

Türk Kanbilim Ağı (TÜRKBA) Bildirileri

Abstract: 0240

T-001

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS TEDAVİSİNDE MEZENKİMAL KÖK HÜCRENİN YERİ. Sakine Işık¹, Nevin Uzuner¹, Meral Karaman², Özkan Karaman¹, Müge Kıray³, İlknur Kozanoğlu⁴, Hüsnü Alper Bağrıyanık³, Zeynep Arıkan Ayyıldız¹, Melis Kartal Yandım⁵, Yusuf Baran⁵. ¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Alerji-İmmünoloji Bilim Dalı, İzmir, ²Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, ³Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, histoloji Anabilim Dalı, İzmir, ⁴Başkent Üniversitesi, Adana Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara, ⁵İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir

Amaç: Bronşiolitis obliterans (BO), küçük havayollarında obstrüksiyon ve/veya obliterasyona neden olan patolojik bir süreçtir. Tedavisi oldukça zor olan ve sıklıkla da başarısızlıkla sonuçlanan bu hastalıkta etkili tedavi arayışları sürmektedir. Bu çalışmada, deneysel olarak BO modeli oluşturulan farelerde MKH'lerin BO'da hastalığa ait histolojik bulgular ve sitokin düzeyleri üzerine etkilerinin belirlenmesi ve dolayısı ile MKH'lerin BO'nun tedavisi için terapötik etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Materyal-Metod: Çalışmaya 6-8 haftalık, 20-25 gr ağırlığında 25 adet BALB/C fare alınmıştır. Farelerin kemik iliğinden MKH'ler elde edilmiş ve in vivo takiple-ri amacıyla yeşil floresan protein ile işaretlenmişlerdir. Uygulama öncesi MKH'lerin kök hücre karakteristikleri akım sitometri yöntemiyle belirlenmiştir. Gruplar; Grup-I (Kontrol), Grup-II (BO modeli oluşturulup, 1x10⁶ MKH verilen grup), Grup-III (BO modeli oluşturulmadan, 1x10⁶ MKH verilen grup), Grup-IV (BO modeli oluşturulup, salin uygulanan grup) olmak üzere 4'e ayrılmıştır. Tüm fareler MKH uygulamasından 24 saat sonra sakrifiye edildi. Akciğer dokusu ışık ve konfokal mikroskopik değerlendirme için ayrılmıştır. Tüm gruplardan INF-gama, TNF-alfa, IL-2 ölçümleri için bronkoalveolar lavaj sıvısı alınmıştır.

Bulgular: BO modeli oluşturularak MKH verilen grupta konfokal mikroskopik değerlendirmede akciğer dokusunda yeşil floresan protein ile işaretli MKH'lerin göç ettiği görülmüştür. Akım sitometri sonuçları elde edilen hücrelerin MKH olduklarını ortaya koymuştur. Histolojik incelemelerde grup II de, grup IV ile karşılaştırıldığında peribronkovasküler kollajen birikimi ve terminal bronşiol duvar kalınlığı anlamlı derecede azalmış saptanmıştır. Sitokin düzeyleri açısından değerlendirildiğinde BO modeli oluşturulup MKH verilen grupta, IL-2 (p=0,00) ve TNF-alfa (p=0,00) ve INF-gamma düzeyleri bronşiolitis obliterans modeli oluşturulup salin uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı azalmış bulunmuştur.

Sonuç: BO modeli oluşturulan farelerde hasarlı akciğer dokusuna MKH göçü gösterilmiştir. MKH'nin BO fare modelinde hem histolojik hem serolojik bulgularda düzelmeye sağladığı ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Bronşiolitis obliterans, fare modeli, mezenkimal kök hücre

Abstract: 0568

T-002

YAŞLI AKUT MİYELOİD LÖSEMİLİ HASTALARIN TEDAVİSİNDE 5-AZASİTİDİN TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİ. Anıl Tombak¹, Mehmet Ali Uçar¹, Aydan Akdeniz¹, Eyüp Naci Tiftik¹, Deniz Şahin⁴, Olga Meltem Akay⁴, Murat Yıldırım¹⁰, Oral Nevruz¹⁰, Cem Kis³, Emel Gürkan³, Şerife Medeni Solmaz⁵, Mehmet Ali Özcan⁵, Rahşan Yıldırım¹⁵, İlhami Berber⁷, Mehmet Ali Erkurt⁷, Tülin Fıratlı Tuğlular¹⁶, Pınar Tarkun¹³, İrfan Yavaşoğlu⁸, Mehmet Hilmi Doğu⁶, İsmail Sarı⁶, Mustafa Merter¹¹, Muhit Özcan¹¹, Esra Yıldızhan⁹, Leylagül Kaynar⁹, Özgür Mehtap¹⁴, Ayşe Uysal², Fahri Şahin², Ozan Salim¹², Mehmet Ali Sungur¹⁷. ¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Mersin, ²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, İzmir, ³Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Adana, ⁴Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Eskişehir, ⁵Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, İzmir, ⁶Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Denizli, ⁷Malatya İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Malatya, ⁸Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Aydın, ⁹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Kayseri, ¹⁰Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara, ¹¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara, ¹²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Antalya, ¹³Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Kocaeli, ¹⁴Kocaeli Devlet Hastanesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bölümü, ¹⁵Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, Erzurum, ¹⁶Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, ¹⁷Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Düzce

