

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİDE SF3B1 VE MYD88 GENLERİNDEKİ
VARYASYONLARIN ARAŞTIRILMASI**

GÖZDE ÇİMENT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hilmi TOZKIR

ED RNE-2019

GÖZDE C M T'in hazırladığı "KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMDE SF3B1 VE MYD88 GENLERİNDEKİ VARYASYONLARIN ARAŞTIRILMASI" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK Anabilim Dalında bir Yüksek lisans olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):

imza

Doç.Dr. Hilmi TOZKIR

.....

Prof.Dr. Matem TUNÇDEMİR

.....

Prof. Dr. İker DİBİRDİK

.....

Tez Savunma Tarihi: 22/02/2019

Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylıyorum.

Doç. Dr. Hilmi TOZKIR

Tez Danışmanı

imza

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

imza

Prof. Dr. Murat YURTCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOKÜMANLIK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

22/02/2019

GÖZDE C M T

Yüksek Lisans Tezi

Kronik Lenfositik Lösemide SF3B1 Ve MYD88 Genlerindeki Varyasyonların
Ara tırılması

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Kronik Lenfositik Lösemi (KLL), yeti kinlerde en sık görülen lösemi tipidir. KLL'nin nedeni hala tam olarak bilinmemektedir. *SF3B1* geninde p.K700E(rs559063155) varyasyonu ve *MYD88* geninde ki p.L265P(rs387907272) varyasyonu KLL hastalı ının kötü seyri ile ili kilidir. *SF3B1* ve *MYD88* genlerinin KLL riski ile genetik ili kisini incelemek için 58 KLL hastası ve 100 sa lıklı kontrol ile Real Time-PCR çalı ması yapıldı. Çalı mamızda sadece bir hastada *SF3B1* p.K700E varyasyonu gözlemlendi, *MYD88* p.L265P varyasyonu gözlenmemi olup tüm hasta ve sa lıklı kontrollerde wild type oldu u saptandı. Çalı mamızın sonucu, KLL hastalarının sayısının az olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bulunmamı tır.

Yıl : 2019

Sayfa Sayısı : 68

Anahtar Kelimeler : MYD88, SF3B1, KLL, Real-Time (Gerçek Zamanlı) PCR

Master's Thesis

Investigation of *SF3B1* and *MYD88* Genes Variations in Chronic Lymphocytic Leukemia

Trakya University Institute of Natural Sciences

Biotechnology and Genetic

ABSTRACT

Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) is the most frequent leukemia in adults. The causes of CLL is still clearly unknown. p.K700E(rs559063155) mutation in *SF3B1* gene and p.L265P(rs387907272) mutation in *MYD88* gene have been associated with poor prognosis in CLL. To refine the genetic association *SF3B1* and *MYD88* genes with CLL risk, we conducted Real Time-PCR of in CLL 58 cases and 100 controls. In our study, *SF3B1* p.K700E variation was observed in only one patient. No variation of *MYD88* p.L265P was observed and wild type was detected in all patient and healthy controls. The results of our study were not statistically significant because of the small number of patients with CLL.

Year : 2019

Number of Pages : 68

Keywords : *MYD88*, *SF3B1*, CLL, Real-Time PCR

TE EKKÜR

Bu proje Trakya Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Birimi tarafından PO-078 numaralı bilimsel ara tırma projesi olarak desteklenmi tir.

Uzmanlık e itimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandı ım tez danı manım, saygı de er hocam Doç. Dr. Hilmi TOZKIR'a,

Ö rencili imden beri, her zaman benim e itimime ve geli imime çok önemli katkıda bulunan de erli hocam Anabilim Dalı Ba kanımız saygı de er hocam Doç. Dr. Hakan GÜRKAN'a, Verilerin istatistiksel analizi, tez yazımında ki katkıları ve e itimim boyunca bana destek olan de erli hocam Doç. Dr. Jülide TOZKIR'a,

Ö rencili im boyunca bana destek olan ve laboratuvarda kendimi geli tirmeme katkıda bulunan çok de erli hocam Dr. Ö r. Üyesi Emine kbal ATLI'ya, tez konumun belirlenmesinde ve çalı malarım boyunca destek ve ilgisini benden esirgemeyen, Ö r. Gör. Engin ATLI'ya ve Dr. Ö r. Üyesi Selma DEM R'e,

Çalı ma arkada larım Bio. Elif TUNALI ÖZEN'e, Uzm. Bio. Çisem AKURUT MA L'e ve Bio. Beril KARABACAK'a, ve tez çalı mamda bana yardımcı olan de erli arkada ım Uzm. Bio. Damla EKER'e,

Ayrıca bu süreçte deste ini sürekli yanımda hissetti im, varlıkları ile hayatı bana daha de erli kılan sevgili aileme çok te ekkür ederim.

Gözde C M T

Edirne, ubat 2019

Ç NDEK LER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TE EK KÜR.....	iii
KISALTMALAR D Z N	vi
EK LLER	
D Z N	viii
Ç ZELGELER D Z N	ix
Ç NDEK LER.....	iv
1.Giri ve Amaç.....	1
2.Genel	
Bilgiler.....	3
2.1. Kanser.....	3
2.2. Hematolojik Kanserler.....	4
2.3. Hematolojik Kanserlerde Tanı	
Yöntemleri.....	6
2.4. KLL Epidemiyolojisi.....	10

2.5.				KLL	
Etiyogenezi.....					11
2.6.	KLL	Tanı,	Evre	ve	
Prognozu.....					12
2.7.				KLL	
Tedavi.....					16
2.8.		KLL		ve	
Genetik.....					18
2.8.1. SF3B1.....					20
2.8.2. MYD88.....					26
2.9. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time-Polymerase Chain Reaction – RT-PCR).....					29
3.		Materyal		ve	
Yöntem.....					30
3.1.	Hasta	ve	Kontrol	Çalı ma	
Grupları.....					30
3.2.				DNA	
zolasyonu.....					31
3.3. Real Time-PCR Yöntemi.....					31
3.4.				statistiksel	
Analiz.....					33
4. Sonuçlar.....					34
5. Tartı ma.....					39

Kaynaklar.....	44
Ek.....	55
Özgeçmi	56

KISALTMALAR D Z N

AML	: Akut Miyeloid Lösemi
ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemi
-2 M	: Beta-2 Mikroglobulin
CD	: Farklılaşma Kümeleri (Cluster of Differentiation)
del	: Delesyon
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FISH	: Floresan <i>in situ</i> hibridizasyon
Ig	: İmmünglobülin

IGHV	: mmünglobülin a ır zincir de i ken bölgesi
IL-1R	: nterlökin-1 reseptör
IWCLL	:Kronik Lenfositik Lösemide Uluslararası Çalı tay (International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia)
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi
KML	: Kronik Miyeloid Lösemi
MYD88	: Miyeloid farklılaşma primer cevap 88 (Myeloid differentiation primary response 88)
mm ³	: milimetre küp
NCI-WG	: “National Cancer Institute-sponsored Working Group”
NGS	: Yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing)
P	: Kromozomun kısa kolu
RNA	: Ribonükleik asit
RT – PCR	:Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time Polymerase Chain Reaction)
SF3B1	: “Splicing Factor 3b, subunit 1”
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
snRNP	: Küçük nükleer ribonükleoprotein (Small nuclear Ribonucleoprotein)
TLR	: Toll-benzeri (like) reseptör
q	: Kromozomun uzun kolu

EK LLER D Z N

ekil 2.3.1. KLL hastasına ait akım sitometrisi analiz görüntüsü.....	7
ekil 2.3.2. KLL hastasına ait Karyotip Analizi [Erkek birey (46,XY)].....	9
ekil 2.3.3. FISH Tekni i.....	9
ekil 2.8.1.1. Splaysing Mekanizması.....	24
ekil 2.8.2.1. TLR Sinyal Yolu 1.....	28
ekil 4.1. KLL hastalarının tanı sırasındaki ya larının histogram grafi i.....	35

ekil 4.2. KLL hastalarının Rai evreleme sistemine göre yüzde dağılımı.....	36
ekil 4.3. SF3B1 geni varyasyon analizi sonucu.....	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.6.1. KLL Tanı Kriterleri.....	13
Çizelge 2.6.2. KLL Rai Evreleme Sistemi.....	14
Çizelge 2.6.3. KLL Binet Evreleme Sistemi.....	14
Çizelge 2.6.4. KLL’de Prognoz Parametreleri.....	16
Çizelge 2.8.1. Kromozom Anomalilerinin Görülme Oranı.....	20
Çizelge 3.3.1. Real-Time PCR Bileşenlerinin Hacmi.....	33

Çizelge 3.3.2. Real-Time PCR Sıcaklık Ko ulları.....	33
Çizelge 4.1. KLL hastaları ve Sa lıklı Kontrol grubu bireyelerinin cinsiyete göre da ılımı.....	35
Çizelge 4.2. KLL hastalarının Rai evreleme sistemine göre sıklı 1.....	36
Çizelge 4.3. SF3B1 ve MYD88 genlerinin genotiplendirmesi	38

BÖLÜM 1

G R VE AMAÇ

Kronik Lenfositik Lösemi (KLL), olgun görünümlü CD5⁺ B lenfositlerin periferik kan, kemik iliği ve lenfoid organlarda birikimi ile karakterize hematolojik bir kanser türüdür (Kipps, 2017). KLL eri kinlerde en sık rastlanan lösemidir. Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde 3-5/100.000 insidans ile tüm lösemilerin %30'unu oluşturmaktadır (Shahjahani, 2015). Asya ve Pasifik Adalarında ise daha nadir görülmektedir. Öyle ki bu ülkelerden batıya göç eden kişilerde dahi KLL hastalığı daha seyrek görülmektedir. Bu genetik faktörlerin KLL gelişimine katkıda bulunduğunu ve/veya KLL gelişimine genetik yatkınlığı ifade eder (Brown, 2008; Kipps, 2017). Bu nedenlerden ötürü çalışmamızda KLL hasta grubunu tercih ettik.

Tüm ekzom dizileme tekniği (whole exom sequencing) ile yapılan çalışmalarda KLL'nin yüksek derecede genetik dejenetik özellikleri gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda mRNA sentezinde görev alan *splicing factor 3b subunit 1 (SF3B1)* ve inflamatuvar yollarda görev alan *myeloid differentiation primary response 88 (MYD88)* gibi çok sayıda tekrarlayan somatik mutasyonlar (varyasyonlar) olduğu tespit edilmiştir (Hallek, 2017; Kipps, 2017). KLL'de *SF3B1* varyasyonları anormal RNA kırılması (splicing) ve dejenetik DNA hasar yanıtı ile ilişkilendirilmiştir (Raa vd., 2015). *SF3B1* varyasyonu bir çalışmada daha agresif hastalık seyri ve daha kısa sağ kalım süresi ile ilişkilendirilirken (Wan & Wu, 2013), başka bir çalışmada *SF3B1*

varyasyonlarının KLL hastaları üzerinde prognostik etkisinin az veya hiç olmadığı belirtilmektedir (Xia vd., 2014). *MYD88* varyasyonları KLL hastalarının %2-5'ini etkilemektedir. *MYD88* varyasyonları Nuclear factor kappa B (NF- κ B) yolunun aktivasyonuna neden olur ve böylece varyasyonlu KLL hücrelerinin çoğalmasını ve hayatta kalmasına olanak sağlar (Alsagaby, Brennan & Pepper, 2016). Bir çalışmada *MYD88* gen varyasyonu bulunan KLL hastalarının daha genç bir popülasyonda görüldüğü, genel sağ kalımın varyasyon bulunmayanlara oranla daha iyi olduğu belirtilmiştir (Martinez-Trillos vd., 2014). Başka bir çalışmada *MYD88* gen varyasyonu bulunan hastaların varyasyon bulunmayan ve daha ileri klinik evrede bulunan hastalara göre daha genç yaşta tanı konulmasına rağmen bu iki grup arasında hastalının ilerlemesi ve sağ kalım oranları bakımından herhangi bir fark gözlenmediği ifade edilmektedir (Puente vd., 2012). KLL hasta grupları için Mitsui ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *SF3B1* ve Martinez-Trillos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *MYD88* genlerinde ki varyasyonların prognostik öneme sahip olduğu belirtilirken (Martinez-Trillos vd., 2014; Mitsui vd., 2016), Xia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu varyasyonların hastalının prognozu ve genel sağ kalım süresi bakımından varyasyon bulunmayan olgulara oranla önemli bir fark gözlenmediği ifade edilmektedir (Xia vd., 2014). Bu nedenle çalışmamızda *SF3B1* ve *MYD88* genlerinde ki varyasyonların KLL hastalının prognozu ve genel sağ kalım süresi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL B LG LER

2.1. KANSER

Kanser tek ba ına bir hastalık de ildir. Daha çok kitle veya tümör olu umuna yol açtı ı bilinen kontrolsüz hücre ço almasıyla karakterize edilen neoplazi durumudur. Neoplazinin kanser olabilmesi için malign özellik göstermesi gerekir. Ba ka bir deyi le hücrelerin kontrolsüz bir ekilde büyüyüp, kom u dokuları istila edebilmesi veya uzak ya da yakın di er dokulara yayılabılme (metastaz) özelli ine sahip olması gerekmektedir. Tümörlerin her biri yerle im yerine, doku tipine, histolojik yapısına ve malignensilerin derecelerine göre sınıflandırılır. Genel olarak kanserin üç tipi vardır. Bunlar kemik, kas ya da ba doku gibi mezen imal dokulardan kaynaklanan **sarkomalar**, barsak mukozası, bron lar veya meme duktusları gibi epitelyal dokudan kaynaklanan **karsinomalar**, kemik ili i, lenfatik sistem ve periferik kan boyunca yayılan **lösemi** ve **lenfoma** gibi hematopoetik ve lenfoid malignitelerdir (Nusbaum, McInnes & Willard, 2005, s. 311).

2.2. Hematolojik Kanserler

Hematolojik maligniteler, kan, kemik ili i ve lenf dü ümlerini etkileyen kanser türleridir. Bu dokular do al olarak ba ı ıklık sistemi ile ba lantılı oldu undan, bu dokulardan birini etkileyen bir hastalık genellikle di er dokuları da etkiler. Hematolojik maligniteler; akut ve kronik lösemi, lenfoma ve multiple miyeloma gibi hastalıkları içerir (Mirzaei vd., 2017). Lenfomalar malign lenfositlerin neden oldu u, lenf dü ümlerinde ve di er lenfoid dokularda biriken ve lenfadenopatinin karakteristik klinik özelli ine neden olan bir hastalık grubudur (Hoffbrand & Moss, 2016, s.206). Lenfomanın; Hodgkin lenfoma ve non-Hodgkin lenfoma olmak üzere ba lıca iki alt formu vardır (Hoffbrand, 2016; Torkaman, Charkari & Aghaeipour, 2011). Bu iki grubun ayrımı temelde Hodgkin lenfomadaki Reed-Sternberg (RS) hücrelerinin varlığına dayanır (Hoffbrand, 2016). Lösemi en yaygın kanserlerden biridir. Lösemi özellikle kanın yapıldığı kemik ili inde ba layan ciddi bir malignitedir, akut ve kronik olmak üzere iki gruba ayrılır (Torkaman, 2011).

Akut lösemi, olgunlaşmamış lenfoid veya miyeloid progenitör hücrelerin kontrolsüz genleşmesi ve farklılaşması ile karakterizedir. Akut lösemi, lösemik hücre popülasyonunun (blastların) kökenine ve morfolojisine ba lı olarak iki gruba ayrılır: temelde miyeloid öncül hücreden köken alan akut miyeloid lösemi (AML) ve lenfoblastik kökenli akut lenfoblastik lösemi (ALL) (Xu vd., 2014).

AML kemik ili indeki agresif bir malignitedir ve erişkinlerde görülen en yaygın akut lösemi türüdür. Ancak tüm lösemilerin en düşük hayatta kalma oranına sahiptir. Genç ya ta ki hasta grubunda bu oranda dikkate değer bir gelişme olmasına rağmen daha yaşlı hasta grubunda ise çok daha kötüdür (Deschler & Lübbert, 2006; Jan & Majeti, 2013). Her yıl tanı konulan lösemilerin yaklaşık olarak %20'sini AML oluşturmaktadır. Çocukluk ça ında daha az görülürken ergenlik döneminde ve erişkin dönemlerinde de AML oranı artmaya başlamıştır. Gelişmiş ülkelerde AML lösemilerin %15'ini oluştururken, Türkiye ve diğer gelişmekte olan ülkelerde bu oran 1:1'dir (Anak & Uysalol, 2012).

ALL kemik ili nin prekürsör lenfoblastlarındaki de i ikli e ba lı olarak ortaya çıkan ve nadir görülen bir hematolojik malignitedir. ALL, prekürsör lenfoblastların kemik ili inde farklıla manın erken evresinde bloke edilmesi, hızla ço alarak normal hematopoetik hücrelerin yerini almasıyla geli ir. ALL yeti kin kanserlerinin %1'inden azını olu turur, fakat çocukluk ça nda görülen en yaygın malignitedir. (Katz, Chia, Schoonen & Kelsh, 2015). Amerika Birle ik Devletlerinde 0-15 ya grubunda ALL görülme sıklı ı 3-4/100.000'tür. Ülkemizde ise 14 ya ından küçük çocuklarda 41,4/1000000 sıklı nda görüldü ü bildirilmektedir (Uzunhan & Karaka , 2012).

