

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK HEMATOLOJİ
KLİNİĞİNDE OCAK 2018 – ARALIK 2023 YILLARI ARASINDA
AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ TANILI HASTALARDA
IKZF1 GEN DELESYONU VE CRLF2
OVEREKSPRESYONUNUN PROGNOZA ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. EMİNE TÜN**

**TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ SELİN YAKARIŞIK**

DENİZLİ – 2024

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK HEMATOLOJİ
KLİNİĞİNDE OCAK 2018 – ARALIK 2023 YILLARI ARASINDA
AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ TANILI HASTALARDA
IKZF1 GEN DELESYONU VE CRLF2
OVEREKSPRESYONUNUN PROGNOZA ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. EMİNE TÜN**

**TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ SELİN YAKARIŞIK**

DENİZLİ – 2024

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana bilgi, tecrübe ve kişiliğiyle yol gösteren, tezimin tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam ve tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Selin Yakarışık'a,

Uzmanlık eğitimim süresinde bilgi ve tecrübeleriyle bana rehber olan tüm saygıdeğer hocalarıma,

Eğitim yıllarımızı birbirimize destek olarak geçirdiğimiz, pek çok deneyimi paylaştığımız sevgili asistan arkadaşlarım başta olmak üzere tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı çalışanlarına,

Hayatım boyunca benim yanımda olan, bana her türlü desteği, sevgiyi veren en kıymetlilerim ailem; sevgili annem, babam ve abime,

Bu yoğun ve zorlu dönemde bana güç veren, sevgisiyle beni sarıp sarmalayan, hayatı birlikte omuzladığım yol arkadaşım, sevgili eşim Tugay Tün'e sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Emine Tün

Denizli, 2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VII
TABLolar DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
ÖZET.....	XII
ABSTRACT	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. TANIM.....	2
2.2. TARİHÇE.....	2
2.3. EPİDEMİYOLOJİ	3
2.4. ETİYOLOJİ.....	3
2.5. PATOGENEZ	4
2.6 KLİNİK BULGULAR.....	5
2.7. LABORATUVAR BULGULARI	6
2.8. TANI VE SINIFLAMA	7
2.8.1. <i>Morfolojik Sınıflama</i>	7
2.8.2. <i>İmmünolojik Sınıflama</i>	8
2.8.3. <i>Sitogenetik ve Moleküler Sınıflama</i>	10
2.9. TEDAVİ	12
2.9.1. <i>Tedaviye Yanıt ve Relaps</i>	13
2.9.2. <i>Kemik İliği Transplantasyonu</i>	14
2.10. KOMPLİKASYONLAR.....	14
2.10.1. <i>Erken Komplikasyonlar</i>	14
2.10.2. <i>Geç Komplikasyonlar</i>	15
2.9. PROGNOStİK FAKTÖRLER.....	16
2.9.1. <i>Moleküler Belirteçlerin Prognostik Yönü</i>	18
2.9.2. <i>Aday Prognostik Belirteç Genler</i>	18
2.9.2.1. <i>IKZF1 Geni</i>	18

2.9.2.2 CRLF2 Geni.....	20
2.9.2.3 ERG Geni.....	21
2.9.2.4 CDKN2A ve CDKN2B Geni.....	22
3. MATERYAL METOD	23
3.1. BFM – ALL IC – 2009 PROTOKOLÜ	23
3.1.1 BFM – ALL IC – 2009 Protokolü Risk Grupları.....	23
3.1.2. BFM – ALL IC – 2009 Protokolü Tedavi Yanıtının Değerlendirilmesi	25
3.2. DNA İZOLASYONU.....	25
3.3. RNA İZOLASYONU	26
3.4. cDNA SENTEZ REAKSİYONU.....	26
3.5. qRT-PCR REAKSİYONU İLE CRLF2 EKSPRESYON ANALİZİ	27
3.6. MLPA YÖNTEMİ	27
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	28
4. BULGULAR.....	30
5. TARTIŞMA.....	50
6. SONUÇLAR	66
7. KAYNAKÇA.....	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADH	: Antidiüretik hormon
ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
AML	: Akut miyeloid lösemi
ARDS	: Akut respiratuar distres sendromu
ASD	: Atrial septal defekt
BFM	: Berlin-Frankfurt-Münster
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
BT	: Bilgisayarlı tomografi
B-ALL	: B hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi
CRLF2	: Cytokine Receptor-Like Factor 2
CALLA	: Yaygın Akut Lenfoblastik Lösemi İlişkili Antijen
CD	: Farklılaşma kümesi, Hücrenin tipini ve olgunlaşma seviyesini gösteren antijen
CDKN2A	: Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A
CDKN2B	: Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2B
COG	: Children's Oncology Group
CRP	: C-reaktif protein
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EKO	: Ekokardiyografi
ERG	: ETS-Related Gene
FAB	: Fransız Amerika Britanya
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
GİS	: Gastrointestinal sistem
HGB	: Hemoglobin

HLA	: İnsan lökosit antijeni
HRG	: Yüksek risk grubu
IKZF1	: İkaros Family Zinc Finger-1
IRG	: Orta risk grubu
İT	: İntratekal
İV	: İntravenöz
Kİ	: Kemik İliği
KİBAS	: Kafa içi basınç artışı sendromu
KİT	: Kemik iliği transplantasyonu
KT	: Kemoterapi
LAP	: Lenfadenopati
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LP	: Lomber ponksiyon
MLPA	: Multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu
MR	: Manyetik Rezonans
MRD	: Minimal kalıntı hastalığı
MTX	: Metotreksat
OS	: Genel sağkalım
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PLT	: Trombosit
Pre B-ALL	: Öncü B hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi
PY	: Periferik Yayma
RNA	: Ribonükleik asit
RT	: Radyoterapi
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
SRG	: Standart risk grubu

SSS	: Santral Sinir Sistemi
TLS	: Tümör lizis sendromu
TSLP	: Thymic Stromal Lymphopoietin Protein
T-ALL	: T hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi
USG	: Ultrasonografik görüntüleme
VSD	: Ventriküler septal defekt
WBC	: Beyaz kan hücresi (Lökosit)
6-MP	: 6- Merkaptopürin

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Çocukluk çağı akut lösemileri sınıflandırılması	2
Tablo 2. Akut Lösemi Etiyolojisinde Rol Oynayan Genetik ve Çevresel Faktörler ..	4
Tablo 3. İmmünolojik alt tipe göre klinik özellikler	9
Tablo 4. ALL'de Kromozomal anormalliklerin prognostik önemi.....	12
Tablo 5. ALL tedavisinin geç komplikasyonları	16
Tablo 6. ALL'de kemik iliği remisyon durumunun sınıflandırılması	17
Tablo 7. Çocukluk çağındaki ALL'de prognostik faktörler	17
Tablo 8: Aday prognostik genlerin kopsa sayısına göre mutasyon değerlendirmeleri	28
Tablo 9. ALL hastalarının tanı anındaki risk grupları	31
Tablo 10. ALL hastalarının sosyodemografik ve prognostik özellikleri	34
Tablo 11. Aday Prognostik gen mutasyon tipleri ve sıklıkları	36
Tablo 12. IKZF1 delesyonu olan hastalar ile olmayan hastaların tanı anındaki yaşı ve WBC sayısı.....	37
Tablo 13. CDKN2A delesyonu, CDKN2B delesyonu ve ERG mutasyonu olan hastalar ile olmayan hastaların tanı anındaki yaşı ve WBC sayısı.....	38
Tablo 14. Aday prognostik genetik mutasyonların immunfenotip ve klasik genetik mutasyonları ile ilişkisi	38
Tablo 15. Aday prognostik genetik mutasyonların tanı risk grubu ile ilişkisi	39
Tablo 16. Aday prognostik genetik mutasyonların tedavi yanıtları	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İnsan lenfoid farklılaşmasının şematik gösterimi	9
Şekil 2. Çocukluk çağı lösemilerinde ALL'nin spesifik genotiplerinin tahmini sıklıkları	10
Şekil 3. Pediatrik ALL'de IKZF1 genindeki mutasyonlar.....	20
Şekil 4. ALL IC BFM 2009 risk sınıflaması kriterleri	24
Şekil 5. H3 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	40
Şekil 6. H6 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	41
Şekil 7. H8 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	42
Şekil 8. H9 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	43
Şekil 9. H12 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	44
Şekil 10. H14 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	45
Şekil 11. H16 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	45
Şekil 12. H17 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	46
Şekil 13. H18 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	46
Şekil 14. H21 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	47
Şekil 15. H24 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları.....	48
Şekil 16. Hasta ve kontrol grubundaki CRLF2 ekspresyon seviyesi.....	49

ÖZET

Pamukkale Üniversitesi Çocuk Hematoloji Kliniğinde Ocak 2018 – Aralık 2023 Yılları Arasında Akut Lenfoblastik Lösemi Tanılı Hastalarda IKZF1 Gen Delesyonu ve CRLF2 Overekspresyonunun Prognoza Etkisinin Değerlendirilmesi

Dr. Emine TÜN

Amaç: Akut lenfoblastik lösemi (ALL) tanısı alan hastalarda risk temelli tedavi yaklaşımı uygulanmaktadır. Ancak halen uzun süreli ve yoğun tedavinin toksisite ve mortaliteye neden olabildiği gibi yeterince tedavi edilmeyen hastalarda da relaps görülmeye devam etmektedir. Bu nedenle doğru bir risk sınıflaması prognoz açısından çocukluk çağı ALL tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. BCR/ABL füzyon onkogenine yol açan t(9;22) ve MLL/AF4 füzyon onkogeninin oluşumuna neden olan t(4;11) gibi bilinen genetik anormallikler prognostik öneme sahiptir. Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar, başka genetik bozuklukların da prognoz üzerine olumsuz etkisi olduğunu göstermektedir. IKZF1 delesyonu ve CRLF2 overekspresyonu prognoz üzerine etkili olduğu öngörülen genetik mutasyonlardır. Bu çalışmada bilinen klasik prognostik faktörlere göre takip ve tedavisini planladığımız hastalarda IKZF1 delesyonu ve CRLF2 overekspresyonunun prognoz üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Ocak 2018 ile Aralık 2023 tarihleri arasında hastanemizde tanı alan, yeterli miktarda deoksiribonükleik asit (DNA) materyaline sahip 24 ALL hastası dahil edildi. Toplam 24 hastada IKZF1 delesyonu multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA) ile çalışıldı. Ribonükleik asit (RNA) materyaline ulaşılabilen 4 hastanın ek olarak CRLF2 ekspresyon seviyesi Real Time PCR ile çalışıldı ve 8 sağlıklı kontrol ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışmamızda IKZF1 delesyonu saptanan hastalarda ortalama yaş $8,6 \pm 4,7$ iken, IKZF1 delesyonu saptanmayan hastalarda $6,6 \pm 4,3$ idi. Delesyon izlenen 1 hasta 1-6 yaş arasında, 3 hasta ise 6 yaş ve üzerindedir. Delesyon saptanan 4 hastadan 3'ünün lökosit (WBC) sayısı $>50.000/\text{mm}^3$ iken, 1'inde $<20.000/\text{mm}^3$ idi. Ortalama WBC sayısı tüm grupta $43.767 \pm 78.102/\text{mm}^3$, delesyon saptanan hastalarda $145.370 \pm 124.653/\text{mm}^3$ iken, saptanmayanlarda $17.030 \pm 26.820/\text{mm}^3$ idi.

Prednizona kötü yanıt veren 7 hastadan 2'sinde (%28.6) IKZF1 delesyonu varken, iyi yanıtlı 17 hastadan 2'sinde (%11.8) IKZF1 delesyonu mevcuttu. IKZF1 delesyonu saptanan 4 hastadan 3'ünün 15. gün kemik iliği (Kİ) değerlendirmesi M3, 1'inin ise M2 saptandı. M1 izlenmedi. On beşinci gün Kİ değerlendirmesi M3 olan bir hastanın 33. gün Kİ değerlendirmesi M2 olup, delesyon izlenen diğer 3 hastanın M1 idi.

Sonuç: ALL hastalarında IKZF1 delesyonu, prognostik belirteçlerden yüksek yaş, tanı anında yüksek WBC sayısı, prednizona kötü yanıt, 15. gün Kİ değerlendirmesinde yüksek blast oranı ile ilişkili bulundu. Sonuç olarak; çalışmamız Türkiye'de ALL hastalarında IKZF1 delesyonu ve CRLF2 overekspresyonunun prognoz üzerine etkisinin değerlendirildiği ilk çalışmalardan biridir ancak vaka sayımızın az olması nedeniyle istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. IKZF1 delesyonu ile CRLF2 overekspresyonunun prognoz üzerine etkisinin gösterilebilmesi için daha fazla hasta sayısına sahip çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Akut lenfoblastik lösemi, IKZF1 delesyonu, CRLF2 overekspresyonu, moleküler belirteç, prognostik faktör

ABSTRACT

Evaluation of the Effect of IKZF1 Gene Deletion and CRLF2 Overexpression on Prognosis in Patients Diagnosed with Acute Lymphoblastic Leukemia at Pamukkale University Pediatric Hematology Clinic between January 2018 and December 2023

Dr. Emine TÜN

Objective: A risk-based treatment approach is applied to patients diagnosed with acute lymphoblastic leukemia (ALL). However, long-term and intensive treatment can still cause toxicity and mortality, and relapse continues to occur in patients who are not adequately treated. Therefore, an accurate risk classification plays an important role in the treatment of childhood ALL in terms of prognosis. Known genetic abnormalities such as t(9;22), which leads to the BCR/ABL fusion oncogene, and t(4;11), which causes the formation of the MLL/AF4 fusion oncogene, have prognostic significance. Molecular studies conducted in recent years show that other genetic disorders also have a negative impact on prognosis. IKZF1 deletion and CRLF2 overexpression are genetic mutations predicted to be effective on prognosis. In this study, we aimed to evaluate the effect of IKZF1 deletion and CRLF2 overexpression on prognosis in patients whose follow-up and treatment were planned according to known classical prognostic factors.

Materials and Methods: 24 ALL patients with sufficient DNA material who were diagnosed in our hospital between January 2018 and December 2023 were included in the study. IKZF1 deletion was studied by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) in a total of 24 patients. In addition, the CRLF2 expression level of 4 patients for whom RNA material was available was studied with Real Time PCR and compared with 8 healthy controls.

Results: In our study, the average age of patients with IKZF1 deletion was $8,6 \pm 4,7$ years, while it was $6,6 \pm 4,3$ years in patients without IKZF1 deletion. One patient with a deletion was between the ages of 1 and 6, and 3 patients were aged 6 and over. While the leukocyte (WBC) count of 3 of the 4 patients with a deletion was $>50.000/\text{mm}^3$, 1 of them was $<20.000/\text{mm}^3$. The mean WBC count was $43.767 \pm 78.102/\text{mm}^3$ in the entire group, $145.370 \pm 124.653/\text{mm}^3$ in patients with a deletion,

and $17.030 \pm 26.820/\text{mm}^3$ in those without a deletion. While 2 of 7 patients (28.6%) who responded poorly to prednisone had IKZF1 deletion, 2 of 17 patients (11.8%) who responded well to prednisone had IKZF1 deletion. The 15th day bone marrow evaluation of 3 of the 4 patients with IKZF1 deletion was found to be M3, and 1 was found to be M2. M1 was not monitored. The 15th day bone marrow evaluation of a patient was M3, and the 33rd day bone marrow evaluation was M2, and the other 3 patients with deletions were M1.

Conclusion: In ALL patients with IKZF1 deletion was found to be associated with prognostic markers such as higher age, high WBC count at diagnosis, poor response to prednisone, and high blast rate at day 15 bone marrow evaluation. In conclusion; Our study is one of the first studies in Turkey to evaluate the effect of IKZF1 deletion and CRLF2 overexpression on prognosis in ALL patients, but statistical evaluation could not be made due to our small number of cases. Studies with a larger number of patients are needed to demonstrate the effect of IKZF1 deletion and CRLF2 overexpression on prognosis.

Keywords: Acute lymphoblastic leukemia, IKZF1 deletion, CRLF2 overexpression, molecular marker, prognostic factor

1. GİRİŞ VE AMAÇ

ALL, çocukluk çağında en sık görülen kanserdir. Tüm çocukluk çağı kanserlerinin %25-30'unu, lösemilerin ise %75-80'ini oluşturmaktadır. Risk gruplarının belirlenip tedavi yoğunluğunun düzenlenmesi ve santral sinir sistemine (SSS) yönelik tedaviler ile birlikte gelişmiş ülkelerde sağkalım oranlarının %80'i aştığı gösterilmiştir ancak halen hastalarda relaps meydana gelmeye devam etmektedir. Bu nedenle ALL tedavisinde doğru bir risk sınıflaması prognoz açısından önemli bir rol oynamaktadır. Son yıllarda moleküler genetik alanındaki çalışmaların ilerlemesiyle beraber genetik değişikliklerin prognoz üzerinde önemi giderek artmaktadır (1-3). Üzerinde durulan başlıca genler arasında IKZF1, ERG, CRLF2, CDKN2A ve CDKN2B yer almaktadır (1-3).

Bu çalışmada; Ocak 2018 ile Aralık 2023 tarihleri arasında hastanemizde tanı alan, yeterli miktarda DNA materyaline sahip 24 ALL hastası dahil edilerek MLPA ile IKZF1 delesyonu, CDKN2A/CDKN2B delesyonu ve ERG mutasyonları çalışıldı. RNA materyali bulunan 4 hastanın ek olarak CRLF2 ekspresyon seviyesi Real Time PCR ile çalışıldı ve 8 sağlıklı kontrolle karşılaştırıldı. Mutasyon saptanan hastalar bilinen prognostik faktörler açısından değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TANIM

Akut lösemiler, normal miyeloid veya lenfoid hematopoezin bir evrede durması, düzensiz çoğalan hücrelerin doku ve organlarda birikmesi ile seyreden malign hastalıklardır. Edinsel ve kalıtsal faktörler ile hematopoezden sorumlu genler etkilenir ve immatür öncül hücreler klonal bir şekilde çoğalmaya başlar. Kontrolsüz çoğalan immatür hücreler Kİ'ni infiltre ederek normal fonksiyonların kaybına ve Kİ yetmezliğine yol açar (4).

Çocukluk çağı kanserlerinin %25-30'unu lösemi oluşturur. Tüm çocukluk çağı lösemilerinin %97'sini ise akut lösemiler oluşturur. En sık görülen alt tipi ALL %75-80 oranında görülürken, akut myeloid lösemi (AML) %20 oranında görülür. ALL immunfenotip sınıflandırmasında ise B lenfosit öncülleri %85, T lenfosit öncülleri %10-15 oranında görülür (5). Çocukluk çağı akut lösemileri sınıflandırılması Tablo 1'de gösterilmiştir (4).

Tablo 1. Çocukluk çağı akut lösemileri sınıflandırılması

1. Akut lenfoblastik lösemi (%75-80)
2. Akut miyeloid lösemi (%15-20)
3. Akut farklılaşmamış lösemi (<%0.5)
4. Akut karışık hücreli lösemi

2.2. TARİHÇE

Fransız hekim Alfred Velpeau 1827 yılında ateş, halsizlik ve yaygın ağrı şikayetleri olan hastanın otopsisinde kanda iltihap olduğunu gözlemlemiştir. İskoçya'da Benett ve Almanya'da Virchow tarafından 1845 yılında birbirinden bağımsız ve habersiz olarak bu kliniğin ayrı bir hastalık olduğu yayınlanmıştır (6). Virchow 1847 yılında bu hastalık için lösemi (Yunanca leukos beyaz, heima kan) terimini kullanmış, lösemiye splenik ve lenfatik olarak ikiye ayırmıştır. Neumann 1870 yılında lösemi hücrelerinin Kİ'nden kaynaklandığına dikkat çekmiştir. Ehrlich 1891 yılında yeni

boya yöntemleri ile lösemi histolojisinde yeni bir sayfa açmıştır. Lösemi 1913 yılında akut veya kronik, lenfatik veya myeloid olarak sınıflandırılmıştır. Çocuklardaki ALL'nin 1-5 yaş arasında daha sık görüldüğü 1917 yılında fark edilmiştir. Kemoterapiden (KT) önce bu hastalarda ortalama yaşam süresi 2-3 ay iken; Farber, Diamond ve arkadaşları tarafından 1948 yılında ilk kez folik asit antagonisti olan aminopterin kullanılmasıyla lösemilerde ölüm geciktirilebilmiştir. Pürin antagonisti olan 6-merkaptopürin (6- MP) 1953'te, l-asparaginaz 1961'de, vinkristin 1962'de ve kortikosteroidler takip eden yıllarda kullanıma girmiştir. Bu tarihten sonra çok ilaçlı kemoterapi yöntemleri geliştikçe hastalarda sağkalım oranları da yıllar içinde artmıştır. St. Jude Çocuk Araştırma Hastanesi'nde 1962 yılında remisyon indüksiyonu, intensifikasyon veya konsolidasyon, SSS için tedavi ile idame tedavilerinden oluşan dört fazlı tedavi yaklaşımı geliştirilmiştir. Çocukların %50'ye yakını 1970'lerin başlarında bu yenilikçi tedavi ile iyileştirilmiştir. Aynı dönemde relaps olan hastaların tedavisinde kemik iliği transplantasyonunun (KİT) başarılı bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Zamanla ALL'nin klinik, immünolojik ve genetik olarak heterojen bir hastalık grubu olduğu görülerek risk temelli tedaviler geliştirilmiştir (7,8).

2.3. EPİDEMİYOLOJİ

Çocuklarda kanser; enfeksiyon, kardiyak ölüm ve kazalardan sonra en sık dördüncü ölüm nedenidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 15 yaşından küçüklerde ALL görülme sıklığı 3-4/100.000 olarak bildirilmiştir. Ülkemizde sıklığı 1.5/100000 olarak bildirilmiştir (9,10). ALL'nin frekansı ve yaş dağılımı coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. ALL en sık 2-5 yaş arasında görülmektedir. Beyaz ırkta siyah ırka göre daha sık rastlanır. Lösemi erkeklerde kızlara göre 1,1-1,4 kat fazla görülmektedir (11).

2.4. ETİYOLOJİ

Akut lösemi etiyolojisi net bilinmemekle birlikte birçok faktör üzerinde durulmaktadır. Bazı genetik ve çevresel faktörler ALL ile ilişkilendirilmiştir (4).

Lösemi gelişiminde; ebeveynin mesleki maruziyeti, hava kirliliği, kimyasallar ve pestisitlere maruziyet, güçlü frekanstaki manyetik alanlara maruziyet (0,4 µT ve üstü), iyonize radyasyon, diyet alışkanlığı, ebeveynin alkol veya sigara kullanımı, enfeksiyonlar, immünolojik faktörler, sosyoekonomik durum ve genetik duyarlılık gibi faktörler yer almaktadır (12). Down sendromu, Bloom sendromu, Nörofibromatozis tip 1, Ataksi Telenjektazi, Shwachman Diamond sendromu, Li Fraumeni sendromu, Poland sendromu, Diamond Blackfan anemisi, Kostmann hastalığı gibi genetik hastalıklarda lösemi insidansı artmıştır (4). Etiyolojide rolü olan genetik ve çevresel faktörler Tablo 2’de gösterilmiştir (4,11).

Tablo 2. Akut Lösemi Etiyolojisinde Rol Oynayan Genetik ve Çevresel Faktörler

Genetik faktörler	Çevresel faktörler
Down Sendromu	İyonize radyasyon
Fankoni Aplastik Anemi	Elektromanyetik alan
Bloom Sendromu	Viral enfeksiyonlar
Diamond Blackfan Anemisi	İlaçlar
Shwachman Sendromu	İlerlemiş maternal yaş
Ataksi Telenjektazi	Kimyasal maddeler
Klinefelter Sendromu	
Turner Sendromu	
Li-Fraumeni Sendromu	
Nörofibromatozis	
Poland Sendromu	
Ciddi Kombine İmmün Yetersizlik	
Paroksizmal Noktürnal Hemoglobinüri	
Wiskott Aldrich Sendromu	
Kostmann Sendromu	

2.5. PATOGENEZ

ALL’nin patogenezi halen tam olarak bilinmemektedir. Kalıtsal ve edinsel etmenlerin devreye girmesiyle lenfoid gelişimden sorumlu genler etkilenir. Primer mutasyonların tek başına lösemiye tetiklemede yetersiz olduğu, sekonder

mutasyonların da rol aldığı düşünülmektedir. Eş zamanlı lösemi olan tek yumurta ikizlerinin genetik çalışmalarıyla bazı lösemilerin prenatal orijini belirlenmiştir. Yenidoğan tarama kartlarında lösemiye spesifik füzyon gen sekanslarının bulunması, örneğin MLL-AF4 füzyon geninin tek yumurta ikizlerinde yüksek konkordansa (%25-100) ve çok kısa latent periyoda sahip olması, lösemi gelişimi için bu füzyonun yeterli olabildiğini ya da lösemi gelişimine neden olabilecek ikincil bir değişiklikte rol alabileceğini göstermektedir (13). Klinik ve tedavi yanıtı tek yumurta ikizlerinde geniş ölçüde farklılık gösterebilir. Bu özellik etiyolojide postnatal ikincil bir moleküler olayın gerekli olduğunu düşündürür (14). ALL'nin ortaya çıkışını tetikleyen genel mekanizmalar; protoonkogenlerin anormal ekspresyonu, kinaz enzimleri aktifleştiren ve transkripsiyon faktörlerini etkileyen gen füzyonlarına yol açan kromozomal translokasyonlar ve hiperdiploididir. Bu genetik değişiklikler, hücre fonksiyonları değiştirerek hematopoietik kök hücrelerin farklılaşmasına katkıda bulunur (15).

2.6 KLİNİK BULGULAR

ALL'nin klinik bulguları lenfoblast infiltrasyonunun neden olduğu Kİ yetersizliğinin derecesi ve ekstramedüller organ infiltrasyonu ile belirlenmektedir (16).

Hastalar yaşamı tehdit edici kanama, enfeksiyon ya da solunum sıkıntısı ile gelebildiği gibi, asemptomatik bir şekilde rutin kan sayımında da tanı alabilir. Çocukların %60'ında tanı anında hastalığın belirti ve bulguları dört haftadan daha kısa süreden beri vardır. İlk bulgular letarji, kemik ağrısı, halsizlik veya iştah kaybı gibi non-spesifik bulgulardır. Anemi, kanama ve enfeksiyonlar gibi daha spesifik semptomlar lenfoblastların Kİ infiltrasyonu sonucu görülür (16).

Hastaların yaklaşık yarısında tanı anında ateş mevcuttur. Ateş, nötropeninin neden olduğu enfeksiyonla veya lösemi hücrelerinden salınan sitokinler ile oluşabilir (7). Sık görülen diğer bulgular arasında; cilt ve mukozada solukluk, peteşi, ekimoz ve kemik hassasiyeti yer alır (4). Kemik ağrısı, özellikle uzun kemiklerde ve sternumda olup, Kİ veya periost infiltrasyonundan kaynaklanır (4).

