

EYLÜL 2021

Yüksek Lisans - Biyoloji

NACİYE İREM YIKRIK

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KRONİK LENFOİD LÖSEMI HASTALARINDA MYD88 GEN
POLİMORFİZMİ

BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

NACİYE İREM YIKRIK
EYLÜL 2021

**KRONİK LENFOİD LÖSEMI HASTALARINDA MYD88 GEN
POLİMORFİZMİ**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

Yüksek Lisans

Danışman

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

İkinci Danışman (varsa)

Doç. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN

Naciye İrem YİKRİK

EYLÜL 2021



©2021[Naciye İrem YİKRİK]

KRONİK LENFOİD LÖSEMİ HASTALARINDA MYD88 GEN POLİMORFİZMİ

başlıklı bu çalışma, **Naciye İrem YİKRİK** tarafından hazırlanmış ve yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü**'nde Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet İshak YÜCE
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

Prof. Dr. Canan CAN
Biyoloji Bölüm Başkanı

.....

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN
Danışman, Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN
İkinci Danışman, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu
Gaziantep Üniversitesi

.....

Mezuniyet Tarihi: 17 Eylül 2021

Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN
Danışman, Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ
Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Dr. Öğrt. Üyesi Mehmet GÖL
Tıp Fakültesi
Gaziantep İslam Bilim ve Teknoloji Üniversitesi

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Naciye İrem YİKRİK

ABSTRACT

MYD88 GENE POLYMORPHISMS IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOID LEUKEMIA

YİKRİK, Naciye İrem

M.Sc. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Co-Supervisor: Doç. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN

September 2021

58 pages

Leukemia is a type of cancer that manifests itself with the more than usual proliferation of blood cells, especially white blood cells, and affects the blood production system in the body. Leukemias are classified as acute or chronic and according to the spread and developmental characteristics of the tumor. In chronic lymphocyte leukemia (CLL), cancer cells are found in the bone marrow, blood, and lymph nodes. Therefore, in this study, the effects of polymorphisms occurring in MYD88 gene of CLL patients has been researched. For this purpose, 100 patients diagnosed with CLL and 70 healthy individuals without a history of cancer were included in the study as a control group. DNA was isolated from CLL patients and control groups. Polymorphisms in MYD88 (L265p T / C) promoter regions were studied by RT-PCR. Genotype and allele frequencies were calculated directly. The statistical significance of genotypic distributions between CLL patients and control groups was evaluated by Z Ratios test and Fisher's Exact test. For MYD88 L265p T / C region in 100 CLL patients, 95 wild type TT, 3 TC and 5 mutant type CC genotypes were detected. There was no statistically significant difference between CLL patients and control groups in MYD88 L265p T / C region ($p > 0.05$). According to the allele frequencies of the region, it was determined as 0.965 and 0.0065 for T and C, respectively. According to Fisher's Exact results, it was calculated as 0.078 for TT, 0.078 for TC and 0.269 for Mutant, respectively. MYD88 genotype frequencies of the patients included in the study were not statistically correlated with CLL patients. Therefore, if the research is done again; It should be done by adding more samples to the numbers of CLL patients.

Key Words: CLL, MYD88, Polymorphism, Real-Time PCR

ÖZET

KRONİK LENFOİD LÖSEMI HASTALARINDA MYD88 GEN POLİMORFİZMİ

YİKRİK, Naciye İrem

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

İkinci Danışman: Doç. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN

Eylül 2021

58 Sayfa

Lösemi, kan hücrelerinin özellikle de akyuvarların normalin üzerinde çoğalması ile kendini gösteren ve vücuttaki kan üretimini etkileyen bir kanser türüdür. Lösemiler akut veya kronik olarak ve tümörün yayılım ve gelişim özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Kronik lenfosit lösemide (KLL), kanser hücreleri kemik iliğinde, kanda ve lenf nodlarında bulunurlar. Bu nedenle bu çalışmada KLL hastalarının MYD88 geninde meydana gelen polimorfizmlerin etkileri araştırıldı. Bu amaçla KLL tanısı almış 100 hasta ve kanser öyküsü bulunmayan 70 sağlıklı birey kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. KLL hastalarından ve kontrol gruplarından DNA izole edildi. MYD88 (L265p T/C) promotör bölgelerindeki polimorfizmler RT-PCR ile çalışıldı. Genotip ve allel frekansları direkt olarak hesaplandı. KLL hastaları ve kontrol grupları arasındaki genotipik dağılımların istatistiksel önemi Z Oranlar testi ve Fisher's Exact test ile değerlendirildi. 100 KLL hastasında MYD88 L265p T/C bölgesi için, 95 yabancı tip TT, 3 TC ve 5 mutant tip CC genotipi tespit edildi. MYD88 L265p T/C bölgesinde KLL hastaları ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0.05$). Bölgenin alel frekanslarına göre T ve C için sırasıyla 0,965 ve 0,0065 olarak belirlenmiştir. Fisher's Exact sonuçlarına göre sırasıyla TT için %0,078, TC için %0,078 ve Mutant için %0,269 olarak hesaplanmıştır. Araştırmaya dahil olan hastaların MYD88 genotip frekansları istatistiksel olarak KLL hastaları ile ilişki görünmemektedir. Bu nedenle araştırmanın yeniden yapılması durumunda KLL hastalarının sayılarına daha fazla örneklem eklenerek yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: KLL, MYD88, Polimorfizm, Real-Time PCR



‘Canım ailem ve değerli eşime..’

TEŞEKKÜR

Bu proje Gaziantep Üniversitesi BAP Yönetim Birimince (FEF.YLT.20.08 no'lu proje) desteklenmiştir.

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocam, sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a ve Doç. Dr. Sibel BAYIL OĞUZKAN'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Örneklerin toplanmasında, preparasyonunda ve teşhislerinde desteklerini benden esirgemeyen değerli arkadaşım Mustafa KÖROĞLU'na, akademik hayatım boyunca maddi, manevi yanımda olan sevgili eşim Mehmet YİKRİK, çalışmaların boyunca desteklerini eksik etmeyen sevgili çalışma arkadaşlarım Uğur YAVUZ ve Uğur TÜREMEN'e çok teşekkür ederim.

Çalışma süresince beni hep destekleyen ve güvenen çok sevdiğim biricik babam ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	v
ÖZET	vi
İTHAF	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
BÖLÜM 1 GİRİŞ ve AMAÇ	1
BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kanser.....	3
2.2 Lösemi	3
2.3 Akut Myeloid Lösemi (AML).....	5
2.4 Kronik Lenfoid Lösemi (KLL).....	6
2.5 Lenfoma (Lenf Kanseri)	7
2.5.1 Hodgkin lenfoma (HL)	8
2.5.2 Hodgkin dışı lenfoma (HDL).....	8
2.6 KLL Epidemiyolojisi.....	11
2.7 2.9. KLL ve Genetik.....	16
2.8 MYD88 (Myeloid Differentiation Primary Response 88)	19
2.9 Toll Like Receptors	24
BÖLÜM 3 MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1 Materyal.....	26
3.1.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler.....	26
3.1.2 Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler	27

3.2 Yöntem	27
3.2.1 Kan Örneklerinin Eldesi	27
3.2.2 Kontrol Grubu ve Hasta Grubu DNA İzolasyonu.....	28
3.2.3 Real Time Online PCR (RT-PCR).....	29
3.2.4 Real Time-PCR Reaksiyon Ortamının Hazırlanması	29
BÖLÜM 4 BULGULAR.....	30
4.1 L365p T/C Real Time PCR Analiz Sonuçları	34
BÖLÜM 5 TARTIŞMA VE SONUÇ	36
BÖLÜM 6 KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ.....	58

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1 KLL Tanı Kriterleri.....	10
Tablo 2.2 KLL Rai Evreleme Sistemi	15
Tablo 2.3 KLL Binet Evreleme Sistemi	15
Tablo 2.4 KLL de Prognoz Parametreleri	17
Tablo 2.5 Sitogenetik Anomaliler	19
Tablo 4.1 Hasta ve sağlık bireylere göre cinsiyet ve yaş dağılımı	30
Tablo 4.2 TT Wild Type (Sağlıklı) İstatiksel Analiz Sonuçları	33
Tablo 4.3 CC Mutant İstatiksel Analiz Sonuçları	34
Tablo 4.4 TC Heterozigot İstatiksel Analiz Sonuçları.....	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Hematopoetik farklılaşma. Hematopoetik kök hücreler, lenfoid öncül, myeloid öncül ve olgun kan hücreleri (Rosmarin vd., 2005).....	4
Şekil 2.2 KLL hastasına ait Karyotip Analizi (Erkek birey (46,XY)). (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarı). .	13
Şekil 2.3 FISH tekniği A) p53 geninin normal olduğu bir orneğe ait FISH görüntüsü. B) p53 geninde delesyon bulunan bir orneğe ait FISH görüntüsü. (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarı)	13
Şekil 2.4 TLR / MYD88 mutasyonlarına göre hastaların yaş dağılımı ve sonuçları	25
Şekil 2.5 TLR Sinyal Yolağı (Toll-like Receptors (TLRs) (Toll benzeri reseptör - Vikipedi, n.d.)	25
Şekil 4.1 Gruplardaki Kişi Sayısı	31
Şekil 4.2 KLL Hastalarının Yaş Dağılımlarına İlişkin Histogram Grafiği.....	31
Şekil 4.3 Sağlıklı Bireylerin Yaş Dağılımlarına İlişkin Histogram Grafiği.....	32
Şekil 4.4 Homozigot-Heterezigot Analizi (Wild Type ve mutant bireylerde aynı sıcaklıkta pik vermiştir. Bu sıcaklık mutant ise homozigot mutant değil ise sağlıklı birey olduğunu göstermektedir.).....	32
Şekil 4.5 Homozigot-Heterezigot Analizinin parametreleri (Wild Type ve mutant bireylerin oluşu heterezigotluğun olduğunu göstermektedir.Erken çıkan pik Wild Type diğeri ise mutant bireye aittir.)	33
Şekil 4.6 Wild Type-Mutant Analizinin parametreleri (Erime eğrisi analizlerinde mutant ve wild type allelleri mutant bazdan dolayı farklı eğrisi sıcaklıkları verdiği gösterilmiştir. Mutant baz daha yüksek ısıda erime eğrisi analizi vermektedir.).....	33

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

KLL	Kronik Lenfositik Lösemi
KML	Kronik Miyeloid Lösemi
AML	Akut Miyeloid Lösemi
ALL	Akut Lenfoblastik Lösemi
del	Delesyon
DNA	Deoksiribonukleik Asit
FISH	Floresan in situ hibridizasyon
Lg	İmmunglobulin
MYD88	Miyeloid farklılaşma primer cevap 88 (Myeloid differentiation primary response 88)
Mm³	Milimetre küp
NGS	Yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing)
P	Kromozomun kısa kolu
Q	Kromozomun uzun kolu
RT-PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time Polymerase Chain Reaction)
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
A/D	Analog/Dijital
B-SPM	Bilineer Statik Parametrik Model
CHCl₃	Kloroform
D/A	Dijital/Analog
EtOAc	Etil asetat
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
MeOH	Metanol
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
Ph	Fenil
WGS	Tam genom dizileme

WES	Tüm genom dizileme
DLBCL	Diffüz büyük B hücreli lenfoma
TIR	Toll-IL1 benzeri reseptör
BCR	BCR-ABL kanser geni
WM	Waldenström makroglobulinemisi
OS	İşletim Sistemi



BÖLÜM 1

GİRİŞ ve AMAÇ

Lösemi, kan hücrelerinin özellikle de akyuvarların normalin üzerinde çoğalması ile kendini gösteren ve vücuttaki kan üretim sistemini etkileyen bir kanser türüdür. Lösemiler akut veya kronik olarak; tümörün yayılım ve gelişim özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Kronik lenfosit lösemide (KLL), kanser hücreleri kemik iliğinde, kanda ve lenf nodlarında bulunurlar (Montserrat ve Moreno, 2008).

Sigara, beslenme bozuklukları, hormonlu gıdalar, fiziksel hareketsizlik ve üreme değişiklikleri gibi sorunlar toplumsa kanser riskini arttırmaktadır. Bu dış faktörler ve gen yapısında meydana gelen değişikliklerin etkisiyle, DNA’da meydana gelen bir değişikliğin mRNA veya protein ürününü değiştirmesi çeşitli hastalıklara sebep olmuştur. İnsan genomunda mutasyonlar haricinde genel popülasyonda %1’den daha sık görülen DNA dizisindeki değişiklikleri kapsayan tek nükleotit polimorfizmleri (SNP) kanser oluşumunda önemli rol oynamaktadırlar (Ekmekçi vd., 2008). SNP’yi farklı iki bireyin DNA’sı arasında aynı bölgede bulunan allel arasındaki nükleotid farklılığını gösteren değişimler olarak tanımlayabiliriz. Bugüne kadar kanser ile ilişkisi gösterilmiş çok sayıda SNP vardır. SNP’ler kanser oluşumunda önemli ölçüde bir etkidir denebilmektedir. Dolayısıyla SNP’ler hastalığın prognozu, tedavi başarısı, ilaç direnci veya viral bir enfeksiyona karşı direnç gibi klinik durumları da etkileyebilmektedir (Z. Wang ve Moulton, 2001).

