

# Moleküler Hematoloji: Nereye Gidiyoruz?

Güray SAYDAM

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı, İzmir

**K**linik bilimler içerisinde laboratuvar ile en çok iç içe olan bilim dalı hematolojidir. Laboratuvar ise teknoloji ve yenilik demektir. 1800'li yıllarda başlayan teknolojik yenilik ve gelişmeler büyük bir ivmeyle devam etmektedir. Mikroskop ilk olarak Lowenhook tarafından keşfedildiği ve bu yeni alet ile mikocanlıların incelenbildiği bildirildiğinde, buna karşı çıkan ve eleştiren pek çok bilim adamı olmuştur. Bu mantık bugün bile geçerli olabilmektedir. Yaklaşık 100 yıl önce başlayan teknoloji atılımı aynı oranda tıbbın değişik alanlarına yansımış ve 1950'li yıllarda Hollywood filmlerinde hayal ve hatta hayal ötesi olarak tanımlanan pek çok olay bugün güncel ve rutin tıp uygulamalarının arasında yer almıştır.

Modern teknoloji ve bilimsel ilerleme yan yana yürümektedir. Bilgisayarın keşfi ve hayatımızın her aşamasına girmesi, beraberinde teknoloji aracılı tıbbın kolay ulaşılabilir ve hızlı gelişme içerisinde olmasını sağlamıştır. Teknolojik ilerlemeler sayesinde neredeyse hiçbir invaziv girişim yapmadan koroner anjiyografi yapmak, lazer cerrahileri, kemik dansitesini değerlendirmek, tümörlerin evrelemede patolojik incelemeyle eşdeğer güvenilirlik ve sağlamlıkla evreleme yapmak mümkün olmuştur.

Teknolojinin hematolojiye katkısı pek çok alanda olmuştur. Hücrenin yapısının anlaşılması, doku ve organlardaki hücrelerin kendilerine özgü yüzey, sitoplazmik ve nükleer belirleyicilerinin saptanması ve her gün bunlara yenilerinin katılması, hasta takibi ve tedavisinde kullandığımız tanısal yöntemlerde ciddi değişikliklere yola açmıştır. Bunun en canlı örneği daha 10 yıl öncesine kadar kullandığımız lösemi ve lenfoma histopatolojik sınıflamalarının bugün artık tamamen hücrelerin yüzey ve sitoplazmik belirteçlerine dayalı yeni bir sınıflama sistemiyle yer değiştirmiş olmasıdır. Yine insan genomunun çözülmesi ve 1 hücrenin

bile PCR metodları ile DNA yapısının incelenmesinin başarılması bize tanısal açıdan büyük yarar sağlamıştır. Örneğin myelom, lösemi ve lenfoma gibi malign hastalıkların tanısı ve evrelemede, takibinde ve prognoz tahmininde sitogenetik ve moleküler belirleyiciler artık rutin klinik uygulamalara girmiştir.

Moleküler hematoloji; genel kapsam olarak, tanısal süreçte uygulanan metotlardan, tedavinin değerlendirilmesi ve hasta takibine kadar pek çok alanda klinik uygulamalara girmiştir. Aslında moleküler hematoloji, temel laboratuvar bilimlerinin uygulamalı platforma taşınmasıdır. Bir klinisyen doktor için yeni bir ilaç hastası için yeni bir umut demektir. Bu umudun arkasında ise ciddi bir laboratuvar çalışması ve bazen 20 yıllık emek vardır. Bir tek hücreyle bile çalışmamızı sağlayan moleküler metodların varlığı bugün için pek çok ilacın gelişmesini sağlamıştır. Hücre kültürleri, sitotoksitesite çalışmaları, protein, RNA ve DNA izolasyonları ve sinyal ileti sisteminin tüm elemanlarının anlaşılması sayesinde bir ilaçla ilgili tüm çalışmalar (etki mekanizmasından yan etki profiline kadar) önce laboratuvar ortamında yapılabilmekte ve daha sonra klinik çalışma basamaklarına geçilmektedir. Bugün aynı anda pek çok kanser tipinde pek çok farklı ilacı test etmemize olanak veren moleküler metotlar mevcuttur. Dolayısıyla moleküler hematoloji de nereye gittiğimize bakmadan önce nereden geldiğimizi kısaca gözden geçirmemiz konunun anlaşılabilmesi için faydalı olacaktır. Bunu ise genel anlamda iki alt başlıkta yapmak mümkündür:

1. Tanısal süreçte moleküler hematolojide neler olmuştur ve neler olabilecektir.

2. Tedaviye katkı açısından moleküler hematoloji nerede durmaktadır ve neler sağlayabilecektir.

## Malin ve benin hematolojik hastalıkların tanısında moleküler hematolojinin rolü ve katkıları

Güncel pratiğimizde malign hematolojik hastalıklar daha büyük yer kaplasa da benign hematolojik hastalıklar da moleküler metodlardan nasibini almıştır. Örneğin Akdeniz Anemisi ya da talasemi sendromlarının varlığı çok uzun yıllardan beri bilinmektedir. Hatta yöremize özgü olduğu düşünülüp bu adı almıştır. Ancak bugün için dünyanın pek çok yöresinde değişik delesyon ve nokta mutasyonları neticesinde pek çok farklı talasemi tipi ortaya çıkmakta ve tanımlanmaktadır. Özellikle HPLC ve PCR gibi metodların geliştirilmesi ile artık genetik bozukluğun hangi kodonda olduğu dahi tanımlanabilmektedir. Diğer bir konu da hemofili genetiğidir. Önceleri hemofilinin homojen bir hastalık olduğu düşünülürken, hastaların klinik tablolarının farklılık gösterebildiğinin saptanmasından sonra laboratuvar çalışmaları hastalığın aslında çok da homojen olmadığını ve altta yatan genetik bozukluğa bağlı olarak hafiften ağıra kadar pek çok değişik klinik tablonun ortaya çıkabildiğini göstermişlerdir. Hatta bu genetik bozukluklar inhibitör gelişimini bile etkileyebilmektedir. Trombofil bu alanda çok büyük aşamalar kaydedilen diğer bir alandır. 1960'lı yıllara kadar herediter trombofili etyolojisinde proteini C, S ve AT eksiklikleri tanımlanabilmişken, son yıllarda etyolojinin önemli bir kısmını oluşturan faktör V Leiden mutasyonu, Protrombin gen mutasyonu, MTHFR gen mutasyonları ve homosisteinin rolü ile birlikte bunları nasıl trombofiliye yatkınlık yarattıkları tanımlanabilmiş ve açıklanmıştır. Hatta hastalığın homozigot ya da heterozigot olup olmasına göre risk sınıflamaları yapılmış ve tedaviyi yönlendirmek mümkün olmuştur.

Trombositler ile ilgili gelişmeler benign hematolojideki moleküler ilerlemeler için iyi bir örnektir. Trombositler ilk defa 1882 yılında Giulio Bizzozero tarafından tanımlanmıştır. Bu tanımlamada, kanda eritrositler ve lökositler dışında sabit parçacıkların varlığından şüphe edildiği bildirilmektedir. Uzun süre sonra, 1960'lı yıllarda, trombositlerin varlığı ispatlandıktan yıllar sonra, aspirinin klinik kullanıma girmesi ile bu konuda bir çığır açılmıştır. Bu aşamadan sonra, trombositlerin endotel ile olan etkileşimi ve ADP'nin keşfi ve trombosit fonksiyonlarındaki önemi açıklanmıştır. Hemen akabinde, 1960'lı yılların başında optik trombosit aggregometreler geliştirilmiş ve trombositlerin pıhtılaşmadaki rollerini inceleyen diğer moleküler metodlar bunları takip etmiştir. Bu gelişmelere paralel olarak pıhtılaşma yolağının trombosit dışında kalan elemanları da aydınlatılmış ve intrinsek-ekstrensek yol kavramları geliş-

tirilmiş ve son yıllara kadar kullanılmıştır. Bugün, dünya üzerinde klinikte hiçbir trombosit bozukluğu görmeden yıllarını laboratuvar ortamında trombositlere harcayan binlerce bilim adamı vardır. Laboratuarda yapılan bu çalışmalar, bize, tanı ve tedavi seçenekleri olarak yansımaktadır. Trombosit fonksiyonlarını değerlendirmek için kullandığımız modern aggregometreler ve tromboelostagram gibi cihazlar yine bu laboratuvar çalışmaları neticesinde aydınlanan trombosit ve pıhtılaşma sisteminin özelliklerine dayanmaktadır. Ayrıca "heparin induced thrombocytopenia" tanısında gerekli olan heparin/PF4 kompleksine karşı gelişmiş antikorların tanımlanması da yine bu laboratuvar tekniklerindeki gelişmelerin bir sonucudur.