Ekstramedüller lösemik infiltrasyon sonucu lenfadenopati (LAP), splenomegali (SM) ve hepatomegali (HM) görülebilir. ALL'li çocukların %30-60'ında tanı anında HM ve/veya SM mevcuttur. Hastalar mediastinal kitle ile başvurabilir ve hastalarda büyük damar/trakea basısına bağlı superior vena kava/mediasten sendromu gelişebilir. Bu hastalarda öksürük, nefes darlığı, ortopne, stridor, siyanoz, disfaji, yüz ödemi, kafa içi basınç artışı ve bazen senkop görülebilir (4).

Tanı anında SSS tutulumu insidansı %5'ten azdır. Artmış kranial basınca bağlı olarak halsizlik, baş ağrısı, kusma, papil ödem, bilateral 6. kranial sinir felci görülebilir. Optik sinir tutulumuna bağlı görme kaybı, 8. kranial sinir infiltrasyonuna bağlı hiperakuzi, kulak çınlaması, baş dönmesi ve hatta sağırılık görülebilmektedir. Serebral parankimal tutulumda hemiparezi ve konvülsiyon görülebilirken, serebellar tutulumda ataksi, dismetri, hipotoni ve hiperfleksi gibi fokal nörolojik belirtiler saptanabilir. Daha az görülen belirtiler arasında oligüri, anüri, göz tutulumu (orbita, optik sinir, retina, iris, kornea veya konjunktivanın lösemik infiltrasyonu), deri altı nodüller (lösemik kutis) yer alır (4,15).

2.7. LABORATUVAR BULGULARI

ALL şüphesi olan hastalarda öncelikle hemogram ve periferik kan yayması değerlendirilmelidir. Hemogramda Kİ tutulum derecesine bağlı olarak hafif, orta veya ağır anemi görülür. WBC sayısı artmış, azalmış ya da normal olabilir. Nötropeni yaygındır ve ciddi enfeksiyonlar görülebilmektedir. Trombosit sayısı çoğu hastada normal değerlerin altındadır. Trombosit sayısı $20.000/mm^3$ 'ün altında olduğunda ciddi kanamalar görülmektedir (4).

Kemik iliği aspirasyonu yapılarak lösemik infiltrasyon varlığı açısından değerlendirilmelidir. Kesin tanı lenfoblastların Kİ'nde %25'den fazla olması ile konulur. Blastlar morfolojik olarak normal lenfositlerden 2-3 kat büyük yapıya sahip, diffüz dağılmış nükleer kromatin ve seçilemeyen nükleolus içeren, bazofilik olmayan ve granülsüz sitoplazmalı hücrelerdir. Blast varlığının ve tipinin gösterilebilmesi için akım sitometrisi ile immünofenotipleme yapılmalıdır. Ayrıca risk gruplarının

belirlenebilmesi için kemik iliği aspirasyon örneklerinden sitogenetik, floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve moleküler tetkikler çalışılmalıdır (4).

Hastalardan hemogram ve Kİ aspirasyonunun yanı sıra karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, elektrolit imbalansını değerlendirmek için serum elektrolitleri görülmelidir. Kanama ve pıhtılaşma durumunu ön görmek için koagülasyon parametreleri istenmelidir. Tümör lizis sendromunu (TLS) değerlendirmek amacıyla ürik asit ve laktat dehidrogenaz (LDH) istenmelidir (17). Tiroid hormon testleri, immunglobulin seviyeleri ve viral serolojik testler tanı anında değerlendirilmelidir (4).

Mediasten genişlemesini değerlendirmek için akciğer grafisi istenmelidir. Ekstramedüller tutulumu olan hastalarda en sık SSS ve testis tutulumu görülmektedir. SSS tutulumunu değerlendirmek için alınan beyin omurilik sıvısında (BOS) hücre bakılır ve BOS sitopatolojisinde lenfoblastlar incelenir. BOS'ta $WBC > 5/mm^3$ olması, sitosantrifüj incelemede blast hücrelerinin varlığı SSS tutulumunu düşündürür. Erkeklerde testis tutulumunu değerlendirmek için ise, testis ultrasonografisi (USG) yapılmalıdır (4,18). Tedaviye başlamadan önce hastaların kardiyolojik durumunu değerlendirmek amacıyla EKG ve ekokardiyografi (EKO) yapılmalıdır (4).

2.8. TANI VE SINIFLAMA

Akut lösemi morfolojik, sitokimyasal, immünolojik, sitogenetik ve moleküler özelliklere göre sınıflandırılabilir (1).

2.8.1. Morfolojik Sınıflama

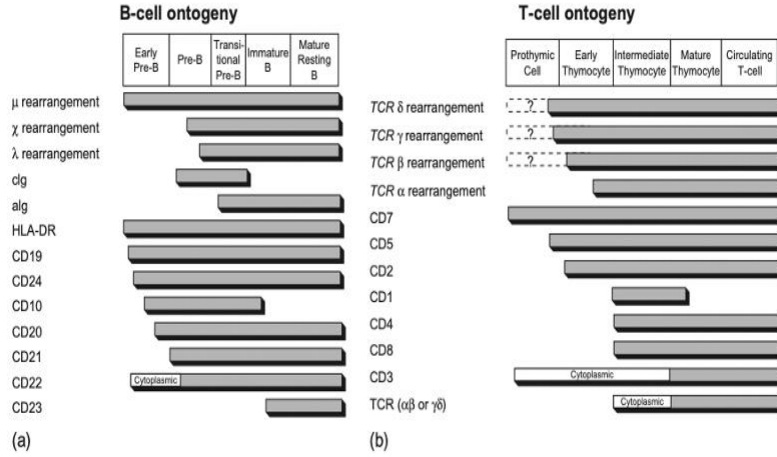
ALL hücrelerinin morfolojik olarak sınıflandırması; hücre boyutu, nükleus-sitoplazma oranı, nükleus şekli, nükleolusun sayısı ve belirginliği, sitoplazmik boyanmanın yoğunluğu ve doğası, sitoplazmik granüllerin varlığı, sitoplazmik vakuollerin belirginliği ve nükleer kromatinin karakteri gibi kriterler kullanılarak yapılmıştır. Fransız-Amerikalı-Britanyalı (FAB) Kooperatif Çalışma Grubu tarafından öne sürülen bir sistem kabul edilerek lenfoblastlar L1, L2 ve L3 olmak üzere üç gruba ayrılmıştır (19). Bu sınıflama ile ALL'nin %85'ini ALL-L1, %14'ünü ALL-L2, %1'ini ALL-L3 oluşturmaktadır. ALL-L1 daha yüksek remisyon oranına ve daha uzun

sağkalım oranına sahiptir. L2 morfolojisindekiler daha yüksek relaps oranı ile kötü prognoz gösterirken, ALL-L3 ise en kötü prognozlu seyir gösterir (20).

2.8.2. İmmünolojik Sınıflama

İmmünolojik sınıflama, lenfositlerin yüzeylerinde ve sitoplazmasında bulunan cluster of diferantiation (CD) olarak adlandırılan, hücrenin tipini ve olgunlaşma seviyesini gösteren antijenlerin, akım sitometrisi ile incelenmesine göre yapılır. Böylece blastların sitoplazmik ve yüzey antijenleri tanımlanarak B ve T lenfositlerin gelişim basamaklarının hangi evresinden köken aldığını gösterilebilir. Belirleyici antijenler olarak B hücre için CD19; T hücre için sitoplazmik CD3 ve miyeloid maligniteler için nonspesifik esteraz, CD11c, CD14, CD64 ve lizozim kullanılır. Sitoplazmik CD79a ve CD22, CD10 B hücreleri için; CD5 ve CD7 T hücreleri için; CD13 ve CD33 miyeloid hücreler için kullanılarak belirsiz immünofenotiplerin ayırt edilmesinde yardımcı olur. İnsan lenfoid farklılaşması Şekil 1’de gösterilecektir (4).

ALL temel olarak, öncü B hücreli ALL (pre B-ALL), olgun B hücreli ALL (matür B-ALL) ve T hücreli ALL (T-ALL) olmak üzere üç ana alt tipe ayrılır. Burkitt lenfoma olarak değerlendirilen matür B-ALL sıklıkla lenfomalar içinde değerlendirilip ALL sınıflandırmasına dahil edilmemektedir. ALL’de %80 oranda pre B-ALL görülmekte olup, bunlar da gelişim aşamasına göre erken öncü B hücreli ALL (Pro B-ALL), common B-ALL ve geç pre B-ALL olarak alt gruplara ayrılmaktadır (4,21). ALL’nin altı immünolojik alt tipi ve onların klinik özellikleri Tablo 3’te gösterilmiştir (4,21).



Şekil 1. İnsan lenfoid farklılaşmasının şematik gösterimi

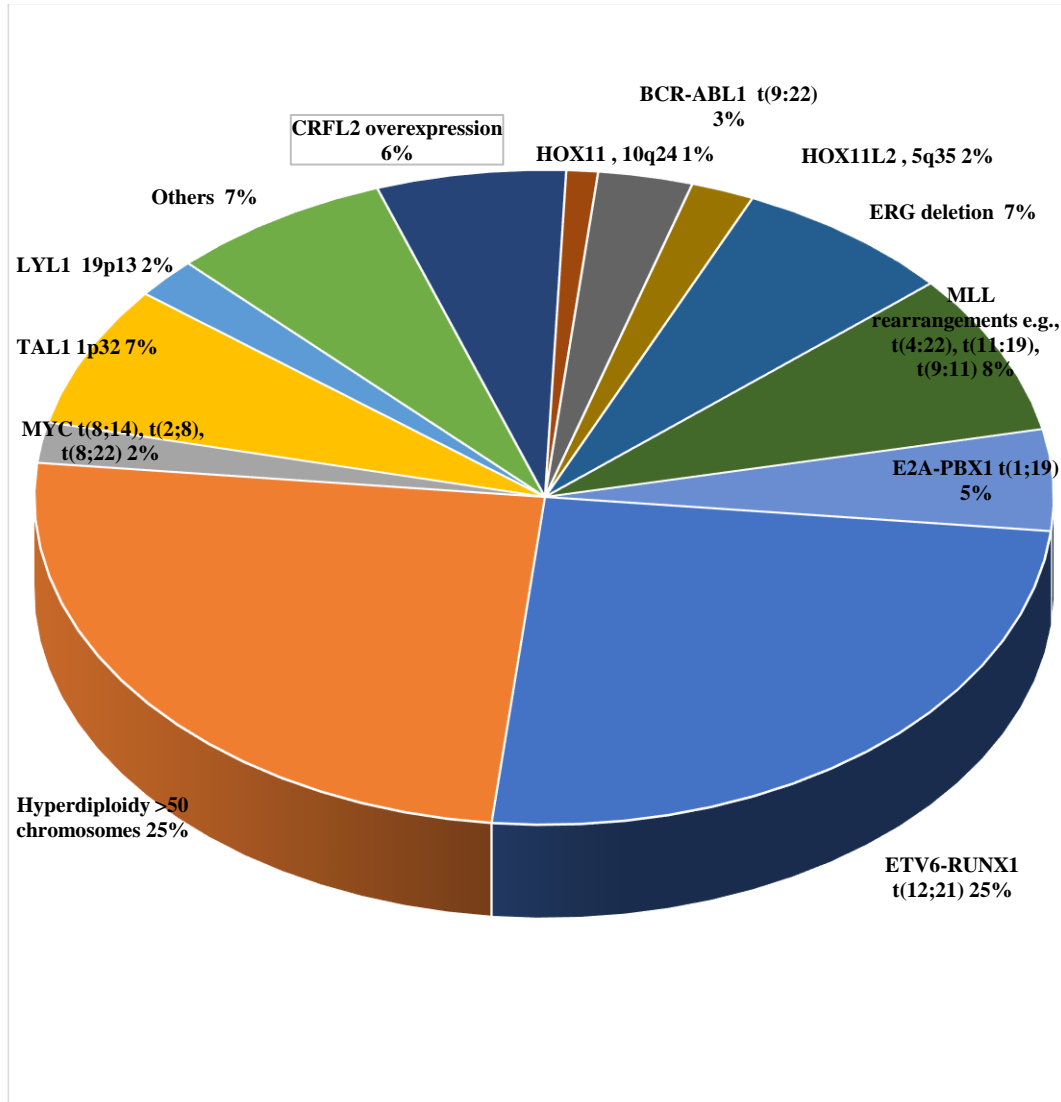
Tablo 3. İmmünolojik alt tipe göre klinik özellikler

Alt tip	Tipik markerlar	Sıklık	İlişkili özellikler
B hücreli prekürsör	CD19+, CD22+, CD79a+, sIg±, ylgμ-, HLA-DR+ CD10-	% 5	Yüksek WBC, tanıda SSS tutulumu, psödoploidi, MLL gen yeniden düzenlemeleri, kötü prognosis
Pre pre B		% 63	1-9 yaş grubu, düşük WBC, hiperploidi
Erken pre B	CD10+	% 16	Yüksek WBC, psödoploidi, siyah ırk
Pre B	CD10±, sIg+		
B hücreli	CD19+, CD22+, CD79a+, sIg+	% 3	Erkek predominansı, ylgμ+, sIgκ+ veya sIgλ+ tanıda SSS tutulumu, abdominal kitle, renal tutulum
T hücre serisi	CD7+, sCD3+		
T hücreli	CD2+, CD1±, CD4±, CD8±, HLA-DR-	% 12	Erkek predominansı, TdT ± hiperlökositoz, ekstra medüller hastalık
Pre T	CD2-, CD1-, CD4-, CD8-, HLA-DR±	% 1	Erkek predominansı, TdT+ Hiperlökositoz, ekstramedüller hastalık, kötü prognosis

sCD3: sitoplazmik CD3, sIg: sitoplazmik immünglobulin, ylg: yüzey immünglobulin, TdT: terminal deoksiniükleotidil transferaz

2.8.3. Sitogenetik ve Moleküler Sınıflama

Son yıllarda moleküler genetik alanındaki çalışmalar sonucunda bazı özel kromozomal ve moleküler bozuklukların lösemilere eşlik ettiği saptanmıştır. Lösemide görülen bu sitogenetik anormallikler takip ve tedavide giderek önem kazanmıştır. Prognostik önemi olan sitogenetik anormalliklerin sıklığı Şekil 2’de gösterilmiştir (4).



Şekil 2. Çocukluk çağı lösemilerinde ALL'nin spesifik genotiplerinin tahmini sıklıkları

Translokasyonlar ile kromozom sayısı ve yapısındaki anormallikler lösemi risk sınıflamasında kullanılan önemli sitogenetik özelliklerdir. Çocukluk çağındaki ALL vakalarının %75'inde kromozomal artış, kayıp ve/veya translokasyon vardır (4).

Hiperdiploidi: Kromozomal artışlar ile karakterizedir ve hastaların %30'unda görülür. Kromozomal artışlar arasında trizomi 21 en yaygın olanıdır. Spesifik trizomiler (4, 10 ve 17 ve 18 trizomileri) iyi sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (4).

Hipodiploidi: Lösemik blastlarda 46'dan az kromozom olması ile karakterize olup hastaların yaklaşık %6'sında bulunur. Kromozom sayısı 44'ten az olan veya DNA indeksi <0.81 olan hastalar kötü sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (4).

BCR-ABL füzyon geni t(9; 22) (q34q11): Pediatrik ALL vakalarının %3'ünde t(9; 22) görülür. Daha büyük yaş, tanı anında daha yüksek WBC sayısı ile ilişkilidir (4).

ETV6-RUNX1 füzyon geni t(12;21)(p13q22): Daha önce TEL-AML1 olarak anılan t(12;21), standart sitogenetik çalışmalar ile %1'den daha az saptanırken, FISH gibi moleküler teknikler kullanıldığında pre B-ALL vakalarının yaklaşık %25'inde tespit edilir. Bu translokasyon iyi prognozla ilişkilidir (4).

Kromozom band 11q23'deki MLL yeniden gen düzenlemeleri: İnfantil ALL vakalarının %80'inde, daha büyük çocuklardaki ALL vakalarının %3'ünde görülür. Bu translokasyon yoğun tedaviye rağmen %20'den daha az sağkalım ile çok kötü prognoz taşır (4).

TCF3-PBX1 füzyon geni t(1;19)(q23p13.3): ALL'nin yaklaşık % 5'inde görülür. Tanı anında WBC yüksekliği ile ilişkilidir. Daha önceki çalışmalar nispeten kötü bir prognostik belirteç olduğunu göstermiş olsa da mevcut ALL rejimlerinde yoğun tedavi ile sonuçlarda farklılık olmadığı gösterilmiştir (4).

T-ALL vakalarının % 50'sinden fazlasında T hücresi gelişimini düzenleyen transmembran reseptörünü kodlayan bir gen olan NOTCH1'i içeren aktive edici mutasyonlar bulunur. Vakaların %20'sinde ise ek FBXW7'de hücre içi NOTCH'u bozan mutasyonlar vardır (4). ALL'de kromozomal anormalliklerin prognostik önemi Tablo 4'te gösterilmiştir (1,4).

Tablo 4. ALL’de Kromozomal anormalliklerin prognostik önemi

Kromozomal anormallikler	Olaysız Sağkalım
Kromozomların trizomileri 4, 10 ve 17	8 yılda %89
ETV6-RUNX1 füzyon pozitifliği	5 yılda %86
Hipodiploid <45 kromozom	8 yılda %39
MLL yeniden düzenlenmesi	
İnfant (0-12 ay)	4 yılda %37
İnfant olmayan (>12 ay)	8 yılda %50
t(9;22)	8 yılda %39*

*Imatinib ile yoğun kemoterapi kullanımında 3 yıllık olaysız sağkalımın %80 olduğu gösterilmiştir.

2.9. TEDAVİ

ALL mutlaka tedavi edilmesi gereken, edilmediği takdirde ölümlü seyreden bir hastalıktır. Temel tedavisi KT olmakla birlikte bazı hastalarda ek olarak terapötik ya da profilaktik radyoterapi (RT) uygulanmaktadır (4).

ALL’de tedavinin amacı; klinik ve hematolojik bir remisyon oluşturmak, remisyonu pekiştirmek, intratekal (İT) KT uygulayarak SSS profilaksisi sağlamak, idame tedavi ile remisyonu devam ettirmekle birlikte tedavi ve hastalığın komplikasyonlarını önleyip, tedavi etmektir (4).

Farklı merkezlerde farklı tedavi rejimleri kullanılmaktadır. En sık kullanılanlar arasında ABD’de ‘Children’s Oncology Group’ (COG), Avrupa’da ise ‘Berlin-Frankfurt-Münster’ (BFM) yer almaktadır. Bu rejimler ortak olarak; indüksiyon, SSS koruyucu tedavisi, konsolidasyon ve idame tedavisini içerir (4).

Tedavinin hedefi başlangıçtaki lösemik hücre yükünün %99’undan fazlasını eradike etmek ve normal hematopoeze dönüşü sağlamaktır. Remisyon indüksiyonu ve konsolidasyon tedavileri ile % 95-98 remisyon sağlanır. Yaklaşık 1 aylık tedavi sonunda sağlanan remisyon tanımı; hastalıkla ilgili fiziksel bulguların kaybolması, periferik kan yaymasında blast hücresi olmaması, en az 500/mm³ granülosit,

75000/mm³ trombosit ve 12 g/dl HGB gibi normal kan sayımı bulgularının olmasının yanı sıra yeterli megakaryositler, %5'ten az blast hücresi, yeterli sayıda granülositik ve eritroid öncüllere sahip Kİ bulgularının olması ve normal BOS bulgularının bulunmasıdır (4). Vinkristin, prednizon, asparaginaz, antrasiklin, metotreksat (MTX), siklofosamid ve İT KT kullanılan başlıca kemoterapi ajanlarıdır (4,21).

İdame fazı bu tedavinin tamamlanmasından sonra, sağlanan remisyonun devam ettirilmesidir. MP ve MTX idame rejimlerinin bel kemiğini oluşturur. Çocukluk çağında uygulanan kemoterapilerin süresi tüm protokollerde (COG, BFM, St Jude) aynıdır ve toplam 2 yıldır (4,21).

SSS profilaksisinde İT KT ve kraniyal RT kullanılmaktadır. Günümüz protokollerinde kraniyal RT relaps ve SSS tutulumu durumunda tercih edilmektedir (4).

2.9.1. Tedaviye Yanıt ve Relaps

Tedavinin 8. gününde periferik kanda blast sayısı <% 0.1 saptanması, BOS'ta blast olmaması ve lokalize hastalık bulunmaması tedaviye iyi yanıt olarak değerlendirilir. Otuz üçüncü gün Kİ'nde %5'ten fazla blast saptanması ya da herhangi bir bölgede lösemik infiltrasyon olması indüksiyon başarısızlığı olarak kabul edilir (4).

Remisyon sağlandıktan sonra tedavi sırasında veya sonrasında Kİ'nde %25'ten fazla blast olması veya herhangi bir bölgede lösemik tutulum saptanması relaps olarak değerlendirilir. Relaps izole Kİ, izole SSS ve testiküler olabileceği gibi kombine de olabilir (4).

Yoğun tedavilere rağmen, çocukların %10-20'sinde relaps görülmektedir. Relaps sonrası prognoz; relapsın zamanına, yerine ve immünofenotipine bağlıdır. İzole Kİ relapsı olan hastalar, kombine Kİ ve SSS relapsı olanlara göre daha kötü prognoza sahiptir. İzole ekstramedüller relapsı olan hastaların prognozu daha iyidir (4).

Relaps; tanı tarihinden itibaren ilk 18 ayda ise çok erken; idamenin son 6 ayı ile tedavi kesimi sonrası ilk 6 ayda olursa erken; tedavi kesiminden 6 ay ve sonrası görülürse ise geç relaps olarak sınıflandırılmaktadır (23).

İlk relapsta hastaların reindüksiyon tedavisi sonrası remisyon oranları relapsın zamanına ve yerine bağlı olarak %71-93 arasında değişmektedir. Tedavi sırasında Kİ

relapsı görülen çocukların uzun vadeli sağkalımları çok düşüktür. Bu hastalar için allojenik KİT düşünülmelidir. Tedavi tamamlanmasından sonra Kİ relapsı olan çocuklarda daha uzun süreli ikinci remisyon elde edilir. Relapsların çoğunda klinik remisyon sağlanabilse de uzun vadeli sağkalım oranları % 40-50'dir (4).

2.9.2. Kemik İliği Transplantasyonu

KT yöntemleri ile remisyon sağlanamayan hastalara uygun donörden KİT yapılmaktadır. İndüksiyon sonrasında Kİ'nde blast oranı %25'in üzerinde olan, prednizona erken cevap vermeyen yüksek risk grubu ve relaps görülen hastalarda KİT yapılır (4).

2.10. KOMPLİKASYONLAR

Sağkalım oranları arttıkça KT ve RT sonucu gelişen komplikasyonlar daha fazla önem kazanmaktadır. Yan etkilerin görülmesinde hastaya ve hastalığa bağlı özellikler önemlidir. Yaş, tanı alma süresi, hastalığın yayılımı, lösemnin tipi, organ disfonksiyonlarının varlığı, hastanın KT hassasiyetini arttırabilen genetik polimorfizmlerin varlığı ve hastanın beslenme durumu yan etkilerin ortaya çıkmasında etkilidir. ALL tedavisinin komplikasyonlarını erken ve geç komplikasyonlar olarak iki grupta incelemek daha uygundur (24).

2.10.1. Erken Komplikasyonlar

TLS, artmış sayıda bulunan lösemik hücrelerin KT sonrası veya kendiliğinden parçalanarak hücre içi elemanların dolaşıma salınması ve takiben organ fonksiyon bozukluklarının gelişmesi ile kendini gösterir. Ürik asit ve kalsiyum fosfat tuzlarının böbrek tübüllerine çökmesi sonucunda akut böbrek yetmezliğine ilerleyebilen akut bir tablodur (25).

ALL'li hastalarda tanı anında veya tedavi sırasında nötropeniye bağlı olarak gelişen enfeksiyonlar morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden biridir. Nötropenik ateş tablosu olan hastalarda sıklıkla enfeksiyon etkeni tespit edilememektedir, bu nedenle nötropenik ateşi olan ve KT alan lösemili hastalara, tüm

kültürler alındıktan sonra vakit kaybetmeden geniş spektrumlu antibiyotikler başlanmalıdır (26).

Tifilit, sağ alt kadranda ağrı, hassasiyet, karında distansiyon, bulantı ve kusma ile bulgu veren, genellikle ileoçekal bölgenin etkilendiği akut nekrotizan enterokolit tablosudur. Genellikle nötropenik hastalarda ve remisyon-indüksiyonu döneminde görülür. Barsak duvar ve mukozasında sitotoksik kemoterapötik ilaçların oluşturduğu hasar ve bu bölgeye bakteri veya fungusların yerleşmesi sonucu tablo ortaya çıkar. Tanıda batın USG ve bilgisayarlı tomografi (BT) de etkilenen bölgedeki barsak duvarında kalınlaşma ve mukozal ödem dikkati çeker (24).

Koagülasyon bozuklukları genellikle lösemi tedavisinin ilk birkaç haftasında morbidite ve mortaliteye yol açabilmektedir. Tedavi ilişkili kanama genellikle Kİ'nin KT ile baskılanması sonucu gelişen trombositopeniden kaynaklanmaktadır. Kanama daha çok peteşi, ekimoz ve mukoza kanamaları şeklinde olur, ciddi organ kanamaları nadirdir. Kanamayı önlemek için lösemi tedavisi gören hastalarda trombosit sayısı $10.000/mm^3$ 'ün üzerinde tutulmalıdır. Enfeksiyon, ateş durumlarında bu değer $20.000/mm^3$ 'ün üzerinde tutulması önerilmektedir (23).

Çocukluk çağı ALL'lerinin yaklaşık %20'sinde konvülsiyon ve diğer akut nörolojik toksisiteler görülebilir (24).

Pankreatit, L-asparaginaz tedavisinin en korkulan komplikasyonudur. Hiperglisemi ise L-asparaginaz ve steroidin birlikte neden olduğu bazen insülin kullanılmasını gerektirecek boyutlara varan geçici bir durumdur (24).

Diğer erken komplikasyonlar arasında karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında bozulma, bulantı, kusma, tromboz, alerjik reaksiyonlar, cilt döküntüleri, mukozit, saç dökülmesi, hipertansiyon, nöropatiler, kardiyomiyopati, ensefalopati, psikiyatrik bozukluklar yer alır (24).

2.10.2. Geç Komplikasyonlar

Hastanın yaşına, kanser tipine, takip süresine, genetik yatkınlığa ve kullanılan tedavi protokollerine göre geç yan etkiler de değişkenlik gösterebilmektedir. ALL'de

tedavisi sonrası görülen geç komplikasyonlar ve sorumlu etkenler Tablo 5’de gösterilecektir (24,27).

