktadır (51,52). Tespit edilecek moleküler değişiklikler hastaların yönetiminin daha doğru şekilde yapılmasına olanak sağlamaktadır

***FLT3* Mutasyonları**

FLT3 geni reseptör tirozin kinaz sınıf 3 ailesinin üyesidir. Kromozom 13'te (13q12) yer alır, 67 kilobaz büyüklüğünde 24 ekzonlu bir gendir. Hematopoezde görev almaktadır. Kemik iliği öncüll kök hücrelerinde normal olarak bulunur ve maturasyon esnasında ifadenmesi kaybolur (55). Reseptörü; 5 Ig benzeri bölge içeren bir hücre dışı bölge, bir transmembran bölge ve bir kinaz bölgesiyle ikiye ayrılmış sitoplazmik bir kinaz

bölgesinden oluşur.

AML'de yaklaşık %25-30 oranı ile en sık mutasyonu görülen genlerden biridir. *FLT3* mutasyonları arasında juxtamembran domain internal tandem duplikasyonları (ITD) ve tirozin kinaz domain (TKD) mutasyonları en sık görülen mutasyonlardır.

Olguların yaklaşık % 20'sinde genin juxtamembran domaininin ITD'u görülür. Ekzon 14 ve ekzon 15'de yer alır. Burda genin otoinhibitör bölgesinde oluşan hasar spontan kinaz aktivitesine yol açarak genin aktive olmasına neden olur. Normal karyotip ve t(15;17) gözlenen AML hastalarında daha sık görülmektedir. *FLT3* ITD mutasyonları kötü prognozla ilişkilidir (56). *FLT3* ITD mutasyonu saptanan tüm normal karyotipli hastalarda yüksek relaps riski olmasına rağmen allojenik kök hücre nakli önerilir. Hedeflenmiş *FLT3* inhibitörlerinin başarısı diğer yolakların aktivasyonu, *FLT3* TKD mutasyonunun eşlik etmesi ya da downstream sinyal yolaklarının aktivasyonu gibi sebeplerle kısıtlıdır (57).

TKD mutasyonları ise olguların yaklaşık %5-10'unda görülür. NK-AML hastalarında daha sıktır. *FLT3* geninin aktive edici loop bölgesi kodon 835 ve 836'da meydana gelen nokta mutasyonları, küçük insersiyon ya da delesyonlar tirozin kinaz aktivitesine sebep olmaktadır. *FLT3* TKD mutasyonlarının prognoz üzerine etkisinin net olmaması nedeni ile bu grupta *FLT3* inhibitörlerinin kullanımı da tartışmalıdır (57).

***NPM1* Gen Mutasyonları**

NPM1 (Nükleofosmin 1) geni 5. kromozomun uzun kolunda (5q35.1) lokalize, 12 ekzondan oluşan bir genidir. *NPM1*; ribozomal proteinlerin nüklear membrandan transportunu sağlayan şaperon protein olarak işlev görür. Nükleolusun granüler bölgesinde yüksek oranda ifade edilir. Nükleofosmin olarak bilinen bir fosfoprotein kodlar. Nükleofosmin ribozom biyogenezi, sentrozom duplikasyonu, hücre çoğalmasını ve p53 üzerinden apoptozisin de dahil olduğu birçok hücrenel süreçte görevlidir (58).

NPM1 geninin 12. ekzonunda meydana gelen mutasyon; genin C terminal bölgesindeki nükleolar lokalizasyon sinyalinin kaybolmasına yol açar bu da lösemik blastlarda NPM'nin anormal sitoplazmik yerleşimi ile sonuçlanır. En sık görülen mutasyon 4 baz çiftlik insersiyondur. *NPM1* mutasyonu tüm AML hastalarında %30, NK-AML hastalarında ise %50-60 görülme sıklığıyla AML'de en sık görülen mutasyondur (56). Tekrarlayan genetik anomaliler, *BCOR*, *CEBPA* mutasyonları ile nadir görülür. Ancak *FLT3* ITD, *DNMT3A* ve

IDH mutasyonları ile sıklıkla beraberlik gösteririr.

NMP1 mutasyonu;*FLT3* ITD mutasyonunun negatif olduğu normal karyotipli AML hastalarında iyi prognoz gösterirler (59).

***CEBPA* Mutasyonları**

CEBPA (CCAAT güçlendirici bağlayıcı protein alpha) geni granülositik hücre çoğalmasını ve terminal farklılaşmayı düzenleyen lösin zipper transkripsiyon faktörleri ailesinden bir transkripsiyon faktörü kodlar.

Tüm AML vakalarının %10'unda *CEBPA* mutasyonları gözlenir. Sıklıkla normal karyotip ve 9q delesyonu saptanan hastalara eşlik eder (60).

Temel olarak 2 tip mutasyonu gözlenir. İlki baskın negatif özellikte kesik *CEBPA* izoformuna yol açan N Terminal bölgede anlamsız mutasyonlardır. Diğeri ise DNA bağlanma ve dimerizasyon aktivitesinde azalmaya yol açan C terminal bölgede çerçeve içi mutasyonlardır (3). C terminal bölgedeki ve N terminal bölgedeki mutasyonların birlikte gözlenmesi biallelik mutasyon olarak adlandırılır. *CEBPA* mutasyonlarının yaklaşık 2/3'ü biallelik mutasyonlardır. Biallelik mutasyonlar normal *CEBPA* ifadelenmesini kesintiye uğratar. Geri kalan 1/3'lük kısmını ise monoallelik mutasyonlar oluşturur (1). Biallelik mutasyonlar normal karyotip varlığında iyi prognoz ve düşük relaps riski ile ilişkilidir ve sağkalım üzerinde olumlu etkisi vardır. Monoallelik mutasyonlar bir çalışmada normal karyotip varlığında kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (61).

***KIT* Mutasyonları**

KIT geni tip 3 tirozin kinaz reseptör ailesi üyesidir. 4. kromozomun uzun kolunda (4q11-12) yer alır ve 145 KD boyutunda bir transmembran glikoprotein kodlar. Sıklıkla ekzon 8 ve ekzon 17'de fonksiyon kazandıran mutasyonlar gözlenir. Tüm AML hastalarında sıklığı %2-14 civarındadır. CBF lösemiler olarak adlandırılan, inv(16) ve t(8;21) kromozomal yeniden düzenlenmeleri saptanan lösemilerde daha siktir. CBF gurubundaki genler bir çok dokunun farklılaşmasında görevli hedef genlerle heterodimer kompleksi oluşturur. DNA'ya bağlanarak işlev gören alfa ve DNA'ya bağlanmadan transkripsiyonel aktiviteyi artıran beta alt üniteleri vardır. t(8;21), tranlokasyonundaki AML1 geni CBF'nin DNA'ya bağlanarak transkripsiyonu başlatma özelliğine sahip alfa1 alt gurup üyesidir. Diğeri bir CBF geni inv(16) sonucu fonksiyonu değişen CBF betadır (62). *KIT*

mutasyonlarının sıklığı inv(16) ve t(8;21) saptanan hastalarda %7-46 oranlarına çıkmaktadır. Kötü prognozla ilişkilidir (63).

***DNMT3A* Mutasyonları**

DNMT3A (DNA Metiltransferaz 3A) geni metilasyon üzerinden genomun epigenetik regülasyonunda görevlidir. *DNMT3A* mutasyonları tüm AML hastalarında %20 oranında gözlenir. En sık görülen mutasyon yanlış anlamlı R882 mutasyonudur (64). Genellikle NK-AML hastalarında gözlenir. Kötü prognozla ilişkilendirilmiştir ancak yüksek doz antrasiklin kemoterapisine iyi yanıt verebilir (65).

***ASXL1* (Additional sex-comb like 1) Mutasyonları**

ASXL1 kromatin modifikasyonu ile transkripsiyonu düzenleyen bir kromatin bağlayıcı protein kodlar. Sıklıkla MDS ve sekonder AML'de gözlenir (66). Tüm AML vakalarında sıklığı %3-5 civarındadır (65). NK-AML hastalarında, erkeklerde, MDS öyküsü olanlarda, trizomi 8 ve *RUNX1* mutasyonu saptanan bireylerde ve ileri yaşta daha sık gözlenir.

***IDH* (İzositrat dehidrogenaz) Mutasyonları**

IDH1 ve *IDH2* genleri histon ve DNA metilasyonunda görevli olup izositrat 1 ve 2'yi kodlarlar (67). Mutasyonlar aktif izositrat bağlayıcı bölgede gerçekleşir ve 2-Hidroksiglutarat seviyesinde artışa neden olur. *IDH1* mutasyonlarının sıklığı %6-14 (68), *IDH2* mutasyonlarının sıklığı ise %11-19 civarındadır (69). İkisi de NK-AML hastalarında ve trizomi 8 saptanan hastalarda daha sık gözlenir.

En sık görülen *IDH2* mutasyonları R172 ve R140'dır. *IDH1* ve *IDH2* mutasyonlarının prognoz üzerine iyi, kötü ve herhangi bir etkisi olmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu tutarsızlıklar nedeni ile prognostik etkisini açıklamak açısından daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir. NPM1 mutasyonu ile birlikte görülebilir.

2.2.5 AML'de Klinik

AML'de klinik tablodan temel olarak kemik iliği baskılanmasına bağlı gelişen pansitopeni tablosu sorumludur.

Hastalarda anemiye bağlı solgunluk ve zayıflık görülür. Çarpıntı, çabuk yorulma ve dispne gibi diğer anemi ile ilişkili semptom ve bulgular da ortaya çıkabilir.

Trombositopeniye bağlı ekimoz, peteşi, diş eti kanaması, epistaksis ve konjonktival kanamalar gibi hemorajik bulgulara sıklıkla rastlanır.

AML hastalarında kemik ağrısı çok yaygın değildir. Ancak lösemik süreçte medüller kavitenin genişlemesine bağlı bazı hastalarda sternumda, daha nadiren de alt ekstremite uzun kemiklerinde şiddetli ağrı, rahatsızlık hissi ve/veya hassasiyet gözlenebilir.

Tanı anındaki santral sinir sistemi (SSS) tutulum sıklığı; hastalarda SSS semptomları yoksa rutin değerlendirme önerilmediği için net olarak bilinmemektedir. Genel olarak monositik içeriğin baskın olduğu tiplerde, hiperlökositoz saptanan hastalarda ve 2 yaşın altındaki ocuklarda SSS tutulumu daha sıktır (70). Nadiren lösemik menenjit görülebilir. Hastalarda artmış LDH seviyesi, kromozom 11 ve 16 anomalileri SSS tutulumu ile ilişkili olabilir (71). SSS tutulumu olan bireyler asemptomatik olabileceği gibi şiddetli baş ağrıları, kranial sinir tutulumları ya da görme problemleri ile başvurabilir.

Hastalarda anemiye sekonder solgunluk, trombositopeniye sekonder peteşi ya da ekimoz, lkemia kutis veya myeloid sarkom gibi infiltratif lösemik lezyonlar gibi çeşitli cilt bulguları bulunmaktadır. Hastaların yaklaşık %13'nde lösemik cilt infiltrasyonu gözlenir (72). Bu hastalar sıklıkla monositik ya da myelomonositik komponentin baskın olduğu AML alt tiplerindedir. Hassas eritamatoz nodül ya da plak varlığında akut nötrofilik dermatoz (Sweet Sendromu) akla gelmelidir. Nadir de olsa lökositoklastik vaskülit raporlanmıştır (73).

AML hastalarında ateş genellikle enfeksiyonlara bağlı gelişmektedir. Ancak APL'de daha sık olmak üzere AML hastalarının az bir kısmında lösemiye bağlı ateş görülebilir. Bu hastalarda uygun kemoterapi tedavisi ile ateş azaltılabilir (74).

Monositik alt tiplerde daha sık olmak üzere gingival hipertrofi hastalarda saptanabilecek bulgulardandır. Orofarinks ve diş muayenesinde oral kandidiyazis ya da herpetik viral lezyonlar gözlenebilir.

Lenfadenopati AML'de sık beklenen bir bulgu değildir. Hepatomegali ve splenomegali de hastaların sadece %10 kadarında gözlenir (75).

AML hastalarında daha nadir olarak da priapizm, hidronefroz ve böbrek yetmezliği gibi klinik tablolar gelişebilmektedir.

Myeloid sarkoma sekonder obstrüktif sarılık gelişebilir. AML hastalarında hepatik yetmezlik oldukça nadirdir.

2.2.6. AML’de Prognoz

AML’de ileri yaş, düşük performans düzeyi, yüksek lökosit değeri, radyoterapi öyküsü, sitotoksik ajanlara maruziyet, MDS ya da MPN öyküsü kötü prognozla ilişkilidir. Ancak genetik değişikliklerde prognozu açısından oldukça önemlidir. AML’de prognosa etkili genetik göstergeler Tablo 2.2.6’da verilmiştir.

Tablo-4. AML’de prognostik genetik göstergeler

Prognoz	Genetik bulgular
İyi	<ul style="list-style-type: none">• <i>KIT</i> mutasyonu yokluğunda CBF Lösemiler: inv(16),t(16;16),t(8;21)• t(15;17)• Normal karyotip: <i>FLT3</i> ITD yokluğunda <i>NPM1</i> mutasyonu / Biallellik <i>CEBPA</i> mutasyonu
Orta	<ul style="list-style-type: none">• Normal karyotip : <i>FLT3</i> ITD/<i>NPM1</i>/ Biallellik <i>CEBPA</i> mutasyonu yokluğunda• İzole +8• t(9;11)• <i>cKIT</i> mutasyonu ile beraber t(8;21), inv(16), t(16;16)
Kötü	<ul style="list-style-type: none">• Kompleks karyotip (≥ 3 klonal kromozomal anomali)• Monozomal karyotip -5, 5q-, -7, 7q- t(9;11) hariç 11q23 yeniden düzenlenmeleri• inv(3), t(3;3)• t(6;9)• t(9;22)• <i>FLT3</i> ITD mutasyonu

2.2.7. AML’de tedavi

AML’de tedavi, remisyon indüksiyon tedavisi ve remisyon devamlılığı için uygulanan postremisyon (konsolidasyon) tedavisi olmak üzere 2 aşamadan oluşur. Postremisyon tedavisi 60 yaşından genç hastalara önerilir (76). Postremisyon tedavisi almayan hastalarda sıklıkla relaps gözlenir Bu hastalara düşük yoğunlukta terapi ya da destekleyici bakım

uygun seçeneklerdir. 60 yaşından genç hastalarda postremisyon tedavisi hastanın risk durumuna göre belirlenir, yüksek riskli hastalara daha agresif tedavi protokolleri uygulanmalıdır. Hastaların risk durumunun belirlenmesinde sitogenetik ve moleküler göstergeler en önemli yeri alsa da uzun dönem remisyonunda prognostik başka göstergeler de vardır. Yüksek tümör yükü (beyaz küre sayısı $\geq 40,000/\text{mcL}$) ve bir seri indüksiyon tedavisinden sonra remisyona ulaşamama kötü prognostik göstergelerdendir (77). Tedavi süresince değişik zamanlarda alınan kemik iliği örneğinden morfolojik, sitogenetik ve moleküler genetik analizler yapılarak tedavi yanıtı değerlendirilir (78).

Tam remisyon kriterleri (79, 80);

- ✓ Morfolojik tam remisyonun sağlanması (Transfüzyondan bağımsız olarak mutlak nötrofil sayısının $>1000/\text{mcL}$, trombosit sayısını $\geq 100,000/\text{mcL}$ olması, ekstramedüller tutulumu ait bulgu olmaması)
- ✓ Sitogenetik açıdan tam remisyonun sağlanması (Daha önce sitogenetik anomalisi olanlarda normal karyotip saptanması)
- ✓ Moleküler genetik açıdan tam remisyonun sağlanması (APL ve Ph+ lösemiler için)

Parsiyel remisyon kriterleri (79, 80);

- ✓ Kemik iliği aspirasyonunda blast oranında en az %50 azalma, transfüzyondan bağımsız olarak mutlak nötrofil sayısının $>1000/\text{mcL}$, trombosit sayısının $\geq 100,000/\text{mcL}$ olması

APL, AML'nin özel bir alt tipidir. Hastalarının yaklaşık %90'ında iyi prognoz göstergesi olan t(15;17)(q21;q11) tespit edilmektedir. APL için indüksiyon tedavisinde ATRA kullanılmakta ve hastaların çok büyük kısmında tam remisyon sağlanabilmektedir. APL hastalarının çok az bir bölümünde ise diğer sitogenetik anomaliler [t(11;17)(q23;q11), t(11;17)(q13;q11), t(15;17)(q31;q11), t(17;17)] görülebilmektedir. Bu sitogenetik değişikliklerden t(11;17)(q23;q11) translokasyonu olan hastalar ATRA tedavisine dirençlidir.

2.3. Array temelli CGH

Rutin konvansiyonel sitogenetik analiz ile sadece mikroskopik kromozomal değişiklikler incelenebilirken FISH yöntemi submikroskopik değişiklikleri de incelemeye olanak sağlamaktadır. Sitogenetik analiz 5-10 megabaz boyutundaki sayısal ve yapısal anomalileri

saptayabilmektedir. FISH yöntemi ile tanısal çözünürlük artmıştır. Floresan işaretli DNA problemleri interfaz hücreleri ya da metafaz kromozomlarına hibridize edilerek submikroskopik değişikliklerin tespiti sağlanmıştır ancak tüm genom boyutunda değerlendirme yapamamaktadır. Sitogenetik ve FISH yöntemindeki kısıtlılıkları yenmek amacıyla ilk kez 1992 yılında solid tümörlerde karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) yöntemi geliştirilmiştir (81).

CGH yöntemi iki farklı genomun DNA kopya sayısı değişikliklerine göre karşılaştırılması esasına dayanır. Sitogenetik analiz ile saptanamayacak kadar küçük boyuttaki değişiklikleri tespit etme olanağı ve tüm genom perspektifinde daha detaylı analiz imkanı sağlamıştır. İlk geliştirildiğinde substrat olarak metafaz kromozomları kullanılmıştır (81). Sonraki çalışmalarda genomik klonlardan oluşturulan mikroarraylerin kullanımı ile aCGH teknolojisi ortaya çıkmıştır.

aCGH rutin sitogenetik ve moleküler sitogenetik yöntemlere kıyaslandığında daha yüksek çözünürlük imkanı sağlamakta, hematolojik malignansiler dahil bir çok kanserde tüm genomun taranmasına ve genomik dengesizliklerin haritalanmasına yardımcı olmaktadır (82).

2.3.1. Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (CGH) Yöntemi

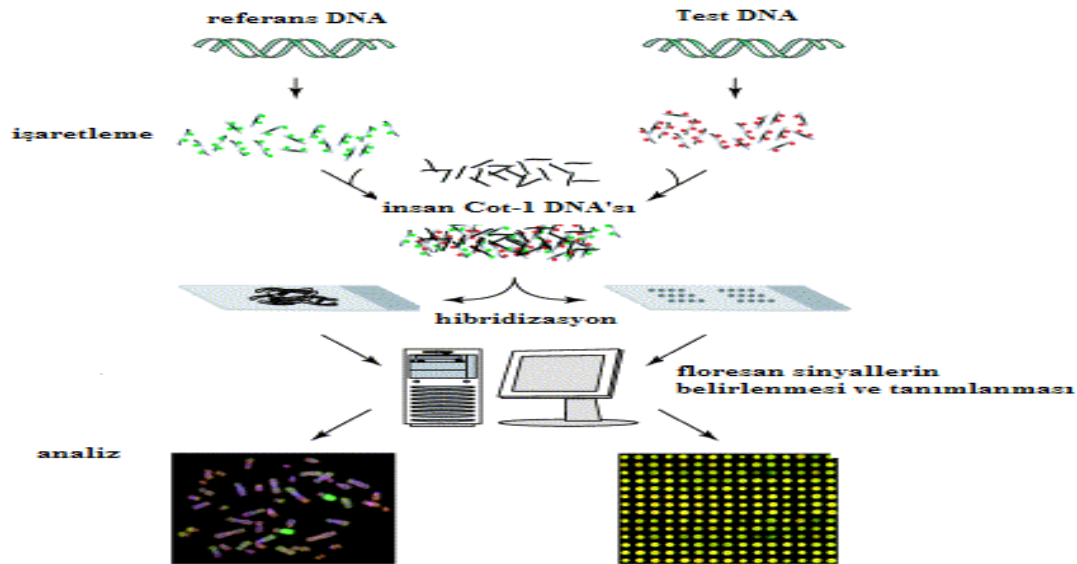
CGH yöntemi, analiz edilmek istenen örnek DNA (test DNA) ve normal olduğu bilinen bir referans DNA örneği farklı renkteki floresan ile işaretlenerek normal olduğu bilinen metafaz plakları üzerine beraber hibridize edilmesi esasına dayanmaktadır. Hibridizasyon sonunda metafaz plakları görüntü analiz sistemiyle kaydedilir. Özel bir CGH yazılımı ile metafaz plaklarındaki kromozomlar sırayla dizilir. Her bir kromozom üzerinde eşit olması gereken 2 farklı floresan renk arasındaki sapma CGH yazılımı ile tespit edilir. Böylece test edilen DNA'daki kromozom bölgelerindeki kopya sayısı artış ve kayıpları tespit edilir (83). Sonucun teyit edilmesi amacıyla başka metafaz alanları değerlendirilebilir. Ancak CGH yöntemi metafaz kromozomlarının düşük çözünürlük kalitesi, analiz ve uygulamadaki zorlukları nedeni ile yaygınlaşamamıştır.

CGH yöntemi yerini hassasiyet ve duyarlılığı daha yüksek, uygulaması pratik ve analizi daha kolay bir yöntem olan Mikroarray CGH yöntemine bırakmıştır.

2.3.2. Array CGH Yöntemi

Moleküler karyotipleme olarak da adlandırılan aCGH yöntemi; kopya sayısı değişikliklerinin (KSD) tüm genom perspektifinde yüksek çözünürlükte taranabilmesi için ilk olarak 1997 yılında geliştirilmiştir (84).

CGH yöntemindeki gibi test edilmek istenen örneklerle referans örneklerden genomik DNA izolasyonu yapılır. İzole edilen DNA farklı renkteki floresan boya ile işaretlenir. Tekrar dizilerinden kaynaklanabilecek hatalı eşleşmeleri önlemek için insan Cot-1 DNA ile muamele edilir (85). BAC, PAC, kosmid, cDNA, oligonukleotid ve PCR türevli problemlerin slaytlar üzerine immobilizasyonu yapılır. Referans ve örnek DNA aynı slayt üzerine uygulanır. Böylelikle slayt üzerine tutturulmuş problemlerden dizi eşleniği olanlar hibridize olur. Sonrasında slayt mikroarray tarayıcı ile taranır ve her problemlerdeki örnek ve referans DNA'ya ait floresan sinyalinin miktarı ölçülür. Elde edilen görüntü dosyaları KSD analizi için yazılım programlarına aktarılır. Örnek ve referans arasındaki floresan yoğunluklarının oranına kopya artışı ve kazanımları değerlendirilir. CGH ve aCGH yöntemleri karşılaştırılmalı olarak Şekil-2'de gösterilmektedir.



Şekil-2. CGH ve aCGH yöntemlerinin karşılaştırılması

Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarla aCGH yöntemi birçok hastalığa tanı konmasına ve hastalıkların moleküler temelinin aydınlatılmasına olanak sağlamıştır. İlk olarak kanserde

araştırma amaçlı başlayan çalışmalardan bu yana aCGH; rutin uygulamalarda vazgeçilmez bir tanı aracı haline gelmiştir (86).

1990'lı yılların sonlarından itibaren kromozom analizi t(8;21), t(15;17), inv(16) gibi iyi prognozla ilişkili dengeli değişikliklerin tespitinde en önemli tanı yöntemi haline gelmiştir (24). Son yıllarda teknolojideki gelişmelerin sayesinde normal karyotip saptanan ya da karyotip analizi yapılamayan hastaların incelenmesi ve AML patogeneğinde rol alan, alt tiplerin belirlenmesini sağlayan, prognoz ve tedavi açısından yönlendirici olan diğer genetik değişikliklerin belirlenmesinde aCGH gibi yüksek çözünürlüklü yöntemler önem kazanmıştır.