Amaç: Yaşlı akut miyeloid lösemili (AML) hastaların eşlik eden hastalıkları, kötü performans durumları vb. sebeplerle küratif tedavilere yanıtı kötüdür. Bazı yaşlı hastalarda yoğun kemoterapi (KT) ile ~%50 yanıt alınmakla beraber nüks ve tedavi ilişkili mortalite oranları genç hastalara kıyasla daha yüksektir. Hipometile edici ajanlar yaşlı AML'li hastalarda yaşam süresini uzatabilir, hayat kalitesini arttırabilir. Bu çalışmada ülkemizde, yaşlı AML'li hastaların tedavisinde 5-azasitidin'in (AZA) etkinlik ve güvenilirliğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

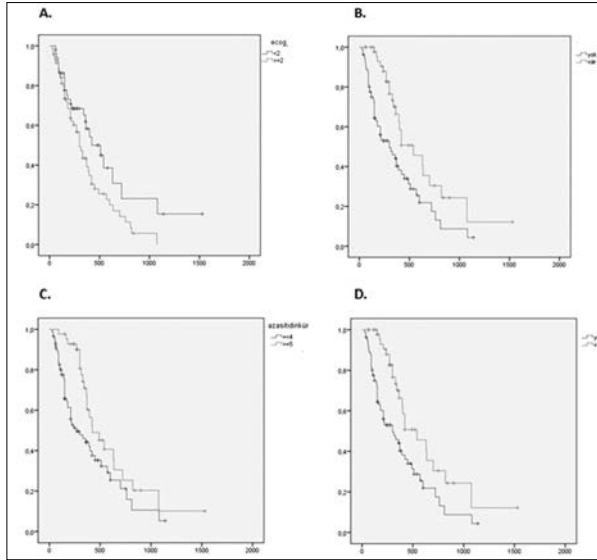
Gereç-Yöntem: Haziran-2009/Haziran-2014 arasında, Türkiye'deki 16 merkezde, >=60 yaşında olup AML tanısı almış ve AZA ile tedavi edilmiş hastalar çalışmaya dahil edildi. Demografik veriler, ECOG skorları, eşlik eden hastalıklar, Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre AML tipleri, sitogenetik inceleme-moleküler test sonuçları, AZA öncesi verilen tedaviler, transfüzyon bağımlılığı, blast oranları, kür sayısı, yan etkiler, tedavi yanıtları kaydedildi.

Bulgular: Çalışmaya 130 hasta alındı (58 kadın, 72 erkek, ortanca yaş: 72,78±6,65); %19,2'si >=80 yaş grubundaydı. Vakaların %57,7'sinde ECOG>=2, %66'sında

eşlik eden hastalık vardı. %65,7'sinde Kİ blast oranı >%30'du, %86,2'sine eritrosit ve/veya trombosit transfüzyonu gerekiyordu (transfüzyon bağımlı). Sitogenetik incelemeye göre vakaların %89,2'si orta risk grubundaydı (Tablo 1). Hastaların %55,5'i AZA tedavisinden önce AML ilişkili bir tedavi almamışken, %17,2'si yoğun KT, %15,6'sı hidroksiüre ile tedavi edilmişti. AZA, %81,5 vakada 75 mg/m²/gün/7 gün/28 gün dozunda verildi. Ortanca kür sayısı 4 (1-21 kür) idi. Derece 3-4 nötropeni, trombositopeni, anemi, sırayla %34,6, %40,8, %39,2 oranında gelişti. 91 vakada hematolojik olmayan toksisiteler görüldü (Tablo 2). Vakaların %59,8'inde tedavi başarısız olmuşken, %14,5'inde tam düzelme (CR), %6,8 eksik düzelmenin olduğu CR (CRi), %18,8'inde kısmi düzelme (PR), %37,7'sinde IWG-kriterlerine göre hematolojik düzelme oldu Tablo 3). Ortanca genel yaşam süresi (OS) 298, hastalıksız sağkalım süresi (RFS) 255, olaysız sağkalım süresi (EFS) 216 gündü. Cinsiyetin, Kİ blast oranının, eşlik eden hastalıkların sayısının, AML tipinin, AZA öncesi tedavi verilmiş olmasının, tedaviye yanıt oranlarını ve OS'yi etkilemediği saptandı. >=5 kür AZA alan vakalarda tedavi yanıtının daha iyi (p<0,001), OS'nin daha fazla (0,011) olduğu, hematolojik düzelme ile OS'nin arttığı (p=0,002), ECOG>=2 ve transfüzyon bağımlı olanlardaysa tedavi yanıtının daha kötü (p=0,032, p<0,001, sırayla), OS'nin daha az (p=0,034, p=0,018, sırayla) olduğu bulundu (Şekil 1).