Hücre çoğalması, farklılaşması, apoptoz mekanizmaları ve immün sistem regülasyonunda rol oynayan sitokinlerin yapısında meydana gelen polimorfizmler de KLL’nin ortaya çıkmasındaki bir diğer önemli genetik faktördür (Caporaso, Goldin, Plass, Calin, Marti, Bauer, Raveche, McMaster, Ng, Landgren, vd., 2007). MYD88 varyasyonları KLL hastalarının %2-5’ini etkilemektedir. Bağışıklık sisteminden salgılanan sitokinlerin önemli bir kısmı interlökinlerdir. Kanser oluşumunda interlökin 10 polimorfizminin rolü dikkat çekicidir. Bazı verilere göre 1082 A/G promotor bölgesindeki polimorfizmler genin ekspresyonunda

değişikliğesebep olur ve non-Hodgkin's lenfoma da dahil bazı malign tümörlerin gelişimini sağlar (Cunningham vd., 2003; vd., 2010).

MYD88 varyasyonları Nuclear factor kappa B (NF-κB) yolağının aktivasyonuna neden olur ve böylece varyasyonlu KLL hücrelerinin çoğalmasını ve hayatta kalmasına olanak sağlar (Alsagaby vd., 2016).

Bir çalışmada *MYD88* gen varyasyonu bulunan KLL hastalarının daha genç bir popülasyonda görüldüğü, genel sağ kalımın varyasyon bulunanlara oranla daha iyi olduğu belirtilmiştir (Martínez-Trillos vd., 2014). Başka bir çalışmada *MYD88* gen varyasyonu bulunan hastaların varyasyon bulunmayan ve daha ileri klinik evrede bulunan hastalara göre daha genç yaşta tanı konulmasına rağmen bu iki grup arasında hastalığın ilerlemesi ve sağ kalım oranları bakımından herhangi bir fark gözlenmediği ifade edilmektedir (Puente vd., 2011). KLL hasta grupları için Martinez-Trillos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *MYD88* genlerinde ki varyasyonların prognostik öneme sahip olduğu belirtilirken (Martínez-Trillos vd., 2014; Mitsui vd., 2016) ,Xia ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış olduğu çalışmada bu varyasyonların hastalığın prognozu ve genel sağ kalım süresi bakımından varyasyon bulunmayan olgulara oranla önemli bir fark gözlenmediği ifade edilmektedir (Dai vd., 2014).

Literatür taraması göz önüne alınarak planlanan çalışmamız da örneklem sayımızı artırarak KLL'deki etki mekanizması bulmayı amaçladık fakat 2018-2020 yılları arasında Sanko Üniversitesi Araştırma Hastanesine başvuran KLL hasta sayısında süre yetersizliği sebebiyle istediğimiz sayıya erişemedik. Bu nedenle çalışmamıza varolan hasta kanlarımızda, *MYD88* genlerindeki varyasyonların KLL hastalığının prognozu ve genel sağ kalım süresi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

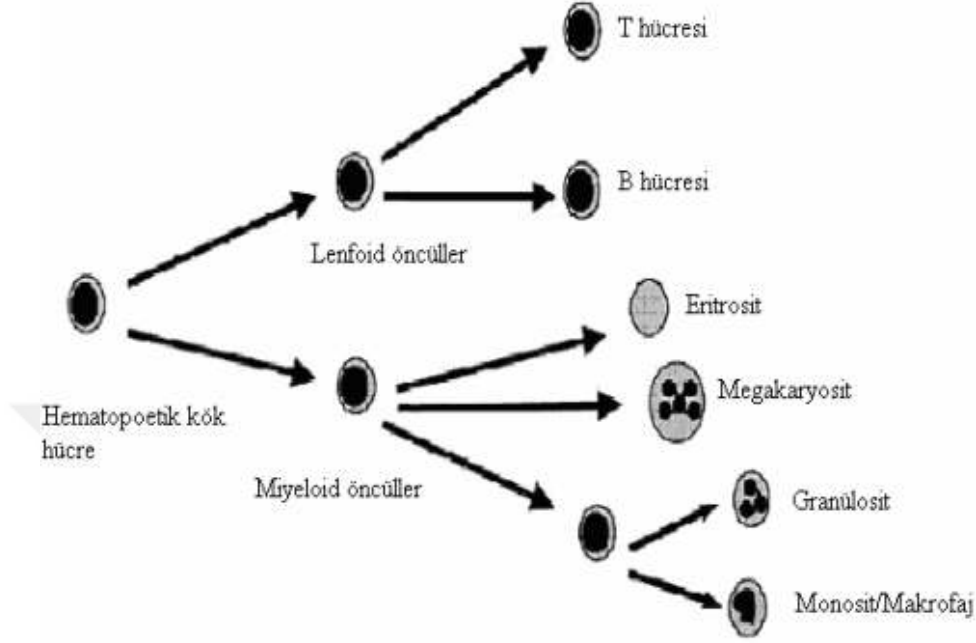
2.1 Kanser

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bölünmesi ve çoğalması ile ortaya çıkan ve genetik ve çevresel koşulların etkisi altında olan kompleks bir neoplazik bir hastalıktır. Neoplazinin kanser olabilmesi için malign özellik göstermesi gerekir. Başka bir deyişle malign özellik hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyüyüp, komşu dokuları istila edebilmesi veya uzak ya da yakın diğer dokulara yayılabilmesi (metastaz) özelliğine sahip olması gerekmektedir. Tümörlerin her biri yerleşim yerine, doku tipine, histolojik yapısına ve malignensilerin derecelerine göre sınıflandırılmaktadır. Genel olarak kanserin üç farklı tipi bulunmaktadır. Bunlar kemik, kas ya da bağ doku gibi mezenşimal dokulardan kaynaklanan sarkomalar, barsak mukozası, bronşlar veya meme duktusları gibi epitelyal dokudan kaynaklanan karsinomalar, kemik iliği, lenfatik sistem ve periferik kan boyunca yayılan lösemi ve lenfoma gibi hematopoetik ve lenfoid malignitelerdir (Nussbaum vd., 2005).

2.2 Lösemi

Lösemi terimi, ilk kez 1845 yılında Virchow tarafından kullanılmıştır (DeVita vd., 1997). Lösemi, kelime anlamı olarak “ kanda beyazlaşma ” anlamına gelmektedir ve normal myeloid veya lenfoid hematopoezin özel bir kademesindeki duraklamaya bağlı olarak, klonal çoğalma sonucu neoplastik hücrelerin kemik iliğini ve diğer dokuları kaplaması ile periferik kanda birikmesi olarak tanımlanmaktadır. (Arceci vd., 2006; Niemeyer ve Sallan, 1993; Poplack ve Morgolin, 1997). Lösemi, kemik iliğinde çoğalan myeloid ve lenfoid seri hücrelerinden köken almaktadır (Ruddon,1995). Hematopoetik kök hücreler; hematopoez süreci olması gerektiği 4 gibi işlediğinde periferik kan hücrelerine (olgun lenfositler, granülositler, monositler, eritrositler ve megakaryositler/trombositler gibi) Şekil 2.1’deki gibi farklılaşmaktadır (Kufe Donald vd., 2003; Rosmarin vd., 2005; Speck ve Gilliland, 2002). Lösemilerde ise kemik iliği hücrelerinin gelişim aşamaları sırasında bir nesilde hücrelerin çoğalma hızının arttığı

görülmekte, neoplastik kemik iliğinde çoğalmakta ve diğer kemik iliği hücrelerinin yerini almaya başlamaktadır. Hücre hatlarının sayısında periferik kandaki kan hücrelerinin yerini tutacak ölçüde bir artış görülür (Finn ve Peterson, 2004).



Şekil 2.1 Hematopoetik farklılaşma. Hematopoetik kök hücreler, lenfoid öncül, myeloid öncül ve olgun kan hücreleri (Rosmarin vd., 2005)

Sitogenetik çalışmalar, lösemilerin neredeyse yarısında sık tekrarlayan kromozom anormalliklerinin bulunduğunu gösterilmektedir. Translokasyonlar, inversiyonlar ve delesyonlar şeklinde olan bu yapısal kromozomal anormalliklerin etkilediği genler incelendiğinde, hematopoetik sistemin gelişiminde ve normal fonksiyonunda rol oynadıkları gösterilmektedir. Bu genlerle ilgili kalıcı yapısal değişiklikler (mutasyonlar) ile birlikte epigenetik değişiklikler de tanımlanmaktadır. Lösemilerin moleküler biyolojisi hakkında bazı genellemeler yapılmaktadır. Bunlardan ilki; somatik dokulardaki normal hücrelerden farklı olarak gen kontrol mekanizmalarını bozan ya da kesintiye uğratan kromozom anormalliklerin görülmesidir. Normal hematopoez esnasında özel bir noktada genetik bozukluk ortaya çıktığı zaman özel 5 bir hematopoetik farklılaşma hattı lösemisi meydana gelir. Lösemilerin moleküler arkaplanı ile ilgili başka bir genelleme de diğer kanser türlerinde olduğu gibi lösemilerin tek bir hücreden gelişerek klonal olarak çoğalmalarıdır. Malignklon, dominant hale geldiğinde normal klonlara oranla çok daha hızlı ve dirençli bir şekilde

çoğalabilir. Bundan dolayı lökomogenezin en az iki basamaklı bir dönem olduğu görüşü yaygındır. Bu süreçte lösemi hücrelerinin klonal olarak çoğalabilmesi için ilk olarak farklılaşmanın engellenmesi sonrasında ise aşırı çoğalmayı önleyecek hücresel basamakların ortadan kaldırılmasının gerektiği belirtilmektedir. Lösemide, hematopoetik farklılaşmada rol oynayan transkripsiyon faktörlerinin etkilendiğinin gösterilmesi bu görüşü destekleyen verilerdendir (Yakıcıer, 2005). Hematolojik maligniteler sağkalım ve olgunlaşma özelliklerine dikkat edildiğinde başlıca akut ve kronik olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Akut lösemiler; olgunlaşmamış hücrelerin, blastların öne çıktığı, tedavi edilmediğinde sağkalım süresinin birkaç ay veya haftalarla sınırlandırıldığı hastalığın alt grubundadır. Kronik lösemiler ise; olgun hücrelerin öne çıkması ve sağkalımın yıllarca sürebilmesiyle karakterize olmaktadır. Akut lösemiler, lenfoid ve miyeloid olmak üzere hematopoietik kök hücrenin farklılaşmaya başladığı ilk basamak temel alınarak iki alt gruba ayrılmaktadır. Kök hücreler CFU-L (Lenfoid koloni yapan ünite)' ye farklılaşırsa lenfoid; CFU-GEMM (Granülosit, eritrosit, megakaryosit, makrofaj yapan ünite)'ye ayrılırsa miyeloid olarak adlandırılmaktadır. Böylece lösemiler 4 temel grup olarak sınıflandırılmaktadırlar (Kern, 2005).

- 1) Akut miyeloid lösemi (AML)
- 2) Akut lenfoid lösemi (ALL)
- 3) Kronik miyeloid lösemi (KML)
- 4) Kronik lenfoid lösemi (KLL)

2.3 Akut Myeloid Lösemi (AML)

Akut miyeloid lösemi (AML), hematopoez sürecinde farklılaşmanın durmasıyla karakterize olan bir hematopoetik kök hücre bozukluğu olup, blast hücre popülasyonunun çoğalmasıyla ortaya çıkan bir hastalıktır. Hematopoetik hücrelerdeki bu malin değişim, bu hücrelerde fonksiyon kaybına neden olur ve tedavi edilmezse klinik seyrine bağlı olarak haftalar ve aylar içinde ölümle sonuçlanır (Shipley ve Butera, 2009).

AML patogenezinde rol oynayan mutasyonlar iki sınıfa ayrılmaktadır. Birinci grupta yer alan mutasyonlar sinyal ileti sistemini aktive eder proliferasyon artışı ya da sağ kalım avantajı ile karakterize olurlar. İkinci grupta yer alan mutasyonlar ise

transkripsiyon faktörleri aracılığıyla transkripsiyonel koaktivasyon komplekslerini etkileyerek farklılaşmada azalma veya kendini yenileme kapasitesinde artış ile karakterize olurlar. Aynı gruptan mutasyonların aynı hastada gerçekleşmesi durumu çok sık görülmemekle birlikte genelde iki farklı sınıftan ayrı mutasyonların aynı hastada görülmesi daha yaygın karşılaşılan bir durumdur (Takahashi, 2011).

2.4 Kronik Lenfoid Lösemi (KLL)

Kronik lenfositik lösemi (KLL) yakın zamana kadar yaşam süresi uzun, fonksiyonel olarak yetersiz lenfositlerin kan, kemik iliği, lenf düğümleri, dalak ve diğer lenfatik organ ve dokularda birikiminden oluşan bir hastalık olarak tarif edilmiştir. Bu tanımın ardından geçen yıllarda hastalığı oluşturan hücrenin kaynağı ve özellikleri, hastalık patogenezi, seyri ve tedavisi ile ilgili bilgilerimizde çok önemli değişiklikler oluşmuştur. KLL hücreleri klonal olarak çoğalan olgun görünümlü küçük lenfositlerdir ve CD5+ “B” lenfosit karakterleri taşırlar (Türk Hematoloji Derneği, 2012).

Perifer dolaşımda bulunan lenfosit alt grupları kabaca T, B ve NK (doğal öldürücü) hücreler olarak sınıflandırılabilir. Kanda dolaşan lenfositlerin ortalama %80’ini T hücre, %10’unu B hücre geri kalan %10’unu ise doğal öldürücü (NK) hücreler oluşturmaktadır. Bu oranlar hücrelerin alındığı dokuya göre değişebilmektedir. Timusta hücrelerin nerede ise %90’ı T hücre iken dalak ve lenf düğümünde %30-40 oranında T hücre görülmekte, B hücreler daha baskın oranda (%60-70) izlenmektedir (Vikipedia, n.d.).