2.3.3. aCGH Avantaj ve Dezavantajları

Avantajları (85)

- ✓ DNA kopya sayısındaki değişikliklerin tüm genom düzeyinde tespiti ve lokalizasyonlarının haritalanması
- ✓ Yüksek çözünürlük
- ✓ Otomatize sistemlerle uygulama kolaylığı
- ✓ Birden fazla genomu birbirileri ile karşılaştırılabilmeye olanak sağlaması
- ✓ Az miktarlarda DNA örneğinin yeterli olması
- ✓ Metafaz plağına gerek duyulmaması
- ✓ DNA üzerindeki tek nükleotid değişikliklerinin tek nükleotid polimorfizm array platformları ile saptanabilmesi

Dezavantajları (85)(85)

- ✓ Translokasyon, inversiyon vb. dengeli kromozomal değişiklikleri saptamaması
- ✓ Poliploidiyi tespit edememesi
- ✓ Analiz için alanında uzman kişilere ihtiyaç duyulması
- ✓ Kanser gibi heterojen doku ve hücre popülasyonları içeren materyalleri çalışmanın zorluğu
- ✓ Tüm genomun yüksek çözünürlükte taranması nedeni ile maliyeti

3. HASTALAR VE METOD

3.1. ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma (Proje No:KA 15/213) Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu ve Etik Kurulu tarafından onaylanmış ve Başkent Üniversitesi Araştırma fonunca desteklenmiştir.

3.2. HASTA GRUBU

2012-2015 yılları arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesindeki Hematoloji Bilim Dalları tarafından AML tanısı alan 18 hastanın arşivlenmiş olan DNA örnekleri hastaların onayı ile çalışmaya dahil edildi. Kemik iliği ya da periferik kan örnekleri çalışılan 18 hastanın 6'sı erkek, 12'si kadındı. Yas aralığı 34 ile 76 arasında değişen, yas ortalamaları 55.5 olan hastaların 15'inin tanı, 3'ünün relaps dönemindeki örnekleri çalışıldı.

Onsekiz hastanın 2'si M0/M1, 3'ü M2, 2'si M3, 3'ü M5, 1'i M4/M5, 2'si M6 AML alt tipi tanısı almış, 5 hasta için klinisyen tarafından alt tip bildirilmemisti. Alınan kemik iliği veya periferik kan örneğinden konvansiyonel sitogenetik çalışma ile, direk, 48 ve 72 saatlik üçer kültür yapıldı. Her hastadan sayısal analiz için 20, yapısal analiz için en az 2 metafaz alanı değerlendirilerek sonuçlar ISSN 2009/2013'e göre raporlandı. Direk kültürden hazırlanan preparatlara LSI t(15;17) PML/RARA Dual Color Dual Fusion, LSI t(8;21) RUNX1/RUNX1T1 Dual Color Dual Fusion, LSI CBFβ inv(16) Dual Color Break Apart, LSI BCR/ABL Dual Color Dual Fusion ve LSI MLL (11q23) Dual Color Break Apart, problemleri kullanılarak FISH yöntemi uygulandı. Her prob ile en az 200 nükleus incelenerek sonuçlar ISSN 2009/2013'e göre raporlandı. Hastalara ait kemik iliği veya periferik kan örneklerinden genomik DNA eldesi sonrasında PZR ve PZR- Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP) yöntemleri ile *FLT3* ITD ve D835 mutasyon analizi yapılmıştır.

Tüm hasta örneklerinden elde edilen sitogenetik, FISH ve *FLT3* sonuçları ile birlikte çalışma kapsamına alınan 18 hastaya ait yas, cinsiyet bilgileri ve aCGH analizinde kullanılan materyal tipi bilgisi Tablo-5'de gösterilmektedir.

Tablo-5. Hastaların yas, cinsiyet ve aCGH analizinde kullanılan materyal bilgileri ile genetik test sonuçları

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	AML alt tipi	Örnek tipi	Karyotip	FISH	FLT3
1	K	52	M2	PK	46,XX	NORMAL	Negatif
2	E	45	M5	PK	46,XY	NORMAL	D835(+)
3	K	48	M4/M5	PK	46,XX	NORMAL	Negatif
4	K	43	M0/M1	Kİ	46,XX	NORMAL	Negatif
5	E	61	M6	Kİ	46,XY	NORMAL	Negatif
6	E	76	M5	Kİ	46,XY	Çalışılmadı	Çalışılmadı
7	K	55	M0/M1	Kİ	46,XX	NORMAL	Negatif
8	K	56	M2	Kİ	46,XX	NORMAL	ITD(+)
9	K	49	M3	Kİ	46,XX	NORMAL	ITD(+)
10	K	34	M3	Kİ	46,XX,t(2;6)(p?;q?)	NORMAL	Negatif
11	K	63	M5	PK	47,XX,+8[2]/ 46,XX[1]	%40 <i>RUNX1</i> x3	Negatif
12	K	39	M6	Kİ	47,XX,+8	%86 <i>RUNX1</i> x3	ITD(+)
13	K	50	Tanımlanmayan	PK	47,XX,+mar. ish der(21)(<i>RUNX1</i>)([4]/ 46,XX[16]	%50 <i>RUNX1</i> x3	Negatif
14	E	48	Tanımlanmayan	Kİ	45,XY,der(4),-5,- 7,der(18),+mar[cp8]/ 46,XY[2]	Negatif	Negatif
15	E	63	Tanımlanmayan	Kİ	43~44,Y,t(X;11;18) (p?;q?;q?),-4,-5, dup(6)(p21.1q21.3), der(7)t(7q;?),del(7) (p12),-13, der(13),-14, der(16)t(16;4;14) (q13;q?;q?)	%80 <i>CBFB</i> x1	Negatif
16	K	74	M2	Kİ	Kromozom elde edilemedi	NORMAL	Negatif
17	E	65	Tanımlanmayan	Kİ	42~45,X,-Y[3], der(1)[3],der(2)[2], der(5),-7,-10+11,-17, der(21)r(21;21;21), -21,+4mar[cp20]	%35 <i>RUNX1</i> x3, %10 <i>RUNX1</i> , <i>RUNX1</i> x3, %10 <i>RAR</i> x1	Çalışılmadı
18	K	75	Tanımlanmayan	Kİ	40~45,XX,-2,-5, del(5q),-7,del(7q), -12,inc[cp13]	%80 <i>CBFB</i> x1	Negatif

Hastalar sitogenetik analiz sonuçlarına göre normal karyotip saptanan hastalar (1), karyotip anomalisi saptanan hastalar (2) ve kompleks karyotip saptanan hastalar (3) olarak üç grupta değerlendirilmiştir.

Hastaların %50'sinde normal karyotip saptandı. Sadece 1 hasta da kemik iliği kültüründen metafaz plağı elde edilemedi. Kromozomal anomali ve kompleks karyotip saptama oranları %22.2 olarak belirlendi. Toplam 16 hastaya *FLT3* mutasyonu çalışıldı. AML tanılı 2 hastada hematolog istem yapmadığı için *FLT3* mutasyonu çalışılmadı. *FLT3* mutasyon sıklığı %25 (4/16) olarak belirlendi. Üç hastada *FLT3* ITD mutasyonu (%18.75) saptandı; 1 hastada D835 (%6.25) mutasyonu pozitif.

3.2.1. Normal Karyotip Saptanan Hastalar

Hasta 1

Bir aydır devam eden halsizlik, vücutta morarma şikayetleri ile başvuran 52 yaşında kadın hastanın tam kan sayımında hemoglobin:12.4 g/ dL, lökosit (WBC): 4500/mm³, trombosit:129.000/mm³ olarak saptandı. Kemik iliği aspirasyon biyopsisinde MPO+, CD117+, CD34+ idi. Hasta AML-M2 kabul edildi. Hasta 1 doz indüksiyon, 3 doz konsolidasyon (ARA-C) tedavisi alan hastada remisyon sağlandı. 6 ay tedavisiz takipten sonra yapılan kemik iliği aspirasyon biyopsisi AML relaps olarak değerlendirildi. Alınan kemik iliği örneğinden elde edilen alanlarda 46,XX karyotipi saptandı, FISH analizinde anormal sinyal gözlenmedi. *FLT3* mutasyonu negatifti.

Hasta 2

Bir ay süren yutkunamama, diş ve dişetinde ağrı şikayetiyle başvuran 45 yaşındaki erkek hastanın tam kan sayımında hemoglobin:13.85 g/ dL, lökosit 11300/mm³, trombosit: 28.000 idi. Periferik yayma ve kemik iliği aspirasyon biyopsi AML M5 ile uyumlu geldi. 3+7 kemoterapi rejimi başlandı. Hastadan alınan kemik iliği örneğinden 46,XY karyotipi saptandı, FISH analizi normaldi. Kemik iliği örneği yetersiz olduğu için *FLT3* mutasyonu periferik kan örneğinden çalışıldı. *FLT3* D835 mutasyonu pozitif. Hastaya 3+7 kemoterapi rejimi sonrası kontrol kemik iliği biyopsi örneği remisyon ile uyumluydu. Kontrol *FLT3* mutasyon analizi negatifti. Hastanın kardeşinden allojenik KİT yapıldı. Hasta ilaçsız takip ediliyor.

Hasta 3

Dış merkezde AML M4-M5 tanısı ile 3+7 kemoterapi rejimi ve 3 kür yüksek doz sitozin arabinozid (HDARA-C) tedavisi alan hasta ardında boyunda şişlik nedeniyle başvuran 48 yaşında kadın hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 12g/ dL, lökosit: 6770/mm³, trombosit: 42500/mm³ idi. Periferik yaymasında %50 blast vardı. Kemik iliği biyopsisinde

diffüz blastik hücre infiltrasyonu düşünöldü. İmmünohistokimyasal incelemesinde hematopoetik hücrelerin %10'unda MPO ile immünreaksiyon izlendi, CD61 ve CD34 negatifti. Periferik kan örneğinden 46,XX Karyotipi saptandı, FISH analizinde anormal sinyal gözlenmedi. FLT3 mutasyonu negatifti.. AML relaps düşünölen hastaya kemoterapi planlandı ancak hasta ex oldu.

Hasta 4

Meme kanseri nedeniyle dış merkezde takipli 43 yaşındaki kadın hasta halsizlik, kemik ağrısı şikayetleri ile başvurdu. Hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 11.1 g/ dL, lökosit: 2210/mm³, trombosit: 130000/mm³ idi. PET-CT ile kemik iliğı tutulumu ekarte edildikten sonra kemik iliğı aspirasyon biyopsisi yapıldı. MPO ile sınırlı alanda izlenen myeloid seri değeriendirildi. CD34 pozitif. MPO, CD117, pax-5, CD68-PGM1 ve panCK negatifti. AML M0-M1 ile uyumlu kabul edildi. Kemik iliğı örneğinden 46,XX karyotipi saptandı, FISH analizi ile anormal sinyal gözlenmedi. RT-PCR ile PML-RARA, CBFβ-MYH11, AML1-ETO füzyon transkript değerieleri negatifti. FLT3 mutasyonu saptanmadı. Hastaya 3+7 kemoterapi rejimi başlandı. HLA tam uyumlu ablası olan hastaya allojenik kök hücre nakli planlandı.

Hasta 5

MDS-RAEB2 tanısı ile takip edilen 61 yaşında erkek hasta halsizlik şikayeti ile başvurdu. Hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 7.9 g/ dL, lökosit: 3700/mm³, trombosit: 60000/mm³ idi. Kemik iliğı aspirasyon biyopsisinde hücrelerin %20'sinde MPO, %4'ünde CD34, %70'inde glukoforin ve CD117 ile immünreaksiyon izlendi. AML M6 düşünölen hastaya 3+7 kemoterapi rejimi önerildi ancak hasta kabul etmediğı için ARA-C ve Azasitidin tedavisi başlandı. Kemik iliğı örneğinden 46,XY karyotipi saptandı, FISH analizi ile anormal sinyal gözlenmedi. Hasta remisyonunda takip edilirken lökopeni gelişmesi nedeniyle kemik iliğı aspirasyon biyopsisi yapıldı. Kromozom analizi, FISH ile t(15;17), t(8;21), inv(16), t(9;22), MLL ve FLT3 mutasyon analizi çalışıldı. Karyotipi 46,XY idi. FISH analizi ile anormal sinyal gözlenmedi. FLT3 negatifti. Elde edilen DNA örneğı çalışmaya dahil edildi. Kemik iliğı aspirasyon biyopsisinde hematopoetik hücrelerin %55'inde MPO, %2'sinde CD34 ve megakaryositlerde immünreaksiyon izlendi. Hematopoetik hücrelerin %15'inin blast olması ve myeloid eritroid seride displastik değerişiklikler gözlenmesi nedeniyle MDS-RAEB? düşünöldü. Decitabine tedavisi başlandı.

4 kür decitabine tedavisi sonrası kontrollerinde kemik iliğinde akut lösemik infiltrasyon gözlemlendi. Kemik iliği transplantasyonu önerildi ama kabul etmedi. Hasta takip ediliyor.

Hasta 6

Aşırı yorgunluk şikayeti ile başvuran 76 yaşında erkek hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 7.9 g/ dL, lökosit: 7400/mm³, trombosit: 252000/mm³ idi. Kemik iliği aspirasyonu biyopsisinde CD117, CD68, hücrelerin %32'sinde MPO, %1'sinde CD34, immünreaksiyon izlendi. AML M5 ile uyumlu kabul edildi, azasitidin tedavisi başlandı. Kromozom analizinde 46,XY karyotipi saptandı. Hasta 6 kür azasitidin aldı. Takiplerinde trombositoz gelişen hastaya JAK2 V617 mutasyonu çalışıldı, mutasyon saptanmadı. Elde edilen DNA örneği çalışmaya dahil edildi. Hasta takip ediliyor.

Hasta 7

AML M0-M1 tanısıyla kemik iliği örneği alınan 55 yaşında kadın hasta. Karyotipi 46,XX idi. FISH analizi ile anormal sinyal gözlenmedi. *FLT3* negatif. Hasta takipten çıktığı için klinik gidişi izlenemedi.

Hasta 8

Dış merkezde AML tanısı konulan 56 yaşında kadın hasta ileri tetkik ve tedavi amacıyla başvurdu. Kemik iliği aspirasyonu biyopsisi minimal olgusma gösteren AML ile uyumlu idi. Kemik iliği örneğinden kromozom analizi, FISH ile t(15;17), t(8;21), inv(16), t(9;22), MLL ve *FLT3* mutasyonu çalışıldı. Karyotipi 46,XX idi. FISH analizi ile anormal sinyal gözlenmedi. *FLT3* ITD mutasyonu pozitif. Elde edilen DNA örneği aCGH çalışmamıza dahil edildi. Hasta takipten çıktığı için klinik gidişi izlenemedi.

Hasta 9

Ayaklarında ağrı şikayeti ile başvuran 49 yaşındaki kadın hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 10.8 g/ dL, lökosit: 262000/mm³, trombosit: 130000/mm³ idi. Kemik iliği aspirasyonu biyopsisinde MPO+, CD61+, CD117+, CD34-, Tdt-, CD20-, CD19-, CD138-, CD3-, CD5- idi. AML ile uyumlu olarak raporlandı. Kemik iliği örneğinden kromozom analizi, t(15;17), t(8;21), inv(16), t(9;22) kromozomal yeniden düzenlenmelerinin değerlendirilmesi amacı ile FISH analizi yapıldı. *FLT3* mutasyonu, çalışıldı. Karyotipi 46,XX saptandı. FISH'de anormal sinyal gözlenmedi. *FLT3* ITD mutasyonu pozitif. Elde

edilen DNA örneği çalışmaya dahil edildi. Hasta takipten çıktı. Hasta takipten çıktığı için klinik gidişi izlenemedi.

3.2.2. Kromozomal anomali saptanan hastalar

Hasta 10

Kolay morarma şikayeti ile Hematoloji Bölümüne başvuran 34 yaşında kadın hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 11.3 g/ dL, lökosit: 14.100/mm³, trombosit: 31000 /mm³ idi. Periferik yaymasında %100 blast hakimiyeti vardı. Hastadan alınan kemik iliği biyopsi örneğinden 46,XX,t(15;17)(q?;q?) [7]/46,XX[2] karyotipi saptandı. FISH ile t(15;17) analizinde %2 atipik füzyon sinyali gözlemlendi. Hasta AML-M3 tanısı ile takibe alındı. İDA+ARA-C tedavisi başlandı. Hastanın 1 ay sonraki *PML-RARA* füzyon transkripti negatifti. ATRA idame tedavisine devam edildi. 4. ay kontrolünde FISH ile *PML/RARA* füzyonu ve RT-PCR ile *PML-RARA* transkripti negatifti, kromozom elde edilemedi. İdame tedavisine devam edildi. 10. ve 15. ay kontrollerinde RT-PCR ile *PML-RARA* transkripti negatifti. 16. ayda sitopeni gelişmesi nedeniyle idame tedavisine ara verildi. Neupogen 1x48 mü ve trombosit replasmanı yapıldı. Periferik yaymasında nüks AML düşünülen hastadan kemik iliği biyopsisi yapıldı. Patoloji raporu AML MO-1 ile uyumlu geldi. Kromozom analizinde 46,XX,t(2;6)(p?;q?) karyotipi saptandı. FISH bulgusu ve *FLT3* mutasyon analizi negatifti. Reindüksiyon tedavisi başlandı, nakil için yönlendirildi. Tedavinin birinci ayında kontrol karyotipi 46,XX,t(2;6)(p?;q?),t(10;16)(q?;p?) [6]/46,idem,der(7)t(7;11)(p?;q?) [3]/46,XX[3] olarak raporlandı. FISH ile *PML/RARA* füzyonu ve RT-PCR ile *PML-RARA* transkripti negatifti. Hasta tedavinin 3. ayında ex oldu.

Hasta 11

İleri derece halsizlik şikayeti ile Hematoloji Bölümüne başvuran 63 yaşında kadın hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 11.1 g/ dL, WBC(Total Beyaz Küre): 17.600/mm³, trombosit: 48000 /mm³ idi. Periferik yayma değerlendirmesinde blastik hücreler görülmesi sebebiyle Akut Lösemi ön tanısı düşünüldü, kemik iliği biyopsisi yapıldı. AML-M5 ile uyumlu gelmesi üzerine azasidin ve ARA-C tedavisi başlandı. Hastadan alınan kemik iliği biyopsi örneği; kromozom analizi, t(15;17), t(8;21), inv(16), t(9;22) kromozomal yeniden düzenlenmelerinin değerlendirilmesi amacı ile FISH analizi, *FLT3* mutasyonu çalışılması için bölümümüze yönlendirildi. Kromozom analizinde 47,XX,+8[2]/46,XX[1] karyotipi saptandı. *RUNX1/RUNX1T1* FISH probu ile incelenen hücrelerin %40'ında *RUNX1T1* bölgesine ait 3 sinyal saptanırken translokasyon saptanmadı. Diğer problemlerle normal sinyal

saptandı. *FLT3* mutasyon analizi negatifti. Hastadan elde edilen DNA örneği çalışmaya dahil edildi. Hastanın 3. kür azasitidin+ARA-C tedavisinden sonra kontrol kemik iliği biyopsisi yapıldı. Metafaz plağı elde edilemedi. 6. ayda hala refrakter kemik iliği nedeniyle FLAG-ID başlandı. Transplantasyon için uyumlu donör aranıyor.

Hasta 12

Sistemik Lupus Eritamatozis tanısıyla takipli 39 yaşında kadın hasta takiplerinde trombositopeni gelişmesi nedeniyle Hematoloji bölümüne yönlendirilmiş. Tam kan sayımında hemoglobin: 7.8 g/ dL, lökosit: 7800/mm³, trombosit: 70000 /mm³ idi. Periferik yaymasında blastik hücreler görülmesi nedeniyle yapılan kemik iliği aspirasyon biyopsisi megaloblastik değişikliklerle karakterli hiperselüler kemik iliği olarak değerlendirildi. Hasta trombositopeni nedeniyle takibe alındı. 3 ay sonraki tam kan sayımında hemoglobin: 7.4 g/ dL, lökosit: 11400/mm³, trombosit: 37000 /mm³ idi. Hastaya 1 ünite eritrosit süspansiyonu verildi. Trombotik Trombositopenik Purpura açısından tetkikleri istendi.Hastaya steroid başlandı.5 ay sonra splenektomi yapıldı, steroid azaltılarak kesildi. Hastanın immünofenotiplemesinde %30-36 MPO, %4-5 CD34, %40 CD117 pozitif. Megakaryositlerde CD61 ile immünreaksiyon izlendi. Hasta AML M6 olarak kabul edildi, 3+7 kemoterapi rejimi başlandı. 6 ay sonra allojenik kök hücre nakli yapıldı. Hastadan alınan kemik iliği biyopsi örneğinden 47,XX,+8 karyotipi saptandı. İncelenen hücrelerin %86'sında *RUNX1/RUNX1T1* FISH probu ile *RUNX1T1* bölgesine ait 3 sinyal saptanırken translokasyon saptanmadı. *FLT3* ITD mutasyonu pozitif. Hastadan elde edilen DNA örneği çalışmaya dahil edildi. Hastada perikardial efüzyon gelişmesi nedeniyle yapılan perikardosentezde lösemik infiltrasyon saptanmadı. Yaygın kemik ağrıları nedeniyle steroid başlandı. Hasta takipten çıktığı için klinik gidişi izlenemedi.

Hasta 13

Halsizlik, yorgunluk, kemik ağrısı şikayetleri ile dış merkeze başvuran 50 yaşında kadın hastanın tam kan sayımında hemoglobin:7.6 g/ dL, WBC(Total Beyaz Küre): 2.900/mm³, trombosit: 90000 /mm³ saptanmış . Hastanın immünofenotiplemesinde CD33, CD34, HLA-DR yüksek pozitif, CD117,CD11b, CD15 düşük pozitif olarak değerlendirilmiş, AML ön tanısı ile hastanemiz hematoloji bölümüne yönlendirilmiş. Hastadan yapılan kemik iliği aspirasyon biyopsisi AML ile uyumlu olarak değerlendirildi. Hastanın kemik iliği materyalinden 47,XX,+mar karyotipi saptandı. FISH analizinde incelenen hücrelerin %50'sinde *RUNX1/RUNX1T1* FISH probu ile *RUNX1* bölgesine ait 3 sinyal saptanırken

translokasyon saptanmadı. Diğer problemlerle normal sinyal saptandı. Hastanın karyotipi 47,XX,+mar. ish der(21)(RUNX1+)[4]/46,XX[16] olarak yeniden düzenlenerek raporlandı. Kemik iliği örneği yetersiz olduğu için periferik kandan *FLT3* mutasyonu ve RT-PCR ile *PML-RARA*, *CBFB-MYH11*, *RUNX1/RUNX1T1* füzyon transkriptleri çalışıldı. *FLT3* mutasyon analizi negatifti. Hastadan elde edilen DNA örneği çalışmaya dahil edildi. Hastaya 3+7 kemoterapi rejimi başlandı. Hastanın 1 ay sonra kontrol kemik iliği biyopsisi yapıldı. Tanı anındaki blast oranının %50'den %10'a düştüğü gözlemlendi. Kromozom analizinde 46,XX karyotipi saptandı. FISH istemi yapılmadığından çalışılmadı. Hastanın tedavi sonrası 3. ay kontrolünde 46,XX karyotipi saptandı. Allojenik kemik iliği nakli için donör aranıyor.

3.2.3. Kompleks Karyotip Saptanan Hastalar

Hasta 14

Baş dönmesi, hipotansiyon, rektal hemoraji şikayetleri ile Hematoloji Bölümüne başvuran 48 yaşında erkek hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 10.9 g/ dL, lökosit: 15.800/mm³, trombosit: 6700 /mm³ idi. Periferik kandan bakılan flow sitometrik incelemelerin akut lösemi ile uyumlu olması nedeniyle kemik iliği biyopsisi yapıldı. Hastadan alınan kemik iliği biyopsi örneğinden 45,XY,der(4),-5,-7,der(18),+mar[cp8]/46,XY[2] kompleks karyotipi saptandı. FISH analizi normaldi. Hastada *FLT3* mutasyonu negatifti. Elde edilen DNA örneği çalışmaya dahil edildi. Hastaya 3+7 HDARA-C kemoterapi rejimi başlandı. Takiplerinde kemik iliği biyopsisi remisyon ile uyumluydu. 5ay sonraki kontrol kromozom analizi 46, XY idi. Ancak 7. aydaki kemik iliği biyopsi örneğinde diffüz blast infiltrasyonu saptandı. Relaps düşünülen hastadan yapılan kromozom analizi ile 45,Y,der(X)t(X;?)(q?;?)[4], der(1)t(1;?)(q?;?)[5],-5, der(6)t(6;?)(q?;?)[5],-7,der(7)[2],der(8)t(8;?)(q?;?)[3],der(12)t(12;?)(q?;?)[5],-18,der(18)t(18;?)(q?;?)[7],+mar[4],+2mar[3],inc[cp11] kompleks karyotipi saptandı. Allojenik kök hücre nakli açısından transplantasyon merkezine yönlendirildi.

