HEMATOLOJİK MALİGNİTELERİN YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ KULLANILARAK GENETİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Sümeyye ÖZTÜRK

Danışman: Dr. Ögr. Üyesi Melike KARAMAN

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

2023

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

HEMATOLOJİK MALİGNİTELERİN YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ KULLANILARAK GENETİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

(Genetic Evaluation of Hematological Malignities Using The New Generation Sequencing Method)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sümeyye ÖZTÜRK

Danışman: Dr. Ögr. Üyesi Melike KARAMAN
İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Çiğdem Yüce KAHRAMAN

Erzurum

Eylül, 2023

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Sümeyye ÖZTÜRK tarafından hazırlanan "Hematolojik Malignitelerin Yeni Nesil Dizileme Yöntemi Kullanılarak Genetik Olarak Değerlendirilmesi" başlıklı çalışması 11 / 09 / 2023 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Genetik Bilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Hakan AŞKIN *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Dr. Öğr. Üyesi Melike KARAMAN *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi (Unvan: Doçent) Mehmet Enes ARSLAN *Erzurum Teknik Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Gökçe KARADAYI *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
İkinci Tez Danışmanı:	Doç. Dr. Çiğdem YÜCE KAHRAMAN *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü
Aslı Islak İmzalıdır

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Dr. Ögr. Üyesi Melike KARAMAN danışmanlığında sunulan "Hematolojik Malignitelerin Yeni Nesil Dizileme Yöntemi Kullanılarak Genetik Olarak Değerlendirilmesi" başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	**Tezin Benzerlik Oranı (%)**	**Maksimum Oran (%)**
Giriş	*7*	**30**
Kuramsal Temeller	*13*	**30**
Materyal ve Yöntem	*4*	**35**
Bulgular ve Tartışma	*1*	**20**
Sonuç ve Öneriler	*5*	**20**
Tezin Geneli	*10*	**25**

Not: *Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının* ***%5'den*** *büyük olmaması gerekir.*

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	**Tez Danışmanı**
Sümeyye ÖZTÜRK	Dr. Öğr. Üyesi Melike KARAMAN
12.09.2023	12.09.2023
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

***** Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve ……. sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve ……. sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Atatürk Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışma sürecinde her türlü desteği sağlayan ATAGEN Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi birimine teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen ve her konuda yardımcı olan değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Melike KARAMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca her daim destek olan, samimiyeti ile beni motive eden değerli ikinci tez danışman hocam Doç. Dr. Çiğdem YÜCE KAHRAMAN'a teşekkür ederim.

Çalışmaya başladığım ilk günden bugüne kadar, her zaman yanımda olan, fikirleriyle ve bakış açısıyla her zaman örnek aldığım çok değerli hocam Prof. Dr. Abdulgani TATAR'a, aynı zamanda ATAGEN Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi Mesul Müdürü olarak çalışmamı yapmak için verdiği hem bilimsel hem manevi desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca gösterdikleri desteklerden dolayı bütün ATAGEN Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca, hayatımın her döneminde desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, beni bugünlere getiren annem Rabia ÖZTÜRK, babam Abdullah ÖZTÜRK, ablalarım Özlem ÖZTÜRK, Hüsna ÖZTÜRK, kardeşlerim Melisa ÖZTÜRK ve Emirhan ÖZTÜRK'e sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca ve her anımda desteğini ve ilgisini hissettiğim, hayatımda önemli bir yere sahip olan çok değerli Arş. Gör. Emre EREN'e teşekkür ederim.

Son olarak, her motivasyon düşüklüğümde beni cesaretlendiren, olaylara bakış açısı ve anlayışına imrendiğim Sena ÖNER'e, her zaman başarabileceğimize inandıran Elif ARSLAN'a ve bu süreçte stresime en iyi gelen canım kedilerim Mars, Venüs ve Junior'a çok teşekkür ederim.

Sümeyye ÖZTÜRK

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HEMATOLOJİK MALİGNİTELERİN YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ KULLANILARAK GENETİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Sümeyye ÖZTÜRK

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Melike KARAMAN

İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Çiğdem Yüce KAHRAMAN

Amaç: Bu tez çalışmasında amacımız, hematolojik malignitelerde gözlenen belirli genlerdeki hotpoint mutasyonların (*ASXL1, CALR, CBL, CEBPα, CSF3R, DNMT3A, EZH2, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, NPM1, NRAS, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SH2B3, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, ZRSR2*) görülme sıklığı ve bu mutasyonların hastalık üzerine olan etkisini ortaya koymaktır.

Yöntem: Çalışmada kullanılan araştırma materyali, 2018- 2022 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Tıbbi Genetik Bölümü'ne başvuran hematolojik malignite öntanısı veya tanısı olan hastalardan alınan hemogram kanlarından izole edilen DNA'lardı. Çalışma methodu planlamasına göre hastalardan alınan kandan DNA izolasyonu için QIAamp DNA Blood Mini QIAcube Kit (QIAGEN, Germany) kullanıldı. İzole edilen DNA kalitesi Qubit Florometre (Invitrogen) cihazında ölçüldü. PCR ve kütüphane oluşturma basamakları QIAact Myeloid DNA UMI Panel (QIAGEN, Germany) üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi. Oluşan PCR ürünlerinin sekanslanması GeneReader NGS cihazında gerçekleştirilmiş olup, data analizi QIAGEN Clinical Insight platformunda yapıldı.

Bulgular: Erzurum ve çevresinden gelen, hematolojik malignite tanısı veya ön tanısına sahip hastaların yeni nesil dizileme yöntemiyle tespit edilen myeloid panelde, görülen mutasyonlar incelenmiştir. Gözlenen mutasyonlar, tanı, cinsiyet ve yaş dağılımları açısından incelendiğinde erkek hastalarda ve ileri yaşlarda bu hastalığa ait mutasyonların daha sık görüldüğü tespit edilmiştir.

Sonuç: Bulgular, hasta sayısının arttırılması ve hematolojik maligniteye neden olan genlerin daha detaylı araştırılmasıyla bu maligniteye sahip hastaların daha hızlı tanı almasına ve mutasyonlara özgü bireysel tedavi açısından takip altında olmasına fayda sağlayacağını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: hematolojik malignite, myeloproliferatif hastalık, yeni nesil dizileme, sekans analizi

Eylül 2023, 51 sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

GENETIC EVALUATION OF HEMATOLOGICAL MALIGNITIES USING THE NEW GENERATION SEQUENCİNG METHOD

Sümeyye ÖZTÜRK

Advisor: Dr. Öğr. Üyesi Melike KARAMAN
Co-supervisor: Doç. Dr. Çiğdem Yüce KAHRAMAN

Purpose: Our aim in this thesis study is to reveal the incidence of hotpoint mutations (*ASXL1, CALR, CBL, CEBPα, CSF3R, DNMT3A, EZH2, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, NPM1, NRAS, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SH2B3, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, ZRSR2*) in certain genes observed in hematological malignancies and the effect of these mutations on the disease.

Method: The research material used in the study was DNA isolated from hemogram blood taken from patients with pre-diagnosis or diagnosis of hematological malignancy, who applied to the Department of Medical Genetics at Atatürk University Health Research and Application Center between 2018 and 2022. The QIAamp DNA Blood Mini QIAcube Kit (QIAGEN, Germany) was used for DNA isolation from the blood taken from the patients according to the study method planning. The isolated DNA quality was measured on the Qubit Fluorometer (Invitrogen). PCR and library building steps were performed according to the manufacturer's instructions on the QIAact Myeloid DNA UMI Panel (QIAGEN, Germany). The sequencing of the resulting PCR products was performed on the GeneReader NGS device, and data analysis was performed on the QIAGEN Clinical Insight platform.

Findings: The mutations seen in the myeloid panel, which was determined by the new generation sequencing method of patients with a diagnosis or pre-diagnosis of hematological malignancy from Erzurum and its surroundings, were examined. When the observed mutations were examined in terms of diagnosis, gender and age distribution, it was determined that the mutations of this disease were more common in male patients and in older ages.

Results: The findings have shown that increasing the number of patients and investigating the genes that cause hematological malignancy in more detail will help patients with this malignancy to be diagnosed more quickly and to be followed up in terms of individual treatment specific to mutations.

Keywords: hematological malignancy, myeloproliferative disease, next generation sequencing, sequence analysis

September 2023, 51 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU ii
TEŞEKKÜR iii
ÖZET iv
ABSTRACT v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR DİZİNİ viii
ŞEKİLLER DİZİNİ ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ x
GİRİŞ 1
Hipotez ve Amaç 2
KURAMSAL TEMELLER 3
Hematolojik Maligniteler 3
Hematolojik Malignitelerin Sınıflandırılması 3
Lenfoid Neoplaziler 5
Prekürsör Lenfoid Neoplaziler 5
Olgun B Hücreli Neoplaziler 6
Hodgkin Lenfoma 6
Non-Hodgkin Lenfoma 7
Miyeloid Neoplaziler 8
Akut Miyeloid Lösemi 8
Kronik Miyeloid Lösemi 9
Genlere Giriş 10
Yeni Nesil Dizileme 12
Sanger Dizileme 13
Pirodizileme Metodu 13
MATERYAL VE METOT 17
Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar 17
DNA Sekans Analizi 17
Periferik kandan DNA İzolasyonu 17
İzole edilen DNA'ların Konsantrasyon Ölçümü 18
PCR ve Kütüphane Oluşturma Basamakları 18
Sekans sonrası oluşan verilerin analizi 19

Data analizi ve varyantların değerlendirilmesi 20
ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 21
Hastalık Dağılımı 21
Hastaların Cinsiyet Dağılımları 21
Mutasyon tespit edilen genlerin frekansı 22
Cinsiyete göre Mutasyon Dağılımı 23
Yaş Dağılımı 23
Gözlenen varyantlar 24
SONUÇ VE ÖNERİLER 29
KAYNAKLAR 31
EKLER 35
ÖZGEÇMİŞ 37

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Hodgkin lenfoma WHO sınıflaması 7
Tablo 2. AML'de FAB Sınıflandırması 9
Tablo 3. Hematolojik maligniteye sahip hastalarda yeni nesil dizileme yöntemiyle gözlenen varyantlar 24
Tablo 4. Hematolojik maligniteye sahip hastalarda yeni nesil dizileme yöntemiyle gözlenen varyantlara spesifik önerilen onaylanmış bazı terapiler 25

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hematolojik malignitelerin sınıflandırılması 4
Şekil 2. Olgun B hücreli neoplazmaların karakteristik immünofenotipik ve genetik özellikleri 6
Şekil 3. QIAGEN QIAcube Otomatik DNA izolasyon cihazı 17
Şekil 4. The Invitrogen Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher, USA) DNA konsantrasyon ölçüm cihazı 18
Şekil 5. QIAGEN GeneReader Yeni Nesil Dizileme Cihazı 19
Şekil 6. Hasta grupları dağılımı 21
Şekil 7. Cinsiyet dağılımı 22
Şekil 8. Hastalarda tespit edilen mutasyonların dağılımı 22
Şekil 9. Cinsiyete göre hastalarda görülen negatif ve mutasyona sahip hastaların dağılımı 23
Şekil 10. Hematolojik maligniteye sahip hastaların cinsiyete göre yaş grupları 24

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
° C	Santigrat Derece
µl	Mikro Litre
cDNA	Komplementer DNA
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
g/L	Gram/Litre
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mmol/L	Milimol/Litre
mRNA	Mesajcı RNA
N	Normal
nm	Nanometre
sn	Saniye
µmol/L	Mikromol/Litre
Kİ	Kemik İliği
HM	Hematolojik Malignite
KLL	Kronik Lenfositik Lösemi
KML	Kronik Myeloid Lösemi
ALL	Akut Lenfositik Lösemi
MM	Multiple Myelom
MDS	Myelodisplastik Sendrom
YND	Yeni Nesil Dizileme
VCF	Variant Calling File

GİRİŞ

Hematolojik maligniteler, kan hücrelerinin mutasyona uğrayarak kanserleşmesine sebep olan ve kanserleşen hücrelerin özelliklerine ve bulundukları bölgeye bağlı olarak alt türleri bulunan maligniteler olarak adlandırılmıştır. (Omer *et al.* 2013). Hematolojik maligniteler, devamlı tekrar eden, fazlaca heterojen prognoz gösteren kan, kemik iliği ve organla ilişkili hastalıklar ile tanımlanmaktadır. Genellikle dünya çapında 1,2 milyon yeni vakayı oluşturmakta ve her yeni tanı kanserlerin yaklaşık %7'sini hematolojik maligniteler oluşturmaktadır. Lösemi, kemik iliğinde kan üreten hücrelerde oluşan, kemik iliği (Kİ) ve kan dolaşımında kanserleşmiş hücrelerinin birikimine yol açan hematolojik kanserlerin alt türü olarak ortaya çıkan bir hastalıktır. Günümüzde, her 400 bin kişiden birine tüm kanserlerin %2,5'ini oluşturan lösemi teşhisi konulmaktadır. Bu tür bir hematolojik malignitede hemen hemen her yaştaki bireyler etkilenebilirken, pediatrik tümörler arasında lösemi en sık görülen hematolojik malignite olarak ortaya çıkmaktadır. Bir diğer hematolojik malignite türü olan lenfoma ise genellikle kemik iliğinde bulunan bağışıklık hücrelerinde, lenf düğümleri ve dalakta ortaya çıkmakta aynı zamanda vücudun diğer organlarında da meydana gelmektedir (Auberger *et al.* 2020).