B hücre maligniteleri, Hodgkin dışı lenfomalar (HDL’ler) Hodgkin lenfoma dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların toplanmasını temsil eder. HDL’ler, esas olarak B lenfositlerini etkileyen kronik lenfositik lösemi (KLL) içeren 30’dan fazla kanserli heterojen bir gruptur. Amerika Birleşik Devletleri’nde, B hücreli lenfomalar tüm HDL vakalarının % 80-85’ini temsil etmektedir, %15-20’si T-hücreli lenfomalardır. Bu B hücreli lenfomalar ile ilgili olarak, yaygın büyük B hücreli lenfoma insidansı en yüksek %30’dur ve bunu foliküler lenfoma (% 20) takip etmektedir (Alhakeem, 2017; Horwitz vd., 2016).

B hücresi Kronik lenfositik lösemi, aktivasyon veya olgunlaşma durumunda farklılık gösterebilen B lenfositlerinden kaynaklanan klinik olarak heterojen bir hastalıktır (Chiorazzi vd., 2005). KLL Japonya ve Kore gibi bazı ülkelerde nadir olmakla birlikte, Batı dünyasındaki en yaygın erişkinlerde görülen lösemidir (Kipps vd., 2017). KLL hücreleri, T-hücre markeri CD5'i eksprese eden olgun B hücrelerinin klonal genişlemesinden kaynaklanır (Chiorazzi vd., 2005). Hastalık, kemik iliğinde üretilen apoptozda veya diğer hücre ölüm mekanizmalarında kusurları olan anormal lenfositler tarafından tanımlanır, bu da küçük, olgun görünen neoplastik lenfositlerin kanda, kemik iliğinde ve sekonder lenfoid dokularında birikmesine yol açar ve bu durum lenfositoz iliği lösemi hücre infiltrasyonu, lenfadenopati ve splenomegali ile sonuçlanır (Chiorazzi vd., 2005; Kipps vd., 2017). Lösemik hücre birikimi, birtakım reseptörler (örn., B hücresi reseptörleri ve kemokin ve sitokin reseptörleri) ve bunların hücreye bağlı ve çözünür ligandları yoluyla dış ortamdaki hücrelere verilen hayatta kalma sinyalleri nedeniyle oluşur. B hücresi reseptörü (BCR) sinyali, yüzey immünoglobülinin antijen ile etkileşiminin sonucu olarak hücrenin doğasından stimülasyon seviyesinden ve mikro ortamdaki etkilenen KLL hücrelerinin önemli bir itici gücü olduğu gösterilen kronik lenfositik lösemisinin davranışını etkiler (Chiorazzi ve Ferrarini, 2003). KLL hastaları, immünoglobulin değişken ağır zincirinde (IGHV) mutasyonu olanlar ve IGHV'de mutasyonu olmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılır (Chiorazzi vd., 2005). Mutasyon geçirmemiş bir IGHV (U-KLL) eksprese eden KLL hücreleri, germinal merkezlerde somatik hipermutasyon geçirmemiş olan bir B hücresinden kaynaklanır (Kipps vd., 2017). Mutasyon geçirmemiş bir IGHV eksprese eden KLL hücreleri olan hastalar, tipik olarak mutasyona uğramış bir IGHV eksprese eden KLL hücreli hastalara göre daha agresif bir hastalığa sahiptir (Damle vd., 1999). TCL1, ZAP70 ve CD38 proteinlerinin ekspresyonu gibi diğer özellikler geniş ölçüde kötü prognoz ile ilişkilidir (Damle vd., 1999; Herling vd., 2009; Hüttmann vd., 2006; Rassenti et al., 2008).

2.5 Lenfoma (Lenf Kanseri)

Lenfoma lenfositlerin oluşturduğu bir kanser tipidir. Lenf dokusunun habis tümörüne verilen genel bir isimdir.

Malign lenfoid hücreler de normal lenfositler gibi lenf düğümü, dalak, kemik iliği, kan ve diğer organlarda çoğalır. Lenfoma; Hodgkin lenfoma ve Hodgkin dışı lenfoma adı altında iki büyük gruba ayrılır (Türk Hematoloji Derneği, 2012).

2.5.1 Hodgkin lenfoma (HL)

İlk kez tarif eden Thomas Hodgkin'in adı ile anılan hastalıktır. Hodgkin lenfomanın nedeni kesin olarak bilinmemektedir. Her yaşta ortaya çıkabilmekle birlikte daha çok genç erişkinlerde görülür. Erkeklerde daha sık ortaya çıkar. Bulaşıcı bir hastalık değildir. Kombine kemoterapi ile şifa elde edilebilen ilk habis hastalıktır (Türk Hematoloji Derneği, 2012).

2.5.2 Hodgkin dışı lenfoma (HDL)

Bu hastalık anormal B lenfositlerden kaynaklanan B hücreli lenfomalar ve anormal T lenfositlerden kaynaklanan T hücreli lenfomalar olarak 2 gruba ayrılır. B hücreli lenfomalar daha sık ortaya çıkar. Hastalık lenf düğümlerinde, dalak gibi lenfoid dokularda ortaya çıkabilir veya mide, barsak gibi organlardaki lenf dokusundan kaynaklanabilir. Malign lenfoid hücreler kan ve lenf dolaşımı aracılığı ile vücudun diğer kısımlarına da yayılabilir. Son yıllarda HDL sıklığı artmaktadır, ancak bu artışın nedeni bilinmemektedir (Türk Hematoloji Derneği, 2012).

2.6. KLL'de Tanı

KLL genellikle yavaş gelişir ve hastalığın semptomları diğer birçok yaygın sebebe benzerdir. KLL, beyaz kan hücresi sayımı ve tam kan sayımı dahil olmak üzere kan testleri ile teşhis edilir. Tanı konulduktan sonra, hastalığın başlangıç, orta veya ileri aşamada olup olmadığını belirlemek için evreleme yapılmalıdır. Bazı hastalar hastalığın ilerlemesinin başlangıç aşamalarında kalır ve hastalığın en kötü semptomlarının çoğuyla uğraşmak zorunda kalmadan uzun ömürlüdürler (Marti vd., 2005; Moreno ve Montserrat, 2008). Bu, iki farklı hasta grubuyla sonuçlanır: ilerleyen hastalığı olan ve ilerlemiş gibi görünmeyen hastalığı olan hastalar. Hastalığın ilerleyici olmayan tezahürü olanlar, hastalık ilerlemeye başlayana ve daha semptomatik hale gelene kadar tedaviye ihtiyaç duymaz gibi görünmektedir (Rassenti vd., 2008). Bir hastanın hangi gruplandırmaya ait olduğunun erken belirlenmesi, progresif veya

progresif olmayan KLL, önemli bir aşama olarak bilinmektedir. Eğer bu bilgiler önceden belirlenebiliyorsa, hastalık yönetimi ve tedavisi için daha iyi işlem teşhis edilebilecektir (Alinari vd., 2007).

KLL tanısı, kan dolaşımı, dolaşımdaki lenfositlerin immünofenotipinin belirlenmesi için periferik kanın akış sitometrisine ve periferik yaymanın incelenmesine dayanır (Hallek vd., 2008). Ulusal Kanser Enstitüsü kılavuz ilkeleri KLL tanısı için iki kriterin karşılanmasını gerektirir.

1) Periferik kandaki mutlak B lenfosit sayısı $5000 / \mu\text{l}$ [$5 \times 10^9 / \text{L}$] olmalı ve morfolojik olarak olgun görünen küçük lenfosit popülasyonunun ortaya çıkmasıyla (Hallek vd., 2008);

2) Dolaşımdaki B hücrelerinin akış sitometrisi ile klonalitesinin gösterilmesi. Popülasyonun çoğunluğu aşağıdaki B hücresi markörlerini ifade etmelidir: düşük seviyelerde yüzey immünoglobulinleri (CD20 ve CD79b) ve kappa veya lambda (ikisinden biri) hafif zincirler, B hücresi ile ilişkili antijenlerin ekspresyonu (CD19, CD20, ve CD23) ve T hücresi ile ilişkili antijen CD5'in ekspresyonu (Hallek vd., 2008). Ayrıca, KLL başlangıç tanısı veya doğrulaması için normalde bir kemik iliği testi gerekmez de, genellikle tedaviye yanıtı ölçmek için bir temel oluşturmak için yapılır (American Cancer Society, 2014; Hallek vd., 2008). KLL hastaları için bir başlangıç kemik iliği testi sıklıkla B lenfosit sayısında bir artış ve normal kemik iliği hücresi sayısında bir azalma ile ilişkilendirilir (American Cancer Society, 2014). KLL hastalarında kemik iliği incelemesi kemik iliğindeki lenfosit sayısında artış ve sıklıkla normal kemik iliği hücrelerinde düşüş göstermektedir. Kemik iliği biyopsi sonuçları KLL'nin dört karakteristik özelliğinden birini gösterecektir: nodüler, interstisiyel, karma veya diffüz (American Cancer Society, 2014). KLL hastalarının çoğu tanı sırasında asemptomatiktir ve KLL sıklıkla rutin kan sayımlarına göre bulunur. Aksi takdirde, hastalar şişmiş lenf nodları, splenomegali, yorgunluk, ateş, kilo kaybı ve gece terlemesi ile başvurabilirler (American Cancer Society, 2014). İleri KLL belirtileri ve semptomlarının çoğu, lösemik hücrelerin normal kan hücrelerinin yerini alması nedeniyle oluşur. Bu nedenle, hastalar düşük kırmızı kan hücresi sayımı, trombosit yetersizliği nedeniyle kanama ve morarma ve daha düşük normal beyaz kan sayımı nedeniyle enfeksiyonlarda artış nedeniyle anemiden muzdarip olabilirler (American

Cancer Society, 2014). Ayrıca, sistemik immünoşüpresyonun daha agresif bir KLL hastalığı ve cilt kanseri, baş ve boyun kanseri ve lenfoblastik lösemi gibi sekonder kanserler ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Royle vd., 2011). Bu immünoşüpresyon, KLL hastalarında önde gelen ölüm nedeni olan enfeksiyona yatkınlığı arttırmaktadır (Morrison, 2010; Nosari, 2012; Tsiodras vd., 2000). KLL hastaları çeşitli nedenlerle enfeksiyon riski altındadır. KLL hastaları, primer hastalık süreciyle ilişkili olan hücre kaynaklı bağışıklık yanı sıra humoral doğal bağışıklık kusurlarına sahiptir. Bu defektler arasında hipogamaglobulinemi, T hücresi alt kümelerindeki anormallikler ve kompleman aktivitesindeki defektler ve nötrofil / monosit fonksiyonu vardır (Morrison, 2010; Ravandi ve O'Brien, 2006). Ek olarak, hastalara uygulanan tedavilerle ilişkili spesifik immün yetmezlikler ek immünoşüpresyona neden olabilir (Morrison, 2010).

KLL tedavi edilmesi bulunduğu aşamaya göre güç olan ve tedavi ile kontrol altında birkaç yıl sürebilen yavaş gelişen bir hastalıktır. Erkeklerin yaklaşık% 70'i ve kadınların neredeyse% 75'i teşhis edildikten sonra 5 yıl veya daha uzun süre lösemiden kurtulabilirler. Genç hastalar (15-64 yaş) daha hızlı olumlu sonuç verebilmektedir. Tanıdan sonra % 80'den fazla hasta 5 yıl veya daha uzun süre hayatta kalırken, 65 yaş ve üstünde hayatta kalma yüzdesi % 60'tır. Hem tedavi edilen hem de tedavi edilmeyen KLL hastalarında ikinci malignite insidansı yüksektir (Oscier vd., 2004).

Tablo 2.1 KLL Tanı Kriterleri

Parametreler	Kriterler
B- Lenfosit	> 5000/mm ³ (en az 3 aydan beri)
İmmunfenotipleme	En az bir adet B hücre işareti (CD19, CD20, CD23), CD5+ ve yüzey Ig hafif zincir klonalitesi (kappa veya lambda)
Kemik iliğinde lenfositöz	≥ % 30
Atipik hücre oranı	< % 55

2.6 KLL Epidemiyolojisi

Yaş dağılımına göre Türkiye'nin 2020 yılı verilerine baktığımızda kanser artış hızı erkeklerde yüzbinde 267,9 kadınlarda ise yüz binde 186,5 olarak rapor edilmiştir. 2015 yılı verilerine göre ülkemizde 167 bin kişinin kansere yakalandığı tahmin edilmektedir (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2018). Kronik lenfositik lösemi (KLL), Amerika Birleşik Devletleri'nde en yaygın yetişkin hastalıktır. Çoğunluğu elli yaşın üzerinde olan yaklaşık 100.000 Amerikalı KLL ile yaşamaktadır. KLL insidansı oranları her geçen zaman diliminde artmaktadır ve bilinen bir tedavisi yoktur (Shanafelt vd., 2006).