Hasta 15

10 yıl Esansiyel Trombositopeni tanısıyla takip edilen 63 yaşındaki erkek hastanın pansitopeni gelişmesi nedeniyle bakılan periferik yayması ve kemik iliği aspirasyon biyopsisi AML ile uyumlu geldi. 3+4 kemoterapi rejimi başlandı. Hastadan alınan kemik iliği biyopsi örneğinden kromozom analizi, FISH ile t(15;17), t(8;21), inv(16), t(9;22) ve *FLT3* mutasyonu çalışıldı. FISH analizinde incelenen hücrelerin %80'inde inv(16)

DC/BA probu ile 16. kromozoma ait tek sinyal saptandı. Kromozom analizinde 43~44,Y,t(X;11;18)(p?;q?;q?),-4,-5,dup(6)(p21.1q21.3),der(7)t(7q;?),del(7)(p12),-13, der(13),-14,der(16)t(16;4;14)(q13;q?;q?) kompleks karyotipi saptandı. *FLT3* mutasyon analizi negatifti. Hastadan elde edilen DNA örneği çalışmaya dahil edildi. Hastanın 1 ay sonraki kemik iliği kontrol karyotipi 43,Y, t(X;11;18)(p?;q?;q?),-4,-5,dup(6)(p21.1q21.3), der(7)t(7q;?),del(7p12),der(13),-14,der(16)t(16;4)(q13;q13),t(4;14)(q35;q11),+mar, inc olarak raporlandı. Hasta 2 ay sonra ex oldu.

Hasta 16

Dış merkezde hipofiz yetmezliği ile takip edilen 74 yaşındaki kadın hastanın tam kan sayımında lökopeni saptanmış. Yapılan kemik iliği aspirasyon biyopsisi AML-M2 ile uyumlu olarak değerlendirilmiş. Hasta ileri tanı ve tedavi amacı ile hematoloji bölümüne başvurdu. Hastadan alınan kemik iliği biyopsi örneği kromozom analizi, FISH ile t(15;17), t(8;21), inv(16), t(9;22) ve *FLT3* mutasyon analizleri için bölümümüze yönlendirildi. Hastadan yapılan kemik iliği kültürlerinden metafaz elde edilemedi. FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyonu saptanmadı. Genel durumu kötü olan hastaya yatış yapıldı, 1 ay sonra ex oldu.

Hasta 17

Aşırı derece halsizlik ve yorgunluk şikayeti ile acil servise başvuran 65 yaşındaki erkek hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 10.3 g/ dL, lökosit: 1830/mm³, trombosit: 459000 /mm³ idi. Pansitopeni nedeniyle hematoloji bölümüne yönlendirilen hastadan kemik iliği aspirasyonu yapıldı. Hastanın immünofenotiplemesinde MPO ile %20 immünreaksiyon izlendi. CD61 ve CD 117 pozitif, CD34 negatifti. Akut myeloid lösemi ile uyumlu olarak değerlendirildi. Hastadan alınan kemik iliği biyopsi örneği; kromozom analizi, ve FISH ile t(15;17), t(8;21), inv(16), t(9;22) kromozomal yeniden düzenlenmelerinin değerlendirilmesi amacı ile bölümümüze yönlendirildi. Hastanın karyotipi 42~45,X,-Y[3], der(1)[3],der(2)[2],der(5),-7,-10,+11,-17,der(21)r(21;21;21),-21,+4mar[cp20] olarak raporlandı. FISH analizinde incelenen hücrelerin %35'inde *RUNX1/RUNX1T1* FISH probu ile *RUNX1* bölgesine ait 3 sinyal, %10'unda *RUNX1* bölgesine ek olarak *RUNX1T1* bölgesinde de 3 sinyal saptandı. saptanırken translokasyon saptanmadı. *PML/RARA* FISH probu ile incelenen hücrelerin %10'unda *RARA* bölgesine ait tek sinyal saptanırken diğer problemlerle anormal sinyal saptanmadı. Hastaya azasitidin ve ARA-C tedavisi başlandı. Hasta 4 kür tedavi rejimi aldı. Tanıdan 5 ay sonra hasta ex oldu.

Hasta 18

Meme kanseri nedeniyle kemoterapi ve radyoterapi öyküsü olan 75 yaşındaki kadın hasta takiplerinde anemi ve lökopeni gelişince hematoloji bölümüne yönlendirildi. Hastanın tam kan sayımında hemoglobin: 9.4 g/ dL, lökosit: 11900/mm³, trombosit: 135000 /mm³ idi. Hastadan alınan kemik iliği biyopsi örneğinden 40~45,XX-2[3],5[7],del(5q)[3],-7[4],del(7q)[3],-12[7]inc[cp13] karyotipi saptandı. FISH analizinde incelenen hücrelerin %80'inde inv(16) FISH probu ile 16q.22 bölgesine ait tek sinyal saptanırken diğer problarla anormal sinyal saptanmadı. Hastanın karyotipi 40~45,XX-2[3],-5[7],del(5q)[3],-7[4],del(7q)[3],-12[7]inc[cp13] olarak raporlandı. *FLT3* mutasyon analizi negatifti. Hastadan elde edilen DNA örneği çalışmaya dahil edildi. RT-PCR ile *PML-RARA*, *CBFB-MYH11*, *AML1-ETO* füzyon transkriptleri saptanmadı. Hasta takipten çıktı. Hasta takipten çıktığı için klinik gidişi izlenemedi.

3.3 METOD

3.3.1. DNA Örnekleri

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD'nda planlanmış ve yürütülmüştür. Hasta grubunun seçimi Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD Hematoloji Bilim Dalı ile ortak olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya Başkent Üniversitesi bünyesindeki hastanelerde tanı almış ve Başkent Üniversitesi Tıbbi Genetik AD'na mutasyon analizi için aydınlatılmış onam formu alınarak kemik iliği veya periferik kan materyalleri gönderilmiş 18 AML tanılı hasta dahil edilmiştir.

3.3.2. DNA'nın Konsantrasyon ve Saflığının Ölçümü

Çalışmamız geriye dönük özellikte olması sebebiyle, rıza-onam formu imzalatılmış hastaların arşiv DNA'ları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hastaların DNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflığı Nanodrop 2000c (Thermo Scientific, USA) spektrofotometresi kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.3. aCGH çalışması

İşaretleme öncesi hazırlık

Melezleştirme cihazı +42 °C'ye ulaşması ve bu sıcaklıkta dengelenebilmesi için deney öncesi açıldı ve sıcaklığı ayarlandı. İşaretleme kiti içerisinde Tablo-6'da verilen kimyasallar çıkarıldı ve gerekli olanlar buzda çözünmeye bırakıldı.

Tablo-6. İşaretleme öncesi hazırlık için gereken kimyasallar. (Cy3, cyanine 3; Cy5, cyanine 5; mM, milimolar, dNTP, deaksinükleotid trifosfat; PZR, polimeraz zincir reaksiyonu)

Kimyasal	Çalışma sıcaklığı
<i>Random</i> primer buffer	Oda sıcaklığı
Cy3 <i>random</i> nonamer	Oda sıcaklığı
Cy5 <i>random</i> nonamer	Oda sıcaklığı
10mM dNTP mix	Buz
PZR grade H ₂ O	Oda sıcaklığı
2 merkaptolanol	Oda sıcaklığı

Toplam 50 adet 0,2 mL'lik eppendorf tüpü alındı. 25 tanesi Cy3, 25 tanesi Cy5 şeklinde işaretlendi. Sulandırılacak Cy3 ve Cy5 boya ları bu tüplere dağıtıldı. Bunun için toz halindeki Cy3 ve Cy5 şu şekilde sulandırıldı:

1. 1100 µl Random primer tamponuna 2 µl β-mercapto etanol eklendi.
2. Cy3 ve Cy5 random nonamerleri kapağı açılmadan önce mikrosantrifüjde döndürüldü ve kapağa bulaşmış olabilecek boyaların çöktürülmesi sağlandı.
3. Hazırlanan *random* primer tampon ve β-mercapto etanol karışımından 1050 µl pipetaj yapmadan tek seferde Cy3 ve Cy5 *random* nonamerlerin üzerine eklendi.
4. Çökelti kalmayınca kadar Cy3 ve Cy5 vortekste karıştırıldı ve mikrosantrifüjde çöktürüldü. Hazırlanan Cy3 ve Cy5 solüsyonları 40'ar µl olacak şekilde 0,2 mL'lik eppendorf tüplere aktarıldı.
5. Çalışılacak hasta sayısı kadar Cy3 ve Cy5 tüpü dışarıda bırakıldı, diğerleri sonraki deneylerde kullanılmak üzere -20⁰C'ye kaldırıldı.

Genomik DNA'nın işaretleme

İşaretleme için hasta ve referans genomik DNA örnekleri Tablo-7'de gösterildiği şekilde hazırlandı.

Tablo-7. Hasta ve referans örneklerinin işaretlemesi için kullanılan kimyasallar ve kullanım miktarları. (Cy3, cyanine 3; Cy5, cyanine 5)

İçerik	Örnek başına kullanılan miktar
Cy3 (Hasta DNA'sı için)/ Cy5 (Referans DNA için)	40µl
Test DNA	0.5µg
İşaretleme ve hibridizasyon kontrol 1 (Hasta DNA'sı için) / İşaretleme ve hibridizasyon kontrol 2 (Referans DNA için)	2 µl
H ₂ O	38 µl
Toplam	80 µl

Tüpler 98°C'de PZR cihazında 10 dakika denature edildi.

10 dakikalık bekleme süresinde içeriği Tablo-8'de gösterilen dNTP/Klenow Master mix hazırlandı. Eklenen kimyasallar sonrası vorteks yapılmadan pipetajla karışması sağlandı.

Tablo-8. dNTP/Klenow Master karışım içeriği

Kimyasal	Reaksiyon başına kullanılacak miktar
10 mM dNTP	10 µl
PCR grade H ₂ O	8 µl
Klenow fragment	2 µl
Toplam	20 µl

Denatürasyondan çıkarılan örnekler buz üstüne alındı.

Örnekler buz üstüneyken, pipetaj yapılarak, hasta ve referans DNA'sı içeren tüplere dNTP/Klenow karışımında 20'şer µl eklendi. Son hacmi 100 µl'ye ulaşan tüpler mikrosantrifüjde çöktürüldü ve TPZR cihazında 37°C'de 2 saat inkübasyona bırakıldı.

Örneklerin Çöktürülmesi ve Yıkanması

2 saatlik inkübasyon süresi sonunda örneklerin çöktürülmesi ve yıkanması aşağıda verildiği şekilde gerçekleştirildi:

1. İnkübasyondan çıkarılan her bir örnek tüpüne 21.5 µl sonlandırma solüsyonu karıştırmadan direk eklendi.
2. Bu karışım 110 µl isopropanol içeren 1.5 mL'lik ependrof tüpe aktarıldı.
3. Karışım 20 saniye vortekslendi.
4. Örnekler 10 dakika oda sıcaklığında ışıktan korunarak inkübe edildi.
5. Örnekler 12000xg'de 10 dakika santrifüj edildi.
6. Herbir tüpte oluşan pembe (Cy3, örnek) ve mavi (Cy5, referans) pelletin üzerindeki sıvı kısım atıldı.
7. Pelletin üzerine 500 µl -20°C'de soğutulmuş %80'lik EtOH eklendi. Pelet dağıtılmadan çöktüğü yerden kalkması sağlandı.
8. 12000xg'de 2 dakika santrifüj edildi.
9. Peletin üstündeki sıvı kısım mümkün olduğu kadar tamamen çekilip atıldı.
10. Geri kalan etanol ise SpeedVac cihazı kullanılarak tamamen buharlaştırıldı ve pelet kurutuldu.

Hibridizasyon

Örneklerin slayt üzerindeki proplar ile hibridizasyonu için hazırlanması aşağıda anlatıldığı şekilde yapıldı:

1. Peletlerin 25 µl H₂O içinde çözünmesi sağlandı. Bunun için su eklendikten sonra tüpler 15 saniye vortekslendi ve ve sonra mikrofüj ile çöktürüldü.
2. Örneklerin konsantrasyonu ve kalitesi Nanodrop 2000c (Thermo Scientific,USA) spektrofotometresi kullanılarak ölçüldü.
3. Hibridizasyon için hasta ve referans DNA'sından 25µg olacak şekilde alındı ve yeni bir 1.5 ml'lik eppendorf tüpte birleştirildi. Bu birleştirme sırasında hasta ve referans DNA'nın aynı cinsiyette olmasına dikkat edildi.
4. Karışımın SpeedVac cihazı kullanılarak tamamen kuruması sağlandı.

5. Örneklerin üzerine örnek takip kontrol (STC, Sample tracking control) solüsyonunda 4,1 µl pipetaj yapmadan direk olarak eklendi.
6. Vorteks ve santrifüj sonrası tüplere içeriği Tablo-9'da verilen hibridizasyon karışımından 10,9 µl eklendi.
7. Tüpler ~15sn vortekslendikten sonra ve santrifüjle çöktürüldü.
8. 95 °C'de 5 dakika denatüre edilen örnekler slayt üzerine yüklendi ve +42 °C'de 40-72 saat hibridizasyona bırakıldı.

Tablo-9: Hibridizasyon karışım içeriği

Kimyasal	1 reaksiyon için gereken miktar
2xHibridizasyon Tamponu	55,4
Hibridizasyon Komponent A	22,1
Hizalama oligosu	2,3
Toplam	79,8

Slaytların Yıkanması

Hibridizasyon sonrası slaytlar kit ile birlikte gelen yıkama solüsyonları içinde yıkandı ve hibridize olmayan fazla DNA fragmentlerinin ve boyaların uzaklaştırılması sağlandı.

Mikroarray Taratılması

Floresan boyalar ışığa duyarlı olduğu için vakit kaybetmeden Nimblegen MS 200 dizin tarayısına yerleştirildi. 532 nm ve 635 nm lazer boyutlarında floresan sinyaller için tarama yapıldı. Taraması biten görüntü dosyaları kaydedildi.

Görüntü Dosyalarının Analizi

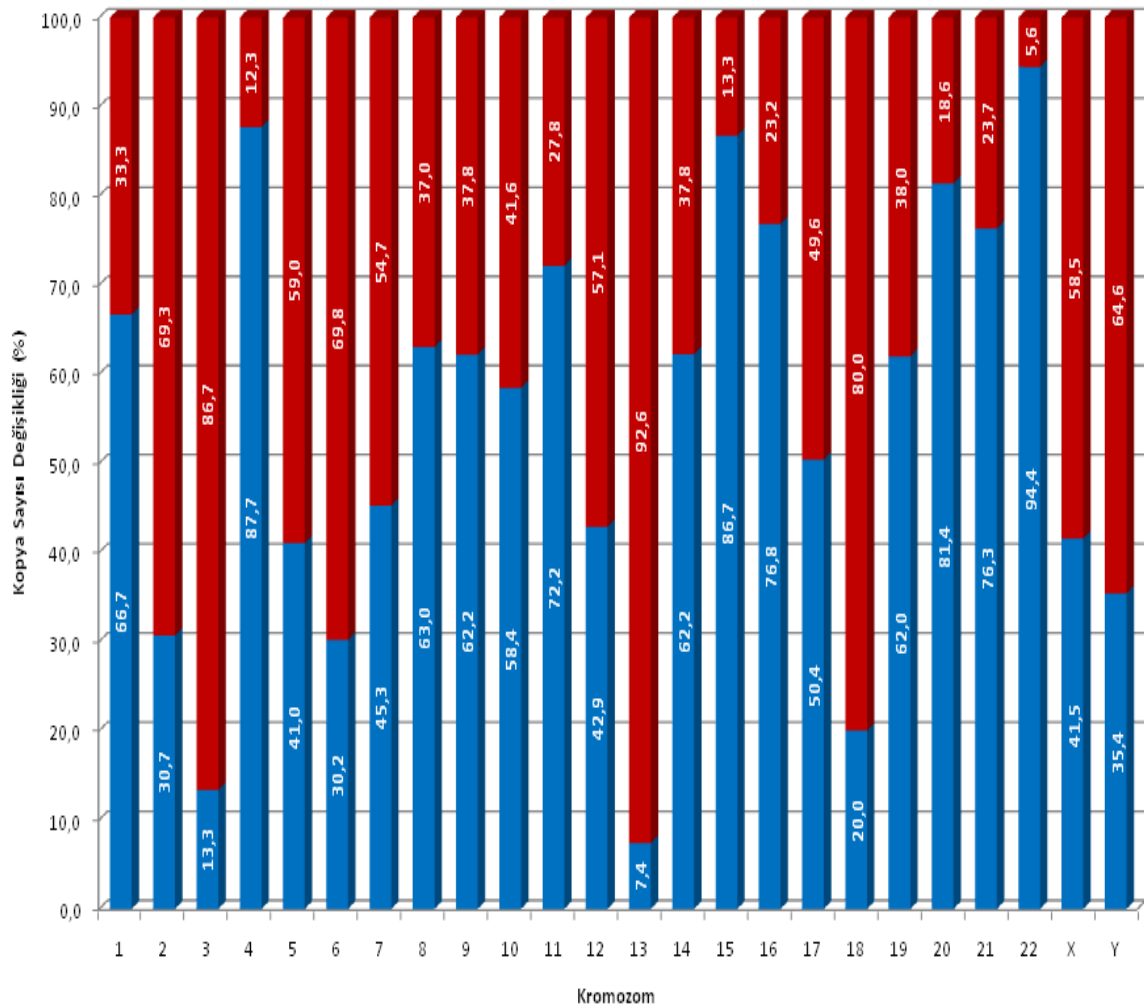
Görüntü dosyaları DEVA v1.1 programı ile veri dosyalarına çevrildi. NEXUS 7.5 yazılımı ile veri dosyaları analiz edildi.

Sonuçların değerlendirilmesinde şu veri tabanları kullanıldı; PubMed (U.S. National Library of Medicine), COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer), GeneCards (Human Gene Database), Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology, Genetics Home Reference, CCGD (Candidate Cancer Gene Database), TCGA (The Cancer Genome Atlas).

4. BULGULAR

4.1. Tüm Hasta Gruplarında Saptanan Kopya Sayısı Değişiklikleri

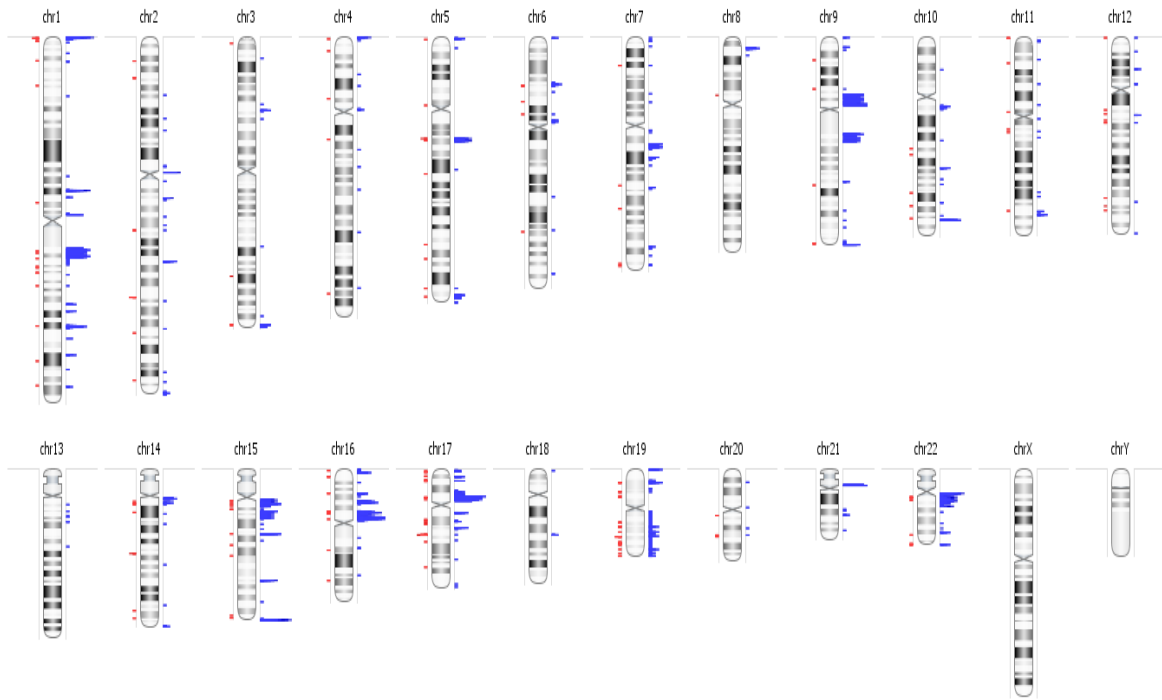
Çalışılan 18 hasta örneğinin tamamında aCGH analizi ile kopya sayısı değişikliği saptanmıştır. Saptanan kopya sayısı değişiklikleri tüm genom düzeyinde Şekil-3'de gösterilmektedir. aCGH analizi sonucunda 18 hastada toplam 1704 bölgede KSD saptanmıştır. Hasta bazında saptanan KSD oranı 94.6'dır. Toplam 957 kopya artışı, 699 kopya kaybı, 27 aşırı kopya artışı, 21 aşırı kopya kaybı tespit edilmiştir. En fazla kopya artışları 1 ve 17. kromozomda saptanırken en az kopya sayısı değişikliği 13. kromozomda saptanmıştır.



Şekil-3. aCGH analizi sonucunda saptanan kopya sayısı değişikliklerinin tüm genom düzeyinde gösterimi. (Mavi renk kopya artışı, kırmızı renk ise kopya kaybını göstermektedir.)

4.2. Normal Karyotip Saptanmış Hastaların aCGH bulguları

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 18 AML hastasından 9'u normal karyotipe sahipti. aCGH analizinde bu 9 hastada çok sayıda KSD saptadık. Şekil-4'de normal karyotip saptanan hastaların aCGH analizindeki ortak KSD saptanan bölgeleri kromozom üzerinde gösterilmektedir. Mavi renk kopya artışlarını, kırmızı renk ise kopya kayıplarını işaret etmektedir. KSD saptanan hasta sayısına bağlı olarak renklerin genişliği artmaktadır. Tablo 10'da ortak KSD saptanan bölgelerdeki gen içerikleri ve hasta sayıları verilmiştir.