Yeni Nesil Dizileme (YND), bir dizi modern büyük ölçüde paralel dizileme teknolojisiyle ilgili bir terimdir. Yeni nesil dizileme yöntemleri ile; tüm genom dizileme (TGD) (Whole Genome Sequencing), tüm ekzom dizileme (TED) (Whole Exome Sequencing) ve transkriptom dizileme (RNA-seq) gibi çalışmalar yapılmaktadır. Bununla birlikte, her bir dizileme yönteminin tespit ettiği mutasyonlar hastalık veya araştırma konusuna göre farklılık göstermektedir. Bu nedenle tüm genom dizileme, genellikle tekrarlayan lösemik alt klonlar üzerinde bulunan nokta mutasyonların araştırılması için fonksiyonel bir yöntemdir. Bu tür maligniteleri oluşturan mutasyonlar genellikle yüksek kapsama ile yürütülmektedir. Transkriptom sekansı, mesajcı RNA'nın (mRNA) veya kodlamayan RNA'nın ifadesini incelemek için kullanılmaktadır ve tüm genom dizileme ile de gözlenebilen füzyon genlerinin mutasyonlarını da transkriptom sekansı ile tanımlayabilmek mümkündür (Haferlach 2020).

Yapılan birçok moleküler genetik çalışmalar hematolojik maligniteye sahip hastalarda, yeni nesil dizileme yöntemi kullanılarak elde edilen verilerin hastalığın tanı ve tedavisine faydalı olduğunu ve hastalığın prognozunun takip edilmesinde etkili olduğunu göstermiştir.

Hipotez ve Amaç

Bu araştırmadaki amacımız, hematolojik malignitelerde gözlenen belirli genlerdeki hotpoint mutasyonların (*ASXL1, CALR, CBL, CEBPα, CSF3R, DNMT3A, EZH2, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, NPM1, NRAS, RUNX1, SETBP1, SF3B1), SH2B3, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, ZRSR2*) görülme sıklığı ve bu mutasyonların hastalık üzerine olan etkisini ortaya koymaktır.

KURAMSAL TEMELLER

Hematolojik Maligniteler

Hematolojik maligniteler (HM'ler), hematopoietik ve lenfoid dokuyu etkileyen heterojen bir kanser türüdür. Bu kanser türü tüm kanserlerin %6,8'ini oluşturmakta ve önemli ölçüde morbidite ve mortalite oluşumuna sebep olmaktadır (Sung *et al.* 2021).

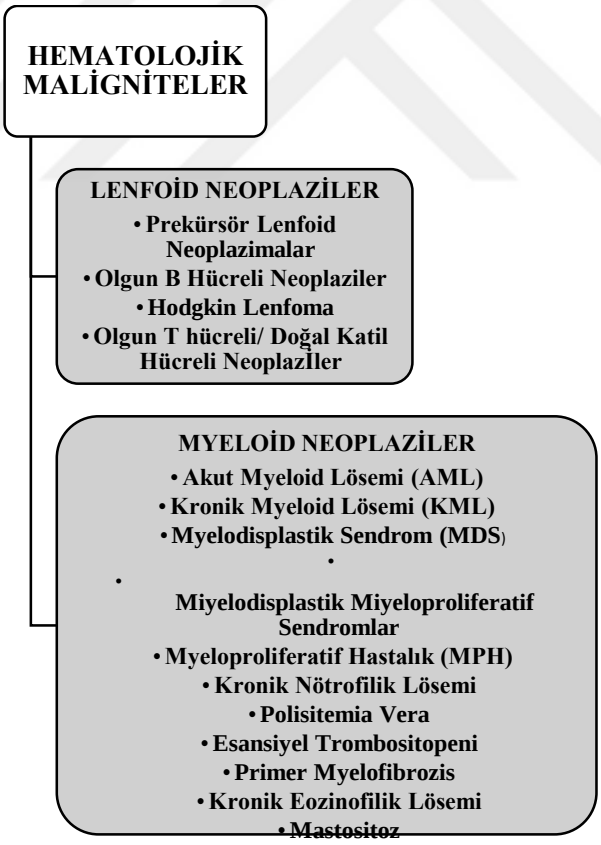
HM'ler çoğunlukla agresif bir kanser türüdür ve hızlı, uzun ve pahalı bir tedavi gerektirir. HM tedavilerinin karmaşıklığı, potansiyel ilaç-ilaç etkileşimleri ve yan etki riskini artırabilir. Ayrıca, HM'li hastalar ve özellikle lenfoma ve miyelomlu hastalar, hastalık süreci boyunca sıklıkla psikolojik umutsuzluk ve düşük yaşam kalitesi yaşamaktadır. HM tedavileri, bir hastanın yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilese de, şu anda mevcut olan geniş tedavi yelpazesi, bu hastalığı önemli ölçüde iyileştirerek, genellikle HM'leri uzun süreli sağkalımı olan kronik hastalıklara dönüştürmüştür (Mancini *et al.* 2012, Leger *et al.* 2018, Dhakal *et al.* 2020, Mian *et al.* 2020, Umıt *et al.* 2020, Kristjánsdóttir *et al.* 2022).

Hematolojik malignitelerin genomik dizilimini, kromatin yapısını ve işlevlerini düzenleyen proteinleri kodlayan genlerde tekrarlayan mutasyonlar saptanarak, anormal olan epigenetik düzenlemenin bu neoplazmaların patogenezinde oynadığı önemli rolü vurgulamıştır. Histon, DNA metilaz ve demetilaz moleküllerindeki epigenetik düzenlemelerin, hematolojik malignitelerde görülen mutasyonlarla oluşan kanser yolaklarını ve bu kanserlerin vücuda yayılımında görülen moleküler mekanizmaların keşfedilmesi, hematolojik malignite hastalarında oluşan nokta mutasyonlarına ve hematolojik malignite alt türlerine spesifik tedaviler için umut vadetmektedir. Günümüze kadar yapılan kanser çalışmalarının tanı ve tedavi açısından önemli noktalara ulaşmamızı sağladığı gibi, DNA'da gerçekleşen epigenetik düzenlemelerin de hematolojik kanser oluşumunda rol alan mutasyonların aydınlatılması ve bu kanser türlerin oluşumundan yayılımına kadar gerçekleşen mekanizmaları kavrayabilmek, hematolojik malignitelerle mücadele konusunda etkin ve önemli bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır (Hu and Shilatifard 2016).

Hematolojik Malignitelerin Sınıflandırılması

Hematolojik malignitelerin sınıflandırılması, bir grup hematolog araştırmacının (French-American-British: FAB) 1976'da yaptıkları çalışma sonucu oluşturulmuştur. İlk zamanlar, morfolojik ve histokimyasal boyama temeline dayanarak geliştirilen HM sınıflandırmasına, genetik alanında yapılan çalışmalar sonucunda immünfenotiplendirme

(monoklonal antikorlar yardımıyla hücre yüzey antijenlerinin gösterilmesi), sitogenetik çalışmalar ile gözlenen kromozom mutasyonları, moleküler biyoloji yöntemleri ile gelişen gen ifade düzeylerinin analizi ve nokta mutasyonları başta olmak üzere bir çok mutasyonun tespit edilebildiği yeni nesil dizileme teknolojileri de ilave edilmiştir. Bu sayede hematolojik maligniteler Morphologic, İmmunologic and Cytogenetic (MIC) yöntemi kullanılarak sınıflandırılmaya başlanmıştır. Daha sonra hem sitogenetik hem de moleküler genetik yöntemlerinin gelişmesiyle, farklı kromozomal mutasyonların oluşumu ile karakterize lösemi türlerinin de tanımlanmasını sağlayan, World Health Organization (WHO) sınıflandırılması MIC yönteminin yerini almıştır. Aşağıda belirtilen başlıca 3 özelliğe göre sınıflandırma yapılmaktadır (Şekil 1) (Schürch *et al.* 2013). Hastalığın ilerleyişi ve hücre olgunluğuna göre akut ya da kronik, hücrelerin orjin aldığı hücre tipine göre lenfoid ya da miyeloid, hücrelerin yoğunlaştığı bölgeye göre; kan hücreleri ve kemik iliği tutulumunun daha fazla olması (lösemi) ve dokuların büyük ölçüde kanserleşmesi (myeloid kökenlilere granülositik sarkom, lenfoid kökenlilere lenfoma) gibi belirteçler göz önüne alınarak, hematolojik maligniteleri bu tür başlıklara ayırmak mümkün olmaktadır (Bennett et al., 1976; Harris et al., 1999).



Şekil 1. Hematolojik malignitelerin sınıflandırılması

Lenfoid Neoplaziler

Lenfoid neoplaziler, lenfoblastik lösemilerin yanı sıra lenfoblastik lenfomaları (LBL'ler) içerir ve nadiren doğal öldürücü (NK) fenotipi gözlenebilse de genellikle B hücresi veya T hücresi türevi lenfoid öncülerinin klonal proliferasyonlarını temsil etmektedir. Lenfotik neoplazma neden olan mutasyonu olduğu tespit edilen bir hasta akut lösemi kliniği ile uzmanlara başvurduğu takdirde, bu neoplazmın B hücreli lenfoid orjinli olma ihtimalini diğer bir tür olan T hücresi farklılaşmasına oranladığımızda, hastanın B hücreli lenfoid orjini kaynaklı akut lösemi kliniği gösterme ihtimalinin gözle görülür bir şekilde daha az olduğu bilinmektedir. Mutasyonların oluştuğu hücre tipine ve mutasyonun frekansına göre lösemi ve lenfoma maligniteleri sınıflandırmak mümkündür. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kılavuzuna bakıldığında, tanı anında oluşan mutasyonlar kan ya da kemik iliği hücresinde görülmekte ise akut lenfoblastik lösemi olarak adlandırılma yapılmaktadır. Eğer meydana gelen mutasyonlar sadece doku hücrelerinde veya çoğunlukla doku hücrelerinde görülmekte ise lenfoblastik lenfoma olarak adlandırılmaktadır. Hem doku hem de kemik iliği/kan tutulumu varsa durum biraz daha karmaşık hale gelmektedir. Genel bir kural olarak, ilk tanı LBL ise ve genellikle evreleme amacıyla yapılan sonraki kemik iliği analizi tutulum göstermez veya sınırlı tutulum gösterirse, tanı LBL olarak kalmakta; ancak belirgin tutulum varsa tanı lenfoblastik lösemi olmaktadır (Luca 2021).

Prekürsör Lenfoid Neoplaziler

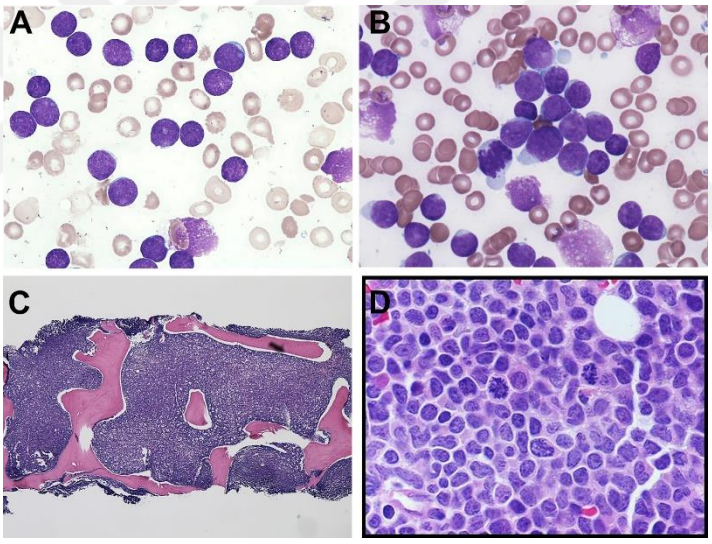
Öncü B hücrelerinin mutasyona uğraması ile karakterize bir malignite olan B-ALL/LBL, sıklıkla B lenfoblastları olarak da karşımıza çıkmaktadır. ALL tanılı hastalarının %80-%85'i B hücre orjinli olarak bilinmektedir. B-ALL semptomları çoğunlukla sinir sistemi, dalak, karaciğer ve lenf düğümleri gibi bölgelerde görülürken, LBL semptomları nadir olarak lenf düğümlerinde görülmekteyken sıklıkla yumuşak dokularda, ciltte ve kemiklerde ortaya çıkmaktadır. Hastaların, spesifik olmayan bulguları çoğunlukla iştahsızlıkla devam eden kilo kaybı ve vücut ısısının yükselmesine bağlı olarak halsiz hissedilmesi gibi bulguları içermektedir. Klinisyenleri endişelendiren ve daha spesifik bulgular ise kanda görülen sitopeni veya trombositopeni, lenfadenopati, hepatosplenomegali ve kemik ağrısıyla seyreden, kanda değişken oranlarda dolaşan ve kontrolsüz büyüyen hücrelerin varlığının görülmesine kadar uzanabilmektedir.

Morfolojik olarak, lenfoblastların klasik görünümü, soyundan bağımsız olarak, çok yüksek nükleositoplazmik oran, hafif düzensiz ve sıklıkla çentikli veya yarılmış çekirdek şekli, ince dağılmış kromatin görünür ancak genellikle göze çarpmayan nükleol ve minimal değişken vakuolizasyon ile bazofilik sitoplazma miktarı ve önemli granülerlik yoktur. Auer çubukları

(lizozomlar içinde azurofilik granüller) mevcut değildir. Laboratuvarda yapılan aspirasyon yayma tekniği ile rahatlıkla gözlenebilen lenfoblast morfolojisi, çoğunlukla kan ve kemik iliği hücre tipine benzer özellikler göstermektedir (Lin *et al.* 2000).