Tablo 5. ALL tedavisinin geç komplikasyonları

Geç komplikasyonlar	İlişkili değişkenler
Endokrin bozukluklar Büyüme hormonu eksikliği Puberte prekoks Obezite Hipotiroidizm, tiroid neoplazmı	RT Obezite Erken tanı yaşı
Karaciğer Fibrozis/siroz / hepatosellüler karsinoma Venooklüzif Hastalık	MTX, 6-MP Hepatit B/C virüsü Kİ nakli
Böbrek (tübülopati/Fanconi sendromu)	Siklofosamid
Kemik bozuklukları Osteoporoz Osteonekroz	Yüksek doz MTX, MP, glukortikoidler Kranial RT, Yetersiz kalsiyum alımı, Azalmış fiziksel aktivite, Obezite
Kalp (kardiyomiyopati)	Antrasiklinler, RT
Nörolojik/ nörokognitif bozukluklar	Kraniyal RT, İT veya intravenöz MTX intratekal sitozin arabinosid Vinkristin, steroidler

2.9. PROGNOSTİK FAKTÖRLER

ALL’de risk gruplarının belirlenip uygun tedavi yaklaşımlarının seçilmesinde prognostik faktörler önem taşımaktadır. Tanı anındaki WBC sayısı, yaş, cinsiyet, remisyon ve sağkalım süresi kabul gören evrensel prognostik faktörlerdir (4,28).

Bir yaşından küçük ve 6 yaşından büyük hastalar, tanı anında WBC sayısı yüksek olan hastalar kötü prognoza sahiptir. Pre B-ALL en iyi prognoza sahip iken T-ALL, daha büyük yaş ve tanı anında daha yüksek WBC sayısı ile ilişkili olduğu için daha kötü bir prognoza sahiptir (4,29).

Sitogenetik, FİSH ve moleküler yöntemlerle tespit edilen ve risk sınıflamasında yer alan genetik anormallikler ve prognoz üzerine etkisi sitogenetik ve moleküler sınıflama başlığı altında anlatılmıştır.

Sekizinci gün periferik yaymada $>1000/\text{mm}^3$ blast saptanması kötü prognoz olarak değerlendirilir. Minimal rezidüel hastalık (MRD) konvansiyonel morfolojik yöntemle tespit edilemeyen eşiğin altındaki blast varlığıdır. On beşinci gün Kİ değerlendirmesinde $>10\%$ MRD ya da M3 Kİ ve 33.gün Kİ değerlendirmesinde M2 ya da M3 Kİ kötü prognoz anlamına gelir ve tedavinin yoğunlaştırılmasını gerektirir (29). Kİ remisyon durumunun sınıflandırması Tablo 6’da gösterilmiştir (4). Çocukluk çağındaki ALL’de prognostik öneme sahip faktörler Tablo 7’de gösterilmiştir (4,29).

Tablo 6. ALL’de kemik iliği remisyon durumunun sınıflandırılması

Sınıflama	Blast oranı (%)
M1 kemik iliği	≤ 5
M2 kemik iliği	5-25
M3 kemik iliği	> 25

Tablo 7. Çocukluk çağındaki ALL’de prognostik faktörler

Faktör	İyi prognoz	Kötü prognoz
Yaş (yıl)	1-6	<1 veya >6
WBC (mm^3)	$< 20\ 000$	$> 20\ 000$
Genetik		Hipodiploidi (<44 kromozom) MLL/AF4 t(9;22)/BCR-ABL1
8. gündeki periferik kanda blast sayısı	$< 1.000 /\text{mm}^3$	$> 1.000 /\text{mm}^3$
15. gün Kİ	M1/M2	M3
33. gün Kİ	M1	M2/M3
MRD	$< \%0,1$ (15.gün Kİ)	$> \% 10$ (15.gün Kİ)

DNA: Deoksiribo nükleik asit, MRD: Minimal kalıntı hastalığı, WBC: Beyaz kan hücresi, Kİ:Kemik iliği

2.9.1. Moleküler Belirteçlerin Prognostik Yönü

ALL, heterojen bir genetik yapıya sahiptir; risk sınıflamasını yönlendiren ve tedaviyi belirleyen pek çok genetik mutasyon taşır. Genetik mutasyonlar, ALL gelişimine neden olan onkogenlerin oluşumuna sebep oldukları gibi, tümör baskılayıcı genlerde ortaya çıkarak da tümör oluşumunu engelleyen fonksiyonların ortadan kalkmasına yol açarak ALL gelişimine neden olabilirler (30).

Yapılan son çalışmalardan elde edilen verilere göre lösemi gelişimi ile ilgili temel bir görüşe varılmıştır: Kazanılmış genetik değişimlerde hedef, lenfosit seri gelişiminden sorumlu hücresel yolaklar, hücre döngüsü kontrolü, tümör baskılanması, apoptozis ve ilaç direnci ile ilgili olan yolaklardır. Bu genetik mutasyonlar lösemi oluşumuna katkıda bulunurken aynı zamanda, hastalığın bireysel prognozunu belirlemekte, hastalığın seyri sırasında ortaya çıkmaları ya da kaybolmaları ile tedaviye verilen cevabın etkilenmesine neden olmaktadır (30,31).

2.9.2. Aday Prognostik Belirteç Genler

Son yıllarda genomik araştırmaların ortaya koyduğu gen profili, ALL'de pek çok yeni moleküler genetik belirteçin de yer aldığını göstermektedir. Pek çok yeni saptanan gen mutasyonunun prognoz tayini ve tedavide belirleyici olacağı düşünülmektedir (1).

Son yıllarda araştırılan, prognostik belirteçler arasında IKZF1 (Ikaros Family Zinc Finger-1), CRLF2 (Cytokine Receptor-Like Factor 2), ERG (ETS-Related Gene), CDKN2A (Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A), CDKN2B (Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2B) JAK2, PDGFRB , PAX5, EBF1, CREBBP, CXCR4, ZAP70, VLA4, NF1, NR3C1, RB1, TSLP, ZNRF1, FOXO3A , ABL1 yer alır (1).

2.9.2.1. IKZF1 Geni

IKZF1 7. kromozomun kısa kolu 7p12.2 de lokalize 8 ekzondan oluşan bir transkripsiyon faktörüdür. IKAROS ailesi IKZF1 tarafından kodlanan , N- ve C-terminal uçlarında çinko(Zn) parmak bölgeleri taşıyan krupple tip çinko parmak proteinlerindedir. Proteinin N ucu DNA'ya bağlanmak, C ucu ise proteinin dimerizasyonu ve stabilizasyonu açısından önem taşır. N-Terminal bölgede 2. ve 3. Zn

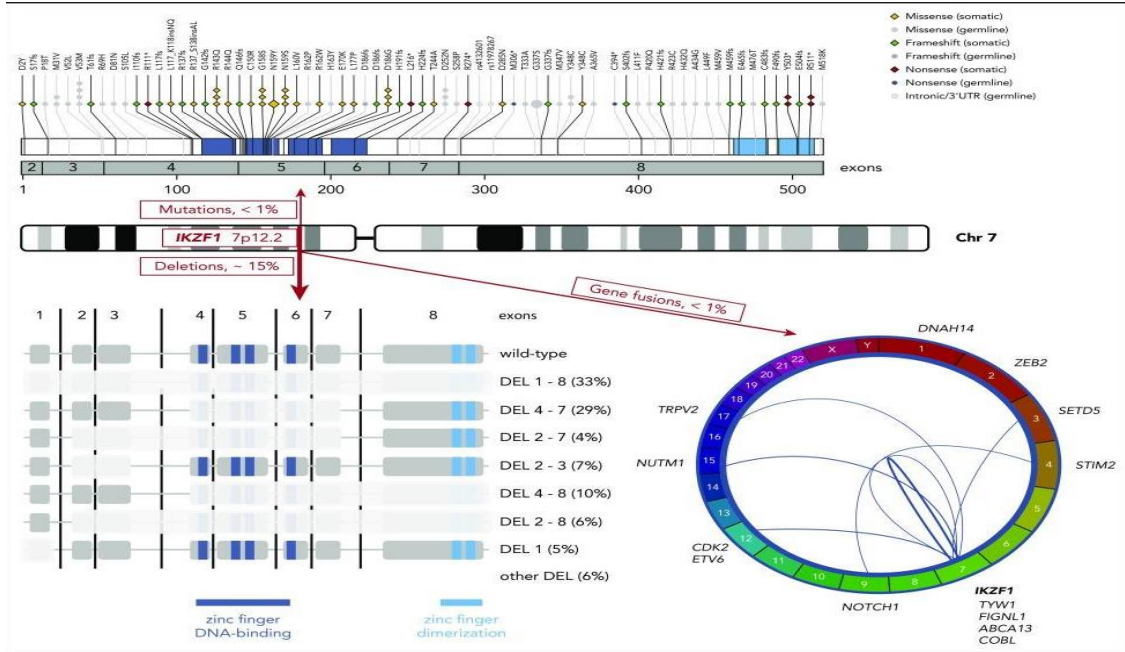
parmaklar tarafından sağlanan A/GGGAA DNA dizisi özel bağlanma motifi lenfosit farklılaşması aşamasında gereklidir. C-Terminal uçtaki Zn parmak bölgesi ise ekzon 8 tarafından kodlanır, 2 adet korunmuş Zn parmaktan oluşur; kendisinin ve diğer aile üyelerinin oligomerizasyonu için gereklidir. Oligomerizasyonun, IKZF1 DNA bağlanma aktivitesini artırdığı in-vitro ve in-vivo çalışmalar ile gösterilmiştir. Proteinin DNA bağlanma bölgesinde bir mutasyon oluştuğunda lenfosit gelişimi durur (32-34).

Hematopoetik kök hücrelerin kaderini belirleyen IKAROS, normal hematopoetik hücrelerin gelişimi için önemli bir çekirdek proteindir ve lenfositlerin farklılaşması ve özelleşmesinde önemli rol oynar (33).

Normal lenfoid seri gelişiminde, IKZF1 hücre döngüsünde görev alan transkripsiyon düzenleyici genler olan CDKN1A ve CDKN1B aracılığı ile hücre döngüsünde G1-S geçişini durdurur (35). CK2 (Casein Kinaz II) ile fosforile olan IKAROS'un DNA bağlanma kapasitesi azaltılır ve hücrenin S fazında ilerlemesi sağlanır. Bu şekilde hücre döngüsünün kontrollü bir şekilde ilerlemesi sağlanır (35).

IKZF1 heterozigot mutant fareler üzerinde yapılan bir çalışma sonucunda, embriyonik dönemde lenfosit gelişiminin normal olduğu gözlenirken, doğumdan hemen sonra hücre çoğalmasının arttığı ve farklılaşmanın olmadığı ve doğumdan sonraki 3 ay içinde lösemi-lenfoma geliştiği gözlemlenmiştir (35).

IKZF1 delesyonları, ALL risk sınıflandırılması amacı ile kullanılması düşünölen prognostik biyobelirteçler arasındadır (131). Gende olan delesyon veya mutasyonlar ALL de kötü prognoz ile karakterizedir (132). IKZF1 delesyonları, BCR-ABL pozitif B-ALL de %70, BCR-ABL negatif grupta ise %15-20 oranında bulunur ve her iki grupta da artmış relaps riski ve azalmış sağkalım ile karakterizedir. En sık görölen IKZF1 değişimleri ekzon 4 ve 7'de görölen delesyonlardır. Günümüzde, çeşitli IKZF1 delesyon tipleri arasındaki patobiyolojik farklar yeterince bilinmemektedir, ancak IKZF1 delesyonlarının tüm tipleri kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Pediatrik ALL'de IKZF1 genindeki mutasyonlar Şekil 3'te gösterilmiştir (32).



Kırmızı kutular, IKZF1’de görülen genetik mutasyonların yüzdeleri göstermektedir. Gen delesyonları (sol altta), gen füzyonları (sağ altta) ve somatik ve germline tek nükleotid varyantları (üstte) gösterilmiştir. Chr:kromozom; UTR: çevrilmemiş bölge.

Şekil 3. Pediatrik ALL'de IKZF1 genindeki mutasyonlar

2.9.2.2 CRLF2 Geni

Sitokinler ve reseptörleri, hematopoezde hücre canlılığı, çoğalması ve farklılaşması gibi önemli görevlerde rol oynarlar. Cytokine Receptor-Like Factor 2 (CRLF2), X kromozomunun kısa kolunda p22.3 te lokalizedir ve 8 ekzondan oluşmaktadır (36).

Timik stromal lenfopoetin (TSLP) reseptörünü kodlayan CRLF2 geninin aşırı ekspresyonu, hematopoetik sistemdeki hücre proliferasyonu ve gelişimi gibi süreçleri kontrol eden STAT3 ve STAT5 yollarının JAK2 aracılı aktivasyonu ile sonuçlanır (37,38).

Genel olarak, CRLF2’nin aşırı ekspresyonuna neden olan birkaç genetik düzenlenme vardır. Bu düzenlenmeler 3 yolla gerçekleşmektedir. Bunlardan birincisi, P2RY8-CRLF2 füzyonuna neden olan cinsiyet kromozomlarının psödozomal bölgesinin fokal interstisyel delesyonu, ikincisi CRLF2’nin, immüoglobülinin ağır

zincir arttırıcı bölgesine translokasyonu (IGH-CRLF2) ve üçüncüsü CRLF2'yi aktive eden F232C nokta mutasyonudur (39).

Yapılan çalışmalarda CRLF2 ifadenmesinin önemli ölçüde artması kötü prognoz ile karakterize olduğunu pediatrik ve yetişkin B-ALL de rapor edilmiştir. Pediatrik ve yetişkin öncü B-ALL'de CRLF2 mutasyon sıklığı %6 olarak bildirilmiştir. B-ALL de artmış CRLF2 ifadesi allojenik kök hücre naklinin yapıp yapılmamasına ya da kemoterapinin devam edilip edilmeyeceğine karar verilmesinde anahtar rol oynayabileceği bildirilmiştir (40).

Yapılan çalışmalarda IKZF1 delesyonu ve CRLF2 overekspresyonu ayrı ayrı saptandığında kötü prognozla, birlikte bulduklarında ise daha kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (41).

2.9.2.3 ERG Geni

Erythroblast Transformation-Specific (ETS)-related gene (ERG) erken hematopoez ve hematopoetik kök hücrelerin devamlılığında önemli rol oynamakta olan bir onkogendir (42).

ERG 21. kromozomun uzun kolu üzerine konumlanmıştır ve 12 ekzondan oluşmaktadır (48). ERG ve aynı ailenin benzer üyeleri mitojenik sinyal çevirici yolların düzenleyici olarak görev yapmaktadırlar. Embriyonik gelişim, hücre çoğalması, farklılaşma, anjiyogenez, inflamasyon ve apoptozis gibi yolların düzenlenmesinde önemli görev almaktadırlar. Erken miyelosit hücrelerde, olgun lenfositlere göre daha fazla ifade edilmektedir. Bu nedenle ERG'nin erken hematopoetik hücrelerin farklılaşmasında düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir (43).

Akut lösemide, artmış ERG ifadenme seviyesi, bağımsız prognostik risk faktörü olduğu bilinmektedir (43).

2.9.2.4 CDKN2A ve CDKN2B Geni

Siklinler, CDK kompleksleri ve CDKI molekülleri, hücre döngüsü, farklılaşma, DNA onarımı ve apoptozis sistemlerinin düzenlenmesiyle ilgili genlerin ifade edilmesini denetlemektedir. Hücre döngüsünün denetim noktalarını oluşturan sistemler, kromozomların doğru düzenlenme, ayrılmalarından ve genomun bütünlüğünün sürdürülmesinden sorumlu olduğundan bu sistemlerdeki hatalar genomik kararsızlığın bir nedeni olabilmektedir (44).

Hücre döngüsü bileşenlerindeki genetik polimorfizmlerin akut lösemiler üzerine etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Hücre döngüsündeki kritik bir nokta, hücrenin geri dönülemez şekilde yeni bir bölünme turuna geçtiği G1/S geçiş kontrol noktasıdır. Sikline bağımlı kinaz inhibitörleri CDKN2A (p16INK4A), CDKN2B (p16INK4B), CDKN1A (p21Cip1/Waf1) ve CDKN1B (p27kip1), G1/S kontrol noktasının temel düzenleyicileridir; bunların uyumlu eylemi, hücrelerin onkogenik sinyalleme veya DNA hasarına yanıt olarak sonraki bölünmeye uğramasını önler. Buna göre polimorfizmlere bağlı olarak ekspresyonlarında ve/veya aktivitelerinde meydana gelen değişiklikler kansere duyarlılığı değiştirebilir. CDKN2A, CDKN2B, CDKN1A ve CDKN1B'deki DNA varyantları ile özellikle meme, prostat ve deri kansinomlarında kanser duyarlılığı arasındaki korelasyonlar rapor edilmiştir (44).

Son çalışmalarda genleri CDKN2A , CDKN2B 'deki germ hattı varyantlarının çocukluk çağı lösemisine duyarlılıkta rol oynayabileceğini göstermektedir (44).

3. MATERYAL METOD

Çalışmada IKZF1, ERG, CDKNA2, CDKN2B gen mutasyonlarının ve CRLF2 overekspresyonunun ALL ile klinik ve hematolojik ilişkisi ve bu gen mutasyonlarının prognoza etkisi kesitsel olarak incelenmiştir. Çalışmaya Ocak 2018 ve Aralık 2033 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalında ALL tanısı alan ve tanı anında genetik analiz için pediatrik genetik tanı laboratuvarlarında Kİ ve/veya periferik kan örnekleri gönderilen ve aday prognostik genler açısından yeterli miktarda DNA materyali olan 24 hasta dahil edilmiştir. Ayrıca hastaların tanı anındaki yaş, cinsiyet, şikayet, fizik muayene bulguları, laboratuvar bulguları, ekstramedüller sistem tutulumları, immunfenotipleme, risk grubu, tedavi yanıtları, tedavi komplikasyonları, relaps ve mortalite durumları, klasik genetik sonuçları incelenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen tüm ALL hastaları ALL-IC BFM 2009 tanı, tedavi ve takip protokolü ile tedavi edilmiştir. Risk gruplaması, risk değişikliği ve tedavi değerlendirmesinin bu protokol ile yapılması nedeniyle ALL- IC BFM 2009 protokolü anlatılacaktır.

3.1. BFM – ALL IC – 2009 PROTOKOLÜ

3.1.1 BFM – ALL IC – 2009 Protokolü Risk Grupları

Tedavi başlangıcında; hastanın yaşı ve WBC sayısına, daha sonra indüksiyon KT'sine yanıt (8. gün periferik blast sayısı, 15. gün ve 33. gün Kİ'nde blast oranları) ve genetik sonuçlara göre hastalar standart, orta ve yüksek risk gruplarına ayrılır(Şekil 4). Hastaların risk sınıflamasına göre tedavi şeması değişmektedir. Bu protokole göre risk sınıflaması şu şekildedir:

Standart Risk Grubu (SRG) : Aşağıdaki kriterlerin tümüne birden uymalıdır:

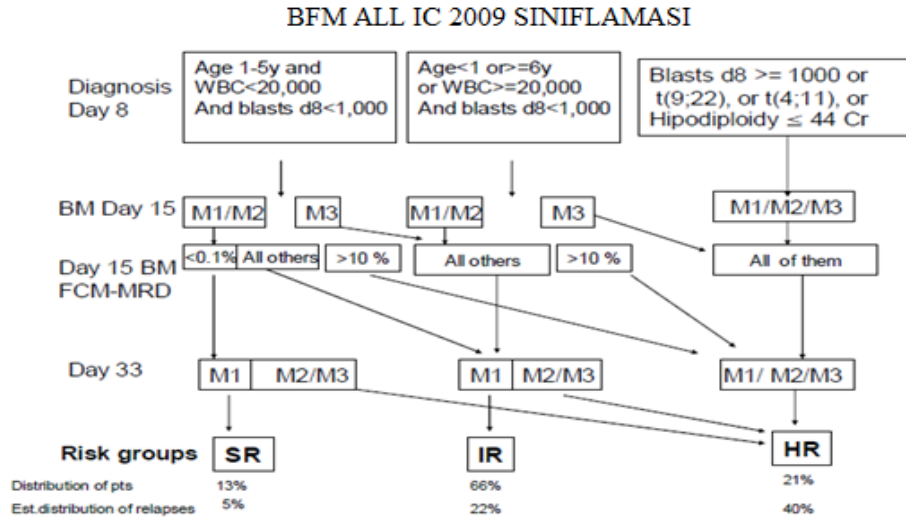
- 8. günde periferik kanda lösemik hücre sayısı $< 1000/\text{mm}^3$
- Tanıda WBC sayısı $< 20.000/\text{mm}^3$

- $1 \leq \text{yaş} < 6$
- 33. günde M1 Kİ
- Bakılabilirse 15. gün Kİ akım sitometrisinde MRD $< \%0,1$ veya 15. gün Kİ morfolojisinin M1 / M2 olması

Yüksek Risk Grubu (HRG) : Aşağıdaki kriterlerden birinin olması:

- 8. günde periferik kanda lösemik hücre sayısı $\geq 1000/\text{mm}^3$
- SRG'de bakılabilirse 15. gün Kİ akım sitometrisinde MRD $> \%10$
- IRG'de; bakılabilirse 15. gün Kİ akım sitometrisinde MRD $> \%10$ veya 15.gün Kİ'nin M3 olması
- 33. günde tam remisyon olmaması (M2 veya M3 Kİ)
- t(9;22) (BCR/ABL) veya t(4;11) (MLL/AF4) pozitifliği
- Hipodiploidi ≤ 45

Orta Risk Grubu (IRG): SRG veya HRG'ye dahil olmayan hastaların tamamı IRG olarak tedavi edilmektedir.



BFM: Berlin-Frankfurt-Münster, FCM: Akış sitometri, WBC: Lökosit sayısı, BM: Kemik iliği, MRD: Minimal kalıntı hastalığı, SRG: Standart risk grubu, IRG: Orta risk grubu, HRG: Yüksek risk grubu

Şekil 4. ALL IC BFM 2009 risk sınıflaması kriterleri

3.1.2. BFM – ALL IC – 2009 Protokolü Tedavi Yanıtının Değerlendirilmesi

Prednizona 8. gün yanıtı, 15. gün ve 33. günde Kİ remisyon durumu değerlendirmesi risk grubunu belirlemede önemlidir. Tedavi başlangıcında hastalara 7 gün prednizolon verildikten sonra tedavinin 8. gününde periferik kanda WBC sayılır ve yaymada blast aranarak yüzdesi hesaplanır. Mutlak blast sayısı $\geq 1000/\text{mm}^3$ ise hasta prednizolona yanıtız kabul edilir. Tedavi protokolünün 15. gününde Kİ'nde başlangıçtaki blast sayısında azalma olup olmadığına bakılır. M1 Kİ'nde blast %5'ten azdır (remisyon), M2 Kİ'nde blast %5-24 arasındır (parsiyel remisyon), M3 Kİ'nde blast \geq %25 (remisyon yok) şeklindedir. Tedavi protokolünün 33. gününde yapılan Kİ incelemesinde M1 Kİ saptanması, BOS'ta lösemik hücre bulunmaması ve bölgesel lösemik infiltrasyon olmaması tam remisyon olarak kabul edilir.

3.2. DNA İZOLASYONU

Toplam 24 ALL hastalarından MLPA analizleri için hastaların kan örneklerinden total DNA izolasyonu gerçekleştirildi. DNA izolasyonu için hastalardan 5 ml EDTA'lı tüplerde kan örnekleri toplandı ve Macherey-Nagel marka Nucleospin Blood DNA izolasyon kit protokolü uygulandı. Kit protokolü doğrultusunda kan örneklerine birazdan bahsedilecek olan işlem basamakları uygulandı. Hastalardan toplanan kan örneklerinden 200 μl kan örneği 1,5 ml'lik eppendorflara konularak 25 μl proteinaz eklendi. Üzerine 200 μl buffer B3 eklendi. Karışım vorteks ile karıştırıldıktan sonra 70°C'lik sıcak blokta 15 dk inkübe edildi. Ardından üzerine 210 μl %100'lük Etanol eklendi. Dikkatli bir şekilde vorteks edilerek karıştırıldı ve Nucleospin Blood kolonlara aktarıldı. Kolonlar 11,000xq'de 1 dk santrifüj edildi. Santrifüjün ardından alt faz atıldı ve kolonların üzerine 500 μl Buffer BW eklendi ve 11,000xq'de 1 dk santrifüj edildi ve alt faz atıldı. Ardından 600 μl Buffer B5'den kolona eklendi ve kolonlar 11,000xq'de 1 dk santrifüj edildi. Kolondan geçen faz atılarak kolonlar kuru olarak aynı santrifüj hızında 1 dk santrifüj edildi ve 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine alındı. 50 μl elution buffer eklenerek kolonlar 11,000xq'de 1 dk santrifüj edilerek elde edilen DNA örnekleri ileri çalışmalar için -80°C'de saklandı.

3.3. RNA İZOLASYONU

B-ALL hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla CRLF2 gen ifade değişiminin analizlerini gerçekleştirmek amacıyla hastalardan EDTA'lı mor kapaklı tüplerde toplanan kan örneklerinden total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Kan örneklerinden RNA izolasyonu için Nucleogene marka QuickEx Total RNA extraction Kit protokolü kullanıldı. Bu doğrultuda uygulanan kit protokolü;

Çalışmaya dahil edilen bireylerden alınan kan örneklerinden 100'er µl alınarak 1,5 ml'lik ependorf tüplere aktarıldı. 100 µl örnek için 300 µl kit içeriğinde bulunan lizis solüyonu eklendi ve vorteks ile karıştırıldı.

Elde edilen karışım 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından örnekler 14,000xq'de 2 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında örneklerde oluşan üst Őeffaf total RNA içeren faz farklı ependorfa alındı ve her bir örnek üzerine 250 µl %100'lük Etanol eklendi. Elde edilen karışım spin kolona aktarıldı ve 11,000xq'de 30 sn santrifüj edildi. Kolona tutunan RNA örnekleri yıkama 1 ve yıkama 2 solüsyonlarından geçirilerek yıkamalarının ardından spin kolonlar 1,5 ml'lik toplama tüplerine alındı. Kolonlara 30'ar µl elüsyon buffer eklendikten sonra 11,000xq'de santrifüj edildikten sonra örneklerin kalite ve kantiasyonların kontrolü Thermo marka Nanodrop 2000 cihazında 260/280 değerleri, konsantrasyon, kalite kantitasyonları kontrol edildi. Ardından CRLF2 gen ifade analizleri için kullanılmak üzere -80°C'ye kaldırıldı.

3.4. cDNA SENTEZ REAKSİYONU

Hasta ve kontrol grubundan elde edilen RNA örneklerinden **CRLF2** gen ekspresyon analizlerini gerçekleştirmeden önce örnekler cDNA'ya dönüştürüldü. cDNA dönüşüm reaksiyonu için ABM marka OneScript® Plus cDNA Synthesis Kit kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaç doğrultusunda aşağıdaki prosedür uygulandı;

- Her bir örnekten 150-180 ng konsantrasyonda RNA örneklerinden 200 µl'lik PCR tüplerine aktarıldı. RNA örneklerinin üzerine aşağıdaki Kit bileşeni eklendi.