Şekil-4. Normal karyotip hasta grubunda ortak kopya sayısı değişikliklerinin kromozomlar üzerinde gösterimi

Tablo-10. Normal karyotip hasta grubunda ortak KSD saptanan bölgelerin içerdikleri genler

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=9)
1	p12 - p11.2	Artış	<i>NOTCH2, FAM72B, Histone3, HIST2H2BA, FCGR1B, SRGAP2D, SRGAP2-AS1, SRGAP2B</i>	4
1	q21.1	Artış	<i>NBPF20, LOC100288142, RBM8A, GNRHR2, PEX11B, ITGA10, NBPF10</i>	6
1	p21.1	Artış	<i>AMY1A, AMY1B, AMY1A, AMY1C, AMY2A, AMY1A</i>	6
1	q31.1	Artış	<i>MIR548F1, TPR</i>	3

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=9)
1	q31.3	Artış	<i>KCNT2, MIR4735, CFH, CFHR3, CFHR4, CFHR1, CFHR2, CFHR5, F13B, ASPM, ZBTB41</i>	3
1	q32.1	Artış	<i>NFASC</i>	2
1	p36.33	Artış	<i>DDX11L1, MIR6859-1, MIR6859-2, MIR6859-3, MIR6859-4, WASH7P, MIR1302-2, MIR1302-9, MIR1302-10, MIR1302-11, FAM138A, FAM138F, OR4F5</i>	6
1	q21.2	Artış	<i>DQ577785, NBPF15, NBPF16, AK310441, DRD5P2, LOC101060524, LOC645166, BC062745, LOC388692, FAM231D, BC023516, TRNA_Glu, FCGR1C, Histone3</i>	3
1	q25.3	Artış	<i>CACNA1E</i>	3
1	q41	Artış	<i>USH2A, LOC102723833</i>	2
2	p11.1	Artış	<i>LOC654342, Mir_544, GGT8P, ACTR3BP2</i>	4
2	q12.3	Artış	<i>RANBP2</i>	2
2	q23.3	Artış	<i>NEB</i>	2
3	p21.31	Artış	<i>MST1</i>	2
3	q29	Artış	<i>SDHAP1</i>	2
4	p16.3	Artış	<i>ZNF595, ZNF718</i>	3
5	p15.33	Artış	<i>ZDHC11</i>	2
5	q13.2	Artış	<i>GTF2H2C_2, GTF2H2C, AX748379, SMA, DQ574682, LOC100272216, DQ596042, DQ575504, AK124130, DQ570150, GUSBP3, SERF1, SERF1A, SERF1B, BC045789, SMN1, SMN2, NAIP, DQ570835, SMA4, SMA5, SMA4, GTF2H2B, SMA3, LOC441081, SMN1, SMN2, SMA3, NAIP, GTF2H2, LOC647859, Z70701, GUSBP9, DQ577092, AK310013, AK123868</i>	3
5	q13.2	Kayıp	<i>OCLN, GTF2H2C_2, GTF2H2C</i>	2
5	q35.2	Artış	<i>THOC3, BC042064, LOC100996385, FAM153B, LOC100507387, LOC643201</i>	2
6	p12.1	Artış	<i>DST, RNU6-71P, DST</i>	2
6	p21.33	Artış	<i>STK19, C4A, C4B_2</i>	3
7	q11.23	Artış	<i>BC073780, LOC541473, LOC100101148, STAG3L3, PMS2P2, DQ596866, DQ586658, SPDYE8P, PMS2L2, BC047594, BC110795, LOC100093631, FKBP6, GTF2IRD2, GTF2IRD2, GTF2IP4, LOC100093631, GTF2IP1, DQ571357, AL831977, PMS2L14, GATSL2, PMS2P5, PMS2L2, PMS2P7, STAG3L1, FKBP6, TRIM74, TRIM73, NSUN5P1, POM121C, SPDYE5, PMS2P3</i>	3
7	q21.11	Artış	<i>AK092048, LOC101927356, AK055932, PCLO, PCLO, SEMA3E, SEMA3A</i>	2
7	q21.11	Artış	<i>CACNA2D1</i>	3
8	p23.1	Artış	<i>DEFA1B, DEFT1P2, DEFT1P, DEFA3, DEFA1, DEFA1B</i>	4
9	p11.2	Artış	<i>LOC100132167, FAM27A, Y_RNA, FAM27E2, LOC554249, AK126080, KGFLP1, LINC01189</i>	2
9	p13.1 - p11.2	Artış	<i>CNTNAP3, SPATA31A5, SPATA31A7, SPATA31A4, FAM74A6, BC118602, BC121813, BC019880, GLDR, MGC21881, KGFLP2, LOC643648, LOC102724238,</i>	4

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=9)
			<i>LOC554249, ANKRD20A2, ANKRD20A3, DQ573253, DQ590943, DQ588135, DQ593719, FAM95B1, AK093443, GXYLT1P3, AK094644, CBWD5, FOXD4L4, FOXD4L2, LOC101928381, AK310876, LOC286297, AQP7P3, DQ587119, DQ586768, DQ582260, DQ579969, DQ570938, DQ581981, DQ593430, ANKRD20A3, LOC642929, FAM74A7, SPATA31A6</i>	
9	p24.1	Artış	<i>GLDC</i>	2
9	q12 - q21.11	Artış	<i>DQ600787, AK308561, CR627148, LINC01410, PTGER4P2-CDK2AP2P2, X97876, AK309896, LOC403323, AK000451, LOC728673, BC000869, BC065763, AQP7P1, FAM27E3, DQ594366, FAM27B, ANKRD20A1, BC080605, MIR4477A, MIR4477B, LOC642236, FRG1JP, FRG1HP, LOC100132352, AK096159, AX747850, MIR1299, AK311167, PGM5P2, LOC440896, FOXD4L6, CBWD6, CBWD5, LOC441426, ANKRD20A4, DQ581988, DQ584320, DQ593554, BC064148, BC070322, LOC100133920, FOXD4L5, CBWD5, CBWD3, AK056618, CBWD3, FOXD4L3, PGM5-AS1, PGM5</i>	4
9	q22.32	Artış	<i>PTCH1</i>	2
9	q34.3	Artış	<i>TUBBP5, FAM157B, DQ577244</i>	4
10	q11.22	Artış	<i>PTPN20, PTPN20A, PTPN20B, FRMPD2, BMS1P1, GLUD1P7, FAM35BP, SYT15, GPRIN2, NPY4R, CH17-360D5.1, ANXA8, LINC00842, HNRNPA1P33, FAM25C, AGAP9, BMS1P6, AK309109, FAM35DP, ANTXRLP1, AK057316, ANTXRL, FAM25BP, ANXA8L1, ANXA8L2</i>	2
10	q23.2	Artış	<i>FAM35A, NUTM2A-AS1</i>	3
10	q23.3	Artış	<i>GRIK4</i>	3
10	q26.13	Artış	<i>DMBT1</i>	5
12	p12.1	Artış	<i>PYROXD1, RECQL, GOLT1B, C12orf39, SPX, GYS2</i>	2
14	q11.2	Artış	<i>OR11H12, LOC642426, P712P, LOC101929572, POTEH-AS1, POTEH, DQ595091, DQ590589, DQ591735, DQ599717, DQ582260, DQ595048, P775P, DQ786293, BX248778, LINC01296, DUXAP10, AK022914, BMS1P18, LOC101101776, BC016035, BMS1P17, LINC00516, LINC01296, BC041856, BC017398, AK056135, DQ573684, DQ582484, POTEM, LOC100508046, OR11H2, OR4Q3, OR4M1, OR4N2, OR4K2, OR4K5, OR4K1, OR4K15</i>	3
15	q11.1 - q11.2	Artış	<i>DQ576041, DQ571479, BC107108, DQ592463, CHEK2P2, HERC2P3, HERC2P7, DQ582073, GOLGA6L6, DQ594309, DQ595648, DQ600342, DQ582939, DQ578838, GOLGA8CP,</i>	4

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=9)
			<i>DQ572979, JB175342, NBEAP1, DQ573684, DQ595048, MIR3118-3, MIR3118-4, POTE2, POTE3, POTE4, NF1P2, MIR5701-1, MIR5701-2, MIR5701-3, CT60, LINC01193, LOC646214, CXADRP2, DQ583164, DQ582260, DQ590589, DQ587539, MIR3118-2, POTE3, DQ786202, LOC101927079, LOC727924, OR4M2, OR4N4, OR4N3P, abParts, AJ004954, MIR1268A, REREP3, MIR4509-1, MIR4509-2, DQ582448, GOLGA8DP, DQ588687, DQ599733, DQ577902, DQ579907, GOLGA6L1, GOLGA6L2, DQ582071</i>	
15	q11.2	Artış	<i>GOLGA8IP, GOLGA8I, DQ588973, DQ595055, HERC2P2, HERC2P7, LOC440243, GOLGA8EP</i>	5
15	q11.2	Artış	<i>SNORD116-4, SNORD116-5, SNORD116-7, SNORD116-6, SNORD116-2, SNORD116-8, SNORD116-10, SNORD116-11, SNORD116-12, SNORD116-13, SNORD116-14, SNORD116-15, SNORD116-16, SNORD116-17, SNORD116-19, SNURF-SNRPN, SNORD116-18, SNORD116-20, SNORD116-21, SNORD116-22, SNORD116-23, C15orf49, SNORD116-24, SNORD116-25, SNORD116-26, SNORD116-27, SNORD116-28, SNORD116-29, SNORD116-30, IPW</i>	
15	q13.1	Artış	<i>HERC2, HERC2</i>	5
15	q13.2	Artış	<i>AK310526, GOLGA8J, Metazoa_SRP, DQ596686, DQ575576, DQ575284, DQ577333, DQ590616, DQ578369, DQ597873, DQ589249, DQ596303, DQ575741, DQ590322, ULK4P3, GOLGA8T, DQ593239, DKFZP434L187, DQ786262, CHRFA7A, DQ587888, DQ594669, DQ596319, DQ585847, DQ589803, DQ593983, DQ583847, DQ599785, DQ575242, DQ586415, Metazoa_SRP, LOC643699, GOLGA8R, FLJ00278, FLJ00278, DQ582641, FLJ00278, ULK4P1, GOLGA8H, AK310030, ARHGAP11B, LOC100288637</i>	2
15	q13.3	Artış	<i>DQ585295, DQ590394, GOLGA8K, ULK4P3, ULK4P2, GOLGA8O, WHAMMP1, LOC100996255, AK310041, FLJ00278, GOLGA8N, ARHGAP11A</i>	3
15	q15.3	Artış	<i>RNU6-28P, PPIP5K1, CKMT1B, STRC, AX748052, CATSPER2</i>	5
15	q24.2	Artış	<i>GOLGA6C, GOLGA6D, DNM1P34, COMMD4</i>	4
15	q26.3	Artış	<i>FAM138E, MIR1302-2, MIR1302-9, MIR1302-10, MIR1302-11, WASH3P, MIR6859-1, MIR6859-2, MIR6859-3, MIR6859-4</i>	8
16	p11.2	Artış	<i>SGF29, CCDC101, SULT1A2, SULT1A1, NPIP8, EIF3C, EIF3CL, MIR6862-2, NPIP9, AK125489, ATXN2L, MIR4721,</i>	2

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=9)
			<i>TUFM, NPIPL1</i>	
16	p11.2	Artış	<i>INO80E, DOC2A, C16orf92, FAM57B, AK097527, ALDOA</i>	3
16	p11.2	Artış	<i>IGH, IGHV 3-07, IGH, VHDJH, IGH, IGH, IGHV3-07, HERC2P4, HERC2P4, AK300387, TP53TG3D, BC042588, LOC390705, BC041879, DQ571479, TP53TG3, TP53TG3B, TP53TG3C, X69637, DQ574674, SLC6A10P, IGH, abParts, TP53TG3, TP53TG3B, TP53TG3C, TP53TG3, TP53TG3B, RNU6-76P, ENPP7P13, JF934746, IGH, IGH, IGH, BC068290</i>	3
16	p12.2	Artış	<i>LOC23117, OTOA, RRN3P1, NPIPb4, LOC100132247, LOC23117, DQ598910, DKFZp779K0112, DQ592203, DKFZp547E087</i>	4
16	p12.2	Artış	<i>RRN3P3, SMG1P1, DQ584116, NPIPb5, LOC100132247, DQ576951, LOC653786</i>	4
16	p13.11	Artış	<i>ABCC6</i>	3
16	p13.11	Artış	<i>NOMO3, MIR3179-2, MIR3670-1, MIR3180-1, MIR6770-1, PKD1P1, DQ596229, MIR6511A1, MIR6511A3, AK310228, NPIPA7, NPIPA8, NPIP</i>	2
16	p13.3	Artış	<i>TCRBV20S1, PKD1</i>	3
17	p11.2	Artış	<i>EVPLL, DQ571055, DQ570768, DQ576083, DQ585755, DQ595911, DQ578124, DQ579248, DQ592713, DQ586114, DQ595299, DQ585853, DQ593368, DQ578661, DQ579174, DQ572309, DQ592578, DQ586004, DQ584883, AX748015, FLJ35934, BC040601, KRT17P5, LOC339240, AK296148, KRT16P1, LGALS9C, FAM106A, USP32P2, CCDC144B</i>	5
17	p11.2	Artış	<i>LGALS9C</i>	2
17	p11.2	Artış	<i>GRAP, DL490867, GRAPL, BC058012, LOC799999, LOC388436, EPN2-IT1, EPN2</i>	2
17	p11.2	Artış	<i>CCDC144CP, AK295707, BC019672, FAM106B, AK310665, BC044655, LGALS9B, KRT16P3</i>	6
17	p11.2	Artış	<i>MAP2K3, KCNJ12, KCNJ18, C17orf51, UBBP4, FAM27L, FLJ36000, TRNA, JB137816, MTRNR2L1, TRNA</i>	3
17	p12	Artış	<i>CDRT4, TVP23C-CDRT4</i>	3
17	p13.1	Artış	<i>CHD3</i>	3
17	p13.2	Artış	<i>DQ586040, DQ575687, DQ570124, DQ576627, DQ584383, DQ574802, DQ573130, USP6</i>	2
17	q11.2	Artış	<i>NF1</i>	3
17	q12	Artış	<i>AATF, MIR2909, ACACA</i>	2
17	q21.2	Artış	<i>KRT13, MIR6510, KRT15, AK090604, KRT19, LINC00974, LOC147093, KRT9, KRT14, KRT16, KRT17, KRT42P, JUP</i>	3
17	q21.31	Kopya kaybı	<i>ARL17A, ARL17B, NSFPI</i>	2
19	p13.2	Artış	<i>CACNA1A</i>	2
19	p13.2	Artış	<i>MCOLN1, PNPLA6</i>	2
19	p13.2	Artış	<i>MUC16</i>	4

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=9)
19	p13.3	Artış	<i>WASH5P, MIR1302-2, MIR1302-9, MIR1302-10, MIR1302-11, FAM138A, FAM138F, OR4F17, FLJ45445, LINC01002, DQ600587, DQ574670, DQ593908</i>	3
19	q13.2	Artış	<i>RYR1</i>	2
19	q13.2	Artış	<i>GRIK5</i>	2
19	q13.32	Artış	<i>CBLC, BCAM, PVRL2, TOMM40, APOE, APOC1, APOC1P1, APOC4, APOC4-APOC2, APOC2</i>	2
19	q13.42	Artış	<i>PRKCG, CACNG7, CACNG8, MIR935, CACNG6, VSTM1, TARM1, OSCAR, NDUFA3, TFPT, PRPF31</i>	2
21	p11.2 - p11.1	Artış	<i>DQ579288, DQ590589, BC071797, JB074932, MIR3648-1, MIR3648-2, MIR3648, MIR3687-1, MIR3687-2, MIR3687, DQ590126, TEKT4P2, AK311573, TPTE, BAGE3, BAGE2, BAGE4, BAGE5</i>	5
21	q21.3	Artış	<i>GRIK1-AS2, GRIK1</i>	2
22	q11.1	Artış	<i>BMS1P17, BMS1P18, LINC00516, AK022914, DUXAP8, BC017398, AK056135, LINC01297, DQ590589, DQ573684, DQ595048, DQ587539, DQ582484, DQ599820, P704P, POTEH, POTEH-AS1, P712P, OR11H1</i>	5
22	q11.21	Artış	<i>USP18, AK129567, AK302545, GGT3P, BC112340, BC051721, AL117485, DQ786190</i>	4
22	q11.21	Artış	<i>LOC729444, TMEM191B, HV593096, HV593134, HV593127, HV593178, HV593135, PI4KAP1, 7SK, RIMBP3, Metazoa_SRP, JX456220, USP41</i>	3
22	q11.21	Artış	<i>TMEM191A, HV593183, HV593110, SERPIND1, PI4KA</i>	3
22	q11.21	Artış	<i>BCRP2, POM121L7, DQ570150, FAM230B, BC039313, AK128837, GGT2, POM121L7, BCR, POM121L8P, AX748067</i>	4
22	q11.22	Artış	<i>abParts, PRAME, LL22NC03-63E9.3, LOC648691, BCR, POM121L1P, DQ597441, GGTL2, DKFZp667J0810</i>	2
22	q11.23	Yüksek Artış	<i>BCRP3, DKFZp434K191, POM121L10P</i>	2
22	q11.23	Artış	<i>GGTI</i>	3
22	q13.2	Artış	<i>SERHL, RRP7A, SERHL2, RRP7B</i>	3
22	q13.33	Artış	<i>ACR, RABL2B, RPL23AP82</i>	3

4.2.1. Hasta 1

Kromozom analizinde 46,XX karyotipi saptanan AML M2 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyonu negatifti. Hastanın aCGH analizinde KSD saptanan bölgeler AML patogenezi açısından önemi olabilecek genleri içermemekteydi.

4.2.2. Hasta 2

Kromozom analizinde 46,XY karyotipi saptanan AML M5 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyon analizinde D835(+) idi. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo-11’de verilmiştir.

Tablo-11. Hasta 2’nin aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
1	q21.1 - q22	142,888,228-155,257,055	Kopya artışı	<i>PBXIP1, MUC1</i>
16	p11.2 - p11.1	28,836,845-35,177,546	Kopya artışı	<i>CTF1, MAZ</i>
19	q11 - q13.43	27,839,997-59,128,983	Kopya artışı	<i>AKT2, AXL, BAX, CAPNS1, CEACAM5, CLEC11A, FLT3LG, IL11, LGALS4, MIR125A, NCCRP1, NUP62, PDCD5, PLEKHG2, SERTAD1, SIRT2, SPHK2, TRPM4, UQCERS1,</i>

4.2.3. Hasta 3

Kromozom analizinde 46,XX karyotipi saptanan AML M4/M5 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyon analizi negatifti. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo-12’de verilmiştir.

Tablo-12: Hasta 3’ün aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
17	q12	17:35,339,470-35,642,518	Kopya artışı	<i>AATF</i>
22	q11.22	22,893,789-23,168,038	Kopya artışı	<i>PRAME</i>

4.2.4. Hasta 4

Kromozom analizinde 46,XX karyotipi saptanan AML M0/M1 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyonu negatifti. KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo-13’de verilmiştir.

Tablo-13. Hasta 4’ün aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
22	q11.21	18,640,376-18,968,662	Kopya artışı	<i>USP18</i>

4.2.5. Hasta 5

Kromozom analizinde 46,XY karyotipi saptanan AML M6 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyon analizi negatifti. KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo-14’de verilmiştir.

Tablo 14. Hasta 5’in aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
5	q35.3	177,144,786- 177,501,376	Kopya artışı	<i>PRO1</i>
9	q33.1	117,782,952- 117,848,773	Kopya artışı	<i>TNC</i>
11	p11.2	45,921,845-45,937,332	Kopya artışı	<i>MAPK8IP1</i>
12	q21.1 - q22	52,841,762-53,070,957	Kopya artışı	<i>KRT6A</i>
17	q12	3 35,381,131- 35,650,283	Kopya artışı	<i>AATF</i>
22	q11.21	18,642,560-18,882,466	Kopya artışı	<i>USP18</i>
Y	q12	59,318,247-59,373,566	Kopya artışı	<i>IL9R</i>

4.2.6. Hasta 6

Kromozom analizinde 46,XY karyotipi saptanan AML M5 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyon analizi negatifti. KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo-15’de verilmiştir.

Tablo 15. Hasta 6’nın aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
10	q11.21 - q11.22	46,069,121- 48,388,804	Kopya artışı	<i>ANXA8</i>

4.2.7. Hasta 7

Kromozom analizinde 46,XX karyotipi saptanan AML M0/M1 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyon analizi negatifti. KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo-16’de verilmiştir.

Tablo 16. Hasta 7'nin aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
1	p36.33	1,452,616-1,462,484	Kopya artışı	<i>ATAD3A</i>
1	p35.1	32,793,993-32,798,569	Kopya kaybı	<i>HDAC1</i>
2	q37.3	241,395,463-241,406,911	Kopya artışı	<i>GPC1</i>
5	q35.2	:176,520,722-176,528,679	Kopya artışı	<i>FGFR4</i>
5	q35.3	180,049,737-180,056,702	Kopya artışı	<i>FLT4</i>
5	q35.1	170,810,954-170,818,624	Kopya kaybı	<i>NPM1</i>
6	p21.2	37,138,246-37,140,857	Kopya artışı	<i>PIM1</i>
10	q11.22	46,867,264-47,131,189	Kopya artışı	<i>ANXA8</i>
13	q13.1	:32,366,488-32,597,121	Kopya artışı	<i>RXFP2</i>
14	q32.2	101,296,607-101,299,935	Kopya kaybı	<i>MEG3</i>
19	p13.12	15,367,053-15,374,785	Yüksek kopya artışı	<i>BRD4</i>
22	q11.21	18,657,470-18,908,832	Kopya artışı	<i>USP18</i>

4.2.8. Hasta 8

Kromozom analizinde 46,XX karyotipi saptanan AML M2 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyon analizi negatifti. KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo-17'de verilmiştir.

Tablo-17. Hasta 8'in aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
10	q11.22	48,076,453-48,281,032	Kopya artışı	<i>ANXA8</i>
17	p13.3	1,959,006-1,961,614	Kopya kaybı	<i>HIC1</i>

4.2.9. Hasta 9

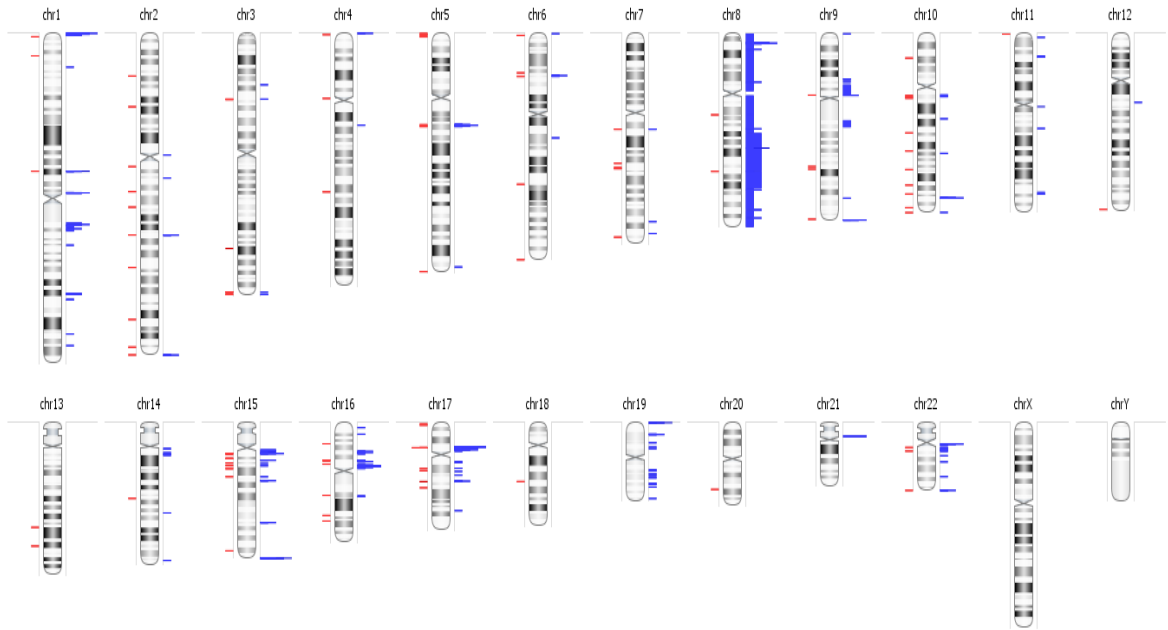
Kromozom analizinde 46,XX karyotipi saptanan AML M3 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* ITD mutasyonu pozitif. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo-18'de verilmiştir.

Tablo-18. Hasta 9’da aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
16	p11.2	30,201,500-30,930,531	Kopya artışı	<i>CTF1</i>
22	q11.21	18,640,419-19,010,414	Kopya artışı	<i>USP18</i>

4.3.Karyotip anomalisi saptanmış hastaların aCGH bulguları

Toplam 4 hastada sitogenetik analiz sonucu karyotip anomalisi saptanmıştır. Şekil-5’de karyotip anomalisi saptanan hastaların aCGH analizindeki ortak KSD saptanan bölgeleri kromozom üzerinde gösterilmektedir. Mavi renk kopya artışlarını, kırmızı renk ise kopya kayıplarını işaret etmektedir. KSD saptanan hasta sayısına bağlı olarak renklerin genişliği artmaktadır. Tablo-19’da ortak KSD saptanan bölgelerdeki gen içerikleri ve hasta sayıları verilmiştir.