Olgun B Hücreli Neoplaziler

B lenfatik sistemin en değişken kliniğine sahip olan olgun B hücreli neoplazmalar, hastalık süreci bakımından ağır ilerleyen türden agresif türe kadar değişkenlik göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırmasına göre olgun B hücreli neoplazmalar içerisinde 47 farklı türünü barındırmaktadır. Bu durum, oldukça fazla alt tür bulundurmasıyla genetik çeşitliliği artan hematolojik malignite türünde, net bir tanı konulması için yeteri kadar belirgin olmayan klasik modele sahip anormallikleri bulunmaktadır. Aşağıdaki genel bakışta, olgun B hücreli neoplazmaların karakteristik immünofenotipik ve genetik özellikleri (Şekil 2) (Luca 2021), histoloji, immünohistokimya ve sitomorfoloji yöntemleriyle birlikte kesin bir teşhis sınıflandırmasına olanak tanımaktadır (Atmaca Mutlu Cansu 2016).



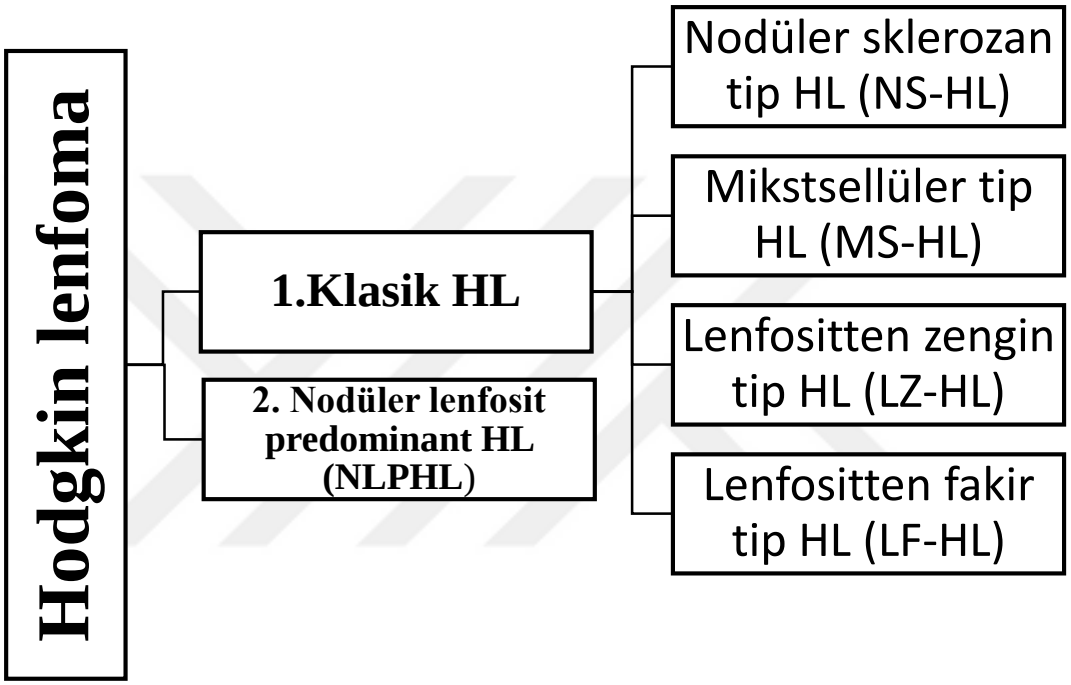
Şekil 2. Olgun B hücreli neoplazmaların karakteristik immünofenotipik ve genetik özellikleri

Hodgkin Lenfoma

Hodgkin lenfoma, B hücresi kaynaklı hücrelerin çoğalması sonucu ayırt edici bir özellik olan çift çekirdekli Reed-Sternberg hücrelerinin oluşumundan kaynaklanmaktadır. ABD'de yılda yaklaşık 8.000 bireye yeni Hodgkin lenfoma tanısı onulmaktadır. Cinsiyet açısından görülme sıklığı E/K oranı 1,4:1 olarak bilinmektedir. Hodgkin lenfoma, çoğunlukla 15-40 yaşları arasında görülmekte iken, en az rastlanan yaş aralığı 0-10 yaş aralığıdır. En sık görülen Hodgkin lenfoma (HL) alt türü klasik HL (%95) olup, nodüler lenfosit predominant HL (NLPHL) alt türünün yaygınlığının daha az olduğu görülmektedir (%5). Klasik HL'nin yaklaşık %70'ini nodüler sklerozan tip hodgkin lenfomalardan meydana gelmektedir. Nodüler sklerozan

tip hodgkin lenfoma türü özellikle gelişmiş ülkelerde en sık görülen hodgkin lenfoma alt türüdür. Klasik HL'nin yaklaşık %20-25'ini mikst sellüler tip HL oluşturmaktadır. NLPHL süreci oldukça yavaş olup, iyi bir prognoza sahiptir. En çok tanı alan NLPHL hastaları genç erkeklerden oluşmaktadır. Neoplastik hücreler popcorn hücreleri olarak adlandırılmaktadır. Hodgkin lenfoma kemoterapiye duyarlı olmakla beraber radyoterapiye de duyarlılık gösteren bir hematolojik malignite türü olarak bilinmektedir. Tedaviye ortalama %80 yanıt alınmaktadır. Hodgkin lenfoma WHO sınıflamasında Tablo 1'de özetlenmiştir (Ekström-Smedby 2006).

Tablo 1. Hodgkin lenfoma WHO sınıflaması



Non-Hodgkin Lenfoma

Non-Hodgkin lenfoma (NHL), hastalarda görülen klinik tablosu, histopatolojik, moleküler biyoloji ve genetik özellikleri bakımından ele alındığında bir grup heterojen hastalıktan oluşmaktadır. Bu heterojenitenin asıl nedeni NHL hastalığının klinik belirtileri, T ve B hücre hatlarının olgunlaşma süreçlerinde meydana gelen mutasyonların oluşumuna bağlı olarak gerçekleşmektedir. NHL' nin görülme sıklığı ve ölüm oranı gelişmiş ülkelerde daha sık izlenmektedir. Ülkemizde NHL, çoğunlukla erken yaşta ve erkek bireylerde karşımıza çıkmaktadır (Grulich and Vajdic 2005).

Hematolojik malignite türlerinden biri olan non-hodgkin lenfoma türünü etkileyen en bilindik risk faktörleri, B lenfositlerin T hücre fonksiyonlarının zayıflamasına sebep olan HIV/AIDS, B lenfositlerin artarak farklı bir yapıya dönüşmesinde rol oynayan Epstein Barr virüs (EBV) ve organ transferleridir. Tarım işçileri, böcek ilacı üreticileri ve uygulayıcıları, orman bölgelerinde çalışan işçiler, sentetik maddelerin üretimi ile ilgili endüstrilerde çalışanlar ve bu tür iş kollarında görevli bireylerde NHL'ye yakalanma riskinin arttığı ortaya çıkarılmıştır. Bu mesleklerde phenoxy awidlere, organofosfatlara, organokloridlere, benzene ve buna benzer organik solventler ile karşı karşıya kalan bireylerde daha fazla olduğu belirtilmektedir. Hastalık, hastalığın geliştiği organ veya dokuya, tümörün oluşma ve yayılma hızına bağlı olarak klinik tablo oluşturduğu bilinmektedir. İlk anda hastaların %10' unda kliniğe yansıyan belirtilerinde yüksek ateş, çok fazla terleme, son 6 ayda vücut yaklaşık %15'ini kaybetme gibi belirtiler bulunmaktadır. Bu semptomlara sahip olan hastaların genellikle ileri evre olma olasılıklarının daha fazla olduğu belirtilmektedir. Daha az hızlı seyreden NHL' de ağrı olmayan periferik lenfadenopati çoğu zaman bulunur ve bazı zamanlar lenf bezinde fark edilebilir küçülme ve büyüme gözlenebilmektedir. MALT türü lenfomalar, parotis, tiroid, mide ve akciğer dokusunda çoğalmış olarak ortaya çıkabilmektedir. Gastrik MALT türü lenfomalar, Helikobakter pylori ile ilişkili olması sebebiyle tedavide farklı bir öneme sahiptir. Yavaş ilerleyen lenfomaların oluşmasının farklı bir özelliği de periferik kan bölgesinde çoğalmaları ve dalak büyümesiyle meydana gelmesidir. Kemik iliği bölgesinde tümör oluşumu yavaş seyirli lenfomaların %32' sinde gözlenmektedir. Hepatosplenomegalinin daha çok ileri seviye küçük B hücreli lenfomalar, folliküler ve splenik marjinal lenfomalarda meydana geldiği belirtilmektedir. Hepatomegalin genellikle sağ üst kadran ağrısı, kusma, mide bulantısı, koagülopati ve sarılıkla ortaya çıkmaktadır (Adamson *et al.* 2007).

Miyeloid Neoplaziler

Akut Miyeloid Lösemi

İyonize radyasyon, benzen ve sitotoksik ilaçlar AML oluşumuna sebep olan risk faktörleri olarak bilinmektedirler. 100 rad'dan fazla iyonize radyasyona maruz kalan hastalarda yaklaşık olarak yedi yıl sonra 5. ve 7. kromozom anomalileri ile gelişen AML riski artmaktadır. Benzen ile sürekli temas halinde olan bireylerde, sigara kullanımında, toksik boya, herbisid ve pestisidler ile çalışan bireylerde de AML hastalığının görülme riski artmaktadır. İlaçlardan; melphalan, siklofosfamid, nitrojen mustard türevi alkilleyici özelliğe sahip maddeler içeren ilaçları kullanan hastalarda 4 yıldan sonra 5. ve 7. kromozom mutasyonu oluşumu ile devam eden sekonder (ikincil) AML, etoposid gibi topoizomeraz II inbitörleri içeren maddeleri kullanan hastalarda ise daha kısa bir sürede 11. Kromozomda meydana gelen mutasyon ile

başlayan, daha çok monositik türe benzer sekonder AML görülebilmektedir. Ayrıca Ataxia telenjiektazi, Bloom sendromu, Fanconi aplastik anemisi gibi benzer kromozom instabilitesinin varlığı bilinen hastalarda ve kromozomun yapısal ve sayısal mutasyonları sonucu oluşan Down sendromunda da AML hastalığının riski artış göstermektedir (Madanat *et al.* 2019).

AML semptomları genellikle birdenbire ortaya çıkar ve anemi kliniğine benzer semptomlar görülmektedir. Nötropeni kliniğine ek olarak ortaya çıkan iltihap sebepli vücut sıcaklığı yüksekliği sıklıkla oluşmaktadır. Trombositopeni ile ilişkili peteşi purpura çoğunlukla görülmektedir. AML-M3 alt tipinde, önemli bir kanama oluşumundan sorumlu yaygın damar içi pıhtılaşması ortaya çıkmaktadır. Daha az sıklıkta beyaz küre sayısı yüksek olan hastalarda tümör lizis sendromu ve lökostaz ile ilişkilendirilen semptomlar görülmektedir. Lökositoz belirtileri; nefes almada güçlük, oryantasyon bozukluğu ve göğüs ağrısı gibi bulgularla ilişkilendirilmektedir. Tümör lizis sendromu kliniğinde ise hiperkalsemi, hiperürisemi, azotemi, asidoz, hipokalsemi, hiperfosfatemi kliniği sebepli semptomlar görülmektedir. Fiziki muayenede ise sternal hassasiyet, lenfadenopati, dalak ve karaciğer büyümesi meydana gelmektedir. Monositik komponente sahip AML hastalarında diş eti hipertrofisi, ciltte gözlenen tümör bulguları ve bununla birlikte santral sinir sistemini etkileyen semptomlar daha çok gözlenmektedir. AML'de FAB sınıflandırması Tablo 2'de gösterilmiştir (Jabbour *et al.* 2006).

Tablo 2. AML'de FAB Sınıflandırması

AML Alt Tipi	Tanımı
M0	Minimal farklılaşma gösteren akutmiyeloblastik lösemi
M1	Olgunlaşma göstermeyen akut miyeloblastik lösemi
M2	Granülositik olgunlaşma gösteren akut miyeloblastik lösemi
M3	Akut promiyelositer lösemi
M3v	Akut variyant promiyelositer lösemi (mikrogranuler)
M4	Akut miyelomonositer lösemi
M4Eo	Akut eozinofilik miyelomonositer lösemi
M5a	Akut monoblastik lösemi
M5b	Akut monositer lösemi
M6	Akut eritrolösemi
M7	Akut megakaryobalstik lösemi

Kronik Miyeloid Lösemi

Kronik granülositik lösemi olarak da bilinen Kronik Myeloid Lösemi (KML), Kronik Myeloproliferatif Hastalıklarının (KMPH) alt türlerinden birini oluşturmaktadır. KML, pluripotent kök hücrenin myeloid progenitör hücrelerinde meydana gelen azalmış apoptozu ve artmış proliferasyon ile gelişen bir hastalıktır. Philadelphia (Ph) kromozomu, Kromozom 9 ve