Multiple miyelom, kemik ili i plazma hücrelerinin anormal ço alması ve immünglobulin veya hafif zincir a ırı üretimi ile karakterize, uç organ hasarının kanıtı olan hematolojik bir hastalıktır. 1997'den önce, yeni te his edilen multiple miyelom hastalarının ortalama sa kalım süresi yakla ık 2,5 yıldır (Landgren & Morgan, 2013). Kronik lösemi, tüm dünyadaki vakaların %43'ünü olu turur ve nadiren anormal, ço unlukla olgunla mı kan hücrelerinin birikmesi ile karakterizedir (Elert, 2013).

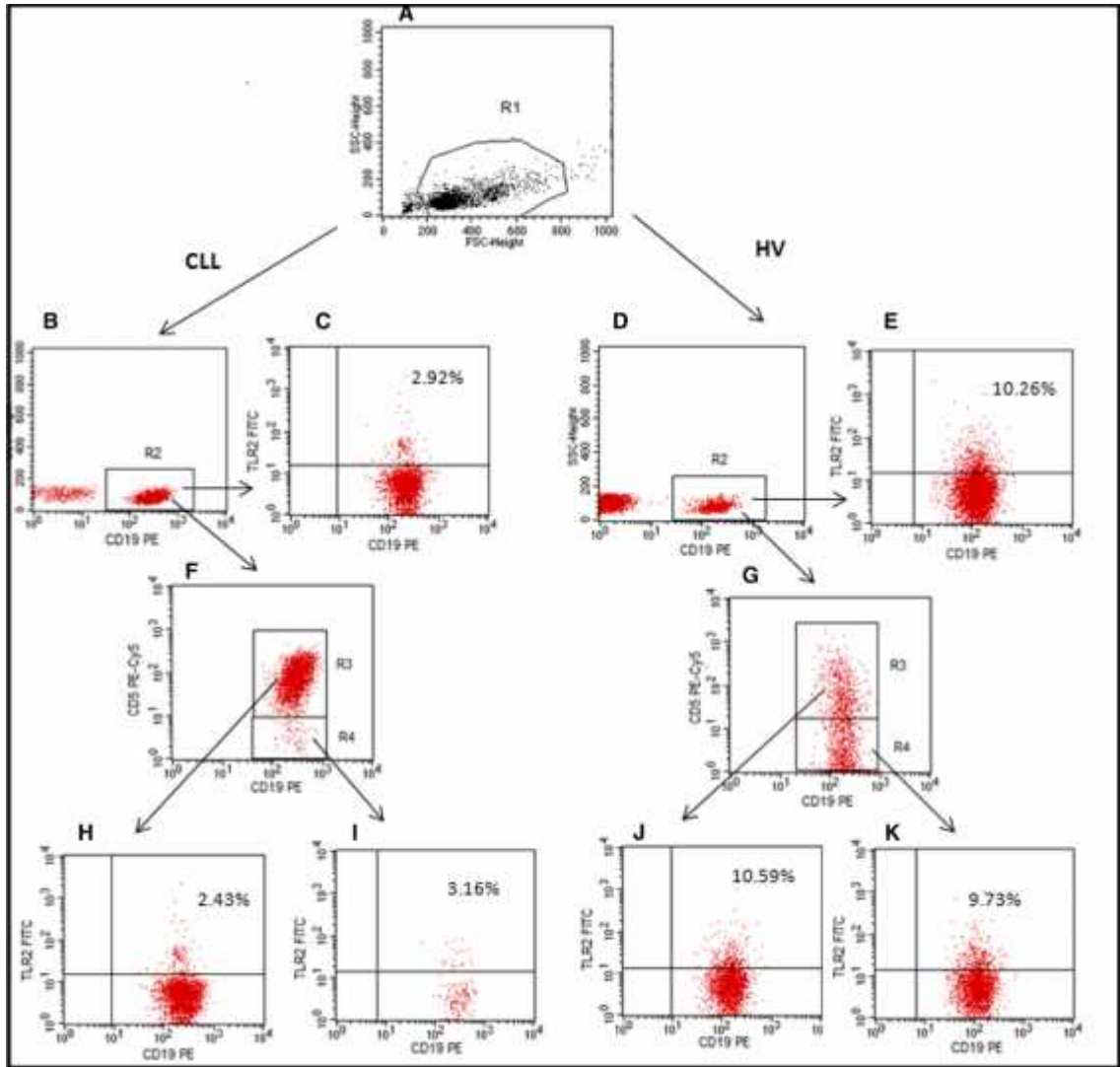
Kronik lösemiler temel olarak kronik miyeloid lösemi (KML) ve kronik lenfositik lösemi olmak üzere ikiye ayrılır. KML ve KLL batı dünyasında yeti kin bireylerde en yaygın görülen lösemi tipleridir (Payandeh, Sadeghi, Khodarahmi & Sadeghi, 2014). KML malign bir hematopoetik kök kücre hastalı ıdır. Kar ılıklı translokasyon t(9; 22) (q34; q11) (Philadelphia kromozomu) sonucunda BCR-ABL füzyonu onkogenine ba lı olarak ortaya çıkan miyeloid serinin sınırsız ço alması ile karakterize edilen bir kök hücre bozuklu udur. Philadelphia kromozomu hastaların %90'ında görülmektedir ve KML için kesin bir tanı i areti olarak kabul edilir. (Kaleem, Shahab, Ahmed & Shamsi, 2015; Xu & Zhou, 2015). KLL, eri kinlerde ve Batılı ülkelerde en sık görülen lösemi türüdür ve bu popülasyon grubundaki tüm lösemilerin yakla ık olarak %30'unu olu turur. Ülkemizde KLL hastalı ının insidansı ile ilgili bir çalı ma bulunmamaktadır. Amerika Birle ik Devletlerinde KLL'nin yıllık insidansı 4.6/100.000 ki idir (Rodrigues vd., 2016; Shanshal & Haddad, 2012).

2.3. Hematolojik Kanserlerde Tanı Yöntemleri

Hematolojik kanserlerin tanısında tam kan sayımı, periferik yayma, kemik iliği bulguları gibi tanı yöntemleri kullanılmaktadır (Torkaman, 2011). Bunların yanı sıra ilk defa 2001 yılında Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization/WHO) tarafından tüm hematolojik maligniteleri immünofenotip, genetik anomaliler ve klinik özellikler açısından tanımlayan bir sınıflandırma sistemi oluşturulmuş ve yayınlanmıştır. Sonrasında bu sınıflandırma sistemi "Uluslararası Onkolojik Hastalıkların Sınıflandırma" sistemine dahil edilmiştir. WHO tarafından yapılan bu sınıflandırma sistemi 2008 ve 2016 yıllarında revize edilmiştir (Arber vd., 2016; Smith, Howell, Patmore, Jack & Roman, 2011). WHO sınıflandırmasında klinik özellikler, morfoloji, immünofenotip ve genetik verilerin tümü kullanılarak hastalığı tanımlamaya yönelik çok parametrelili bir yaklaşım benimsenmiştir. Genetik veriler hastalığın teşhis için hematolojik malignitelerin klinikopatolojik sınıflandırmasında; teşhis kriterleri, prognostik faktör, tahmini faktör ve hastalık tanımlayan lezyonlar gibi farklı seviyelere entegre edilmiştir (Arber vd., 2016).

İmmünofenotipleme, klinik örneklerde hücresel antijenleri tespit etmek için antikorların kullanıldığı yöntemdir. Hematolojik malignitelerin tanı ve sınıflandırmasında önemli rol oynar. İmmünofenotipleme, hastalık evreleme ve izlemede, genetik anomalilerin yerine geçebilecek belirteçleri tespit etmek, potansiyel immün terapötik hedefleri belirlemek ve prognostik tahmine yardımcı olmak için yaygın şekilde kullanılmaktadır. İmmünofloresan imaretleme, aynı anda birden fazla antijenin değerlendirilmesini ve bunların alt hücresel lokalizasyonunu belirlemeyi mümkün kılmıştır. Bu hematolojik malignitelerin analizi için akım sitometrisinin (flow cytometry) kullanılmasına yol açmıştır. Prensip olarak akım sitometrisi, hızla akan bir sıvının içinden geçen hücrelerin birden fazla özelliğini aynı anda ve tek hücre bazında ölçen bir tekniktir. Tipik olarak, hücreler floresanla konjüge edilmiş monoklonal antikorlarla etiketlenir. Hücreler lazer ışını boyunca geçtikçe florokrom etkinleştirme dalga boyunda aktive olur. Yayılan floresans cihazdaki fotoitli dedektörler tarafından ölçülür (Heel vd., 2013; Pati & Jain, 2013). Akım sitometrisi için küçük bir numune

hacmi yeterlidir ve aynı anda birçok hücresel parametrenin de erlendirilmesine izin verir. Bu yolla hem yüzeysel hem de hücre içi antijenler de erlendirilebilir ve de erlendirme hem niceliksel hem de duyarlıdır. Bu teknik hematolojik malignitelerin tanımlanması ve sınıflandırılmasında önemli rol oynar. WHO tarafından yapılan sınıflandırma sisteminde akım sitometrisi tekni inin kullanılması desteklenmektedir (Heel vd., 2013; Pati, 2013). eki 1 de KLL hastasının TLR2 ekspresonu yapan B hücrelerinin tanımlanması amacıyla yapılmı bir akım sitometrisi analiz görüntüsü gösterilmektedir (Szymanska vd., 2018).



ekil 2.3.1: KLL hastasının TLR2 ekspresyonu yapan B hücrelerinin tanımlanması amacıyla yapılmış bir akım sitometrisi analiz görüntüsü (Szymanska vd., 2018).

Hematolojik malignitelerde, klasik sitogenetik, moleküler sitogenetik ve moleküler teknikler gibi genetik tanı yöntemlerinin kullanılması hastalığın tanısı, alt tiplere sınıflandırılması ve tedavisi açısından çok önemlidir. (Arber vd., 2016; Macheta, Chocholska & Podhorecka, 2015). Konvansiyonel sitogenetik bir yöntem olan karyotip analizi ile moleküler sitogenetik bir yöntem olan floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) tekniği hematolojik maligniteleri olan hastaların tanısı, prognozu ve tedavisi için halen birlikte kullanılmaktadır (Simons vd., 2012; Sreekantaiah, 2007).

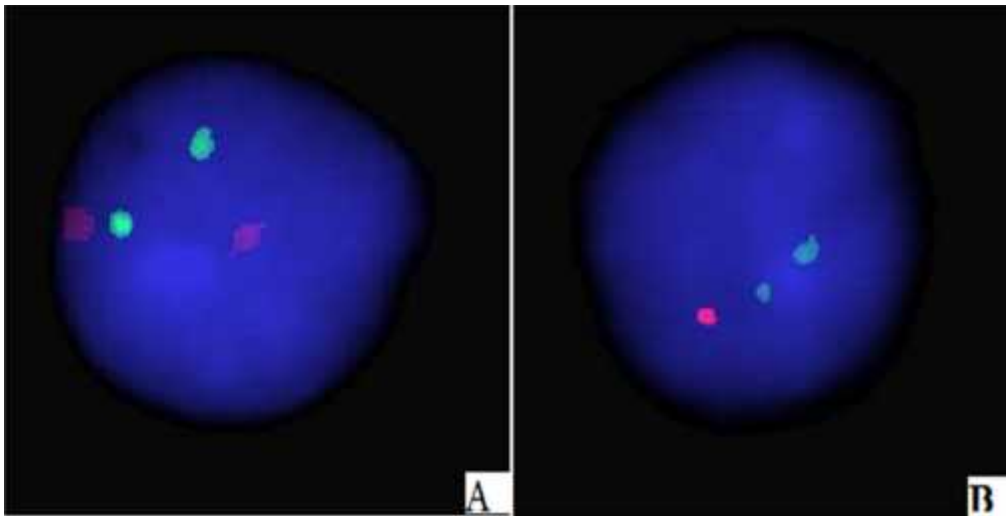
Sitogenetik lösemi ve lenfoma patogeneğinde yer alan genlerin tanımlanması, tekrarlayan kromozom anomalilerinin belirlenmesi, hastalığın tanısı ve klinik tedavisinde önemli rol alır (Kearney & Horsley, 2005; Sreekantaiah, 2007). Konvansiyonel sitogenetikte karyotip analizi, tek bir hücre seviyesinde sayısal ve yapısal anomalilerin tespit edilmesini sağlayan rutin bir yöntemdir (Kolialexi, Tsangaris, Kitsiou, Kanavakis & Mavrou, 2005). Sitogenetik analizinde, kültür metodolojisi ve bantlama teknikleriyle ilgili gelişmeler nedeniyle son 30 yılda önemli ölçüde iyileşmiştir (Kearney, 2005; Kolialexi, 2005). Yunis tarafından 1976'da tanımlanan yüksek çözünürlüklü kromozom analizi, profaz veya prometafazdaki bölünen hücrelerin senkronize edilmesini içerir ve çoklu bantlarla daha uzun kromozomlar oluşturulur. Bu çözünürlük sayesinde DNA'da 3-5 Mb'a kadar olan yapısal anomaliler tespit edilebilirken 3 Mb'dan küçük olanların tespit edilmesi zordur (Kolialexi, 2005). Karyotip analizinde, hastalığa bağlı olarak hücrelerin düşük *in vitro* mitotik aktivitesi, metafazların kalitesizliği ve kötü kromozom morfolojisi gibi nedenlerden dolayı her zaman istenilen sonuç elde edilemeyebilir (Kolialexi, 2005; Sreekantaiah, 2007). ekil 2'de bir KLL hastasına ait normal bir karyotip analizi gösterilmektedir.

Karyotip analizinin aksine FISH analizi hem mitotik hem de interfaz hücrelerinde spesifik anomalilerin belirlenmesi ve daha fazla sayıda hücre analiz edilmesi nedeniyle hızlı ve güvenilir bir yöntemdir (Kwon vd., 2010; Sreekantaiah, 2007). FISH tekniğinin en büyük avantajlarından biri bölünmeyen interfaz hücrelerinde

dahi sayısal ve yapısal kromozom anomalilerinin tespit edilmesidir. FISH tekni inde kromozom üzerindeki hedef bölgeye özgü problar kullanılır. Prob, plazmidler ve kozmidler gibi çe itli vektörlerle ço altılan insan DNA'larının florokrom boyalarla etiketlenmesi ile elde edilir. Probun, kromozoma özgü sentromerik problar, tüm kromozom boyayan problar (paint), Lokus spesifik problar, telomerik ve subtelomerik problar gibi çe itleri vardır (Kolialexi, 2005). ekil 3'te normal sonuca sahip bir hematoloji hastası ile delesyon bulundu u tespit edilen bir hematoloji hastasının FISH analizi görüntüleri gösterilmektedir.



ekil 2.3.2: KLL hastasına ait Karyotip Analizi (Erkek birey (46,XY)). (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarı).



ekil 2.3.3: FISH tekni i A) p53 geninin normal oldu u bir örne e ait FISH görüntüsü. B) p53 geninde delesyon bulunan bir örne e ait FISH görüntüsü. (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarı)

30 yılı a kın bir süre önce elektroforeze dayalı DNA dizilimi kavramı tanıtıldı. Yıllar geçtikçe Sanger dizileme (Sanger sequencing) olarak bilinen bu teknik bugüne kadar DNA dizilimi için altın standart olarak kullanıldı. 2005 yılında, döngüsel dizi tabanlı yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing-NGS) tekni i geli tirilmi tir. NGS ile tek bir deneyde milyarlarca baz dizisi ile ilgili bilgi üretebildi i için genetik ve epigenetik ara tırmalar için devrim niteli inde bir geli me olmu tur. NGS sadece genomik DNA'nın ara tırılması ile sınırlı de ildir. Aynı zamanda tüm transkriptomları [messenger RNA (mRNA), non-coding RNA (ncRNA), mikroRNA'lar] ve epigenomları (DNA metilasyonu, protein-RNA etkile imi) incelemek için de erli bir araç haline gelmi tir (Chapman, Warren & Wu, 2012; Haas, Katus & Meder, 2011). Günümüze bu teknik kanser ara tırmalarında özelliklede hematolojik malignitelerin ara tırmasında ön planda yerini almı tir.

2.4. KLL Epidemiyolojisi

KLL dünya çapında en yaygın görülen hematolojik malignitedir. KLL, kemik ili inde lenfositlerden ba layan lösemi tipidir. Tüm lösemilerin yaklaşık olarak % 30'unu olu turur (Mirzaei vd., 2017). Batı ülkelerinde KLL 4.2/100.000 ki i insidansı ile en sık rastlanan lösemi hastalı ıdır. Hastalı nın 80 ya ın üzerindeki bireylerde insidansı 30:100.000/yıl olarak görülür. Tanıda medyan ya 72'dir. KLL hastalarının % 10'unun 55 ya ından küçük oldu u belirtilmi tir (Eichhorst vd., 2015).