Şekil-5. Karyotip anomalisi olan hasta grubunda ortak kopya sayısı değişikliklerinin kromozomlar üzerinde gösterimi

Tablo-19. Karyotip anomalisi saptanan hastalarda kopya sayısı değişikliği saptanan bölgelerdeki ortak genler

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta sayısı (n=4)
1	p12	ARTIŞ	NOTCH2	4
1	p12	ARTIŞ	FAM72B, Histone3, HIST2H2BA, FCGR1B, SRGAP2D, SRGAP2-AS1, SRGAP2B	2
1	p21.1	ARTIŞ	ACTG1P4, AMY2B, AMY2A, AMY1A, AMY1B, AMY1A, AMY1C, AMY2A, AMY1A	3
1	p36.11	ARTIŞ	SYF2, RSRP1, C1orf63, RHD, AX747205	2
1	p36.33	ARTIŞ	FAM87B, LINC00115, LINC01128, LOC6243837	2
1	p36.33	ARTIŞ	DDX11L1, MIR6859-1, MIR6859-2, MIR6859-3, MIR6859-4, WASH7P	3
1	p36.33	ARTIŞ	WASH7P, MIR1302-2, MIR1302-9, MIR1302-10, MIR1302-11, FAM138A, FAM138F, OR4F5, LOC729737, DQ597235, DQ599768, LOC100133331, LOC100132062, LOC100132287, LOC388312, OR4F16, OR4F29, BC036251, LOC101928626, JA429830, JA429831, JB137814, MIR6723, M37726, OR4F3, CDK11B, CDC2L1, CDK11B, MMP23A, SLC35E2B, CDK11A	2
1	q21.1	ARTIŞ	SRGAP2B, AF420437, AL050141, AX746564, LINC00623, LINC00869, LOC728875, BC047032, PPIAL4B, PPIAL4C, NBPF8, LOC728875, AK094156, BC073801, PFN1P2, NBPF9, AX747132, TRNA_Gln, LOC653513, PDE4DIP, U2, BC065231, BX647792, SEC22B, NOTCH2NL, NBPF20, LOC100288142	3
1	q21.1	ARTIŞ	BC053679, BC029473, CR936796, AK056396, LOC102723769, DQ587539, DQ596206, BC070106, RNU1-13P, LINC00875, LOC100130000, DQ571491, LINC01138, PPIAL4G, FAM72D	2
1	q21.2	ARTIŞ	NBPF11, NBPF8	2
1	q31.3	ARTIŞ	CFH, CFHR3, CFHR4, CFHR1	2
2	q12.3	ARTIŞ	RANBP2	2
2	q23.3	ARTIŞ	NEB	2
3	p21.31	ARTIŞ	MST1	2
4	p16.3	ARTIŞ	ZNF595, ZNF718	3
5	q13.2	ARTIŞ	GTF2H2C_2, GTF2H2C, AX748379, SMA, DQ574682, LOC100272216, DQ596042, DQ575504, AK124130, GUSBP3, NAIP, DQ570835, SMA4, SMA5, SMA4	2
5	q13.2	ARTIŞ	OCLN	3
6	p21.33	ARTIŞ	STK19, C4A, C4B_2	2
6	p21.33	ARTIŞ	CYP21A1P, TNXA, TNXB	2
7	q11.23	ARTIŞ	POM121, NSUN5P2	2
7	q11.23	ARTIŞ	BC073780, LOC541473, LOC100101148, STAG3L3, PMS2P2, DQ596866, DQ586658, SPDYE8P, PMS2L2, FKBP6	2

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta sayısı (n=4)
8	p23.1	ARTIŞ	FLJ00326, LINC00965, DEFB109P1B, FAM66B, USP17L1, USP17L1P, USP17L4, ZNF705G, DEFB4B, DEFB103A, DEFB103B, SPAG11B, DEFB104A, DEFB104B, DEFB106A, DEFB105A, DEFB105B, DEFB107A, DEFB107B, PRR23D1, PRR23D2, FAM90A7P, FAM90A10P, DEFB106B, SPAG11A, DEFB103A, DEFB4A, ZNF705B, USP17L8, USP17L3, FAM66E	2
8	q21.11 - q24.23	ARTIŞ	MIR5681A, MIR5681B, MIR2052HG, FLJ39080, MIR2052, PI15, AK024242, CRISPLD1, BC062758, CASC9, HNF4G, LINC01111, ZFH4-AS1, ZFH4, MIR3149, PEX2, LOC102724874, BC036404, PKIA-AS1, PKIA, ZC2HC1A, LOC101241902, IL7, STMN2, HEY1, LINC01607, U7, LOC101927040, AK055332, MRPS28, TPD52, MIR5708, DJ031142, ZBTB10, Mir_562, ZNF704, PAG1, FABP5, PMP2, FABP9, FABP4, FABP12, IMPA1, SLC10A5, ZFAND1, CHMP4C, SNX16, BC038578, LINC01419, RALYL, LRRCC1, E2F5, AB209185, C8orf59, CA13, CA1, CA3, CA3-AS1, CA2, FW340046	2
9	q34.3	ARTIŞ	TUBBP5, FAM157B, DQ577244	2
10	q26.13	ARTIŞ	DMBT1	2
11	q23.3	ARTIŞ	ARHGEF12	2
11	q24.1	ARTIŞ	SORL1	2
14	q11.2	ARTIŞ	OR11H12, LOC642426, P712P, LOC101929572, POTEH-AS1, POTEH, DQ595091, DQ590589, DQ591735, DQ599717, DQ582260, DQ595048, P775P, DQ786293, BX248778, LINC01296, DUXAP10, AK022914, BMS1P18, LOC101101776, BC016035, BMS1P17, LINC00516, LINC01296, BC041856, BC017398, AK056135, DQ573684, DQ582484, POTEH, LOC100508046, OR11H2, OR4Q3, OR4M1, OR4N2, OR4K2, OR4K5, OR4K1	2
15	q11.1 - q11.2	ARTIŞ	DQ576041, DQ571479, BC107108, DQ592463, CHEK2P2, HERC2P3, HERC2P7, DQ582073, GOLGA6L6, DQ594309, DQ595648, DQ600342, DQ582939, DQ578838, GOLGA8CP, DQ572979, JB175342, NBEAP1, DQ573684, DQ595048, MIR3118-3, MIR3118-4, POTEH2, POTEH, POTEH3, NF1P2, MIR5701-1, MIR5701-2, MIR5701-3, CT60, LINC01193, LOC646214, CXADRP2, DQ583164, DQ582260, DQ590589, DQ587539, MIR3118-2, POTEH, DQ786202, LOC101927079, LOC727924, abParts	3
15	q11.2	ARTIŞ	HERC2P2, HERC2P7, LOC440243, GOLGA8EP	3
15	q11.2	ARTIŞ	GOLGA8IP, GOLGA8I, DQ588973, DQ595055	2
15	q13.1	ARTIŞ	HERC2, HERC2	3
15	q15.3	ARTIŞ	RNU6-28P, PPIP5K1, CKMT1B, STRC, AX748052, CATSPER2	2
15	q24.2	ARTIŞ	GOLGA6C, GOLGA6D	2

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta sayısı (n=4)
15	q26.3	ARTIŞ	OR4F13P, OR4F4, FAM138E	4
16	p11.2	ARTIŞ	EIF3CL, MIR6862-1, EIF3C	2
16	p11.2	ARTIŞ	VHDJH, IGH, IGH, IGHV3-07, HERC2P4, HERC2P4, AK300387, TP53TG3D, BC042588, LOC390705, BC041879, DQ571479, TP53TG3, TP53TG3B, TP53TG3C, X69637, DQ574674, SLC6A10P, IGH, abParts, TP53TG3, TP53TG3B, TP53TG3C, TP53TG3, TP53TG3B, RNU6-76P, ENPP7P13, JF934746, IGH, BC068290	3
16	p12.2	ARTIŞ	LOC23117, OTOA, RRN3P1, NPIP4, LOC100132247, LOC23117, DQ598910, DKFZp779K0112	2
16	p12.2	ARTIŞ	RRN3P3, SMG1P1, DQ584116, NPIP5, LOC100132247, DQ576951, LOC653786	2
17	p11.2	ARTIŞ	EVPLL, DQ571055, DQ570768, DQ576083, DQ585755, DQ595911, DQ578124, DQ579248, DQ592713, DQ586114, DQ595299, DQ585853, DQ593368, DQ578661, DQ579174, DQ572309, DQ592578, DQ586004, DQ584883, AX748015, FLJ35934, BC040601, KRT17P5, LOC339240, AK296148, KRT16P1	2
17	p11.2	ARTIŞ	LGALS9C	4
17	p11.2	ARTIŞ	FAM106A, USP32P2, CCDC144B	3
17	p11.2	KAYIP	GRAP, DL490867, GRAPL, BC058012	2
17	p11.2	ARTIŞ	SPECC1, CCDC144CP, AK295707, BC019672, FAM106B, AK310665, BC044655, LGALS9B, KRT16P3, AK127974, DQ600835, DQ577610, DQ586256, DQ592701, DQ581854, DQ576593, DQ571776, DQ583069, DQ587527, DQ571391, DQ577541, DQ577743, DQ597161, DQ598304, DQ579754, DQ581615, DQ586142, DQ595999, DQ586800, DQ578310, DQ580819, DQ580080, DQ601084, DQ591451, DQ598579, DQ597254, DQ585724, DQ572047, DQ574249, DQ584223, CDRT15L2, CCDC144CP	2
17	q11.2	ARTIŞ	NF1	2
17	q21.31	ARTIŞ	KANSL1, KANSL1-AS1	2
19	p13.2	ARTIŞ	MUC16	2
19	p13.3	ARTIŞ	WASH5P, MIR1302-2, MIR1302-9, MIR1302-10, MIR1302-11, FAM138A, FAM138F, OR4F17	3
21	p11.2 - p11.1	ARTIŞ	DQ579288, DQ590589, BC071797, JB074932, MIR3648-1, MIR3648-2, MIR3648, MIR3687-1, MIR3687-2, MIR3687, DQ590126, TEKT4P2, AK311573, TPTE, BAGE3, BAGE2, BAGE4, BAGE5	3
22	q11.1	ARTIŞ	BMS1P17, BMS1P18, LINC00516, AK022914, DUXAP8, BC017398, AK056135, LINC01297, DQ590589, DQ573684, DQ595048, DQ587539, DQ582484, DQ599820, P704P, POTEH, POTEH- AS1, P712P	3

Kromozom	Bölge	Kopya sayısı değişikliği	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta sayısı (n=4)
22	q11.21	ARTIŞ	USP18, AK129567, AK302545, GGT3P, BC112340, BC051721, AL117485, DQ786190	2
22	q11.21	ARTIŞ	SERPIND1, PI4KA,BCRP2, POM121L7, DQ570150, FAM230B, BC039313, AK128837, GGT2, POM121L7, BCR, POM121L8P, AX748067, Metazoa_SRP, RIMBP3C, RIMBP3B, 7SK	2
22	q11.23	ARTIŞ	GGT1, BCRP3, DKFZp434K191, POM121L10P	2
22	q13.33	ARTIŞ	RABL2B, RPL23AP82	2

4.3.1. Hasta 10

Kromozom analizinde 46,XX,t(2p;6q) karyotipi saptanan AML M3 tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyonu saptanmadı. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek her hangi bir gende kopya sayısı değişikliği saptanmamıştır.

4.3.2. Hasta 11

Kromozom analizinde 47,XX,+8[2]/46,XX[1] karyotipi saptanan AML M5 tanılı hastanın FISH analizi incelenen hücrelerin %40'ında 8q21.3 bölgesine ait 3 sinyal saptandı. *FLT3* mutasyonu saptanmadı. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo 20'de verilmiştir.

Tablo 20. Hasta 11'in aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
8	q21.2 - q23.3	86,843,076-117,317,029	Kopya artışı	<i>COX6C,PTDSS1, RUNX1T1</i>
	p23.1	6,835,079-6,876,588	Yüksek kopya artışı	<i>DEFA1</i>
8	q21.11 - q21.2	75,348,676-86,556,024	Kopya artışı	<i>E2F5,FABP5</i>

4.3.3. Hasta 12

Kromozom analizinde 47,XX,+8 karyotipi saptanan AML M6 tanılı hastanın FISH analizi incelenen hücrelerin %86'sında 8q21.3 bölgesine ait 3 sinyal saptandı. *FLT3* mutasyonu saptanmadı. aCGH analizinde. KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo 21'de verilmiştir.

Tablo-21. Hasta 12'de aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
3	p21.31	49,944,532- 50,132,563	Kopya kaybı	<i>RBM5</i>
7	q22.1	101,407,261- 101,478,710	Kopya kaybı	<i>CUX1</i>
8	q12.1 - q22.3	61,594,213- 104,303,493	Kopya artışı	<i>BAALC, COX6C, DEFA1, E2F5, FABP5, FGFR1, PTDSS1, RUNX1T1</i>
8	q11.1 - q12.1	46,949,270- 61,588,866	Kopya artışı	<i>LYN,LYPLA1</i>
8	q22.3 - q24.3	104,310,916- 146,364,022	Kopya artışı	<i>LY6E, MIR30D, MYC, TRIB1</i>
8	p23.3 - p11.1	181,081- 43,732,221	Kopya artışı	<i>PTK2B, IDO1</i>
X	p22.13	18,365,217- 18,476,518	Kopya kaybı	<i>SCML2</i>

4.3.4. Hasta 13

Kromozom analizinde 47,XX,+mar. ish der(21)(*RUNX1*+)ate4/46,XX[16]karyotipi saptanan AML tanımlı hastanın FISH analizi incelenen hücrelerin %50'sinde 21q22 bölgesine ait 3 sinyal saptandı. *FLT3* mutasyonu saptanmadı. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo-22'de verilmiştir.

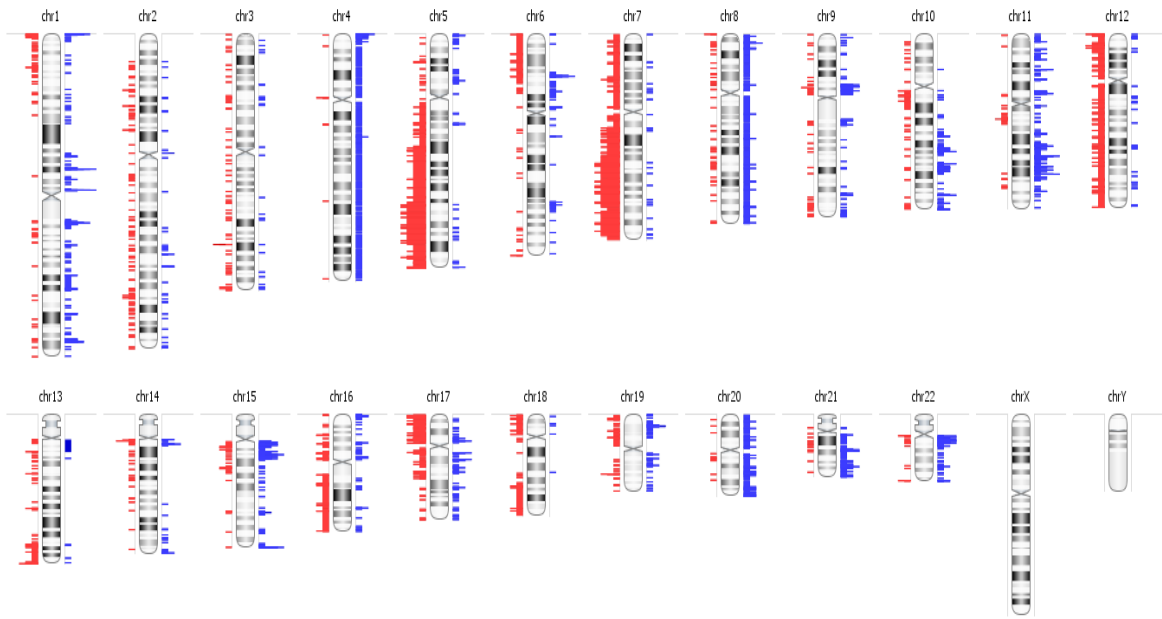
Tablo-22. Hasta 13'de aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek bölgeler

Kromozom	Bölge	Başlangıç- Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	İlgili Bölgedeki Genler
12	q13.13	52,842,194- 52,914,071	Kopya artışı	<i>KRT6A</i>
17	p13.1	7,605,786- 7,812,036	Kopya artışı	<i>LSMD1,NAA38</i>
22	q11.21	:18,642,560- 18,875,507	Yüksek kopya artışı	<i>USP18</i>

4.4. Kompleks karyotip saptanmış hastaların aCGH bulguları

Sitogenetik analiz sonucu kompleks karyotip saptanan 4 hasta ve aCGH analizinde kompleks moleküler karyotip bir hasta kompleks karyotip saptanan hasta grubunda toplanmıştır.

Şekil-6’da kompleks karyotip saptanan hastaların aCGH analizindeki ortak KSD saptanan bölgeleri kromozom üzerinde gösterilmektedir. Mavi renk kopya artışlarını, kırmızı renk ise kopya kayıplarını işaret etmektedir. KSD saptanan hasta sayısına bağlı olarak renklerin genişliği artmaktadır. Tablo-23’de ortak KSD saptanan bölgelerdeki gen içerikleri ve hasta sayıları verilmiştir.



Şekil-6. Kompleks karyotip hasta grubunda ortak kopya sayısı değişikliklerinin kromozomlar üzerinde gösterimi

Tablo 23. Kompleks karyotip hasta grubunda kopya sayısı değişikliği saptanan bölgelerdeki ortak genler

Kromozom	Bölge	Düzensizlik	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=5)
1	p12	ARTIŞ	REG4, NBPFF7, ADAM30, NOTCH2	2
1	p12 - p11.2	ARTIŞ	NOTCH2, FAM72B, Histone3, HIST2H2BA, FCGR1B, SRGAP2D, SRGAP2-AS1,	2
1	p21.1	ARTIŞ	AMY2B, AMY2A, AMY1A, AMY1B, AMY1A, AMY1C, AMY2A, AMY1A	4
1	p36.33	ARTIŞ	DDX11L1, MIR6859-1, MIR6859-2, MIR6859-3, MIR6859-4, WASH7P, MIR1302-2, MIR1302-9, MIR1302-10, MIR1302-11, FAM138A, FAM138F, OR4F5, LOC729737, DQ597235, DQ599768, LOC100133331, LOC100132062, LOC100132287, LOC388312, OR4F16, OR4F29, BC036251, LOC101928626, JA429830, JA429831, JB137814, MIR6723, M37726	2
1	q21.1	ARTIŞ	NBPFF20, LOC100288142, GPR89A, NBPFF10, GPR89C, NBPFF25P	2
2	p11.1	ARTIŞ	LOC654342, Mir_544, GGT8P, ACTR3BP2	2
2	p21	KAYIP	LOC102723854	2
4	p16.3	ARTIŞ	ZNF595, ZNF718	2
5	q11.2	KAYIP	GPBP1	2
5	q13.2	KAYIP	GUSBP3, SMA4	3
5	q13.2	KAYIP	SMA5	2
5	q35.1	KAYIP	ATP6V0E1, SNORA74B, CREBRF, BNIP1, NKX2-5	2
6	p21.32	KAYIP	HLA-DRB5, HLA-DRB1	2
6	q27	KAYIP	BC036251	2
7	p14.2	KAYIP	BC084560, DPY19L2P1, TBX20	2
9	p11.2	KAYIP	LOC101927827, LOC103908605, Y_RNA	2
9	p12	KAYIP	SPATA31A5, SPATA31A7, SPATA31A4, FAM74A6, BC118602, BC121813	2
9	p13.1	ARTIŞ	CNTNAP3	3
9	p13.1	ARTIŞ	CNTNAP3, SPATA31A2, FAM74A1, ZNF658B, LOC653501, SPATA31A1, DQ586551, CNTNAP3B, SPATA31A3, FAM74A3, ZNF658, SPATA31A5, SPATA31A7, SPATA31A4, FAM74A6, BC118602, BC121813, BC019880, GLIDR, MGC21881, KGFLP2, LOC643648, LOC102724238, LOC554249, ANKRD20A2, ANKRD20A3, DQ573253, DQ590943, DQ588135, DQ593719, FAM95B1, AK093443, GXLYT1P3, AK094644, CBWD5, FOXD4L4, FOXD4L2, LOC101928381, AK310876, LOC286297, AQP7P3, DQ587119, DQ586768, DQ582260, DQ579969, DQ570938, DQ581981, DQ593430, ANKRD20A3, LOC642929, FAM74A7, SPATA31A6, CNTNAP3P2, CNTNAP3B, DQ574527, DQ600788, XLOC_007697, LOC101927827, LOC103908605, Y_RNA, FAM27C, FAM27E3, LOC102723709, LOC100132167, FAM27A, Y_RNA, FAM27E2, LOC554249, AK126080, KGFLP1, LINC01189	2

Kromozom	Bölge	Düzensizlik	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=5)
10	q11.23	KAYIP	PARG, TIMM23B, TIMM23, SNORA74, AK294819, BC035067, AGAP6, FLJ31813, FAM21EP, FAM21A	2
10	q22.3	ARTIŞ	KCNMA1, KCNMA1-AS3	2
10	q23.1 - q23.2	ARTIŞ	GRID1	2
10	q26.13	ARTIŞ	DMBT1	3
10	q26.13	ARTIŞ	C10orf120, DMBT1P1, FLJ46361, CUZD1, FAM24B-CUZD1, FAM24B, LOC399815, FAM24A	2
11	p11.2	ARTIŞ	TSPAN18	2
11	p15.1	ARTIŞ	NAV2-AS5, NAV2-AS4, MIR4486, SNORA1, LOC100126784, NAV2, MIR4694	2
11	p15.3	ARTIŞ	CSNK2A3, GALNT18, MIR4299, MIR8070, USP47	2
11	p15.4	ARTIŞ	TRIM22, OR52N4, OR52N5, OR52N1, TRIM5, OR52N2, OR52E6, OR52E8, OR52E4	2
11	q13.1	KAYIP	EFEMP2	2
11	q14.1	ARTIŞ	DLG2	3
11	q14.2	ARTIŞ	ME3, OR7E2P, PRSS23, AL832007, FZD4	2
11	q21	ARTIŞ	MRE11A, MAML2	2
11	q23.2	ARTIŞ	NCAM1	2
12	p13.33	KAYIP	F379, FAM138D, DKFZp434K1323, LOC100288778, DDX11L11, IQSEC3	3
13	q14.12	KAYIP	NUFIP1, GPALPP1, KIAA1704, LOC101929259, GTF2F2	2
13	q32.3	KAYIP	DOCK9, DOCK9-AS2, UBAC2-AS1, 7SK, GPR18, UBAC2, GPR183, MIR548AN, FKSG29, MIR623, LINC01232, AK123584, TM9SF2, LINC01039, MIR4306, CLYBL-AS2, CLYBL-AS1, CLYBL, LOC101927437, ZIC5	2
13	q34	KAYIP	LINC01054	2
14	q11.2	KAYIP	OR11H2, OR4Q3, OR4M1, OR4N2, OR4K2, OR4K5, OR4K1	2
14	q11.2	ARTIŞ	AV25S1, TRA, TCR, T-cell receptor alpha chain variable ..., TRD, TRAC, av27s1, TCR- alpha V 33.1, TCR-alpha, hADV29S1, TRA@, AV4S1, hADV36S1, hADV38S2, hDV102S1, AK125397, AK093552, TCRDV2J2, TRDC, TCRDV2, hDV103S1, X61074	3
15	q11.1 - q11.2	ARTIŞ	DQ576041, DQ571479, BC107108, DQ592463, CHEK2P2, HERC2P3, HERC2P7, DQ582073, GOLGA6L6, DQ594309, DQ595648, DQ600342, DQ582939, DQ578838, GOLGA8CP, DQ572979, JB175342, NBEAP1, DQ573684, DQ595048, MIR3118-3, MIR3118-4, POTE2, POTE3, POTE4, NF1P2, MIR5701-1, MIR5701-2, MIR5701-3, CT60, LINC01193, LOC646214, CXADRP2, DQ583164, DQ582260, DQ590589, DQ587539, MIR3118-2, POTE2, DQ786202, LOC101927079, LOC727924, OR4M2, OR4N4, OR4N3P, abParts, AJ004954, MIR1268A	2