22'nin uzun kolları arasında meydana gelen dengeli resiprokal translokasyon t(9;22) (q34;q11) sonucu oluşan kök hücrelerinin malignitesi olarak ortaya çıkmaktadır. Kemik iliğinde fazlaca splenomegali, myeloid hiperplazi ve buna ek olarak periferik kanda olgun ve genç myeloid hücrelerden oluşmuş yüksek lökosit sayısı ile ilişkili semptomlar gösteren bir hematolojik malignite türüdür (Goldman and Melo 2003). Akut lösemide görülen klinik tablonun tersine, lösemi hücrelerinin farklılaşma kabiliyetleri bulunmaktadır. KML'nin klinikopatolojik seyrinde kronik faz, akselere faz ve blastik faz olmak üzere üç farklı evre bulunmaktadır. KML, tüm lösemilerin %15'ini oluşturmaktadır. Avrupa ve diğer batılı ülkelerde yıllık insidansı 1-2/100000 olarak belirtilmiştir. KML'nin görülme sıklığı açısından genellikle erkek hastalarda kadın hastalara göre daha sık görülmektedir (1.5:1). Ortalama görülme yaşı bu hastalık açısından 45-55 yaş aralığı olarak tespit edilmiştir. İnsidansı yaşla artış içerisinde olmakla beraber, 60 yaş üstü hastalar tüm hastaların %30'unu oluşturmaktadır. KML hastalığına sebep olan semptomlar genellikle yaşa, cinsiyete ve oluşan mutasyonlara göre değişkenlik göstermektedir. Tanı anındaki vakaların %30'u asemptomatik özellikler göstermektedir. Hastaların büyük bir çoğunluğu kronik fazda tanı alırken, %10'u akselere fazda, %10'u da blastik fazda iken tanı almaktadır. Kromozom mutasyonlarının oluşmasından hemen hemen altı yıl sonunda klinik bulgular ortaya çıkmaktadır. Miyeloid hiperplazi ve splenomegali semptomları gösteren kronik fazdan sonra akut lösemi özellikleri bulunduran blastik faz gözlenmektedir. Birkaç ay süren agresif blastik faz, genellikle hastanın ölümü ile sonuçlanmaktadır (Silver 2003). Çabuk yorulma, efor intoleransı, halsizlik gibi anemi semptomları, trombosit disfonksiyonuna bağlı semptomlar (ekimoz, hemoraji, hematom, retinal hemoraji, tromboembolik olaylar), hipermetabolik duruma bağlı semptomlar (iştahsızlık, vücut ısısının yükselmesi, gut, kilo kaybı), splenomegali ile ilişkili semptomlar (hızlı doyma, karında şişlik ve ağrı), hiperviskosite ve hiperlökositoze bağlı bulgular en çok rastlanan KML semptomlarıdır. Fiziki muayeneden geçen hastaların %50-90 oranında splenomegali, %10-20 oranında ise hepatomegali görülmektedir. Lökostaz varlığında Sternal hassasiyeti meydana gelmektedir. Blastik fazda terleme, kemik ağrısı ve kilo kaybı gibi semptomlar ortaya çıkmaktadır. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde cilt altı lezyonlar, ekstramedüller hematopoez odakları, lenfadenopati (LAP) oluşumu nadir görülmektedir (Stark and O'Brien 2001).

Genlere Giriş

Bir moleküler tanı laboratuvarında, geleneksel platformlarla çoklu gen taraması, tek seferde bir geni değerlendirmek için nispeten büyük miktarlarda DNA'ya ihtiyaç duyulması ve çeşitli analiz platformlarından sonuçların koordinasyonu ve bir entegre raporda derlenmesi nedeniyle zorlayıcıdır. Yeni Nesil Dizileme (YND) teknolojilerinin büyük ölçüde paralel

sekanslama yeteneği, belirli gen panellerinin veya tüm ekzonların /genomların yüksek verim ile paralel dizilişine olanak sağlamıştır (Mardis 2008).

YND analizleri; patogenezin ve yakın zamanda keşfedilen genetik öncül lezyonların hematolojik malignitelerin oluşumunun daha ayrıntılı anlaşılmasını sağlamıştır. Hematolojik malignitelere neden olan genlerin dizilenmesi ile bu tür malignitelerin heterojen, değişken ve farklı türlere sahip bir hastalık olduğu ortaya çıkmıştır. Genellikle hastaların çoğu birden fazla gende meydana gelen mutasyonlara sahiptir. Hastalık, herhangi bir zamanda bir ya da birden fazla mutasyonun bir arada bulunması ile zamanla gelişmektedir. YND, hematolojik maligniteler gibi moleküler olarak heterojen hastalıklarda hastaya özgü mutasyonların genlerini tam kapsayacak şekilde tespit edilmesini sağlamaktadır. Genomik bir sınıflandırma klinik ilişkiyi öngörmese de, nedensel mutasyonlara dayalı temeli, hastalığın moleküler özelliklerinden klinik özelliklerine bir köprü sağlayabilme özelliğine sahiptir. Bu nedenle YND; bu malignitelerde doğru risk sınıflandırması için tercihen kemik iliği örneklerinin rutin çalışmasına dahil edilmelidir. Günümüzde, klinik uygulamalar açısından genetik profillemelerin uygulanabilirliği sayesinde, tanı alan hastaların hematolojik maligniteler açısından alt türlerinin moleküler genetik yöntemleri ile belirlenebilmesi sağlanmıştır. YND'nin ortaya çıkması, çeşitli bireysel mutasyonları ve bunların potansiyel kombinasyonları ile ilgili bilgiye erişebilmemizi, bununla birlikte tanı anında hematolojik maligniteler ile ilişkili potansiyel riski daha iyi anlamamızı ve karakterize edebilmemizi sağladı. Yeni nesil dizilemenin geliştirilmesiyle geçmişte hematolojik maligniteler için oluşturulan sınıflandırmanın, mutasyonların oluşumu ve etkilediği yolakların aydınlatılmasıyla güncellenmesi gelecekte olması çok muhtemel bir olay olarak karşımıza çıkmaktadır (Mardis *et al.* 2009).

Bizim bakış açımıza göre, klinik kullanım için bir YND paneli, tanısal, prognostik ve belirli bir tedaviye yanıtı öngören ilgili mutasyonları kapsamalıdır. Şimdilerde yapılan çalışmalar sonucunda, hali hazırda miyeloid panel gen içeriklerini kolaylıkla oluşturabileceğimiz bir konsensüs bulunmamaktadır. Biz de hematolojik malignitelerde en çok gözlenen hotpoint mutasyonlar için geliştirilmiş YND miyeloid panelinde gözlenen mutasyonları derleyerek, bu hastalığa sahip hastalarda bu korelasyonları ve bunların risk sınıflandırması ve hasta yönetimindeki potansiyel prognostik değerini daha iyi anlamak ve literatüre katkı sağlamak için yola çıktık.

Hematolojik malignite patogenezinde rolü olan genleri etki mekanizmalarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

1- Sinyal aktivasyonu yoluyla. *ABL1, CBL, FLT3, KRAS, JAK2, NRAS, PTPN11*

2- Histon modifikasyonu yoluyla. *ASXL1, BCOR, EZH2*

3- DNA metilasyonu yoluyla. *DNMT1, DNMT3A, IDH1, IDH2, TET2*

4- Traskripsiyon faktörü. *CEBPA, ETV6, GATA2, RUNX1*

5- Tümör süpresör. *ATM, PHV6, TP53*

6- Spliceosome. *HNRNPK, LUC7L2, SF3B1, SRSF2, U2AF*

7- Diğer. *NOTCH1, NPM1*

Hematolojik maligniteler için yapılan sitogenetik ve moleküler PCR yöntemlerinin yanı sıra, hastalığın kliniğine ve tedavi sürecine daha açıklayıcı bir yaklaşım sunan YND yönteminin kullanımı günümüzde gittikçe artmaktadır (Mardis *et al.* 2009).

YND uygulamasında gereksiz geniş ve maliyetli panel kullanımını sınırlayacak yararlı, gerekli, pratik panel dizisini çalışmak önemlidir. Bu sebeple standartlaştırılmış kriterler geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Laboratuvarımızda YND ile miyeloid panel kapsamı; *ASXL1, CALR, CBL, CEBPα, CSF3R, DNMT3A, EZH2, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, NPM1, NRAS, RUNX1, SETBP1, SF3B1), SH2B3, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1* ve *ZRSR2* genlerini içermektedir.

Yeni Nesil Dizileme

Genetik bilimi tarihine bakıldığında, İnsan Genom Projesi'nin tamamlanmasının postgenomik alanın ortaya çıkmasında önemli bir rol üstlendiği görülmektedir. İnsan genomundaki hücresel hemostaz, hastalığın oluşması ve süreci ile ilişkili düzenleyici ağlar (regülatör network) ve bu ağlarda görev alan fonksiyonel bileşenlerin tanımlanmaya başlanması bu projenin tamamlanmasıyla sağlanmıştır. Hücresel aktivitelerin başarılı bir şekilde devamı, genomdaki bu bileşenlerin açıklığa kavuşturulması ve bunların popülasyonlar içerisindeki farklılıkları bireye spesifik tedavinin geliştirilmesine de temel oluşturmaktadır. Son yıllarda üzerine birçok araştırma yapılan yeni nesil DNA dizileme teknolojisi, genetik/epigenetik mekanizmalarda görev alan yolakların, kromatin yapısını oluşturan moleküllerin, çekirdek seviyesinde düzenlemelerin ve genomik çeşitlilik ile ilgili bilgi alışverişini kolaylaştıran önemli bir araç haline gelmektedir (Schuster 2008). Yeni nesil DNA dizileme yöntemleri ile yüksek doğrulukla ve hızlı bir biçimde dizileme yapılabilmektedir. Bu yöntemler sonucunda ortaya çıkarılan bir mikrobiyal genom sekans dizisi araştırmacılara başka hiçbir deneysel metodu kullanarak elde edilemeyecek kadar değerli ve spesifik bilgi sağlamaktadır. Yeni nesil dizileme teknolojisi geliştirilmeden önce Sanger Sekanslama, Pirodizileme gibi teknolojilerin gündemde

olduğu bilinmektedir. Ancak bu yeni teknoloji geliştirilerek özellikle klinik alanlarda kullanımı açısından birçok fayda sağlamaktadır (Spencer *et al.* 2014).

Sanger Dizileme

Gen sekans çalışmalarında sıklıkla kullanılan yöntem, shotgun tekniği ile Sanger (dideoksi) yöntemidir.

Frederick Sanger 1977'de, şimdilerde Sanger dizileme yöntemi olarak bilinen zincir sonlandırma yöntemine dayalı yeni bir DNA dizileme yöntemi geliştirmiştir. DNA'nın oluşumunda, deoksiriboz şekeri, organik bazlar (Adenin, Timin, Sitozin ve Guanin) ve fosfat grupları bulunur. Bu azotlar oluşturdukları hidrojen bağlarıyla nükleotit yapılarını meydana getirir. Nükleotitlerin bir araya gelerek oluşturduğu genlerin dizilenmesine kullanılan yöntemlerden birisi ise Sanger Dizileme metodudur. Zincir sonlandırma yöntemi olarak da adlandırılan Sanger dizilemenin temeli, zinciri sonlandırmak için dideoksinükleotitler (ddNTP) nükleotidinin kullanılmasıdır. Bu yöntemde, DNA dizilerinin birden fazla kopyası, birincil deoksi nükleotitler, dideoksi nükleotitler ve DNA Polimeraz I enzimi ile birleştirilir. Ortamda bulunan her nükelotit, kendinden önceki nükleotidin 3'OH ucu ile bağ oluşturmaktadır. Dideoksinükleotid trifosfat molekülünün 3'OH içermemesi zincir uzamasını durdurarak zincirin son nükleotidini oluşturmaktadır. Bu DNA dizileri, sanger cihazında kılcal jel elektroforezi prensibine dayalı bir yöntem ile sekanslanmaktadır (Sanger *et al.* 1977).

Shotgun Dizileme metodu temel olarak oldukça büyük boyutlarda bulunan DNA'nın, herhangi bir spesifik enzim kesim yöntemi kullanılmadan, yaklaşık 300 ile 800 baz çifti aralığında olacak şekilde fragmanlara ayrıştırılmasıyla gerçekleştirilir. Bu DNA parçacıkları, uçlarına eklenen adaptörlerden DNA'ya bağlanan boncuklar ile bir DNA kütüphanesi oluşturulur. Her bir boncuğa bağlanan DNA molekülü ayrı ayrı dizilenir ve okunan bütün parçalar biyoinformatik yöntemler ile analiz edilir. Shotgun Dizileme tekniği genetik alanında çalışmalar yapan birçok önemli bilim insanı tarafından kullanılmıştır. Bu yöntem sayesinde büyük boyutlarda geomik DNA'ya sahip insan gibi karmaşık genomlardan *Drosophila melanogaster* genomuna ve *Haemophilus influenzae* gibi bakteri ve virus genomlarına kadar birçok türün tüm genom haritası ortaya çıkarılmıştır (Genome *et al.* 1998).

Pirodizileme Metodu

Son yıllarda gelişen teknolojik yenilikler ile karmaşık örneklerin olabilecek en yüksek hızda ve boyutlarda sekanslanmasına olanak sağlamıştır. Ronaghi ve ekibi 1996'da "Sentez Yoluyla Dizileme" prensibine dayalı "Pyrosequencing" yöntemini geliştirmiştir.