Batı ülkelerinin aksine Asya ülkelerinde KLL hastalı ı çok nadir olarak görülmektedir. Asyalı hastalar Avrupa kökenli KLL hastalarından farklı özelliklere sahiptir. Asyalı hastalar daha gençtir, atipik morfoloji ve immünolojik özelliklere sahiptir. Bunun nedeni tam olarak bilinmemektedir. Büyük Britanya da ya ayan

Hintliler, Pakistanlılar ve Banglade liler gibi güney Asyalılarda, 70 ya ındaki Avrupa kökenli vatandaşlara göre ortalama tanı ya ı 60 ya ve üzeri olarak belirtilmektedir. Asyalı ve Avrupa kökenli KLL hastalarında cinsiyete göre insidans oranında erkek cinsiyetin daha baskın olması benzerdir. (Yang, Li, Gale & Huang, 2015). Amerika'da ki beyaz ırka göre Afrika kökenli Amerikanlarda ve Japonya da dahil olmak üzere Asya ülkelerinden Amerika'ya göç eden bireylerde KLL insidansının dü ük oldu u belirtilmiştir (Gragert vd., 2014; Kawamata vd., 2013). Bu durum hastalının co rafik bölgelerdeki farklılıktan de il de, hastalının etnik kökenle ilgili olması olasılı nı akıllara getirmektedir. Singapur'da Do u (Çin), Güneydo u (Malay) ve Güney Asya (Hint) gibi üç farklı etnik grubu içeren Asyalı hastalarla yapılan bir çalı mada KLL hastaları da dahil olmak üzere tüm lenfoid neoplazilerin insidansında farklılıklar oldu u tespit edilmiştir. Malay'ların en yüksek insidansa sahip oldu u ve her üç grubun hastaları içinde erkeklerin kadınlara göre daha yüksek insidansa sahip oldu u belirtilmiştir (Lim vd., 2015).

2.5. KLL Etiyogenezi

KLL etiyojisi tam olarak bilinmeyen yaygın bir hastalıktır. KLL hastalının gelişim riskini arttırabilecek i dü ünülen benzen, petrol, formaldehit gibi çe itli kimyasallara maruz kalan kişilerle çalı malar yapılmıştır. Benzene maruz kalan kişilerle yapılan çalı malarda benzenin AML, Multiple Miyeloma gibi hastalıklar için bir risk faktörü olabilece i bildirilmiştir , fakat KLL için bu kimyasalın hastalık gelişimindeki etkisi tam olarak belirlenememiştir (Stenehjem vd., 2015). Benzenin yanı sıra petrol, formaldehit, dioksin, etilen oksit gibi çe itli kimyasallarında KLL ile ilişkisi belirlenememiştir. Sonuç olarak kimyasalların KLL ile ilişkisi net de ildir. KLL ve di er lenfoid neoplazilerin gelişiminin altında yatan merkezi faktörün ba ıklık sistemindeki düzensizlikler oldu u dü ünülmektedir (Blair, Purdue, Weisenburger & Baris, 2007).

Mesleki veya çevresel iyonizer radyasyona maruz kalma ile KLL arasında da belirgin bir ili ki bulunmamı tır (Linnet vd., 2005; Vrijheid vd., 2014). yonizer radyasyona maruz kalmanın KLL dı ındaki lösemi tipleri ile aralarında güçlü kanıtlar oldu u belirtilirken, KLL'nin iyonizer radyasyondan kaynaklanmadı ı belirtilmektedir (Vrijheid vd., 2014). 1940'lı yılların sonuna do ru meydana gelen Hiro ima ve Nagasaki atom bombası saldırıları sonunda hayatta kalanlar arasında yapılan çalı malarda AML, ALL, KML gibi lösemi tiplerinde artı gözlenirken KLL hastalı ında bir artı gözlenmemi tir. Bu sonucun Japon popülasyonunda KLL olgularının az olmasından kaynaklanabilece i de belirtilmi tir. (Preston vd., 1994). Radyasyona maruziyetin lösemiler ile ili kisini ortaya koyan bir ba ka olay da 26 Nisan 1986'da meydana gelen Çernobil nükleer reaktör kazasıdır. Bu kaza sonrasında Belarus, Ukrayna ve Rusya Federasyonunda milyonlarca insan farklı doz oranlarında radyasyona maruz kalmı tır. Çernobil kazası sonrasında KLL dı ındaki tüm lösemi hastalıklarının artı ı bildirilmi ve bu hastalıkların insidansında ki artı lar radyasyona maruz kalma ile ili kilendirilmi tir (Kesminiene vd., 2010). Bu bulgular toplamında KLL ile iyonizer radyasyona maruziyet arasında anlamlı bir ili ki bulunamamı , hastalı ın patogenezinde genetik faktörlerin önemli oldu unu destekleyen görü daha da kuvvetlenmi tir.

Apoptoz, geli imin düzenlenmesi, homeostazinin korunması ve tümör olu umunun önlenmesi için gerekli olan fizyolojik bir hücre intihar programıdır. Apoptotik programdan kaçınmak, kanser hücrelerinin ayırt edici özelliklerinden biridir ve tedavilere kar ı klinik dirençte önemli bir mekanizmayı temsil eder. KLL, apoptozisin ba langıç evresinde intrinsik (mitokondriyal) yolakta meydana gelen bir bozuklukla karakterizedir. Bu durum, KLL hücrelerinin apoptotik makinelerindeki kusurlar ve mikro çevrenin sa ladı ı a ırı sa kalım sinyalleri gibi çe itli faktörlerden kaynaklanmaktadır (Billard, 2013). KLL hücre proliferasyonunun artmasına kar ılık, ba arısız programlanmı hücre ölümünün neden oldu u bir neoplastik bozuklu u temsil eder (Kitada vd., 1998).

2.6. KLL Tanı, Evre ve Prognozu

KLL batı ülkelerinde en yaygın görülen lösemi tipidir. KLL tipik olarak ya lı hastalarda ortaya çıkan ve oldukça de i ken bir klinik seyir gösteren bir hastalıktır (Hallek, 2017). KLL hastalarında tanı koyarken Amerika Birle ik Devletleri Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından desteklenen Çalı ma Grubu (National Cancer Institute–sponsored Working Group/NCI-WG) tanı kriterleri kullanılmaktadır. Tanı; kan sayımları, kan yaymaları ve B hücresi belirteçleriyle birlikte CD5 antijenini ta ıyan bir klonal B hücresi popülasyonunun immünfenotiplendirmesi ile konur (Hallek, 2017; Hallek vd., 2008). KLL tanısı, periferik kanda en az üç ay boyunca 5000 ve üzerinde B lenfosit hücrelerinin varlı nı gerektirir. Dola ımdaki B lenfositlerinin klonalitesinin akım sitometrisi ile do rulanması gerekir. Akım sitometrisinde hücreleri birbirinden ayırt etmek için kullanılan hücresel i aretler farklıla ma kümesi (cluster of differantion-CD) ile ifade edilir. KLL hücreleri, CD19, CD20 ve CD23 gibi B hücresi yüzey antijenleriyle birlikte, T hücresi geli im antijenlerinden biri olan CD5’i birlikte eksprese eder. KLL de CD20 ve CD79b, yüzey immünglobulinlerinin (Ig) seviyeleri, normal B hücrelerinde bulunanlara göre karakteristik olarak dü üktür. KLL de her bir hücre klonu kappa veya lambda immünglobulin hafif zincirlerinin ekspresyonu ile sınırlıdır (Hallek, 2017; Hallek vd., 2008). KLL tanı kriterleri Çizelge 1’de verilmi tir.

Çizelge2.6.1: KLL Tanı Kriterleri

Parametreler	Kriterler
B- Lenfosit	5000/mm ³ (en az 3 aydan beri)
mmünfenotipleme	En az bir adet B hücre i areti (CD19, CD20, CD23), CD5 ⁺ ve yüzey Ig hafif zincir klonalitesi (kappa veya lambda)
Kemik ili inde lenfositoz	% 30
Atipik hücre oranı	% 55

KLL hastalı mın klinik evrelemesinde yaygın olarak kabul görmü , Rai ve Binet olmak üzere iki temel sınıflandırma sistemi bulunmaktadır. Bu haliyle, her iki sistem de

imdi, farklı klinik sonuçlara sahip üç ana alt grubu tanımlamaktadır. Orijinal Rai sınıflandırma sistemi, prognostik grupların sayısını 5'ten 3'e düşürmek için değiştirilmiştir. Modifiye edilmiş Rai evrelemede; lenfadenomegalinin yaygın olup olmadığı, splenomegali ve hepatomegalinin varlığı, anemi ve trombositopeni'nin olup olmadığı gibi bulgular dikkate alınırken, Binet evreleme sisteminde; tutulum olan lenfoid alanların sayısı, hemoglobin ve trombosit değerleri dikkate alınmaktadır (Binet vd., 1981; Hallek, 2017; Hallek vd., 2008; Rai vd., 1975)-. Rai evrelendirme sisteminin kriterleri Çizelge 2'de, Binet evrelendirme sisteminin kriterleri Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 2.6.2: KLL Rai Evreleme Sistemi

Risk	Evre	Klinik Özellikler
Düşük	0	Lenfositoz ($< 5000/mm^3$)
Orta	1	Evre 0 + Lenfadenomegali
Orta	2	Evre 0-1 + Splenomegali ve/veya Hepatomegali
Yüksek	3	Evre 0-2 + Anemi (Hb $< 11g/dl$)
Yüksek	4	Evre 0-3 + Trombositopeni (Plt $< 100.000/mm^3$)

Çizelge 2.6.3: KLL Binet Evreleme Sistemi

Evre	Klinik Özellikler
A	Hb $< 10 g/dl$, Plt $< 100.000/mm^3$, 3 lenf düğüm bölgesinde tutulum
B	Hb $< 10 g/dl$, Plt $< 100.000/mm^3$, 3 lenf düğüm bölgesinde tutulum
C	Hb $< 10 g/dl$, Plt $< 100.000/mm^3$, tutulum olan bölge sayısının önemi yoktur.

KLL klinik olarak heterojen bir hastalıktır, çünkü bazı hastalarda klinik seyir hızla ilerlerken, di erleri tedaviye ihtiyaç duymadan uzun bir süre hayatta kalmaktadırlar. Son yıllarda, erken hastalık dönemlerinden itibaren hastalık progresyonunu i aret edebilen KLL B hücrelerinin genetik, fenotipik veya moleküler özelliklerine dayanan birçok prognostik belirteç ortaya çıkmıştır. Bu nedenle, belirli bir hastada sadece KLL'nin ilerleme derecesini ölçebilen klasik Binet veya Rai evreleme sisteminin yanında farklı belirteçlerde kullanılabilir (Chiorazzi, 2012; Ferrarini, Cutrona, Neri & Morabito, 2012).

Prognoz de erlendirmesinde klinik evre, periferik kanda lenfosit sayısı, periferik kandaki lenfosit morfolojisi, lenfosit sayısı ikiye katlanma süresi (LDT) gibi klasik prognostik belirteçler kullanılmaktadır. Bu klasik belirteçlerin yanı sıra laktat dehidrogenaz (LDH), beta-2 mikroglobulin (β_2 M), timidin kinaz (TK), immünglobülin a ır zincir de i ken bölgesi (immunoglobulin heavy-chain variable-region/IGHV) gen varyasyon durumu, CD38, T hücre reseptörü zeta zincir-ili kili protein kinaz 70 (zeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70/ZAP70), kromozomal translokasyonlar, FISH tekni i ile elde edilen sitogenetik bulguları gibi yeni biyolojik prognostik belirteçler dikkate alınmaktadır (Chiorazzi, 2012; Montserrat, 2006; Montserrat, 2002). Hastalı ın prognozunu belirlemeye yardımcı olabilecek klasik ve yeni biyolojik prognostik belirteçler Çizelge 4'te gösterilmektedir.

IGHV gen varyasyon durumu KLL de önemli bir prognostik belirteçtir. Varyasyona u rayan *IGHV* olguları, varyasyona u ramayan *IGHV* olgularına göre daha uzun sa kalım gösterir (Tobin vd., 2003). B-KLL de hem ZAP-70 hem de CD38 ekspresyonları ba ımsız birer prognostik belirteçlerdir. CD38 ekspresyonu *IGHV* varyasyon durumu için bir vekil belirteç olarak da önerilmektedir (Assem, Hamid, Kohla & Arsanyos, 2009). B-KLL de artmış CD38 ekspresyonu olumsuz bir prognostik faktör olarak önerilmektedir (Boonstra vd., 2006). KLL hücrelerinde ZAP-70 ekspresyonu KLL hastalarında kısa genel sa kalımla ili kilendirilmektedir (Dielschneider vd., 2014).

Çizelge 2.6.4: KLL de Prognoz Parametreleri

Parametre	yi prognoz	Kötü prognoz
Cinsiyet	Kadın	Erkek
Binet Evresi	A	B ve C
Rai Evresi	0,1	2, 3, 4
Periferik kanda lenfosit sayısı	50.000/ mm ³	50.000/ mm ³
Kemik ili i tutulum ekli	Non-diffüz	Diffüz
Kemik ili inde lenfosit oranı	% 80	80
LDT	12	12
LDH/ -2 M	Normal	Artmı
Timidin kinaz ve sCD23	Normal	Artmı
Sitogenetik	N veya izole del 13q	Del 11q ve 17p, trisomi 12
CD38	% 30	% 30
IGVH varyasyon durumu	Mutant	Non-mutant
P53 varyasyon durumu	Non-mutant	Mutant
Zap 70	Negatif	Pozitif

2.7. KLL Tedavi

KLL, monoklonal olgun B hücrelerinin birikmesiyle karakterize bir hastalık oldu undan, lösemi hücrelerinin dönü ümü, çok özel mikro-RNA genlerinin delesyonu ve B hücrelerinin apoptoza kar ı direncinin artmasına neden olan genomik de i ikliklerle ba ladı ı dü ünülmektedir (Messmer vd., 2015; Podhorecka vd., 2015). KLL'nin biyolojisi ve patogenezinin anla ılmasıdaki ilerleme, tedavi için birçok yeni potansiyel hedefi ortaya çıkarmı tır. Daha yüksek tedavi etkinli i için B hücre reseptör yola ı (BCR) gibi sinyal yolaklarını ya da CD20 hedefleyen modifiye olmu antikorlar gibi farklı yakla ımlar olu turulmu tur (Al-Sawaf, Fischer, Eichhorst & Hallek, 2016).

Kemoimmünterapi KLL hastaları için standart olarak birinci basamak tedavidir-. Bunun yanı sıra KLL biyolojisinin anla ılmasıyla CD20 monoklonal antikorları; Bruton tirozin kinaz (BTK), fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) inhibitörleri ve Bcl-2 inhibitörlerini hedefleyen tedavi yöntemleri geli tirilmi tir (Al-Sawaf, 2016; Jain & O'Brien, 2015). CD20 esas olarak B lenfositlerin üzerinde eksprese edilen bir transmembran proteindir. CD20'nin do al ligandı henüz bilinmemektedir ve fizyolojik rolü tam olarak anla ılamamı tır. Ancak B hücresi aktivasyonunun ve ço almasının düzenlenmesinde rol oynadı ı dü ünülmektedir. Rituksimab ve ofatumumab olmak üzere iki tip CD20 antikoruna vardır (Al-Sawaf, 2016).

B hücre malignitelerinin ço u için ve özellikle KLL de BCR, B hücrelerinin ço almasını, apoptozunu ve farklılaşmasını indükleyen ve destekleyen bir anahtar sa kalım molekülüdür. BCR yola ının deregülasyonu KLL hücresi sa kalımını ve klonal geni lemesini destekler, bu nedenle B hücreli malignitelerin geli imi için kritiktir. BTK'nın kendisi, fosfolipaz Cgamma2 (PLC 2) ve aktive B hücrelerinin NF B gibi bir faktörler dizisini hedeflemektedir. brutinib, BTK'nın oral olarak satılan ilk küçük molekülü inhibitörüdür (Al-Sawaf, 2016). brutinib, erken evreli çalı malarda, kronik lenfositik lösemide yüksek yanıt oranları ve uzun süreli ilerleme olmayan sa kalım göstermi tir (Byrd vd., 2015). kinci nesil bir BTK inhibitörü olan Acalabrutinib, son zamanlarda klinik testlere girmi tir. Bu küçük molekül, BTK'nın Cys481 bölgesine kovalent olarak ba lanır. Bu ilaç brutinib'den daha yüksek hedef kapsamasının yanı

sıra geli mi bir seçicili e sahiptir. Böylece hedef dı ı etkiler ve sonraki olumsuz olaylar önlenir (Al-Sawaf, 2016).

Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) sinyal yolu, ço alma, hayatta kalma ve farklılaşma gibi hemen hemen tüm temel hücresel i levlerde önemli bir rol oynar. CD19 aktivasyonu ile do rudan ba lantılıdır. delalisib, birinci sınıf bir oral PI3K inhibitörüdür. dealisib *in vitro* B hücrelerinin apoptozunu indükleyen BCR sinyal yolunun a a ı do ru düzenlenmesine yol açar (Al-Sawaf, 2016). Bir ba ka umut verici ilaç, lösemik hücrelerde apoptozu indükleyen BCL-2 protein antagonistleridir (Podhorecka vd., 2015). Hematolojide, özellikle KLL de apoptozun intrinsik yolunun karı ıklı ı, CD5⁺ ve CD19 lenfositlerinin birikmesine yol açan Bcl-2'nin yukarı regülasyonu yoluyla çok yaygındır (Al-Sawaf, 2016).