Sonuçlar: AZA; öncesinde tedavi almış, eşlik eden hastalıkları olan, yaşlı (>=80 yaşta da), Kİ blast oranı >%30 olan AML'li hastalarda da iyi tolere edilen, etkin bir tedavidir. Transfüzyon bağımlılığı ve ECOG>=2 olan hastalarda, tedavi başarısı ve OS daha az olurken, hematolojik düzelme olanlarda OS artmaktadır. Ayrıca, kür sayısı arttıkça, tedaviye yanıt oranları ve OS artmaktadır.

Anahtar kelimeler: azasitidin, akut miyeloid lösemi, yaşlı



Şekil 1. a) ECOG skorunun OS'ye etkisi. **b)** Transfüzyon bağımlılığının OS'ye etkisi. **c)** Azasitidin kür sayısının OS'ye etkisi. **d)** Hematolojik düzelmenin OS'ye etkisi.

Tablo 1. Hastaların temel karakteristik özellikleri

Ortanca yaş, yıl (aralık)	72 (60-88)
Cinsiyet, erkek, n (%)	72 (55)
DSÖ'ye göre AML, n (%)	
Rekürren genetik anormalliklerin olduğu AML	7 (5,4)
MDS ilişkili özelliklerin olduğu AML	49 (37,7)
Tedavi ilişkili AML	6 (4,6)
AML, diğer yerlerde sınıflandırılmayan	68 (52,3)
Kemik iliği blast oranı, n (%)	
%20-30	36 (31)
>%30	80 (69)
Ortanca (aralık), %	52 (20-97)
Lökosit sayısı, n (%)	
<10 G/l	72 (61,5)
10-30 G/l	24 (20,5)
30-50 G/l	8 (6,9)
>50 G/l	13 (11,1)
Transfüzyon bağımlılığı, n (%)	
Var	112 (86,2)
Yok	18 (13,8)
MRC sitogenetik risk, n (%)	
Değerlendirilmedi	56 (43,1)
İyi	1 (0,8)
Orta	66 (50,8)
Kötü	7 (5,4)
ECOG >=2, n (%)	71 (57,7)
Azasitidin tedavisi başlama sebebi, n (%)	
1. basamak tedavi	103 (79,2)
Konvansiyonel kemoterapi sonrası remisyon sağlanamaması/erken nüks	18 (13,8)
Önceki diğer tedavi seçenekleriyle remisyon sağlanamaması	9 (7)

Tablo 2. Yan etkiler

	Derece	n (%)
Hematolojik toksisite		
Trombositopeni	3 - 4	53 (40,8)
Nötropeni	3 - 4	45 (34,6)
Anemi	3 - 4	51 (39,2)
Febril nötropeni		79 (60,8)
Hematolojik olmayan toksisite		
Yok		91 (70)
Mukozit		7 (18)
Diyare		7 (18)
Enjeksiyon yerinde reaksiyon		6 (15,4)
Bulantı-kusma		4 (10,2)
Tromboemboli		3 (7,7)
Vertigo		1 (2,4)
Bilefarit		1 (2,4)
Miyalji		1 (2,4)
Konstipasyon		1 (2,4)
Nöropati		1 (2,4)
Ateş		1 (2,4)

Tablo 3. Tüm yanıt oranları, % [(International Working Group (IWG) kriterlerine göre

Tam remisyon (CR)	14,5
Eksik düzelmenin olduğu tam remisyon (CRI)	6,8
Kısmi remisyon (PR)	18,8
Tedavi başarısızlığı	59,8
Hematolojik düzelme	37,7

Miyeloproliferatif Neoplazmlar ve Kronik Miyelositer Lösemi

Abstract: 0522

T-003

KML DIŞI MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZMLARDA MPL W515L/K VE JAK2 EKSON 12 MUTASYONLARININ SIKLIĞI VE KLİNİK BULGULAR İLE İLİŞKİSİ: ÇOK MERKEZLİ BİR ÇALIŞMANIN ÖN BULGULARI. Veyssel Sabri Hançer¹, Demet Çekdemir², Mutlu Arat³, Serkan Güvenç³, Fehmi Hindilerden³, İpek Yönel⁴, Deniz Sargın⁷, Mesut Ayer⁵, Güven Yılmaz⁶, Emre Eşkazan⁹, Cem Ar⁹, Teoman Soysal⁹, Önder Arslan⁸, Muhi Özcan⁸, Muzaffer Demir¹⁰, **Reyhan Diz Küçükçaya³.**
¹*İstanbul Bilim Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul,* ²*Özel Anadolu Sağlık Merkezi, Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi,* ³*İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul,* ⁴*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul,* ⁵*İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hematoloji Kliniği, İstanbul,* ⁶*Dr. Lutfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul,* ⁷*Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul,* ⁸*Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara,* ⁹*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul,* ¹⁰*Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Edirne*