Pirodizileme (pyrosequencing) Sanger sekansa kıyasla büyük boyutlarda DNA sekansını düşük bir maliyet ile gerçekleştirmesi sebebiyle Sanger dizilemenin yerini almaktadır. Pirodizileme kısaca kemilüminesans bir enzim aktivitesiyle DNA polimeraz aktivitesinin tespitine dayanmaktadır. İlk aşamada çift zincirli DNA yaklaşık 600 bazçifti olacak şekilde fragmantasyonlarının oluşturulması için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) işlemi gerçekleştirilir. Daha sonra sekans primerleri içeren adaptörler elde dilen fragmanlara bağlanır. Adaptörleri taşıyan DNA fragmanlarının mikroreaktörler içerisinde amplifikasyonu gerçekleştirilir. PCR sonucunda yaklaşık olarak 10 milyon kopyaya ulaşan DNA fragmanları sentez yoluyla dizileme yöntemiyle yaklaşık 3.6 milyon kuyu içeren bir plate'de sekanslanır. Sekans primeriyle, tek sarmallı kalıp DNA'ya rastgele eklenen Adenin, Sitozin, Guanin, Timin nükleotitlerinin kalıp DNA dizisinde bulunan nükleotitler ile bağ yapması sonucunda ortamda bir ışık oluşmaktadır. Bu ışığı oluşturan kemilüminesans sinyalin DNA dizisine hangi nükleotidin bağlanması sırasında oluştuğu saptanır. Sabitlenen tek iplikli deoksiribonükleik asit (ssDNA), DNA polimeraz, lüsiferaz, ATP sülfirilaz, apiraz, lusiferin ve adenozin 5′ fosfosülfat (APS) ile birlikte inkübasyona bırakılır. Nükleotid akışı sırasında tamamlayıcı nükleotit bağlanması gerçekleştiğinde DNA polimeraz pirofosfat (PPi) açığa çıkarak ATP sülfirilaz enzimi PPi'ı kantitatif olarak ATP'ye dönüştürür. Ardından ATP, lüsiferaz enziminin aktivasyonu ile lusiferinin oksilusiferine dönüşmesine neden olur. Oksilusiferin ise görülebilir bir ışık açığa çıkarır. Bu ışığın yaydığı ışık demeti frekansı ATP miktarıyla doğru orantılıdır ve aynı dizi üzerinde bulunan tek nükleotid tekrarları (homopolimer) bu sayede tespit edilir. Ortaya çıkan bu ışık CCD kamera tarafından kaydedilerek bilgisayar programı yardımıyla analiz verilerine dönüştürülür. Pirodizileme yöntemi kullanılarak, klonlama yöntemi kullanılmadan, 7.5 saatte 100-500 milyon bazlık dizileme yapmak mümkündür. Bu sistem daha önce yıllar alan dizileme çalışmalarını haftalar içinde sonuçlandırmayı sağlayan bit yöntem olarak dizileme teknolojilerinin arasında yerini almıştır. DNA'nın mevcut çift sarmallı yapısını keşfeden ve Nobel ödülü almış araştırmacı Dr. James Watson'in genomu bu yöntem ile dizilenmiştir (Ronaghi *et al.* 1999).

Dizileme Metodları kısaca özetlenirse, aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir;

1. Sanger Methodu
2. Pirodizileme Methodu
3. Siklik geriye dönüşümlü sonlandırma (cyclic reversible termination) ile dizileme
4. Ligasyon yolu ile dizileme
5. Ion semikonduktor dizileme

6. Nano dizileme

Yeni nesil dizileme için geliştirilen birçok yöntem bulunmaktadır. Bizim tezimizde kullandığımız yöntem, hematolojik malignitelerde sıklıkla görülen mutasyonları kapsayan hotspot bir paneldir (Qiagen Myeloid DNA UMI Panel).

Panel içerisinde bulunan 19 gende sıklıkla karşılaşılan mutasyonlar tespit edilmiş ve panel içerisine eklenmiştir. Kan veya kemik iliği örneklerinden elde edilen DNA'ların kullanıldığı bu panel, iş akışı olarak diğer YND yöntemlerine benzerdir. DNA izolasyonu, PCR kitaplığı oluşturma, sekansa hazırlama ve sekans işleminin başlatılması gibi adımları içerir.

Sekans cihazı içerisinde yüksek çözünürlüklü bir kamera ve çözeltileri içerisinden geçirebileceği kılcal boruları barındırır. Flowcell adını verdiğimiz bir tarafı cam yüzeyli metal bir tabakaya kütüphane hazırlıkları tamamlanıp havuzlanmış örnekler yüklenir. Cihaz içerisinde gerekli sekans solüsyonları da eklendikten sonra sekans işlemi başlar. Sekans işlemi yaklaşık 36 saat sürer. Teknik detaylara girmeden kısaca mantığından bahsedecek olursak; Flowcell içerisinde bulunan örnekler cam yüzeye sabit olarak bulunan primerlere bağlanır. Daha sonra sekans solüsyonları bu flowcellin içerisinden geçerek pirodizileme mantığıyla benzer şekilde rastgele nükleotitler gönderir. Her bir nükleotitin bağlanmasıyla farklı bir ışıma meydana gelerek, yüksek çözünürlüklü kamerada sürekli fotoğraflama gerçekleşir. Nükleotit bağlanmasından gelen ışımayı doğru analiz edebilmek için çok sayıda fotoğraf çeken kamera, bunları üst üste koyup değerlendirerek hangi nükleotitin bağlandığına karar verir. Bu aşama cihazda gerçekleşen birincil analiz olarak adlandırılır.

Sekans bittikten sonra oluşan datalar bilgisayara aktarıldıktan sonra ikincil analize geçilir. İkincil analizde, cihazda oluşan fastq adını verdiğimiz dosyalar oluşur. Fastq cihazdaki sekansta oluşan biyolojik datanın primerler ve okuma kaliteleri ile eşleştirip veren datadır. Oluşan bu dosya firmanın sağladığı analiz platformuna yüklenir. QCI platformu oluşan datayı inceleyerek; okuma derinliği, okuma kalitesi, kapsanan genler ve oluşan varyantları görüntülemeyi sağlar. Kalite kontrolleri yapılan datalar variant calling adı verilen VCF dosyalarına dönüşür. Bu dönüşümden sonra üçüncül analize geçilir. Bu aşamada, firma oluşan mutasyonları inceleyebileceğimiz QIAGEN QCI Clinical Insight adı verilen ikinci bir analiz platformu sunar. Bu platform kendi içerisinde haftalık güncellenen farklı veri tabanlarını barındırarak oluşan varyantları değerlendirmeyi mümkün kılar. Platform içerisinde genin adı, bulunduğu pozisyon, oluşan mutasyonun protein ve kodon kodu, allelik ve somatik frekans gibi değerler incelenerek raporlama kısmına geçilir. Klinik kullanım için oldukça faydalı ve hızlı bir çözüm sunan yeni nesil dizilemenin kullanıldığı farklı alanlar aşağıda belirtilmiştir.

Yeni Nesil Dizileme Yöntemlerinin Kullanım Alanları;

1. Metagenomik
2. Bitkiler ve tarımsal biyoteknoloji
3. Atasal DNA
4. Transkriptom
5. Küçük RNA’lar (Small RNA) dizilenmesi
6. Metilasyon analizi

MATERYAL VE METOT

Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar

Bu çalışmada 2018-2022 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürlüğü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na başvuran, hematolojik malignite tanısı veya ön tanısı almış 18 yaş üstü hastalar dahil edilmiştir. 18 yaş altı olan, ilave bir kanser tanısı bulunan, hamile hastalar ve 80 yaş üstü hastalar hariç tutulmuştur. Uygun kriterlere sahip olan hastaların, hemogram kanlarından izole edilen DNA'lar kullanılmıştır. Tez kapsamında yapılan tüm çalışmalar için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınmıştır (Tarih: 01.12.2022, Karar no: 74) (Bkz. EK-1).

DNA Sekans Analizi

Periferik kandan DNA İzolasyonu

Hastalardan EDTA'lı tüplere alınan 5 ml kan örneklerinden, QIAamp DNA Blood Mini QIAcube Kit (QIAGEN, Germany) kiti kullanılarak, üretici firmanın talimatları doğrultusunda izolasyon işlemleri QIAGEN QIAcube (fully automated) izolasyon cihazında gerçekleştirildi. Uygulanan protokole göre; örnek alınan tüpten 200 µl kan otomatik pipet yardımıyla alınarak 2 ml tüpe koyulur. Buna ek olarak kit içerisinde bulunan çeşitli solüsyonlar cihaza yerleştirilir. Örnek sayısına uygun olarak kit içerisinden çıkan kolonlar cihaza yerleştirilir ve izolasyon işlemi başlatılır. Otomatik izolasyon cihazı çalışma prensibine göre, cihaz kendi içerisinde kan örnekleri üzerine çeşitli solüsyonlar ekler. İçerisinde bulunan santrifüj yardımıyla kolonlardan geçen örnekler son aşamaya geçerek DNA izolasyonunu tamamlar.

Şekil 3. QIAGEN QIAcube Otomatik DNA izolasyon cihazı

İzole edilen DNA'ların Konsantrasyon Ölçümü

İzolasyonu gerçekleştirilen örneklerden elde edilen DNA'nın konsantrasyon ölçümleri Invitrogen™ Qubit™ dsDNA Quantification Assay Kits (Thermo Fisher, USA) kullanılarak, The Invitrogen Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher, USA) cihazında ölçümleri gerçekleştirildi. Ölçüm sonuçlarına göre DNA kalitesi 20 ng/µl ve üzerinde olan örnekler çalışmanın bir sonraki aşamasına dahil edildi. DNA kalitesi 20 ng/µl altında kalan örnekler ise hastalardan tekrar kan alınarak yeniden izolasyona alındı.

Şekil 4. The Invitrogen Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher, USA) DNA konsantrasyon ölçüm cihazı

PCR ve Kütüphane Oluşturma Basamakları

Hastalardan elde edilen DNA örneklerinin, laboratuvarımızın rutininde kullanılan hematolojik malignite tanısı veya ön tanısı almış hastalar için istenen QIAact Myeloid DNA UMI Panel (QIAGEN, Germany) PCR Kiti kullanılarak kütüphane hazırlıkları için PCR aşamaları gerçekleştirildi. Üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilen aşamalar;

1. Fragmantasyon
2. Adaptör Bağlama
3. Hedef primerler ile DNA zenginleştirme
4. Manyetik boncuklar ile zenginleştirilmiş kütüphanenin temizliği
5. Yeni Nesil Dizileme teknolojisine uygun barkodlarla hastaları etiketleme

6. Oluşturulan kütüphaneleri 10-20 ng/µl (yaklaşık olarak 240 bp) aralığında olacak şekilde belirlenen konsantrasyon için hazırlanması ve cihaza koyularak sekansın başlatılması gibi aşamaları içermektedir.

Şekil 5. QIAGEN GeneReader Yeni Nesil Dizileme Cihazı

Sekans sonrası oluşan verilerin analizi

Sekansı gerçekleşen örnekler, bilgisayar ortamında biyoinformatik analiz için kit sağlayıcı firmanın kurduğu QIAGEN CLC Genomics Workbench (Qiagen, Germany) platformunda analiz edildi. Bu platform kullanılarak; hastalarda görülen patojenik veya muhtemel patojenik varyantlar, bu varyantların görülme sıklığı, varyantların farklı kanserlerdeki frekansı, tüm popülasyonda gözlenen varyantın farklı etnik kökenlere göre sınıflandırılması, yapılan somatik ve germline çalışmalar sonucunda öngörülen biyokimyasal etkisi, tedavi açısından gözlenen mutasyonun duyarlı ve dirençli olabileceği ilaçlar hakkında yapılan çalışmalar incelenmiştir. Buna ek olarak, platform kendi alt yapısında kullanmakta olduğu Allele Frequency Community, Genome Aggregation Database (gnom AD), 1000 Genomes, NHLBI, Exome Sequencing Project, American Society of Clinical Oncology, Compheresive Cancer Network, European Society of Molecular Oncology, American College of Medical Genetics, Clinical Pharmacogenetics Implementation Concorcium, College of American Pathologists, World Health Organization, European Leukemia Net, OMIM, HGMD, CentoMD, ClinVar, COSMIC gibi farklı analiz platformlarının varyantlar ve oluşan mutasyonlar hakkında hastaya tanı koyulması ve tedavi edilmesi açısından data analizine yardımcı olmuştur. Detaylı analizler için ayrıca VarSome, GeneReviews, PubMed, Franklin, NGS Cloud Search adlı veritabanları kullanılmış olup dataların detaylı yorumlanması sağlanmıştır.

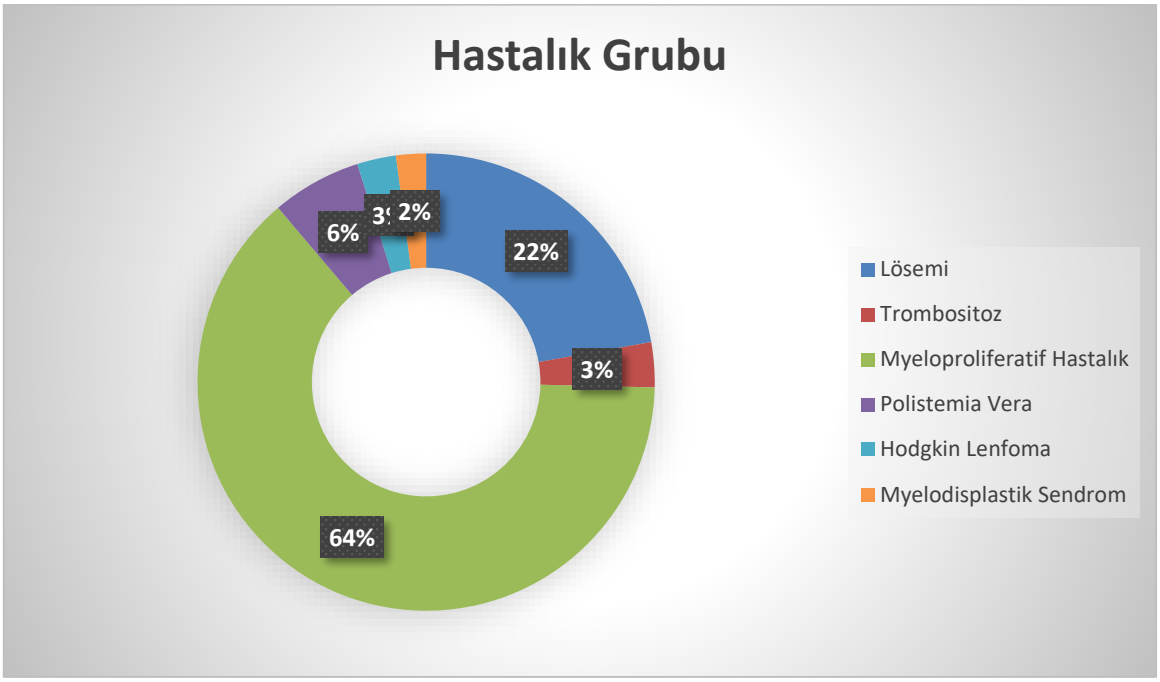
Data analizi ve varyantların değerlendirilmesi