Sitogenetik bilimindeki gelişmeler hematolojide tanı ve tedavi süreçlerine en ok katkıda bulunan birkaç moleküler tıp ilerlemesinden biridir. *Sitogenetik*; kromozomların yapı, fonksiyon ve gelişimini inceleyen bilim dalıdır. 1882'de ilk defa Flemming insan kromozomlarının çizimini yayınlamış, 1888'de kromozom terimi kullanılmış ve birkaç yıl sonra kromozomlar hereditenin kaynağı olarak duyurulmuştur. 1920'li yıllara kadar insan kromozomlarının sayısı 46, 47 ve bazen de 48 olarak bildirilmiştir. Bir laboratuvar kazası neticesinde (pek çok gelişmenin arkasında bu kazalar vardır) isotonik yerine normal su (hipotpnik) ortamda tutulan hücrelerin daha iyi kromozom yayılımı verdiğinin keşfinde sonra 1950'li yıllarda insan genomunun gerçek kromozom sayısı saptanabilmiştir. 1955'de kromozom sayılarının yanı sıra sentromer yerleşimine göre kromozomların gruplanması da başarılmış ve bu sitogenetik biliminde bir çığır açmıştır. Bu sayede kromozom eksiklikleri ve fazlalıkları tanımlanabilmiştir. Bugün çok iyi tanıdığımız t(9:22) translokasyonu neticesinde açığa çıkan Philadelphia kromozomu 1960'da tanımlanmış ve bunun basit bir delesyon olmadığını, reziprokal translokasyon olduğunun gösterilmesi ise 13 yıl almıştır. Bundan sonraki 13 yılda da bu genin kronik myelositer lösemiden bizzat sorumlu olduğu keşfedilmiştir. 1966'da ise amniosentezin babası sayılabilecek amniotik sıvı incelemeleri ve prenatal tanı olasılığı gündeme gelmiştir. 1970'lerin başına kadara kromozom çalışmaları solid boyalı preparatlar üzerinde gerçekleşmiştir. Casperson 1968'de kromozomların bant patternlerini göstermiştir. Bu metod, kromozomların quinacrine ile boyanıp floresan mikroskopta incelendiği zaman bantlar halinde görülmesi esasına dayanmaktadır. Ancak boyanın çok uzun süre istikrarlı kalmaması yeni tekniklerin arayışını getirmiş ve bugün çoğunlukla kullanılan G-bantlama tekniği bulunmuştur. Bu gelişme sayesinde aile taramaları mümkün hale gelmiştir. Ancak incelenen band sayısı genom başına 500 olduğundan bu metodun daha da geliş-

tilmesi ile yüksek rezolüsyonlu bantlama ortaya çıkmıştır. Bu teknik sayesinde başta Prader Willi sendromu olmak üzere pek çok genetik hastalığın tanımlanması mümkün olmuştur. Ancak bu sendromların klinik özelliklerini taşıyan pek çok sendromda bantlama yöntemi ile herhangi bir patolojinin saptanamaması yeni arayışları beraberinde getirmiştir. Floresan in situ hibridizasyon yani FİSH'in uygulamaya girmesiyle meloküler sitogenetik doğmuştur. FİSH için binlerce prob ve floresan boya geliştirilmiş ve kromozomların her birini ayrı renk olarak görüntülemek dahi mümkün olmuştur. Human Genome Project (HUGO) tamamlandıktan sonra neredeyse tüm genom için prob geliştirmek mümkün olmuştur. Ancak bir süre sonra bu tekniğin bile bazı submikroskopik anomalileri gözden kaçırdığı dikkati çekmiştir. Bunun üzerine, hibridizasyon yerine, tanımlanmış ve bilinen genlerin cam slaytlara yapılandırıldığı ve çalışılmak istenen DNA örneği ve floresan ya da özel boya ile karşılaştırıldıktan sonra çoklu yıkama basamaklarının kullanıldığı cooperative genomik hibridizasyon (CGH) ve arkasından mikroarray tekniği geliştirilmiştir. Bugün için aynı anda bu metodla 32000 farklı genin taranması mümkündür. Son zamanlardaki bu gelişmelerle sitogenetik bilimi tamamen moleküler tekniklere kaymış gibi gözükse de, mikroskopik inceleme ve bantlama hala bütün genomun genel değerlendirmesi için önemli bir tekniktir.