Giriş: Kronik miyeloid lösemi (KML) dışında kalan miyeloproliferatif hastalıklar polistemia vera (PV), esas-siyel trombositemi (ET) ve primer miyelofibroz (PMF) olarak sınıflanır. 2005 yılında tanımlanan JAK2 V617F mutasyonu PV hastalarının %95-98'inde, ET ve PMF hastalarının %50'sinde tanımlanmıştır. Son yıllarda başka mutasyonların tanımlanmasıyla birlikte hastalığın etyopatogenezinde yeni bulgular elde edilmekte, tedavide yeni hedefler belirlenmektedir. Bu çalışmada JAK2 V617F mutasyonu saptanmamış PV, PMF ve ET olgularında MPL W515L/K ve JAK2 ekson 12 mutasyonları incelenmiştir. Çok merkezli bu çalışmanın amacı miyeloproliferatif neoplazi (MPN) hastalarımızda bu mutasyonların sıklığını belirlemek ve klinik bulgular ile ilişkisini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Çok merkezli bu çalışma Türk Hematoloji Derneği tarafından desteklenmiş, İstanbul Bilim Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Çalışmada WHO kriterlerine göre PV, ET ve PMF tanısı almış ve JAK-2 V617F mutasyonu negatif bulunmuş 200 hastanın klinik ve moleküler değerlendirilmesi planlanmıştır. Mutasyon analizleri İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Moleküler Hematoloji-Onkoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi. 2cc EDTA'lı venöz kan örneklerinden gDNA izolasyonunu takiben MPL515 mutasyonları için

gerçek zamanlı PZR, JAK2 ekson 12 mutasyonları için ise konvansiyonel PZR sonrasında DNA dizileme yöntemleri uygulandı.

Sonuçlar: Şu ana kadar 187 hastanın mutasyon analizi tamamlanmıştır. Kadın erkek oranı 68/119, ortalama yaş 58 (18-79)'dir. Hastaların 63'ü ET, 52'si PV, 24'ü PMF, 48 hasta da JAK2 V617F-negatif MPN olarak bildirilmiştir. JAK2 V617F negatif PV tanısıyla gönderilen 4 hastada ekson 12 mutasyonları (3 hastada IVS12+2 T>A, 1 hastada N542-E543 del), ET tanısıyla gönderilen 1 hastada ve PMF tanısıyla gönderilen 3 hastada MPL W515L mutasyonu saptandı. Bu sonuçlara göre JAK2 V617F negatif MPN olgularında ekson 12 ve MPL W515L/K görülme sıklığı % 4 olarak hesaplandı.

Tartışma: Bu çalışma, yeni hastaların eklenişiyile devam etmektedir. Sonuçlarımıza göre MPL W515L/K ve JAK2 ekson 12 mutasyonlarının sıklığı, diğer ülkelere kıyasla anlamlı oranda düşük bulundu. Bu durumun, mutasyon dağılımının coğrafi farklılık göstermesinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Tanımlı veya henüz tanımlanmamış başkaca mutasyonların da MPN nedeni olabileceği unutulmamalıdır. Örneğin bu grupta yer alan ve ekson 12 ve MPL'de mutasyon saptanmayan 11 hastanın ikisinde kalretikulin mutasyonları gösterildi. Hastaların bir kısmında kemik iliği incelemesi yapılmamış olduğundan, tanısal hataları dışlamak da mümkün olamamaktadır. Hasta grubumuzun genişletilmesiyle birlikte, çalışılan mutasyonların gerçek sıklığı ve klinik öneminin daha iyi anlaşılabilirliği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Miyeloproliferatif neoplazm, JAK2 ekson 12, MPL W515L/K