Yapılan analizler sonucunda, hastanın kliniğine uygun olan varyantlar belirlenerek raporlandırılma sürecine geçildi. Kliniğe uygun olarak beklenen patojenik veya muhtemel patojenik varyantlar, görülme sıklığı, oluşan mutasyon tipi ve önerilen ilaç türleri birlikte rapora eklendi. Değerlendirme sürecinde, varyantın okuma derinliği, mutasyonun oluştuğu bölgenin dizisi ve varyant hakkında yapılan çalışmalar incelenip raporlandırılmasına karar verildi. Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında, belirlemiş olduğumuz yıllar arasında değerlendirdiğimiz hastaların sonuçlarını inceledik. Hastalarda görülen varyantları, klinik tabloları ile derleyerek elde ettiğimiz verileri ve çıkarımlarımızı belirttik.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Hastalık Dağılımı

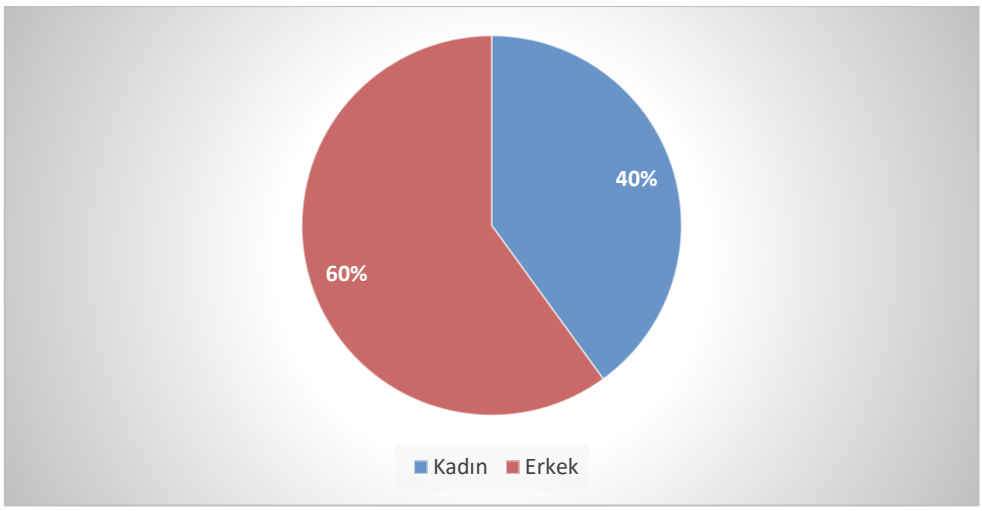
Atatürk Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürlüğü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na 2018-2022 yılları arasında başvuran, hematolojik malignite tanısı veya ön tanısı almış hastaların, hematolojik malignitelerin alt tiplerine göre sınıflandırılması aşağıda grafiklerle belirtilmiştir. Grafiğe göre; hastalık grupları içerisinde en çok Myeloproliferatif Hastalık tanısı veya ön tanısı ile gelen hastalar yoğunlukla görülmüştür. Grafiğe göre, sırasıyla lösemi hastalık grubu, trombositoz ve polistemia vera hastalık grupları görülmüştür.



Şekil 6. Hasta grupları dağılımı

Hastaların Cinsiyet Dağılımları

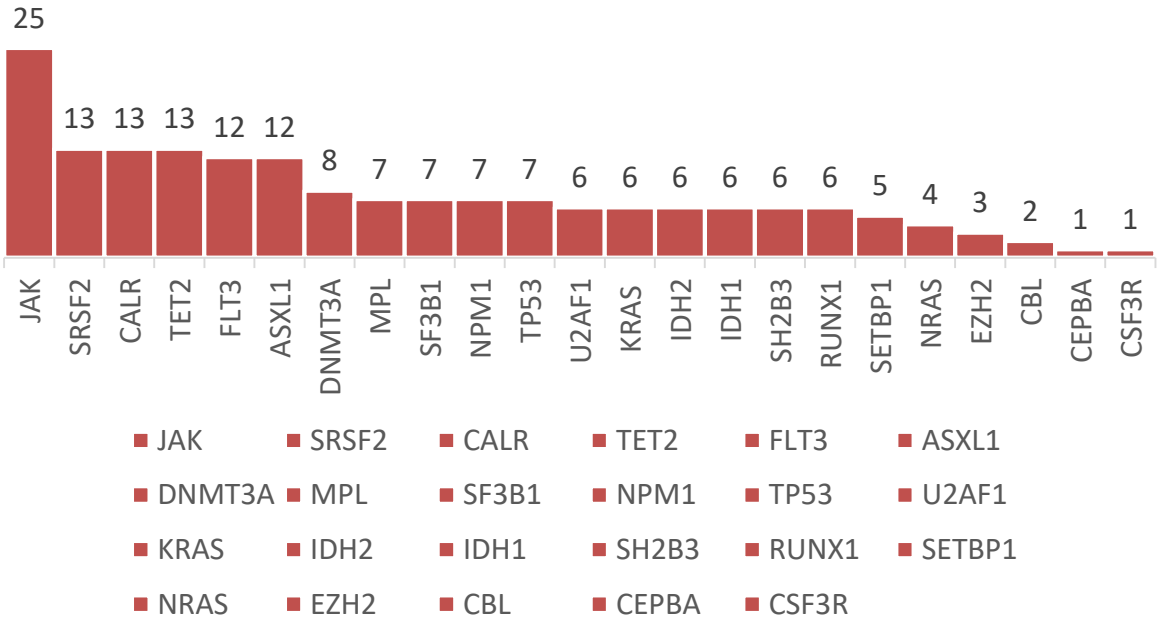
Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyet dağılımı aşağıdaki gibidir.



Şekil 7. Cinsiyet dağılımı

Mutasyon tespit edilen genlerin frekansı

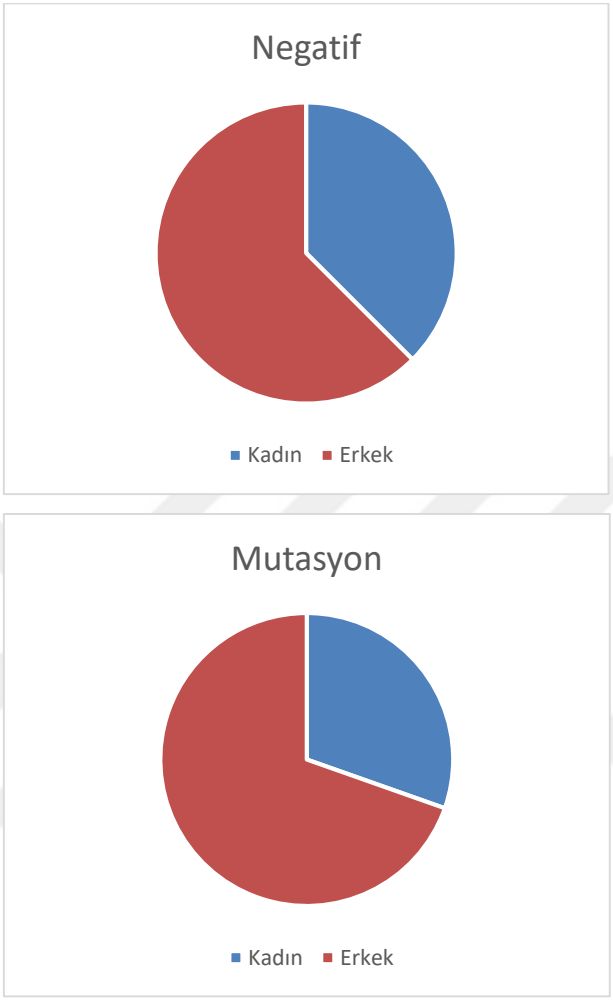
Mutasyon dağılım oranları Şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 8. Hastalarda tespit edilen mutasyonların dağılımı

Cinsiyete göre Mutasyon Dağılımı

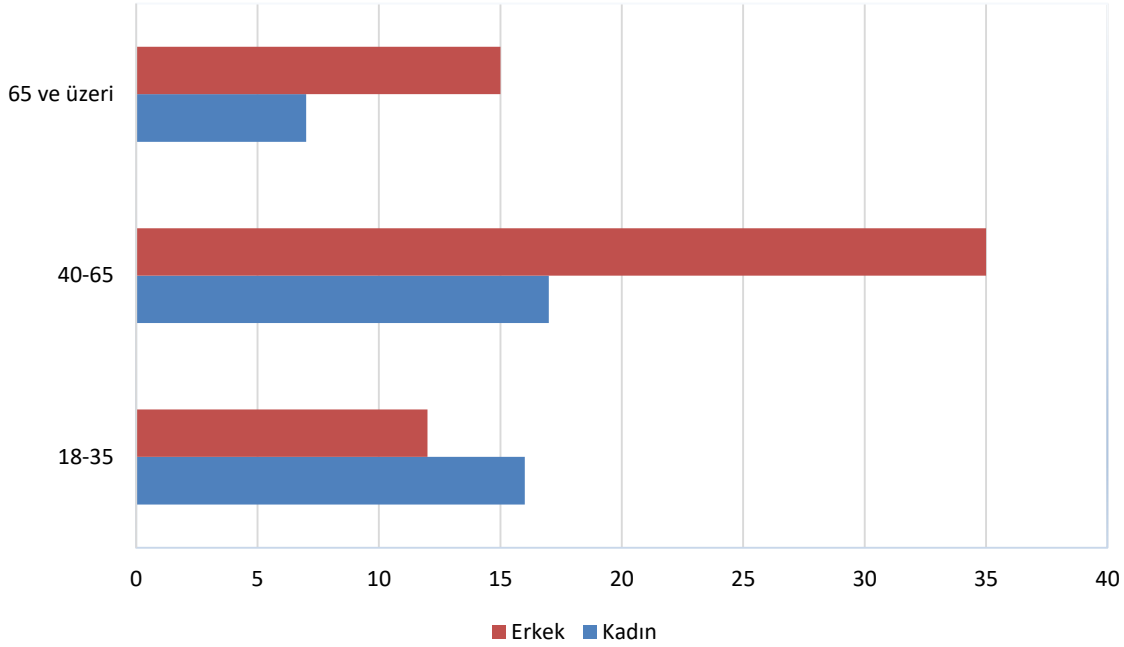
Cinsiyete göre hastalarda görülen negatif ve mutasyona sahip hastaların dağılımı Şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 9. Cinsiyete göre hastalarda görülen negatif ve mutasyona sahip hastaların dağılımı

Yaş Dağılımı

Hematolojik maligniteye sahip hastaların cinsiyete göre yaş grupları Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. Hematolojik maligniteye sahip hastaların cinsiyete göre yaş grupları

Gözlenen varyantlar

Hastalarda yeni nesil dizileme yöntemiyle gözlenen varyantlar Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Hematolojik maligniteye sahip hastalarda yeni nesil dizileme yöntemiyle gözlenen varyantlar

GEN	VARYANT
ASXL1	p.Q780fs; p.E480; p.Q733; p.S577; p.R693; p.S1028; p.808fs; p.R965; p.E635fs; p.Q803
CALR	p.L367fs; p.D373fs; p.K385fs
CBL	p.Y371C; p.F418S
CEBPA	p.T98fs
CSF3R	p.Q741
DNMT3A	p.R882H; p.T645A; p.R882C; p.V716F; p.5714C
EZH2	p.Q180fs; p.R346fs; p.V679M
FLT3	p.V529A; p.D835U; p.I836F; p.E598_Y599 p.Y599_E611dup; p.R595_F612dup p.V592_F612dup; p.M837T p.V581_L601dup; p.R595_E596ins
IDH1	p.R132C; p.E840; p.R140Q
JAK	p.V617F; p.C618R
KRAS	p.G12D
MPL	p.W515L; p.S204P; p.Y591D; p.R43
NPM1	p.W288fs
NRAS	p.G13D

Tablo 3. (Devamı)

RUNX1	p.R1626; p.D198G; p.R107C; p.H404fs; ,p.R346fs
SETBP1	p.S869R; p.G870S; p.D686N
SF3B1	p.K666N; p.R265C; p.K700E
SH2B3	p.E208Q
SRSF2	p.P95H
TET2	p.R544; p.Y233fs; p.Q876; p.E711fs; p.P1131fs; p.V1056fs; p.M496fs; p.Y1618fs; p.Q810; p.L532; p.C1271fs
TP53	p.S215R; p.R273C; p.R287W; p.V143M; p.R248G
U2AF1	p.Q157R; p.S34F

Yeni nesil dizilemenin sağladığı avantajlardan biri olan akıllı ilaç önerisi, hastaların tedavi süreçlerinde önemli bir yere sahiptir. Çalışmamızda incelediğimiz hastalarda görülen mutasyonlara özgü bazı ilaçlar tabloda belirtilmiştir.

Tablo 4. Hematolojik maligniteye sahip hastalarda yeni nesil dizileme yöntemiyle gözlenen varyantlara spesifik önerilen onaylanmış bazı terapiler

GEN	**İLAÇ**
ASXL1	dirençli; PEG-interferon alfa 2a
CALR	duyarlı; PEG-interferon alfa 2a
FLT3	duyarlı; giterinitib, midostaurin, quizartinib, 5-azacytidine/venetoclax, decitabine/venetoclax, venetoclax
IDH2	duyarlı; enasidenib, 5-azacytidine, 5-azacytidine/venetoclax, decitabine, venetoclax, ivosidenib
NPM1	duyarlı; gemtuzumab, ozogamicin
TP53	duyarlı; decitebine
TET2	dirençli; PEG-interferon alfa 2a

Hematolojik maligniteler, tüm kanser türlerinin yaklaşık %6,8'ini oluşturmasına rağmen ülkemizde bu kanser türü üzerine yapılmış çalışmalar oldukça az sayıdadır. Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında, 2018-2022 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürlüğü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na başvuran, hematolojik malignite tanısı veya ön tanısı almış hastalarda görülen mutasyonların incelemesi yapılarak, hastalık hakkında tanımlayıcı verilerin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bununla beraber, incelenen hasta verileri ile birlikte klinisyenler ve diğer araştırma gruplarına faydalı olabilecek veriler elde edilmiştir.