2018 yılına ait verileri incelediğimizde kanser, dünya genelinde ölümlerin başlıca sebeplerinden biri olmaktadır, 18.1 milyon yeni vaka ve tahmini 9.6 milyon ölümden sorumludur. Küresel olarak, yaklaşık 6 ölümden 1'i kanserden kaynaklanmaktadır. Kanserden kaynaklanan ölümlerin yaklaşık %70'i düşük ve orta gelirli ülkelerde olmaktadır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'nın (IARC) bir parçası olan GLOBOCAN veritabanı, 2018 yılına ait son araştırmaların dünyada 5 erkek ve 6 kadından birinin kansere yakalandığını ve 8 erkekten birinde ve 11 kadından birinde ölümle sonuçlandığını bildirmiştir. Dünya çapında, 5 yıl içinde kanser tanısı alan yaşayan toplam insan sayısının 43,8 milyon olduğu tahmin edilmektedir. Diğer dünya bölgelerinin aksine, Asya ve Afrika'da kanserden kaynaklanan ölümlerinin oranı daha yüksektir. 2018 yılına ait 18 milyon yeni vakanın 437,033'ünü lösemiler oluşturmaktadır. Meydana gelen ölüm sayısı ise 309,006'dır. Dünya genelinde tüm kanserler için insidans oranına baktığımızda erkeklerdeki oranın kadınlara göre %20 daha yüksek olduğu görülmektedir (erkeklerde yüz binde 218.6 kadınlarda ise yüz binde 182.6) (Yıldız, 2019).

Lösemi hastalığı tipleri arasında en tanınmış olanı, yetişkin bireyler arasında %30 oranında olan görülme sıklığına sahip olan kronik lenfosit lösemidir (Yıldız, 2019). Kronik lenfosit lösemi (KLL) olgun görünümlü küçük B lenfositlerin periferik kan, kemik iliği veya lenfoid dokuda anormal artışı ile tanımlanan bir lösemi türüdür. Ayrıca bağışıklık sisteminin bozulmasından kaynaklanan otoimmün rahatsızlıklara KLL hastalarında sıklıkla karşılaşılır (Dameshek, 1967). Ulusal kanser enstitüsü gözlem epidemiyolojisi verilerine göre 2000-2006 yılları arasında KLL hastalarının % 19.3'ü 55-64, %11'i ise 55 yaş altı olarak tespit edilmiştir (Altekruse vd., 2010). Yaş

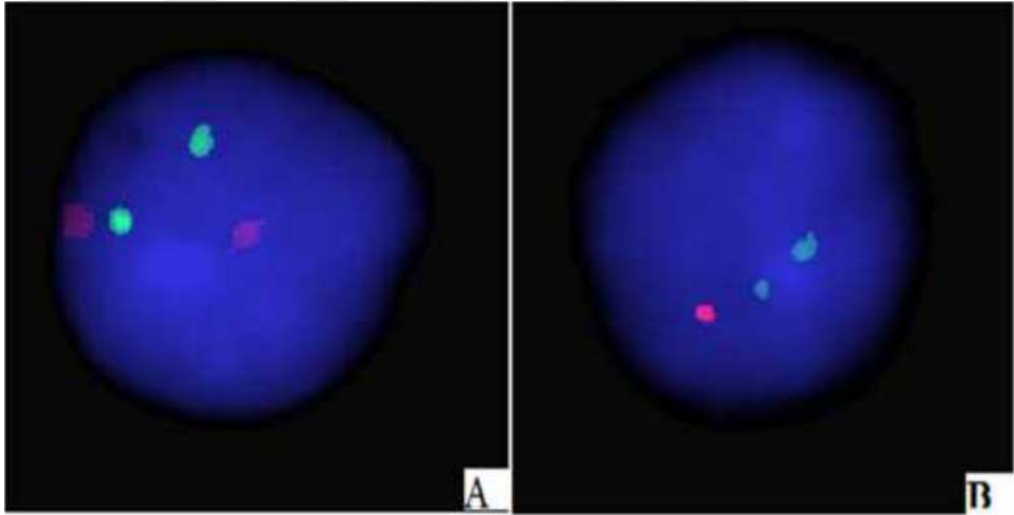
ilerledikçe hastalığa yakalanma oranı artmakta ve sadece hastaların 1/3'üne 60 yaşın altında iken tanı konulabilmektedir (Montserrat ve Moreno, 2008; Redaelli vd., 2004). Erkek cinsiyet, yaşın ileri olması, aileden gelen kanser öyküsü kanser riskini arttırmasına rağmen, KLL hastalığının etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir (Ries vd., 2006). Yapılan kromozom mutasyonu çalışmaları KLL'nin, 13q14 ve 11q22-q23 delesyonu, trizomi 12 ve 17p13 delesyonu ile ilişkisini de ortaya koymuştur (Caporaso, Goldin, Plass, Calin, Marti, Bauer, Raveche, McMaster, Ng, & Landgren, 2007; Döhner vd., 2000).

2.8. KLL Prognozu

Kronik Lenfositik Lösemi (KLL), bağışıklık sisteminin B hücrelerinde görülen ve normal antikor üretme sürecinde anormal değişikliklere ve düzensizliklere neden olan yaygın bir kanser türüdür (Blachly vd., 2015). KLL'nin iki alt tipi vardır; İmmüoglobulin Ağır Zincir Değişkeni (IgHV) genlerindeki somatik mutasyonların yüzdesine bağlı olarak mutasyona uğramış ve mutasyona uğramamış KLL'nin % 2'si kesme (DNA hasarı) mutasyonludur (Kulis vd., 2012). IgHV genlerindeki mutasyonlar neredeyse kaçınılmazdır, bu nedenle mutasyona uğramamış KLL hala bazı mutasyonlar gösterir, ancak daha az sıklıkta (Hamblin vd., 1999). Anormallikler, spesifik B hücrelerinin birikmesine neden olan anormal apoptoz işlemi ile ortaya çıkabilir. Mutasyon geçirmemiş alt tip muhtemelen daha az mutasyona uğramış B hücrelerinin çoğalma kapasitesinin daha yüksek olması nedeniyle, daha az prognoza sahip olma eğiliminde olduğundan, hastalığın prognozu iki alt tip arasında farklılık gösterir (Hamblin vd., 1999). Anemi, trombositopeni, kilo kaybı ve lenf düğümlerinin büyümesi, hastalıklı bir kişide ortaya çıkabilecek semptomlardan bazılarıdır (Rawstron vd., 2016). Floresan in situ hibridizasyon (FISH) de hastalığın teşhisi için kullanılır, ancak hastaya hastalığın erken evresi teşhisi konusunda, sağkalım süresini uzatmadığı kanıtlandığı için acil tedavi her zaman tercih edilmez (Döhner vd., 2000; Hallek vd., 2008). Ayrıca bir çalışma, erken evre bir hastanın tedavisinin, tedavi almayan hastalara göre ölümcül epitelyal kanser riski ile sonuçlandığını göstermiştir (Dighiero vd., 1998). KLL tedavisinde yıllar içinde rituksimab, B hücreleri üzerinde CD20 hücre yüzeyi proteinini hedefleyen antikor, ibrutinib (Bruton tirozin kinaz inhibitörü), idelalisib (fosfatidilinositol-3-kinaz δ inhibitörü) ve venetoklaks (BCL-2 inhibitörü) kullanılmıştır (Furman vd., 2014; Parikh, 2018).



Şekil 2.2 KLL hastasına ait Karyotip Analizi (Erkek birey (46,XY)). (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarı).



Şekil 2.3 FISH tekniği A) p53 geninin normal olduğu bir orneğe ait FISH görüntüsü. B) p53 geninde delesyon bulunan bir orneğe ait FISH görüntüsü. (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuvarı)

Önemli ve mutasyona uğramış genlerin analizi yoluyla sağlıklı ve habis B hücreleri arasında ayırım yapmak için yakın zamanda tüm genom dizilemesi (WGS) ve tüm ekzom dizilemesi (WES) uygulanmıştır ve mutasyon yüzdesine bağlı olarak hastanın bir mutasyona uğramış veya değiştirilmemiş bir KLL alt tipidir (Rodríguez-Vicente vd., 2017). Referanslarla karşılaştırmak için IgBLAST kullanarak, IgHV bölgesi ile eşleştirme% 98'den fazla veya eşitse, mutasyona uğramamış KLL alt tipi olarak

sınıflandırılabilir, aksi takdirde (% 98'den daha az) mutasyona uğramış KLL alt tipi olarak sınıflandırılabilir. Bu eşik değeri o kadar doğru değildir ve sınıflandırma sürecinde dikkat edilmesi gerekmektedir (Rodríguez-Vicente vd., 2017; Ye vd., 2013). RNA sekanslama verileri ayrıca IgHV bölgesinin mutasyon yüzdesine bağlı olarak hastanın mutasyona uğramamış KLL alt tipine sahip olup olmadığını belirlemek için kullanılabilir (Blachly vd., 2015). Hem mutasyonlar hem de anormal gen ekspresyonu araştırılabilirdiğinden ve özel klinik prosedürler kullanmak yerine tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), gen ekspresyon profili ve IgHV bölgesi mutasyonlarının durumu hakkında bilgi verebildiğinden, gen düzeyinde hastalık veya şu anda kullanılan sanger sekanslama hakkında daha derin bir kavrayış sağlayabilir (Blachly vd., 2015). RNA sekanslama, daha hızlı, daha bilgilendirici ve daha doğru bir teşhis için birçok hastalığa uygulanacak tercih edilen yeni bir tekniktir (Mohamed, 2019).

Kronik lenfositik lösemi (KLL), olgun B lenfositlerinin birikmesine neden olan bir kan kanseridir. Temel olarak, beyaz kan hücreleri kanda ve lenf düğümlerinde birikerek anemiye ve çoklu enfeksiyonlara yol açar ve hastalık seyri agresif hale gelirse ölüme yol açabilir. KLL çoğunlukla batı ülkelerini etkiler. KLL, agresif bir hastalık türü olabilir ve çok agresif bir kan kanseri türü olan Richter Sendromuna dönüşebilir. Ek olarak, KLL hastalarının ilerlemesi, farklı genlerdeki çeşitli mutasyon türlerinden etkilenir (Shelmani, 2017).

KLL, lösemik görünümü ile küçük lenfositik lenfomadan ayırt edilebilen lösemik bir lenfositik lenfomadır (Hermelink vd., 2001). KLL olduğunu ve diğer bazı lenfoproliferatif hastalıkların (kıllı hücre lösemi veya marjinal bölge lenfoma, dolaşımdaki villöz lenfomalı lösemik belirtiler veya foliküler lenfoma gibi) olmadığını kanıtlamak için, dolaşımdaki lenfoid hücrelerin kan sayımı, kan yayması ve bağışıklık fenotipidir (Hallek vd., 2008; Melo vd., 1987).

KLL hastalığının klinik evreleme sisteminde yaygın olarak kabul edilmiş, Rai ve Binet olmak üzere iki temel sınıf yer almaktadır. Bu haliyle, her iki sistem de farklı klinik sonuçlara sahip üç ana alt grubu belirtmektedir. Orijinal Rai sınıflandırma sistemi, prognostik grupların sayısını 5'ten 3'e düşürmek için değiştirilmiştir. Modifiye edilmiş Rai evrelemesinde; lenfadenomegalinin yaygın olup olmadığı, splenomegali ve

hepatomegalinin varlığı, anemi ve trombositopeni'nin olup olmadığı gibi bulgular dikkate alınırken, Binet evreleme sisteminde; tutulum olan lenfoid alanların sayısı, hemoglobin ve trombosit değerleri dikkate alınmaktadır (Binet vd., 1981). Rai evrelendirme sisteminin kriterleri Tablo 2.2'de, Binet evrelendirme sisteminin kriterleri Tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2.2 KLL Rai Evreleme Sistemi

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

Tablo 2.3 KLL Binet Evreleme Sistemi

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

Son yıllarda, erken hastalık dönemlerinden itibaren hastalık progresyonunu işaret edebilen KLL B hücrelerinin genetik, fenotipik veya moleküler özelliklerine dayanan birçok prognostik imge belirleyici olarak gösterilmiştir. Bu nedenle, belirli bir hastada sadece KLL'nin ilerleme seyrini olcebilen klasik Binet veya Rai evreleme sisteminin yanında farklı belirteçlerde kullanılabilir (Chiorazzi, 2012).

Prognoz değerlendirmesinde klinik evre, periferik kanda lenfosit sayısı, periferikkandaki lenfosit morfolojisi, lenfosit sayısı ikiye katlanma suresi (LDT) gibi klasik prognostik belirteçler kullanılmaktadır. Bu klasik belirteçlerin yanında laktat dehidrogenaz (LDH), beta 2 mikroglobulin (β -2 M), timidin kinaz (TK), immunglobulin ağır zincir değişken bölgesi (immunoglobulin heavy-chain variableregion/ IGHV) gen varyasyon durumu, CD38, T hucre reseptoru zeta zincir-ilişkili protein kinaz 70 (zeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70/ZAP70), kromozomal translokasyonlar, FISH tekniği ile elde edilen sitogenetik bulguları gibi yeni biyolojik prognostik belirteçler önemli sayılmaktadır (Chiorazzi, 2012). Hastalığın prognozunu belirlemeye yardımcı olabilecek klasik ve yeni biyolojik prognostik belirteçler Tablo 2.4'te gosterilmektedir.

IGHV gen varyasyon durumu KLL de önemli bir prognostik belirteçtir. Varyasyona uğrayan *IGHV* olguları, varyasyona uğramayan *IGHV* olgularına göre daha uzun sağ kalım gösterir (Tobin vd., 2003). B-KLL de hem ZAP-70 hem de CD38 ekspresyonları bağımsız birer prognostik belirteçlerdir. CD38 ekspresyonu *IGHV* varyasyon durumu için bir vekil belirtec olarak da gösterilmektedir (Assem vd., 2009). B-KLL de artmış CD38 ekspresyonu olumsuz bir prognostik faktor olarak gösterilmektedir (Boonstra vd., 2006). KLL hücrelerinde ZAP-70 ekspresyonu KLL hastalarında kısa genel sağ kalımla ilişkilendirilmektedir (Dielschneider vd., 2014).