KLL de 40 yılı a kın bir süredir, Fiziksel muayene ve kan sayımına dayanan Rai ve Binet klinik evreleme sistemleri kullanılmaktadır. Son yıllarda KLL'nin genetik ve moleküler patogeneze dair öngörüler klinik evreleme sistemini tamamlayıcı prognostik bilgi sa layan *IGHV* gen varyasyon durumu, sitegenetik, *TP53* (Tümör Protein 53-TP53), *NOTCH1* (Neurogenic Locus Notch Homolog Protein 1- *NOTCH1*), *SF3B1*, *BIRC3* (Baculoviral IAP Repeat-Containing Protein 3) gen varyasyonları gibi yeni belirteçlerin tanımlanmasına yol açmı tır. Fakat günümüzde rutin klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmamaktadır. Avrupa ve ABD'de uluslararası bir ara tırma grubu sekiz ayrı randomize çalı madan elde edilen veriye göre, yaygın olarak bulunan klinik, biyolojik ve genetik parametreleri kullanan KLL uluslararası prognostik indeks (CLL International Prognostic Index /CLL-IPI) olu turmu tur. CLL-IPI indeksi ile ba lanğçta KLL hastalarının sa kalım sürelerinin öngörülmesi amaçlanmı tır. Fakat yeni tanı almı hastalarda ilk tedaviye ba lama süresinin öngörüldü ü de belirtilmi tir (Molica vd., 2017).

2.8. KLL ve Genetik

KLL Batı dünyasında en sık görülen lösemi tipidir. KLL hastalığının nedeni uzun zamandır yapılan araştırmalara rağmen bulunamamıştır. Asyalılarda KLL hastalığının sıklığı; Kafkas, Avrupa ve Amerikalı bireylere göre daha düşüktür ve daha da önemlisi Amerika'ya göç edenlerde bile bu oranın korunması hastalığın çevresel faktörlerden ziyade genetik öneme sahip olduğunu vurgulamaktadır (Brown, 2008). Yaşı, erkek cinsiyet, beyaz ırk ve KLL aile öyküsü veya diğer lenfoproliferatif bozukluklar KLL gelişimi için risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (Coombs vd., 2012).

KLL hastalığının nedeni tam olarak bilinmemekle beraber aile öyküsü en iyi karakterize edilen risk faktörüdür (Brown, 2008; Coombs vd., 2012). KLL hastalarının %8-10'u aile öyküsüne sahiptir, bu da hastalığın kalıtsal yatkınlığa sahip olduğunu işaret etmektedir. KLL hastalarının birinci dereceden akrabaları arasında hastalığın görülme riski daha yüksektir (Coombs vd., 2012). Sporadik olarak gelişen KLL olguları ve ailesel KLL olgularının karşılaştırıldığı bir çalışmada, ailesel olgularda kadın insidansının ve varyasyon geçirmiş *IGHV* geninin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Goldin, Slager & Caporaso, 2010). Ayrıca KLL hastalarının birinci derece akrabalarında %13-18'inde Monoklonal B hücreli lenfositoz (Monoclonal B-cell lymphocytosis-MBL) olduğu belirtilmektedir (Slager, Caporaso, Sanjose & Goldin, 2013). MBL'nin KLL için öncül bir lezyon olduğu ve KLL hastası olan ailelerde daha sık ortaya çıktığı belirtilmektedir (Goldin, 2010; Slager, 2013). Kromozom 16q24.1 lokusu üzerinde bulunan Interferon Düzenleyici Faktör 8 (Interferon regulatory factor 8-*IRF8*) geni ve İnsan Lökosit Antijeni (Human Leukocyte Antigen-HLA) genlerini barındıran kromozom 6p21.3 lokusunun, ailesel KLL'ye yatkınlık ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır (Wiernik, 2015). KLL için kalıtsal riskin yaklaşık olarak %10'u; tek nükleotid polimorfizimlerine (single nucleotide polymorphisms-SNPs) dayandırılabilir (Coombs, 2012). Bu SNP'ler *genome wide association (GWA)* çalışmalarında tanımlanmış ve tek başına göreceli olarak küçük bir hastalık riski sunmaktadır. KLL GWA çalışmaları neredeyse tamamen beyaz ırk popülasyonlarında gerçekleştirildiği için, bu SNP'lerin diğer ırksal gruplardaki önemi belirsizdir (Coombs, 2012). NGS tekniğinin gelişimi ile birlikte KLL hastalığının moleküler temelini anlaması için elde edilen bilgilerde de logaritmik bir artış olmuştur. Bu teknik ile KLL patofizyolojisinde önemli rol oynayabilecek düşünülen yaygın olarak görülen yeni gen varyasyonları belirlenmiştir. KLL ile ilişkisi daha önceden tespit edilen *TP53* ve *ATM*

gibi varyasyonların yanı sıra, KLL ile ili kisi önceden bilinmeyen tekrarlayan somatik varyasyonlarda tespit edilmiştir. Bu somatik de i iklikler, DNA hasarı ve hücre döngüsünün kontrolü [*TP53*, *ATM*, *POT1* (Protection Of Telomeres 1-POT1), *BIRC3*], mRNA i lenmesi [*XPO1* (*Exportin 1-XPO1*), *SF3B1*], NOTCH sinyali (*NOTCH1*), enflamatuvar yollar (*MYD88*) ve kromatin modifikasyonunu [*CHD2* (chromodomain helicase DNA binding protein 2-CHD2)] içeren birçok hücresel yola ın kritik bile enidir (Gruber & Wu, 2015).

KLL de geleneksel sitogenetik yöntemlerin kullanımı, tekrarlayan ve prognostik öneme sahip genetik anomalilerin tespitinde büyük öneme sahiptir (Schweighofer vd., 2013). Kromozom anomalileri önemli prognostik belirteçlerdir. Döhner ve arkadaşlarının yapmış oldu u çalı maya göre KLL olgularında en sık görülen sitogenetik anomaliler; 6, 11, 12, 13, 14 ve 17. kromozomlarda bulunmaktadır (Döhner, 2000). Bu anomalilerin görülme oranı Çizelge 5'te gösterilmektedir.

Çizelge 2.8.1: Kromozomal Anomalilerin Görülme Oranı

Anomali	Görülme oranı (%)
13q14	55
11q22-23	18
Trisomi 12	16
Del (17p)	7
Del (6q)	6
Trisomi 8q	5
Normal Karyotip	18
Trisomi 3q	3
t(14q32)	4

2.8.1. SF3B1 (Splicing Factor 3b Subunit 1)

SF3B1 gen varyasyonu *myelodysplastic syndrome (MDS)*, AML, KML gibi hematolojik malignitelere ve uveal melanoma gibi solid tümörlerde de görülebilir (Alsafadi vd., 2016; Cazzola, Rossi & Malcovati, 2013). *MDS* de *SF3B1* varyasyonları genetik lezyonlar olu turuyor gibi görünmektedir ve lösemik evrim riski dü üktür. *SF3B1* varyasyonları KLL'nin erken evrelerinde daha dü ük bir insidansa sahiptir. ilerlemi hastalıklarda daha yaygındır ve kötü prognozla ili kili olma e ilimi gösterir. Bu da hastalı ın klonal evrimi sırasında ortaya çıktı ını göstermektedir (Cazzola, 2013).

Öncü haberci RNA (precursor messenger RNA - pre-mRNA), proteinler ile ili kili küçük nükleer RNA'lardan (small nuclear RNAs - snRNAs) olu an bir makromolekül olan splisozom (spliceosome) tarafından i lenir. *SF3B1* geni, splisozomun pre-mRNA'ya ba lanması için önemli olan splaysing (splicing – kırılma) faktörü 3b'nin 1. alt birimini kodlar (Cazzola, 2013). *SF3B1*, 2q33.1 bölgesinde bulunur ve 27 ekzondan olu maktadır. Splaysing faktörü 3b, splaysing faktörü 3a ve bir 12S RNA birimi ile birlikte U2 küçük nükleer ribonükleoprotein kompleksini (U2 snRNP) olu turur. U2 snRNP'yi pre-mRNA'ya ba layabilir. Splaysing faktörü 3b aynı zamanda minör U12 tipi splisozom'un da bir bile enidir (SF3B1, 2019). *SF3B1* geninin varyasyona u raması splaysing yola nda bozulmaya neden oldu u için hatalı protein olu umuna yol açabilir.

Hücrede genetik bilgi akı ı DNA, mRNA ve protein ekinde olmaktadır (Briggs, Morgan, Sanderson, Schulting & Wieseman, 2016). Gen ifadesinin anormal düzenlenmesi kanser hücrelerinin bilinen bir özelli idir, bu nedenle genetik bilgi akı ının do ru bir ekinde ilerlemesi gen ifadesinin düzenlenmesi için önemlidir. Genetik bilginin DNA'dan mRNA'ya çevrilmesi için ilk olarak pre-mRNA'dan intronların uzakla tırılması ve sonrasında ekzonların birle tirilmesi gerekmektedir. ntronların pre-mRNA'dan uzakla tırılması ve ekzonların birle tirilmesi RNA splaysing mekanizması ile gerçekleştirilmektedir (Yoshimi & Abdel-Wahab, 2016).

RNA splaysing mekanizması gen ifadesinin düzenlenmesinde kritik bir adımı temsil eder (Yoshimi, 2016). ntronların pre-mRNA'dan çıkarılması, ökaryotik gen ifadesinde önemli bir adımdır (Turunen, Niemela, Verma & Frilander, 2013). ntronlar; 5' splice site (5' SS; intronun 5' ucunda bulunur), 3' SS (3' SS; intronun 3' ucunda

bulunur), dallanma noktası dizisi (branch point sequence – BPS; 3' SS upstream bölgesinde bulunur) ve polipirimidin yolu (polypyrimidine tract; 3' SS ile BPS arasında bulunur) olmak üzere dört ö eyi içerir. ntronların ço unlu u için, 5' SS bir GU dinükleotit ile karakterize edilirken, 3' SS bir AG dinükleotidi içerir (Yoshimi, 2016). Belirli bir bölgede splaysing olasılı ı çekirdek splisozomunun dı ndaki proteinler tarafından etkilenir. Örne in, serin/arginin (SR) protein ailesinin üyeleri genellikle, ekzonik ve intronik splaysing arttırıcıları olarak adlandırılan pre-mRNA'daki spesifik dizileri tanıyarak, splaysing i lemini destekler (Yoshimi, 2016).

Splaysing, RNA'dan intronların çıkarılıp ekzonların birleştirilmesi'dir. mRNA splaysing çekirde in içinde bulunan splisozom olarak bilinen enzimatik bir kompleks ile gerçekleştirilir (Yoshimi, 2016; Uçbirle tirme, 2019). Splisozom'un intronları tanıması ve ekzonlardan ayırt etmesi kritik bir öneme sahiptir (Yoshimi, 2016). U2 tip introna ba lı splisozom (majör-esas splisozom) ve U12 tip introna ba lı splisozom (minör-ikincil splisozom) olmak üzere iki tip splisozom kompleksi vardır. U12 tipi intronlar, U2 tipi intronlardan farklı küçük bir intron alt grubudur. U12 tipi intronlar ço u ökaryotta bulunur, ancak sadece belirli bir genomdaki tüm intronların %0.5'inden daha azını oluşturlar. U12 tipi intronlar, majör intronlardan biraz daha az etkin bir şekilde kırılır, bu nedenle bu tür intronları ihtiva eden genlerin ekspresyonunu sınırlandırdığına inanılır (Turunen, 2013). Majör splisozom kompleksleri 5' ucunda GU ile 3' ucunda AG dinükleotid'lerinin bulunduğu intronların kırılmasından sorumludur (Uçbirle tirme, 2019). Majör splisozom be tane U2 tipi snRNP (U1, U2, U4, U5 ve U6) ve bunlara ek olarak non-snRNP'lerden oluşur (Turunen, 2013). Splaysing i leminin %99'undan fazlası majör splisozom kompleksi tarafından gerçekleştirilmekte olup bu işlem "Standart splaysing (Canonical splicing)" ya da "kement yolu (Lariat pathway)" olarak adlandırılmaktadır. Minör splisozom majör splisozoma çok benzer, ancak kırılma dizileri farklı olan ender intronları çıkarır (Uçbirle tirme, 2019). Minör splisozom kompleksi U11, U12, U4atac ve U6atac gibi dört tane spesifik snRNP'lerden oluşmaktadır. U5 snRNP her iki splisozomda da bulunmaktadır (Turunen, 2013).

Splisozomal splaysing mekanizması; sırasıyla snRNP'lerin belirli bir sıraya göre bir araya gelmesi ve ayrılmalarıyla gerçekleştirilmektedir. RNA splicing i leminin gerçekleştirilmesi için splisozom kompleksinin oluşması gerekmektedir. Splisozom

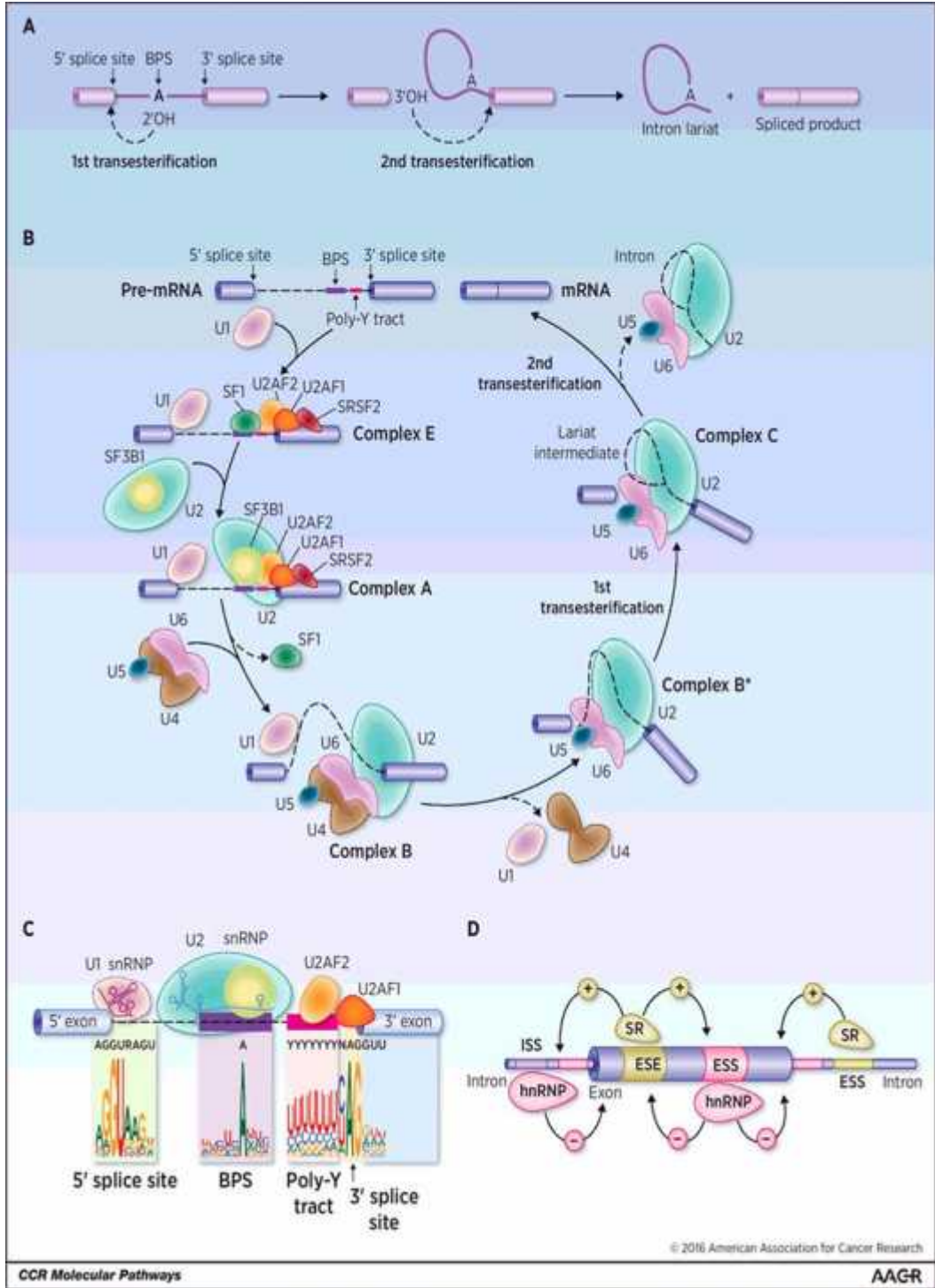
kompleksi intronlarda bulunan 5' SS, 3' SS, BPS ve polipirimidin yolunu içeren dört element sayesinde intronları ekzonlardan ayırt eder (Yoshimi, 2016). Splisozomal splaysing iki amaçlı biyokimyasal bir süreçtir. Splaysing, ardı ardına iki transesterifikasyon aşamasından oluşur. Splisozomal splaysing snRNP'lerin belirli bir sıraya göre bir araya gelmesi ve birbirinden ayrılmaları ile gerçekleşir (Yoshimi, 2016; Uçbirle tirme, 2019).

Splaysing mekanizması şu şekilde gerçekleşmektedir:

1. U1 snRNP; 5' ucunu ve BPS'yi tanıyan diziler içerir. Bu nedenle ilk olarak U1 snRNP intronun 5' ucuna bağlanır.
2. Ardından SF3B1 U2 snRNP'ye bağlanır, U2 snRNP'nin BPS'ye bağlanmasını sağlar. U1 ve U2 snRNP'ler kompleks üzerinde ilk olarak bir araya gelen snRNP'lerdir.
3. Her ne kadar U4 ve U6 snRNP'lerin seviyeleri bilinmese de ikisi bir araya gelerek çok kararlı bir kompleks oluşturur. Daha sonra bu kompleks U5 snRNP ile etkileşerek tek bir kompleks halinde 5' ucu ile BPS arasına bağlanarak bir köprü oluşturur. U5 snRNP intronun iki yanında da bulunan ekzonların uçlarını birleştirir.
4. U4 snRNP fonksiyonel splisozomda bulunmadığı için, U1 snRNP ile birlikte splice olumadan serbest bırakılırlar.
5. Daha sonra BPS'de bulunan adenozinin 2'OH grubu intronun 5' ucunu keser.
6. Diğer tarafta intronun yukarı tarafında bulunan ekzonun 3' ucunda bulunan 3'OH grubu intronun diğer ucunu keser.
7. Böylece kement şeklini alan intronik yapı çıkarılır, ekzonlar birleştirilir.