Multiple Miyelom ve Plazma Hücre Hastalıkları

Abstract: 0545

T-004

MULTİPLE MYELOM HASTALARINDA SİTOKİN GEN EKSPRESYONU İLE GEN VARYANTLARININ ETYOPATOGENEZDEKİ ROLÜNÜN VE KLİNİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ. Handan Haydaroglu Şahin¹, Sibel Oğuzkan Balcı², Sacide Pehlivan³, Kürşat Özdiilli⁴, Erdal Gündoğan¹, Vahap Okan¹, Mustafa Pehlivan¹. ¹*Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Gaziantep,* ²*Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep,* ³*İstanbul Üniversitesi İstanbul (Çapa) Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul,* ⁴*Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Giriş: Multipl myelomda (MM) genlerdeki polimorfizm farklılıklarının hastalığa yatkınlık, tedavi seçeneklerine yanıt ve sağkalım ile ilişkili olabileceğini gösteren farklı çalışmalar bildirilmektedir. Bu çalışmada, MM hastalarında TNF-α, TGF-β1, IFN-γ, IL-6 ve IL-10 genleri DNA varyantları ile gen ekspresyonları analiz edilerek, sitokinlerin MM etyopatogenezinde ve klinik parametrelerinde total sağkalım (OS) ve olaysız sağkalım (EFS) üzerine olası rolünün araştırılmıştır.

Yöntem: MM tanısı konulan 113 hasta ve 113 sağlıklı kontrol bireylerinden elde edilen genomik DNA'larda PCR-SSP yöntemi kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar klinik parametrelerle birlikte değerlendirildi.

Bulgular: Hasta ve kontrol grupları genotip ve allel sıklıkları bakımından karşılaştırıldığında TNF-α geni (-308) polimorfizmi düşük ekspresyonla ilişkili GG

genotipinin kontrollere göre MM hastalarında düşük olduğu ($p=0.012$), yüksek ekspresyonla ilişkili AG genotipinin ise yüksek olduğu saptandı ($p=0.019$). IFN- γ geni (+874) polimorfizmi TT genotipinin kontrollere göre MM hastalarında anlamlı şekilde yüksek olduğu ($p=0.037$), AA genotipinin ise düşük olduğu tespit edildi ($p=0.002$). Çalışmada yer alan IL-6, IL-10 ve TGF- β 1 gen varyantlarında MM ve kontrol grupları arasında ilişki bulunmadı ($p>0.05$).

Çalışmaya alınan 113 hastanın 64'ü erkek, 49'u kadın olup medyan yaşı 60 (31-81)' du. İlk sıra tedaviye yanıt değerlendirmesi yapılan en az 6 aydır yaşamda olan 100 hasta tedaviye yanıt ve sağkalım analizine alındı. Çok değişkenli analizde; sağkalımı etkileyen faktörlerden cinsiyet, yaş, IPI, ECOG, Ig subtipleri, trombosit sayısı, CRP, LDH, başlangıç tedavisi, çalışılan sitokin gen varyantları değerlendirildiğinde; 5 yıllık OS'yi sadece IPI III ($p=0.018$, RR=1.630) ve trombositopeninin ($p=0.021$) ve 5 yıllık EFS'yi ise IPI III ($p=0.022$), trombositopeninin ($p=0.021$), OPKHT ($p=0.035$) ve kadın cinsiyetin ($p=0.002$, Cox) olumsuz prognostik öneme sahip olduğu saptanmıştır. Çalışılan sitokin gen varyantları ile ilk sıra tedavilerden OPKHT, bortezomib, imid tabanlı tedavi alan hastalar ayrı ayrı total OS ve EFS üzerine etkisi değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık saptanmadı.

İrdeleme: TNF- α 'da yüksek ekspresyonla ilişkili AG genotipi varlığının MM'da heterozigot dezavantajı oluşturduğunu; düşük ekspresyonla ilişkili GG genotipi varlığının MM'ye karşı koruyucu rolünün varlığını düşündürmektedir. IFN- γ 'da yüksek ekspresyonla ilişkili TT genotip artışının MM'ye yakınlıkta rolü olabileceğini düşündürürken, düşük ekspresyonla ilişkili AA genotipinin azalması ise bu genotipin MM oluşumuna karşı koruyucu rolü olabileceğini bize göstermektedir. MM'da; çalışılan sitokin gen varyantları ilk sıra tedaviye (OPKHT, bortezomib, imid tabanlı) yanıtta ve tüm hastalarda OS ve EFS'yi etkilenmediği saptanmıştır. MM biyolojisini çözmeye yarayan bu araştırmalar; prognostik faktörlerin ve yeni tedavi protokollerini için biyolojik belirteçlerin tanımlanmasına imkan sağlayabilecektir.