Genellikle hematolojik malignitelere, kadınlara kıyasla erkeklerde daha sık rastlanmaktadır (Abbas *et al.* 2010).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 300 hastanın 132 tanesi (%44) kadın, 168 tanesi (%56) erkek, bununla birlikle E/K oranı ise yaklaşık 1,27 olarak hesaplanmıştır. Hasta sayısı çok geniş tutularak yapılan bir çalışmada, 5013 hematolojik maligniteli hastada erkek hasta sayısı 3468 (%69,2), kadın hasta sayısı 1545 (30,8) tespit edilmiş olup erkek ve kadın hastaların oranı 2,2 olarak saptanmıştır (Paschka *et al.* 2010). Yaptığımız tez çalışmamızda karşılaştığımız erkek hasta sayısının sayıca fazla olması literatüre uygun olarak görünmektedir.

Hematolojik malignitelerin alt türlerinde, en sık karşılaşılan türü lösemilerdir. Yapılan çalışmalarda erkek hasta sayısı kadın hasta sayısına göre daha ağırlıktadır ve genellikle erişkin hastalarda ortaya çıktığı gözlenmiştir (Li *et al.* 2015). Yapmış olduğumuz tez çalışmasında, toplam hasta sayımızın yaklaşık %23'ünde lösemi tanısı almış hasta bulunmaktadır. Bunların %10'u kadın, %13'ü ise erkek hastadan oluşmaktadır. Güney Çin'de 705 hastanın incelendiği bir kayıt çalışmasında erkek/kadın hasta oranı 1,84 olarak hesaplanmıştır (Li *et al.* 2015). Bizim çalışmamızda ise erkek/kadın hasta sayısı oranı 1,3 olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, saptanan oranların çalışmamızın verdiği oran ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Lösemileri başlıca iki grupta sınıflandırdığımızda, en fazla klinik gözlenen hasta grupları akut miyeloid lösemi (AML) ve kronik miyeloid lösemidir (KML). Akut miyeloid lösemi, erkeklerde daha sık görülmesiyle birlikte yaş ortalaması da genellikle 60-68 arasıdır. Tez çalışmamızda ise AML tanılı hastalar için saptanan ortalama tanı yaşı 47,5 olarak bulunmuştur. Literatüre bakıldığında ortalama yaşın tez çalışmamızda daha fazla olması toplam hasta sayımızın fazlalığından kaynaklanabilir.

Kronik miyeloid lösemi, lösemi hastalık grubu içerisinde sık rastlanan ve zorlu bir tedavi sürecine sahip bir lösemi türüdür. Amerika Birleşik Devletleri'nde bir yıl içerisinde yaklaşık 21.040 kişiye KML tanısı konulması beklenmektedir. Yapılan bir çalışmada, incelenen 388 hastanın ortalama tanı yaşı 70 civarında olup görülme sıklığı olarak erkeklerde daha fazla saptanmıştır (Kabadi *et al.* 2019). Çalışmamızda KML hastalarının ortalama tanı yaşı 64,5 olarak hesaplanmıştır. Bu oranın literatürden daha düşük oluşmasının sebebi hasta seçim kriterlerimizde 65 yaş ve üzeri hastaların dahil edilmemiş olması olabilir.

Hematolojik malignite sınıflandırmasında önemli bir kliniğe sahip olan Hodgkin lenfoma hemen hemen tüm yaş gruplarında gözlenebilir. Bununla birlikte en sık 15-35 yaş aralığında ve erkek hastalarda daha yaygın görülür. Hodgkin lenfomanın diğer alt türlerinde ise kadın hasta sayısının ön planda olduğu türleri vardır (Juliusson *et al.* 2009). Türkiye'de geçmiş yıllarda yapılan bir retrospektif çalışmada, 17 yıl içerisinde tanı alan ve takip edilen 4239

lenfoma hastasında Hodgkin lenfoma oranı %19,7 olarak tespit edilmiştir (Sağlam *et al.* 2018). Çalışmamızda ise bu oran %2,6 olarak saptanmıştır. Literatür ile uyumsuz bulunan bu durum KML hasta grubunda olduğu gibi dahil/hariç tutulma kriterlerinden kaynaklanabilir.

Yaşam ömrü oldukça düşük olan miyelodisplastik sendrom, özellikle ileri yaşlarda ortaya çıkan bir hematolojik malignite türüdür. Yapılan bir çalışmada, ortalama tanı yaşı 74 olarak tespit edilmiştir. Tayland'da yürütülen bu çalışmada kadın hasta sayısı 29, erkek hasta sayısı 24 olarak saptanmıştır (Wicaksana and Rachman 2018). Tez çalışmamızda, miyelodisplastik sendrom tanı yaşı yüksek olduğu için az sayıda hasta tespit edilmiştir. Tespit edilen hasta sayısı %3 olup, kadın/erkek oranı eşittir. Hastaların tanı yaşlarının yüksek olması ve kadın/erkek hasta sayısının hemen hemen eşit olması literatürle uyumlu bulunmuştur.

Miyeloproliferatif hastalıklar, hematolojik maligniteler içerisinde tanı açısından en fazla rastlanılan türlerden biridir. Bu malignite türünde, yaşlılık ve erkek cinsiyet bilinen en önemli risk faktörlerinden biridir. Miyeloproliferatif hastalıklar içerisinde polisitemia vera, esansiyel trombositopeni ve miyelofibroz gibi alt grupları barındırır. Literatüre bakıldığında, tüm ırklar ve kökenler için görülme sıklığı yaklaşık olarak 100.000'de erkeklerde 2,8, kadınlarda 1,3 olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda yapılan başka bir çalışmada, ABD'de görülen miyeloproliferatif hastalıkların insidansları 100.000'de 1-2 ile benzerlik göstermektedir (Shallis et al., 2020, Duncavage & Tandon, 2015). Çalışmamızda rastlanan erkek hasta yaklaşık %40, kadın hasta ise yaklaşık %23 olarak saptanmıştır. Erkek hastaların tanı yaş ortalaması 66,2 olup kadın hastaların tanı yaş ortalaması 44,1'dir. Yapılan çalışmalara bakıldığında erkek hastaların yoğunluğu ve tanı yaşının yüksekliği tezimizde bulduğumuz değerler ile uygunluk göstermektedir.

Hematolojik malignitelerin moleküler genetik açısından incelenmesi ile ilgili yapılan araştırmalar sınırlı sayıdadır. Yapmış olduğumuz tez çalışmasında, yeni nesil dizileme yöntemi ile tespit edilen mutasyonların değerlendirilmesiyle literatüre katkıda bulunmayı amaçladık.

RUNX1 geni, hematolojik maligniteler açısından en sık AML hastalığında görülse de, tüm hematolojik maligniteler açısından önemli bir role sahiptir. Gaidzik *et al.* 2439 hastanın incelenmesiyle gerçekleştirdiği geniş çaplı araştırmada, hastaların yaklaşık %10'unda *RUNX1* mutasyonu tespit etmiştir. Yapılan bir diğer meta analiz çalışmasında hastaların yaklaşık %5-10'unda *RUNX1* mutasyonu saptanmıştır (Gaidzik *et al.* 2016, Jalili *et al.* 2018). Yapmış olduğumuz tez çalışmasında ise tespit ettiğimiz *RUNX1* mutasyon oranı yaklaşık olarak %6'dır. Literatüre bakıldığında bulunan mutasyon sayısı çalışmamız ile uyumlu görünmektedir.

TET2'de görülen mutasyonlar genellikle miyeloproliferatif hastalığında veya miyelodisplastik sendromlu hastaların kliniklerinin AML'ye dönüşümü sürecinde tespit edilir

(Delhommeau *et al.* 2009). *TET2* mutasyonlarının insidansı yaklaşık %10-20'dir. Tayvan'da yapılan bir çalışmaya göre, 486 hastayı kapsayan çalışmada TET2 mutasyonu hastaların %13,2'sinde bulunmuştur (Chou *et al.* 2011). Tez çalışmamızda saptadığımız TET2 mutasyonu %13 olup literatür ile uyumluluk göstermektedir.

Hematolojik malignitelerde, en sık gözlenen bir başka mutasyon ise JAK2 geninde oluşan mutasyonlardır. Miyeloproliferatif hastalıkları kapsayan bir çalışmada, 545 hasta taramasından en fazla mutasyon görülen gen JAK2 (%23) olarak tespit edilmiştir (Maxson *et al.* 2013, Schischlik and Kralovics 2017, Song *et al.* 2017). Tez çalışmamızda ise JAK2 geninde görülen mutasyon oranı %25 olup literatür ile benzerlik göstermektedir. Aynı zamanda hastalık grubumuzda da en sık rastladığımız mutasyon olan JAK2 geni mutasyonları miyelofibrozis ve esansiyel trombositopeni tanıları için ana kriterler arasındadır.

ASXL1 mutasyonları genellikle agresif seyreden ve kötü prognoza sahip bir hematolojik malignite türüdür. Hastalarda bu mutasyonun tespiti ve görülme sıklığının açığa çıkarılması, ileri derecedeki araştırmalara ve klinik çalışmalara faydalı olacaktır (Chou *et al.* 2011). Yapmış olduğumuz tez çalışmasında, hastaların %12'sinde ASXL1 mutasyonu gözlenmiştir. Almanya ve Avusturya'nın ortak yürüttüğü bir çalışmada ASXL1 mutasyonu %6,1 olarak saptanmıştır. Tespit edilen görülme sıklığının çalışmamızdan daha düşük olması tez çalışmasında kullandığımız hasta sayısının fazlalığı, köken, çevre ve coğrafi değişikliklerden kaynaklı olabilir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında, Atatürk Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürlüğü Tıbbi Genetik ABD başvuran hematolojik malignite tanısı veya ön tanısıyla başvuran hastaların restrospektif olarak incelenmesi yapıldı. Genellikle, myeloproliferatif hastalık, akut miyeloid lösemi, kronik miyeloid lösemi, hodgkin lenfoma ve polisitemia vera gibi kliniğe sahip hastalarda görülen mutasyonlar yeni nesil dizileme ile değerlendirildi. Panel içerisinde bulunan 19 gene ait hotspot mutasyonların incelendiği tez çalışmamızda görülen mutasyonların, hastanın yaşı, cinsiyeti ve almış olduğu tanıya göre değerlendirilmesi hedeflendi.

Erzurum ve yakın çevresinden başvuran hematolojik malignite tanı veya öntanısı almış hastalarda görülen mutasyonlar yaş, cinsiyet yönünden değerlendirilerek, bölgenin hematolojik maligniteler açısından en çok rastlanan mutasyonları ve bu mutasyonların yaş, cinsiyet vb. dağılı hakkında bilgi edinmek istendi.

Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında, Atatürk Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürlüğü Tıbbi Genetik ABD başvuran hematolojik malignite tanısı veya ön tanısıyla başvuran hastaların restrospektif olarak incelenmesi yaptık. İncelediğimiz hastalarda, gözlemlediğimiz birkaç hastada aynı anda farklı genlerde mutasyonlar olduğunu tespit ettik. Örneğin bir hastamızın 6 farklı geninde mutasyon (RUNX1, JAK, SRSF2, ASXL1, TET2, TET2), diğer bir hastamızın ise 4 farklı geninde mutasyon (EZH2, TET2, NPM1, CEPBA) tespit ettik. Bu tip birden fazla gende mutasyon gözlemlediğimiz yaklaşık 10 hastamız bulunmaktaydı. Yeni nesil dizileme ve hastalığa özgü genlerin aynı anda çalışılabilmesi hastalar için zamandan tasarruf sağlarken aynı zamanda da cost-efektif bir fayda sağlamaktadır. Yeni nesil dizileme yöntemlerinin geliştirilmesi ve hematolojik maligniteye sebep olan genlerin daha net belirlenmesi ile hastalar ve klinisyenler açısından sürecin daha hızlı ve tedavinin daha etkili yürütülmesini sağlayacaktır.

Ülkemizde sağlık alanında özellikle hematolojik maligniteler açısından yeterli veriler bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalar genellikle sayıca az olduğu için daha fazla hasta sayısı ile çalışmalar yapılması gerekmektedir. Yeni nesil teknolojisinin gelişmesiyle birlikte tespit edilen mutasyonlar ile daha hızlı ve efektif bir yaklaşım sağlanabilir. Son olarak, tez çalışmamız dahilinde incelediğimiz hastalarda yeni nesil dizilemenin hem hasta açısından hem de klinisyenlerin tanı ve tedavi sürecine fayda sağlaması açısından rutin kullanımda büyük bir etkiye sahip olduğunu gözlemledik. Yeni nesil dizileme

teknolojilerinin geliştirilmesi, daha kısa sürede sonuçlanıp ve oluşan dataların daha hızlı yorumlanması ile hematolojik malignitelerle mücadele daha da kolaylaşacaktır. Hastaların zorlu kemoterapi süreçlerinden geçmeden akıllı ilaç tedavileri sayesinde yaşam kaliteleri artacak, aynı zamanda daha spesifik tedaviler ile sağ kalım süresi uzayarak ilerleyen zamanlarda hematolojik maligniteler kötü seyirli bir hastalık olmaktan çıkacaktır.