Bu işlemler sonucunda çıkarılan kement yapıdaki intronlar yıkıma uğrar, oluşan olgun mRNA transkripsiyon işlemi için hazır hale gelmiş olur (Björn, Soltyk, Beggs & Friesen, 1989; Yoshimi, 2016; Uçbirle tirme, 2019). Splisozomal splaysing

mekanizması Şekil 4'te gösterilmektedir. SnRNP'lerin RNA'ya bağlanması tümleyici nükleotit dizileri arasında baz eşlemleriyle gerçekleşir. Örneğin, snRNA U1, intronun 5' tarafındaki ekzon-intron eklemesinde bulunan konsensus dizisini tümleyici bir diziye sahiptir, bunun sayesinde RNA'nın o bölgesine bağlanabilir. Ayrıca farklı snRNA'ların birbirlerine bağlanmalarını sağlayan RNA-RNA birleşme yerleri de mevcuttur (Uçbirle tırme, 2019).



ekil 2.8.1.1: Splysing Mekanizması; Splysing katalizi, splisozom montaj yolu ve Ba lantı yeri (Splice Site) seçim mekanizmaları (Yoshimi, 2016). A) Splysing esnasında intron uzakla tırılmasında önemli olan katalitik adımları temsil eden iki ardı lk transesterifikasyon reaksiyonunun eması. BPS'nin bir adenin nükleotidi ("de i mez adenin" olarak adlandırılır), ilk transesterifikasyonu a amasını ba latır ve bir

serbest 5' ekzonu ve bir intron-3' ekzon kement olu turur. 3' ucunun sonundaki hidroksil ekzonun serbest 5' ucuna daha sonra intron-3' ekzon birle imine saldırır, splays tamamlanır ve bir kement RNA intronu salınır. **B)** Pre-mRNA splaysing, birkaç farklı splisozomal kompleks içeren dinamik bir süreçtir. En erken E kompleksi i) U1 snRNP'nin 5' SS ucuna, ii) splaysing faktör 1'in (SF1) BPS'ye, iii) U2AF2'nin (U2AF65 olarak da bilinir) polipirimidin yoluna ve iv) U2AF1'in (U2AF35 olarak da bilinir) 3' SS ucuna bağlanmasıyla oluşur. E kompleksinin oluşumu, U2 snRNP'nin BPS'ye alınmasını artırır ve A kompleksinin oluşumuna yol açar. U2 snRNP'nin bir bileşeni olan SF3B1, BPS'ye bağlanmaya dahil edilir. Önceden birleşimi U4 / U6.U5 tri-snRNP komplekse katılır, ve U1 / U4 snRNP'leri katalitik olarak aktif B kompleksini (B kompleksi) oluşturmak üzere serbest bırakılır, ardından daha fazla konformasyonel yeniden düzenlemeler tarafından C kompleksinin oluşumu ile sonuçlanır. B ve C kompleksleri, sırasıyla birinci ve ikinci esterifikasyon reaksiyonlarını katalize eder ve intronun eksizyonuna ve olgun mRNA'yı sentezlemek için proksimal ve distal eksonun ligasyonuna aracılık eder. **C)** A Kompleks E üzerinde odaklanma, U1 ve U2 snRNP'lerin yanı sıra U2AF kompleksi tarafından tanınan konsensus dizisi unsurlarını vurgulamaktadır. Bir intron (i) 5' SS, (ii) 3' SS, (iii) BPS ve (iv) polypyrimidine (Poly-Y) yolu ile tanımlanır. Bir intronun tanımı, sırasıyla U1 ve U2 snRNP'leri tarafından 5' SS ve BPS'nin tanınmasına bağlıdır. Gösterilen DNA üzerinde kodlanmayan dizileri, intronların >% 95'ini içeren (burada gösterilenlerden farklı olarak DNA üzerinde kodlanmayan dizileri tanıyan minör U12'ye bağlı spliceozomun aksine) majör U2'ye bağlı spliceozom tarafından tanınanlardır. **D)** Çekirdek splisozom ve U2AF kompleksi tarafından tanımlanan mRNA'daki dizilere ek olarak, aksesuar splaysing düzenleyici proteinler, *splice site* kullanımını desteklemek veya bastırmak için gereklidir. Serin / Arginin (SR) ailesinin üyeleri olan proteinler, pre-mRNA'da ekzonik ve intronik splaysing arttırıcılar (ESE ve ISE) olarak adlandırılan spesifik sekansları tanıyarak alternatif splaysing modelini kontrol eder. SR proteinleri, genellikle, ESE ve ISE ile etkileşime girerek, yakındaki splays yerlerinden splaysing arttırıcıları olarak hareket ederlerken, heterojen nükleer ribonükleoproteinler (hnRNP) ekzonik ve intronik splaysing susturucuları (ESS ve ISS) ile etkileşime girerek splaysingi bastırır.

Son zamanlarda yapılan tüm genom dizilimi ve tüm ekzon dizilimi çalışmalarıyla KLL olgularında yüksek sıklıkta tekrarlayan somatik varyasyonlar saptanmıştır. Bu çalışmaların sonucu en sık varyasyona uğradığı belirlenen genlerden biride *SF3B1* genidir. SF3B1 proteini, splisozom makinesinin bir parçasıdır ve RNA splicingde önemli bir etkiye sahiptir. *SF3B1* geni KLL de sürücü genlere aday olarak gösterilmektedir. Saptanan varyasyonların büyük çoğunluğu 22 Huntington Uzama Faktörü 3 PR65/A TOR (Huntington Elongation Factor 3 PR65/A TOR - HEAT) tekrarlarını içeren yüksek ölçüde korunmuş C terminal alanında bulunmaktadır. *SF3B1* de 14. ile 16. ekzonlar arasındaki HEAT tekrarları arasında K700E (%50) en sık varyasyon geçiren bölgedir (Wan, 2013). Bu nokta aynı zamanda KLL de de en sık varyasyon geçiren bölgedir ve bu tezin çalışması konusudur.

Batı ülkelerinde yeni tanı konulan KLL hastalarının yaklaşık %5-18'inde *SF3B1* varyasyonu saptanmıştır. Wang ve arkadaşlarının (Wang vd., 2011) ve Jeromin ile arkadaşlarının (Jeromin vd., 2014) yaptığı çalışmada *SF3B1* varyasyonunun KLL de kötü bir prognozla ilişkili olduğu belirtilirken, Xia ve arkadaşlarının KLL hastaları ile yaptığı çalışmada SF3B1 varyasyonunun sınırlı bir etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Xia vd., 2014). Dünya Sağlık Örgütü tarafından *SF3B1* gen varyasyonunun olumsuz prognostik sonuçları olsa da güncel bir genetik risk profiline entegre edilebilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerektiği belirtilmektedir (Arber vd., 2016).

2.8.2. MYD88 (Myeloid Differentiation Primary Response 88)

MYD88 geni; üçüncü kromozomun kısa kolu üzerinde 22. pozisyonda (3p22.2) bulunmaktadır. Bu gen, doğuştan gelen ve kazanılmış immün yanıtta merkezi bir rol oynayan bir sitosolik adaptör proteinini kodlar (Amaya-Chanaga & Rassenti, 2016). Bu protein, interleükin-1 (IL-R1) ve TLR (Toll-benzeri reseptör/Toll-like receptor/TLR) sinyal yollarında önemli bir sinyal dönütürücü olarak görev görür (Amaya-Chanaga, 2016). TLR sinyal iletim yolları ekil 5'te gösterilmektedir. TLR3 haricinde tüm TLR'ler

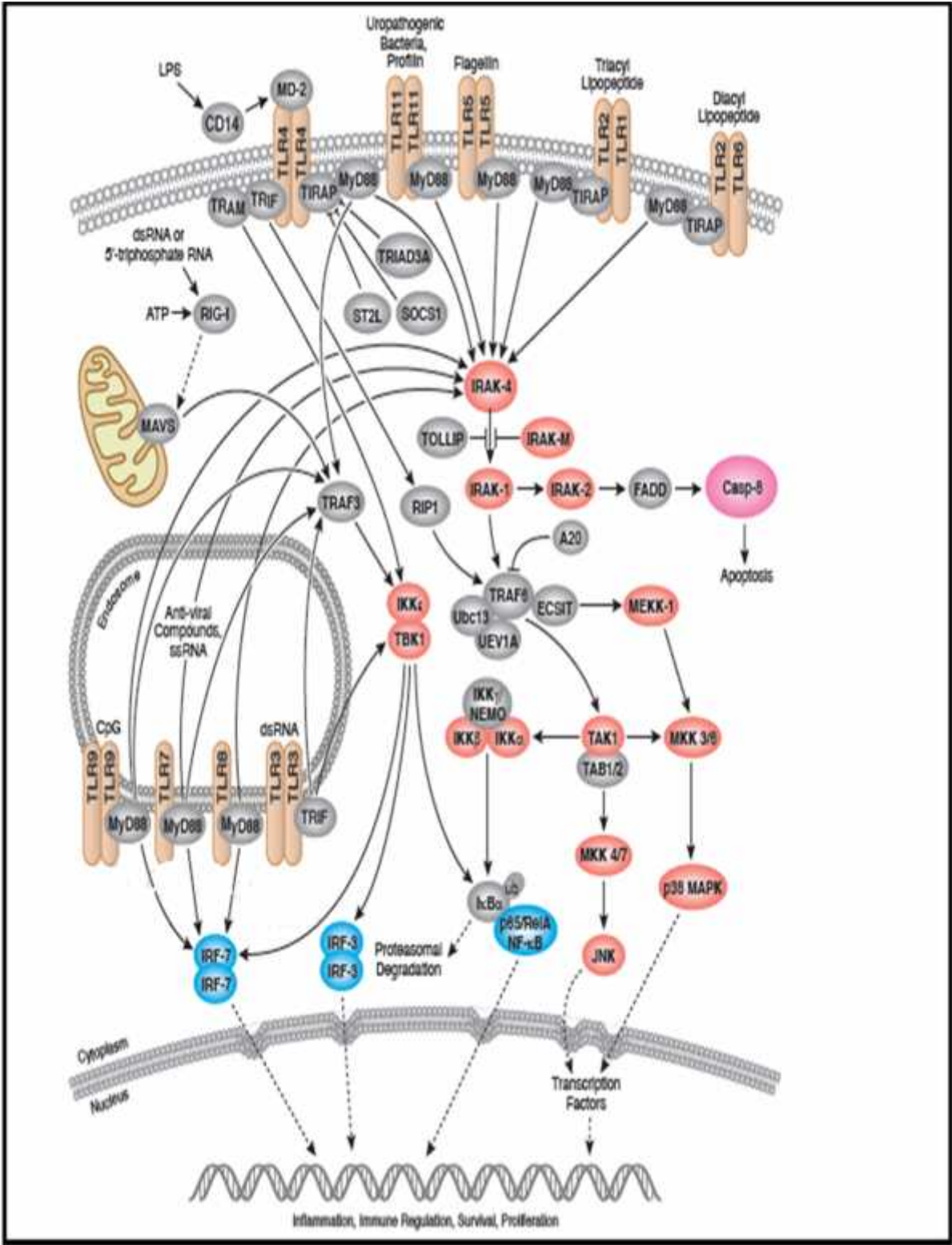
ve IL-1R'ler, *MYD88* adaptör molekülüne ba lı olan ortak bir sinyal yolunu payla ırlar (Drexler, Kong, Wales & Foxwell, 2008).

MYD88 geni, N-terminal ölüm alanı (N-terminal death domain), bir ba layıcı bölge ve sinyalleme aktivasyonu üzerine TLR'ler (Toll-benzeri reseptör/Toll-like receptors/TLRs) ile temasa geçebilen bir C-terminal Toll-interlökin1 reseptörü (Toll-interleukin1 receptor-TIR) alanından olu an bir sitozolik adaptör proteinini kodlar (Rossi, Ciardullo, Spina & Gaidano, 2013).

MYD88, asıl olarak miyeloid farklılaşma sırasında olu an bir proteindir. Ancak IL-1R'lere ve ço u TLR'lere karboksil terminal TIR (Toll-interleukin1 receptor-TIR) alanı aracılı ıyla dahil edilir. Ayrıca *MYD88* içerdiği amino terminal ölüm alanı ile reseptör kompleksine IL-1R ile ili kili kinaz (IL-1R associated kinase-IRAK) -1, IRAK4 ve TNF (tumour necrosis factor) reseptörü ile ili kili faktör (TNF receptor associated factor -TRAF) 6'yı içeren a a ı yönlü (down stream) sinyal aracılarının alınmasından sorumludur. Bu mitojen aktive edici protein kinazların (mitogen activated protein kinases-MAPKs) yanı sıra NF B'nin aktivasyonuna ve TNF gibi inflamatuvar aracılarnın transkripsiyonuna ve AU açısından zengin 3' ucunun translasyona u ramayan bölgesinde protein mRNA'lar aracılı ıyla inflamatuvar yanıtın stabilizasyonuna yol açar (Drexler, 2008).

MYD88 geninde L265P varyasyonu, Waldenström Makroglobulinemisi (WM) (Poulain vd., 2012), Lenfoplazmositik Lenfoma (LPL), marjinal zon lenfoma (MZL) gibi (Beltran, Gale, Wilson, Foucar & Czuchlewski, 2015) B hücreli tümörlerde bulunmakla birlikte KLL de en yaygın varyasyon olup yaklaşık olarak %3 gibi düşük bir sıklıkta görülmektedir. *MYD88* L265P missense varyasyonu, B hücrelerinde TIR alanının evrimsel olarak korunan B-B döngüsünü ve NF B sinyalinin kurucu aktivasyonu tarafından hücre sağ kalımını artırır (Rossi, 2013).

MYD88 varyasyonu, sitogenetik anomali olan 13q14, varyasyon geçirmiş IGHV geni (Rossi, 2013), düşük ZAP-70 ve CD38 ekspresyonu seviyeleri ve normal -2 M seviyeleri ile ili kilidir (Amaya-Chanaga, 2016). Klinik evrelerinden ba ımsız olarak daha genç hastalarda (medyan ya 147 yıl) daha sık görülür (Amaya-Chanaga, 2016).



ekil 2.8.2.1: TLR Sinyal Yola 1 (Toll-like Receptors (TLRs) Interactive Pathway, 2019).

2.9. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time-Polymerase Chain Reaction – RT-PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR); *in vitro* ortamda DNA dizilerinin çoğaltılmasıdır. PCR tekniği, basit, hassas ve spesifik bir tekniktir (Mullis, 1990; Saiki vd., 1988). PCR tekniği temelde; DNA zincirlerinin açılması (denaturation-denatürasyon), primerlerin bağlanması (Annealing) ve primerlerin uzaması (Primer Extension) olmak üzere üç aşamadan oluşur (Mullis, 1990; Saiki vd., 1988). PCR, genomik dizilerin yüksek verimli bir şekilde klonlanması, mitokondriyal ve genomik DNA'ların doğrudan dizilenmesi ve viral patojenlerin saptanması için nükleotit dizisi varyasyonlarının ve kromozomal yeniden düzenlemelerin incelenmesinde kullanılmaktadır (Saiki vd., 1988).

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time-Polymerase Chain Reaction/RT-PCR) 1980'lerde Kary Mullis tarafından geliştirilmiş bir tekniktir (Valasek & Repa, 2005). RT - PCR metodu ilk kez Roche Moleküler sistemleri ve Chirona tarafından olarak çalışan Higuchi ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Valasek, 2005). Patojen saptama, gen ekspresyon analizi, SNP analizi, kromozom anormalliklerinin analizi ve son zamanlarda da gerçek zamanlı immün PCR ile protein tespiti RT-PCR'ın tipik kullanımları arasında yer alır (Kubista vd., 2006). RT-PCR, PCR tabanlı bir tekniktir (Jensen, 2012). Reaksiyon ilerledikçe "gerçek zaman" da çoğaltılan ürünün tespit edilmesi bu teknik için anahtar özelliktir (Jensen, 2012). Higuchi ilk çalışmasında etidyum bromür (EtBr) kullanmıştır (Higuchi, Dollinger, Walsh & Griffith, 1992). PCR'de etidyum bromür (EtBr) olarak adlandırılan ortak bir floresan boya dahil edilerek, EtBr'nin floresansına neden olan ultraviyole ışık altında reaksiyonu yürütürken bir video kamera ile DNA'nın birikimi görüntülenebilir ve kaydedilebilir (Jensen, 2012). RT-PCR de EtBr ve Syber green I gibi DNA bağımlı problemlerin yanı sıra hidroliz problemleri (5'-nükleaz problemleri), hibridizasyon problemleri ve "molecular beacon" gibi çeşitli floresan işaretli problemler kullanılmaktadır. Her prob türünün kendine özgü özellikleri vardır, ancak her birinin stratejisi basittir. DNA'nın amplifikasyonu için floresandaki bir de i ikli i bağımlıdır (Valasek, 2005).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Sağlıklı Kontrol Çalışma Grupları

Kronik Lenfositik Lösemi hastalarında *SF3B1* ve *MYD88* gen varyasyonlarının araştırılması için planlanan çalışmamızın uygulaması için Trakya Üniversitesi Yerel Etik Kurulundan onay alındı (Ek 1de). Çalışmaya 2000–2017 yıllarında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı Polikliniğinde tanı koyulan, takibi yapılan, Trakya Bölgesinde ikamet eden ve çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul eden 28 erkek ve 30 kadın olmak üzere 58 hasta dahil edildi. Sağlıklı kontrol grubu için çalışmaya Trakya bölgesinde ikamet eden, 55 yaş ve üzeri olan, çalışmamıza gönüllü katılmayı kabul eden, herhangi bir hastalığı bulunmayan 50 kadın ve 50 erkek olmak üzere 100 sağlıklı birey dahil edildi. Tüm hasta ve sağlıklı kontrol grubu bireyleri çalışma hakkında bilgilendirildikten sonra onam formları imzalatılarak çalışmada kullanılmak üzere periferik kan örnekleri mor kapaklı EDTA'lı tüplere alındı. Çalışma finansal bakımdan, TÜBAP (Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi) tarafından 2016-289 numaralı proje çalışması kapsamında desteklendi.