Bunlara paralel olarak antikor teknolojisindeki gelişmeler hem tanısal hem de tedavisel süreçlerde ciddi yol alınmasını sağlamıştır. Monoklonal antikorların kullanıma girmesi ve hücrelerin üzerindeki özel belirteçlerin saptanması ile flow sitometrik olarak lösemilerin ayırıcı tanısından immun yetmezliklerin saptanmasına kadar pek çok sahada ciddi atılımlar sağlanmıştır. Hatta ikili veya çoklu antikor kullanımı ve "gating" sayesinde farklılaşmanın boyutunu dahi saptamak mümkün olmuştur. Bu metod sayesinde lösemi başta olmak üzere pek çok hastalığın tanımlanması değişmiştir. Antikor teknolojisinin immunohistoimyasal uygulamaları sayesinde daha önceden sadece birkaç boya ile yapılabilen tanımlamalar nükleusu dahi boyayabilen antikorların kullanımı ile daha detaylı hale gelmiştir. Bunun en somut örneği de lenfoma sınıflamasının WHO tarafından değiştirilmesidir. Daha önceden düşük dereceli, yüksek dereceli gibi tanımlamalar kullanılırken bugün dokuda saptanan özel yüzey belirteçlerine dayanan CD20 pozitif, siklin D1 pozitif gibi tanımlar vermek mümkün hale gelmiştir. Bu yüzey belirteçleri tanısal olduğu kadar tedavinin planlanması ve prognozun belirlenmesinde de önemlidir. Örneğin bir proliferasyon belirteçi olan Ki67 skorunun yüksek olması, hastalığın histolojik tipi düşük/orta dere-

celi olsa bile daha yoğun tedavi edilmesine neden olmaktadır. Dokulara ve hastalıklara özel yüzey belirteçlerinin tanımlanması ile eskiden konulan bazı tanıların bile yanlış olduğu ortaya çıkmaktadır. Ancak bu durumda bile bazen tam ayırıcı tanı yapılamayabilmektedir. Bu durumda devreye bir ileri teknik olarak PCR ile yapılan gene yeniden düzenlenmelerinin araştırılması ve monoklonalite testleri girmektedir.

PCR (*polymerase chain reaction*=polimeraz zincir reaksiyonu) in keşfi, moleküler tıp tarihindeki en önemli gelişmelerden birisidir. PCR aslında temel mantık olarak zaten varolan bir enzimi, yani polimeraz enzimini kullanarak hedef DNA'nın üç basamaklı bir zincir reaksiyonu ile çoğaltılması esasına dayanır. Ancak bu mantıklı ve basit tekniğin keşfi o kadar kolay olmamıştır ve bunu keşfeden Kary B. Mullis'e 1993 Nobel ödülü kazandırmıştır. Bu teknik aslında ilk olarak 1983 yılında, E. Coli'den izole edilen DNA Polimeraz I kullanılarak denenmiştir. Ancak bu enzimin termolabil oluşu ve tekniğin manuel uygulanması nedeniyle uzun süre zor bir metod olarak değerlendirilmiştir. Ancak doğa bu konuda da yardıma koşmuş ve *Thermus aquaticus* dan elde edilen DNA polimeraz (*Taq DNA polymerase*) in kullanıma girmesiyle her siklуста taze enzim ekleme gereği ortadan kalkmıştır. 1992 yılında ilk termocycler "Mr. Cycle" adıyla kullanıma girmiştir. Bugün bu teknik çok gelişmiş durumdadır ve halen de bu gelişmeler devam etmektedir.

PCR için çoğaltmayı düşündüğünüz be gen ya da DNA (template) segmenti gereklidir. Bunun yanısıra bol miktarda deoxynükleotid triphosphate, sense ve antisense primerler gereklidir. Ortama primerler ve örnek DNA enzim ile birlikte eklenince ve gerekli ısı sağlanınca hedef gen çoğalmaktadır. Isı arttırılınca çift zincir DNA açılmakta ve yeni templatler ortaya çıkmaktadır. Tekrar ısı düşürülünce bu tek sarmal DNA lar template olarak kullanılmakta ve yeni çift zincir DNA lar sentezlenmektedir. Bu siklus 30-40 defa tekrarlanabilmekte ve sonuçta 2<sup>n</sup> kadar DNA elde edilmektedir (n=siklus sayısı). Bunun sonucunda elde edilen ürünün quantifiye edilmesi yeterlidir. RT-PCR ise mantık olarak aynı esasları kullanmakla birlikte template DNA yerine RNA kullanılmakta ve reaksiyonlar sırasında cDNA elde edilmektedir. Bir sonraki basamakta PCR teknolojisine floresan işaretleyiciler dahil edilmiş ve housekeeping gen ile karşılaştırılarak hedef gen kopya sayısını rakamsal olarak vermek mümkün olmuştur. Bu tekniğin önemli kılın nokta ise elinizde hedef genin tanımı varsa, bu geni bir genom içinde arayıp bulmanızı sağlamasıdır. Bunun en canlı örneği kromozom rearrangementleri sonucunda ortaya çıkan nükleotid sekans değişikliklerinin saptanmasından HIV tanısına kadar ve hatta kriminal polis incelemeleri-