- Kit bileşeni; 4 µl 5X buffer, 1 µl dNTP, 1 µl Primer, 1 µl OneScript® Plus RTase, 5 µl dH₂O'den oluşmaktadır.

Karışım Sensequest labcyc'ler cihazında 25°C'de 10 dk, 15 dk 55°C'de, 85 °C'de 5 dk'dan oluşan inkübasyon sürecine tabi tutuldu. Ve cDNA örnekleri dH₂O ile ½ oranında sulandırıldı. Ardından QRT-PCR yöntemi ile CRLF2 analizlerine geçildi.

3.5. qRT-PCR REAKSİYONU İLE CRLF2 EKSPRESYON ANALİZİ

Kontrol grubuna kıyasla hasta grubunda CRLF2 gen ekspresyon değişiminin analizleri qRT-PCR yöntemi ile gerçekleştirildi. Analizler için ABM BlasTaq™ 2X qPCR MasterMix kit protokolü kullanıldı. Kit protokolü doğrultusunda; qRT-PCR karışımı hazırlandı.

qRT-PCR karışımı; 5 µl Blastaq 2X Sybr mix, 0,5 µl Forward Primer, 0,5 µl Reverse Primer, 3 µl dH₂O, 1 µl cDNA' dan oluşmaktadır.

Hazırlanan qRT-PCR karışımı CFX96 real-time system C100 thermal cycler cihazında analiz edildi. B-Aktin geni her bir örnek için **iç kontrol** olarak kullanıldı. Reaksiyon her bir örnek için **3 tekrarlı** olarak gerçekleştirildi.

3.6. MLPA YÖNTEMİ

SALSA® MLPA® Probemix P202-C1 IKZF1-ERG kitinde 7p12.2 lokusunda yer alan IKZF1 geni, 9p21.3 lokusunda yer alan CDKN2A ve CDKN2B geni, 14q32.33 lokusunda yer alan MTA1, CRIP2, IGHD genleri, 21q22.13 lokusunda yer alan KCJN6, ERG, ETS2 genleri mevcuttur. Hastalar bu genlerdeki mutasyonlar açısından değerlendirilmiştir.

Gelen 24 adet örneğe ait DNA'lardan 5 ul alınıp 98°C'de 5 dakika denatüre edildi. Oda sıcaklığında bekletildi. Her reaksiyon tüpü içerisine 3 ul hybridisation master mixi eklendi ve pipetaj yapıldı. Bir dakika 95°C'den sonra inkübe edildikten sonra 16 saatlik 6098°C'de hibridizasyon aşaması için cihazda bırakıldı. Thermal cyclers'in sıcaklığı 54°C'ye düşürülüp, tüpler cihaz içindeyken tüplerin içerisine 32 ul Ligase-65 master mix'i eklenip cihaz 15 dakikaya ayarlandı. Ligaz enziminin inaktivasyonu için 98°C'de 5 dakika bekletildi. Oda sıcaklığında soğuduktan sonra polimeraz master mixi eklenip aşağıdaki protokolda amplifiye olması için thermal cyclers'a bırakıldı. Fragman analizi aşamasında PCR ürünlerinden 9 ul, 1 ul ROX GS500/HiDi formamide size standartı ile ABI 3500 (Applied Biosystems Inc.) kapiller elektroforez cihazı kullanıldı.

Analiz Coffalyser.Net yazılımı ile gerçekleştirildi. Sonuçlar aşağıda yer alan Tablo 8'deki bilgilere göre değerlendirildi.

Tablo 8: Aday prognostik genlerin kopsa sayısına göre mutasyon değerlendirmeleri

Kopya sayısı durumu	Fina ratio (FR)
Normal	$0.80 < FR < 1.20$
Homozigot delesyon	$FR = 0$
Heterozigot delesyon	$0.40 < FR < 0.65$
Heterizgot duplikasyon	$1.30 < FR < 1.65$
Heterozigot triplikasyon/homozigot duplikasyon	$1.75 < FR < 2.15$
Belirsiz kopya sayısı	Diğer tüm değerler

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Toplam sağkalım overall survival (OS), tanı anından ölüme kadar veya hayatta kalanlar için son takip ziyaretine kadar olan aralık olarak tanımlandı.

Veriler SPSS 25.0 (IBM SPSS Statistics 25 software (Armonk, NY: IBM Corp.)) paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma (minimum ve maksimum değerler) ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde

olarak ifade edilmiştir. Bağımsız grup farklılıklarının karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Ayrıca kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki kare analizi kullanılmıştır. Tüm analizlerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. CRLF2 overekspresyonu için gruplar arasındaki kıyaslamalarda qRT-PCR datalarının analizi için karşılaştırmalı Ct yöntemi ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) ve unpaired student-t testleri kullanıldı.

4. BULGULAR

Son 6 yıl içerisinde ALL tanısı alıp yeterli miktarda DNA materyaline sahip olan ve çalışmaya dahil edilen 24 hastanın 12'si (% 50) kız, 12'si (% 50) erkekti. Hastaların ALL tanısı aldıkları andaki yaşları 18 ay ile 17 yaş arasında değişmekte olup, ortalama yaşları 7.05 ± 4.39 yıl, ortanca yaş ise 5,54 yıl saptandı. Bir yaş altında hasta olmamakla beraber 14'i (%58.3) 1-6 yaş arası, 10'ü (%41.7) 6 yaş üzerindediydi.

Başvuru şikayetleri arasında en sık olanları sırasıyla halsizlik (%70.8), iştahsızlık (%54.2), solukluk (%50), ateş (% 37.5) ve eklem ağrısıydı (%37.5). Başvuru anında en sık saptanan muayene bulguları ise sırasıyla hepatomegali (%33.3), lenfadenopati (%29.2), peteşi ya da purpura (%29.2) ve splenomegali (%25) idi.

Hastane veri tabanından geriye doğru taranarak hasta verileri değerlendirildi. Tanı anındaki WBC sayıları 1610 ile $284.160/\text{mm}^3$ arasında değişmekte olup ortalaması $43.767 \pm 78.102/\text{mm}^3$, ortanca değeri $9020/\text{mm}^3$ idi. Hastaların 15'inde (%62.5) WBC $20.000/\text{mm}^3$ altında, 9'unda (%37.5) $20.000/\text{mm}^3$ üzerindediydi. HGB değerleri 3,8 g/dL ile 15,9 g/dL arasında değişmekte olup ortalaması $8,25 \pm 2,85$ g/dL idi. Trombosit değerleri $9000/\text{mm}^3$ ile $920.000/\text{mm}^3$ arasında değişmekte olup ortalaması $104.250 \pm 185.369/\text{mm}^3$, ortanca değeri $46.500/\text{mm}^3$ idi. TLS açısından tanı anında değerlendirilen parametreler arasında yer alan LDH 249U/L ile 5903 U/L arasında değişmekte olup ortalaması 1184 ± 1552 U/L, ortanca değeri 478 U/L idi. Ürik asit değeri ise 1,4 mg/dL ile 12,9 mg/dL arasında değişmekte olup ortalaması $5,44 \pm 2.94$ mg/dL, ortanca değeri 4,45 mg/dL idi.

Tanı anında hastalar ekstremiteler tutulum açısından, akciğer grafisi, EKO, batın USG, göz dibi muayenesi, kranial MR ve erkek hastalar skrotal USG ile değerlendirildi. Hastaların hiçbirinin akciğer grafisinde infiltrasyon ya da mediasten genişliği saptanmadı. EKO sonucu 18'sinde (%75) normaldi, 1 hastada atriyal septal defekt (ASD), 1 hastada mitral yetmezlik (MY) (1. Derece), 1 hastada hafif triküspit yetmezliği (TY), 1 hastada hafif atriyal yetmezlik (AY) ve MY(1. Derece), 1 hastada hafif AY ve hafif TY, bir hastada ise perikardiyal efüzyon mevcuttu. Batın USG yapılan 23 hastanın 14'ünde (%60.9) sonuç normaldi. Hastaların 5'inde (%21.7) HSM, 3'ünde (%13) HM, 1'inde (%4.3) karaciğerde ekojenite artışı mevcuttu.

Hastaların hiçbirinde göz tutulumu yoktu. SSS tutulumu 2 hastadan biri spinal bölgede şişlik ve alt ekstremitelerde güçsüzlük şikayeti ile başvurup beyin cerrahisi tarafından opere edildikten sonra patoloji sonucunun B-ALL gelmesi üzerine tanı aldı. Toplam 11 erkek hastaya skrotal USG çekildi. Hastaların 7'sinde (%58.3) sonuç normalken, 3 hastada mikrolitiazis, 1 hastada hidrosel saptandı. T-ALL tanılı bir hastada; skrotal USG'de bilateral testis parankiminde hafif heterojen görünüm, sağ testis alt polde 17x13 mm boyutta sınırları net seçilemeyen hipoekoik alan ve bilateral testis kanlanması artış görüldü. Bu bulgular testis tutulumu açısından anlamlı kabul edildi. Kemoterapi sonrası kontrol USG'de bu bulguların gerilediği görüldü.

Hastaların tanı anında yapılan akım sitometrik incelemesinde 22'si (%91.7) B-ALL, 2'si (%8.3) T-ALL tanısı aldı.

Bütün hastalar BFM ALL IC 2009 protokolüyle tedavi edildi. BFM ALL IC 2009 protokolü risk sınıflamasına göre 7 hasta (%29.2) SRG, 14 hasta (%58.3) IRG, 3 hasta (%12.5) ise HRG idi. Çalışmadaki hastaların tanı anındaki risk grupları Tablo 9'da gösterilecektir.

Tablo 9. ALL hastalarının tanı anındaki risk grupları

Tanı Risk grubu	Hasta sayısı	%
Standart Risk (SR)	7	29.2
Orta Risk (IR)	14	58.3
Yüksek Risk (HR)	3	12.5

Bütün hastaların 8. gününde prednizolona cevabı değerlendirildi. Hastaların 17'sinde (%70.8) yanıt iyi, 7'sinde (%29.2) kötüydü. Kİ'nin hiposelüler olması nedeniyle 1 hastanın 15. gün ve 1 hastanın 33. gün Kİ değerlendirmesi yapılamadı. Otuz üçüncü gün Kİ hiposelüler olan hasta HRG olup, HR1 blok öncesi yapılan Kİ'nde %95 blast saptanması üzerine refrakter ALL olarak değerlendirildi. Yeni tanı alan 1 hastanın ise 15.gün ve 33.gün Kİ değerlendirilemedi. On beşinci gün Kİ değerlendirilen 22 hastanın 3'ü (%13.6) M1, 11'i (%50) M2, 8'i (%36.4) M3 Kİ idi.

Otuz üçüncü gün Kİ değerlendirilen 22 hastanın ise 17'si (%77.3) M1, 4'ü (%18.2) M2, 1'i (%4.5) ise M3 idi.

Toplam 24 hastanın 8'inde (%33.3) risk grubu değişikliği olup 16 (%66.7) hastada risk değişikliği olmamıştır. Dört hastanın 8.günde periferik blast sayısının $>1000/\text{mm}^3$ olması, 2 hastanın 15.gün Kİ'nin M3 olması ve 1 hastanın 33. gün Kİ'nin M3 olması hasta nedeniyle risk grubu değişmiştir.

Hastaların genel sağkalım (OS) %95.8 bulundu. Genel sağkalım süresi ortalama 59.50 ± 8.13 ay idi. Toplamda 1 hasta refrakter hastalık kaybedildi. Hastalarda mortalite %4.2 saptandı.

Hastaların 4'ünde (%16.7) relaps görüldü. Relaps görülen hastaların 3'ü (%75) erkek, 1'i (%25) kızdı. İki (%50) 6 yaş ve üzerinde, ikisi ise (%50) 1-6 yaş arasındaydı. Hastaların 2'si (%50) geç, 2'si (%50) erken relaps tanısı almıştı. İmmunfenotiplendirmesine bakıldığında hepsi B-ALL idi. Risk gruplamasına göre ise 1'i (%25) SRG, 3'ü (%75) IRG idi. Tanı anında WBC sayıları 3 hastada (%75) $< 20.000/\text{mm}^3$ iken 1 hastada (%25) $>20.000/\text{mm}^3$ idi. Sekizinci gün değerlendirmesinde 3'ünde (%75) blast sayısı <1000 iken 1'inde >1000 (%25) idi. On beşinci gün Kİ 2'sinde (%50) M2, 2'sinde (%50) ise M3'tü. Otuz üçüncü gün Kİ tüm hastaların M1 idi. Genetik açıdan değerlendirildiğinde 2'sinde (%50) t(12;21) olup diğer 2'sinin (%50) sonucu normaldi.

Hastanemizde tanı aldıktan sonra dış merkeze başvuran 1 hasta hastalık ve/veya tedavi ilişkili erken ve geç komplikasyonlar açısından değerlendirilemedi. Değerlendirilen 23 hastada febril nötropeni atak sayısı en az 1 en fazla 17 arasında değişmekte olup, ortalama atak sayısı $6,60 \pm 4,37$ idi. Komplikasyonlar kardiyolojik, gastrointestinal, nefrolojik, endokrinolojik, nörolojik, pulmoner, tromboembolik ve diğer olarak gruplandırıldı. Kardiyolojik komplikasyonlardan en sık perikardiyal efüzyon 7 hastada (%26.1) ve taşikardi 7 hastada (%30.4) izlendi. Gastrointestinal sistemde en sık transaminaz yüksekliği 12 hastada (%52.2), tifilit 1 hastada (%4.3) görüldü. Hipoalbuminemi 5 hastada (%21.7), nefrolitiazis 3 hastada (%13) nefrolojik komplikasyonlar olarak izlendi. Endokrinolojik komplikasyonlardan hiperglisemi 8 hastada (%34.8), 2 hastada (%8.7) hipoglisemi izlendi. Miyopati/ kas güçsüzlüğü

nörolojik sistemde en sık görülen komplikasyon olup 6 hastada (%26.1) görüldü. Hipogamaglobulinemi 8 hastada (%34.8), invaziv pulmoner aspergilloz 4 hastada (%17.4), L-asparajinaz alerjisi 3 hastada (%13), akut respiratuar distres sendromu (ARDS) 1 hastada (%4.3), Pulmoner ödem 1 hastada (%4.3) izlendi. Tromboembolik durum; 2 hastada (%8.7) port kateri ile ilişkili komplikasyon olarak izlendi.

Tedavisi devam etmekte olan 3 hastanın klasik genetik paneli henüz sonuçlanmadı. Geriye kalan 21 hastanın 11'inin (%52.4) sonucu normaldi. Hastaların 4'ünde (%19) ETV-RUNX1 (t12:21), 1'inde (%4.8) hiperdiploidi, 1'inde (%4.8) ETV-RUNX1(t12:21) ve hiperdiploidi saptandı. Bu moleküler belirteçler İyi prognostik öneme sahiptir. Kötü prognostik öneme sahip belirteçler açısından değerlendirildiğinde ise; hastalarının 1'inde (%4.8) MLL gen yeniden düzenlenmesi, 1'inde t(9;22) saptanırken, hiçbir hastada hipodiploidi ve 21.kromozomda intrakromozomal amplifikasyon görülmedi. Çoğu çalışmada kötü prognozla ilişkilendirilmiş olan IGH gen yeniden düzenlenmesi 1 hastada (%4.8) görülürken, 1 hastada (%4.8) ise P16 delesyonu ve IGH gen yeniden düzenlenmesi beraber görüldü. Hastaların sosyodemografik ve prognostik özellikleri tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. ALL hastalarının sosyodemografik ve prognostik özellikleri

	Sayı (n)	Yüzde (%)
Cinsiyet		
Kız	12	50
Erkek	12	50
Yaş grubu		
<1 yaş	0	
1 ≤ yaş < 6	14	58.3
>6 yaş	10	41.7
Tanı anında WBC		
< 20.000 /mm ³	15	62.5
> 20.000 /mm ³	9	37.5
8. gündeki periferik blast Sayısı		
< 1.000 /mm ³	17	70.8
> 1.000 /mm ³	7	29.2
15.gün KİA		
M1	3	13.6
M2	11	50
M3	8	36.4
33. gün KİA		
M1	17	77.3
M2	4	18.2
M3	1	4.5
İmmunfenotip		
T hücreli ALL	2	8.3
B hücreli ALL	22	91.7
Genetik sonucu		
t(12;21)	4	19
Hiperdiploidi	1	4.8
T12(21) ve Hiperdiploidi	1	4.8
t(9;22)	1	4.8
MLL gen yeniden düzenlenmesi	1	4.8
IGH gen yeniden düzenlenmesi	1	4.8
IGH gen yeniden düzenlenmesi ve P16 delesyonu	1	4.8
Normal	11	52.4

Tüm hasta gruplarında aday prognostik belirteç olarak öngörülen gen mutasyonları tarandığında; IKZF1 delesyonu 5 (%20.8) hastada görüldü, 3 hastada homozigot, 1 hastada heterozigot olmak üzere 4 hastada (%16.7) delesyon ve 1 hastada heterozigot duplikasyon saptandı. Delesyon izlenen 1 hasta 1-6 yaş arasında, 3 hasta ise 6 yaş ve üzerinde olup 2'ü erkek, 2'si kızdı. Hastalardan 2'si B-ALL, 2'si T-ALL idi. Hastalardan 3'ü IRG, 1'i ise HRG idi. WBC sayısı 1 hastada $< 20.000/mm^3$ iken 3 hastada $>20.000/mm^3$ idi. On dokuz hastada (%79.2) mutasyon izlenmedi.

ERG mutasyonu 9 (%37.5) hastada görüldü, 4 hastada heterozigot duplikasyon, 2 hastada heterozigot delesyon, 1 hastada homozigot duplikasyon, 2 hastada amplifikasyon saptandı. Hastalardan 8'si B-ALL, 1'i T-ALL idi. Hastalardan 3'si SRG, 6'ü IRG idi, HRG olan yoktu. Tanı anındaki WBC sayısı 6 hastada $<20.000/mm^3$ iken 3 hastada $>20.000/mm^3$ idi. Hastaların 2'sinde relaps izlendi. On beş hastada (%62.5) mutasyon görülmedi.

CDKN2A mutasyonu 5 (%20.8) hastada görüldü, 3 hastada homozigot, 1 hastada heterozigot olmak üzere 4 hastada (%16.7) delesyon, 1 hastada heterozigot duplikasyon saptandı. Delesyon izlenenlerden 2 hasta 1-6 yaş arasında, 2 hasta ise 6 yaş ve üzerinde olup hepsi erkekti. Hastalardan 2'si B-ALL, 2'si T-ALL idi. Hastalardan 1'i SR, 3'ü IRG idi, HRG olan yoktu. Tanı anındaki WBC sayısı 1 hastada $<20.000/mm^3$ iken 3 hastada $>20.000/mm^3$ idi. Hastaların hiçbirinde relaps izlenmedi. On dokuz hastada (%79.2) mutasyon görülmedi.

CDKN2B mutasyonu 5 (%20) hastada görüldü, 3 hastada homozigot, 1 hastada heterozigot olmak üzere 4 hastada (%16.7) delesyon, 1 hastada heterozigot duplikasyon saptandı. Delesyon izlenen 2 hasta 1-6 yaş arasında, 2 hasta ise 6 yaş ve üzerinde olup 4'ü erkek 1'i kızdı. Hastalardan 2'si B-ALL, 2'si T-ALL idi. Hastalardan 3'ü IRG, 1'i HRG idi. Tanı anındaki WBC sayısı bütün hastalarda $>20.000/mm^3$ idi. Hastaların hiçbirinde relaps izlenmedi. On dokuz hastada (%79.2) mutasyon görülmedi.

Hastaların sosyodemografik ve prognostik özellikleri tablo 10’da, aday prognostik gen mutasyon tipleri ve sıklıkları olan tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Aday Prognostik gen mutasyon tipleri ve sıklıkları

MUTASYON TİPLERİ VE SIKLIKLARI	IKZF1		CDKN2A		CDKN2B		ERG	
	Sayı(n)	Yüzde(%)	Sayı(n)	Yüzde(%)	Sayı(n)	Yüzde(%)	Sayı(n)	Yüzde(%)
Normal	19	79.2	19	79.2	19	79.2	15	62.5
Delesyon	4	16.7	4	16.7	4	16.7	2	8.3
Homozigot	1	4.2	1	4.2	1	4.2	-	-
Heterozigot	3	12.5	3	12.5	3	12.5	2	8.3
Duplikasyon	1	4.2	1	4.2	1	4.2	5	20.9
Homozigot	1	4.2	1	4.2	1	4.2	4	16.7
Heterozigot	-	-	-	-	-	-	1	4.2
Amplifikasyon	-	-	-	-	-	-	2	8.3

Hastaların prognostik faktörlerden tanı anındaki yaş, WBC sayısı, immunfenotipi, klasik genetik mutasyonu, risk grubu ve tedavi yanıtları Tablo 12, Tablo 13, Tablo 14, Tablo 15 ve Tablo 16’da gösterilecektir.

Tablo 12. IKZF1 delesyonu olan hastalar ile olmayan hastaların tanı anındaki yaşı ve WBC sayısı

	Tüm hasta grubu		IKZF1 Delesyon olanlar		IKZF1 Delesyon olmayanlar		P değeri
	Sayı (n)	Yüzde (%)	Sayı (n)	Yüzde (%)	Sayı (n)	Yüzde (%)	
Yaş grubu							0.27
<1 yaş	-	-	-	-	-	-	
1 ≤ yaş < 6	14	58.3	1	25	13	65	
>6 yaş	10	41.7	3	75	7	35	
Tanı anında WBC sayısı							0.13
< 20.000 /mm ³	15	62.5	1	25	14	70	
> 20.000 /mm ³	9	37.5	3	75	6	30	

Tablo 13. CDKN2A delesyonu, CDKN2B delesyonu ve ERG mutasyonu olan hastalar ile olmayan hastaların tanı anındaki yaşı ve WBC sayısı

	Tüm hasta grubu		CDKN2A Delesyon olanlar		CDKN2A Delesyon olmayanlar		P değeri	CDKN2B Delesyon olanlar		CDKN2B Delesyon olmayanlar		P değeri	ERG mutasyon olanlar		ERG mutasyon olmayanlar		P değeri	
	n	%	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%		
Yaş grubu																		
<1 yaş	0	-	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-		
1 ≤ yaş < 6	14	58.3	2	50	12	60	1,00	2	50	12	60	1,00	6	66.7	8	53.3	0,67	
>6 yaş	10	41.7	2	50	8	40		2	50	8	40		3	33.3	7	46.7		
Tanı anında WBC																		
< 20.000 /mm ³	15	62.5	1	25	14	70	0,13	-	-	15	75	0,01	6	66.7	8	53.3	1,00	
> 20.000 /mm ³	9	37.5	3	75	6	30		4	100	5	25		3	33.3	7	46.7		

Tablo 14. Aday prognostik genetik mutasyonların immunfenotip ve klasik genetik mutasyonları ile ilişkisi

	Tüm hasta grubu		IKZF1 Delesyon pozitif		CDKN2A Delesyon pozitif		CDKN2B Delesyon pozitif		ERG mutasyon Pozitif	
	Sayı n	Yüzde %	Sayı n	Yüzde %	Sayı n	Yüzde %	Sayı n	Yüzde %	Sayı n	Yüzde %
İmmunfenotip										
T-ALL	2	8.3	2	50	2	50	2	50	1	11.1
B-ALL	22	91.7	2	50	2	50	2	50	8	88.9
Genetik sonucu										
t(12;21)	4	19	-	-	-	-	-	-	-	-
Hiperdiploidi	1	4.8	-	-	-	-	-	-	1	11.1
t(12-21) ve hiperdiploidi	1	4.8	-	-	-	-	-	-	-	-
t(9;22)	1	4.8	-	-	-	-	-	-	-	-
MLL gen yeniden düzenlenmesi	1	4.8	1	25	-	-	1	25	-	-
IGH gen yeniden düzenlenmesi	1	4.8	-	-	-	-	-	-	-	-
IGH gen yeniden düzenlenmesi ve P16 delesyonu	1	4.8	-	-	1	25	1	25	1	11.1
Normal	11	52.4	3	75	3	75	2	50	7	77.8

Tablo 15. Aday prognostik genetik mutasyonların tanı risk grubu ile ilişkisi

Tanı Risk Grubu	IKZF1 delesyon pozitif		IKZF1 delesyon negatif		P değeri	CDKN2A delesyon pozitif		CDKN2A delesyon negatif		P değeri	CDKN2B delesyon pozitif		CDKN2B delesyon negatif		P değeri
	N	%	N	%		N	%	N	%		N	%	N	%	
SR	-	-	7	35	0.19	1	25	6	30	0.51	-	-	7	35	0.19
IR	3	75	11	55		3	75	11	55		3	75	11	55	
HR	1	25	2	10		-	-	3	15		1	25	2	10	

Tablo 16. Aday prognostik genetik mutasyonların tedavi yanıtları

	IKZF1 delesyon pozitif		IKZF1 delesyon negatif		P değeri	CDKN2A delesyon pozitif		CDKN2A delesyon negatif		P değeri	CDKN2B delesyon pozitif		CDKN2B delesyon negatif		P değeri
	N	%	N	%		N	%	N	%		N	%	N	%	
8. gündeki periferik blast sayısı															
< 1.000 /mm ³	2	50	15	75	0.55	3	75	14	70	1.00	2	50	15	75	0.55
> 1.000 /mm ³	2	50	5	25		1	25	6	30		2	50	5	25	
15.gün kemik iliği															
M1	-	-	3	16.7	0.16	1	25	2	11.1	0.74	1	25	2	11.1	0.51
M2	1	25	10	55.6		2	50	9	50		1	25	10	55.5	
M3	3	75	5	27.8		1	25	7	38.9		2	50	6	33.3	
33. gün kemik iliği															
M1	3	75	14	77.8	0.77	4	100	13	72.2	0.31	3	75	14	77.8	0.77
M2	1	25	3	16.7		-	-	4	22.2		1	25	3	16.7	
M3	-	-	1	5.6		-	-	1	5.6		-	-	1	5.6	

Aday prognostik belirteçler açısından mutasyon saptadığımız hastaların sosyodemografik ve klinik bulgularından sırasıyla bahsedilecektir.

H3, 11 yaşında, B-ALL ve IRG olan bir kız hastaydı. WBC sayısı <20.000/mm³ idi ve genetik tetkikleri normaldi. Takibinde geç relaps görüldü. Relaps sonrası akraba dışı donörden KİT oldu. KİT sonrası remisyona girdi. Hastada IKZF1 heterozigot delesyonu ve ERG amplifikasyonu , KCJN6 amplifikasyonu, ETS2 amplifikasyonu mevcuttu (Şekil 5).