3.2. DNA izolasyonu

Hasta ve sağlıklı kontrol grubundaki her bir bireyden 2 ml olacak şekilde, EDTA'lı mor kapaklı 1 tüp periferik kan örneği alındı. DNA izolasyonu bu periferik kan örneklerinde EZ1 DNA Blood 200 µl Kit izolasyon kitleri (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak, EZ1 Advanced XL (Qiagen, Hilden, Almanya) nükleik asit izolasyonu cihazında, son DNA hacmi 100 µl olacak şekilde yapıldı. DNA örneklerinin konsantrasyon (20-60 ng/µl) ve saflık değerleri (1.8-2.0 ng) NanoDrop cihazında ölçüldü [Nanodrop 2000C, Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri]. Konsantrasyon ve saflık kontrolünden geçen DNA'lar bir sonraki deneysel amaçlarda çalışılmak üzere -20°C de saklandı.

3.3. Real Time-PCR Yöntemi

Hasta ve kontrol gruplarından alınan periferik kandan DNA izolasyonları tamamlandıktan sonra, Custom TaqMan® SNP Genotyping Assay kiti kullanılarak, RT-PCR işlemiyle *SF3B1* geni p.K700E ve *MYD88* geni p.L265P SNP'lerinin (Single Nucleotide Polymorphism) allelik tanımlamaları yapıldı. *SF3B1* geni p.K700E (rs559063155) ve *MYD88* geni p.L265P (rs387907272) bölgelerindeki varyasyonları saptamak için özgün primerler Thermo Fisher firmasına sentezletildi. Hasta ve sağlıklı kontrol grupları için reaksiyon hacimleri üretici firmanın önerdiği protokole göre belirlendi. Çalışma 7500 Fast Real-Time PCR System cihazında yapıldı.

Real – Time PCR metodu;

1. Dondurulmuş Custom TaqMan® assays + 4 °C de çözündürüldü, sonra kısa bir süre vortekslendi. Ardından kısa bir süre santrifüj edildi. Böylece tüpün içindeki prob

- sıvısının tüpün alt kısmında kalması ve varsa hava kabarcıklarının yok edilmesi sağlandı.
2. PCR için belirtilen reaksiyon hacmi a a ıdaki a ve b maddeleri dikkate alınarak uygulandı.
 - a. Öncelikle tek bir örnek için gerekli karı ımın hacmi belirlendi,
 - b. Daha sonra örnek ba ına belirlenen karı ım hacmi ile deney için planlanan örnek sayısı çarpılarak reaksiyon için gerekli toplam hacim belirlendi. Çizelge 6'da verilen ablon kullanıldı.
 3. Çalı mada bir reaksiyon için gerekli olan hacim 10 µL olarak belirlendi.
 - a. Her iki gen içinde; hasta ve kontrol gruplarının sayısının toplamından 10 reaksiyon hacmi fazla olacak ekilde total sayı saptandı.
 - b. Genomik DNA miktarı haricinde bir reaksiyon için gerekli olan karı ım hacmi total sayı ile çarpılıp, toplam karı ım hacminin miktarı belirlendi.
 4. İlk olarak *SF3B1* geni için genomik DNA haricindeki belirledi imiz reaksiyon hacmi için floresan ı ık olmadan güvenlik kabini içerisinde “TaqMan® Universal Master Mix II, TaqMan® genotyping assay Mix (40×) ve DNase-free water” belirlenen miktarlarda bir eppendorf tüpü içerisine eklenerek karı ım hazırlandı. Daha sonra karı ım kullanılacağı zamana kadar eppendorf tüpler alüminyum folyo ile kaplandı ve +4°C de bekletildi.
 5. Daha sonra bu i lem *MYD88* geni için aynı ekilde uygulandı.
 6. PCR için 96 kuyulu plaklar kullanıldı. Hasta ve sağlıklı kontrol grubu birey sayısı dikkate alınarak her iki gen içinde gerekli olan plak sayısı belirlendi.
 7. İlk olarak *SF3B1* geni için hazırladı ımız karı ımdan plaklardaki her bir kuyuya 9 µL karı ım eklendi.
 8. Sonrasında plaklardaki kuyulara önceden belirledi imiz plana göre genomik DNA örnekleri eklendi ve plakların üzeri AB Applied Biosystems MicroAmp™ Optical Adhesive film ile kapatıldı ardından bir süre özel plak adaptörü üzerinde santrifüj edildi, böylece kuyulardaki karı ımın a a ıda toplanması sağlandı ve e er varsa hava kabarcıkları yok edildi.
 9. *MYD88* geni için hazırladı ımız karı ımdan plaklardaki her bir kuyuya 9 µL karı ım eklendi.

10. Daha sonra plaklardaki kuyulara önceden belirledi imiz plana göre genomik DNA örnekleri eklendi ve plakların üzeri AB Applied Biosystems MicroAmp™ Optical Adhesive film ile kapatıldı ardından bir süre özel plak adaptörü üzerinde santrifüj edildi, böylece kuyulardaki karışımın a a ıda toplanması sa landı ve e er varsa hava kabarcıkları yok edildi.
11. Her iki gen içinde hazırlanan plaklar sırasıyla 7500 Fast Real-Time PCR System cihazına yerleştirildi ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu Çizelge 7 de belirtilen sıcaklık ko ullarında gerçekleştirildi.
12. PCR amplifikasyonu tamamlandıktan sonra elde edilen veriler 7500 Fast Real-Time PCR System cihazının yazılımında de erlendirilmesi yapıldı.

Çizelge 3.3.1. Real-Time PCR Bile enlerinin Hacmi

PCR reaksiyon karışımı bile eni	Reaksiyon ba nına hacim (µL) 20-µL	Son reaksiyon hacmi (µL) 10- 1
“TaqMan® Universal Master Mix II”	10	5
“TaqMan® genotyping assay Mix(40X)”	0.5	0.25
cDNA/ DNA	1	1
“DNase- free water”	8.5	3.75

Çizelge 3.3.2. Real-Time PCR Sıcaklık Ko ulları

Enzim Aktivasyonu	1 x Döngü	60°C’de 1 dk
İlk Denatürasyon	1 x Döngü	95°C’de 10 dk
Denatürasyon	40 x Döngü	92°C’de 15 sn
Uzama		60°C’de 1 dk
Veri Toplama	1 x Döngü	60oC’de 1 dk

3.4. istatistiksel Analiz

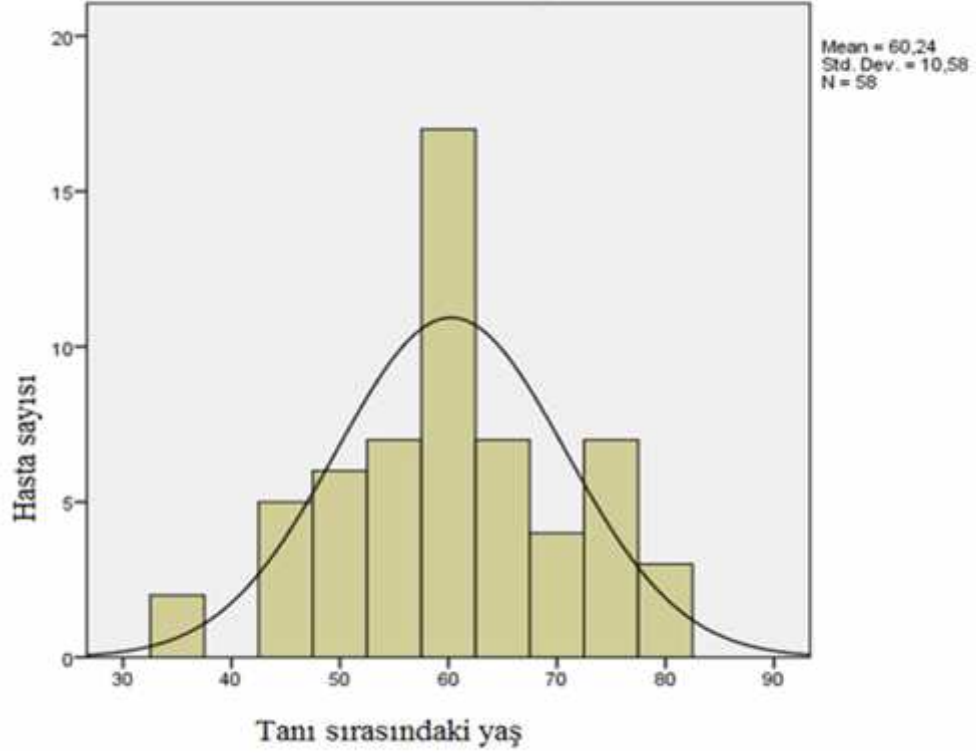
Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 24.0 (Statistical Package Social Science) programında bilgisayar ortamında yapıldı. Kategorik değişkenlerin (*SF3B1*, *MYD88*) analizi için Ki kare (Chi-Square) testi yapıldı.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

Çalışmaya 2000–2017 yıllarında tanı koyulan ve takibi yapılan 58 hasta ile gönüllü olarak 100 sağlıklı erişkin birey alındı. Çalışmamıza gönüllü katılan KLL hastalarının ortalama yaşı 64 (35-81) ve sağlıklı kontrol grubu bireylerinin ortalama yaşı 63 (55-82) olarak bulundu. KLL hastalarının tanı sırasındaki yaş ortalaması 60 (35-81) olarak bulundu. (Şekil 6’da KLL hastalarının tanı sırasındaki yaşları histogram grafiği ile gösterilmektedir). Çalışmamızdaki KLL hastaları ile sağlıklı kontrol grubundaki bireylerin cinsiyete göre dağılımı Çizelge 8’de gösterilmektedir.

Çalışmamızdaki KLL hastalarının hastalık evresi Hematoloji Bilim Dalı polikliniği tarafından Rai evreleme sistemine göre yapılmıştır. KLL hastalarının Rai evreleme sistemine göre sıklığı Çizelge 9’da gösterilmektedir. Modifiye Rai evreleme sistemine göre; evre 0 olan 8 hasta (%13,8) düşük risk grubunda, evre I ve II olan 37 hasta (%63,8) orta risk grubunda, evre III ve IV olan 13 hasta (%22,4) yüksek risk grubundaydı. KLL hastalarının Rai evreleme sistemine göre yüzde dağılımı Şekil 7’de gösterilmektedir.



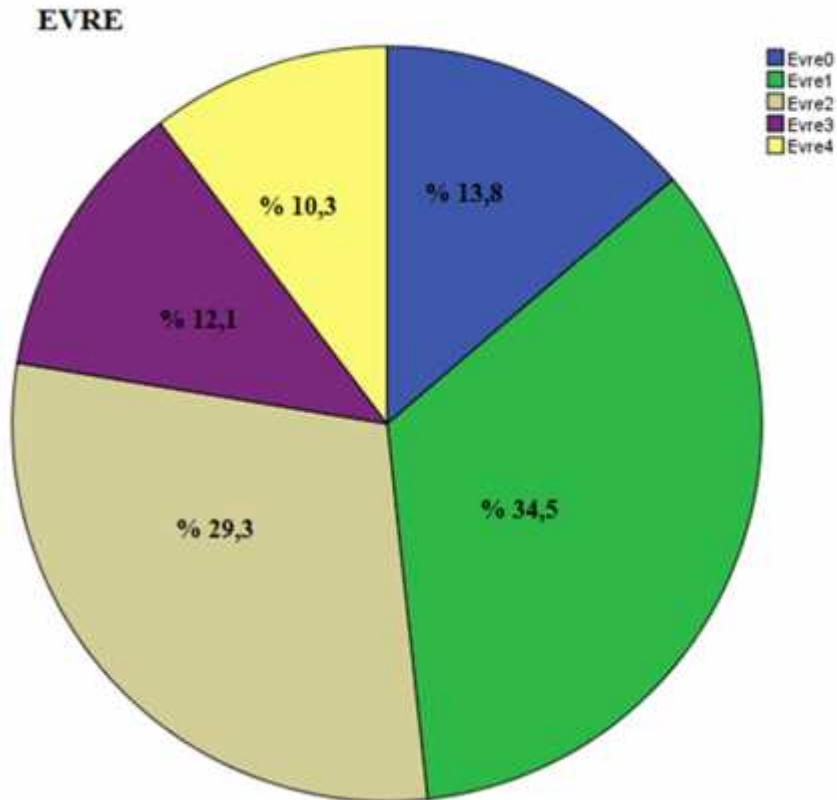
ekil 4.1. KLL hastalarının tanı sırasındaki yaş larının histogram grafi i

Çizelge 4.1. KLL hastaları ve Sa lıklı kontrol grubu bireylerinin cinsiyete göre da ılımı

	Cinsiyet	Sayı	%
Hasta	Kadın	28	48,3
	Erkek	30	51,7
Sa lıklı Kontrol grubu	Kadın	50	50
	Erkek	50	50

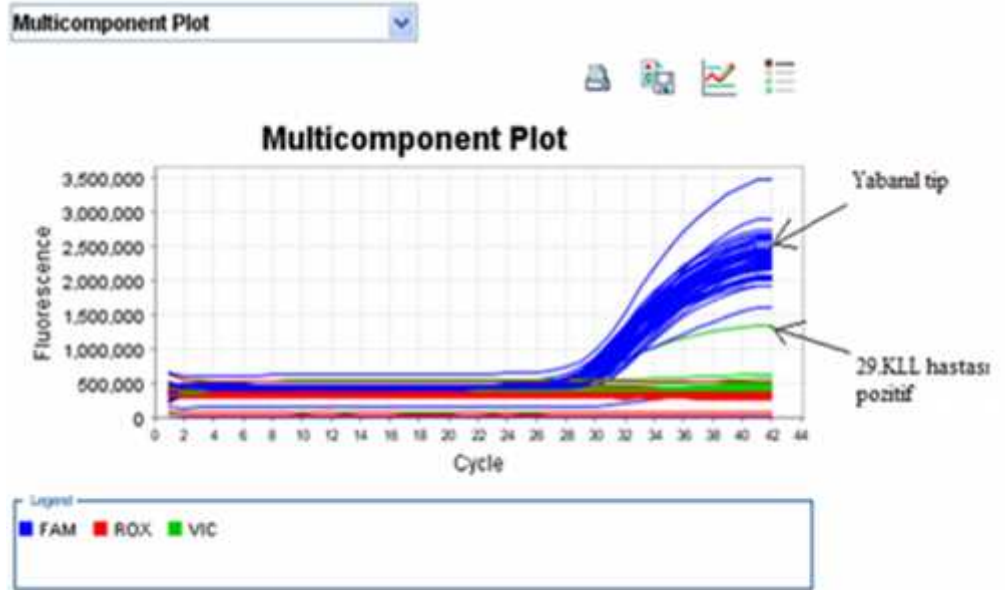
Çizelge 4.2. KLL hastalarının Rai evreleme sistemine göre sıklı 1

Evre	N	%
Evre 0	8	13,8
Evre I	20	34,5
Evre II	17	29,3
Evre III	7	12,1
Evre IV	6	10,3
Toplam	58	100



ekil 4.2. KLL hastalarının Rai evreleme sistemine göre yüzde da ılımı

Çalı maya alınan 58 KLL'li hasta ile 100 sa lıklı kontrol grubu bireyleri arasında *SF3B1* ve *MYD88* genlerinin SNP genotiplendirme analizleri yapıldı. Çalı mamızda *SF3B1* geni p.K700E varyasyonuna bakıldı. *SF3B1* geni 58 hastanın 57'sinde yabancı-Wild tip (normal) olarak tespit edildi. KLL hastalarının sadece birinde *SF3B1* geninde 700. pozisyonda adenin (A) bazının guanin (G) bazına de i ti i belirlendi. Bu de i iklik 15. ekzona denk gelmekte ve lizin (K) amino asidinden glutamat (E) amino asidine dönü mesine neden olan bir varyasyondur. Daha önce KLL hastalarıyla yapılan farklı çalı malarda da tespit edilmi tir. Tek nükleotid polimorfizmi (SNP) olarak de erlendirildi. *SF3B1* geninin sa lıklı kontrol grubu bireylerinin tamamında yabancı tip oldu u belirlendi. Çalı ma sonucunda KLL hastalarında *SF3B1* geni için elde edilen pozitif varyasyon durumu ekil 8'de gösterilmektedir.



ekil 4.3. *SF3B1* geni varyasyon analizi sonucu. Çalı mada yabancı tip olan adenin (A) bazı FAM olarak i aretlendi ve mavi renkte boyandı. Adenin bazının de i ti i guanin (G) bazı V C olarak i aretlendi ve ye il renk olarak boyandı ve pozitif varyasyon durumunu göstermektedir.