Anahtar kelimeler: Multiple Myelom, sitokin gen varyantları, prognostik faktörler

Pediyatrik Akut Lösemiler

Abstract: 0130

T-005

YENİ NESİL SEKANSLAMA TEKNİĞİ İLE TET2, KRAS VE CBL GEN DEĞİŞİMLERİNİN SAPTANMASI VE JAK2 V617F/FLT3-ITD MUTASYONLARI İLE PEDIATRİK AML'Lİ HASTALARDA BİRLİKTELİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ. Dilara Fatma Akın¹, Deniz Aşlar¹, Mine Mumcuoğlu¹, Üstün Ezer¹, Emin Kürekçi², Nejat Akar³. ¹Özel Lössante Lösemili Çocuklar Hastanesi, Ankara, ²Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Pediyatrik Hematoloji Bilim Dalı, Ankara, ³TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

Giriş-Amaç: Son yıllarda AML 'nin teşhis ve tedavisinde, sitogenetik ve moleküler genetik prognostik belirteç olma özelliğine sahip birçok anomali tanımlanmıştır t(8;21), inv(16), FLT3, NPM1, CEBPA, TET2, KRAS, CBL. TET protein aile üyesi olan TET2, DNA metillenmesinde görev almaktadır, gende olan mutasyonlar bu yolağın regülasyonunun bozulmasına neden olmaktadır.TET2

mutasyonlarının, AML de prognostik değere sahip olduğu literatürde gösterilmiştir.RAS proteinleri, hücre çoğalması ve farklılaşması ile ilgili sinyalizasyon yolağında rol oynamaktadır.RAS mutasyonların AML'li hastalarda görülme sıklığı %25-44 arasındadır. CBL sinyalizasyon ve proteinlerin post modifikasyonlarında rol oynayan sitozolik proteindir.CBL mutasyonları kanserlerin çoğunda, özellikle AMLde sıkça görülmektedir.

Çalışmamızda TET2, KRAS ve CBL genlerinin tamamının, yeni nesil sekanslama (YNS) yöntemi ile çalışılması sonucunda, lösemi teşhis ve tedavisinde moleküler belirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağını belirlenmesi amaçlanmıştır.Ayrıca, sonuçlarımız prognostik belirteç olarak kabul edilen JAK2, FLT3 genleri ile ilişkilendirilecektir.

Gereç-Yöntem: TET2-CBL-KRAS panel: Çalışma grubu, hastanemizde AML tanısı almış 1-15 yaş 9 çocuktan oluşmaktadır.TET2 genini kodlayan 3-11 eksonları, 27 amplikon oluşturacak şekilde çalışılmıştır.CBL geninin hotspot bölgeleri olarak bilinen 8/ 9. eksonları, KRAS geninin ise 2./ 3. eksonları çalışılmıştır.

Kan örnekleri, EDTA içermekte olan tüplere alınmış ve MagNa Pure İzolasyon sistemi (Roche Germany) ile izole edilmiştir.DNA örneklerinden, çalışılan genlerin amplifikasyonu uygun fusion primerler kullanılarak çoğaltılmıştır. Elde edilen ürünlerden YNS (GS Junior, Roche) yapılmış ve elde edilen sonuçlar AVA Software ile analiz edilmiştir.

FLT3-ITD değişiminin belirlenmesi:Real-Time PCR Tekniği kullanılarak Light Cyclor 480 II (Roche,Germany) cihazı ile çalışılmış, HRM analizi ile genotip profilendirilmesi yapılarak değerlendirilmiştir.

JAK V617F değişiminin belirlenmesi:Mutasyon analizi Real-Time PCR Tekniği kullanılarak LC 480 II cihazı ile çalışılmış, Melting Curve analiziyle değerlendirilmiştir.

TET2, CBL ve KRAS bulunan değişimlerin özellikleri, çalışma grubundaki sınıflandırılması Şekil 1 de özetlenmiştir.Çalışmamızda, TET2 geninde 16 değişim;7 tanımlanmamış;7 missense, 2 silent tanımlanmıştır. KRAS ve CBL genlerinde 2 farklı değişim tanımlanmıştır, KRAS geninde 1 missense, 1 intronik değişim; CBL geninde 2 yeni tanımlanmamış değişim tespit edilmiştir. Şekil 1 de YNS çalışması sonucundaki, amplikon okuma dağılımı verilmiştir. JAK2 V617F mutasyonu için tüm hastalar negatif,FLT3-ITD mutasyonu için 9 hastanın (%33,3) 3 'ü pozitif sonuç göstermiştir.

Sonuç ve Tartışma: Çalışma genlerindeki tanımlanmış değişimler, lösemilerin gelişimine neden olan transkripsiyon faktörlerinin regülasyonunu ve fonksiyonunu bozabileceği düşünülmektedir.Yapılan çalışmalarda bu genlerde olan değişimlerin AML patogenezinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir.