Kromozom	Bölge	Düzensizlik	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=5)
15	q11.2	ARTIŞ	LOC440243	3
15	q11.2	ARTIŞ	GOLGA8I, DQ588973, DQ595055, HERC2P2, HERC2P7, LOC440243, GOLGA8EP, LOC440243, GOLGA8S, DQ578199	2
15	q13.3	ARTIŞ	CHRNA7, DQ786280, DKFZp434L187	2
15	q14	ARTIŞ	RYR3	2
15	q24.2	ARTIŞ	GOLGA6C, GOLGA6D	2
15	q26.3	ARTIŞ	OR4F4, FAM138E, MIR1302-2, MIR1302-9, MIR1302-10, MIR1302-11, WASH3P, MIR6859-1, MIR6859-2, MIR6859-3, MIR6859-4	3
16	p11.2	ARTIŞ	AK096982, BOLA2, SLX1A, SLX1B, SLX1B-SULT1A4, SLX1A-SULT1A3, SULT1A3, SULT1A4, LOC100132247, NPIPL3, LOC440354, CORO1A, LOC606724, BOLA2B, SLX1A, SLX1B, SULT1A4, LOC388242, LOC613038, AK303607, LOC613037, SMG1P2, SMG1P5, LOC595101	2
17	p11.2	KAYIP	NCOR1, PIGL, MIR1288, CENPV, UBB, GRAP, DL490867, GRAPL, BC058012	2
17	p11.2	ARTIŞ	CCDC144CP, AK295707, BC019672, FAM106B, AK310665, BC044655, LGALS9B	2
17	p11.2	KAYIP	FAM27L, FLJ36000, TRNA, JB137816, MTRNR2L1, TRNA	3
17	p13.2 - p13.1	KAYIP	RABEP1, Nup88, NUP88, RPAIN, AK098491, C1QBP, DHX33, DERL2, MIS12, LOC728392, NLRP1, Mir_584, LOC339166, MtDNA_ssA, WSCD1, AIPL1, FAM64A, PITPNM3, KIAA0753, TXNDC17, MED31, C17orf100, MIR4520-1, MIR4520A, MIR4520-2, MIR4520B, ALOX15P1, SLC13A5, XAF1, FBXO39, TEKT1, ALOX12P2, 5S_rRNA, ALOX12-AS1, LOC100506713, ALOX12, RNASEK, RNASEK-C17orf49, C17orf49, MIR195, MIR497HG, MIR497, BCL6B, SLC16A13, SLC16A11, CLEC10A, ASGR2, ASGR1, DLG4, ACADV, MIR324, DVL2, PHF23, GABARAP, CTDNEP1, DQ587033, ELP5, CLDN7, SLC2A4, YBX2, EIF5A, GPS2, NEURL4, ACAP1, KCTD11, TMEM95, TNK1, PLSCR3, TMEM256-PLSCR3, C17orf61-PLSCR3, TMEM256, NLGN2, SPEM1, C17orf74, TMEM102, FGF11, CHRN1, ZBTB4, SLC35G6, POLR2A, TNFSF12, TNFSF12-TNFSF13, TNFSF13, SENP3, SENP3-EIF4A1, SNORA48, EIF4A1, SNORD10, SNORA67, CD68, MPDU1, SOX15, FXR2, TRNA_Pseudo, SHBG, SAT2, ATP1B2, HV941431, HV941433, HV941428, HV941434, HV941486, HV941429, TP53, HV941440, HV941478, HV941442, HV941444, HV941430, WRAP53, EFNB3, RPL29P2, DNAH2, KDM6B, TMEM88, LSMD1, NAA38, CYB5D1, AK125598, CHD3, SCARNA21, AX746771, LOC284023, KCNAB3, TRAPPC1, CNTROB, GUCY2D	2

Kromozom	Bölge	Düzensizlik	İlgili Bölgedeki Ortak Genler	Hasta Sayısı (n=5)
17	p13.3	KAYIP	DOC2B, LOC100506371, RPH3AL, LOC100506388, C17orf97, FAM101B, VPS53, FAM57A, GEMIN4, DQ581337, DBIL5P, GLOD4, RNMTL1, AX748314, NXN, TIMM22, MIR3183, Metazoa_SRP, ABR, BHLHA9, TUSC5, YWHAE, CRK, MYO1C, INPP5K, PITPNA-AS1, PITPNA, SLC43A2	2
17	q11.2	ARTIŞ	NF1	2
17	q12	KAYIP	NUFIP2, MIR4523, TAOK1	2
17	q12	ARTIŞ	CCL18, CCL3, CCL4, DQ574804, DQ573965, DQ593188, DQ575686, CCL3L3, CCL4L1, CCL4L2, AX747639, DQ580766, DQ574805, TBC1D3H, DQ579850, D63785, CCL3L1, CCL4L2, TBC1D3G, TBC1D3H	2
17	q12	KAYIP	TBC1D3	2
17	q21.31	ARTIŞ	KANSL1, KANSL1-AS1, LRRC37A, ARL17A, ARL17B	2
17	q21.31	KAYIP	KANSL1, KANSL1-AS1, LRRC37A, ARL17A, ARL17B, NSFP1, LRRC37A2, ARL17A, NSF	2
17	q21.32 - q21.33	KAYIP	FLJ40194, MIR6129, ZNF652, LOC102724596	2
19	p13.2	ARTIŞ	ADAMTS10, ACTL9, OR2Z1	2
19	p13.3	KAYIP	MIR7108, LMNB2, GADD45B, GNG7, MIR7850, BC022568, DIRAS1, SLC39A3, SGTA, THOP1, ZNF554, ZNF555, ZNF556, ZNF57, ZNF77, TLE6, TLE2, AES, GNA11, DKFZp434J194, LOC100996351, GNA15	2
19	q12	ARTIŞ	ZNF536	2
20	p12.1	ARTIŞ	PCSK2	2
20	q12	ARTIŞ	CHD6, Mir_147	2
20	q13.13	ARTIŞ	BX648826, LINC01523, LINC01522, LINC00494, AX746653, PREX1	2
20	q13.33	ARTIŞ	KCNQ2	2
21	q21.3	ARTIŞ	GABPA, APP	2
21	q22.13	ARTIŞ	DSCR4, DSCR8, DSCR10, KCNJ15, AK027145	2
22	q11.1	KAYIP	BMS1P17, BMS1P18, LINC00516, AK022914, DUXAP8, BC017398, AK056135, LINC01297, DQ590589, DQ573684, DQ595048, DQ587539, DQ582484, DQ599820, P704P, POTEH, POTEH-AS1, P712P, OR11H1	2
22	q11.21	ARTIŞ	BC051721, AL117485, DQ786190	2
22	q11.21	ARTIŞ	DGCR6L	3
22	q13.33	ARTIŞ	ACR, RABL2B, RPL23AP82	2

4.4.1. Hasta 14

Kromozom analizinde 45,XY,der(4),-5,-7,der(18),+mar[cp8]/46,XY[2] karyotipi saptanan AML tanılı hastanın FISH analizi normaldi. *FLT3* mutasyonu saptanmadı. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo 24’de verilmiştir.

Tablo-24. Hasta 14’de aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	Klinik Önemi Olabilecek Genler
1	p36.33	1,372,505-1,455,959	Kopya kaybı	<i>ATAD3A</i>
2	p21	:43,167,497-43,721,137	Kopya kaybı	<i>THADA</i>
5	q14.3 - q35.3	87,758,952-180,702,813	Kopya kaybı	<i>ATOX1, CDC25C, EGR1, CXXC5, TMEM173, TIFAB, H2AFY, CTNNA1, IRF1, mir145, mir146a, NPM1, RPS14</i>
5	p13.3 - p13.1	32,571,316-38,700,162	Kopya artışı	<i>SKP2</i>
7	p22.3 - p11.2	0-57,950,544	Kopya kaybı	<i>CAMK2B, MIR29A, TWIST1</i>
7	q34 - q36.3	142,563,683-159,138,663	Kopya kaybı	<i>CASP2, EZH2</i>
7	q11.1 - q34	:61,372,144-142,460,891	Kopya kaybı	<i>CUX1, DOCK4, SAMD9L</i>
12	p13.31 - p13.1	8,705,383-14,704,960	Kopya kaybı	<i>ETV6, EMP1</i>

4.4.2. Hasta 15

Kromozom analizinde 43-44,Y,t(Xp;11q;18q),-4,-5,dup(6)(p21.1q21.3), der(7)t(7q;?),der(7)(p12),-13,der(13),-14, der(16)t(16q13;4q;14q) kompleks karyotipi saptanan AML tanılı hastanın FISH analizinde incelenen hücrelerin %80'inde CBFB inv(16) DC/BA probu ile 16. kromozoma ait tek sinyal saptandı. FLT3 mutasyon analizi negatifti. aCGH analizinde. KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo 25'de verilmiştir.

Tablo-25. Hasta 15'in aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	İlgili Bölgedeki Genler
6	p25.3 - p22.1	0-28,902,990	Kopya kaybı	<i>JARID2</i>
10	q23.2 - q23.31	88,597,933- 90,775,048	Kopya artışı	<i>FAS</i>
11	q14.1 - q22.3	83,469,009- 108,586,739	Kopya artışı	<i>NOX4</i>
13	q32.1 - q34	98,096,964- 115,169,878	Kopya kaybı	<i>ING1</i>
18	p11.32 -p11.21	0-15,309,789	Kopya kaybı	<i>TGIF1</i>
21	q21.3	26,804,852- 27,355,886	Kopya artışı	<i>MIR155</i>
22	q11.21	18,633,385- 18,875,507	Yüksek kopya artışı	<i>USP18</i>

4.4.3. Hasta 16

AML M2 tanılı hastanın kemik iliği materyalinden yapılan kültürlerden metafaz elde edilemedi. FISH analizi normaldi. FLT3 mutasyonu saptanmadı. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo 26’da verilmiştir

Tablo-26. Hasta 16’da aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	İlgili Bölgedeki Genler
1	p36.13	16,439,027-17,337,41	Kopya kaybı	<i>ARHGEF2</i>
1	p36.21 - p36.13	15,850,642-16,236,630	Kopya kaybı	<i>CASP9</i>
1	p36.12 - p36.11	23,442,788-23,956,076	Kopya kaybı	<i>E2F2</i>
1	p36.31	6,240,072-6,644,395	Kopya kaybı	<i>PLEKHG5</i>
1	p35.1	32,915,364-33,203,078	Kopya kaybı	<i>RBBP4</i>
1	p36.22	12,093,437-12,320,485	Kopya kaybı	<i>TNFRSF8</i>
2	q37.1	232,257,136-232,856,646	Kopya kaybı	<i>DIS3L2</i>
2	p22.3	32,189,230-32,650,892	Kopya kaybı	<i>NLRC4</i>
3	p21.31	49,954,928-50,137,947	Kopya kaybı	<i>RBM5</i>
3	p21.31	48,922,838-49,057,131	Kopya kaybı	<i>WDR6</i>
4	q13.3 - q21.1	74,086,892-76,474,733	Kopya artışı	<i>ALB ,CXCL5</i>
4	q21.1	76,775,607-77,956,568	Kopya artışı	<i>CXCL10</i>
4	q22.2 - q25	94,411,892-113,471,249	Kopya artışı	<i>EIF4E, LEF1, TET2</i>
4	q26 - q28.1	119,645,629-128,729,595	Kopya artışı	<i>FGF2</i>
4	q12	54,906,238-56,706,384	Kopya artışı	<i>KDR, KIT</i>
5	q31.2	137,219,080-138,135,060	Kopya kaybı	<i>CDC25C, CTNNA1,EGRI, CTNNA1</i>
5	q31.2	138,465,214-139,155,044	Kopya kaybı	<i>TMEM173, CXXC5</i>
6	p21.32 - p21.31	33,420,701-33,621,175	Kopya kaybı	<i>BAK1</i>
6	q25.1	149,783,716-150,226,492	Kopya kaybı	<i>LATS1</i>
7	p22.1	,900,670-6,694,243	Kopya kaybı	<i>EIF2AK1</i>
8	p21.2	26,239,593-26,433,326	Kopya kaybı	<i>BNIP3L,PNMA2</i>
11	p13	35,110,427-35,440,557	Kopya artışı	<i>CD44</i>
11	q24.3	128,328,721-128,721,998	Kopya artışı	<i>Ets1,FLI1</i>
11	p11.2	47,381,472-47,601,511	Kopya kaybı	<i>SPI1</i>
14	q13.1 - q13.2	34,944,356-35,871,887	Kopya kaybı	<i>PSMA6</i>
19	p13.3	2,430,767-3,147,049	Kopya kaybı	<i>GADD45B</i>
21	q22.2	40,142,871-40,455,127	Kopya artışı	<i>Ets2</i>

4.4.4. Hasta 17

Hastanın karyotipi 42-45,X,-Y[3],der(1)[3],der(2)[2],der(5),-7,-10+11,-17,der(21)r(21;21;21),-21,+4mar[cp20] olarak raporlandı. FISH analizinde incelenen hücrelerin %35'inde t(8;21) FISH probu ile 21q.22 bölgesine ait 3 sinyal, %10'unda 21q22 bölgesine ek olarak 8q21 bölgesinde de 3 sinyal saptandı. saptanırken translokasyon saptanmadı. t(15;17) FISH probu ile incelenen hücrelerin %10'unda 17q21 bölgesine ait tek sinyal saptanırken diğer problemlerle anormal sinyal saptanmadı. *FLT3* mutasyonu negatifti. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo 27'de verilmiştir.

Tablo-27. Hasta 17'de aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	İlgili Bölgedeki Genler
5	q23.3 - q34	129,391,405-162,731,867	Kopya kaybı	<i>ARHGAP26, ATOX1, CDC25C, CTNNA1, CXXC5, EGRI, IRF1</i>
7	q21.3 - q33	95,176,868-134,032,354	Kopya kaybı	<i>ASNS, EPO, INGI</i>
8	p11.23 - p11.22	38,239,409-39,227,006	Kopya artışı	<i>FGFR1</i>
8	q21.13 - q21.2	81,233,190-86,556,024	Kopya artışı	<i>FABP5, E2F5</i>
8	q21.3 - q22.1	0.28900647163391113	Kopya artışı	<i>RUNX1T1</i>
8	q22.1 - q22.3	94,816,440-104,310,084	Kopya artışı	<i>BAALC</i>
8	p11.22 - p11.21	39,394,660-42,261,667	Kopya artışı	<i>IDO1</i>
8	q24.21 - q24.3	128,838,382-141,464,631	Kopya artışı	<i>MYC</i>
8	p21.3 - p12	:22,931,050-30,559,052	Kopya artışı	<i>PTK2B</i>
8	q24.11 - q24.21	117,963,328-128,657,452	Kopya artışı	<i>TRIB1</i>
10	q21.2 - q21.3	62,127,283-64,928,265	Kopya artışı	<i>CDK1</i>
10	q23.2 - q23.32	89,243,291-93,916,932	Kopya artışı	<i>FAS</i>
11	p13	34,999,674-36,074,885	Kopya artışı	<i>CD44</i>
17	p13.3	1,551,684-2,269,222	Kopya kaybı	<i>HIC1</i>
17	p13.2	3,585,229-5,020,343	Kopya kaybı	<i>MYBBP1A</i>
17	q11.1 - q11.2	25,372,965-29,583,470	Kopya kaybı	<i>NFI</i>
19	p13.3	2,430,767-3,147,049	Kopya kaybı	<i>GADD45B</i>
19	p13.2	12,796,691-12,995,917	Kopya kaybı	<i>JUNB</i>
19	p13.2 - p13.13	13,829,111-13,985,577	Yüksek kopya artışı	<i>MIR-23A</i>
19	q13.12 - q13.2	36,482,958-39,492,166	Kopya artışı	<i>SIRT2</i>
20	q11.21	29,817,411-30,865,477	Kopya artışı	<i>BCL2L1, ID1</i>
20	q11.21	30,923,031-31,421,664	Kopya artışı	<i>DNMT3B</i>
20	q13.2 - q13.32	50,798,864-57,462,057	Kopya artışı	<i>MIR296</i>
21	q22.12 - q22.3	35,994,840-48,129,895	Kopya artışı	<i>ERG, ETS2, RUNX1</i>

4.4.5. Hasta 18

Hastanın karyotipi 40~45,XX-2[3],-5[7],del(5q)[3],-7[4],del(7q)[3],-12[7]inc[cp13] olarak raporlandı. FLT3 mutasyon analizi negatifti. aCGH analizinde KSD saptanan bölgelerden AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genler Tablo 28’de verilmiştir.

Tablo 28. Hasta 18’de aCGH analizinde AML için klinik önemi olabilecek genler

Kromozom	Bölge	Başlangıç-Bitiş (Nükleotid)	Düzensizlik	İlgili Bölgedeki Genler
2	q23.3 - q24.1	153,828,494-156,294,510	Kopya kaybı	<i>RPRM</i>
5	q11.2 - q35.2	52,405,379-174,261,638	Kopya kaybı	<i>APC, ARHGAP26, ATOX1, CDC25C, CTNNA1, CXXC5, EGR1, IRF1, MSH3, NPM1</i>
7	q11.23 - q31.1	75,402,506-111,188,503	Kopya kaybı	<i>ASNS, EPO</i>
7	q31.1 - q36.3	111,237,085-159,138,663	Kopya kaybı	<i>ING1</i>
10	q11.22	46,555,414-47,192,483	Kopya artışı	<i>ANXA8</i>
12	p13.33 - p11.1	0-34,749,012	Kopya kaybı	<i>BCL2L14, CDKN1B, CCND2, ING4</i>
16	q22.2 - q24.3	72,093,038-90,354,753	Kopya kaybı	<i>CDH13, FANCA, CFBF</i>
17	p13.3 - p13.2	0-5,042,673	Kopya kaybı	<i>HIC1, MYBBP1A</i>
17	p11.2	20,394,959-22,062,335	Kopya kaybı	<i>Mir_652</i>
17	q11.1 - q11.2	25,372,965-29,583,470	Kopya kaybı	<i>NF1</i>

4.5. AML Patogenezi ile İlişkili mikroRNA’larda Saptanan Kopya Sayısı

Değişiklikleri

aCGH analizi ile çok sayıda mikroRNA’da kopya sayısı değişikliği saptanmıştır. Saptanan ortak mikroRNA’lar Tablo 10, 19 ve 23’de gösterilmektedir. AML patogenezi etkili olduğu bilinen kopya sayısı değişikliği saptadığımız mikroRNA’lar Tablo 29.’da gösterilmektedir.

Tablo-29. AML patogenezi ile ilişkilendirilmiş kopya sayısı değışikliği saptananlar mikroRNA'lar

mikroRNA	Kopya Sayısı Değişikliği	Hasta sayısı (n=18)
MIR145	KAYIP	2
MIR146A	KAYIP	2
MIR125A	ARTIŞ	1
MIR155	ARTIŞ	2

5. TARTIŞMA

Son yıllarda tüm genom düzeyinde analiz olanağı sağlayan aCGH yöntemi hematolojik malignansilerin patogenezinin anlaşılmasında, prognoza ve hastalığın yönetimine etkisi olabilecek submikroskopik değişikliklerin saptanmasında büyük etkinlikle kullanılmaktadır. AML erişkinlerde en sık görülen lösemi türü olması nedeni ile hematolojik malignansiler içinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Bugüne kadar Türkiye’de sadece erişkin AML hastalarının dahil edildiği tüm genomun aCGH yöntemi ile değerlendirildiği bir çalışma yayınlanmamıştır. Buradan yola çıktığımız çalışmamızda AML hastalarında konvansiyonel sitogenetik ve FISH analizi ile tespit edilemeyen olası dengesiz kromozomal yeniden düzenlenmelerin aCGH yöntemi ile tespit edilmesi, AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek kopya sayısı değişikliklerinin saptanması, aCGH yönteminin rutin tanı uygulamalarındaki avantaj ve dezavantajlarının belirlenmesi amaçlamıştır.

Çalışmaya dahil ettiğimiz 18 hasta sitogenetik sonuçlarına göre normal karyotip saptanan hastalar, karyotip anomalisi saptanan hastalar ve kompleks karyotip saptanan hastalar olarak 3 gruba ayrılmıştır.

AML tanılı 18 hastanın 9’unda (%50) normal karyotip saptanmıştır. Bu oran diğer literatür verileri ile benzerlik göstermektedir (87). İzole normal karyotip saptanan hastalar orta prognostik grupta değerlendirilmekle beraber moleküler açıdan oldukça yüksek heterojenite göstermektedir. Çalışmamızda normal karyotip grubundaki hastaların tamamında aCGH analizi ile kopya sayısı değişikliği saptadık. Bu gruptaki 8 hastada KSD saptanan bölgelerin AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genleri içerdiği belirlenmiştir. Bir hastada ise KSD’lerinin klinik önemi olabilecek genleri içermediği görülmüştür.

Normal karyotip saptanan hastalardaki ortak değişiklikler Tablo-10’da verilmiştir. Bu ortak değişikliklerden olan *USP18* geninde kopya artışı 9 hastanın 4’ünde saptanmıştır. *USP18* (Ubiquitin spesifik peptidaz 18) diğer adıyla *UBP43* (Ubiquitin spesifik proteaz 43) moleküler ağırlığı 43 kDa olup 22q11.2 bölgesinde yer almaktadır. *UBP43* mRNA ifadenmesi insanlarda karaciğer ve timusta olmaktadır. AML-ETO füzyonunun etkisini araştırmak amacı ile *AML-ETO* knock in farelerde yapılan bir çalışmada hematopoetik dokularda *USP18* ifadenmesinde artış tespit edilmiştir. Yapılan ileri araştırmalar *USP18*

ifadelenmesinin monositik hücre farklılaşması sırasında düzenlendiğini ve monoblastik M1 hücrelerinin terminal farklılaşmasını durdurduğunu göstermiştir (88). Bizim *USP18* kopya artışı saptadığımız hastaların (Hasta 3, 4, 5, 9) hiçbirinde t(8;21) translokasyonu yoktu, tüm hastalar farklı AML alt tiplerinde yer almaktayken sadece 1 hasta M0/M1 alt tipine dâhildi. Normal karyotip saptanan hastalarda %44 gibi yüksek bir oranda saptanan *USP18* geninde kopya artışı; *USP18* ifadelenme artışı ile ilişkilendirildiğinde hastalarımızda lökomogenez sürecinde etkili olabileceği düşünülmüştür. Hastalarımızın farklı AML alt tiplerinde yer almaları ve t(8;21) translokasyonu taşımamaları nedeni ile *USP18* kopya artışının AML alt tiplerine özgüllük göstermediği sonucu çıkarılmıştır.

Normal karyotipe sahip 2 hastada (Hasta 2, 9) *CTF1* geninde kopya artışı saptadık. Yapılan bir çalışmada lösemi hücrelerinde ifadelenme artışı saptanan HOX11 onkogenik transkripsiyon faktörünün hematopoetik hücrelere ölümsüzlük kazandırarak lökomogenezin ilk basamağında etkili olduğu gösterilmiştir (89). HOX11 transkripsiyon faktörünün diğer transkripsiyon faktörleri ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada *CTF1* baskılanmasının HOX11 tarafından ölümsüzlük kazandırılmış hematopoetik öncül hücrelerin çoğalma kapasitesini azalttığı gösterilmiş (90). Bu çalışmaya dayanarak *CTF1* kopya artışının hastalarımızda lökomogenez gelişiminde etkili olabileceği düşünülmüştür.

Normal karyotipe sahip 2 hastada (Hasta 2 ve 5) *AATF* (apoptoz antagonize edici transkripsiyon faktör) geninde kopya artışı saptadık. İnsan lösemik hücre serileri ve sağlıklı mononükleer hücrelerinden yapılan, *AATF* gen ifadelenme çalışmasında tüm lösemik hücre serilerinde artmış *AATF* ifadelenmesi gösterilmiştir. Yapılan ileri çalışmalarla *AATF* gen transkriptinin baskılanmasının apoptoz ile hücre ölümüne katkıda bulunduğu belirlenmiştir (91). *AATF* gen kopya artışı AML patogenezi için anlamlı olabilir.

Normal karyotip saptanan 9 hastadan sadece 1'inde *FLT3* geninde D835 mutasyonu tespit ettik. Yapılan çalışmalarla MUC1 onkoproteininin ifadelenmesinin AML hastalarında arttığı gösterilmiştir. *FLT3* ve *MUC1* ilişkisini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada MUC1'i hedef alan inhibitörler kullanıldığında FLT3 aktivasyonunun baskılandığı saptanmıştır (92). Bizim hasta grubumuzdan 3 hastada *FLT3* ITD, 1 hastada ise D835(+) olmak üzere 4 hastada *FLT3* geninde mutasyon tespit edilmiştir. Ancak bu 4 hastadan sadece D835 mutasyonunu saptanan hastada *MUC1* geninde kopya artışı tespit ettik. *MUC1* kopya artışının ifadelenme artışı ile ilişkili olabileceği düşünüldüğünde aCGH ile

kopya artışı saptanan ya da ifadelenme çalışmaları ile ifadelenme artışı gösterilen, özellikle de *FLT3* inhibitör kullanımının tartışmalı olduğu D835 mutasyonu tespit edilen hastalarda *MUC1* inhibitörleri yeni tedavi aracı olabileceği düşünülmektedir.

Kopya artışı saptadığımız genlerden *HDAC1* (93) geninin anti-apoptotik etkisi, *PBXIP1* (94), *AXL* (95), *SIRT2* (96), *ANXA8* (97), *BRD4* (98) genlerinin lösemilerde hücre çoğalmasına olumlu etkileri daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmalara dayanarak kopya artışı saptadığımız bu genlerin hastalarımızda AML gelişim sürecinde etkili olabileceği sonucu çıkarılmıştır.

Normal karyotip hasta grubunda aCGH analizi ile birçok gende kopya artışı saptamamıza rağmen AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek sadece 2 gende kopya kaybı tespit ettik. Bu genlerden biri olan *NPM1* geninin delesyonu mutasyonunun aksine AML'de sık rastlanan bir değişiklik değildir. AML ve MDS hastalarında *NPM1* delesyonuna bakıldığında -5, -5q olan kompleks karyotipli vakalarda *NPM1* delesyonunun daha sık olduğu gözlenmiştir (99). Ancak bizim *NPM1* gen kopya kaybı saptadığımız tek hasta normal karyotipe sahipti. *NPM1* mutasyonu *FLT3* ITD yokluğunda iyi prognozla ilişkili olmakla birlikte *NPM1* delesyonunun AML patogenezi ve prognozuna etkisini saptamak için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Kopya kaybı saptadığımız bir diğer gen *MEG3* geniydi. *MEG3* geni bir çok dokudan ifade edilmekle beraber çeşitli kanser hücre serilerinde ifadelenme kaybının olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda *p53* tümör süpresör geni ile ilişkili olduğu, in vitro tümör hücre çoğalmasını inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bizim de tek hastada (Hasta 7) tespit ettiğimiz *MEG3* kopya kaybının hastanın lökomogenez gelişim sürecinde etkili olmuş olabileceği düşünülmektedir.