Çalı mamızda KLL hastaları ve sa lıklı kontrol grubu bireyleri için *MYD88* geni p.L265P SNP analizi yapıldı. Çalı maya alınan 58 hasta ve sa lıklı kontrol grubu bireylerinde *MYD88* geni için yapılan SNP tanımlama analizi sonucunda tüm hasta ve sa lıklı bireylerin yabancı tip (normal) allele sahip oldu u tespit edildi. KLL hastaları ve sa lıklı kontrol grubu bireylerinin *SF3B1* ve *MYD88* genlerinin SNP analiz sonucuna göre genotiplendirmesi Çizelge 10'da gösterilmektedir.

Çizelge 4.3. *SF3B1* ve *MYD88* genlerinin genotiplendirmesi

Gen	Allel tipi	Genotipi	Hasta (58)	Sa lıklı Kontrol grubu (100)
SF3B1 (p.K700E)	Yabancı tip	AAA	57	100
	Varyasyonlu	G AA	1	0
MYD88 (p.L265P)	Yabancı tip	CTG	58	100
	Varyasyonlu	CC G	0	0

BÖLÜM 5

TARTI MA

B hücreli KLL hastalığı Batı ülkelerinde ve 50 ya üzerindeki bireylerde en sık görülen lösemi tipidir. Hastalık, olgun görünümlü monoklonal B hücrelerinin periferik kan, kemik ili i ve lenfoid organlarda birikimi ile karakterizedir (Vicente, Diaz & Rivas, 2013). Aynı zamanda KLL hastalığı B-KLL hücrelerinin a ırı miktarda ço almasından de il de G0/G1 evresindeki apoptoz mekanizmasının durması sonucu hücrelerin birikimiyle karakterize edilmektedir (Kitada vd., 1998). Klinik heterojenlik, KLL'nin belirleyici özelli i olup, bazı hastalar tedaviye ihtiyaç duymadan on yıllarca hayatta kalırken, di erleri ise tedavi edilmedi i takdirde erken ilerleme ve kısa bir genel sa kalım gösterirler (Bagacean vd., 2017). KLL'nin klinik seyri geni çapta de i ti inden, sa kalım durumunu tahmin etmek için hastaları farklı risk gruplarına ayırmayı sa layan evreleme sistemleri geli tirilmi tir. Evrelemede yaygın olarak Rai ve Binet evreleme sistemleri kullanılmaktadır. Her iki sistem klinik muayene ve standart laboratuvar testleri ile elde edilen parametrelerden olu ur ve bu nedenle elde edilmesi kolaydır (Clanahan & Dreger, 2011).

KLL'nin etiyolojisi hala bilinmemektedir. KLL hastalığı nın etiyolojisi için yapılan ara tırmalarda kimyasallara ve radyasyona maruz kalma, çevresel faktörlerin KLL ile ili kisi tam olarak belirlenememi tir (Blair, 2007). Do u kökenli bireylerde dü ük KLL sıklığı ve aile üyelerinde di er olgun B hücreli neoplazilerden daha yüksek

insidansa sahip olması (%5-10) genetik faktörün önemini yansıtmaktadır (Rodrigues vd., 2016). KLL hastalığının prognozu için klinik evreleme, ZAP-70 ekspresyonu, CD38 ekspresyonu, *IGHV* ve *TP53* genlerinin varyasyon durumu ve sitogenetik anomaliler önem arz etmektedir (Montserrat, 2006). Son yıllarda NGS tekniğinin gelişiyle yapılan çalışmalarda *SF3B1* ve *MYD88* genleri KLL'de en sık tekrar eden somatik varyasyonlar arasında gösterilmektedir (Guieze vd., 2015).

2011 yılında 91 KLL hastasıyla yapılan bir çalışmada *SF3B1* ve *MYD88* genlerinin yüksek sıklıkta varyasyon geçirdiği, tüm *SF3B1* varyasyonlarının del (11q) olan hastalarda, tüm *MYD88* varyasyonlarının ise del (13q) ve varyasyon geçirmeyen *IGHV* geninin olduğu hastalarda gördüklerini belirtmişlerdir. Aynı zamanda *SF3B1* geninde varyasyon olan tümör örneklerinde pre-mRNA splicing mekanizmasında değişiklikler olduğu ve kötü prognozla ilişkilendirilen hastalarda görülmüştür (Wang vd., 2011). Jeromin ve arkadaşlarının, tedavi başarısızlığı olan 1160 KLL hastasıyla yaptıkları çalışmada *SF3B1* K700E varyasyonu ile *MYD88* L265P varyasyonunun KLL hastalarında yüksek sıklıkta görüldüğü belirtilmektedir. *SF3B1* varyasyonu, *IGHV* varyasyonu olmayan ve del (11q) olan olgular ile güçlü bir birliktelik içindedir. *MYD88* varyasyonunun ise *IGHV* varyasyonu ve del (13q) olan olgularda sık bulunduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada *SF3B1* varyasyonunun, erkek cinsiyette daha yüksek olduğu, ilerleyen klinik gidiş sırasında da meydana gelebileceği ve kısa tedavi zamanı ile genel sağ kalımla ilişkilendirilmiştir. *MYD88* varyasyonunun ise prognoz üzerinde etkisinin olmadığı belirtilmektedir (Jeromin vd., 2014). Xia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada *SF3B1* ve *MYD88* genlerinde varyasyonların düşük sıklıkta olduğunu belirtmişlerdir. *SF3B1* varyasyonlarının KLL sağ kalımı üzerinde sınırlı bir etkisi olmasına karşın *MYD88* varyasyonlarının sağ kalım üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı ve her iki gen varyasyonlarının tedavi zamanı ile arasında önemli bir ilişki olmadığı bildirilmektedir (Xia vd., 2014). Vollbrecht ve arkadaşlarının 136 KLL hastasıyla yaptıkları çalışmada *SF3B1* geninin yüksek sıklıkta varyasyon geçirdiği belirtilmiştir. *SF3B1* geninin varyasyon geçirmeyen *IGHV* geni, CD38 pozitifliği ile anlamlı bir ilişki olduğu ve erkek cinsiyette yüksek sıklıkta bulunduğu, *MYD88* geninin ise daha düşük sıklıkta görüldüğü belirtilmiştir (Vollbrecht vd., 2015). Baliakas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada KLL olgularında *SF3B1* K700E varyasyonunun diğer *SF3B1* varyasyonlu olgulara kıyasla

varyasyon geçirmemi *IGHV* ve trizomi 12 bulunan olgularda daha sık bulundu u ve daha kısa ilk tedavi zamanı ile ili kili oldu u ifade edilmektedir. *MYD88 L265P* varyasyonu KLL de en sık görülen varyasyondur ve varyasyonlu *IGHV* geni ile del (13q) olan olgularda görüldü ü ve ilk tedavi zamanı üzerinde hiçbir etkisinin olmadı ı belirtilmektedir (Baliakas vd., 2015). Polonya’da 370 yeni tanı almı olan KLL hastasıyla yapılan bir çalı mada *SF3BI* ve *MYD88* varyasyonları bulunan olgularda KLL için önemli prognostik belirteçler olan CD38 ve ZAP-70 ekspresyon seviyelerinde önemli bir farklılık olmadı ı belirtilmektedir. Ayrıca bu çalı mada *MYD88* varyasyonu olan ve olmayan olguların tedaviye ba lama zamanı için aralarında bir fark bulunmazken, *SF3BI* varyasyonu bulunan olguların varyasyon bulunmayan olgulara kıyasla önemli ölçüde daha kısa tedaviye ba lama süresinin oldu u gösterilmi tir ve kötü prognozla ili kilendirilmi tir. Aynı zamanda *SF3BI* gen varyasyonunun, yüksek riskli KLL hastalarının tanımlanmasına katkıda bulunabilece i dü ünülmektedir (Putowski vd., 2017).

SF3BI geni; öncül mRNA’dan intronların uzakla tırılmasını katalize eder, RNA splaying yola nda ve RNA metabolizmasında görev almaktadır. Klinik olarak, *SF3BI* varyasyonları bilinen di er KLL prognostik belirteçlerinden ba ımsız prognostik bilgi sa lar. *SF3BI* varyasyonları ço unlukla KLL de subklonal olaylardır ve bu nedenle muhtemelen hastalık progresyonunda rol oynarlar (Xargay-Torrent vd., 2015). Daha önceden yapılan çalı malarda *SF3BI* geninin, KLL hastalarında %5-18 oranında varyasyona u radı ı rapor edilmi tir (Wan, 2013). Wan ve Wu yapmı oldukları bir çalı mada *SF3BI* varyasyonunun KLL hastalarında, daha agresif hastalık seyri ve daha kısa genel sa kalım süresi ile ili kili oldu unu aynı zamanda *SF3BI* varyasyonunun KLL hastalı mının ba laticı varyasyonlarından de il de daha çok hastalık ilerlemesinin ilerleticisi oldu unu bildirmi lerdir (Wan, 2013). Raa ve arkada ları, *SF3BI* gen varyasyonunun DNA hasar yanıtına olan etkisini ara tıran bir çalı ma yapmı lar. Çalı mada *SF3BI* varyasyonunun, *TP53* ve *ATM* gibi DNA tamir mekanizmasında etkili olan genlerle ili kisini ara tırmı lardır. Bu çalı mada *SF3BI* varyasyonunun, bozulmamı *ATM* kinaz aktivasyonunda bile hatalı DNA hasarı yanıtına yol açtı ı önerilmektedir. Ayrıca *SF3BI* varyasyonunun artmı DNA hasarı ve/veya DNA hasar yanıtına yol açtı ı belirtilmektedir (Raa vd., 2015). Japonya da KLL olguları ile yapılan bir çalı mada *SF3BI* geninde K700E varyasyonunun en sık görülen varyasyon oldu u

bildirilmektedir. Bu çalı mada *SF3B1* varyasyonlu olguların genel sa kalım süresinin daha kısa oldu u ve hastalı ın kötü prognozunu öngörmede önemli oldu u belirtilmektedir (Mitsui vd., 2016). Biz de çalı mamızda sadece bir hastada *SF3B1* p.K700E varyasyonunu saptadık. Çalı mamızdan elde etti imiz veriler di er literatürler ile uyumlu bir ekilde de erlendirildi. Yapımı oldu umuz çalı mada hasta sayısının yetersiz olması nedeniyle elde etti imiz verilerin sonucunda çalı mamız istatistiksel olarak anlamlı ($P = 0,188$) kabul edilmedi.

MYD88 geni do al ve kazanılmı ba ı klık yanıtında görev alan önemli bir gendir. *MYD88*, TLR ve IL-1R yolaklarında önemli bir sinyal dönü türücü olarak görev alır (Amaya-Chanaga, 2016). *MYD88* L265P missense varyasyonu, KLL olgularında dü ük sıklıkta görülüyor olsa da en sık görülen varyasyonlardan biridir (Rossi, 2013). Bu varyasyonlar, varyasyona u ramı *IGHV*, dü ük *ZAP-70* ve *CD38* ekspresyonu seviyeleri ve normal 2M seviyeleri ile ili kilidir ve klinik evreden ba ı msız bir ekilde genç hastalarda görülmektedir (Amaya-Chanaga, 2016). Puente ve arkadaş larının yapımı oldu u bir çalı mada *MYD88* L265P gen varyasyonunun ileri klinik evre ve genel sa kalım üzerinde etkisinin olmadığı belirtilmektedir. Ayrıca *MYD88* varyasyonların, yabancı tip olan *MYD88* olgularına kıyasla daha genç hastalarda ve tüm varyasyonların *IGHV* varyasyonu bulunan olgularda görüldü ü belirtilmektedir (Puente vd., 2012). 587 KLL hastasından alınan örneklerle yapılan bir çalı mada, *MYD88* L265P en sık görülen varyasyondur. *MYD88* varyasyonları, ço unlukla varyasyon geçiren *IGHV* geni, del (13q), *CD38* ve *ZAP-70* faktörlerinin dü ük eksprese oldu u olgularda görülmü . Bu çalı mada *MYD88* varyasyonu olan hastaların varyasyon bulunmayan hastalardan anlamlı olarak daha genç oldu u ve *MYD88* varyasyonunun genç KLL hastalarında olumlu sonuç veren bir popülasyonu temsil etti i belirtilmi tir (Martinez-Trillos vd., 2014). Bizim çalı mamızda ise KLL hastalarında *MYD88* p.L265P varyasyonu saptanmamı tir. Bunun nedeni de hasta sayısının yetersiz olmasıdır. Bu nedenle çalı mamızda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemi tir.

Sonuç olarak biz bu çalı ma ile Trakya Ünivresitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Poliklini ine ba vuran KLL hastaları arasında *SF3B1* ve *MYD88* genlerinin ne sıklıkla varyasyona u radı ını, tedavi ve genel sa kalım süresi ile ili kilerini aydınlatmayı amaçladık. Çalı mamıza katılmayı kabul eden uygun hastaların medyan ya ı literatürle uyumlu olup 64 olarak tespit edildi, hastaların 28'i (%48,3) erkek ve 30'u (%51,7) kadındır. Hastaların 8'i (%13,8) Rai 0, 20'si (%34,5) Rai I, 17'si (%29,3) Rai II, 7'si (%12,1) Rai III, 6'sı (%10,3) Rai IV evresindeydi. Hastaların %58,6'sının tedavi almadan takibi yapılırken, %5,17'sine tanıdan hemen sonra tedavi ba lanmı tı. *SF3B1* ve *MYD88* genlerinin varyasyon durumunu inceledik, çalı mamızın sonucunda sadece bir hastada *SF3B1* geninde p.K700E varyasyonunun oldu unu saptadık. Varyasyon saptadı ımız hasta Rai evrelendirme sistemine göre Rai evre IV hastasıydı ve tanı aldıktan hemen sonra tedavi ba lanmı tı. Bu tez çalı ması kapsamında ara tırılan varyasyonlar çalı maya dahil edilen KLL olguları için prognoz ve tedavi açısından anlamlı bulunmamı tır. Genetik olarak ba ka verilerin incelenmesi ve di er varyasyonların ara tırılması öngörölmü tür.

KAYNAKLAR

Alsafadi, H. B.-N.-R. (2016). Cancer-associated SF3B1 mutations affect alternative splicing by promoting alternative branchpoint usage. *Nature Communucations*, 7, 1-12.

Alsagaby, B. P. (2016). Key Molecular Drivers of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*, 16(1), 593-606.

Al-Sawaf, F. E. (2016). Targeted Therapy of CLL. *Oncology Research and Treatment*, 39, 768-778.

Amaya-Chanaga, R. (2016). Biomarkers in chronic lymphocytic leukemia: Clinical applications and prognostic markers. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 29, 79-89.

Anak, U. (2012). Akut Miyeloid Lösemi (AML). *Çocuk Dergisi*, 12(4), 153-158. doi:10.5222/j.child.2012.153.

Arber, O. H. (2016). Introduction to a review series: the 2016 revision of the WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. *Blood*, 127(20), 2361-2364.

Assem, H. K. (2009). The Prognostic Significance of Combined Expression of ZAP-70 and CD38 in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Journal of the Egyptian Nat. Cancer Inst.* 21(4), 287-297.

- Bagacean, D. B.-G. (2017). Combining cytogenetic and epigenetic approaches in chronic lymphocytic leukemia improves prognosis prediction for patients with isolated 13q deletion. *Clinical Epigenetics*, 9(122), 1-11.
- Baliakas, H. S.-Z. (2015). Recurrent mutations refine prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*, 29, 329–336. doi:10.1038/leu.2014.196.
- Beltran, G. W. (2015). Significance of MYD88 L265P Mutation Status in the Subclassification of Low-Grade B-Cell Lymphoma/Leukemia. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 139, 1135-1141.
- Billard. (2013). Apoptosis inducers in chronic lymphocytic leukemia. *Oncotarget*, 5(2), 309-325.
- Binet, A. D. (1981). A New Prognostic Classification of Chronic Lymphocytic Leukemia Derived from a Multivariate Survival Analysis. *Cancer*, 48, 198-206.
- Bjorn, S. B. (1989). PRP4 (RNA4) from *Saccharomyces cerevisiae*: Its Gene Product Is. *Molecular and Cellular Biology*, 9(9), 3698-3709.
- Blair, P. W. B. (2007). Chemical exposures and risk of chronic lymphocytic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 139, 753-761.
- Boonstra, L. L. (2006). CD38 as a Prognostic Factor in B Cell Chronic Lymphocytic Leukaemia (B-CLL): Comparison of Three Approaches to Analyze Its Expression. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, 70B, 136-141.
- Briggs, M. S. (2016). Tracking the Resolution of Student Misconceptions about the Central Dogma of Molecular Biology. *Journal of Microbiology & Biology Education*, 17(3), 339-350.
- Brown. (2008). Inherited predisposition to chronic lymphocytic leukemia. *Expert Review of Hematology*. 1(1): 51–61. doi:10.1586/17474086.1.1.51.