	308	IKZF1 Exon 02	0.56	1.24
	213	IKZF1 Exon 02	0.58	0.97
	231	IKZF1 Exon 03	0.57	1.07
	236	IKZF1 Exon 03	0.57	1.09
	402	IKZF1 Intron 03	0.71	1.09
	459	IKZF1 Intron 03	0.63	1.18
	202	IKZF1 Exon 04	0.67	1.17
	423	IKZF1 Exon 04	0.57	0.83
	142	IKZF1 Exon 05	0.56	0.91
	358	IKZF1 Exon 05	0.58	0.99
	190	IKZF1 Exon 06	0.6	1
	256	IKZF1 Exon 06	0	1.01
	172	IKZF1 Exon 07	0.52	1.01
	343	IKZF1 Exon 07	0.62	1.08
	154	IKZF1 Exon 08	0.92	0.91
	288	IKZF1 Exon 08	1.11	1.08
7p12.2	226	FIGNL1 Exon 04	0.98	1.04
9p21.3	262	CDKN2A Exon 04	1.07	1.06
9p21.3	322	CDKN2A Exon 02	1.07	0.93
9p21.3	409	CDKN2B Exon 01	1.02	1.03
14q32.33	366	CEP170B Exon 10	0.92	0.95
14q32.33	427	MTA1 Exon 14	1.11	0.83
14q32.33	449	CRIP2 Exon 01	0.8	0.7
14q32.33	207	IGHD up	1.02	0.98
21q22.13	124	KCNJ6 Exon 04	4.09	0.99
	184	ERG Exon 12	2.91	0.99
	475	ERG Exon11	3.19	0.97
	382	ERG Exon 10	3.65	1.02
	250	ERG Exon 09	4.01	1
	497	ERG Exon 08	3.28	0.93
	373	ERG Exon 07	4.08	1.06
	315	ERG Exon 06	3.63	1.04
	301	ERG Exon 05	3.94	1.11
	336	ERG Exon 04	4.19	1.05
	352	ERG Intron 03	4.53	1.1
	283	ERG Exon03	3.33	0.93
	481	ERG Exon02	3.39	0.97
	177	ERG Exon 01	3.34	1.01
21q22.2	296	ETS2 Exon 03	3.96	1.12

Şekil 5. H3 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

H6, 3 yaşında, B-ALL ve HRG olan bir kız hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $>20.000/\text{mm}^3$ olup, genetik tetkiklerinde mutasyon izlenmemiştir. Takibinde erken relaps izlendi. Relaps olduktan sonra takip ve tedavi için dış merkeze başvurdu. Hastada ERG amplifikasyonu , KCJN6 amplifikasyonu, ETS2 amplifikasyonu ve IGHD up heterozigot delesyonu mevcuttu (Şekil 6).

14q32.33	207	IGHD up	0.63	0.98
21q22.13	124	KCNJ6 Exon 04	3.48	0.99
	184	ERG Exon 12	2.27	0.99
	475	ERG Exon11	2.67	0.97
	382	ERG Exon 10	2.66	1.02
	250	ERG Exon 09	3.13	1
	497	ERG Exon 08	2.73	0.93
	373	ERG Exon 07	2.77	1.06
	315	ERG Exon 06	2.55	1.04
	301	ERG Exon 05	2.68	1.11
	336	ERG Exon 04	3.21	1.05
	352	ERG Intron 03	3.38	1.1
	283	ERG Exon03	2.73	0.93
	481	ERG Exon02	2.96	0.97
	177	ERG Exon 01	2.54	1.01
21q22.2	296	ETS2 Exon 03	3.15	1.12

Şekil 6. H6 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

H8, 8 yaşında, T-ALL ve HRG olan bir erkek hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $>20.000/\text{mm}^3$ olup, genetik tetkiklerinde mutasyon izlenmemiştir. Takibinde relaps izlenmedi, akraba donörden KİT oldu. KİT sonrası remisyona girdi. IKZF1 Ekzon 1’de homozigot delesyon, CDKN2A ve CDKN2B homozigot delesyonu ile CRIP2 heterozigot delesyonu vardı (Şekil 7).

	129	IKZF1 Exon 01	0.06	0.94
	148	IKZF1 Exon 01	0.14	1.04
	269	IKZF1 Exon 01	0.32	1.21
	395	IKZF1 Intron 01	0.94	1.22
	308	IKZF1 Exon 02	0.81	1.24
	213	IKZF1 Exon 02	0.9	0.97
	231	IKZF1 Exon 03	1.06	1.07
	236	IKZF1 Exon 03	0.97	1.09
	402	IKZF1 Intron 03	1.22	1.09
	459	IKZF1 Intron 03	1.12	1.18
	202	IKZF1 Exon 04	1.18	1.17
	423	IKZF1 Exon 04	0.99	0.83
	142	IKZF1 Exon 05	0.95	0.91
	358	IKZF1 Exon 05	1.13	0.99
	190	IKZF1 Exon 06	0.97	1
	256	IKZF1 Exon 06	0.99	1.01
	172	IKZF1 Exon 07	0.91	1.01
	343	IKZF1 Exon 07	1.12	1.08
	154	IKZF1 Exon 08	0.99	0.91
	288	IKZF1 Exon 08	1.06	1.08
7p12.2	226	FIGNL1 Exon 04	1.09	1.04
9p21.3	262	CDKN2A Exon 04	0.1	1.06
9p21.3	322	CDKN2A Exon 02	0.12	0.93
9p21.3	409	CDKN2B Exon 01	0.13	1.03
14q32.33	366	CEP170B Exon 10	0.89	0.95
14q32.33	427	MTA1 Exon 14	1	0.83
14q32.33	449	CRIP2 Exon 01	0.4	0.7

Şekil 7. H8 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

H9, 4 yaşında, B-ALL ve HRG olan bir kız hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $>20.000/\text{mm}^3$ olup, genetik tetkiklerinde MLL yeniden düzenlenmesi izlenmişti. Takibinde 52.gün Kİ'nde remisyona girdi, sonrasında relaps izlenmedi. IKZF1 Ekzon 1'de homozigot delesyon, CDKN2B heterozigot delesyon ve CRIP2 heterozigot delesyonu mevcuttu (Şekil 8).

7p12.2	160	ZPBP Exon 03	1.13	1.04
	490	IKZF1 upstream	0.9	0.88
	129	IKZF1 Exon 01	0.08	0.97
	148	IKZF1 Exon 01	0.12	0.93
	269	IKZF1 Exon 01	0.32	0.86
	395	IKZF1 Intron 01	0.86	0.88
	308	IKZF1 Exon 02	0.85	0.98
	213	IKZF1 Exon 02	0.89	1.01
	231	IKZF1 Exon 03	0.95	1.02
	236	IKZF1 Exon 03	0.86	1.02
	402	IKZF1 Intron 03	1.02	0.88
	459	IKZF1 Intron 03	0.99	0.95
	202	IKZF1 Exon 04	0.98	0.99
	423	IKZF1 Exon 04	1.08	1.03
	142	IKZF1 Exon 05	1.07	1.02
	358	IKZF1 Exon 05	1.14	1.11
	190	IKZF1 Exon 06	0.81	1.03
	256	IKZF1 Exon 06	0.99	1
	172	IKZF1 Exon 07	0.97	1.04
	343	IKZF1 Exon 07	1.06	0.95
	154	IKZF1 Exon 08	0.85	1.01
	288	IKZF1 Exon 08	1.03	1.02
7p12.2	226	FIGNL1 Exon 04	0.89	1.04
9p21.3	262	CDKN2A Exon 04	0.71	0.95
9p21.3	322	CDKN2A Exon 02	0.71	1.07
9p21.3	409	CDKN2B Exon 01	0.63	1.01
14q32.33	366	CEP170B Exon 10	1.11	1.23
14q32.33	427	MTA1 Exon 14	0.92	1.12
14q32.33	449	CRIP2 Exon 01	0.37	1.26

Şekil 8. H9 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

H12, 14 yaşında, T-ALL ve IRG olan bir erkek hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $>20.000/\text{mm}^3$ olup, genetik tetkiklerinde mutasyon izlenmemişti. IKZF1 Ekzon 1'de homozigot delesyon, CDKN2A ve CDKN2B homozigot delesyonu, CRIP2 heterozigot delesyonu ile ERG heterozigot delesyonu vardı (Şekil 9). Takibinde relaps izlenmedi, akraba donörden KİT oldu. KİT sonrası graft versus host hastalığı gelişti, takip ve tedavisine dış merkezde devam etmektedir.

7p12.2	160	ZPBP Exon 03	1.15	1.04
	490	IKZF1 upstream	1.01	0.88
	129	IKZF1 Exon 01	0	0.97
	148	IKZF1 Exon 01	0.13	0.93
	269	IKZF1 Exon 01	0.23	0.86
	395	IKZF1 Intron 01	0.84	0.88
	308	IKZF1 Exon 02	0.97	0.98
	213	IKZF1 Exon 02	1.04	1.01
	231	IKZF1 Exon 03	1.07	1.02
	236	IKZF1 Exon 03	1.06	1.02
	402	IKZF1 Intron 03	1.01	0.88
	459	IKZF1 Intron 03	1.18	0.95
	202	IKZF1 Exon 04	1.06	0.99
	423	IKZF1 Exon 04	1.1	1.03
	142	IKZF1 Exon 05	1.13	1.02
	358	IKZF1 Exon 05	1.03	1.11
	190	IKZF1 Exon 06	0.99	1.03
	256	IKZF1 Exon 06	1.05	1
	172	IKZF1 Exon 07	1.07	1.04
	343	IKZF1 Exon 07	1.11	0.95
	154	IKZF1 Exon 08	0.96	1.01
	288	IKZF1 Exon 08	0.95	1.02
7p12.2	226	FIGNL1 Exon 04	0.97	1.04
9p21.3	262	CDKN2A Exon 04	0	0.95
9p21.3	322	CDKN2A Exon 02	0	1.07
9p21.3	409	CDKN2B Exon 01	0	1.01
14q32.33	366	CEP170B Exon 10	1.21	1.23
14q32.33	427	MTA1 Exon 14	0.92	1.12
14q32.33	449	CRIP2 Exon 01	0.44	1.26
14q32.33	207	IGHD up	1.01	1.03
21q22.13	124	KCNJ6 Exon 04	0.97	1.02
	184	ERG Exon 12	0.89	1.03
	475	ERG Exon11	1	1.03
	382	ERG Exon 10	1	0.99
	250	ERG Exon 09	0.99	0.99
	497	ERG Exon 08	1.01	1.01
	373	ERG Exon 07	1.01	1.04
	315	ERG Exon 06	1.02	1.11
	301	ERG Exon 05	0.99	1.16
	336	ERG Exon 04	1	1.09
	352	ERG Intron 03	0.94	0.93
	283	ERG Exon03	1.09	1.05
	481	ERG Exon02	1.07	1.13
	177	ERG Exon 01	0.5	1.04
21q22.2	296	ETS2 Exon 03	0.98	1.05

Şekil 9. H12 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

H14, 2,5 yaşında, B-ALL ve SRG olan bir erkek hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $<20.000/mm^3$ olup, genetik tetkiklerinde mutasyon izlenmemişti. Takibinde 33.gün Kİ'nde remisyona girdi, sonrasında relaps izlenmedi. CDKN2A heterozigot delesyon ve ERG Ekzon 6'sa heterozigot duplikasyon mevcuttu (Şekil 10).

9p21.3	262	CDKN2A Exon 04	0.41	0.95
9p21.3	322	CDKN2A Exon 02	0.49	1.07
9p21.3	409	CDKN2B Exon 01	1.15	1.01
14q32.33	366	CEP170B Exon 10	1.23	1.23
14q32.33	427	MTA1 Exon 14	0.94	1.12
14q32.33	449	CRIP2 Exon 01	1.14	1.26
14q32.33	207	IGHD up	0.96	1.03
21q22.13	124	KCNJ6 Exon 04	1.29	1.02
	184	ERG Exon 12	1.18	1.03
	475	ERG Exon11	1.21	1.03
	382	ERG Exon 10	1.22	0.99
	250	ERG Exon 09	1.26	0.99
	497	ERG Exon 08	1.08	1.01
	373	ERG Exon 07	1.16	1.04
	315	ERG Exon 06	1.32	1.11
	301	ERG Exon 05	1.22	1.16

Şekil 10. H14 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

H16, 15 yaşında, B-ALL ve IRG olan bir kız hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $<20.000/\text{mm}^3$ olup, genetik tetkiklerinde mutasyon izlenmemişti. Takibinde 33.gün Kİ'nde remisyona girdi, sonrasında relaps izlenmedi. ERG, ETS2 homozigot duplikasyonu ve KCJN6 heterozşgot duplikasyonu mevcuttu (Şekil 11).

21q22.13	124	KCNJ6 Exon 04	1.6	0.99
	184	ERG Exon 12	1.58	0.99
	475	ERG Exon11	1.7	0.97
	382	ERG Exon 10	1.62	1.02
	250	ERG Exon 09	1.81	1
	497	ERG Exon 08	1.82	0.93
	373	ERG Exon 07	1.68	1.06
	315	ERG Exon 06	1.52	1.04
	301	ERG Exon 05	1.69	1.11
	336	ERG Exon 04	1.74	1.05
	352	ERG Intron 03	1.75	1.1
	283	ERG Exon03	1.57	0.93
	481	ERG Exon02	1.65	0.97
	177	ERG Exon 01	1.6	1.01
21q22.2	296	ETS2 Exon 03	1.94	1.12

Şekil 11. H16 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

H17, 6 yaşında, B-ALL ve IRG olan bir kız hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $<20.000/\text{mm}^3$ olup, genetik tetkiklerinde hiperdiploidi mevcuttu. Takibinde 33.gün Kİ'nde remisyona girdi, sonrasında relaps izlenmedi. ERG, ETS2, KCJN6 heterozigot duplikasyon mevcuttu (Şekil 12).

21q22.13	124	KCNJ6 Exon 04	1.71	1.02
	184	ERG Exon 12	1.35	1.03
	475	ERG Exon11	1.32	1.03
	382	ERG Exon 10	1.33	0.99
	250	ERG Exon 09	1.36	0.99
	497	ERG Exon 08	1.31	1.01
	373	ERG Exon 07	1.38	1.04
	315	ERG Exon 06	1.45	1.11
	301	ERG Exon 05	1.75	1.16
	336	ERG Exon 04	1.38	1.09
	352	ERG Intron 03	1.35	0.93
	283	ERG Exon03	1.6	1.05
	481	ERG Exon02	1.68	1.13
	177	ERG Exon 01	1.63	1.04
21q22.2	296	ETS2 Exon 03	1.32	1.05

Şekil 12. H17 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

H18, 2 yaşında, B-ALL ve SRG olan bir erkek hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $<20.000/\text{mm}^3$ olup, genetik tetkiklerinde mutasyon izlenmemişti. Takibinde 52.gün Kİ'nde remisyona girdi, sonrasında relaps izlenmedi. ERG, ETS, MTA1 ve IGHD heterozigot duplikasyonu, mevcuttu (Şekil 13).

14q32.33	427	MTA1 Exon 14	1.48	0.83
14q32.33	449	CRIP2 Exon 01	1.29	0.7
14q32.33	207	IGHD up	1.37	0.98
21q22.13	124	KCNJ6 Exon 04	1.88	0.99
	184	ERG Exon 12	1.48	0.99
	475	ERG Exon11	1.51	0.97
	382	ERG Exon 10	1.44	1.02
	250	ERG Exon 09	1.73	1
	497	ERG Exon 08	1.76	0.93
	373	ERG Exon 07	1.69	1.06
	315	ERG Exon 06	1.51	1.04
	301	ERG Exon 05	1.48	1.11
	336	ERG Exon 04	1.6	1.05
	352	ERG Intron 03	1.74	1.1
	283	ERG Exon03	1.62	0.93
	481	ERG Exon02	1.64	0.97
	177	ERG Exon 01	1.43	1.01
21q22.2	296	ETS2 Exon 03	1.7	1.12

Şekil 13. H18 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

H21, 4 yaşında, B-ALL ve HRG olan bir erkek hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $<20.000/\text{mm}^3$ olup, genetik tetkiklerinde mutasyon izlenmemişti. Takibinde HR2 öncesi Kİ'nde remisyona girdi, sonrasında relaps izlenmedi. ERG, ETS2, KCJN6 heterozigot duplikasyonu ile CDKN2A ve CDKN2B heterozigot duplikasyonu mevcuttu (Şekil 14).

9p21.3	262	CDKN2A Exon 04	1.39	1.06
9p21.3	322	CDKN2A Exon 02	1.4	0.93
9p21.3	409	CDKN2B Exon 01	1.53	1.03
14q32.33	366	CEP170B Exon 10	1.02	0.95
14q32.33	427	MTA1 Exon 14	1.11	0.83
14q32.33	449	CRIP2 Exon 01	1.07	0.7
14q32.33	207	IGHD up	1.13	0.98
21q22.13	124	KCNJ6 Exon 04	1.69	0.99
	184	ERG Exon 12	1.47	0.99
	475	ERG Exon11	1.53	0.97
	382	ERG Exon 10	1.63	1.02
	250	ERG Exon 09	1.77	1
	497	ERG Exon 08	1.74	0.93
	373	ERG Exon 07	1.64	1.06
	315	ERG Exon 06	1.52	1.04
	301	ERG Exon 05	1.61	1.11
	336	ERG Exon 04	1.78	1.05
	352	ERG Intron 03	1.83	1.1
	283	ERG Exon03	1.6	0.93
	481	ERG Exon02	1.69	0.97
	177	ERG Exon 01	1.51	1.01
21q22.2	296	ETS2 Exon 03	1.79	1.12

Şekil 14. H21 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

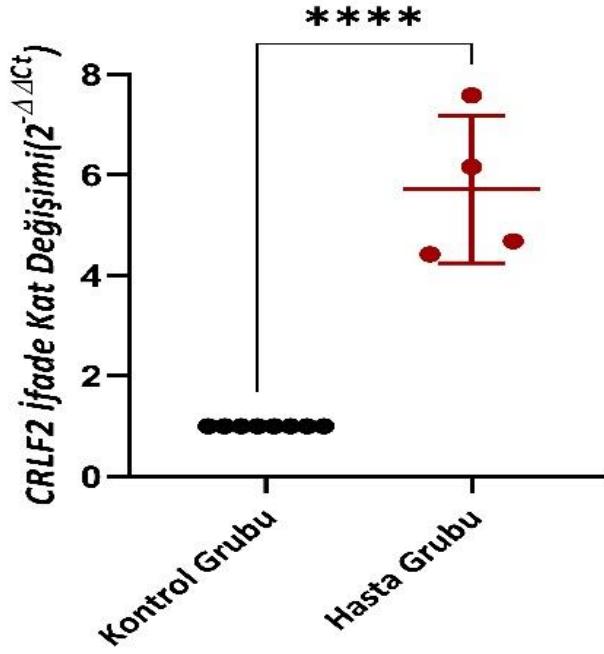
H24, 3 yaşında, B-ALL ve IRG olan bir erkek hastaydı. Tanı anında WBC sayısı $>20.000/mm^3$ idi. Takibinde 33.gün Kİ'nde remisyona girdi, sonrasında relaps izlenmedi. IKZF1 heterozigot duplikasyonu , CDKN2A ve CDKN2B homozigot delesyonu, ERG, IGH, MTA1 heterozigot duplikasyonu mevcuttu (Şekil 15).

7p12.2	160	ZPBP Exon 03	1.3	1.04
	490	IKZF1 upstream	1.5	0.88
	129	IKZF1 Exon 01	1.42	0.97
	148	IKZF1 Exon 01	1.32	0.93
	269	IKZF1 Exon 01	1.35	0.86
	395	IKZF1 Intron 01	1.37	0.88
	308	IKZF1 Exon 02	1.38	0.98
	213	IKZF1 Exon 02	1.37	1.01
	231	IKZF1 Exon 03	1.38	1.02
	236	IKZF1 Exon 03	1.41	1.02
	402	IKZF1 Intron 03	1.3	0.88
	459	IKZF1 Intron 03	1.31	0.95
	202	IKZF1 Exon 04	1.29	0.99
	423	IKZF1 Exon 04	1.34	1.03
	142	IKZF1 Exon 05	1.47	1.02
	358	IKZF1 Exon 05	1.49	1.11
	190	IKZF1 Exon 06	1.3	1.03
	256	IKZF1 Exon 06	1.32	1
	172	IKZF1 Exon 07	1.38	1.04
	343	IKZF1 Exon 07	1.33	0.95
	154	IKZF1 Exon 08	1.29	1.01
	288	IKZF1 Exon 08	1.48	1.02
7p12.2	226	FIGNL1 Exon 04	1.42	1.04
9p21.3	262	CDKN2A Exon 04	0	0.95
9p21.3	322	CDKN2A Exon 02	0	1.07
9p21.3	409	CDKN2B Exon 01	0	1.01
14q32.33	366	CEP170B Exon 10	1.7	1.23
14q32.33	427	MTA1 Exon 14	1.48	1.12
14q32.33	449	CRIP2 Exon 01	1.62	1.26
14q32.33	207	IGHD up	1.34	1.03
21q22.13	124	KCNJ6 Exon 04	1.58	1.02
	184	ERG Exon 12	1.59	1.03
	475	ERG Exon11	1.74	1.03
	382	ERG Exon 10	1.56	0.99
	250	ERG Exon 09	1.84	0.99
	497	ERG Exon 08	1.68	1.01
	373	ERG Exon 07	1.79	1.04
	315	ERG Exon 06	1.79	1.11
	301	ERG Exon 05	1.8	1.16
	336	ERG Exon 04	1.7	1.09
	352	ERG Intron 03	1.66	0.93
	283	ERG Exon03	1.81	1.05
	481	ERG Exon02	1.83	1.13
	177	ERG Exon 01	1.56	1.04
21q22.2	296	ETS2 Exon 03	1.61	1.05

Şekil 15. H24 numaralı hastanın aday prognostik gen mutasyonları

Toplam 4 hastada (RNA izolasyonu yapılabilen) hem IKZF1, ERG, CDKN2A, CDKN2B mutasyonu hem de CRLF2 ekspresyonu değerlendirildi. Ancak bu hastalarda IKZF1, ERG, CDKN2A, CDKN2B mutasyonu saptanmadı.

Bu hastalarda CRLF2 ekspresyon seviyesi 8 adet sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandı. Yapılan analizlerde B-hücreli ALL hastalarının kandan elde edilen total RNA örneklerinde çalışmamız kapsamında dahil edilen kontrol(sağlıklı) grubuna ait total RNA örneklerine kıyasla *CRLF2* gen ekspresyonlarında 5,57 kat artış saptandı. (Şekil 16) Diğer yandan, gruplar arasında yapılan student-t test analizlerinde $p < 0,0001$ olarak saptanmıştır.



Şekil 16. Hasta ve kontrol grubundaki CRLF2 ekspresyon seviyesi

5. TARTIŞMA

ALL, çocukluk çağında en sık görülen kanserdir. Risk gruplarının belirlenip tedavi yoğunluğunun düzenlenmesi ve SSS'ye yönelik tedaviler ile birlikte gelişmiş ülkelerde sağkalım oranlarının %80'i aştığı gösterilmiştir. Ancak uzun süreli ve yoğun tedavinin toksisite ve mortaliteye neden olabildiği gibi yeterince tedavi edilmeyen hastalarda da relaps meydana gelmeye devam etmektedir. Bu nedenle doğru bir risk sınıflaması prognoz açısından çocukluk çağı ALL tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Son yıllarda moleküler genetik alanındaki çalışmaların ilerlemesiyle beraber genetik değişikliklerin prognostik önemi giderek artmaktadır (1-3). Prognostik etkisi üzerinde durulan genler arasında IKZF1, ERG, CRLF2, CDKN2A ve CDKN2B yer almaktadır (3,45).

Tanı anındaki yaş, WBC sayısı, sitogenetik ve moleküler incelemeler, immunfenotipik alt tip, kemoterapiye alınan yanıtın hızı ve MRD analizi güncel prognostik belirleyiciler olarak kullanılmaktadır (46). BFM grubu tedavi protokollerine göre ise çocukluk çağı ALL hastaları, yaş, tanı anındaki WBC sayısı, 8.günde steroid yanıtı, sitogenetik ve moleküler incelemeler, tedavinin 15 ve 33. günündeki Kİ değerlendirmesine göre risk gruplarına ayrılmaktadır (29).

ALL hastaları için prognozda en önemli parametrelerden biri yaştır. BFM protokollerine göre 1 ile 6 yaş arası iyi prognoza sahipken, 1 yaş altı ve 6 yaş üzerindeki hastaların prognozları daha kötüdür (29). Kota ve ark.'nın 242 hasta ile yaptığı çalışmada; ortalama tanı yaşı $6,18 \pm 3,75$ olup, hastaların %5'i 2 yaş altı, %77.2'si 2-10 yaş arasında, %17.8'inde 10 yaş üzeri saptanmıştır (47). Hazar ve ark.'nın 142 hasta ile yaptığı çalışmada ortalama tanı yaşı $5,9 \pm 4,3$ saptanmıştır (48). Çok merkezli BFM TRALL-2000 çalışmasında ise ortanca yaş 5,2 saptanmış olup, hastaların %1,6'sı 1 yaş altı, %56,6'sı 1-6 yaş arası, %41.8'i 6 yaş ve üzeri olarak tespit edilmiştir (49,50). Kayakıran ve ark.'nın yaptığı tez çalışmasında; ortalama yaş $6,73 \pm 4,67$ yıl olup, hastaların 2'si (%2,3) 1 yaş altı, 48'i (%55,8) 1-6 yaş arası ve 36'sı (%41,9) 6 yaş ve üzerinde saptanmıştır (51). Öztürk ve ark.'nın 110 hastayı içeren çalışmasında yaş ortalaması $8,3 \pm 5,2$ yıl olup, hastaların %65,5'i 1-10 yaş arasında, %34,5'i 10 yaş üzerinde tespit edilmiştir (52). Çalışmamızda 24 hastanın yaşları 18 ay ile 17 yaş arasında değişmekte olup, ortalama yaşları $7.05 \pm 4,39$ yıl, ortanca yaş

ise 5,54 yıl saptandı. Bir yaş altında hasta yoktu, 14'ü (%58.3) 1-6 yaş arası, 10'u (%41.7) 6 yaş üzerindedir. Diğer çalışmalara benzer olarak hastaların en çok 1-6 yaş arasında olduğu görüldü.