ne kadar girmiş olmasıdır. Daha da güzel olan nokta ise, bunu mitokondrial DNA da bile yapabilmemizdir. Hatta fosil örneklerinden elde edilen DNA'nın çalışılması ve çoğaltılması dahi mümkündür ve Jurassic Park filmi bunu vizyona taşımıştır. Ancak unutulmaması gereken önemli bir nokta, mükemmel bir teknik olmasına rağmen kontaminasyon riskinin her zaman var olduğudur ve bu nedenle mutlak suretle negatif kontrolle çalışmak gerektirir.

Moleküler tıp ve dolayısıyla moleküler hematolojinin tanısal düzeyde geldiği nokta için daha pek çok teknikten ve tanısal metoddan bahsetmek mümkündür. Bunlardan zamanı geldikçe konuşma esnasında bahsedilecektir.

### **Malin ve benin hematolojik hastalıkların tedavisinde moleküler hematolojinin rolü ve katkıları**

Tedavi konusunda en büyük payı malign hematolojik hastalıklar almaktadır. Gen tedavisi gibi zahmetli ve henüz deneysel aşamada olan bazı teknikler hemofili ve immün yetmezlikler gibi bazı hastalıkların tedavisinde denenmiş olsa da henüz başarılı olduğunu söylemek mümkün değildir. Gen tedavisinin uygulanmaya çalışıldığı diğer bir konu da kemik iliği kökenli stem hücrelere ve stromal hücrelere ilaç direnç genlerinin konulması ve bu sayede daha yüksek dozlarda kemoterapi uygulanmasının sağlanmasıdır. HUGO projesi tamalnadığı zaman insanlık için genetik kökenli hastalık probleminin bittiğine ve bu yüzyılın gen tedavisinin yüzyılı olacağına inanılmış ancak işler beklendiği şekilde gelişmemiş ve maalesef çoğu uygulama daha laboratuvar aşamasında kalmıştır. ABD'de yapılan bir toplantıda NCI/NIH saptamasına göre gen tedavisiyle uğraşan 10000 bilim adamında 10 yıl sonra tahminen 10 tanesi halen bu alanda çalışıyor olacaktır. Bu bile gen tedavisinin ne kadar zorlu bir süreç olduğunu anlamak için yeterlidir. Ancak bu gen tedavisinin umutsuz olduğu anlamına gelmemelidir. Moleküler tekniklerdeki ilerlemeler bu konuda da yeni sayfalar açacaktır.

Yukarıda bahsettiğimiz akım sitometrisi ve PCR gibi teknikler tanısal süreç dışında tedavi basamaklarını da ciddi anlamda değiştirmiştir. Kemik iliği nakli insanlığın organ nakillerini kapsayan hayallerinin büyük bir parçasıdır ve Frankenstein filminden çok önce de vardır. Uzun zaman hayal olarak kalan bu konudaki atılım HLA tiplendirmesi ile sağlanmıştır. HLA altbirimlerinin detaylı tanımlanması akım sitometrisinin, serolojik tekniklerin yanısıra PCR gibi ileri tekniklerin devreye girmesi ile başarılı bir ilik nakli için gerekli şartlar sağlanmış oldu. Bu arada kök hücre mobilizasyonu kavramı gelişmiş ve G-CSF ve GM-CSF gibi faktörler tanımlanmış kısa süre içinde periferik kök hücre

toplama teknikleri gelişmiştir. Son 30 yıl içinde kök hücre nakli uygulanan hastalıkların başında KML gelmesine rağmen yine moleküler hematolojideki gelişmelerin bir ürünü olan imatinib mezilat gibi bir ilacın klinik kullanıma girmesi ile artık KML için kök hücre nakli endikasyonları yeniden tanımlanır hale gelmiştir.