- Byrd, F. C. (2015). Three-year follow-up of treatment-native and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. *Blood*, *125*(16), 2497-2506.
- Cazzola. (2013). Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. *Blood*, *121*(2), 260-269.
- Chapman, W. W. (2012). Applications of Next-Generation Sequencing to Blood and Marrow Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, *18*, 151-160.
- Chiorazzi. (2012). Implications of new prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *American Society of Hematology*, *2012*, 76-87. doi:10.1182/asheducation-2012.1.76
- Clanahan. (2011). Current strategies for the diagnosis and management of chronic lymphocytic leukemia (CLL), with a focus on poor-risk CLL: A review. *Turkish Journal of Hematology*, *28*, 86-96.
- Coombs, R. F. (2012). Single nucleotide polymorphisms and inherited risk of chronic lymphocytic leukemia among African Americans. *Blood*, *120*(8), 1687-1690.
- Deschler, L. (2006). Acute Myeloid Leukemia: Epidemiology and Etiology. *Cancer*, *107*(9), 2099-2107.
- Dielschneider, X. Y. (2014). Gefitinib targets ZAP-70-expressing chronic lymphocytic leukemia cells and inhibits B-cell receptor signaling. *Cell Death and Disease*, *5*, 1-9.
- Döhner, S. B. (2000). Genomic Aberrations and Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*, *343*, 1910-1916.
- Drexler, K. W. (2008). Cell signalling in macrophages, the principal innate immune effector cells of rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, *10*(5), 1-12.
- Eichhorst, R. M. (2015). Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, *26*, 78-84.
- Elert. (2013). Living With Leukemia. *Nature*, *498*, 2-3.

- Ferrarini, C. N. (2012). Prognostic factors in CLL. *Leukemia Supplements, 1*, 29-30. doi:10.1038/leusup.2012.17.
- Goldin, S. C. (2010). Familial Chronic Lymphocytic Leukemia. *Current Opinion in Hematology, 17*(4), 350–355. doi:10.1097/MOH.0b013e328338cd99.
- Gragert, F. A. (2014). Fine-mapping of HLA associations with chronic lymphocytic leukemia in US populations. *Blood, 124*(17), 2657-2665.
- Guieze, R. C.-K.-B. (2015). Presence of multiple recurrent mutations confers poor trial outcome of relapsed/refractory CLL. *Blood, 126*(18), 2110-7. doi: 10.1182/blood-2015-05-647578.
- Gruber, C. J. W. (2014). Evolving Understanding of the CLL Genome. *Semin Hematol. Author manuscript, 51*(3),177-187.
- Haas, K. M. (2011). Next-generation sequencing entering the clinical arena. *Molecular and Cellular Probes, 25*, 206-211.
- Haddad, S. (2012). Chronic Lymphocytic Leukemia. *Dis Mon - Elsevier, 58*, 153-167.
- Hallek. (2017). Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *American Journal of Hematology, 92*(9), 946-965. doi:10.1002/ajh.24826.
- Hallek, C. C. (2008). Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute–Working Group 1996 guidelines. *Blood, 111*, 5446-5456.
- Heel, T. R. (2013). Developments in the immunophenotypic analysis of haematological malignancies. *Blood Reviews, 27*, 193-207.
- Higuchi, D. W. (1992). Simultaneous Amplification and Detections of specific DNA sequences. *Biotechnology, 10*, 413-417.

- Hoffbrand, M. (2016). Hodgkin Lymphoma. *Hoffbrand's Essential Haematology* (7. bs.). London: Wiley Blackwel.
- Horsley, K. (2005). Molecular cytogenetics in haematological malignancy: current technology and future prospects. *Chromosoma*, *114*, 286-294.
- Jain, O. (2015). Initial treatment of CLL: integrating biology and functional status. *Blood*, *126*(4), 463-470.
- Jan, M. (2013). Clonal evolution of acute leukemia genomes. *Oncogene*, *32*, 135-140. doi:10.1038/onc.2012.48
- Jensen. (2012). Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction to Measure mRNA: Use, Limitations, and Presentation of Results. *The Anatomical Record*, *295*, 1-3.
- Jeromin, W. H. (2014). SF3B1 mutations correlated to cytogenetics and mutations in NOTCH1, FBXW7, MYD88, XPO1 and TP53 in 1160 untreated CLL patients. *Leukemia*, *28*, 108–117. doi:10.1038/leu.2013.263.
- Kaleem, S. A. (2015). Chronic Myeloid Leukemia - Prognostic Value of Mutations. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *16*(17), 7415-7423.
- Katz, C. S. (2015). Acute lymphoblastic leukemia: an assessment of international incidence, survival, and disease burden. *Cancer Causes Control*, *26*, 1627-1642.
- Kawamata, M. S.-O. (2013). Genetic differences between Asian and Caucasian chronic lymphocytic leukemia. *International Journal of Oncology*, *43*, 561-565. doi:10.3892/ijo.2013.1966.
- Kesminiene, E. I. (2010). Risk of hematological malignancies among Chernobyl liquidators. *Radiat Res. Author manuscript*, *170*(6), 721-735.
- Kipps, S. W. (2017). Chronic lymphocytic leukaemia. *Nature Reviews Disease Primers*. *3*, 1-53. doi:10.1038/nrdp.2016.96.

- Kitada, A. A. (1998). Expression of Apoptosis-Regulating Proteins in Chronic Lymphocytic Leukemia: Correlations With In Vitro and In Vivo Chemoresponses. *Blood*, 91(9), 3379-3389.
- Kolialexi, T. K. (2005). Impact of Cytogenetic and Molecular Cytogenetic Studies on Hematologic Malignancies. *Anticancer Research*, 25, 2979-2984.
- Kubista, A. B. (2006). The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine*, 27, 95-125.
- Kwon, L. M. (2010). Clinical utility of FISH analysis in addition to G-banded karyotype in hematologic malignancies and proposal of a practical approach. *The Korean Journal of Hematology*, 45(3), 171-176.
- Landgren, M. (2014). Biologic Frontiers in Multiple Myeloma: From Biomarker Identification to Clinical Practice. *Clinical Cancer Research*, 20(4), 804–13.
- Lim, L. L. (2015). Gender and ethnic differences in incidence and survival of lymphoid neoplasm subtypes in an Asian population: Secular trends of a population-based cancer registry from 1998 to 2012. *International Journal of Cancer*, 137, 2674-2687.
- Linnet, F. M. (2005). Incidence of haematopoietic malignancies in US radiologic technologists. *Occupational and Environmental Medicine*, 62, 861–867. doi:10.1136/oem.2005.020826.
- Macheta, C. (2015). Genetic methods in diagnosis of hematooncological. *Postepy Hig Med Dosw* (online), 69, 475-487.
- Martinez-Trillos, P. N. (2014). Mutations in TLR/MYD88 pathway identify a subset of young chronic lymphocytic leukemia patients with favorable outcome. *Blood*, 123(24), 3790-3796.
- Messmer, L. S. (2015). A Selective Novel Peroxisome Proliferator–Activated Receptor (PPAR)- Antagonist Induces Apoptosis and Inhibits Proliferation of CLL Cells In Vitro and In Vivo. *Molecular Medicine*, 21, 410-419.

- Mirzaei, F. K. (2017). State of the art in microRNA as diagnostic and therapeutic biomarkers in chronic lymphocytic leukemia. *Journal of Cellular Physiology*, 233, 888–900. doi: 10.1002/jcp.25799.
- Mitsui, K. N. (2016). SF3B1 and IGHV gene mutation status predict poor prognosis in Japanese CLL patients. *International Journal of Hematology*, 103, 219–226. doi:10.1007/s12185-015-1912-z.
- Molica, S. G. (2016). The chronic lymphocytic leukemia international prognostic index (CLL-IPI) predicts time to first treatment in early CLL: Independent Validation in a Prospective Cohort of Early Stage Patients. *American Journal of Hematology*, 91(11), 1090–1095. doi:10.1002/ajh.24493.
- Montserrat. (2006). New Prognostic Markers in CLL. *American Society of Hematology*, 2006(1), 279-284. doi:10.1182/asheducation-2006.1.279.
- Montserrat. (2002). Classical and new prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia: Where to now? *The Hematology Journal*, 3, 7-9. doi: 10.1038/sj/thj/6200139.
- Mullis. (1990). Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction. *Annales de biologie clinique*, 48(8), 579-82.
- Nussbaum, M. W. (2005). Genetik ve Kanser. *Thompson & Thompson Tibbi Genetik* (6. bs.). ANKARA: Güne Kitabevi Ltd. ti.
- Pati, Jain (2013). Flow Cytometry in Hematological Disorders. *Indian Journal of Pediatrics*, 80(9), 772-778.
- Payandeh, S. K. (2014). Appearance and Disappearance of Chronic Myeloid Leukemia (CML) in Patient with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *International Journal of Hematology- Oncology and Stem Cell Research*, 8(4), 49-53.
- Podhorecka, K. C. (2015). The rate of in vitro fludarabine-induced peripheral blood and bone marrow cell apoptosis may predict the chemotherapy outcome in patients with chronic lymphocytic leukemia. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 71, 1121-1127.

- Poulain, R. D.-Z.-L. (2013). MYD88 L265P mutation in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood*, *121*(22), 4504-4511.
- Preston, K. T. (1994). Cancer Incidence in Atomic Bomb Survivors. Part III: Leukemia, Lymphoma and Multiple Myeloma, 1950–1987. *Radiation Research*, *137*, 68-97.
- Puente, P. Q.-G.-F. (2012). Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*, *475*, 101–105. doi:10.1038/nature10113.
- Putowski, P. P. (2017). Prognostic impact of NOTCH1, MYD88 and SF3B1 mutations in Polish patients with chronic lymphocytic leukemia. *Polish Archives of Internal Medicine*, *127*(4), 237-244.
- Raa, D. N. (2015). The impact of SF3B1 mutations in CLL on the DNA-damage. *Leukemia*, *29*, 1133–1142 doi:10.1038/leu.2014.318.
- Rai, S. C. (1975). Clinical Staging of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood*, *46*(2), 219-234.
- Repa, V. (2005). The power of real-time PCR. *Advances in Physiology Education*, *29*, 151-159.
- Rodrigues, G. k.-M. (2016). Diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: recommendations from the Brazilian Group of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Revista Brasileira de Hematologiae Hemoterapia*, *38*(4), 346-357.
- Rossi, C. S. (2013). Molecular bases of chronic lymphocytic leukemia in light of new treatments. *Immunology Letters*, *155*, 51-55.
- Saiki, G. S. (1988). Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science*, *239*, 487-491.
- Schwartz, P. a. (2002). Leukemias. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, *45*(3), 866-878.
- Schweighofer, C. M. (2013). Genomic Variation by Whole-Genome SNP Mapping Arrays Predicts Time-to-Event Outcome in Patients with Chronic Lymphocytic

Leukemia A Comparison of CLL and HapMap Genotypes. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 15(2), 196-209.

SF3B1. (2019). SF3B1 Gene. 20 Ocak 2019 tarihinde www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/23451 adresinden eri ldi.

Uçbirle tirme. (2019). *Wikiwand*, içinde. 20 Ocak 2019 tarihinde [http://www.wikiwand.com/tr/U%C3%A7birle%C5%9Firme_\(genetik\)](http://www.wikiwand.com/tr/U%C3%A7birle%C5%9Firme_(genetik)) adresinden eri ldi.

Shahjahani, M. N. (2015). Molecular basis of chronic lymphocytic leukemia. *Cellular Oncology*, 38, 93–109. doi: 10.1007/s13402-014-0215-3.

Simons, S.-R. L. (2012). Genome-Wide Arrays in Routine Diagnostics of Hematological Malignancies. *Human Mutation*, 33(6), 941-948.

Slager, C. S. (2013). Genetic Susceptibility to Chronic Lymphocytic Leukemia. *Seminars in Hematology*, 50(4), 296-302.

Smith, H. P. (2011). Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *British Journal of Cancer*, 105, 1684-1692.

Sreekantaiah. (2007). FISH panels for hematologic malignancies. *Cytogenet Genome Research*, 118, 284-296. doi:10.1159/000108312.

Stenehjem, K. B.-A. (2015). Benzene exposure and risk of lymphohaematopoietic cancers in 25 000 offshore oil industry workers. *British Journal of Cancer*, 112, 1603–1612. doi:10.1038/bjc.2015.108.

Szymaska, B.-J. D. (2018). TLR2 Expression on Leukemic B Cells from Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 1-11. doi.org/10.1007/s00005-018-0523-9.

Tobin, T. J. (2003). Chronic lymphocytic leukemias utilizing the VH3-21 gene display highly restricted V2-14 gene use and homologous CDR3s: implicating recognition of a common antigen epitope. *Blood*, *101*, 4952-4957.

Torkaman, C. A. (2011). An approach for leukemia classification based on cooperative game theory. *Analytical Cellular Pathology*, *34*(2011), 235-246.

Toll-like Receptors (TLRs) Interactive Pathway (2019). *Cell Signaling Technology*, immunology and inflammation içinde. 20 Ocak 2019 tarihinde [www.cellsignal.com/contents/science-cst-pathways-immunology-and-inflammation/toll-like-receptors-\(tlrs\)-interactive-pathway/pathways-tlr](http://www.cellsignal.com/contents/science-cst-pathways-immunology-and-inflammation/toll-like-receptors-(tlrs)-interactive-pathway/pathways-tlr) adresinden eriildi.

Turunen, N. V. (2013). The significant other: splicing by the minor spliceosome. *WIREs RNA*, *4*, 61-76.

Uzunhan, K. (2012). Çocukluk Çağında Akut Lenfoblastik Lösemisi. *Çocuk Dergisi*, *12*(1): 6-15. doi:10.5222/j.child.2012.006.

Vicente, D. R. (2013). Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogeneous disease. *Cancer Genetics*, *206*, 49-62.

Vollbrecht, M. K. (2015). Comprehensive Analysis of Disease-Related Genes in Chronic Lymphocytic Leukemia by Multiplex PCR-Based Next Generation Sequencing. *Plos One*, *10*(6), 1-17.

Vrijheid, C. A. (2008). Ionizing Radiation and Risk of Chronic Lymphocytic Leukemia in the 15-Country Study of Nuclear Industry Workers. *Radiation Research*, *170*(5), 661-665. doi:10.1667/RR1443.1.

Wan, Wu (2013). SF3B1 mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, *121*(23), 4627-4634. doi. 10.1182/blood-2013-02-427641.

Wang, L. W. (2011). SF3B1 and Other Novel Cancer Genes in Chronic Lymphocytic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*, *365*, 2497-2506.

- Wiernik. (2015). Familial Leukemias. *Current Treatment Options in Oncology*, 16(8), 1-11.
- Xargay-Torrent, L.-G. R.-O. (2015). The splicing modulator sudemycin induces a specific antitumor response and cooperates with ibrutinib in chronic lymphocytic leukemia. *Oncotarget*, 6(26), 22734-22749.
- Xia, F. W. (2014). Frequencies of SF3B1, NOTCH1, MYD88, BIRC3 and IGHV mutations and TP53 disruptions in Chinese with chronic lymphocytic leukemia: disparities with Europeans. *Oncotarget*, 6(7), 5426-5434.
- Xu, Z. D. (2014). Construction of protein profile classification model and screening of proteomic signature of acute leukemia. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(9), 5569-5581.
- Yang, L. G. (2015). The mystery of chronic lymphocytic leukemia (CLL): Why is it absent in Asians and what does this tell us about etiology, pathogenesis and biology? *Blood Reviews*, 29, 205–213.
- Yoshimi, A-W. (2016). Molecular Pathways: Understanding and Targeting Mutant Spliceosomal Proteins. *Clinical Cancer Research*, 23(2), 336-342.
- Zhou, X. (2015). Leukemia stem cells: the root of chronic myeloid leukemia. *Protein Cell*, 6(6), 403-412.

EK

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TUTF-BAEK 2016/266				
	PROTOKOL ADI	Kronik Lenfositik Lösemide SF3BR ve MYD88 Genlerindeki Varyasyonların Araştırılması				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI / ADI	Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR				
	ARAŞTIRMA MERKEZİ					
	DESTEKLEYİCİ					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 19/17	Tarih: 23.11.2016				
	Fakültemiz Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans Öğrencisi Göde CİMSİT'in tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş araştırmaya ilişkin giderilerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödendiği kopullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudan oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TUTF-BAEK Yönergesi					
ÜYELER						
Unvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	Bilgi(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ulker VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Ruğul KOSE ÇINAR Başkan Yardımcısı	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Ruban Deniz TOPUZ Üye	Tıbbi Farmakoloji	T.Ü.T.F. Tıbbi Farmakoloji A.D.	K	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan ÖMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Öğretim. Gör. Uzm. Dr. Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Cafer Sadık ZORKUN Üye	Kardiyoloji	T.Ü.T.F. Kardiyoloji A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Niyazi Cenk SAYIN Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E H	E H	
Emekli Öğretim Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilgili
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet ÖZEL
Dekan
Dekan Yard.

ÖZGEÇM

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Gözde C M T
Doğum Yeri ve Tarihi	İstanbul – 08.04.1991
Eğitim Durumu	
Lisans Öğrenimi	Düzce Üniversitesi - Biyoloji
Yüksek Lisans Öğrenimi	Trakya Üniversitesi – Biyoteknoloji ve Genetik ABD
Bildiği Yabancı Diller	İngilizce
Deneyimi	
Stajlar	.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD. (2012, 1 ay) DÜZCE Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD. (2013, 4 ay) TRAKYA Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD. Laboratuvarı (2015-2017, 2 yıl)
Çalıştığı Kurumlar	Nesiller Genetik Laboratuvarı (2018-...)
İletişim	
E-posta	gzdcimsit@gmail.com