Tanı anındaki WBC sayısı diğer bir önemli bir prognostik faktördür. Farklı tedavi protokollerinde, sınır olarak kabul edilen değerler birbirinden farklıdır. BFM protokolleri $20.000/\text{mm}^3$ 'ün üzerini yüksek riskli olarak kabul ederken, St Jude ve COG protokolleri $50.000/\text{mm}^3$ 'ün üzerini yüksek riskli olarak kabul etmiştir (29,53). Koka ve ark.'nın 242 hasta ile yaptığı çalışmada tanı anında hastaların %65'inde WBC $<20.000/\text{mm}^3$, %25'inde $20.000-100.000/\text{mm}^3$, %10'unda $>100.000/\text{mm}^3$ saptanmıştır (47). Hazar ve ark.'nın 142 hasta ile yaptığı çalışmada, WBC ortalaması $14.200/\text{mm}^3$ olup hastaların %60,6'sında $<20.000/\text{mm}^3$, %14,8'inde $20.000-50.000/\text{mm}^3$, %24,6'sında $>50.000/\text{mm}^3$ saptanmıştır (48). Öfverholm ve ark.'nın 390 hasta ile yaptığı çalışmada hastaların %79'unda WBC sayısı $<50.000/\text{mm}^3$, %21'inde ise $>50.000/\text{mm}^3$ saptanmıştır (54). Maciel ve ark.'nın yaptığı 91 hastanın yer aldığı çalışmada hastaların %75,8'inde WBC sayısı $<50.000/\text{mm}^3$ iken %24,2'sinde $>50.000/\text{mm}^3$ saptanmıştır (55). Bizim çalışmamızda ise tanı anında WBC sayısı hastaların 15'inde (%62.5) $<20.000/\text{mm}^3$, 9'unda (%37.5) $>20.000/\text{mm}^3$ idi. Diğer çalışmalara benzer olarak hastaların çoğunluğunda tanı anında WBC sayısının $<20.000/\text{mm}^3$ olduğu görüldü.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, farklı tedavi protokolleriyle tedavi edilen çocukluk çağı ALL'de IKZF1 mutasyonlarının klinik önemi görülmüştür. IKZF1 delesyonlarının ve CDKN2A/2B delesyonlarının varlığı, tanı anında ileri yaş, daha yüksek WBC sayısı ile ilişkilendirilmiştir (56-58). Vroman ve ark.'nın yaptığı 648 hastadan oluşan çalışmada 385 hasta IKZF1 delesyonu açısından değerlendirilmiş. Toplam 648 hastanın 62'sinde (%16) IKZF1 delesyonu saptanmış. IKZF1 delesyonu tanı sırasında ≥ 10 yaşında ve WBC $\geq 50.000/\text{mm}^3$ olan hastalarda daha yaygın bulunmuş (59). Schwab ve ark.'nın yaptığı 1427 B-ALL hastasını içeren çalışmada IKZF1 delesyonu ve CDKN2A/2B delesyonu değerlendirilmiş. Toplam 196 hastada (%14) IKZF1 delesyonu, 395 (%28) hastada CDKN2A/2B delesyonu saptanmış. Hastaların ortalama yaşı 5 yıl olup, %24'ü ≥ 10 yaşındaymış. IKZF1 ve CDKN2A/2B delesyonları için ortalama yaş sırasıyla 7 yıl ve 6 yıl olup,

IKZF1 ve CDKN2A/B delesyonlarının sırasıyla %39'u ve %33'ü ≥ 10 yaşında hastalarda mevcutmuş. Kohortun medyan WBC sayısı $11.800/\text{mm}^3$ olup, hastaların %44'ünde WBC sayısı $< 10.000/\text{mm}^3$ saptanmış. IKZF1 delesyonu ve CDKN2A/B delesyonları olan hastaların $50.000/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde bir WBC'ye sahip olma olasılığı daha yüksek bulunmuş (58). Yamashita ve ark.'nın yaptığı 194 hastanın yer aldığı çalışmada IKZF1 delesyonları 177 hastanın 22'sinde (%12) tanımlanmış. IKZF1 delesyonları ileri yaş ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuş. IKZF1 delesyonu olmayan hastaların %52'si 1-4 yaş arasında, %48'i 5 yaş ve üzerinde iken, IKZF1 delesyonu olan hastaların %23 1-4 yaş arasında, %77'si ise 5 yaş ve üzeri imiş (60). Dörge ve ark.'nın yaptığı 696 ALL hastasının yer aldığı çalışmada 694 örneğin 84'ünde (%12) IKZF1 delesyonları tespit edilmiş. Tanı anında $50.000/\text{mm}^3$ ve üzeri WBC sayısı oranı IKZF1 delesyonu olanlarda %35.7 iken, IKZF1 delesyonu olmayanlarda %24.7 olarak bulunmuş (61). Olsson ve ark.'nın 307 ALL hastasında yaptığı bir çalışmada IKZF1 delesyonu olanlarda ortalama WBC sayısı $25.000/\text{mm}^3$ iken olmayanlarda $8800/\text{mm}^3$ saptanmış (62). Öfverholm ve ark.'nın yaptığı 120 B-ALL hastasının yer aldığı bir çalışmada, hastaların %16'sında IKZF1 delesyonu, %41'inde CDKN2A/B delesyonları tespit edilmiş. IKZF1 delesyonu olan grupta ortalama WBC sayısı $20.300/\text{mm}^3$ iken delesyon olmayan grupta $8100/\text{mm}^3$ saptanmış (63).

Bizim çalışmamızda ise 24 ALL hastasının 4'ünde (%16.7) IKZF1 delesyonu saptandı. IKZF1 delesyon saptanan hastalarda ortalama yaş 9.81 ± 4.56 iken, IKZF1 delesyon saptanmayan hastalarda 6.50 ± 4.26 idi. Delesyon izlenen 1 hasta 1-6 yaş arasında, 3 hasta ise 6 yaş ve üzerindedir. IKZF1 delesyon saptanan 4 hastadan 3'ünün WBC sayısı $>50.000/\text{mm}^3$ iken, 1'inde $<20.000/\text{mm}^3$ idi. Ortalama WBC sayısı IKZF1 delesyon saptanan hastalarda $181.090 \pm 110.506/\text{mm}^3$ iken, IKZF1 delesyon saptanmayanlarda $17.065 \pm 26.799/\text{mm}^3$ idi.

Çalışmamızda 24 ALL hastasının 4'ünde (%16.7) CDKN2B delesyonu, 1'inde CDKN2B duplikasyonu saptandı. CDKN2B delesyon izlenen 2 hasta 1-6 yaş arasında, 2 hasta ise 6 yaş ve üzerinde olup, mutasyon olanlar ve olmayanlar arasında yaş ortalaması açısından farklılık yoktu. CDKN2B delesyonu saptanan hastalarda tanı anındaki WBC sayısı bütün hastalarda $>20.000/\text{mm}^3$ idi. Ortalama WBC sayısı

CDKN2B delesyon saptanan hastalarda $181.090 \pm 110.506/\text{mm}^3$ iken, CDKN2B delesyon saptanmayanlarda $17.065 \pm 26.799/\text{mm}^3$ idi.

CDKN2A delesyonu 4 (%16.7) hastada görülürken, 1'inde CDKN2A duplikasyonu saptandı. CDKN2A delesyon izlenen 2 hasta 1-6 yaş arasında, 2 hasta ise 6 yaş ve üzerinde olup, mutasyon olanlar ve olmayanlar arasında yaş ortalaması açısından farklılık yoktu. Tanı anındaki WBC sayısı 1 hastada $<20.000/\text{mm}^3$ iken 3 hastada $>20.000/\text{mm}^3$ idi. Ortalama WBC sayısı , CDKN2A delesyon saptanan hastalarda $112.362 \pm 110.524 /\text{mm}^3$ iken, CDKN2A delesyon saptanmayanlarda $31.534 \pm 66.761 /\text{mm}^3$ idi.

Çalışmamızda IKZF1, CDKN2A ve CDKN2B delesyonu görülme sıklığı diğer çalışmalar ile benzerdi. IKZF1, CDKN2A ve CDKN2B delesyonu olanlarda literatürdeki diğer çalışmalar gibi daha yüksek tanı WBC sayısı mevcuttu. Ancak istatistiksel olarak yalnızca CDKN2B anlamlıydı. IKZF1 delesyonu olanlar daha ileri yaşta idi, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. CDKN2A ve CDKN2B'de yaş açısından fark yoktu . IKZF1 ve CDKN2A/CDKN2B delesyonu saptanan hastalardan 2'si T-ALL olduğu görüldü ve tanı anındaki yüksek ortalama WBC sayısının bununla ilişkili olabileceği gibi, delesyon ile de ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Çalışmadaki hasta sayısının görece düşük olması nedeniyle IKZF1, CDKN2A/CDKN2B delesyonu ve yüksek WBC sayısı ilişkisi ile IKZF1 delesyonu ve ileri yaş ilişkisi daha fazla hasta içeren çalışmalarla desteklenmelidir.

Yapılan çalışmalarda tanı anındaki hemoglobin ve trombosit düzeylerinin prognoz üzerine etkisi olmadığı gösterilmiş olup, çalışmalarda tanı anında hastalarda anemi ve trombositopeni değişen düzeylerde saptanması nedeniyle bu çalışmadaki verilerden kısaca bahsedilecektir (64-66). Lustosa De Souza ve ark. yaptığı çalışmada anemi hastaların başvuru kan sayımında %85'den fazlasında gözlemlendi (67). Schrappe ve ark.'nın ALL BFM 90 protokolüyle tedavi edilen 2178 hastayı kapsayan çalışmalarında, HGB $< 8\text{g/dl}$ olan hastaların oranı %53,7 olup bu hastaların 6 yıllık olaysız sağ kalımı %81 bulunmuştur (68). Bizim çalışmamızda da HGB değerleri $3,8\text{ g/dL}$ ile $15,9\text{ g/dL}$ arasında değişmekte olup ortalaması $8.25 \pm 2.85\text{ g/dL}$ idi. Hastalarımızın yarısında HGB $< 8\text{g/dl}$ olup, literatürdeki çalışmalarda benzerdi. Örneklemizin küçük olması ve yalnızca 1 hastamızda mortalite izlenmesi nedeniyle

aneminin sağkalım üzerine etkisi değerlendirilememiştir. IKZF1, CDKN2A, CDKN2B, ERG delesyonlarında tanı anındaki ortalama hemoglobin değerleri sırasıyla 8.1 ± 3.06 g/dl, 7.4 ± 2.01 g/dl, 7.3 ± 2.37 g/dl, 8.4 ± 3.7 g/dl saptanmış olup, anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu sonuç literatürdeki çalışmalarla benzer bulunmuştur (56). Literatürde ALL tanısı alan hastaların yaklaşık $\frac{3}{4}$ 'ünde tanı anındaki trombosit sayısının $100.000/\text{mm}^3$ 'ün altında olduğu saptanmış (69). Çalışmamızda hastalarda tanı anında trombosit değerleri $9000/\text{mm}^3$ ile $920.000/\text{mm}^3$ arasında değişmekte olup ortalaması $104.250 \pm 185.369/\text{mm}^3$, ortanca değeri ise $46.500/\text{mm}^3$ idi. Toplam 24 hastanın 16'sında (%66.6) trombosit $<100.000/\text{mm}^3$ yarısında ise $<50.000/\text{mm}^3$ olup literatürle benzerdi. IKZF1 delesyonu, CDKN2A ve CDKN2B delesyonu saptanan 4 hastadan 3'ünün trombosit değeri $<50.000/\text{mm}^3$ altında iken, 1 hastanın da $>50.000/\text{mm}^3$ idi. IKZF1 delesyonu olanlarda ortalama trombosit değeri $47.000 \pm 39.149/\text{mm}^3$ iken, delesyon olmayanlarda $115.700 \pm 201.310/\text{mm}^3$ saptanmıştır. CDKN2A delesyonu saptanan 4 hastadan 3'ünün trombosit değeri $<50.000/\text{mm}^3$ altında iken, 1 hastanın da $<50.000/\text{mm}^3$ idi. CDKN2A delesyonu olanlarda ortalama trombosit değeri $29.500 \pm 14.843/\text{mm}^3$ iken, delesyon olmayanlarda $119.200 \pm 200.374/\text{mm}^3$ saptanmıştır. CDKN2B delesyonu saptanan 4 hastadan 3'ünün trombosit değeri $<50.000/\text{mm}^3$ altında iken, 1 hastanın da $<50.000/\text{mm}^3$ idi. CDKN2B delesyonu olanlarda ortalama trombosit değeri $23.750 \pm 12.685/\text{mm}^3$ iken, delesyon olmayanlarda $120.350 \pm 199.833/\text{mm}^3$ saptanmıştır. IKZF1, CDKN2A ve CDKN2B delesyonu olanlarda ortalama trombosit sayısı ve $<50.000/\text{mm}^3$ trombosit sayısı olan hasta oranı daha yüksek olsa bile istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Her ne kadar hasta sayımız kısıtlı olsa da IKZF1, CDKN2A ve CDKN2B delesyonu olanlarda tanı anındaki düşük trombosit değerleri dikkat çekmektedir. Literatürde düşük trombosit değerleri ve IKZF1, CDKN2A ve CDKN2B delesyonu ile ilgili çalışma bulunmamakta olup, bu konuda daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalarda LDH düzeylerinin prognoz üzerine etkisi olmadığı gösterilmiş olsa da serum LDH düzeylerinin lösemik hücre yıkımı ile korele olması beklenir. (70). Lösemik hücreler yüksek enerji ihtiyaçlarını glikolizle sağlasalar da, salgıladıkları LDH izoenzimleriyle anaerobik ortamda pürivatın laktata dönüşümünü gerçekleştirirler. Laktat lösemik hücrelerin çoğalmasını artırırken bağışıklık yanıtını baskılar (71,72). Pui ve arkadaşları LDH için 1000 U/L üzerini yüksek riskli olarak

değerlendirirken, 300 U/L düzeylerini düşük risk olarak belirtmiştir (73). Hastalarımızın 20'sinde (%83.3)'ünde LDH düzeyleri hastanemiz laboratuvar sınırlarının üzerinde (LDH normal değerleri 0-300 U/L) iken, 7 hastanın (%29.1) 1000 U/L üzerinde saptandı. Başvuru sırasında çoğunlukla yüksek saptanan LDH kan düzeyinin tanıda önemli bir belirteç olduğu böylece bizim çalışmamızda da görülmüştür. Ayrıca IKZF1 ve CDKN2B delesyonu olan hastaların tümünde LDH değeri 300 U/L üzerinde saptanmıştır. IKZF1 delesyonu olanlarda LDH değeri 2519 ± 2555 U/L iken, delesyon olmayanlarda 916 ± 1198 U/L saptanmıştır. CDKN2B delesyonu olanlarda ortalama LDH değeri 2559 ± 2511 U/L iken, delesyon olmayanlarda 909 ± 1202 U/L saptanmıştır. IKZF1 CDKN2B delesyonu olanlarda tanı anındaki yüksek LDH değerleri dikkat çekmektedir ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. Literatürde LDH yüksekliği ile IKZF1 ve CDKN2B delesyon ilişkisiyle ilgili çalışma bulunmamakta olup, bu konuda daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çocukluk çağı ALL'lerinin büyük bir kısmı B-ALL olup, genellikle prognozu da daha iyidir. Daha ziyade adölesanlarda karşılaşılan, mediastinal genişleme, yüksek WBC sayısı ve SSS tutulumuyla seyredabilen T-ALL, bütün ALL'lerin daha azını oluşturmakta ve prognozu daha kötü seyretmektedir. Töret ve ark.'nın yaptığı 87 hastayı içeren çalışmada %92 B-ALL, %8 oranında T-ALL saptanmış (74). Diğer çalışmalarla benzer olarak çalışmamızda hastaların 22'si (%91.7) B-ALL, 2'si (%8.3) T-ALL idi. Çalışmalarda CDKN2A/B sıklığı, farklı pediatrik kohortlarda T-ALL'de %50 ila %85 arasında değişmekte olup, IKZF1 delesyon sıklığı ise %3 saptanmış; her iki mutasyon da T-ALL'de kötü sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (75) (76) (77). Yapılan fare çalışmalarında Ikaros kaybının, B hücrelerinin kaybına ve T-ALL gelişmesine yol açtığı gösterilmiştir (78-81). Kathiravan ve ark.'nın yaptığı 13 T-ALL ve 83 B-ALL hastasının yer aldığı çalışmada, bu hastalar CDKN2A/B delesyonu açısından analiz edilmiş. B-ALL vakalarının %36' sında CDKN2A/B delesyonuna ve T-ALL vakalarında hepsinde CDKN2A/B delesyon görülmüş. CDKN2A/B delesyonları hem yüksek WBC sayısı, hem de düşük sağkalım ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuş (82). Bizim çalışmamızda da benzer olarak 2 T-ALL mevcut olup, ikisinde de IKZF1 homozigot delesyonu ile CDKN2A ve CDKN2B homozigot delesyonu saptandı. Her ikisinde de tanı WBC sayısı $100.000/\text{mm}^3$ üzerindedir. Her ne kadar hasta sayımızı az

olsa da bu ilişki dikkat çekmekte olup, T-ALL olanlarda IKZF1 ve CDKN2A/CDKN2B delesyonlarının araştırıldığı daha büyük hasta popülasyonuna sahip çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Çocukluk çağı ALL'de yapısal ve sayısal kromozomal anomaliler %80 oranında ortaya çıkmaktadır. Sayısal anomalilerin yanısıra özellikle belirli kromozomlar arasında oluşan translokasyonlar, prognozun belirlenmesi için büyük önem taşımaktadır (83). Çocukluk çağı ALL vakalarında %3-5 oranında BCR/ABL füzyon onkogenine yol açan t(9;22) ve %2 oranında MLL/AF4 füzyon onkogeninin oluşumuna neden olan t(4;11) pozitifliği görülmekte ve kötü prognozla ilişkilendirilmektedir (84) (68). Hiperdiploidi ve t(12;21)(ETV6-RUNX1) iyi prognozla ilişkilidir. Möricke A. ve ark. tarafından yapılan çok merkezli BFM çalışmasında 2169 ALL hastasında t(9;22) translokasyonu %2,1, t(12;21) %21,4, t(4;11) % 2,1 olarak tespit edilmiş (85). Koka ve ark.'nın çalışmasında; t(12;21) %8, t(9;22) %3, t(1;19) %3 olarak bildirilmiş (47). Hazar ve ark.'nın çalışmasında t(9;22) %6,3, t(4;11) %2,3 olarak bildirilmiş (48). Kayakıran ve ark. yaptığı tez çalışmasında hiperdiploidi %11,4, t(12;21) %20, t(9;22) %1,4 oranında görülmüş (51). Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalarda benzer olarak hastaların 4'ünde (%19) ETV - RUNX1(t12:21) saptandı. Hastalardan 1'inde (%4.8) hiperdiploidi saptanmış olup literatüre göre çok daha düşük oranda görüldü. Ayrıca 1 hastada (%4.8) ETV-RUNX1(t12:21) ve hiperdiploidi beraber saptandı. Kötü prognostik öneme sahip olan , t(9;22) 1 hastada (%4.8) saptandı. Literatüre bakıldığında yapılan çalışmalarda t(9;22) saptanan B- ALL hastalarında yaklaşık %60 oranında IKZF1 delesyonu bulunurken, t(9;22) saptanmayan vakalarda ise %15-20 oranında IKZF1 delesyonunu bulduğu bildirilmiştir (56,86,87,88). Çalışmamızda 1 hastada (9;22) saptanmış olup, IKZF1 mutasyonu eşlik etmemektedir. Hasta sayımızın az olması nedeniyle sonuçlarımızın literatürle benzer saptanmadığı düşünülmektedir. ETV-RUNX1 ve hiperdiploidi bulunan vakalarda ise IKZF1 delesyon sıklığının %5'ten az olduğu bildirilmiştir (61, 89,90). Çalışmamızda da literatürle benzer olarak IKZF1 delesyonu saptanan hiçbir hastada ETV-RUNX1 ve hiperdiploidi izlenmemiştir.

Prognozun önemli göstergelerinden biri de kemoterapiye yanıttır. Steroid yanıtızlığı tüm protokollerde risk sınıflamasında ve relapsı öngörmede kullanılmaktadır. Yedi günlük prednizon tedavisinden sonraki 8.günde periferik kanda blastik hücre sayısının <1000/mm³ olması halinde prognoz iyi olarak değerlendirilir. Hazar ve ark.'nın 142 hastayı dahil ettiği çalışmada 8.gün steroid yanıtı %87,3 olarak saptanmış (48). Koçak U. ve ark.'nın çalışmasında ise 140 ALL hastasının 8. gün steroid yanıtı %96,3 oranında bulunmuş (91). Schrappe M. ve ark.'nın 2178 ALL tanılı hastalarının 8.gün steroide yanıtı %90,5 olarak tespit edilmiş (68). Lebriz ve ark.'nın Türkiye'de yaptığı çok merkezli çalışmada, 2615 hastanın %85,5'inde steroide yanıtın iyi olduğu görülmüş (49). Bizim çalışmamızda hastaların 17'sinde (%70.8) yanıt iyi, 7'sinde (%29.2) kötüydü. Çalışmamızda literatürdeki diğer çalışmalara benzer olarak hastalarımızın çoğunluğu prednizon tedavisine iyi yanıt vermiş olup, oransal farkın örneklemimizin daha küçük olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Literatüre baktığımızda, IKZF1 delesyonunun prednizona kötü yanıt ile ilişkili bulunduğu yayınlar mevcuttur. Mark ve ark.'nın yaptığı çalışmada ALL hastalarında IKZF1 delesyon sıklığı prednizona iyi yanıt verenlerde %14, kötü yanıt verenlerde ise %27 saptanmış olup, bu oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş (92). Baghdadi ve ark.'nın yaptığı 82 ALL hastasının yer aldığı çalışmada, IKZF1 delesyonu olanlarda tedavinin 8. Gününde anlamlı olarak daha yüksek blast sayısı olduğu ortaya koyulmuş (93). Stanulla ve ark.'nın yaptığı 991 hastanın yer aldığı çalışmada IKZF1 delesyonu olan hastalarda, olmayanlarda göre 8. günde anlamlı olarak daha yüksek blast sayısı saptanmış (94). Braun ve ark.'nın yaptığı ALL-IC BFM 2009 protokolüne göre tedavi edilen 373 ALL hastasının yer aldığı çalışmada 8. gün prednizon kötü yanıtı IKZF1 delesyonu olanlarda, delesyon olmayanlara göre 3 kat daha fazla saptanmış olup, bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş (95). Literatürdeki çalışmaların bazılarında IKZF1 delesyonu olan hastalarda 8. Gün yüksek blast sayısının glukokortikoid direnciyle ilişki olabileceği bildirilmiş (96). Roger ve ark.'nın yaptıkları hücre kültürü çalışmasında IKZF1 delesyonu olan hücrelerde, deksametazon, asparaginaz ve daunorubisine karşı direnç geliştiği bildirilmiş (97). Marke ve ark.'nın yaptığı çalışmada IKZF1 delesyonlarının sıklığı, prednizolona iyi yanıt verenlerde %14, kötü yanıt verenlerde ise %27 saptanmış. IKZF1 glukokortikoidin neden olduğu transkripsiyonel yanıtların yeni bir düzenleyicisi, normal ve malign B hücrelerinde

glukokortikoid aracılı hücre ölümünün de kritik bir belirleyicisi olarak tanımlanmış. IKZF1 delesyonu ile glukokortikoid tedavisi yanıtlarını düzenleyen spesifik moleküler yollar arasındaki etkileşimin kapsamlı bir şekilde anlaşılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmış (98). Steeghs ve ark.'nın yaptığı çalışmada IKZF1 delesyonundaki ilaç direnci modelinin, birlikte ortaya çıkan genetik mutasyonlardan etkilendiği gösterilmiş olup, IKZF1 delesyonuna eşlik eden hiperdiploidili hastalarda sıklıkla glukokortikoid direnci bulunmuş (96). CDKN2A/2B delesyonunun da IKZF1 delesyonu gibi 8. Gün yüksek blast sayısı ile ilişkili olduğu yayınlar mevcuttur (93). Bizim çalışmamızda IKZF1 delesyonuna sahip 2 hastada 8. gün blast sayısı>1000 iken, 2 hastada ise 8. gün blast sayısı<1000 saptanmıştır. Prednizona zayıf yanıt veren 7 hastadan 2'sinde (%28.6) IKZF1 delesyonu varken, prednizona iyi yanıt veren 17 hastadan 2'sinde (%11.8) IKZF1 delesyonu mevcuttur. Çalışmamız oransal olarak literatürle uyumlu olmakla birlikte anlamlı bir istatistiksel fark için daha büyük bir popülasyonun yer aldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. CDKN2A, CDKN2B ve ERG mutasyonları olanlar ile olmayanlar arasında bir fark gözlenmemiştir.

Tedavi yanıtının değerlendirilmesinde 15. ve 33. Gün Kİ'nde remisyon saptanmaması olumsuz prognostik kriterlerdendir (99). MRD değerlendirmesi prognoz açısından önemli bir yere sahip olsa da MRD analizinin uygulanmasıyla ilişkili teknik ve/veya mali kaynaklardan yoksun ülkelerde 15 ve 33. gündeki Kİ blast sayısı önemini korumaktadır (100). Gelişmekte olan ülkelerin çoğunda olduğu gibi hastanemizde de MRD değerlendirilememektedir. Bu nedenle 15 ve 33. günlerde yalnızca Kİ blast oranlarına bakılabilmektedir. BFM grubunun yaptığı bir çalışmada 15. günde kemik iliği yanıtı %61,5'i M1 iken 33. günde ise bu oran %97,7 olarak tespit edilmiş (85). Güneş AM. ve ark.'nın yaptıkları çalışmada 15. gün remisyon oranı %61,5 iken 33. gün remisyon oranı ise %82 olarak tespit edilmiş (101). Koçak U. ve ark.'nın yaptıkları çalışmada 33. gün Kİ değerlendirmesinde %97,7 oranında remisyon saptandığı bildirilmiş (91). Bizim çalışmamızda ise 15.gün Kİ değerlendirmesinde remisyon giren hasta oranı %13.6 iken, 33. gün Kİ değerlendirilmesinde ise bu oranın %77.3'e yükseldiği görülmüştür. Her iki değerlendirmenin remisyon oranı diğer çalışmalara göre düşük saptanmıştır. Bunun nedeninin çalışmadaki hasta sayısı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında IKZF1 delesyonu ve CKDN2A/2B delesyonları yüksek MRD değerleri ile ilişkilendirilmiştir (59,92,93,102). Braun ve ark.'nın yaptığı ALL-IC BFM 2009 protokolüne göre tedavi edilen 373 ALL hastasının yer aldığı çalışmada 15. gün MRD IKZF1 delesyonu olanlarda %2.1 iken, delesyon olmayanlarda %0.3 saptanmış olup, bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş (95). Bizim çalışmamızda IKZF1 delesyonu saptanan 4 hastadan 3'ünün 15.gün Kİ değerlendirmesi M3, 1'inin ise M2 saptanmış olup, M1 izlenmemiştir. Bu hastalardan 15. gün Kİ değerlendirmesi M3 olan 1 hasta dışında diğerlerinin 33. gün Kİ değerlendirmesi M1 saptanmıştır. On beşinci gün değerlendirmesi M3 olan 1 hastanın ise 33. gün Kİ değerlendirmesi M2 olarak devam etmiş, hastamız 52. gün Kİ değerlendirmesinde remisyona girmiştir. CDKN2A/CDKN2B ve ERG delesyonlarına sahip hastalarla delesyon olmayan hastalar arasında 15. gün ve 33. gün Kİ değerlendirmesinde bir fark görülmemiştir. Yurtdışında yapılan, IKZF1 delesyonu ve CKDN2A delesyonları saptanan hastaların tedavi yanıtının prognozla ilişkisinin değerlendirildiği çalışmalarda MRD değerlendirilmiştir. Çalışmamız ülkemizde yapılan IKZF1 delesyonları ve CKDN2A/2B delesyonları saptanan hastalarda tedavi yanıtının prognozla ilişkisinin değerlendirildiği ilk çalışmalardan biri olma niteliği taşımakta olup, hastanemizde MRD ölçümü yapılamaması nedeniyle literatürdeki gibi MRD yerine, Kİ yaymasındaki blast oranları açısından değerlendirilmiştir. IKZF1 delesyonu olanlarda olmayanlara göre 15.gün Kİ değerlendirmesinde daha yüksek blast oranı saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi.