Anahtar kelimeler: Çocukluk Çağı AML, moleküler belirteç, yeni nesil sekanslama

Gene	rs Number	rs number/ Mutation	Variant	exon	Localization	Mutation Type	Amino acid
TET2	Rs 12400036	5254 A>G	G>C	Exon 3	exon	Missense	Pro>Arg
TET2	Rs 17253672	1088 C>T	C>T	Exon 3	exon	Missense	Pro>Ser
TET2	Novel	5254 A>G	A>G	Exon 11	exon	novel	Leu>Val
TET2	Rs 142173408	5162 T>G	T>G	Exon 11	exon	Synonym	Leu>Trp
TET2	Rs 112516862	2588 G>C	G>C	Exon 3	exon	Synonym	Gln>Gln
TET2	Novel	1842 G>-	G>-	Exon 3	exon	novel	Gly>Gly
TET2	Rs 205371650	3298 C>T	C>T	Exon 3	exon	Missense	His>His
TET2	Rs 144382291	2699 T>C	T>C	Exon 3	exon	Missense	Trp>His
TET2	Novel	5243 A>G	A>G	Exon 11	exon	novel	His>Val
TET2	Rs 372490796	5184 C>T	C>T	3'UTR	3'UTR	Missense	Pro>Ser
TET2	Novel	46	A>-	Exon 4	exon	novel	
TET2	Novel	730	A>-	Exon 3	exon	novel	
TET2	Rs 150268743	100 C>T	C>T	Exon 3	exon	Missense	Leu>Phe
TET2	Rs 68431410	652 G>A	G>A	Exon 3	exon	Missense	Val>Met
TET2	Novel	5253 A>G	A>G	Exon 11	exon	novel	His>Arg
TET2	Novel	695 A>-	A>-	Exon 3	exon	novel	Thr>His
KRAS	Rs 11838509	333	A>C	Exon 3	exon	Intonic	Stop>Tyr
KRAS	Rs 17931045	182 A>T	A>T	Exon 3	exon	Missense	Gln>Leu
CBL	Novel	1111 T>C	T>C	Exon 6	exon	novel	Trp>His
CBL	Novel	1347 T>-	T>-	Exon 6	exon	novel	Gly>Gly

Şekil 1. TET2, CBL ve KRAS genlerinde bulunan değişimlerin dağılımı, sınıflandırılması ve karakterizasyonu

Hasta No	Cinsiyet	TET2 nükleotid değişimi, rs numarası	KRAS nükleotid değişimi, rs numarası	CBL nükleotid değişimi, rs numarası	JAK V617F	FLT3 ITD
1	M	5254 A>G (Novel)			negatif	negatif
2	F	1088 C>T (rs 17253672) 5162 T>G (rs 142173408)			negatif	negatif
3	M	840 C>T (rs 12436059)	182 A>T (rs 17931045) 310 A>C (rs 11838509)		negatif	negatif
4	F	1088 C>T (rs 17253672) 1842 G>- (novel) 5162 T>G (rs 142173408) 46 A>- (novel) 730 A>- (novel)		1347 T>- (novel)	negatif	negatif
5	F	1088 C>T (rs 17253672) 2286 C>T (rs 200327868) 2386 G>C (rs 12576862) 5162 T>G (rs 142173408) 46 A>- (novel) 730 A>- (novel)	310 A>C (rs 11838509)	1347 T>- (novel)	negatif	pozitif
6	M	1842 G>- (novel) 2599 T>C (rs 144382291) 5243 A>G (novel) 5184 C>T (rs 372490796) 46 A>- (novel) 730 A>- (novel)	310 A>C (rs 11838509)	1347 T>- (novel)	negatif	pozitif
7	M	100 C>T (rs 150268743) 652 G>A (rs 68431410) 1088 C>T (rs 17253672) 1842 G>- (novel) 5162 T>G (rs 142173408) 5253 A>G (novel) 46 A>- (novel)		1347 T>- (novel)	negatif	negatif
8	F	1842 G>- (novel) 46 A>- (novel)	310 A>C (rs 11838509)	1347 T>- (novel)	negatif	negatif
9	F	840 C>T (rs 12436059) 1842 G>- (novel) 46 A>- (novel)		1347 T>- (novel) 1111 T>C (novel)	negatif	pozitif

Şekil 2. TET2, KRAS ve CBL gen değişimleri profilinin çalışma grubunda gösterilmesi

Tablo 1. Çalışma grubunun karakteristik özellikleri

No	Cinsiyet	Yaş	Tanı	FAB Sınıflandırılması	Risk Grup	Sitogenetik anormali	Moleküler anormali
1	E	13	AML	M4	HR	46XY, tanıda, Ms, Ts 14	-
2	K	9	AML	M5	HR	46 XX, Relaps	-
3	E	13	AML	-	HR	Ex, 46 XY, (9;22)	t(9;22)
4	K	8	AML	M5	HR	46 XX	-
5	K	3	AML	M2	HR	Ex, Relaps, 47,XX (+21) c 21 der(14) (14q1.2→q 3.2ii 1q21→q43)	t(9;22)
6	E	3	AML	M4	HR	46 XY, Relaps, Ms 7	-
7	E	7	AML	M4	HR	Ts 22, Inv (16;16), Fragile X syndrome	Inv (16;16)
8	K	9	AML	M2	SR	46 XX	-
9	K	8	MDS-AML	M4	HR	46 XX	-