2.7 2.9. KLL ve Genetik

Kronik Lenfotik Lösemi Batı dünyasında en fazla görülen lösemi tipidir. KLL'nin sebebi uzun yıllardır yürütölmekte olan araştırmalara rağmen bulunamamıştır. Asyalılarda KLL'nin sıklığı; Kafkas, Avrupa ve Amerikadaki bireylere göre daha düşük ve daha önemlisi Amerika'ya göç edenlerde bile bu oranın korunması hastalığın çevresel faktörlerden ziyade genetik öneme sahip olduğunu belirtilmektedir (Brown, 2008). İleri yaş, erkek cinsiyet, beyaz ırk ve KLL aile öyküsü veya diğer lenfoproliferatif bozukluklar KLL oluşumu için risk faktörleri olarak belirlenmiştir (Coombs vd., 2012).

Tablo 2.4 KLL de Prognoz Parametreleri

Parametre	İyi prognoz	Kötü prognoz
Cinsiyet	Kadın	Erkek
Binet Evresi	A	B ve C
Rai Evresi	0,1	2, 3, 4
Periferik kanda lenfosit sayısı	< 50.000/ mm ³	> 50.000/ mm ³
Kemik iliği tutulum şekli	Non-diffuz	Diffuz
Kemik iliğinde lenfosit oranı	≤ % 80	> 80
Timidin kinaz ve sCD23	Normal	Artmış
Sitogenetik	N veya izole del 13q	Del 11q ve 17p, trisomi12
CD38	≤ % 30	> % 30
IGHV varyasyon durumu	Mutant	Non-mutant
P53 varyasyon durumu	Non-mutant	Mutant
Zap 70	Negatif	Pozitif

KLL'nin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte aile oykusu en iyi karakterize edilen risk faktörüdür (Brown, 2008; Coombs vd., 2012). KLL hastalarının %8-10'u aile öyküsüne sahiptir, bu da hastalığın kalıtsal yatkınlığa sahip olduğunu göstermektedir. KLL hastalarının birinci dereceden akrabaları arasında hastalığın görülme riski daha fazladır (Coombs vd., 2012). Sporadik olarak gelişen KLL olguları ve ailesel KLL olgularının karşılaştırıldığı bir çalışmada, ailesel olgularda kadın insidansının ve varyasyon geçirmiş *IGHV* geninin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Goldin vd.,

2010). Ayrıca KLL hastalarının yakın akrabalarında %13-18'inde Monoklonal B hücreli lenfositoz (lenfosit yüksekliği) olduğu belirtilmiştir (Slager vd., 2013). Kromozom 16q24.1 lokusu üzerinde bulunan Interferon Düzenleyici Faktor 8 (Interferon regulatory factor 8- *IRF8*) geni ve İnsan Lokosit Antijeni genlerini bulunduran kromozom 6p21.3 lokusunun, ailesel KLL'ye yatkınlık ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Wiernik, 2015). KLL için kalıtsal riskin yaklaşık olarak %10'u; tek nükleotid polimorfizimlerine (single nucleotide polymorphisms-SNPs) dayandırılabilir (Coombs vd., 2012). Bu SNP'ler *genome wide association (GWA)* çalışmalarında tanımlanmış ve tek başına göreceli olarak küçük bir hastalık riski bulundurmaktadır. KLL GWA çalışmalarının neredeyse hepsi beyaz ırk popülasyonlarında gerçekleştirilmiştir bu nedenle SNP'lerin diğer ırklardaki önemi konusunda yeterli bilgi mevcut değildir (Coombs vd., 2012). KLL ile ilişkisi daha önceden tespit edilen *TP53* ve *ATM* gibi varyasyonların yanı sıra, KLL ile ilişkisi önceden bilinmeyen tekrarlayan somatik varyasyonlarda tespit edilmiştir. Bu somatik değişiklikler, DNA hasarı ve hücre döngüsünün kontrolü [*TP53*, *ATM*, *POT1* (Protection Of Telomeres 1-POT1), *BIRC3*], mRNA işlenmesi [*XPO1* (*Exportin 1-XPO1*), *SF3B1*], NOTCH sinyali (*NOTCH1*), enflamatuar yollar (*MYD88*) ve kromatin modifikasyonunu [*CHD2* (chromodomain helicase DNA binding protein 2-CHD2)] içermekte olan birçok hücresel yolağın önemli bileşiği olarak bilinmektedir (Gruber ve Wu, 2014).

KLL de geleneksel sitogenetik yöntemlerin kullanımı, tekrarlayan ve prognostiköneme sahip genetik anomalilerin tespitinde büyük önem arz etmektedir (Schweighofer vd., 2013). Kromozom anomalileri önemli prognostik belirteçlerdir. Dohner ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada KLL olgularında en sık görülen sitogenetik anomaliler; 6, 11, 12, 13, 14 ve 17. kromozomlarda yer almaktadır (Döhner vd., 2000). Bu anomalilerin görülme oranları Tablo 2.5'da gösterilmektedir.

Tablo 2.5 Sitogenetik Anomaliler

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

2.8 MYD88 (Myeloid Differentiation Primary Response 88)

MYD88 fonksiyonunun çalışmasında model organizmalar kullanılmıştır. Gen, ilk olarak Dan Liebermann ve Barbara Hoffman tarafından farelerde keşfedildi ve klonlandı (Lord vd., 1990).

MyD88 (Miyeloid Farklılaşma Birincil Tepki Gen 88) başlangıçta IL-6 ile indüklenen miyeloid farklılaşması sırasında yukarı regüle edilen bir gen olarak keşfedildi (Lord vd., 1990). O zamandan beri ağırlıklı olarak, TLR (Toll benzeri reseptör) ve doğuştan gelen bağışıklığa karışan interlökin-1 (IL-1) reseptör yollarından aşağı akış sinyalizasyonuna aracılık etmek için temel bir adaptör proteini olarak işlev gördüğü bulunmuştur (J. Q. Wang vd., 2014, 2013). Memelilerde, MyD88 kaybı, doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinin eksikliğine yol açar: örneğin, MyD88 eksikliği olan fareler, çeşitli bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlara karşı direnci azaltmıştır ve insanlarda MyD88'deki etkisiz hale getirilen mutasyonlar, etkilenen bireylerde piyojenik enfeksiyonlara karşı artan bir duyarlılığa neden olur (Scanga vd., 2002; Takeuchi vd., 2000; Von Bernuth vd., 2008). Deneysel modeller, MyD88 nakavt farelerinin, lipopolisakkarit (LPS) ile stimülasyondan sonra makrofaj aktivasyonunda azalma, proinflamatuvar sitokin üretimi seviyelerinin ve T yardımcı hücre yanıtlarının bozulmasının önemli ölçüde azaldığını göstermektedir (Adachi vd., 1998). Ayrıca, MyD88'de eksik olan B hücrelerinin, MHC sınıf II yoluyla etkili antijen sunumunu

daha az yapabildiği ve LPS stimölasyonunu takiben proliferasyon ve antikor tepkilerinde bozulma olduğu gözlemlenmiştir (Kawai vd., 1999; J. Q. Wang vd., 2013).

Farklı olarak *Drosophila*'daki MyD88 homologu olan Tüp kaybı, *Drosophila*'da çok sayıda mantar ve mikrobiyal enfeksiyona yol açar (Horng ve Medzhitov, 2001). Bu nedenle MyD88 ve fonksiyonel eşdeğerleri, birçok farklı organizmada önemli bir rol oynadığı görülebilir; bu, neden evrimsel olarak yüksek oranda korunmuş bir molekül olduğuna dair bir açıklama işlevi görebilir (J. Q. Wang vd., 2013). MyD88 proteini genellikle 296 amino asit içerir ve üç ana alandan oluşur: bir N-terminal ölüm bölgesi (DD), bir ara bölge (INT) ve C-Toll / IL-1 reseptör homoloji bölgesi (TIR) terminus (Into vd., 2010; Ngo vd., 2011). TIR alanı, MyD88'in diğer TIR (Toll-IL-1 reseptör) alanı içeren proteinlerle (reseptörler veya adaptörler) etkileşime aracılık ederken DD alanı, aşağı yönde sinyallemeyi kolaylaştırmak için interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinazlarla (IRAK) ilişkilidir (Deguine ve Barton, 2014). INT domaininin IRAK4 aktivasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir ve INT domaini olmayan MyD88, MyD88'lerin bir ek varyantı LPS'nin neden olduğu aşağı akım NF-kB aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Groth vd., 2002; Janssens vd., 2003). TLR TIR alanlarına dizi benzerliğine rağmen, MyD88 TIR alanının BB döngüsünde yapısal farklılıkların, TLR ligasyonu olmadan MyD88 moleküllerinin kendiliğinden TIR dimerizasyonunu önlediği düşünülmektedir. Böylece, TLR ligand tanımada meydana gelen konformasyonel değişiklikler TIR alanlarını yakınlılaştırabilir, bu da aviditede bir değişikliğe ve MyD88 sinyalizasyonunun başlatılmasına izin verebilir (Deguine ve Barton, 2014; Khan vd., 2004).

Ngo ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı çalışmada yaygın büyük B hücreli lenfoma (DLBCL)' nin % 29'unun MyD88'de aynı mutasyonu barındırdığı gösterildi, bu da amino asit lösinin 265. pozisyonunda proline (L265P mutasyonu) ikame edilmesiyle sonuçlandı. Bu mutasyon çok nadiren DLBCL'nin GCB ve PBML alt tiplerinde meydana gelmiştir. MyD88 L265P mutasyonlarının çoğunluğu heterozigotluydu, sadece altı biyopsi örneği homozigot olarak bulundu (Ngo vd., 2011). Bu bulgular Fransa'da de novo DLBCL'li 161 hastada MyD88 mutasyon durumunu analiz eden başka bir araştırma grubu tarafından desteklenmiştir (Bohers vd., 2014). Otuz hastada (% 19), GCB DLBCL'ye (% 9.7) kıyasla ABC DLBCL'de (% 31) meydana gelenlerin

anlamalı bir oranda daha yüksek MyD88 mutasyonları olduğu bulundu. Daha önce olduğu gibi, en yaygın mutasyon MyD88 L265P (18/30 hasta); bir hastada homozigot MyD88 L265P mutasyonu olduğu bulundu (Bohers vd., 2014; Sheikh, 2017).

MyD88 L265P mutasyonunun lenfogeneze nasıl katkıda bulunduğu şu anda sadece tam olarak anlaşılamamıştır: mutasyon, MyD88 TIR alanının hidrofobik çekirdeğindeki bir sheet-tabakasında evrimsel olarak değişmeyen bir kalıntıda meydana gelir ve yapısal olarak başka bir mutasyon (M232T) bulunmuştur. bitişik metiyonin kalıntısı (Ngo vd., 2011; Shaffer III vd., 2012). Dolayısıyla bu mutasyonların TIR bölgesinin üçüncül yapısını bozduğu düşünülmektedir. Ayrıca, bilinen diğer MyD88 mutasyonlarının birçoğu, etkileşimli TLR'lerin TIR alanları ile etkileşime giren TIR alanının BB döngüsünde kümelenir, bu da TLR'lerin lenfomada MyD88 sinyalini etkileyebileceğini düşündürür (Knittel vd., 2016; Shaffer III vd., 2012). Bu hipotezi destekleyen bazı kanıtlar, MyD88 mutasyona uğramış CLL hücrelerinin TLR stimülasyonunun MyD88 mutasyona uğramamış CLL hücrelerine kıyasla çok daha yüksek seviyelerde belirli sitokinler (IL-6 dahil) ve kemokinlerin indüklendiği deneyler yoluyla üretilmiştir. MyD88-inaktive edici mutasyon E52DEL mevcut olduğunda, bunun aksine, TLR uyarımı artmış bir sitokin salgılanması ile sonuçlanmadı (Puente vd., 2011). Muhtemelen, TLR ligasyonuna yanıt olarak geliştirilmiş sitokin üretimi, makrofajların ve T lenfositlerinin KLL hücreleri tarafından toplanmasına yardımcı olarak hayatta kalmaları için uygun bir niş yaratabilir. Ek olarak, TLR'lerin KLL hücrelerinde aktivasyonu, tümör hücrelerinin çoğalmasını teşvik eder ve bunları spontan apoptozdan korur (Muzio vd., 2009).

Bununla birlikte, bilinen MyD88 mutantları ve DLBCL'deki spesifik TLR'ler arasındaki biyokimyasal ve fonksiyonel ilişki açıklanmaya devam etmektedir. Bu bağlamda devreye girebilecek bir diğer mekanizma, mutasyona uğramış TIR alanlarının, lenfoma hücre dizilerinde kendiliğinden oligomerize olduğu ve sitozolik Myddosome kompleksleri oluşturduğu gözlenmiştir; ayrıca, lenfoma ile ilişkili TIR domeni mutantları, aşağı yönde NF-kB sinyallemesini başlatmak için vahşi tip MyD88 ile etkileşime girebildiler (Avbelj vd., 2014). Bu bulgu aynı zamanda bir heterozigot MyD88 mutasyon durumunun onkogenik bir sürücü olarak nasıl yeterli olabileceğine dair bir açıklama sağlayabilir.