KAYNAKLAR

Abbas, S., Lugthart, S., Kavelaars, F.G., Schelen, A., Koenders, J.E., Zeilemaker, A., Van Putten, W.J.L., Rijneveld, A.W., Löwenberg, B., and Valk, P.J.M., 2010. Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberrations in acute myeloid leukemia: Prevalence and prognostic value. Blood, 116 (12), 2122–2126.

Adamson, P., Bray, F., Costantini, A.S., Tao, M.-H., Weiderpass, E., and Roman, E., 2007. Time trends in the registration of Hodgkin and non-Hodgkin lymphomas in Europe. European Journal of Cancer, 43 (2), 391–401.

Atmaca Mutlu Cansu, 2016. Otolog Kök Hücre Nakli Yapılan NonHodgkin ve Hodgkin Lenfoma Olgularımızın Klinik Özelliklerinin ve Laboratuvar Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Ege Üniversitesi, İzmir.

Auberger, P., Tamburini-Bonnefoy, J., and Puissant, A., 2020. Drug resistance in hematological malignancies. International Journal of Molecular Sciences.

Bennett, J.M., Catovsky, D., Daniel, M., Flandrin, G., G Galton, D.A., and Gralnick, H.R., 1976. Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias. British Journal of Haematofogy.

Chou, W.C., Chou, S.C., Liu, C.Y., Chen, C.Y., Hou, H.A., Kuo, Y.Y., Lee, M.C., Ko, B.S., Tang, J.L., Yao, M., Tsay, W., Wu, S.J., Huang, S.Y., Hsu, S.C., Chen, Y.C., Chang, Y.C., Kuo, Y.Y., Kuo, K.T., Lee, F.Y., Liu, M.C., Liu, C.W., Tseng, M.H., Huang, C.F., and Tien, H.F., 2011. TET2 mutation is an unfavorable prognostic factor in acute myeloid leukemia patients with intermediate-risk cytogenetics. Blood, 118 (14), 3803–3810.

Delhommeau, F., Dupont, S., Della Valle, V., James, C., Trannoy, S., Massé, A., Kosmider, O., Le Couedic, J.-P., Robert, F., Alberdi, A., Lécluse, Y., Plo, I., Dreyfus, F.J., Marzac, C., Casadevall, N., Lacombe, C., Romana, S.P., Dessen, P., Soulier, J., Viguié, F., Fontenay, M., Vainchenker, W., Bernard, O.A., Roussy, G.F., Paris FD, U.X., St Antoine, H., and Cochin, H., 2009. Mutation in TET2 in Myeloid Cancers A bs tr ac t. N Engl J Med.

Dhakal, P., Lyden, E., Muir, K.-L.E., Al-Kadhimi, Z.S., Koll, T., Maness, L.J., Gundabolu, K., and Bhatt, V.R., 2020. Prevalence and effects of polypharmacy on overall survival in acute myeloid leukemia. Leukemia & Lymphoma, 61 (7), 1702–1708.

Ekström-Smedby, K., 2006. Epidemiology and etiology of non-Hodgkin lymphoma – a review. Acta Oncologica, 45 (3), 258–271.

Gaidzik, V.I., Teleanu, V., Papaemmanuil, E., Weber, D., Paschka, P., Hahn, J., Wallrabenstein, T., Kolbinger, B., Köhne, C.H., Horst, H.A., Brossart, P., Held, G., Kündgen, A., Ringhoffer, M., Götze, K., Rummel, M., Gerstung, M., Campbell, P., Kraus, J.M., Kestler, H.A., Thol, F., Heuser, M., Schlegelberger, B., Ganser, A., Bullinger, L., Schlenk, R.F., Döhner, K., and Döhner, H., 2016. RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia are associated with distinct clinico-pathologic and genetic features. Leukemia, 30 (11), 2160–2168.

Genome, H., Craig Venter, J., Adams, M.D., Sutton, G.G., Kerlavage, A.R., Smith, H.O., and Hunkapiller, M., 1998. Shotgun Sequencing of the. Source: Science, New Series.

Goldman, J.M. and Melo, J. V., 2003. Chronic Myeloid Leukemia — Advances in Biology and New Approaches to Treatment. New England Journal of Medicine, 349 (15), 1451–1464.

Grulich, A.E. and Vajdic, C.M., 2005. The epidemiology of non-Hodgkin lymphoma. Pathology, 37 (6), 409–419.

Haferlach, T., 2020. Advancing leukemia diagnostics: Role of next generation sequencing (ngs) in acute myeloid leukemia. Hematology Reports, 12 (S1), 1–12.

Harris, N.L., Jaffe, E.S., Diebold, J., Flandrin, G., Muller-Hermelink, H.K., Vardiman, J., Lister, T.A., and Bloomfield, C.D., 1999. The World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues. Annals of Oncology, 10 (12), 1419–1432.

Hu, D. and Shilatifard, A., 2016. Epigenetics of hematopoiesis and hematological malignancies. Genes & Development, 30 (18), 2021–2041.

Jabbour, E.J., Estey, E., and Kantarjian, H.M., 2006. Adult Acute Myeloid Leukemia. Mayo Clinic Proceedings, 81 (2), 247–260.

Jalili, M., Yaghmaie, M., Ahmadvand, M., Alimoghaddam, K., Mousavi, S.A., Vaezi, M., and Ghavamzadeh, A., 2018. Prognostic value of RUNX1 mutations in AML: A meta-analysis. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.

Juliusson, G., Antunovic, P., Derolf, Å., Lehmann, S., Möllgård, L., Stockelberg, D., Tidefelt, U., Wahlin, A., and Höglund, M., 2009. Age and acute myeloid leukemia: Real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. Blood, 113 (18), 4179–4187.

Kabadi, S.M., Goyal, R.K., Nagar, S.P., Kaye, J.A., and Davis, K.L., 2019. Treatment patterns, adverse events, and economic burden in a privately insured population of patients with chronic lymphocytic leukemia in the United States. Cancer Medicine, 8 (8), 3803–3810.

Kristjánsdóttir, E.R., Toksvang, L.N., Schmiegelow, K., and Rank, C.U., 2022. Prevalence of non-adherence and non-compliance during maintenance therapy in adults with acute lymphoblastic leukemia and their associations with survival. European Journal of Haematology, 108 (2), 109–117.

Leger, D.Y., Moreau, S., Signol, N., Fargeas, J.-B., Picat, M.-A., Penot, A., Abraham, J., Laroche, M.-L., and Bordessoule, D., 2018. Polypharmacy, potentially inappropriate medications and drug-drug interactions in geriatric patients with hematologic malignancy: Observational single-center study of 122 patients. Journal of Geriatric Oncology, 9 (1), 60–67.

Li, S.Y., Ye, J.Y., Meng, F.Y., Li, C.F., and Yang, M., 2015. Clinical characteristics of acute lymphoblastic leukemia in male and female patients: A retrospective analysis of 705 patients. Oncology Letters, 10 (1), 453–458.

Lin, P., Jones, D., Dorfman, D.M., and Medeiros, L.J., 2000. Precursor B-cell Lymphoblastic Lymphoma. The American Journal of Surgical Pathology, 24 (11), 1480–1490.

Luca, D.C., 2021. Update on Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma. Clinics in Laboratory Medicine, 41 (3), 405–416.

Madanat, Y.F., Kalaycio, M.E., and Nazha, A., 2019. Advances in Acute Myeloid Leukemia Genomics, where do we stand in 2018? Acta Medica Academica, 48 (1), 35.

Mancini, J., Simeoni, M.-C., Parola, N., Clement, A., Vey, N., Sirvent, N., Michel, G., and Auquier, P., 2012. Adherence to Leukemia Maintenance Therapy: A Comparative Study Among Children, Adolescents, and Adults. Pediatric Hematology and Oncology, 29 (5), 428–439.

Mardis, E.R., 2008. Next-generation DNA sequencing methods. Annual Review of Genomics and Human Genetics.

Mardis, E.R., Ding, L., Dooling, D.J., Larson, D.E., McLellan, M.D., Chen, K., Koboldt, D.C., Fulton, R.S., Delehaunty, K.D., McGrath, S.D., Fulton, L.A., Locke, D.P., Magrini, V.J., Abbott, R.M., Vickery, T.L., Reed, J.S., Robinson, J.S., Wylie, T., Smith, S.M., Carmichael, L., Eldred, J.M., Harris, C.C., Walker, J., Peck, J.B., Du, F., Dukes, A.F., Sanderson, G.E., Brummett, A.M., Clark, E., McMichael, J.F., Meyer, R.J., Schindler, J.K., Pohl, C.S., Wallis, J.W., Shi, X., Lin, L., Schmidt, H., Tang, Y., Haipek, C., Wiechert, M.E., Ivy, J. V., Kalicki, J., Elliott, G., Ries, R.E., Payton, J.E., Westervelt, P., Tomasson, M.H., Watson, M.A., Baty, J., Heath, S., Shannon, W.D., Nagarajan, R., Link, D.C., Walter, M.J., Graubert, T.A., DiPersio, J.F., Wilson, R.K., and Ley, T.J., 2009. Recurring Mutations Found by Sequencing an Acute Myeloid Leukemia Genome. New England Journal of Medicine, 361 (11), 1058–1066.

Maxson, J.E., Gotlib, J., Pollyea, D.A., Fleischman, A.G., Agarwal, A., Eide, C.A., Bottomly, D., Wilmot, B., McWeeney, S.K., Tognon, C.E., Pond, J.B., Collins, R.H., Goueli, B., Oh, S.T., Deininger, M.W., Chang, B.H., Loriaux, M.M., Druker, B.J., and Tyner, J.W., 2013. Oncogenic CSF3R Mutations in Chronic Neutrophilic Leukemia and Atypical CML . New England Journal of Medicine, 368 (19), 1781–1790.

Mian, H., Fiala, M., and Wildes, T.M., 2020. Adherence to Lenalidomide in Older Adults With Newly Diagnosed Multiple Myeloma. Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia, 20 (2), 98-104.e1.

Morphologic, immunologic, and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukemias. Report of the Workshop held in Leuven, Belgium, September 15-17, 1986. Second MIC Cooperative Study Group., 1988. Cancer genetics and cytogenetics, 30 (1), 1–15.

Omer, A., Yadav, N.K., Singh, P., and Singh, R.K., 2013. Hematological malignancies: role of miRNAs and their in silico aspects. Expert review of anticancer therapy.

Paschka, P., Schlenk, R.F., Gaidzik, V.I., Habdank, M., Krönke, J., Bullinger, L., Späth, D., Kayser, S., Zucknick, M., Götze, K., Horst, H.A., Germing, U., Döhner, H., and Döhner, K., 2010. IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication. Journal of Clinical Oncology, 28 (22), 3636–3643.

Ronaghi, M., Nygren, M., Lundeberg, J., and Nyrén, P.L., 1999. Analyses of Secondary Structures in DNA by Pyrosequencing.

Sağlam, A., Esin, E., Hayran, M., Boyraz, B., and Üner, A., 2018. Distribution of lymphomas in Turkey: Data of 4239 cases from a single institution using the WHO classification. Turkish Journal of Medical Sciences, 48 (5), 1013–1023.

Sanger, F., Nicklen, S., and Coulson, A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors (DNA polymerase/nucleotide sequences/bacteriophage 4X174).

Schischlik, F. and Kralovics, R., 2017. Mutations in myeloproliferative neoplasms–their significance and clinical use. Expert Review of Hematology.

Schürch, C.M., Riether, C., and Ochsenbein, A.F., 2013. Dendritic cell-based immunotherapy for myeloid leukemias. Frontiers in Immunology.

Schuster, S.C., 2008. Next-generation sequencing transforms today's biology. Nature Methods.

Shallis, R.M., Wang, R., Davidoff, A., Ma, X., Podoltsev, N.A., and Zeidan, A.M., 2020. Epidemiology of the classical myeloproliferative neoplasms: The four corners of an expansive and complex map. Blood Reviews.

Silver, R.T., 2003. Chronic myeloid leukemia. Hematology/Oncology Clinics of North America, 17 (5), 1159–1173.

Song, J., Hussaini, M., Zhang, H., Shao, H., Qin, D., Zhang, X., Ma, Z., Hussnain Naqvi, S.M., Zhang, L., and Moscinski, L.C., 2017. Comparison of the Mutational Profiles of Primary Myelofibrosis, Polycythemia Vera, and Essential Thrombocytosis. American Journal of Clinical Pathology, 147 (5), 444–452.

Spencer, D.H., Tyagi, M., Vallania, F., Bredemeyer, A.J., Pfeifer, J.D., Mitra, R.D., and Duncavage, E.J., 2014. Performance of common analysis methods for detecting low-frequency single nucleotide variants in targeted next-generation sequence data. Journal of Molecular Diagnostics, 16 (1), 75–88.

Stark, G. and O'Brien, S.G., 2001. An update on chronic myeloid leukaemia. Clinical Medicine, 1 (5), 354–357.

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., and Bray, F., 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 71 (3), 209–249.

Umıt, E.G., Baysal, M., Bas, V., Asker, I., Kırkızlar, O., and Demır, A.M., 2020. Polypharmacy and potentially inappropriate medication use in older patients with multiple myeloma, related to fall risk and autonomous neuropathy. Journal of Oncology Pharmacy Practice, 26 (1), 43–50.

Wicaksana, A. and Rachman, T., 2018. CharacteristicsandPrognosticFactorsof MyelodysplasticSyndromePatientsinRamathibodiHospital: ARetrospectiveStudy. Angewandte Chemie International Edition, 6(11), 951–952., 3 (1), 10–27.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Sümeyye ÖZTÜRK
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	İMKB Anadolu Lisesi GAZİANTEP
Lisans:	Erzurum Teknik Üniversitesi
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	iyi
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Tıbbi Genetik Derneği	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	
-	