Normal karyotip grubunda hücre çoğalmasına olumlu etkisi olduğu bilinen *CAPNS1*, *CLEC11A*, *FLT3LG*, *NCRP1*, *SERTAD1*, *TRPM4*, *TNC*, *KRT6A*, *GPC1* genleri ile anti-apoptotik etkisi olduğu bilinen *CEACAM5*, *PLEKHG2*, *SPHK2*, *PROPI*, *MAPK8IP1*, *ATAD3A*, *FLT4*, *PIM*, *RXFP2* (Tablo-11-18), genlerinde kopya artışı saptadık. Ancak literatürde bu genlerin AML patogenezi ile ilişkilendirildiği bir çalışmaya rastlamadık. Bu genlerin AML patogeneziinde etkili olası aday genlerden olabileceği düşünülmektedir.

Karyotip anomalisi saptanan 4 hastanın 2'sinde izole trizomi 8 (Hasta11, 12), birinde izole trizomi 21(Hasta 13) ve birinde (Hasta 10) ise t(2;6)(p?;q?) translokasyonu mevcuttu.

Dengesiz kromozomal değişiklikler aCGH yöntemi ile tüm genom düzeyinde tespit edilebilirken translokasyon gibi dengeli kromozomal değişiklikler tespit edilememektedir. Ancak aCGH yöntemi translokasyon ya da inversiyon gibi kromozomal anomalilerine dâhil olan derivatif kromozomların kırık bölgelerindeki kayıp ya da artışların tespitinde faydalı olabilmektedir. Karyotip anomalisi tespit edilen hastalarımızdan sadece birinde (Hasta 10) translokasyon mevcuttu ve t(2;6)(p?;q?) translokasyonu tespit etmiştik. Hasta 10'un ilk tanı anında bakılan kromozom analizinde 46,XX,t(15;17)(q?;q?) translokasyonunun saptanması nedeni ile hasta AML-M3 alt tipinde değerlendirilmişti ve ATRA tedavisi başlanmıştı. Tedaviden 16 ay sonra sitopeni gelişen hastanın kemik iliği biyopsisi relaps ile uyumluydu ve 46,XX, t(2;6)(p?;q?) karyotipi saptanmıştı. Hastaya kemoterapi başlandıktan bir ay sonra bakılan kontrol karyotipi 46,XX,t(2;6)(p?;q?),t(10q;16p)[6]/46,idem,der(7)t(7p;11q?)[3]/46,XX[3] olarak raporlanmıştı ve hasta tedavinin 3. ayında ex olmuştı. 46,XX,t(2;6)(p?;q?) karyotipi saptanan kemik iliği örneğinden yapılan aCGH analizinde translokasyona dâhil olan 2p ve 6q kromozom bölgelerinde herhangi bir kopya sayısı değişikliği tespit edilmemiştir. Bunun nedeninin; hastadaki translokasyonun kayıp ya da artışların eşlik etmediği tamamen dengeli bir translokasyon olmasından ya da NimleGen array platformundaki problemlerin bu bölgeleri kapsamamış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Literatürde AML hastalarında t(2q;6q) translokasyonu bildirilen tek bir vakada saptanan translokasyon kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (100). 46,XX,t(2;6)(p?;q?) karyotipi saptanan hastamızın 1 ay sonra kemik iliği kromozom analizinde yan klonal serilerin gözlenmesi ve hastanın tedavinin 3. ayında ex olması t(2;6)(p?;q?) translokasyonunun hastadaki genomik dengesizlikten ve kötü gidişattan sorumlu olabileceğini düşündürmüştür. Bu vaka benzer translokasyon saptanan hastaların yönetiminde klinisyenlere yol gösterici olabilir.

İzole trizomi 8, AML hastalarında en sık görülen sayısal anomalidir (101). Yapılan çalışmalar AML'deki sıklığını %6-7.5 olarak göstermiştir (102, 103). Bizim çalışmamızda izole trizomi 8 sıklığı %11'di. Yapılan çalışmalar konstitüsyonel trizomi 8 olan bireylerin hematolojik malignansiler açısından risk altında olduğunu göstermektedir. Ancak bu bireylerde doğumdan yıllar sonra malignansilerin geliştiği gözlenmiştir (104). Bu nedenle trizomi 8'in tek başına lösemi gelişiminde yeterli olmadığı düşünülmektedir. Biz çalışmamızda karyotip anomalisi olan grupta 2 hastada trizomi 8 tespit ettik (Hasta 11-12). Hasta 11'de 47,XX,+8[2]/46,XX[1] karyotipi ve t(8;21) FISH probu ile incelenen hücrelerin %40'ında 8q21.3 bölgesine ait 3 sinyal tespit edilmiştir. Mozaik trizomi 8 tespit

edilen hastamızın aCGH analizinde 8. kromozomun tamamında kopya artışı saptanmamıştır. Kromozom 8'in kısa kolunda çok sayıda, uzun kolunda ise daha az sayıda kopya artışı içermeyen bölgeler mevcuttu. Hasta 12'de 47,XX,+8[20] karyotipi saptanırken incelenen hücrelerin %86'sında t(8;21) FISH probu ile 8q21.3 bölgesine ait 3 sinyal tespit edilmiştir. Hastanın aCGH analizinde 8. kromozomun tamamında kopya artışı saptanmıştır. Hasta 11'deki trizomi 8 oranının (%40), hasta 12'ye kıyasla (%86) daha düşük olması nedeni ile aCGH analizinde 8. kromozomda bazı bölgelerde kopya artışının saptanamadığı düşünülmüştür. Hasta 12'de kromozom 3, 7 ve X'de klinik önemi olabilecek genlerde de kopya kaybı (Tablo-21) saptanmıştır. Kromozom 3'de kopya kaybı saptadığımız olası aday tümör süpresör genlerden olduğu düşünülen *RBM5* geninin hücre çoğalmasını baskıladığı gösterilmiştir (105). Kopya kaybı saptadığımız *CUX1* geni 7q22.1 bölgesinde yer alan özellikle -7,-7q delesyonu tespit edilen AML hastalarında hematopoetik büyüme ve tümör oluşumu ile ilişkilendirilmiş bir tümör süpresör genidir (106). Kromozom X'de kopya kaybı saptadığımız *SCML2* geni daha önce lösemi ve diğer kanserlerde delesyonu ve ifadelenme kaybının gösterildiği olası tümör süpresör genlerden biri olarak düşünülmektedir. Hasta 12'de trizomi 8'e ek olarak kopya sayısı değişikliği saptadığımız bu genlerin hastanın AML patogenezinde etkili olduğu düşünülmektedir. Hasta 11'de 8. kromozom dışında diğer kromozom bölgelerinde de kopya sayısı değişikliği saptanmasına rağmen hiçbiri lökomogenez ile ilişkili olabilecek genleri içermemekteydi. Trizomi 8'in tek başına lösemi oluşumunda yetersiz olduğu bilindiğinden hastada kopya sayısı değişiklikleri dışında lökomogenezde etkili olabilecek mutasyon gibi başka moleküler genetik düzensizlikler olabileceği düşünülmüştür.

Hasta 13'de kemik iliği materyalinden yapılan kromozom analizinde 47,XX,+mar. ish der(21)(*RUNX1*+)ate[4]/46,XX[16] karyotipi ve FISH analizinde incelenen hücrelerin %50'sinde t(8;21) FISH probu ile 21q.22 bölgesine ait 3 sinyal saptanmıştır. Hastanın aCGH analizinde periferik kan materyalinden izole edilen DNA örneği kullanılmıştır. Hasta 11 ve 12'de %40-86 oranındaki mozaiklik aCGH yöntemi ile tespit edilmişken hasta 13'deki %50 oranındaki trizomi 21 aCGH ile tespit edilememiştir. Bu durumun trizomi 21 içeren hücre hattının periferik kan örneğinde kemik iliği örneğine kıyasla daha düşük oranda bulunmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Kompleks karyotip grubuna dahil edilen hastaların 4'ünde konvansiyonel sitogenetik analizler sonucu kompleks karyotip saptanırken 1 hasta aCGH analizinde kompleks moleküler karyotip gözlenmesi sebebi ile bu gruba dahil edilmiştir. Erişkin AML

hastalarında kompleks karyotip sıklığı %10-15 arasında değişmektedir (107, 108) Çalışma grubumuzdaki hastalarda ise %27 sıklığında kompleks karyotip saptanmıştır. Daha önce yapılan sitogenetik ve moleküler sitogenetik çalışmalar kompleks karyotip saptanan hastalardaki kopya sayısı değişikliklerinin, dengeli yeniden düzenlenmelerden daha sık olduğunu göstermiştir (109–111). Bizim çalışmamızda da kompleks karyotip saptanan grupta kopya sayısı değişiklikleri dengeli kromozomal yeniden düzenlenmelerden daha fazla bulunmuştur. Saptanan kopya kayıplarının artışlarından fazla olması da önceki çalışmaları destekler niteliktedir (109).

Kompleks karyotip grubundaki hasta 14'de 45,XY,der(4),-5,-7,der(18),+mar[cp8]/46,XY[2] karyotipini saptamıştık. Bu hastanın aCGH analizinde monozomi 7 ve der(18) gösterilmiştir. aCGH analizinde 4. kromozomda 4p16.3 bölgesinde kopya artışı tespit edilmiştir. Hastanın sitogenetik analizine geri dönüldüğünde derivatif kromozom 4'ün, 4p13 duplikasyonuna bağlı geliştiği düşünülmüştür. Konvansiyonel karyotipte monozomi 5 saptanırken aCGH analizinde sadece 5q13.2-q35.2 bölgeleri arasında kopya kaybı saptanmıştır. Bunun kompozit karyotipteki monozomi 5 oranının düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Kromozom analizinde saptanan derivatif 18 kromozomunun aCGH analizi ile 18q21.2-q23 bölgeleri arasında saptanan kopya kaybından kaynaklandığı belirlenmiştir.

Rutin konvansiyonel sitogenetik analiz ile Hasta 16'da metafaz plağı elde edilememiştir. Ancak hastada aCGH analizi ile 733 KSD saptanmıştır. Bunların 496 kopya kaybı, 236 kopya artışı, 1 homozgit kopya kaybı saptanmıştır. Moleküler karyotipleme ile saptanan çok sayıdaki kopya sayısı değişikliğine dayanarak hasta kompleks karyotip grubuna dâhil edilmiştir. Hastanın AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabileceği düşünülen genler Tablo-26'da gösterilmektedir. Hastada aCGH yöntemi ile kompleks moleküler karyotip saptanması hastanın kötü prognostik grupta olduğunu göstermektedir. Tanı konulduktan 1 ay sonra hastanın ex olması da kötü prognozu desteklemektedir. Bu sonuçlar rutin konvansiyonel yöntemlerle metafaz elde edilemeyen hastalarda aCGH yönteminin AML patogenezi ile ilişkili olabilecek genlerin tespitinde, hastaların prognozunun ve uygun tedavi seçeneğinin belirlenmesinde önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir.

Hasta 15'de 43~44,Y,t(X;11;18)(p?;q?;q?)-4,-5,dup(6)(p21.1q21.3),der(7)t(7q;?), del(7)(p12),-13,der(13),-14,der(16)t(16;4;14)(q13;q?;q?) kompleks karyotipi saptanmıştır. FISH analizinde incelenen hücrelerin %80'inde CBFβ inv(16) DC/BA probu ile 16.

kromozoma ait tek sinyal saptanmıştır. aCGH analizinde 6p25.3-p22.1, 13q32.1-q34, 18p11.32-p11.21 bölgeleri arasında kopya kaybı, 11q14.1-q22.3, 6p21.1-q23.3, bölgeleri arasında kopya artışı, 13q11-q12.3 bölgeleri arasında yüksek kopya kaybı saptanmıştır.

Hasta 17'de 42~45,X,-Y[3],der(1)[3],der(2)[2],der(5),-7,-10,+11,-17,der(21)r(21;21;21),-21,+4mar[cp20] karyotipi tespit edilmiştir. FISH analizinde incelenen hücrelerin %35'inde t(8;21) FISH probu ile 21q.22 bölgesine ait 3 sinyal, %10'unda 21q22 bölgesine ek olarak 8q21 bölgesinde de 3 sinyal ve t(15;17) FISH probu ile incelenen hücrelerin %10'unda 17q21 bölgesine ait tek sinyal saptanmıştır. Hastanın aCGH analizinde 5q23.3-q34, 7q21.3-q33, 17p13.1-q21.32 bölgeleri arasında kopya kaybı, kromozom 8, 11 ve 20'de kopya artışı saptanmıştır.

Hasta 18'in kromozom analizi sonucu karyotipi 40~45,XX-2[3],-5[7],del(5q)[3],-7[4],del(7q)[3],-12[7]inc[cp13] olarak raporlanmıştır. Hastanın aCGH analizinde 5q11.2 - q35.2, 7 q11.23 - q31.1,16 q11.2 - q24.3, 17p13.2-q12 bölgeleri arasında ve 12. kromozom boyunca kopya kaybı tespit edilmiştir. Hasta 15, 17 ve 18'de aCGH analizi ile kopya sayısı değişikliği saptanan bölgeler sitogenetik analiz sonuçları ile uyum göstermekle beraber tamamen uyuşmamaktadır. Bunun nedeni inkomplet karyotip saptanan bu 3 hastada alt klonlarda saptanan değişikliklerin sayıca oranının düşük olmasına bağlanmıştır. Kopya sayısı değişikliği saptanan bölgeler gen içerikleri açısından değerlendirildiğinde lökomogenezde etkili olabilecek çok sayıda gende (Tablo 24-28) kopya sayısı değişikliği saptanmıştır. Bu değişikliklerden en dikkat çekenleri *TP53* ve *NF1* genlerindeki kopya kaybı olmuştur. Yapılan daha önceki çalışmalarda *TP53* kaybının *TP53* protein fonksiyonunun bozulmasına yol açtığı ve kompleks karyotip saptanan AML hastalarındaki genomik dengesizlikten sorumlu olduğu sonucu çıkarılmıştır (112). *NF1* kaybının da kompleks karyotipli AML hastalarında önemli bir genetik değişiklik olduğu düşünülmektedir Biz de kompleks karyotipe sahip 2 hastada *TP53* ve *NF1* kopya kaybı saptadık. Diğer hasta gruplarının hiçbirinde *TP53* ve *NF1* kopya kaybının saptanmaması bu genlerin genomik dengesizlik ve kompleks karyotiple ilişkisini desteklemektedir.

Kompleks karyotip grubunda aCGH yöntemi sonunda oldukça fazla sayıda kopya sayısı değişikliği tespit edilmiştir. Elde edilen verilerin analizi zor ve uzun bir süreçtir. Analizdeki bu kısıtlılıkları yenmek amacı ile hedefe yönelik dizayn edilmiş array platformları geliştirilmiştir. Ancak bu platformların kullanımı analiz sürecini

kolaylaştırmakla birlikte AML patogenezinde etkili olabilecek olası aday kopya sayısı değişikliklerinin atlanmasına yol açacağı düşünülmektedir.

AML hastalarında çok sayıda mikroRNA'nın düzenlenmesinde bozulma tespit edilmesine rağmen sadece çok az bir kısmının lökomogenezde fonksiyonel rol oynadığı gösterilmiştir (113). Biz de çok sayıda mikroRNA'da kopya sayısı değişikliği tespit ettik. Ancak sadece 4 tanesi AML patogenezi ile ilişkilendirilmiştir. Hastalarda ortak KSD saptadığımız diğer mikroRNA'lar Tablo 10, 19, 23'de gösterilmektedir. Toplam 18 hastanın 2'sinde kopya kaybı saptadığımız MIR145 ve MIR146 mikroRNA'ları 5. kromozomun uzun kolunda yer almaktadır. Bizim kopya kaybı saptadığımız 2 hastamız da (Hasta 15, 17) kompleks karyotip grubunda olup 1 hastamızda monozomi 5, diğer hastamızda del(5q) saptanmıştır. Farelerde yapılan MIR145 ve MIR146 mikroRNA'larının retrovirüs aracılı susturulduğu çalışmalarda trombositoz, nötropeni, megakaryositik displazi ve bir süre sonra da myeloid lösemilerin geliştiği gözlenmiştir (114, 115). Bir hastada kopya artışı saptadığımız MIR125A'nın apoptozu baskılayarak, 2 hastada kopya artışı saptadığımız MIR155'in ise hücre proliferasyonunu arttırarak myeloid lösemi gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir (116, 117). Yapılan çalışmalara dayanarak kopya sayısı değişikliği saptadığımız bu mikroRNA'ların hastalarımızın AML patogenezinde etkili olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Normal karyotip saptanan hastalarda aCGH analizi sonucunda çok sayıda kopya sayısı değişikliği tespit etmemiz AML'nin moleküler heterojenitesini göstermektedir. Çok sayıdaki kopya sayısı değişikliğine rağmen klinik önemi olduğu düşünülen genlerin aynı alt tip içindeki hastalarda da farklılık göstermesi, hastalığın bireysel boyutta da heterojenite gösterdiğini düşündürmektedir. Daha kapsamlı hasta gruplarında kullanılacak aCGH gibi yüksek çözünürlüklü yöntemler AML patogenezi ve prognozunda etkili olabilecek yeni genleri tespit etmeye olanak sağlayacaktır. Saptanacak olası değişiklikler aynı prognostik grupta değerlendirilip benzer tedavi protokolleri alan normal karyotip saptanmış AML hastalarının yönetimindeki başarıyı arttıracaktır.

aCGH analizi ile beklendiği gibi kompleks karyotip saptanan hastalarda normal karyotip saptanan hastalara kıyasla çok daha fazla sayıda kopya sayısı değişikliği tespit ettik. Bu değişiklikler hücre döngüsü, hücre çoğalması, apoptoz, DNA tamiri, metilasyon gibi lökomogenez basamaklarında etkili olabilecek bir çok geni içermekteydi (Tablo 24-28). Bu genler için yapılacak fonksiyonel çalışmalar hastalığın daha iyi karakterize edilmesine yardımcı olacaktır.

aCGH yöntemi, sitogenetik ve FISH analizi ile tespit ettiğimiz mozaikliği tespit etmiştir. Ancak mozaiklik seviyesi azaldıkça bazı bölgelerdeki değişikliği gösterememiştir. aCGH analizi çok düşük seviyedeki mozaikliği tespit etmekte FISH yöntemine kıyasla hassasiyeti daha düşük bir yöntemdir.

aCGH yöntemi tüm hasta gruplarımızda konvansiyonel sitogenetik yöntemlere kıyasla oldukça yüksek hassasiyetle genomik dengesizlikleri tespit etmiştir.

Hastalarımızda AML patogenezi ve prognozu ile ilişkili olabilecek genlerin ve mikroRNA'larda kopya sayısı değişikliklerinin belirlenmesine olanak sağlamıştır.

Sonuç olarak aCGH yöntemi; yakın gelecekte AML hastalarının rutin tanısında özellikle metafaz elde edilemediği için karyotip belirlenemeyen veya karyotipi normal bulunan hastaların bireysel yönetiminde, AML patogenezinde ve prognozunda etkili genlerin ve mikroRNA'ların tespitinde daha da önemli bir yere gelecektir.

KAYNAKLAR

1. Yohe, S. (2015) Molecular Genetic Markers in Acute Myeloid Leukemia. *Journal of Clinical Medicine*, **4**, 460–478. <http://www.mdpi.com/2077-0383/4/3/460/>.
2. Wertheim, G.B.W., Hexner, E. and Bagg, A. (2012) Molecular-based classification of acute myeloid leukemia and its role in directing rational therapy: Personalized medicine for profoundly promiscuous proliferations. *Molecular Diagnosis and Therapy*, **16**, 357–369.
3. Chiaretti, S., Gianfelici, V., Ceglie, G. and Foà, R. (2014) Genomic Characterization of Acute Leukemias. *Medical Principles and Practice*, **23**, 487–506. <http://www.karger.com?doi=10.1159/000362793>.
4. Oostlander, A.E., Meijer, G.A. and Ylstra, B. (2004) Microarray-based comparative genomic hybridization and its applications in human genetics. *Clinical genetics*, **66**, 488–495.
5. de Ravel, T.J.L., Devriendt, K., Fryns, J.-P. and Vermeesch, J.R. (2007) What's new in karyotyping? The move towards array comparative genomic hybridisation (CGH). *European journal of pediatrics*, **166**, 637–43. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17372759>.
6. Blank, U., Karlsson, G., Karlsson, S., De, W. and Blank, U. (2011) Signaling pathways governing stem-cell fate Review article Signaling pathways governing stem-cell fate. **111**, 492–503.
7. Passegué, E., Jamieson, C.H.M., Ailles, L.E. and Weissman, I.L. (2003) Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100 Suppl** , 11842–11849.
8. Zhu, J. and Emerson, S.G. (2002) Hematopoietic cytokines, transcription factors and lineage commitment. *Oncogene*, **21**, 3295–3313.
9. Lin, P. and Falini, B. (2015) Acute Myeloid Leukemia With Recurrent Genetic Abnormalities Other Than Translocations. *American Journal of Clinical Pathology*, **144**, 19–28. <http://ajcp.ascpjournals.org/cgi/doi/10.1309/AJCP97BJBEVZEUIN>.
10. Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2015) Cancer Statistics, 2015. *CA Cancer J Clin*, **65**, 5–29.
11. Siegel, R., Naishadham, D. and Jemal, A. (2012) Cancer Statistics , 2012. *CA Cancer J Clin*, **62**, 10–29.
12. Katherine Tarlock, S.M. (2015) Pediatric Acute Myeloid Leukemia Biology and Therapeutic Implications of Genomic Variants. *Pediatr Clin*, **62**, 75–93.
13. Deschler, B. and Lübbert, M. (2006) Acute myeloid leukemia: Epidemiology and

- etiology. *Cancer*, **107**, 2099–2107.
14. Vardiman, J.W., Harris, N.L. and Brunning, R.D. (2002) The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood*, **100**, 2292–2302.
 15. Lee, E.J., Pollak, A., Leavitt, R.D., Testa, J.R. and Schiffer, C.A. (1987) Minimally differentiated acute nonlymphocytic leukemia: a distinct entity. *Blood*, **70**, 1400–1406.
 16. Abdul-Hamid, G. (2011) Classification of Acute Leukemia. In *Acute Leukemia - The scientist's perspective and challenge*. p. 428.
 17. Swerdlow, S.H., Campo, E., Harris, N.L., Jaffe, E.S., Pileri, S.A., Stein, H., et al. (2008) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.
 18. Haferlach, T., Schoch, C., Schnittger, S., Kern, W., Löffler, H. and Hiddemann, W. (2002) Distinct genetic patterns can be identified in acute monoblastic and acute monocytic leukaemia (FAB AML M5a and M5b): A study of 124 patients. *British Journal of Haematology*, **118**, 426–431.
 19. V, B.C., Gl, A. and Arion, C. (2014) Actual biological diagnosis of acute myeloblastic leukemia in children. **7**, 291–295.
 20. Bhatia, S. (2012) Therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Semin Oncol*, **29**, 997–1003.
 21. Pedersen, B.J. (1991) Balanced translocation involving chromosome bands 11q23 and 21q22 are highly characteristic of myelodysplasia and leukemia following therapy with cytostatic agents targeting at DNA-topoisomerase II. *Blood*, **78**, 1147–1148.
 22. Pedersen-Bjergaard, J., Andersen, M.T. and Andersen, M.K. (2007) Genetic pathways in the pathogenesis of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2007: 10.1182/asheducation-2007.1.392.
 23. Golomb, H., Vardiman, J. and Rowley, J. (1976) Acute nonlymphocytic leukemia in adults: correlations with Q-banded chromosomes. **48**, 9–21.
 24. Grimwade, D. and Mrózek, K. (2011) Diagnostic and Prognostic Value of Cytogenetics in Acute Myeloid Leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, **25**, 1135–1161.
 25. Fröhling, S., Scholl, C., Gilliland, D.G. and Levine, R.L. (2005) Genetics of myeloid malignancies: Pathogenetic and clinical implications. *Journal of Clinical Oncology*, **23**, 6285–6295.
 26. Does, G.M., Devesa, S.S., Curtis, R.E., Linet, M.S. and Morton, L.M. (2012) Acute

- leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001-2007. *Blood*, **119**, 34–43.
27. Peniket, A., Wainscoat, J., Side, L., Daly, S., Kusec, R., Buck, G., et al. (2005) Del (9q) AML: clinical and cytological characteristics and prognostic implications. *British journal of haematology*, **129**, 210–20.
 28. Grimwade, D., Hills, R.K., Moorman, a V, Walker, H., Chatters, S., Goldstone, a H., et al. (2010) Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukaemia: Determination of prognostic significance of rarer recurring chromosomal abnormalities amongst 5,876 younger adult patients treated in the UK Medical Research Council trials. *British Journal of Haematology*, **Conference**, 17.
<http://shibboleth.ovid.com/secure/?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=emed9&AN=70166083\nhttp://sfx.kcl.ac.uk/kings?genre=article&atitle=Refinement+of+f+cytogenetic+classification+in+acute+myeloid+leukaemia:+Determination+of+prog+nostic+significance+of+rarer+>.
 29. Schwind, S., Edwards, C.G., Nicolet, D., Mrózek, K., Maharry, K., Wu, Y.-Z., et al. (2013) inv(16)/t(16;16) acute myeloid leukemia with non-type A CBFβ-MYH11 fusions associate with distinct clinical and genetic features and lack KIT mutations. *Blood*, **121**, 385–91.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3544117&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
 30. Larson, R. a, Kondo, K., Vardiman, J.W., Butler, a E., Golomb, H.M. and Rowley, J.D. (1984) Evidence for a 15;17 translocation in every patient with acute promyelocytic leukemia. *The American Journal of Medicine*, **76**, 827–41.
 31. Grimwade, D., Biondi, A., Mozziconacci, M., Hagemeijer, A., Berger, R., Neat, M., et al. (2008) Characterization of acute promyelocytic leukemia cases lacking the classic t (15□; 17): results of the European Working Party Characterization of acute promyelocytic leukemia cases lacking the classic t (15; 17): results of the European Working Party. **96**, 1297–1308.
 32. Adams, J. and Nassiri, M. (2015) Acute Promyelocytic Leukemia: A Review and Discussion of Variant Translocations. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **139**, 1308–1313. <http://www.archivesofpathology.org/doi/10.5858/arpa.2013-0345-RS>.
 33. Grimwade, D., Mistry, A.R., Solomon, E. and Guidez, F. (2010) Acute Myelogenous Leukemia. **145**, 219–235. <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-69259-3>.
 34. Arnould, C., Philippe, C., Bourdon, V., Gr goire, M.J., Berger, R. and Jonveaux, P. (1999) The signal transducer and activator of transcription STAT5b gene is a new partner of retinoic acid receptor alpha in acute promyelocytic-like leukaemia. *Human molecular genetics*, **8**, 1741–9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10441338>.