MyD88 L265P mutantının, özellikle Waldenstrom'un makroglobülinemisinde (LPL) de bilinen bir hastalık varlığı olan, genellikle inatçı, lenfoid malignitelerde olduğu bulunmuştur. Orijinal hasta serileri (Treon vd., 2012), tüm genom dizilimi ile analiz edilen WM hastalarından alınan biyopsi örneklerinin% 91'inin (49/54) MyD88 L265P mutasyonunu taşıdığını, WM kohortlarının bu özel mutasyonun benzer sıklıklarını bulduğunu bildirdi (Treon vd., 2014; Varettoni vd., 2013). DLBCL'de olduğu gibi, çoğu vaka MyD88 L265P için heterozigot olarak mutasyona uğramıştır ve homozigot olan hastalarda heterozigot olanlara kıyasla ayırt edici klinik veya laboratuvar özellikleri saptanmamıştır (Poulain vd., 2013; Treon vd., 2014). MyD88 L265P mutasyonlarında önemli bir artışa sahip olduğu görülen diğer düşük dereceli lenfomalar, mide mukozasına bağlı lenfoid doku (MALT) lenfoma ve dalak marjinal bölge lenfomadır (SMZL); MALT lenfoma hastalarının yüzde 9'unun bir çalışmada mutasyonu taşıdığı gösterilmiştir ve diğer seriler SMZL'nin% 6 ila 15'inde MyD88 L265P tespit etmiştir (Martinez-Lopez vd., 2015; Ngo vd., 2011; Varettoni vd., 2013).

Ağırlıklı olarak ABC DLBCL fenotipi olarak sınıflandırılan primer merkezi sinir sistemi lenfomasının (PCNSL) yüksek MyD88 L265P mutasyonlarına sahip olduğu gösterilmiştir (Braggio vd., 2015; Gonzalez-Aguilar vd., 2012). İlginç bir şekilde, MyD88 L265P mutasyonları, örneğin primer testiküler lenfoma gibi diğer bağışıklık ayrıcalıklı ekstra nodal bölgelerde yüksek frekansta bulunur (Braggio vd., 2015; Gonzalez-Aguilar vd., 2012; Kraan vd., 2014).

Birkaç çalışma, MyD88 mutasyonlarına sahip olduğu saptanan lenfoma hastalarındaki klinik sonuçları analiz etmiştir: WM'de, MyD88'deki somatik mutasyonların klinik sunumun önemli belirleyicileri olduğu ve ayrıca genel sağkalım ile ilişkili olabileceği bulunmuştur. MyD88 L265P'nin yokluğunda, WM'li hastaların kadın olma olasılığı daha yüksek, splenomegali ve ekspres CD27, B hücresi aktivasyonu ve hafızasında yer alabilen tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör ailesinin bir üyesi (Mori vd., 2013; Poulain vd., 2013). MyD88 vahşi tip (MyD88WT) olan hastaların da daha yaşlı olduğu gösterilmiştir (Treon vd., 2014), ancak MyD88 mutasyon durumunun sağkalım üzerindeki etkisi tartışmalıdır. İtalya (Varettoni vd., 2013) ve Hindistan'dan (Patkar vd., 2015) yapılan bağımsız çalışmalar, MyD88 L265P mutasyonu olan hastaların daha fazla hastalık yüküne ve daha yüksek hastalık ilerleme riskine sahip olma olasılığının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bunun yanında tedaviden sonra

ilerleyici hastalık geliştirme olasılığı daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, ABD'den bir çalışma MyD88WT hastalarının takip sırasında progresif hastalıktan anlamlı derecede daha yüksek mortaliteye sahip olduğunu bildirmiştir (Treon vd., 2014). DLBCL'de MyD88 mutasyonları olan hastaların, MyD88'de mutasyonları olmayan hastalardan önemli ölçüde daha yaşlı olduğu bildirilmiştir; bu durum, ABC alt tipinin DLBCL vakalarının oranının ilerleyen yaşla birlikte arttığı gözlemiyle tutarlıdır (Bohers vd., 2014; Mareschal vd., 2011). MyD88 L265P ve DLBCL'deki prognoz ilişkisi açık değildir: yeni teşhis edilmiş 175 DLBCL vakasının retrospektif bir çalışması, MyD88 L265P'nin varlığını bu kohorttaki sonuç için bağımsız bir prognostik faktör olarak tanımlamıştır. Bu çalışmadaki menş hücresel Hans algoritması ile değerlendirilmiş ve MyD88 mutasyonları, ABC DLBCL alt grubunda beklendiği gibi ağırlıklı olarak gözlenmiştir. Çok değişkenli analizde, sadece MyD88 mutasyon durumu, ancak ABC alt tipi değil, 40 aylık takip sonrasında daha düşük OS için tahmin edildi (Fernández-Rodríguez vd., 2014). MyD88 L265P ile daha kötü sonuçlara benzer bir eğilim, bu iki farklı çalışmada istatistiksel anlamlılığa ulaşamamasına rağmen, daha sonraki iki çalışmada bulunmuştur (Cao vd., 2016; Juskevicius vd., 2017).

Başka bir hasta kohortunda, mutasyon durumuna bakılmaksızın MyD88 protein ekspresyonunun tümör nüksü ve hastalıksız sağkalımın kısalması ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunmuştur (Choi vd., 2013). Bu hasta serisinde, IHC tarafından tespit edilen MyD88, DLBCL vakalarının yaklaşık% 40'ında ve çoğunlukla ABC alt tipinde aşırı ifade edildi, ancak MyD88 mutasyon durumu ile ilişkili değildi. Sadece Koreli bir kohort çalışmasında gerçekleştirilen, MyD88 L265P mutasyonunun çok daha düşük bir insidansı tespit edildi (% 6.5) ve mutasyonun varlığının prognostik bir etkisi olduğu gösterilmedi (Sheikh, 2017).

MYD88 mutasyonları KLL'de% 2 ila% 5'e ulaşır ve IGHV M ifade eden hastalar arasında çarpıcı bir şekilde zenginleştirilir (Baliakas vd., 2015). MYD88 mutasyona uğramış (MYD88 M) hastalar önemli ölçüde daha gençtir (Şekil 2.4.), erkek üstünlüğü eğilimi, daha düşük Binet evre A sıklığı ve TP53, NOTCH1, SF3B1, ATM ve BIRC3'te olumsuz sitogenetik değişiklikler veya mutasyonlar neredeyse yoktur ve MYD88 mutasyona uğramamış (MYD88 UM) hastalara göre yüksek CD38 ekspresyonu olan vakaların daha düşük bir yüzdesi vardır (Martínez-Trillos vd., 2014). MYD88 M vakaları ortak bir klišeleştirilmiş BCR alt kümesine atanmamıştır (Baliakas

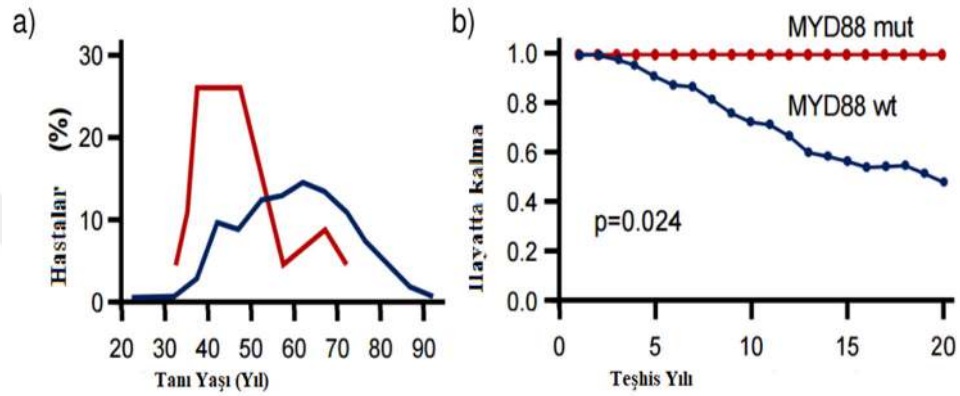
vd., 2015).IGHV M KLL hastaları MYD88 M'nin işletim sistemi MYD88 UM'den önemli ölçüde daha iyi bir OS göstermiştir (Şekil 2.5.), ilk tedaviye kadar geçen süre içinde hiçbir korelasyon yoktur (TTFT) (Carabaza, 2019; Martínez-Trillos vd., 2014).

2.9 Toll Like Receptors

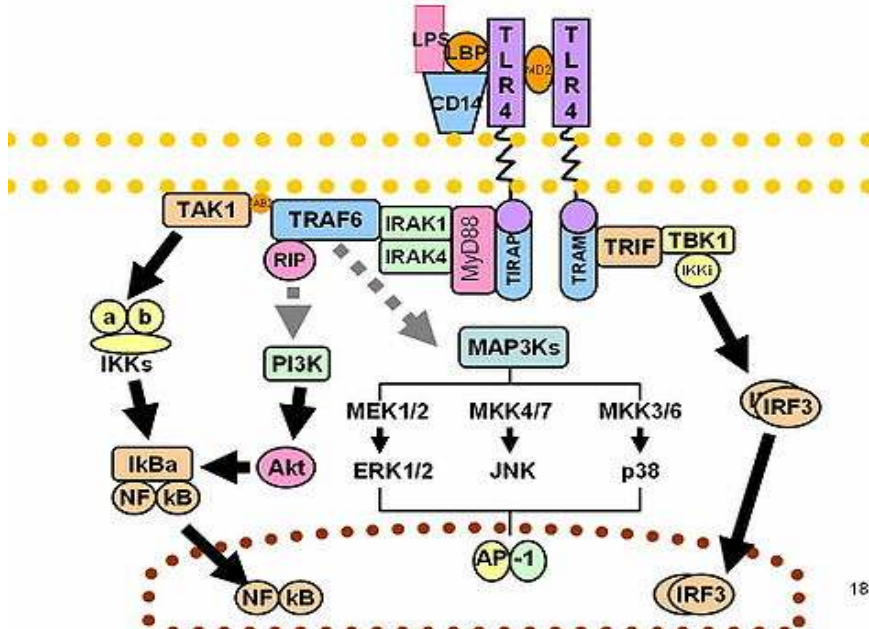
İmmün sistem, doğal ve edinilmiş olmak üzere iki ana bölümde incelenir. Evrim sırasında gelişen ve tüm hayvan ve bitki sınıflarında var olan doğal immünite patojenlerin tanınması için toll benzeri reseptörler (toll like receptors, TLR) ailesini kullanmaktadır. Toll genleri, protein yapısında olan TLR'leri kodlamaktadır. Toll geni ilk defa 1985'te Nobel ödüllü Christiane Nüsslein-Volhard, Eric Weischaus ve arkadaşları tarafından bir meyve sineği olan *Drosophila melanogaster*'de tanımlanmıştır. İlk olarak toll geninin bu sineklerin dorsal-ventral akslarının embriyogenezinde önemli rol oynadığı ortaya konulmuştur. Takip eden yıllarda bu genin memelilerde de var olduğu ve hem memeliler hem omurgasızlarda doğal immünite için gerekli olduğu anlaşılmıştır. Bu gen ve reseptör ailesinin adı 1985'te bu geni ilk bulan ekipten olan Nüsslein-Volhard'ın meyve sineği larvasının dorsal vücut bölümüne göre az gelişmiş olan ventral bölgesini fark ettiğinde hayretini dile getirmek için söylediği "Das ist ja toll" cümlesinden gelmektedir. Almanca'da toll "inanılmaz" veya "harika" demektir.

TLR'ler doğal immünitinin parçaları olan makrofaj ve dendritik hücreler tarafından eksprese edilen tip 1 transmembran proteinleridir. Bu reseptörler ligandların tanınmasından sorumlu ekstraselüler bölüm, transmembran heliks bölümü ve sinyal yollarının başlangıcı olan intraselüler toll-like/interlökin-1 reseptör (TIR) bölümü olmak üzere 3 bölümden oluşmaktadır. İnsanlarda TLR ilk Nomura ve arkadaşları tarafından 1994'te tanımlanmıştır. Ancak o zaman meyve sineğindeki toll'ün immün sistemdeki rolü bilinmediğinden bu reseptörün memelilerin gelişiminde rol oynadığı düşünülmüştür (Nomura vd., 1994; Taguchi vd., 1996). TLR'ün insanlarda edinilmiş immün sistemi de harekete geçirebileceği 1997'de Janeway ve Medzhitov tarafından gösterilmiştir (Medzhitov vd., 1997). TLR4'ün lipopolisakkaritleri algılayan bir reseptör olarak işlev gördüğünü gösteren Dr. Beutler ve Dr. Hoffmann 2011'de bu keşifleri ile Nobel ödülüne layık görülmüşler. Günümüzde insanlarda 12 adet fonksiyonel TLR ve bu reseptörler için birçok ligand tanımlanmıştır. TLR 1, 2, 4, 5, 6

ve 10 çoğunlukla hücre yüzeyinde lokalize olup patojenlere spesifik molekülleri tanırlar. TLR 3, 7, 8 ve 9 ise intraselüler organellerin içinde lokalize olurlar. TLR ilişkili sinyal yolaklarının uyarılması sonucunda interlökin (IL)-1, IL-6, tümör nekroz faktörü (TNF)- α ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ile birlikte edinilmiş immün sistemin aktive olmasında rol oynayan “eş zamanlı uyarı (costimulatory) moleküllerinin” ekspresyonu da gerçekleşmiş olur. Böylece hem doğal hem de edinilmiş bağışıklık sistemleri aktive edilmiş olur (Medzhitov ve Janeway, 1997).