Moleküler hematolojinin tedavi alanına en büyük katkısı “*hedefe yönelik tedaviler*” olmuştur. KML etyopatogenezinde Ph kromozomunun rolü tanımlanmalı uzun yıllar olmuştur. Tedaviler hep Ph kromozomu taşıyan malign klonu yok etmeye yönelik olmuş ki bu ancak kök hücre nakliyle mümkündür. Ancak “*nasıl oluyor da Ph kromozomu KML hastalığına yol açıyor*” ya da “*Ph kromozomu hücreye ne gibi bir mesaj veriyor da KML ortaya çıkıyor*” gibi sorular ortaya çıkan translokasyonun hücre içinde tirozin kinaz aktivitesini arttırdığının ve bunun da proliferasyonu tetiklediğinin bulunmasını sağlamıştır. Bu keşif, moleküler hematoloji alanında sinyal ileti sistemlerine yönelik araştırmaların önünü açmıştır. Mesaj aslında oldukça basittir: *sinyalin kaynağını yok edemiyorsan sinyalin hedefe ulaşmasını engellemek*. İmatinib mezilat bu konuda çığır açmış olmakla birlikte, bugün için yüzlerce hastalık için binlerce molekül araştırılmaktadır. Myelom tedavisinde kullanıma giren talidomid ve türevleri, ve bortezomib de gerek hücre içi gerek hücre dışı sinyal ileti sistemlerini hedef almaktadır.

Antikor teknolojisindeki gelişmelerin tanısal sürece katkılarından bahsetmiştik. Ancak tedavi konusundaki katkıları muhtemelen daha fazladır. Tümörlerin, normal dokuda olmayan ve kendilerine özgü bazı yüzey belirteçleri taşıdığına saptanması önceleri tanısal açıdan büyük önem arz etmiş, ancak bu belirteçlerin tümör hücrelerinin yaşamları için önemli olduğunun keşfi bunlara yönelik tedavi de beraberinde getirmiştir. Üstelik bunlar tümör dokusuna özgül olduğu için normal dokuya da zarar vermemektedir. Bu konsept antikor aracılı hedefe yönelik tedavileri geliştirmiştir. Bugün için lenfoma tedavisinde anti-CD20, anti-CD52 antikorlar, lösemi tedavisinde anti-CD33 antikor kullanıma girmiş ve bunlara benzer pek çok antikor da araştırma aşamasındadır. Hatta bu antikorlara kimyasal toksin veya radyoizotop eklenmesiyle tedavi etkinliğini arttırmak mümkün olmuştur. Benzer şekilde antikorlar *in vivo* veya *in vitro purging* amacıyla kök hücre naklinde de başarıyla kullanılmaktadır.

Bunlara benzer şekilde moleküler hematolojinin tedaviye katkısının olduğu ve burada sayamadığımız pek çok hastalık ve teknik de mevcuttur.



## Moleküler hematoloji nereye gitmektedir ve bizi nereye götürecektir ?

Son 30 yıl içinde moleküler hematolojinin kaydettiği yol gözönüne alındığı zaman bundan sonraki gelişmelerin daha hızlı olacağını tahmin etmek zor değildir. PCR artık tamamen otomotize edilmiştir ve bugün nerdeyse her laboratuvarında bulunmaktadır. Son zamanlarda “sequence-tagged site (STS)”nükleotid tanımlama tekniğinin tanımlanması ile PCR neredeyse elektronik olarak yapılabilecek hale gelmektedir. Ancak bunun başarılı olabilmesi için hedef STS'nin genom içinde bir kez geçmesi gereklidir. Ancak sonuçta kan örneğinin alınıp hiç bir işleme tabi tutulmadan sonuç almak mümkün olacaktır. Kromozomlar Mb olarak tanımlanmış ve elektronik ortama taşınmaya başlamıştır. İnsan kromozomları 3182 Mb yer işgal etmektedir ve bunun %2.5 inin sekanslaması tamamlanmıştır ve PubMed aracılığıyla ulaşmak mümkündür. Bu işlem tamamlandığı zaman ortak kullanıma açık olacak ve isteyen herkes aradığı diziye genom içinde ulaşabilecektir.