Abstract: 0617

T-006

ÇOCUKLUK ÇAĞI NÜKS AKUT LÖSEMİDE GENOM BOYU METİLASYON ANALİZLERİ. Yücel Erbilgin¹, Özden Hatırnaz Ng¹, Sinem Fırtına¹, Tülin Tiraje Celkan², Saniye Sema Anak³, Zeynep Karakaş³, Aykan Güven³, Nazan Sarper⁴, Emine Sezgin⁴, Emine Türkkan⁵, Didem Yalçın Atay⁵, Yuk Yin Ng⁶, Ömer Doğru⁷, Türkan Tansel⁸, Enver Dayıoğlu⁸, Müge Sayitoğlu¹, Uğur Özbek¹. ¹*İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul,* ²*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul,* ³*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul,* ⁴*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Kocaeli,* ⁵*Okmeydanı Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul,* ⁶*Bilgi Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul,* ⁷*Göztepe Medical Park, Kemik İliği Nakil Merkezi, İstanbul,* ⁸*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Antalya,* ⁸*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul*

Giriş: DNA ve histon proteinlerindeki modifikasyonlar gen anlatımının düzenlenmesinde görev almaktadır ve bu modifikasyonlar bir hücre jenerasyonundan diğerine kalıtıldığında “epigenetik modifikasyonlar” olarak isimlendirilir. Araştırmalar sonucunda genetik ve epigenetik mekanizmaların kanser oluşumunda birbirinden farklı iki mekanizma olmaksızın, kanserleşme sürecinde birbirlerine avantajlar sunan iç içe geçmiş bir kompleks olduğu gösterilmiştir. Çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemi (ALL) hastalarında tedavi sonrası nüks önemli bir sorundur. ALL hastalarının tanı ve nüks örnekleri incelendiğinde, baskın olan klonun çoğunlukla ortak atadan köken aldığı, buna karşın yeni kromozomal varyasyonların, gen mutasyonlarının varlığı gibi biyolojik ve klinik değişimlerin meydana geldiği gözlemlenmiştir. Ancak hangi moleküler mekanizmaların nüks yol açtığı tam anlamı ile açıklanabilmiş değildir. Bu nedenle çalışmamızda, hastaların tanı ve nüks zamanlarına ait örneklerini tüm genom metilasyon yaklaşımını kullanarak ALL’de metilasyon profilini tanımlamayı ve tedavi direncine yol açan olası yolları belirlemeyi hedefledik.

Materyal-Metod: Hematoloji kliniklerinde n=10 B-ALL, n=6 T-ALL tanısı almış 16 hastanın tanı ve erken dönem nüks örnekleri tüm genom metilasyonu (Infinium HumanMethylation450K BeadChip) açısından Illumina array teknolojisi kullanılarak incelendi. Çıkan veriler Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanında GSE39141 kodu ile bulunan ve 29 B-ALL hastasının metilom bilgisinin verildiği ikinci bir veri seti ile harmonize edilerek analiz edildi. B-ALL için kontrol dokusu olarak sağlıklı kemik iliğinden akım sitometresi ile ayrıştırılan B-hücre alt tipleri, T-ALL kontrolü olarak da Timus dokusundan izole edilen CD4+CD8+ hücre alt grubu kullanıldı.

Sonuçlar: Nüks örneklerinde tanı örneklerine nazaran artmış metilasyon tespit edildi. Sınıflandırma analizlerinde T-ALL örnekleri B-ALL örneklerinden ayrı bir grup oluştururken B-ALL hastalarında kendi içlerinde yapısal varyasyon içeriklerine göre iki farklı metilasyon paterni gösterdi. Yaptığımız karşılaştırma analizleri sonucunda tanı ve nüks örnekleri arasında anlamlı farklılık bulunmazken kontrol grupları ile yapılan analizlerde, hücre döngüsünü düzenleyen genlerde ve DNA tamir

mekanizmalarında rol oynayan genlerde anlamlı düzeyde metilasyon farklılığı tespit edildi. Veri tabanlarından elde edilen verilerin harmonizasyonu sonucunda ise histon genlerinde ve protein glikozillenmesinde rol oynayan genlerde artmış metilasyon belirlendi.

Tartışma: Erken dönem nüks örnekleri genellikle kendi tanı örneklerine benzer bir profil göstermektedir.

Bu bulgular tanı anında var olan klonun baskın hale geçerek nükse yol açtığını desteklemektedir. Kromozom paketlenmesinde rol oynayan Histon genlerinde ve glikozillenme gibi kanser metabolizmasında önemli role sahip yolaklarda artmış metilasyon varlığı epigenetik mekanizmaların ilaç direnci ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Akut Lösemi, Nüks, Metilasyon