Şekil 2.4 TLR / MYD88 mutasyonlarına göre hastaların yaş dağılımı ve sonuçları



Şekil 2.5 TLR Sinyal Yolağı (Toll-like Receptors (TLRs) (Toll benzeri reseptör - Vikipedi, n.d.)

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmamıza 2018-2020 yılları arasında Sanko Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı'na başvurmuş Kronik Lenfoid Lösemi tanısı konmuş arşivde 18 yaş üzeri 100 hasta grubu ve herhangi bir kanser öyküsü olmayan 18 yaş üzeri sağlıklı 70 birey kontrol grubu olarak alındı. Çalışmalar, Gaziantep Üniversitesi Fen–Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

- Santrifüj (Hettich, Almanya)
- Vorteks (Lab. Companion, Kore)
- Spektrofotometre (ThermoScientific, Amerika Birleşik Devletleri)
- Buzdolabı (Vestel, Türkiye)
- -80° saklama dolabı (ThermoScientific, Amerika Birleşik Devletleri)
- İnkübatör (J.P. Selecta, İspanya)
- StepOnePlus™ Real-time PCR cihazı (AppliedBiosystem, Amerika

BirleşikDevletleri)

- L265p SNP rs387907272 Belirleme Kiti (NükleoGene, Türkiye)
- Taqman Universal Master Mix II (AppliedBiosystem, Amerika Birleşik Devletleri)
- Distiles
- Çekirdek lizis tamponu (Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
- Sodyum dodesil sülfat (Thermo Scientific, Amerika Birleşik

Devletleri)

- Proteinaz K (Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
- Amonyum asetat (Santa Cruz, Amerika Birleşik Devletleri)
- Tris EDTA (Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri)
- Etanol (Sigma Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri)

3.1.2 Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler

- Mikropipetler (1-10µL, 10-100 µL ve 100-1000 µL) (Eppendorf, Almanya)
- Falkon tüp (15 mL) (ISO Lab, Almanya)
- Falkon tüp (50 mL) (ISO Lab, Almanya)
- Steril Filtreli 10 µL, 100 µL ve 1000 µL' lik pipet uçları (Axygen)
- 1.5 mL'likeppendorf tüpler (ISO Lab, Almanya)
- Steril Lateks Eldiven

3.2 Yöntem

Kronik Lenfoid Lösemi (KLL) hastalarında daha önce çalışılmamış olan gen MYD88 geninin bazı bölgelerinin polimorfik dağılımları belirlenerek genotiplendirilme yapılmıştır.

Kronik Lenfoid Lösemi (KLL) hastalarında MYD88 gen polimorfizmlerini araştırmak için insan kanları ile yapılacak olan çalışmamız planlandıktan sonra Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2019/298 karar no protokol kodu ile 18.09.2019 tarihinde izin alındı.

Çalışma Gaziantep Üniversitesi BAP komisyonu tarafından FEF.YLT.20.08 projesi olarak desteklenmiştir.

3.2.1 Kan Örneklerinin Eldesi

Bu çalışmaya, 2018-2020 yılları arasında Sanko Üniversitesi Araştırmave Uygulama Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı'na başvurmuş ve Kronik Lenfoid Lösemi tanısı konmuş 18 yaş üzeri 100 birey hasta grubu ve Gaziantep ilinde ikamet eden, herhangi bir kanser öyküsü olmayan 18 yaş üzeri sağlıklı 70 birey kontrol grubu olarak alınmıştır. Kontrol grubunda yapılacak olan parametreler için 2 ml'lik 2 adet EDTA'lı

tüplere venöz kan alındı. Kanlar, kontrol grubu için sağlıklı bireylerden günün herhangi bir saatinde alındı. Açlık veya tokluk ölçülecek olan parametreleri etkilememektedir. Alınan kan numuneleri L265p T/Crs387907272 promotor bölge gen polimorfizmlerini çalışmak üzere -20°C’de çalışma gününe kadar saklandı. DNA örneklerinin miktar tayini ve saflık derecesi, UV spektrofotometrede sulandırılmış örneklerin 260 ve 280 nm dalga boylarında okuma değerleri alınarak belirlenmiştir. 260 nm dalga boyunda ölçülen absorpsiyon değerleri (A260) total nükleik asit miktarını ve 280 nm dalga boyunda ölçülen absorpsiyon değerleri (A280) ise total protein miktarını göstermektedir. DNA örneğinin saflık derecesi 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan değerler arasındaki oran (OD değeri) (A260/A280) hesaplanarak belirlenmiştir (Sambrook vd., 1989).

3.2.2 Kontrol Grubu ve Hasta Grubu DNA İzolasyonu

Toplanan kan örneklerinden DNA’ların izolasyonu manuel olarak tuzla çöktürme yöntemi kullanılarak yapıldı (Russell ve Sambrook, 2001). İzolasyon iki aşamalı gerçekleştirildi. İlk gün EDTA’lı tüpler içerisinde bulunan kan örnekleri -20 °C’den çıkartılarak oda sıcaklığına ulaşması sağlandı. 5 cc kan, uygun sıcaklığa geldikten sonra 50ml’lik falkon tüplere alınarak üzerine 20 ml soğuk steril distile su eklendi. Eritrositleri patlatmak amacı ile tüpler 5 dakika hızlı bir şekilde çalkalandı. Tüpler 2500 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve peletin üzerine hacim 10 ml’ye tamamlanacak şekilde soğuk steril su eklendi. Pelet çözülene kadar tüpler tekrar kuvvetli bir şekilde çalkalandı. Ardından örnekler 2500 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve peletin üzerine 1,5 ml çekirdek lizis tamponu, 200 ml sodyum dodesil sülfat ve 75 µL proteinaz K eklendi ve karışım vorteks ile homojenize edildi. Tüpler 37 °C’de 16 saat inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün inkübasyondan çıkarılan örnekler 1000 µL amonyum asetat eklendikten sonra hafifçe çalkalanarak oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Daha sonra bekletilen örnekler 3500 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant toplanarak 15 ml’lik falkon tüpe aktarıldı ve üzerine toplam örnek hacminin 2 katı kadar etanol ilave edildi. Tüpler yavaşça yana doğru çevrilerek DNA’nın toparlanması sağlandı. Toparlanan DNA alınarak ependorflara eklediğimiz 200 µL Tris EDTA tamponunda kullanılacak zamana kadar – 80 °C’de bekletildi.

3.2.3 Real Time Online PCR (RT-PCR)

Real Time PCR (Bustin vd., 2005) literature taraması sonucu belirlenen protokole göre hizmet satın alımı ile çalışılmıştır. Bu işlemler esnasında COVID-19 pandemisi sebebiyle labaratuvar çalışmalarına katılım kısıtlanmıştır.

3.2.4 Real Time-PCR Reaksiyon Ortamının Hazırlanması

Her bir polimorfizm için aşağıda belirtilen şekilde Real-Time PCR reaksiyon karışımı hazırlanmıştır.

- a. Taqman universal master mix II 5 μ l
- b. SNP genotyping assay mix 0,25 μ l
- c. Distile su 3,75 μ l olmak üzere toplam hacim 10 μ L'dir.

BÖLÜM 4

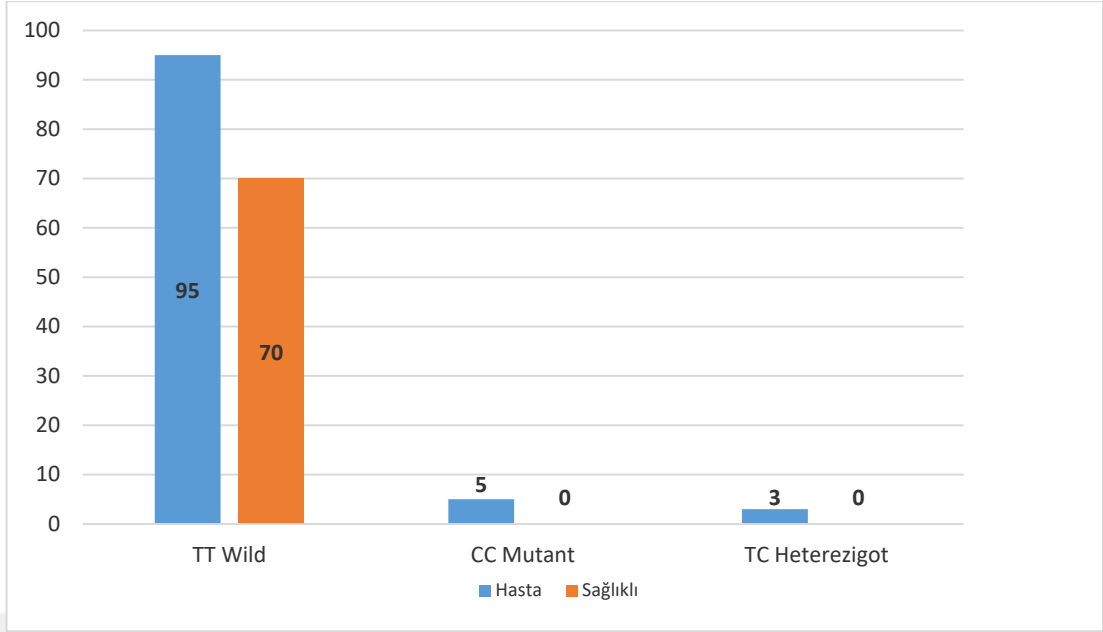
BULGULAR

Çalışmada hasta ve kontrol grubuna ait cinsiyet ve yaş dağılımı Tablo 4.1'de verilmiştir. Hasta ve kontrol grubu DNA örnekleri Real Time PCR yöntemi ile çalışılmıştır.

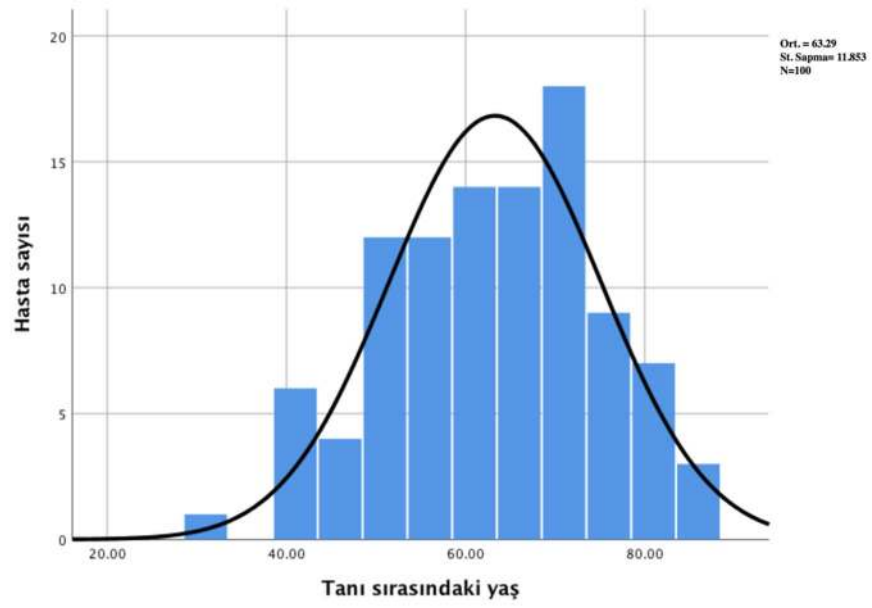
Tablo 4.1 Hasta ve sağlık bireylere göre cinsiyet ve yaş dağılımı

Cinsiyet	Hasta		Sağlıklı	
	N	%	N	%
Kadın	38	38	49	70
Erkek	62	62	21	30
Yaş Minimum	31.00		18.00	
Yaş Maksimum	88.00		85.00	
Yaş Ortalama	63.29 ±11.86		46.20±14.65	

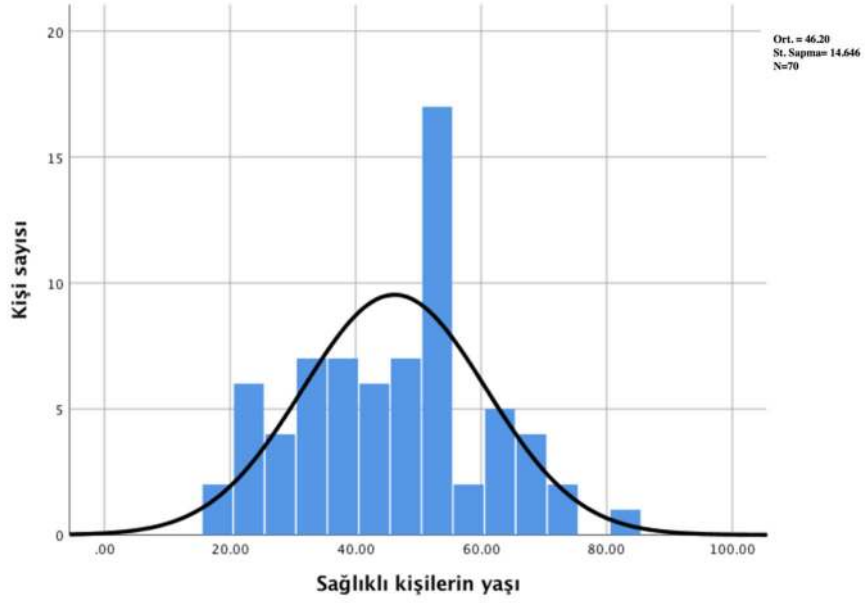
KLL hasta grubunda kadınların oranı %38 iken erkeklerin oranı %62'dir. Sağlıklı birey grubunda ise kadınların oranı %70 iken erkeklerin oranı %30 olmuştur.