Mikroarray teknolojisi büyük gelişme içerisindedir. Otomatik makinalarda 22000den fazla genin ekspresyonund artış ya da azalma olduğunu aynı anda incelemek mümkündür. Bunları tek tek incelemek zaman alacağı için sorting ve filtering teknolojileri geliştirilmiştir. Şu aşamada klinik kullanıma çok girmiş değilse de ucuzladıkça ve yaygınlaştıkça bu da mümkün olacaktır. Daha şimdiden diffüz büyük B hücreli lenfomada iki ayrı gen ekspresyon patterni tanımlanmış ve prognoza doğrudan etki ettiği gösterilmiştir.

Antikor teknolojisindeki gelişmeler hızlanarak devam edecektir. Hematolojik malign hücreler dolaşımında olduğu ya da kan akımı ile yakın ilişki olduğu için uygulama daha kolay olmaktadır. Ancak solid tümörler için de monoklonal antikor esaslı tedaviler yavaş yavaş klasik kemoterapinin yerini alacaktır.

Organ ve doku mühendisliği de bu gelişmelerden payını alacaktır. Bugün için henüz fonksiyonel bir doku yada organı biyolojik ortamda yapmak mümkün olmamıştır. Ancak mezenkimal kök hücre çalışmaları ivme kazanarak devam edecektir. Lab ortamında nöron benzeri özellikler ve yüzey belirteçleri taşıyan hücrelerin geliştirilebildiği daha şimdiden yayınlanmıştır.

Proteomik teknolojisi henüz rutin uygulamalarda kendine yer bulamamış olsa da lab çalışmalarında yoğun olarak kullanılabilir bir tekniktir.

Nanoteknoloji hızla gelişmektedir. Nanopartikül üretimi ile uğraşan bugün için 30'dan fazla firma mevcuttur. Başarılı olunduğu takdirde en küçük

hedeflere dahi ilaçları ulaştırmak, hasarlı doku ve hücreleri vücut ortamında temizlemek, kanserli bölgelere yavaş ilaç salımlı implantları yerleştirmek, vücutta dolaşan nanopartiküller sayesinde patojenleri tanımlamak ve anında elimine etmek mümkün olacaktır.

“Artificial intelligence”(AI) ya da yapay zeka önceleri nöronal sistemler için geliştirilmiş olmakla birlikte yavaş yavaş hematoloji alanında da kendine yer bulmaya başlamıştır. Bugün için talasemileri tanımlayabilen ve ayırtılabilecek programlar ve bunların kullandığı otomatik analizörler geliştirilmiştir. Genetik taramalar ve genetik profil çıkarmaya yönelik AI çalışmaları devam etmektedir.

Moleküler hematolojideki gelişmelerin bizi nereye götüreceğini tam olarak kestirmek mümkün olmasa da hızlı ve yararlı bir sürecin içinde olduğumuz kesindir. Ancak henüz buzdağının görünen kısmıyla uğraştığımız ve suyun altında ne olduğunu bilmediğimiz de unutulmamalıdır.

## Kaynaklar

1. Zini G. Artificial intelligence in hematology. *Hematology* 2005;10(5):393-400
2. Schuler GD. Electronic PCR:bridging the gap between genome mapping and genome sequencing. *TIB-TECH Focus* 1998;16:456-459
3. Caligaris-Cappio F. How immunology is reshaping clinical disciplines: the example of haematology. *Lancet* 2001;358:49-55
4. De Gaetano G. Historical overview of the role of platelets in hemostasis and thrombosis. *Haematologica* 2001;86(4):349-356
5. Smeets DFCM. Historical perspective of human cytogenetics; from microscope to microarray. *Clinical Biochemistry* 2004;37:439-446
6. de Jong H. Visualizing DNA domains and sequences by microscopy: a fifty-year history of molecular cytogenetics. *Genome* 2003;46:943-946
7. Rees-Unwin KS, Morgan GJ, Davies FE. Proteomics and haematologist. *Clin Lab Haem* 2004;26:77-86
8. Garcia JGN, Ma SF. Polymerase chain reaction: A landmark in the history of gene technology. *Crit Care Med* 2005;33:S429-S432
9. Dunphy CH. Applications of flow cytometry and immunohistochemistry to diagnostic hematopathology. *Arch Pathol Lab Med* 2004;128:1004-1022
10. Emerich DF, Thanos CG. The pinpoint promise of nanoparticle-based drug delivery and molecular diagnosis. *Biomolecular Engineering* 2006;23:71-184.