35. Vardiman, J.W., Thiele, J., Arber, D.A., Brunning, R.D., Borowitz, M.J., Porwit, A., et al. (2009) The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: Rationale and important changes. *Blood*, **114**, 937–951.
36. Meyer, C., Kowarz, E., Hofmann, J., Renneville, a, Zuna, J., Trka, J., et al. (2009) New insights to the MLL recombinome of acute leukemias. *Leukemia*, **23**, 1490–1499. <http://www.nature.com/doi/10.1038/leu.2009.33>.
37. Mrózek, K., Heinonen, K., Lawrence, D., Carroll, a J., Koduru, P.R., Rao, K.W., et al. (1997) Adult patients with de novo acute myeloid leukemia and t(9; 11)(p22; q23) have a superior outcome to patients with other translocations involving band 11q23: a cancer and leukemia group B study. *Blood*, **90**, 4532–4538.
38. Bitter MA, Le Beau MM, Rowley JD, E. AI (1987) Associations between morphology, karyotype, and clinical features in myeloid leukemias. *HumPathol*, **18**, 211.
39. Krivtsov, A. V. and Armstrong, S. a. (2007) MLL translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development. *Nature Reviews Cancer*, **7**, 823–833. <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrc2253>.
40. Balgobind, B. V, Raimondi, S.C., Harbott, J., Zimmermann, M., Alonzo, T. a, Auvrignon, A., et al. (2009) Novel prognostic subgroups in childhood 11q23 / MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study. *Cancer*, **114**, 2489–2496.
41. Chi, Y., Lindgren, V., Quigley, S. and Gaitonde, S. (2008) Acute myelogenous leukemia with t(6;9)(p23;q34) and marrow basophilia: An overview. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, **132**, 1835–1837.
42. Slovak, M.L., Gundacker, H., Bloomfield, C.D., Dewald, G., Appelbaum, F.R., Larson, R. a, et al. (2006) A retrospective study of 69 patients with t(6;9)(p23;q34) AML emphasizes the need for a prospective, multicenter initiative for rare ‘poor prognosis’ myeloid malignancies. *Leukemia*, **20**, 1295–1297. <http://www.nature.com/doi/10.1038/sj.leu.2404233>.
43. Chang, V.T., Aviv, H., Howard, L.M. and Padberg, F. (2003) Acute myelogenous leukemia associated with extreme symptomatic thrombocytosis and chromosome 3q translocation: Case report and review of literature. *American Journal of Hematology*, **72**, 20–26. <http://doi.wiley.com/10.1002/ajh.10256>.
44. Morishita, K., Parganas, E., William, C.L., Whittaker, M.H., Drabkin, H., Oval, J., et al. (1992) Activation of EVI1 gene expression in human acute myelogenous leukemias by translocations spanning 300-400 kilobases on chromosome band 3q26. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **89**, 3937–3941.
45. Russell, B.M., List, A., Greenberg, P., Woodward, S., Glinsmann, B., Parganas, E., et

- al. (1994) EVII in Myelodysplastic Syndromes and Other Hematologic Malignancies Without. **4**, 1243–1248.
46. Soupir, C., Vergilio, J.-A., Cin, P., Muzikansky, A., Kantarjian, H., Jones, D., et al. (2007) Philadelphia Chromosome-Positive Acute Myeloid Leukemia: A Rare Aggressive Leukemia With Clinicopathologic Features Distinct From Chronic Myeloid Leukemia in Myeloid Blast Crisis. *American Journal of Clinical Pathology*, **127**, 642–650. <http://ajcp.ascpjournals.org/cgi/doi/10.1309/B4NVER1AJJ84CTUU>.
47. Keung, Y., Beaty, M., Powell, B.L., Molnar, I., Buss, D. and Pettenati, M. (2004) Philadelphia chromosome positive myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia-retrospective study and review of literature. *Leukemia research*, **28**, 579–86.
48. Paietta, E., Racevskis, J., Bennett, J.M., Neuberg, D., Cassileth, P.A., Rowe, J.M., et al. (1998) Biologic heterogeneity in Philadelphia chromosome-positive acute leukemia with myeloid morphology: the Eastern Cooperative Oncology Group experience. *Leukemia*, **12**, 1881–5.
49. Cuneo, A., Ferrant, A., Michaux, J., Demuynck, H., Boogaerts, M., Louwagie, A., et al. (1996) Philadelphia chromosome-positive acute myeloid leukemia: cytoimmunologic and cytogenetic features. *Haematologica*, **81**, 423–427.
50. Mrózek, K., Heerema, N.A. and Bloomfield, C.D. (2004) Cytogenetics in acute leukemia. *Blood reviews*, **18**, 115–36.
51. Wong, K.F. and Kwong, Y.L. (2015) Trisomy 22 in Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, **109**, 131–133. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-4608\(98\)00145-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-4608(98)00145-9).
52. Middeke, J.M., Fang, M., Cornelissen, J.J., Mohr, B., Appelbaum, F.R., Stadler, M., et al. (2014) Outcome of patients with abn(17p) acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, **123**, 2960–2967.
53. Zander, A.R., Bacher, U. and Finke, J. (2008) Allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia: establishment of indications on the basis of individual risk stratification. *Deutsches Ärzteblatt international*, **105**, 663–9. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2700644&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
54. Bienz, M., Ludwig, M., Leibundgut, E.O., Mueller, B.U., Ratschiller, D., Solenthaler, M., et al. (2005) Risk assessment in patients with acute myeloid leukemia and a normal karyotype. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, **11**, 1416–1424.
55. Adolfsson, J., Månsson, R., Buza-Vidas, N., Hultquist, A., Liuba, K., Jensen, C.T., et al. (2005) Identification of Flt3+ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential: A revised road map for adult blood lineage commitment. *Cell*, **121**, 295–306.

56. Ofran, Y. and Rowe, J.M. (2013) Genetic profiling in acute myeloid leukaemia--where are we and what is its role in patient management. *British journal of haematology*, **160**, 303–20.
57. Alvarado, Y., Kantarjian, H.M. and Luthra, R. (2014) TREATMENT WITH FLT3 INHIBITOR IN PATIENTS WITH FLT3- MUTATED AML IS ASSOCIATED WITH DEVELOPMENT OF SECONDARY FLT3-TKD MUTATIONS. *Cancer*, **120**, 2142–2149.
58. Falini, B., Albiero, E., Bolli, N., Marco, M.F. De, Madeo, D., Martelli, M., et al. (2007) Aberrant cytoplasmic expression of C-terminal-truncated {NPM} leukaemic mutant is dictated by tryptophans loss and a new {NES} motif. *Leukemia*, **21**, 2052–2054.
59. Schlenk, R.F., Döhner, K., Krauter, J., Fröhling, S., Corbacioglu, A., Bullinger, L., et al. (2008) Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*, **358**, 1909–1918.
60. Martelli, M.P., Sportoletti, P., Tiacci, E., Martelli, M.F. and Falini, B. (2013) Mutational landscape of AML with normal cytogenetics: Biological and clinical implications. *Blood Reviews*, **27**, 13–22.
61. Ho, P. a., Alonzo, T. a., Gerbing, R.B., Pollard, J., Stirewalt, D.L., Hurwitz, C., et al. (2009) Prevalence and prognostic implications of CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia (AML): A report from the Children’s Oncology Group. *Blood*, **113**, 6558–6566.
62. Sinha, C., Cunningham, L.C. and Liu, P.P. (2015) Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: New Prognostic Categories and Therapeutic Opportunities. *Seminars in Hematology*, **52**, 215–222.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0037196315000384>.
63. Paschka, P., Marcucci, G., Ruppert, A.S., Mrózek, K., Chen, H., Kittles, R.A., et al. (2006) Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv(16) and t(8;21): a Cancer and Leukemia Group B Study. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **24**, 3904–11.
64. Ibrahim, L., Mahfouz, R., Elhelw, L., Abdsalam, E.M. and Soliman, R. (2015) Prognostic significance of DNMT3A mutations in patients with acute myeloid leukemia. *Blood Cells Mol Dis*, **54**, 84–89.
65. Patel, J.P., Gönen, M., Figueroa, M.E., Fernandez, H., Sun, Z., Racevskis, J., et al. (2012) Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*, **366**, 1079–89.
66. Devillier, R., Gelsi-Boyer, V., Brecqueville, M., Carbuccia, N., Murati, A., Vey, N., et al. (2012) Acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes are characterized by a specific molecular pattern with high frequency of ASXL1

- mutations. *American Journal of Hematology*, **87**, 659–662.
<http://doi.wiley.com/10.1002/ajh.23211>.
67. Lu, C., Ward, P.S., Kapoor, G.S., Rohle, D., Turcan, S., Abdel-Wahab, O., et al. (2012) IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature*, **483**, 474–8.
68. Abbas, S., Lugthart, S., Kavelaars, F.G., Schelen, A., Koenders, J.E., Zeilemaker, A., et al. (2010) Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberrations in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Blood*, **116**, 2122–6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20538800>.
69. Marcucci, G., Maharry, K., Wu, Y.Z., Radmacher, M.D., Mrozek, K., Margeson, D., et al. (2010) IDH1 and IDH2 Gene Mutations Identify Novel Molecular Subsets Within De Novo Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia: A Cancer and Leukemia Group B Study. *Journal of Clinical Oncology*, **28**, 2348–2355.
<http://jco.ascopubs.org/cgi/doi/10.1200/JCO.2009.27.3730>.
70. Dekker, A.W., Elderson, A., Punt, K. and Sixma, J.J. (1985) Meningeal involvement in patients with acute nonlymphocytic leukemia. Incidence, management, and predictive factors. *Cancer*, **56**, 2078–82.
71. Shihadeh, F., Reed, V., Faderl, S., Medeiros, L.J., Mazloom, A., Hadziahmetovic, M., et al. (2012) Cytogenetic profile of patients with acute myeloid leukemia and central nervous system disease. *Cancer*, **118**, 112–117.
72. Ratnam, K. V, Khor, C.J. and Su, W.P. (1994) Leukemia cutis. *Dermatologic clinics*, **12**, 419–431.
73. Desai, A., Desai, A., Staszewski, H. and Cunha, B. a. (2012) An Unusual Initial Manifestation of Acute Leukemia. *The American Journal of Medicine*, **125**, 1173–1174. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934312005906>.
74. Daly, P.A., Schiffer, C.A. and Wiernik, P.H. (1980) Acute promyelocytic leukemia--clinical management of 15 patients. *American journal of hematology*, **8**, 347–359.
75. Byrd, J.C. (2002) Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*, **100**, 4325–4336. <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2002-03-0772>.
76. Schlenk, R.F. (2014) Post-remission therapy for acute myeloid leukemia. *Haematologica*, **99**, 1663–70.
77. Cassileth, P.A., Sylvester, L.S., Bennett, J.M. and Begg, C.B. (1988) High peripheral blast count in adult acute myelogenous leukemia is a primary risk factor for CNS leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, **6**, 495–498.

78. Gulley, M.L., Shea, T.C. and Fedoriw, Y. (2010) Genetic Tests To Evaluate Prognosis and Predict Therapeutic Response in Acute Myeloid Leukemia. *The Journal of Molecular Diagnostics*, **12**, 3–16.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525157810600232>.
79. Döhner, H., Estey, E.H., Amadori, S., Appelbaum, F.R., Büchner, T., Burnett, A.K., et al. (2010) Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: Recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*, **115**, 453–474.
80. Cheson, B.D., Bennett, J.M., Kopecky, K.J., Büchner, T., Willman, C.L., Estey, E.H., et al. (2003) Revised Recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, **21**, 4642–4649.
81. Kallioniemi, A., Kallioniemi, O.P., Sudar, D., Rutovitz, D., Gray, J.W., Waldman, F., et al. (1992) Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science (New York, N.Y.)*, **258**, 818–821.
82. Bullinger, L. and Fröhling, S. (2012) Array-based cytogenetic approaches in acute myeloid leukemia: Clinical impact and biological insights. *Seminars in Oncology*, **39**, 37–46.
83. Weiss, M.M., Hermsen, M. a, Meijer, G. a, van Grieken, N.C., Baak, J.P., Kuipers, E.J., et al. (1999) Comparative genomic hybridisation. *Molecular pathology*: MP, **52**, 243–51.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=395705&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
84. Solinas-Toldo, S., Lampel, S., Stilgenbauer, S., Nickolenko, J., Benner, A., Döhner, H., et al. (1997) Matrix-based comparative genomic hybridization: Biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes and Cancer*, **20**, 399–407.
85. Shinawi, M. and Cheung, S.W. (2008) The array CGH and its clinical applications. *Drug Discovery Today*, **13**, 760–770.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359644608002201>.
86. Vissers, L.E.L.M., de Vries, B.B. a, Osoegawa, K., Janssen, I.M., Feuth, T., Choy, C.O., et al. (2003) Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *American journal of human genetics*, **73**, 1261–1270.
87. Cagnetta, A., Adamia, S., Acharya, C., Patrone, F., Miglino, M., Nencioni, A., et al. (2014) Role of genotype-based approach in the clinical management of adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. *Leukemia Research*, **38**, 649–659.
88. Schwer, H., Liu, L.Q., Zhou, L., Little, M.T., Pan, Z., Hetherington, C.J., et al. (2000)

Cloning and characterization of a novel human ubiquitin-specific protease, a homologue of murine UBP43 (Usp18). *Genomics*, **65**, 44–52.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10777664>.

89. Hawley, R.G., Fong, A.Z., Reis, M.D., Zhang, N., Lu, M. and Hawley, T.S. (1997) Transforming function of the HOX11/TCL3 homeobox gene. *Cancer Res*, **57**, 337–345.
90. Zhang, N., Shen, W., Hawley, R.G. and Lu, M. (1999) HOX11 interacts with CTF1 and mediates hematopoietic precursor cell immortalization. *Oncogene*, **18**, 2273–9.
91. Kaul, D. and Mehrotra, A. (2007) Functional characterization of AATF transcriptome in human leukemic cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **297**, 215–220.
92. Liu, S., Yin, L., Stroopinsky, D., Rajabi, H., Puissant, A., Stegmaier, K., et al. (2014) MUC1-C oncoprotein promotes FLT3 receptor activation in acute myeloid leukemia cells. *Blood*, **123**, 734–742.
93. Huang, Y., Chen, J., Lu, C., Han, J., Wang, G., Song, C., et al. (2014) HDAC1 and Klf4 interplay critically regulates human myeloid leukemia cell proliferation. *Cell death & disease*, **5**, e1491.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4237257&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
94. Manavathi, B., Lo, D., Bugide, S., Dey, O., Imren, S., Weiss, M.J., et al. (2012) Functional regulation of pre-B-cell leukemia homeobox interacting protein 1 (PBXIP1/HPIP) in erythroid differentiation. *Journal of Biological Chemistry*, **287**, 5600–5614.
95. Janning, M., Ben-Batalla, I. and Loges, S. (2015) Axl inhibition: a potential road to a novel acute myeloid leukemia therapy? *Expert review of hematology*, **8**, 135–138.
96. Dan, L., Klimenkova, O., Klimiankou, M., Klusman, J.-H., van den Heuvel-Eibrink, M.M., Reinhardt, D., et al. (2012) The role of sirtuin 2 activation by nicotinamide phosphoribosyltransferase in the aberrant proliferation and survival of myeloid leukemia cells. *Haematologica*, **97**, 551–9.
97. Hu, Z.B., Ma, W., Uphoff, C.C. and Drexler, H.G. (1993) Expression and modulation of annexin VIII in human leukemia-lymphoma cell lines. *Leukemia research*, **17**, 949–57.
98. Herrmann, H., Blatt, K., Shi, J., Gleixner, K. V, Cerny-Reiterer, S., Müllauer, L., et al. (2012) Small-molecule inhibition of BRD4 as a new potent approach to eliminate leukemic stem-and progenitor cells in acute myeloid leukemia (AML). *Oncotarget*, **33**, 1588–1599.
99. La Starza, R., Matteucci, C., Gorello, P., Brandimarte, L., Pierini, V., Crescenzi, B., et al. (2010) NPM1 deletion is associated with gross chromosomal rearrangements in

leukemia. *PloS one*, **5**, e12855.

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2943467&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

100. Kyung Ran Jun, J.A.S. (2013) Acute Myeloid Leukemia with t(2;6)(q12;q12) Reveals Dysmegakaryopoietic Finding and Poor Prognosis. *Journal of Leukemia*, **01**, 10–12. <http://www.esciencecentral.org/journals/acute-myeloid-leukemia-with-tqq-reveals-dysmegakaryopoietic-finding-and-poor-prognosis-2329-6917.1000116.php?aid=19203?aid=19203>.
101. Paulsson, K., Heidenblad, M., Strömbeck, B., Staaf, J., Jönsson, G., Borg, a, et al. (2006) High-resolution genome-wide array-based comparative genome hybridization reveals cryptic chromosome changes in AML and MDS cases with trisomy 8 as the sole cytogenetic aberration. *Leukemia*: official journal of the Leukemia Society of America, *Leukemia Research Fund, U.K.*, **20**, 840–6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16498392>.
102. Schoch, C., Haase, D., Fonatsch, C., Haferlach, T., Löffler, H., Schlegelberger, B., et al. (1997) The significance of trisomy 8 in de novo acute myeloid leukaemia: the accompanying chromosome aberrations determine the prognosis. German AML Cooperative Study Group. *British journal of haematology*, **99**, 605–611.
103. Paulsson, K. and Johansson, B. (2007) Trisomy 8 as the sole chromosomal aberration in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Pathologie-biologie*, **55**, 37–48.
104. Nilsson, L., Åstrand-Grundström, I., Anderson, K., Arvidsson, I., Hokland, P., Bryder, D., et al. (2002) Involvement and functional impairment of the CD34+CD38–Thy-1+ hematopoietic stem cell pool in myelodysplastic syndromes with trisomy 8. *Blood*, **100**, 259–267. <http://www.bloodjournal.org/content/100/1/259.abstract>.
105. Kobayashi, T., Ishida, J., Musashi, M., Ota, S., Yoshida, T., Shimizu, Y., et al. (2011) p53 transactivation is involved in the antiproliferative activity of the putative tumor suppressor RBM5. *International journal of cancer. Journal international du cancer*, **128**, 304–18. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20309933>.
106. McNerney, M.E., Brown, C.D., Wang, X., Bartom, E.T., Karmakar, S., Bandlamudi, C., et al. (2013) CUX1 is a haploinsufficient tumor suppressor gene on chromosome 7 frequently inactivated in acute myeloid leukemia. *Blood*, **121**, 975–983.
107. Grimwade, D., Walker, H., Harrison, G., Oliver, F., Chatters, S., Harrison, C.J., et al. (2001) The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood*, **98**, 1312–1320. <http://www.bloodjournal.org/content/98/5/1312.abstract>.

108. Schoch, C., Haferlach, T., Haase, D., Fonatsch, C., Löffler, H., Schlegelberger, B., et al. (2001) Patients with de novo acute myeloid leukaemia and complex karyotype aberrations show a poor prognosis despite intensive treatment: A study of 90 patients. *British Journal of Haematology*, **112**, 118–126.
109. Schoch, C., Haferlach, T., Bursch, S., Gerstner, D., Schnittger, S., Dugas, M., et al. (2002) Loss of genetic material is more common than gain in acute myeloid leukemia with complex aberrant karyotype: a detailed analysis of 125 cases using conventional chromosome analysis and fluorescence in situ hybridization including 24-color FISH. *Genes, chromosomes & cancer*, **35**, 20–9.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12203786>.
110. Mrózek, K., Heinonen, K., Theil, K.S. and Bloomfield, C.D. (2002) Spectral karyotyping in patients with acute myeloid leukemia and a complex karyotype shows hidden aberrations, including recurrent overrepresentation of 21q, 11q, and 22q. *Genes chromosomes cancer*, **34**, 137–153.
111. Van Limbergen, H., Poppe, B., Michaux, L., Herens, C., Brown, J., Noens, L., et al. (2002) Identification of cytogenetic subclasses and recurring chromosomal aberrations in AML and MDS with complex karyotypes using M-FISH. *Genes, chromosomes & cancer*, **33**, 60–72. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11746988>.
112. Bouffler, S.D., Kemp, C.J., Balmain, A. and Cox, R. (1995) Spontaneous and ionizing radiation-induced chromosomal abnormalities in p53-deficient mice. *Cancer Res*, **55**, 3883–3889.
113. Khalaj, M., Tavakkoli, M., Stranahan, A.W. and Park, C.Y. (2014) Pathogenic microRNATMs in myeloid malignancies. *Frontiers in Genetics*, **5**, 1–18.
<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fgene.2014.00361/abstract>.
114. Starczynowski, D.T., Kuchenbauer, F., Argiropoulos, B., Sung, S., Morin, R., Muranyi, A., et al. (2010) Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat Med*, **16**, 49–58. <http://dx.doi.org/10.1038/nm.2054>.
115. Starczynowski, D.T., Morin, R., McPherson, A., Lam, J., Chari, R., Wegrzyn, J., et al. (2011) Genome-wide identification of human microRNAs located in leukemia-associated genomic alterations. *Blood*, **117**, 595–607.
<http://www.bloodjournal.org/content/117/2/595>
<http://www.bloodjournal.org/content/117/2/595.full.pdf>
<http://www.bloodjournal.org/content/117/2/595.long?sso-checked=true>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20962326>.
116. Guo, S., Lu, J., Schlanger, R., Zhang, H., Wang, J.Y., Fox, M.C., et al. (2010) MicroRNA miR-125a controls hematopoietic stem cell number. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 14229–14234.
117. O’Connell, R.M., Chaudhuri, A.A., Rao, D.S., Gibson, W.S.J., Balazs, A.B. and Baltimore, D. (2010) MicroRNAs enriched in hematopoietic stem cells differentially

regulate long-term hematopoietic output. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 14235–40.

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2922591&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.