BFM grubu tedavi protokollerine göre çocukluk çağı ALL hastaları, prognostik faktörlerden; tanı anındaki lökosit sayısı, 8.günde steroid yanıtı, sitogenetik ve moleküler incelemeler, tedavinin 15 ve 33. günündeki Kİ değerlendirmesine göre risk gruplarına ayrılmaktadır. Risk grupları HRG, MRG ve SRG olmak üzere üçe ayrılır ve BFM çalışma grubuna göre görülme sıklığı sırasıyla %19, %48 ve %33'tür (29). Bizim çalışmamızda BFM ALL IC 2009 protokolü risk sınıflamasına göre 7 hasta (%29.2) SRG, 14 hasta (%58.3) IRG grubunda, 3 hasta (%12.5) ise HRG idi. Diğer çalışmalara benzer olarak bizim çalışmamızda da, hastaların en sık SRG ve en az HRG olduğu görülmüştür. Literatürdeki bazı çalışmalarda IKZF1 delesyonu HRG ile ilişkili bulunmuş olup (93,102), bazı çalışmalarda ise delesyon varlığı herhangi bir risk grubu ile ilişkilendirilmemiş (86,89). Bizim çalışmamızda ise IKZF1 delesyonu bulunan

hastalardan 3'ü IRG ve 1'i HRG idi, SRG yoktu. ALL risk gruplamasında en fazla hasta sayısını içeren grup IRG olup, bu durum onunla ilişkili olabilir. IKZF1 delesyonu ve risk grubunun prognostik ilişkisinin değerlendirilmesi açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Günümüzde risk temelli tedavi yaklaşımı uygulansa bile relapslar hem tedavi sırasında hem de sonrasında görülmeye devam etmektedir. Pediatrik ALL'de hastaların yaklaşık %15-20'sinde relaps görülmektedir. ALL' de relaps en sık Kİ'nde meydana gelmekte olup, daha az oranda SSS, testis ve kombine relapslar gelişebilir (103). Mörické A. ve ark.'nın yürüttüğü ALL-BFM-95 protokolü ile tedavi edilen çok merkezli çalışmada 2169 hastanın %16,2'sinde relaps görüldüğü; bu relapsların %65,2'sini izole Kİ, %11'ini izole SSS, %0,3'ünü izole testis, %13,5'ni Kİ ve SSS ve %10'unu diğer relapsların oluşturduğu tespit edilmiş (85). Bajel A. ve ark.'nın yaptıkları çalışmada BFM-76/79 protokolü ile tedavi edilen 307 ALL hastasındaki relaps oranı %30,4 olarak bildirilmiş ve %66,3'ü izole Kİ, %6'sı izole SSS, %4,8'i izole testis, %4,8'i Kİ ve SSS birlikteliği ve geri kalanı da diğerleri olarak saptanmış (104). Bizim çalışmamızda da 4 hastada (%16.7) relaps görülmüş olup, bu oran literatürdeki çalışmalarla benzerdir. Relapsların tamamı izole Kİ relapsı idi. İlginç olarak 2 hastamızda iyi prognozla ilişkili olan ETV6-RUNX1 mevcut olup, bu durum hasta sayımızın az olmasından kaynaklanmış olabilir.

IKZF1 delesyonunun ALL'de relaps açısından bağımsız olarak prognostik olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (59,89,105). St. Jude Çocuk Araştırma Hastanesi'nde çok sayıda çalışmaya katılan ve hem HRG hem de SRG B-ALL'li 258 hastadan oluşan bağımsız bir kohortta, hastaların %19'unda IKZF1 delesyonu saptanmış olup, 5 yılda relap riskinin delesyon olmayanlarda %22.5, delesyon olanlarda ise %46,3 olduğu görülmüş (106). Dana-Farber Kanser Enstitüsü (DFCI) 'nın yaptığı çalışmada, B-ALL hastalarının %16'sında IKZF1 delesyonu saptanmış olup, IKZF1 delesyonu bulunan hastalarda 5 yıllık kümülatif relaps insidansı %29 iken, delesyon olmayanlarda %8 saptanmış (59). Bizim çalışmamızda relaps olan 4 hastadan 1'inde (%25) IKZF1 delesyonu mevcut olup literatürdeki çalışmalarda benzerdir. Literatürde yapılan çalışmalarda IKZF1 delesyonunun kötü prognostik etkisininin, CDKN2A/2B delesyonu eşlik ettiğinde arttığını,

ERG delesyonu varlığında ise azaldığı bildirilmiştir (56,107,108). Çalışmamızda relaps olan hastalarımızın hiçbirinde CDKN2A/CDKN2B delesyonu görülmemiştir. CDKN2A/CDKN2B delesyonunun relaps üzerine etkisi literatürdeki çalışmalarda tartışma konusu olmaya devam etmektedir, bu nedenle daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda relaps olan hastalardan hiçbirinde ERG delesyonu izlenmemiş olup, IKZF1 delesyonu bulunan relaps olan hastamızda ERG delesyonunun olmaması prognozu kötüleştirilmiş olabilir. Bu iki gen delesyonunun prognostik etkisinin anlaşılması için daha fazla hasta sayısına sahip çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. İlginçtir ki relaps olan 4 hastadan 2'sinde (%50) ERG amplifikasyonu izlenmiş olup, takibinde her 2 hastaya da KİT yapılmıştır. Literatürde ALL'de ERG amplifikasyonu ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır ancak yapılan çalışmalarda AML'de kötü prognostik olduğu bildirilmiştir (109). Bu nedenle ALL'de ERG delesyonu yanı sıra, diğer mutasyonların da varlığı ile ilgili çalışmaların yapılması gerekmektedir. Remisyondan sonra relaps gelişen hastalara ve yüksek risk grubunda olan bazı hastalara KİT önerilmektedir (110). Çalışmamızda relaps olan 4 hastadan 2'sine KİT yapıldı, 1'ine planlandı, 1'inde ise yabancı uyruklu olması(sosyal güvence) nedeniyle yapılamadı. KİT olan diğer 2 hastada ise ERG amplifikasyonu izlenmemiş olup, T-ALL idi.

Günümüzde sağkalım oranları % 80'e kadar çıkmıştır (111). Dörge ve ark.'nın yaptığı çalışmaya ALL-BFM 2000 protokolüyle tedavi olan 694 hasta katılmış olup, çalışmada genel sağkalım %92 iken IKZF1 delesyonu olanlarda %82 saptanmış (61). Clappier ve ark.'nın yaptığı çalışmaya ALL-BFM 2000protokolüyle tedavi olan 1223 hasta katılmış olup, çalışmada genel sağkalım %92.4 iken IKZF1 delesyonu olanlarda %86.7 saptanmış (90). Asai ve ark.'nın yaptığı çalışmada 5 yıllık genel sağkalım %90.2 iken IKZF1 delesyonu olanlarda %71.8 saptanmış (89)

Kayakıran ve ark.'nın yaptığı tez çalışmasında BFM ALL IC 2009 ile tedavi edilen hastalarda mortalite % 10.2 saptanmıştır (51). Çalışmamızda mortalite ise %4.2 saptanmıştır. Bir hasta refrakter hastalık nedeniyle kaybedilmiştir. Kaybedilen hastada IKZF1 delesyonu, CDKN2A/CDKN2B delesyonu ve ERG delesyonu izlenmemiştir. Çalışmamızda, mortalitenin bu kadar düşük bulunmasının hem hasta sayımızla , hem de tedavilerin iyileştirilmesi ve önemli prognostik faktörlere göre

güncellenen kemoterapi protokollerinin daha başarılı olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ancak daha fazla hasta sayısına sahip çalışmalarda IKZF1, CDKN2A, CDKN2B ve ERG delesyonunu sağkalım ve mortalite ile ilişkisinin değerlendirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Hastalar prognoz belirleyicilerine ek olarak başvuru şikayetleri, fizik muayeneleri, extramedüller tutulumları, hastalık ve/veya tedavi ilişkili erken ve geç komplikasyonlar açısından değerlendirildi.

ALL'de başvuru yakınmaları lösemik hücrelerin Kİ infiltrasyonu ve ekstramedüller organ tutulumuna bağlı olarak değişir. Hastaların daha az bir kısmı asemptomatik olmakla beraber, hayatı tehdit eden kanama ve enfeksiyonlara kadar geniş bir yakınma aralığında karşımıza çıkabilirler. En sık görülen yakınmalar arasında ateş, halsizlik, eklem ağrıları vardır (112). Clarke ve ark. 'nın 3084 hastayı kapsayan bir meta analiz çalışmasının sonucunda; hastalarda solukluk (%54), ateş yüksekliği (%53) ve vücutta morarma (%52) yakınmalarının %50'nin üzerinde olup en sık yakınmalar olduğu görülmüştür. Tekrarlayan enfeksiyonlar (%49), yorgunluk (%46), eklem ağrısı (%43), lenf nodlarında şişlik (%41) ve döküntü (%35) yakınmaları en sık saptanan diğer yakınmalar olmuştur (113). Bizim çalışmamızda ise 24 ALL arasında en sık görülen yakınmalar sırasıyla halsizlik (%70.8), iştahsızlık (%54.2), solukluk (%50), ateş (% 37.5) ve eklem ağrısı olarak (%37.5) görülmüştür. Sonuçlarımız literatürle benzerlik göstermektedir. IKZF1, CDKN2A/CDKN2B ve ERG delesyonlar izlenenler ile delesyon izlenmeyenler arasında başvuru anında en sık saptanan semptomlar açısından fark yoktu.

ALL tanısı alan hastalarda başvuru anı fizik bakı bulguları değerlendirildiğinde; Clarke ve ark. 'nın 3084 hastayı kapsayan meta analiz çalışmasının sonucunda daha sıklıkla HM (%64), SM (%61), HSM (%42), peteşi-ekimoz (%42) ve LAP (%41) saptanmış (113). ABD'de yapılan 2178 ALL tanılı hastanın değerlendirildiği çok merkezli bir başka çalışmada HM ve SM sırasıyla %31 ve %27 olarak bildirilmiş (114). Bizim çalışmamızda başvuru anında en sık saptanan muayene bulguları ise sırasıyla HM (%33.3), LAP (%29.2), peteşi ya da purpura (%29.2) ve SM (%25) olup literatür ile benzerdi. IKZF1 delesyonu ve CDKN2B delesyonu saptanan hastaların yarısında, CDKN2A delesyonu olan 4 hastadan 3'ünde

LAP mevcuttu. IKZF1 ve CDKN2A/CDKN2B delesyonu ve LAP ilişkişi dikkat çekmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca 24 hastanın 6'sında(%25) splenomegali olup, bu hastaların yarısında ERG mutasyonu mevcuttu. LAP, HM ve SM her ne kadar başvuru anında beklenen fizik muayene bulguları olsa da bazı hastalarda bu bulgular görülmemektedir. Çalışmamızdaki bulgu göze alındığında ERG mutasyonu saptanan hastalarda başvuru anında SM'nin daha sık görülebileceği düşünölmüş olup, SM ve ERG mutasyonu ilişkisinin değerlendirildiği daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. SM'nin, bütün hastalardaki sıklığı ile IKZF1 delesyonu, CDKN2A ve CDKN2B delesyonu olanlardaki sıklığı arasında herhangi bir fark bulunmamaktadır.

Hastalar hastalık ve/veya tedavi ilişkili erken ve geç komplikasyonlar açısından değerlendirildiğinde 24 hastanın 3'ünde L-asparajinaz alerjisi görölmüştür. Bir hastada IKZF1 delesyonu , 1 hastada ERG amplifikasyonu görölürken 1 hastada ise hem IKZF1 delesyonu hem de ERG amplifikasyonu saptanması dikkat çekmiştir. L-Asparajinaz antilösemik etkisini L-Asparajini (L-ASN) tüketerek ve apoptozisi artırarak gösterir. L-asparajinazın kanserli hücreleri G1 fazında tutuklayıp apoptozise sürüklediği ileri sürölmüştür. Klinik olarak gelişen allerji veya anafilaksi durumunda L-Asparajinaza karşı gelişen antikorlar tarafından asparajinaz inaktive edilir ve kan düzeyi azalır (115,116). Ancak bu alerjik reaksiyonun genetik yönü ile ilgili araştırma bulunmamaktadır. Literatüre bakıldığında IKZF1 delesyonu ve asparajinaz direnci ile ilişkili bazı çalışmalar mevcut olup (97), IKZF1 delesyonu, ERG amplifikasyonu ve L-asparajinaz alerjisi ile ilişkili literatürde yayın bulunmamaktadır. Bu alanda farklı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Yapılan çalışmalarda CRLF2 overekspresyonunun daha düşük sağkalım süresi, tanı anından yüksek WBC sayısı ve kötü prognozla ilişkili olduğu, IKZF1 delesyonu eşlik ettiğinde ise daha kötü prognoza sahip olduğu bildirilmiştir (117-119). Çalışmamızda az sayıda hasta olması nedeniyle sadece 4 hastada CRLF2 overekspresyonu ve IKZF1 delesyonu beraber bakılabilmiş olup, bu 4 hastada IKZF1 delesyonu saptanmamıştır. Bu nedenle iki delesyon varlığında prognoz değerlendirilememiştir. CRLF2 ekspresyon seviyesi 4 B-ALL hastasında, 8 sağlıklı kontrolle karşılaştırılmış ve B-ALL hasta grubunda CRLF2 ekspresyonu kontrol

grubuna göre 5,57 kat artış göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Ancak çalışmamızın amacı ALL'de CRLF2 sıklığını saptanmasının yanı sıra prognoz üzerine etkisini değerlendirilmesi olup, hasta sayısı buna olanak sağlamamıştır. CRLF2 overekspresyonu ve IKZF1 delesyonunu prognoz ve sağkalım üzerine beraber değerlendirebildiği daha fazla hasta sayısına sahip çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada hasta sayımızın az olması önemli bir kısıtlılıktı. Bunun nedeni bütçemizin kısıtlı olması, IKZF1 delesyonu için ise yeterli DNA'ya sahip olmayan hastaların çalışmaya alınamamış olması sebep olmuştur. Ayrıca CRLF2 ekspresyon seviyesinin yalnızca RNA materyalinden bakılabilmesi nedeniyle retrospektif olarak IKZF1 delesyonu saptanan hastalarda CRLF2 ekspresyon seviyesi değerlendirilememiştir. Hasta sayımızın az olması verilerimizin diğer çalışmalardan farklı çıkmasına ve istatistiksel anlamlılık değeri verilememesine neden olmuştur. Bazı hastalarımızın dış merkeze sevki ve bazı hastalarımızın ise tedavisini devam etmekte olması verilerinin bir kısmının eksik olmasına sebep olmuştur. Hastanemizde MRD bakılmadığı için hastaların risk gruplamasında kemik iliği morfolojik olarak değerlendirilmiş olup, literatürle MRD açısından kıyaslanamamıştır.

Sonuç olarak tüm hastalarda IKZF1 delesyonu sıklığı, IKZF1 delesyonu olanlarda relaps sıklığı ve IKZF1 delesyonu saptananlarda prognostik belirteçlerden yüksek yaş, tanı anında yüksek WBC sayısı, prednizona zayıf yanıt, 15.gün Kİ değerlendirmesinde yüksek blast oranı açısından literatürle uyumlu bulunmuştur ancak 15.gün Ki değerlendirmesinde yüksek blast oranı dışında istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilememiştir. IKZF1, CDKN2B delesyonu olanlarda daha düşük trombosit sayısı ve daha yüksek LDH seviyesi görülmüş olup bu bulgu dikkat çekmektedir. Literatürde bununla ilgili çalışma mevcut olmayıp, bu konuyla ilgili daha fazla hasta içeren çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızdaki 2 T-ALL hastası mevcut olup, ikisinde de IKZF1 homozigot delesyonu ile CDKN2A ve CDKN2B homozigot delesyonu saptanması dikkat çekmektedir. T-ALL gelişiminde IKZF1 delesyonunun etkisi fare çalışmalarıyla sınırlı olup, T-ALL'de IKZF1 delesyonu ve CDKN2A/2B delesyonunun sıklığı ve prognostik etkisi üzerine daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. İlginç olarak çalışmamızda relaps olan 4 hastadan 2'sinde(%50) ERG amplifikasyonu izlenmiş olup takibinde her 2

hastaya da KİT yapılmıştır. Literatürde ALL'de ERG amplifikasyonu ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır ancak yapılan çalışmalarda AML'de kötü prognostik olduğu bildirilmiş olup, ERG amplifikasyonunu ALL hastalarında sıklığı ve prognoz üzerine etkisini araştıran çalışmaların yapılması elzemdir. Toplam 24 hastanın 3'ünde L-asparajinaz alerjisi görülmüş olup, 1 hastada IKZF1 delesyonu , 1 hastada ERG amplifikasyonu görülürken 1 hastada ise hem IKZF1 delesyonu hem de ERG amplifikasyonu izlenmiştir. L-asparajinaz alerjisi olan hastalarda IKZF1 delesyonu ve ERG amplifikasyonu ile ilgili literatürde hiç çalışma bulunmamakta olup, bu konuda çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR

1. Hastaların ortalama yaşları $7.05 \pm 4,39$ yıl saptandı. Bir yaş altında hasta yoktu ve 14'ü (%58.3) 1-6 yaş arası, 10'u (%41.7) 6 yaş üzerindekiydi.
2. IKZF1 delesyon saptanan hastalarda ortalama yaş 9.81 ± 4.56 iken IKZF1 delesyon saptanmayan hastalarda 6.50 ± 4.26 idi. Delesyon izlenen 1 hasta 1-6 yaş arasında, 3 hasta ise 6 yaş ve üzerindekiydi.
3. CDKN2A delesyonu 4 (%16.7) hastada saptandı.
4. IKZF1 delesyonu 4 (%16.7) hastada saptandı.
5. CDKN2B delesyonu 4 (%16.7) hastada saptandı.
6. Tanı anında WBC sayısı hastaların 15'inde (%62.5) $<20.000/\text{mm}^3$, 9'unda (%37.5) $>20.000/\text{mm}^3$ üzerindekiydi.
7. IKZF1 delesyon saptanan 4 hastadan 3'ünün WBC sayısı $>50.000/\text{mm}^3$ iken, 1'sinin WBC sayısı $<20.000/\text{mm}^3$ idi.
8. Ortalama WBC sayısı IKZF1 delesyon saptanan hastalarda $173.750 \pm 123.877 /\text{mm}^3$ iken, IKZF1 delesyon saptanmayanlarda $17.030 \pm 26.820 /\text{mm}^3$ idi.
9. Ortalama WBC sayısı CDKN2B delesyon saptanan hastalarda $181.090 \pm 110.506 /\text{mm}^3$ iken, CDKN2B delesyon saptanmayanlarda $17.065 \pm 26.799/\text{mm}^3$ idi.
10. Ortalama WBC sayısı , CDKN2A delesyon saptanan hastalarda $112.362 \pm 110.524/\text{mm}^3$ iken, CDKN2A delesyon saptanmayanlarda $31.534 \pm 66.761 /\text{mm}^3$ idi.
11. Tanı anında trombosit değerleri $9000/\text{mm}^3$ ile $920.000/\text{mm}^3$ arasında değişmekte olup ortalaması $104.250 \pm 185.369/\text{mm}^3$, ortanca değeri $46.500/\text{mm}^3$ idi. Toplam 24 hastanın 16'sında (%66.6) trombosit $<100.000/\text{mm}^3$ yarısında ise $<50.000/\text{mm}^3$ idi.
12. IKZF1 delesyonu olanlarda ortalama trombosit değeri $47.000 \pm 39.149/\text{mm}^3$ iken, delesyon olmayanlarda $115.700 \pm 201.310/\text{mm}^3$ saptanmıştır.

13. CDKN2A delesyonu olanlarda ortalama trombosit değeri $29.500 \pm 14.843/\text{mm}^3$ iken, delesyon olmayanlarda $119.200 \pm 200.374/\text{mm}^3$ saptanmıştır.
14. CDKN2B delesyonu olanlarda ortalama trombosit değeri $23.750 \pm 12.685/\text{mm}^3$ iken, delesyon olmayanlarda $120.350 \pm 199.833/\text{mm}^3$ saptanmıştır.
15. IKZF1 delesyonu, CDKN2A ve CDKN2B delesyonu saptanan 4 hastadan 3'ünün trombosit değeri $<50.000/\text{mm}^3$ altında iken, 1 hastanın da $>50.000/\text{mm}^3$ idi.
16. Hastaların 20'sinde %83.3'ünde LDH düzeyleri hastanemiz laboratuvar sınırlarının üzerinde (LDH normal değerleri 0-300 U/L) iken, 7 hastanın %29.1 1000 U/L üzerinde saptandı.
17. IKZF1 ve CDKN2B delesyonu olan bütün hastalarda LDH >300 U/L saptandı.
18. Çalışmamızda hastaların 22'si (%91.7) B-ALL , 2'si (%8.3) T- ALL idi.
19. Çalışmamızda 2 T-ALL mevcut olup, ikisinde de IKZF1 homozigot delesyonu ile CDKN2A ve CDKN2B homozigot delesyonu saptandı. Her ikisinde de tanı WBC sayısı $100.000/\text{mm}^3$ üzerindedi.
20. Hastaların 17'sinde (%70.8) prednizona yanıt iyi, 7'sinde (%29.2) kötüydü.
21. Prednizona kötü yanıt veren 7 hastadan 2'sinde (%28.6) IKZF1 delesyonu varken, prednizona iyi yanıt veren 17 hastadan 2'sinde (%11.8) IKZF1 delesyonu mevcuttur.
22. On beşinci gün Kİ değerlendirilen 22 hastanın 3'ü (%13.6) M1, 11'i (%50) M2, 8'i (%36.4) M3 Kİ idi.
23. Otuz üçüncü gün Kİ değerlendirilen 22 hastanın ise 17'si (%77.3) M1, 4'ü (%18.2) M2, 1'i (%4.5) ise M3 idi.
24. IKZF1 delesyonu saptanan 4 hastadan 3'ünün 15.gün kemik iliği değerlendirmesi M3, 1'inin ise M2 saptanmış olup, M1 izlenmemiştir. Delesyon olanlarda olmayanlarda göre 15. Gün kemik iliği değerlendirmesinde daha yüksek blast sayısı saptanmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

25. BFM ALL IC 2009 protokolü risk sınıflamasına göre 7 hasta (%29.2) SRG, 14 hasta (%58.3) IRG grubunda, 3 hasta (%12.5) ise HRG idi.
26. IKZF1 delesyonu bulunan hastalardan 3'ü IRG ve 1'i HRG idi, SRG yoktu.
27. Çalışmada 4 hastada (%16.7) relaps görüldü.
28. Relaps olan hastalardan 3'ü IRG,1'i SRG idi
29. Relaps olan 2 hastaDA ETV6-RUNX1 mevcut idi.
30. Relaps olan 4 hastadan 1'inde (%25) IKZF1 delesyonu mevcut idi.
31. Relaps olan 4 hastadan 2'sinde (%50) ERG amplifikasyonu izlenmiş olup takibinde her 2 hastaya da KİT yapılmıştır.
32. Mortalite ise %4.2 saptanmıştır. Bir hasta refrakter hastalık nedeniyle kaybedilmiştir.
33. Kaybedilen hastada IKZF1 delesyonu, CDKN2A/CDKN2B delesyonu ve ERG delesyonu izlenmemiştir.
34. Başvuru anında en sık saptanan muayene bulguları ise sırasıyla HM (%33.3), LAP (%29.2), peteşi ya da purpura (%29.2) ve SM (%25) idi.
35. IKZF1 delesyonu ve CDKN2B delesyonu saptanan hastaların yarısında, CDKN2A delesyonu olan 4 hastadan 3'ünde LAP mevcuttu.
36. Hastaların 6'sında (%25) SM olup, bu hastaların yarısında ERG mutasyonu mevcuttu.
37. Toplam 24 hastanın 3'ünde L-asparajinaz alerjisi görülmüş olup, 1 hastada IKZF1 delesyonu , 1 hastada ERG amplifikasyonu görülürken 1 hastada ise hem IKZF1 delesyonu hem de ERG amplifikasyonu izlendi
38. Toplam 4 hastada CRLF2 overekspresyonu ve IKZF1 delesyonu beraber değerlendirilmiş olup, bu 4 hastada IKZF1 delesyonu saptanmadı.

39. CRLF2 ekspresyon seviyesi 4 B-ALL hastasında, 8 sağlıklı kontrolle karşılaştırılmış ve B-ALL hasta grubunda CRLF2 ekspresyonu kontrol grubuna göre 5,57 kat artış göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı saptandı.

7. KAYNAKÇA

1. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin.* 2011; 61:212. .
2. Huang Z, Jia Y, Ruan G, Zuo Y, Wu J, Lu A, Xue Y, Cheng Y, Zhang L. Quantitative analysis of IKZF1 gene deletions in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: higher levels are associated with a poorer prognosis. *Pediatr Hematol Oncol.* 2022.
3. Kicinski M, Arfeuille C, Grardel N, Bakkus M, Caye-Eude A, Plat G, Ferster A, Uyttebroeck A, De Moerloose B, Rohrlich P, Suci S, Bertrand Y, Cavé H. The prognostic value of IKZF1plus in B-cell progenitor acute lymphoblastic leukemia: Results from the EOR.
4. Carroll WL, Bhatla T. Acute lymphoblastic leukemia. In: *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology.* 6th ed. 2016. p. 367–89.
5. Miranda-Filho A, Piñeros M, Ferlay J, Soerjomataram I, Monnereau A, Bray F. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *Lancet Haematol.* 2018 Jan;5(1):e14-e24. doi: 10.1016/S2352-3026(17)30232-6. PMID: 2930432.
6. Velpeau A. Sur la résorption du pus et sur l'altération du sang das les maladies clinique de persection nenemant. Premier Observation. *Rev Med* 1827; 2: 216. Virchow R. Weisses blut. *Notiz Geb Natur Heilk.*1845; 6: 152-6.
7. Larson RA. Acute Lymphoblastic Leukemia. In: Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal J, editors. *Williams Hematology.* 9th ed. 2015. p. 1505–26. .

8. Sevindik GÖ. Akut Lösemilerde Tanı ve Sınıflandırma. Türkiye Klin J Hematol-Special Top. 2017;10(1):1-9. .
9. Lanzkowsky P. Leukemias Manual of Pediatric Hematology Oncology 6th Ed. Elsevier Academic Pres. 2005:415-50.
10. Tezer K. Çocukluk çağı kanserlerinin epidemiyolojisi. Sempozyum Dizisi No: 49 2006; 11- 15.
11. Apak H. Çocukluk çağı lösemileri. Türk Pediatri Arşivi 2006;41:189-96 .
12. Buffler PA, Kwan ML, Reynolds P, Urayama KY. Environmental and Genetic Risk Factors for Childhood Leukemia: Appraising the Evidence. Cancer Invest. 2005;23(1):60-75.
13. Wiemels JL, Cazzaniga G, Daniotti M, Eden OB, Addison GM, Masera G, et al. Prenatal origin of acute lymphoblastic leukaemia in children. Lancet. 1999;354(9189):1499-503. .
14. Greaves M. Molecular genetics, natural history and demise of childhood leukaemia. Euro J Cancer 1999;35:1941-53.
15. Pui C-H, Relling M V., Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. N Engl J Med. 2004;350:1535-48.
16. Uzunhan TA, Karakaş Z. Çocukluk Çağı Akut Lenfoblastik Lösemisi. J Child. 2012;12(1):6-15. .
17. Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. In: Acute lymphoblastic leukemia. Pizzo PA, Poplack DG(eds). Principles and Practice of Pediatric Oncology 4th edition. Lippincott Williams and Wilkins Publishers, 2001.
18. Olcay Neyzi Pedyatri, Cilt 2. 5.baskı, 2020,1674-1679.

19. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, et al. The Morphological Classification of Acute Lymphoblastic Leukaemia: Concordance among Observers and Clinical Correlations. *Br J Haematol.* 1981;47(4):553–61. .
20. Bennett J, Catovsky D, Daniel MT. French-American British (FAB) Cooperative Group: the morphological classification of acute leukemias-concordance among observers and clinical correlation. *Br J Hematol* 1981;47:553.
21. Onciu M. Acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23:655- 674. .
22. Rabin KR, Gramatges MM, Margolin JF, Poplack DG. Acute Lymphoblastic Leukemia. In: Pizzo PA, Poplack DG. Eds. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2015:463-497.
23. Smith OP, Hann IM. Clinical features and therapy of lymphoblastic leukemia. In: Arceci RJ, Hann IM, Smith OP (eds). *Pediatric Hematology*. 3rd ed. Oxford: Blackwell, 2006:450-81.
24. Akyay A, Olcay L. ÇocuklarÇocuklarda Akut Lenfoblastik Lösemi Tedavisinin Erken ve Geç da Akut Lenfoblastik Lösemi Tedavisinin Erken ve Geç Yan Etkileri. *Turkish J Pediatr Dis.* 2014;1:46–54. .
25. Howard SC, Ribeiro RC, Pui CH. Acute complications. In: Pui CH (ed). *Childhood leukemias*. 2nd ed. New York: Cambridge University Pres, 2006:709-49.
26. Hakim H, Flynn PM, Knapp KM, Srivastava DK, Gaur AH. Etiology and clinical course of febrile neutropenia in children with cancer. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009;31:623-9.

27. Nathan PC, Wasilewski-Masker K, Janzen LA. Long-term outcomes in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2009;23:1065-82.
28. Cooper SL, Brown PA. Treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am*. 2015;62(1):61-73.
29. ALL IC-BFM 2009 A Randomized Trial of the I-BFM-SG for the Management of Childhood non-B Acute Lymphoblastic Leukemia. 2009. Final Version of Therapy Protocol from August-14-2.
30. Kleinsmith LJ. *Principles of Cancer Biology*. Michigan: Benjamin Cummings; 2006.
31. Martinez JD, Parker MD, Fultz KE, Ignatenko NA, Gerner EW. *Molecular Biology of Cancer*. Arizona: John Wiley&Sons; 2003.
32. Stanulla M, Cavé H, Moorman AV. IKZF1 deletions in pediatric acute lymphoblastic leukemia: still a poor prognostic marker? *Blood*. 2020 Jan 23;135(4):252-260. doi: 10.1182/blood.2019000813. PMID: 31821407; PMCID: PMC7019035.
33. Georgopoulos K, Moore DD, Derfler B. Ikaros, an early lymphoid-specific transcription factor and a putative mediator for T cell commitment. *Science*. 1992 Oct 30;258(5083):80812.
34. van der Velden VH, van der Schoot CE, et al. Integrated use of minimal residual disease classification and IKZF1 alteration status accurately predicts 79% of relapses in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2011 Feb Waanders E ve 25(2):254-8.

35. Mullighan CG, Su X, Zhang J, et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *The New England journal of medicine*. 2009 Jan 29;360(5):470-80. .
36. Tasian SK, Loh ML. Understanding the biology of CRLF2-overexpressing acute lymphoblastic leukemia. *Critical reviews in oncogenesis*. 2011;16(1-2):13-24. .
37. Sarno J, Palmi C, et al. Fine tuning of surface CRLF2 expression and its associated signaling profile in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2015 Bugarin C ve 100(6):e229–e232. .
38. Chiaretti S, Brugnoletti F, Messina M, et al. CRLF2 overexpression identifies an unfavourable subgroup of adult B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia lacking recurrent genetic abnormalities. *Leuk Res*. 2016;41:36–42.
39. Eric S. Schafer, Judith Margolin, David G. Poplack, and Karen R. Rabin. (2015) *Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic* 150 Efendi Erdem ve ark. Ph-benzeri ALL *J Curr Pediatr* 2021;19:141-50 *Leukemia. The molecular basis of cancer*. Philadelphia, PA: Else.
40. Yoda A, Yoda Y, Chiaretti S, et al. Functional screening identifies CRLF2 in precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010 Jan 5;107(1):252-7. .
41. Lei Cui, Chao Gao, Chan-Juan Wang, Xiao-Xi Zhao, Wei-Jing Li, Zhi-Gang Li, Hu-Yong Zheng, Tian-You Wang & Rui-Dong Zhang (2021) Combined analysis of IKZF1 deletions and CRLF2 expression on prognostic impact in pediatric B-cell precursor acute lymphoblasti.
42. Oikawa T. ETS transcription factors: possible targets for cancer therapy. *Cancer science*. 2004 Aug;95(8):626-33. .

43. Rao VN, Lee L, Reddy ES. Characterization of the DNA binding and transcriptional activation domains of the erg protein. *Oncogene*. 1993 Jul;12(13):2911-20. PMID: 8481115.
44. Kibel AS, Suarez BK, Belani J, Oh J, Webster R, Brophy-Ebbers M, Guo C, Catalona WJ, Picus J, Goodfellow PJ. CDKN1A and CDKN1B polymorphisms and risk of advanced prostate carcinoma. *Cancer Res*. 2003 May 1;63(9):2033-6. PMID: 12727815.
45. Baghdadi H, Soleimani M, Zavvar M, Bahoush G, Poopak B. Combination of minimal residual disease on day 15 and copy number alterations results in BCR-ABL1-negative pediatric B-ALL: A powerful tool for prediction of induction failure. *Cancer Genet*. 2023 Dec.
46. Turgut B, Tekinalp A. Akut Lenfoblastik Lösemide Prognostik Belirleyiciler. *Türkiye Klin J Hematol-Special Top*. 2017;10(1):47-52.
47. Koka A, Saygin C, Uzunaslán D, Özdemir N, Apak H, Celkan T. A 17-year experience with ALL-BFM protocol in acute lymphoblastic leukemia: Prognostic predictors and interruptions during protocol. *Leuk Res* 2014;38(6):699-705. .
48. Hazar V, Karasu GT, Uygun V, Akcan M, Küpesiz A, Yesilipek A. Childhood acute lymphoblastic leukemia in Turkey: Factors influencing treatment and outcome: A single center experience. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2010;32(8):e317- 22. .
49. Yüksel-Soycan L. Significant heterogeneity between centers during early evaluation of the first Turkish multi-centric study in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Magazine of European Medical Oncology*. 2012;296-301. .
50. G A. BFM Protokolü ve Türkiye Deneyimi. 9 Ulusal pediatrik hematoloji kongresi. 2013;.

51. E K. Pamukkale Üniversitesi Çocuk Hematoloji Kliniğinde 2010 – 2020 yılları arasında akut lenfoblastik lösemi tanısı alan hastaların komplikasyon, relaps ve sağkalım oranlarının retrospektif değerlendirilmesi. 2020.
52. Öztürk AP, Koç B, Zülfikar B. Acute Complications and Survival Analysis of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: A 15-year Experience. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk.* 2020;1–9.
53. Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute Lymphoblastic Leukaemia. *The Lancet.* 2008;371(9617):1030-43.
54. Öfverholm I, Rezayee F, Heyman M, Harila A, Arvidsson L, Schmiegelow K, Norén-Nyström U, Barbany G. The prognostic impact of IKZF1 deletions and UKALL genetic classifiers in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia treated according to NO.
55. Maciel ALT, Barbosa TDC, Blunck CB, Wolch K, Machado AAL, da Costa ES, Bergier LL, Schramm MT, Ikoma-Coltutato MRV, Lins MM, Aguiar TF, Mansur MB, Emerenciano M. IKZF1 deletions associate with CRLF2 overexpression leading to a poor prognosis in B-cell pre.
56. Stanulla M, Cavé H, Moorman AV. IKZF1 deletions in pediatric acute lymphoblastic leukemia: still a poor prognostic marker? *Blood.* 2020 Jan 23;135(4):252-260. doi: 10.1182/blood.2019000813. PMID: 31821407; PMCID: PMC7019035.
57. Huang Z, Jia Y, Ruan G, Zuo Y, Wu J, Lu A, Xue Y, Cheng Y, Zhang L. Quantitative analysis of IKZF1 gene deletions in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: higher levels are associated with a poorer prognosis. *Pediatr Hematol Oncol.* 2022.

58. Schwab CJ, Chilton L, Morrison H, Jones L, Al-Shehhi H, Erhorn A, Russell LJ, Moorman AV, Harrison CJ. Genes commonly deleted in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: association with cytogenetics and clinical features. *Haematologica*. 2015;100(2):207-15. doi: 10.3324/haematol.13342. Epub 2015 Mar 5. PMID: 25753742.
59. Vrooman LM, Blonquist TM, Harris MH, Stevenson KE, Place AE, Hunt SK, O'Brien JE, Asselin BL, Athale UH, Clavell LA, Cole PD, Kelly KM, Laverdiere C, Leclerc JM, Michon B, Schorin MA, Sulis ML, Welch JJG, Neuberg DS, Sallan SE, Silverman LB. Refining risk. *Leukemia*. 2015;29(12):2333-42. doi: 10.1038/leu.2015.217. Epub 2015 Oct 22. PMID: 26474111.
60. Yamashita Y, Shimada A, Yamada T, Yamaji K, Hori T, Tsurusawa M, Watanabe A, Kikuta A, Asami K, Saito AM, Horibe K. IKZF1 and CRLF2 gene alterations correlate with poor prognosis in Japanese BCR-ABL1-negative high-risk B-cell precursor acute lymphoblastic. *Leukemia*. 2015;29(12):2333-42. doi: 10.1038/leu.2015.217. Epub 2015 Oct 22. PMID: 26474111.
61. Dörge P, Meissner B, Zimmermann M, Mörcke A, Schrauder A, Bouquin JP, Schewe D, Harbott J, Teigler-Schlegel A, Ratei R, Ludwig WD, Koehler R, Bartram CR, Schrappe M, Stanulla M, Cario G. IKZF1 deletion is an independent predictor of outcome in pediatric . *Leukemia*. 2015;29(12):2333-42. doi: 10.1038/leu.2015.217. Epub 2015 Oct 22. PMID: 26474111.
62. Olsson L, Johansson B. Ikaros and leukaemia. *Br J Haematol*. 2015 May;169(4):479-91. doi: 10.1111/bjh.13342. Epub 2015 Mar 5. PMID: 25753742.
63. Ofverholm I, Tran AN, Heyman M, Zachariadis V, Nordenskjöld M, Nordgren A, Barbany G. Impact of IKZF1 deletions and PAX5 amplifications in pediatric B-cell precursor ALL treated according to NOPHO protocols. *Leukemia*. 2013 Sep;27(9):1936-9. doi: 10.1038/l. Epub 2013 Aug 14. PMID: 23911111.
64. Lanzkowsky P, et al editors. *Lankowsky Manual of Pediatric Hematology & Oncology*, 6th ed. 2016.
65. Kline MW, et al editors. *Rudolph's Pediatrics*, 23rd ed. 2018.

66. Atay AA, Kürekçi AE, Kesik V, Kiliç S, Gülgün M, Özcan O, et al. Akut lenfoblastik lösemili olgularımızın retrospektif analizi. *Gulhane Med J.* 2005;47(3):183–6.
67. anemi bulgusu hastaların başvuru kan sayımında %85'den fazlasında gözlendi. .
68. Schrappe M, Reiter A, Zimmermann M et al. Long-Term Results of Four Consecutive Trials in Childhood ALL Performed by The ALL-BFM Study Group From 1981 to 1995. *Leukemia.* 2000;14(12):2205-22.
69. Margolin JF, Steubeck CP, Poplack DG, Robin KR. Acute lymphoblastic leukemia. In: Pizzo PA ,Poplack DG (ed.) *Principles and practice of pediatric oncology.* Lipincott Wolters Kluwer, Philadelphia. 7th ed.;2016, pp:1016-1114.
70. Pui CH, Williams DL, Roberson PK, et al. Correlation of karyotype and immunophenotype in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1988;6(1):56-61.
71. Fantin VR, St-Pierre J, Leder P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell.* 2006;9:425-34.
72. Miao P, Sheng S, Sun X, Liu J, Huang G. Lactate dehydrogenase A in cancer: a promising target for diagnosis and therapy. *IUBMB Life.* 2013;65:904-10.
73. Hoelzer D, Gökbuget N, Ottmann O, Pui CH, Relling MV, Appelbaum FR, van Dongen JJ, Szczepański T. Acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am SocHematolEduc Program.* 162-92, 2002.
74. E T. Çocukluk Çağ ı Akut Lo semilerinin Tanı ve Laboratuvar Ö zellikleri. 2020. .

75. Messina M, Chiaretti S, Fedullo AL, Piciocchi A, Puzzolo MC, Lauretti A, Gianfelici V, Apicella V, Fazi P, Te Kronnie G, Testi AM, Vitale A, Guarini A, Foà R. Clinical significance of recurrent copy number aberrations in B-lineage acute lymphoblastic leuk.
76. Irving JA, Enshaei A, Parker CA, Sutton R, Kuiper RP, Erhorn A, Minto L, Venn NC, Law T, Yu J, Schwab C, Davies R, Matheson E, Davies A, Sonneveld E, den Boer ML, Love SB, Harrison CJ, Hoogerbrugge PM, Revesz T, Saha V, Moorman AV. Integration of genetic .
77. Simonin M, Lhermitte L, Dourthe ME, Lengliné E, Graux C, Grardel N, Cayuela JM, Arnoux I, Gandemer V, Ifrah N, Dombret H, Baruchel A, Macintyre E, Petit A, Boissel N, Asnafi V. IKZF1 alterations predict poor prognosis in adult and pediatric T-ALL. *Blood*.
78. Georgopoulos K, Bigby M, Wang JH, Molnar A, Wu P, Winandy S, Sharpe A. The Ikaros gene is required for the development of all lymphoid lineages. *Cell*. 1994 Oct 7;79(1):143-56. doi: 10.1016/0092-8674(94)90407-3. PMID: 7923373.
79. Winandy S, Wu P, Georgopoulos K. A dominant mutation in the Ikaros gene leads to rapid development of leukemia and lymphoma. *Cell*. 1995 Oct 20;83(2):289-99. doi: 10.1016/0092-8674(95)90170-1. PMID: 7585946.
80. Papathanasiou P, Perkins AC, Cobb BS, Ferrini R, Sridharan R, Hoyne GF, Nelms KA, Smale ST, Goodnow CC. Widespread failure of hematolymphoid differentiation caused by a recessive niche-filling allele of the Ikaros transcription factor. *Immunity*. 2003 Jul;.
81. Dumortier A, Jeannet R, Kirstetter P, Kleinmann E, Sellars M, dos Santos NR, Thibault C, Barths J, Ghysdael J, Punt JA, Kastner P, Chan S. Notch activation is an early and critical event during T-Cell leukemogenesis in Ikaros-deficient mice. *Mol Cell Biol*.

82. Kathiravan M, Singh M, Bhatia P, Trehan A, Varma N, Sachdeva MS, Bansal D, Jain R, Naseem S. Deletion of CDKN2A/B is associated with inferior relapse free survival in pediatric B cell acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2019 Feb;60(2):433-441. do.
83. Lu X, Harris C, Cooley L et al. The Utility of Spectral Karyotyping in The Cytogenetic Analysis of Newly Diagnosed Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Leukemia*. 2002;16(11):2222.
84. Dave BJ, Wiggins M, Higgins CM et al. 9q34 Rearrangements in BCR/ABL Fusion-Negative Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2005;162(1):30-7.
85. Möricke A, Reiter A, Zimmermann M et al. Risk-Adjusted Therapy of Acute Lymphoblastic Leukemia Can Decrease Treatment Burden and Improve Survival: Treatment Results of 2169 Unselected Pediatric and Adolescent Patients Enrolled in The Trial ALL-BFM-95. *Blo*.
86. Mullighan CG, Miller CB, Radtke I, et al. BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature*. 2008;453(7191):110-114.
87. Slayton WB, Schultz KR, Kairalla JA, et al. Dasatinib plus intensive chemotherapy in children, adolescents, and young adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: results of Children's Oncology Group trial AALL0622. *J Clin On*.
88. van der Veer A, Zaliouva M, Mottadelli F, et al. IKZF1 status as a prognostic feature in BCR-ABL1-positive childhood ALL. *Blood*. 2014;123(11):1691-1698.
89. Asai D, Imamura T, Suenobu S, Saito A, Hasegawa D, Deguchi T, Hashii Y, Matsumoto K, Kawasaki H, Hori H, Iguchi A, Kosaka Y, Kato K, Horibe K, Yumura-Yagi K, Hara J, Oda M; Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS). IKZF1 deletion is associate.

90. Clappier E, Gardel N, Bakkus M, Rapion J, De Moerloose B, Kastner P, Caye A, Vivent J, Costa V, Ferster A, Lutz P, Mazingue F, Millot F, Plantaz D, Plat G, Plouvier E, Poirée M, Sirvent N, Uyttebroeck A, Yakouben K, Girard S, Dastugue N, Suciu S, Benoit .
91. Koçak U, Gursel T, Kaya Z et al. ALL-BFM 95 Treatment in Turkish Children with Acute Lymphoblastic Leukemia; Experience of a Single Center. *Pediatric Hematology and Oncology*. 2012;29:130-140.
92. Srinivasan S, Ramanathan S, Kumar S, Peyam S, Radhakrishnan V. Prevalence and prognostic significance of IKZF1 deletion in paediatric acute lymphoblastic leukemia: A systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol*. 2023 Aug;102(8):2165-2179. doi: 10.1007.
93. Baghdadi H, Soleimani M, Zavvar M, Bahoush G, Poopak B. Combination of minimal residual disease on day 15 and copy number alterations results in BCR-ABL1-negative pediatric B-ALL: A powerful tool for prediction of induction failure. *Cancer Genet*. 2023 Dec.
94. Stanulla M, Dagdan E, Zaliova M, Mörnicke A, Palmi C, Cazzaniga G, Eckert C, Te Kronnie G, Bourquin JP, Bornhauser B, Koehler R, Bartram CR, Ludwig WD, Bleckmann K, Groeneveld-Krentz S, Schewe D, Junk SV, Hinze L, Klein N, Kratz CP, Biondi A, Borkhardt A, .
95. Braun M, Pastorczak A, Sędek Ł, Taha J, Madzio J, Jatzak-Pawlik I, Wypyszczyk K, Matysiak M, Derwich K, Lejman M, Kazanowska B, Szczepański T, Kowalczyk JR, Mlynarski W; Polish Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. Prognostic significance of IKZF1 del.
96. Steeghs EMP, Boer JM, Hoogkamer AQ, Boeree A, de Haas V, de Groot-Kruseman HA, Horstmann MA, Escherich G, Pieters R, den Boer ML. Copy number alterations in B-cell development genes, drug resistance, and clinical outcome in pediatric B-cell precursor acut.

97. Rogers JH, Gupta R, Reyes JM, Gundry MC, Medrano G, Guzman A, Aguilar R, Conneely SE, Song T, Johnson C, Barnes S, Cristobal CDD, Kurtz K, Brunetti L, Goodell MA, Rau RE. Modeling IKZF1 lesions in B-ALL reveals distinct chemosensitivity patterns and poten.
98. Marke R, Havinga J, Cloos J, Demkes M, Poelmans G, Yuniati L, van Ingen Schenau D, Sonneveld E, Waanders E, Pieters R, Kuiper RP, Hoogerbrugge PM, Kaspers GJ, van Leeuwen FN, Scheijen B. Tumor suppressor IKZF1 mediates glucocorticoid resistance in B-cell .
99. Pui CH, Onciu M. Diagnosis and Classification. In: Pui CH. Childhood Leukemias. 3th ed. New York. Cambridge University Press; 2012. 1(2)p21-48.
100. Möricke A, Lauten M, Beier R, Odenwald E, Stanulla M, Zimmermann M, et al. Prediction of outcome by early response in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Klin Padiatr.* 2013;225(Suppl.1):50–6.
101. Güneş AM, Ören H, Baytan B et al. The Long-Term Results of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia at Two Centers from Turkey: 15 Years of Experience with The ALL-BFM-95 Protocol. *Annals of Hematology.* 2014;93(10):1677-84.
102. Crepinsek K, Marinsek G, Kavcic M, Prelog T, Kitanovski L, Jazbec J, Debeljak M. Clinical impacts of copy number variations in B-cell differentiation and cell cycle control genes in pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia: a single centre experience.
103. Locatelli F, Schrappe M, Bernardo ME, Rutella S. How i treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2012;120(14):2807–16.
104. Bajel A, George B, Mathews V et al. Treatment of Children with Acute Lymphoblastic Leukemia in India Using a BFM Protocol. *Pediatric Blood & Cancer.* 2008;51(5):621-5.

105. Tran, T.H.; Harris, M.H.; Nguyen, J.V.; Blonquist, T.M.; Stevenson, K.E.; Stonerock, E.; Asselin, B.L.; Athale, U.H.; Clavell, L.A.; Cole, P.D.; et al. Prognostic impact of kinase-activating fusions and IKZF1 deletions in pediatric high-risk B-lineage acu.
106. Mullighan, C.G.; Su, X.; Zhang, J.; Radtke, I.; Phillips, L.A.; Miller, C.B.; Ma, J.; Liu, W.; Cheng, C.; Schulman, B.A.; et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2009, 360, 470–480. .
107. Clappier E, Auclerc MF, Rapon J, Bakkus M, Caye A, Khemiri A, Giroux C, Hernandez L, Kabongo E, Savola S, Leblanc T, Yakouben K, Plat G, Costa V, Ferster A, Girard S, Fenneteau O, Cayuela JM, Sigaux F, Dastugue N, Suciú S, Benoit Y, Bertrand Y, Soulier J.
108. Zalióva M, Zimmermannová O, Dörge P, Eckert C, Möricke A, Zimmermann M, Stuchly J, Teigler-Schlegel A, Meissner B, Koehler R, Bartram CR, Karawajew L, Rhein P, Zuna J, Schrappe M, Cario G, Stanulla M. ERG deletion is associated with CD2 and attenuates the.
109. Schandl CA, Mazzoni S, Znoyko I, Nahhas GJ, Chung D, Ding Y, Hess B, Wolff DJ. Novel high-risk acute myeloid leukemia subgroup with ERG amplification and Biallelic loss of TP53. *Cancer Genet.* 2023 Apr;272-273:23-28. doi: 10.1016/j.cancergen.2023.01.004. E.
110. Schrappe M, Möricke A, Reiter A, Henze G, Welte K, Gadner H, et al. Key Treatment Questions in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Results in 5 Consecutive Trials Performed by the ALL-BFM Study Group From 1981 to 2000. *Klin Padiatr.* 2013;225(Suppl.1):.
111. Hunger, S.P.; Mullighan, C.G. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N. Engl. J. Med.* 2015, 373, 1541–1552. .

112. Pui C-H, Schrappe M, Ribeiro RC, Niemeyer CM. Childhood and adolescent lymphoid and myeloid leukemia. *ASH Education Program Book*. 2004;2004(1):118-145. .
113. Clarke RT, Van Den Bruel A, Bankhead C, Mitchell CD, Phillips B, Thompson MJ. Clinical presentation of childhood leukaemia: A systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. 2016;101(10):894–901.
114. Rivera GK, Pinkel D, Simone JV, Hancock ML, Crist WM. Treatment of acute lymphoblastic leukemia--30 years' experience at St. Jude children's research hospital. *New England Journal of Medicine*. 1993;329(18):1289-95. .
115. T. Ueno, K. Ohtawa, K. Mitsui, Y. Koderu, M. Hiroto, A. Matsushima, Y. Inada and H. Nishimura, Cell cycle arrest and apoptosis of leukemia cells induced by Lasparajinase, *Leukemia*, 11(1997)1858-61.
116. Leather H, Lynch J, and Reddy S, *Hematology/Oncology Handbook*. .
117. Wang J, Sun K, Chen WM, Wang X, Li LD, Hao Y, Xu N, Jiang H, Xu LP, Wang Y, Zhang XH, Huang XJ, Jiang Q, Qin YZ. The prognostic significance of CRLF2 expression at diagnosis in adult Ph-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma*.
118. Maciel ALT, Barbosa TDC, Blunck CB, Wolch K, Machado AAL, da Costa ES, Bergier LL, Schramm MT, Ikoma-Coltutato MRV, Lins MM, Aguiar TF, Mansur MB, Emerenciano M. IKZF1 deletions associate with CRLF2 overexpression leading to a poor prognosis in B-cell pre.
119. Raca G, Abdel-Azim H, Yue F, Broach J, Payne JL, Reeves ME, Gowda C, Schramm J, Desai D, Dovat E, Hu T, Berg AS, Bhojwani D, Payne KJ, Dovat S. Increased Incidence of IKZF1 deletions and IGH-CRLF2 translocations in B-ALL of Hispanic/Latino children-a nove.

120. Kutluk MT, Yeşilipek A. Pediatric Cancer Registry in Turkey 2009-2018 (TPOG & TPHD). *J Clin Oncol*. 2019;37(15_suppl):e21510. .
121. Kebudi R. Pediatric oncology in Turkey. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2012;34:12–4.
122. Mullighan CG, Goorha S, Radtke I, Miller CB, Coustan-Smith E, Dalton JD, et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2007;446(7137):758–64.
123. Schwab CJ, Chilton L, Morrison H, Jones L, Al-Shehhi H, Erhorn A, Russell LJ, Moorman AV, Harrison CJ. Genes commonly deleted in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: association with cytogenetics and clinical features. *Haematologica*. 2.
124. Durmaz ÖE. B hücre aktivasyonu ve antikor üretimi B cell activation and antibody. *Türkderm*. 2013;47(1):24-7. .