Şekil 4.1 Gruplardaki Kişi Sayısı



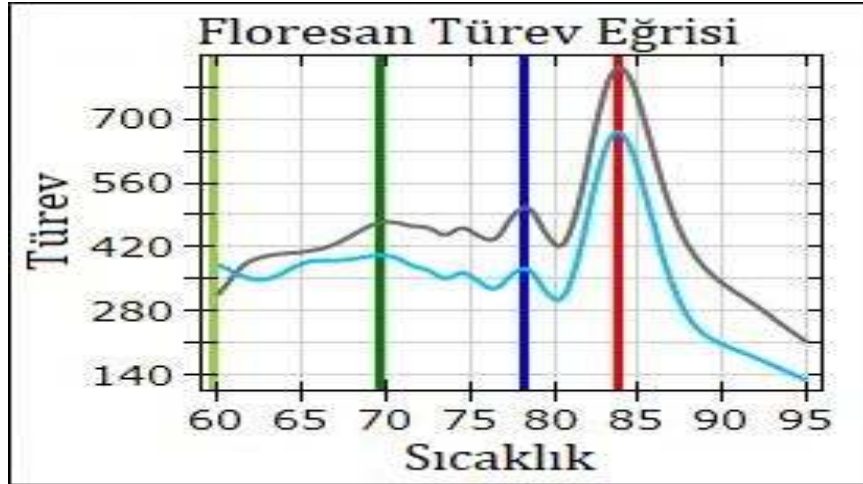
Şekil 4.2 KLL Hastalarının Yaş Dağılımlarına İlişkin Histogram Grafiği



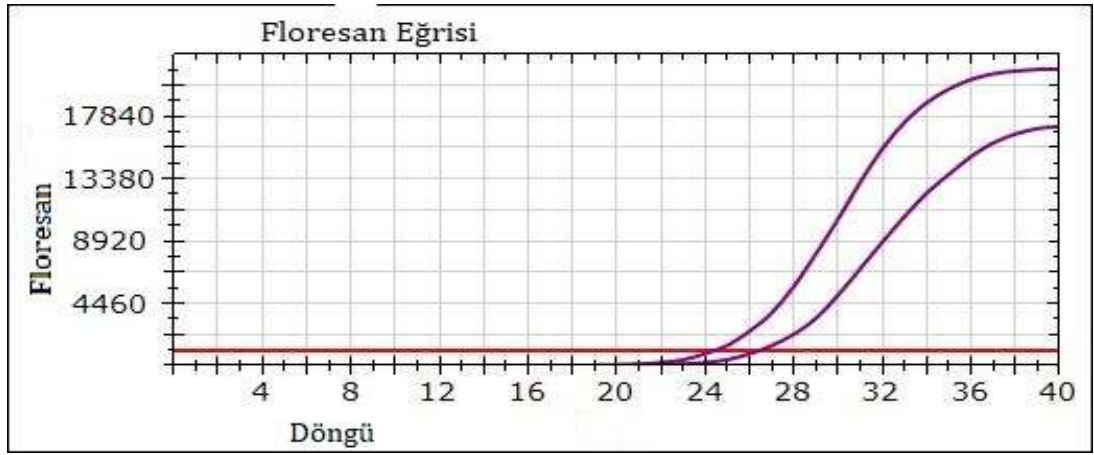
Şekil 4.3 Sağlıklı Bireylerin Yaş Dağılımlarına İlişkin Histogram Grafiği

KLL hastalarının tanı sırasındaki yaşlarına ilişkin histogram grafik ile gösterilmektedir. Sağlık bireylerin yaşlarına ilişkin histogram grafiği ise şekil 4.2.'de sunulmuştur. Çalışmadaki KLL hastaları ile sağlıklı kontrol grubundaki bireylerin cinsiyete göre dağılımı şekil 4.3'de gösterilmektedir.

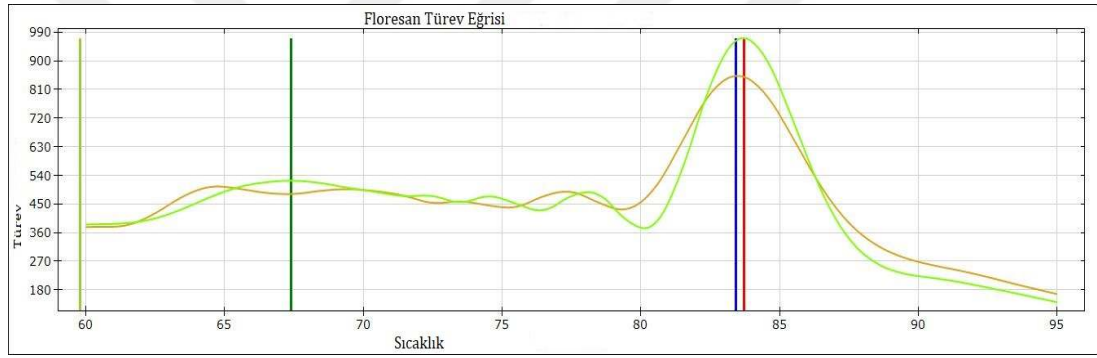
4.1. Polimorfizm Sonuçlarının Değerlendirilmesi



Şekil 4.4 Homozigot-Heterezigot Analizi (Wild Type ve mutant bireylerde aynı sıcaklıkta pik vermiştir. Bu sıcaklık mutant ise homozigot mutant değil ise sağlıklı birey olduğunu göstermektedir.)



Şekil 4.5 Homozigot-Heterezigot Analizinin parametreleri (Wild Type ve mutant bireylerin oluşu heterezigotluğun olduğunu göstermektedir. Erken çıkan pik Wild Type diğeri ise mutant bireye aittir.)



Şekil 4.6 Wild Type-Mutant Analizinin parametreleri (Erime eğrisi analizlerinde mutant ve wild type allelleri mutant bazdan dolayı farklı eğrisi sıcaklıkları verdiği gösterilmiştir. Mutant baz daha yüksek ısıda erime eğrisi analizi vermektedir.)

Tablo 4.2 TT Wild Type (Sağlıklı) İstatiksel Analiz Sonuçları

TT Wild Type	Hasta		Sağlıklı	
	N	%	N	%
Yok	5	5.0%	0	0.0%
Var	95	95.0%	70	100.0%
Toplam	100	100%	70	100%

Fisher's Exact Test.078

Tablo 4.3 CC Mutant İstatiksel Analiz Sonuçları

CC Mutant	Hasta		Sağlıklı	
	N	%	N	%
Yok	95	95.0%	70	100.0%
Var	5	5.0%	0	0.0%
Toplam	100	100%	70	100%

Fisher's Exact Test.078

Tablo 4.4 TC Heterozigot İstatiksel Analiz Sonuçları

TC Heterozigot	Hasta		Sağlıklı	
	N	%	N	%
Yok	97	97.0	70	100.0
Var	3	3.0	0	0.0
Toplam	100	100%	70	100%

Fisher's Exact Test.269

4.1 L365p T/C Real Time PCR Analiz Sonuçları

Verilerin analizinde SPSS 26 Paket Programı kullanılmıştır. Sağlıklı ve hasta sayılarında L265p polimorfizm oranlarını karşılaştırmak için z-oranlar testi ve frekanslarını karşılaştırmak için ise Fisher's Exact yapılmıştır.

Çalışma 2018-2020 yıllarında tanı koyulan ve takibi yapılan 100 hasta ve gönüllü olarak 70 sağlıklı erişkin birey alındı. Çalışmaya gönüllü katılan KLL hastalarının ortalama yaşı 63 (31-88) ve sağlıklı kontrol grubu bireylerinin ortalama yaşı 46 (18-85) olarak bulundu.

Çalışmaya katılan bireyler arasında 95 hasta bireyde 70 sağlıklı bireyde TT Wild Type gen saptanmıştır. Hasta bireylerin 5 tanesinde CC Mutant gen gözlemlenmiş ve 3 hasta bireyde TC Heterozigot gen saptanmıştır. TT (Wild Type), CC (Mutant) ve TC (Heterozigot) veri sonuçları istatistiksel olarak hesaplanmış ve anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.

Çalışmaya 38'i hasta, 87 kadın birey ve 62'si hasta 83 erkek birey dahil edilmiştir. Katılımcılar arasında sağlıklı bireylerin yaş ortalaması min. 18 max. 85 olarak belirlenirken, hasta bireylerde min. 31 max. 88 belirlenmiştir.



BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

B hücreli KLL hastalığı Batı ülkelerin de ve 50 yaş üzerinde olan bireylerde en sık görülmekte olan lösemi tipidir. Hastalık, olgun görünümlü monoklonal B hücrelerinin periferik kan, kemik iliği ve lenfoid organlarda birikimi ile karakterize olmuştur (Rodriguez-Vicente vd., 2013). Aynı zamanda KLL hastalığı B-KLL hücrelerinin aşırı miktarda çoğalmasıyla değil G0/G1 evresindeki apoptoz mekanizmasının durması sonucu hücrelerin birikimiyle karakterize olmaktadır (Kitada vd., 1998). Klinik heterojenlik, KLL'nin belirleyici özelliği olup, bazı hastalar tedaviye ihtiyaç duymadan yıllarca hayatta kalırken, bazılarıysa tedavi edilmediği takdirde erken ilerleme ve kısa bir sağ kalım gösterirler (Bagacean vd., 2017). Evrelemede 2011 yılında yayınlanan bir review'de genel olarak Rai ve Binet evreleme sistemleri kullanıldığı belirtilmiştir. Her iki sistem klinik muayene ve standart laboratuvar testleri ile elde edilen parametrelerden oluşmaktadır bu nedenle elde edilmesi kolaydır (Mc Clanahan ve Dreger, 2011).

KLL'nin etiyolojisi hala net olarak bilinmemektedir. KLL hastalığının etiyolojisi için yapılan araştırmalarda kimyasallara ve radyasyona maruz kalma gibi çevresel faktörlerin KLL ile ilişkisi tam olarak belirtilememiştir (Blair vd., 2007). Doğu kökenli bireylerde daha düşük KLL sıklığı ve aile üyelerinde diğer olgun B hücreli neoplazilerden daha yüksek insidansa sahip olması (%5-10) genetik faktörün önemini yansıtmaktadır (Rodrigues vd., 2016). Son yıllarda NGS tekniğinin gelişimiyle birlikte yapılan çalışmalarda MYD88 genleri KLL de en sık tekrar eden somatik varyasyonlar arasında belirtilmektedir (Guièze vd., 2015). *MYD88* geni doğal ve kazanılmış bağışıklık yanıtında görev alan önemli bir gendir. *MYD88*, TLR ve IL-1R yollarında önemli ölçüde sinyal dönüştürücü olarak görev alır (Amaya-Chanaga ve Rassenti, 2016). *MYD88* L265P missense varyasyonu, KLL olgularında düşük sıklıkta görülmekte olsa da en sık görülmekte olan varyasyonlardan birisi olarak bilinmektedir (Rossi vd., 2013). Bu varyasyonlar, varyasyona uğramış *IGHV*, düşük ZAP-70 ve

CD38 ekspresyon seviyeleri ve normal β 2M seviyeleri ile ilişkilidir ve klinik evreden bağımsız bir şekilde genç hastalarda görülür (Amaya-Chanaga ve Rassenti, 2016). Puente ve arkadaşlarının 2011 yılında yapmış olduğu bir çalışmada *MYD88* L265P gen varyasyonunun ileri klinik evre ve genel sağ kalım üzerinde etkisinin olmadığı belirtilmektedir. Ayrıca *MYD88* varyasyonların, yabanıl tip olan *MYD88* olgularına kıyasla daha genç hastalarda ve tüm varyasyonların *IGHV* varyasyonu bulunan olgularda görüldüğü belirtilmektedir (Puente vd., 2011). 587 KLL hastasından alınan örneklerle yapılan bir çalışmada, *MYD88* L265P (2016) en sık görülen varyasyon olarak belirtilmiştir. *MYD88* varyasyonları, çoğunlukla varyasyon geçiren *IGHV* geni, del (13q), CD38 ve ZAP-70 faktörlerinin düşük eksprese olduğu olgularda görülmüştür. Bu çalışmada *MYD88* varyasyonu olan hastaların varyasyon bulunmayan hastalardan anlamlı olarak daha genç olduğu ve *MYD88* varyasyonunun genç KLL hastalarında olumlu sonuç veren bir popülasyonu temsil ettiğinden bahsedilmiştir (Martínez-Trillos vd., 2014). Bizim çalışmamızda bu çalışma ile benzer olarak KLL hastalarında *MYD88* L265P varyasyonu saptanamamıştır. Yapılan çalışmada *MYD88* mutasyonun sık görülmesi baz alınarak KLL 'de ki görülme sıklığı ile karşılaştırma yapmak için çalışmamız planlanmıştır. Fakat bunun nedeni de anlamlı sonuçlar elde edebilmemiz için çalışmamızda kullanmış olduğumuz hasta sayısının süre yetersizliği sebebi ile yetersiz olmasıdır. Bu nedenle çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir.

Jung-Ah Kim ve ark. 2014 yılında yapmış olduğu farklı bir çalışmada Seoul National University Hastanesinde Aralık 2001 ile Kasım 2012 arasında tedavi edilen yeni teşhis edilmiş 22 WM hastası dahil edilmiştir. Waldenström makroglobulinemili (WM) Koreli hastalarda *MYD88* L265P mutasyonları 6q delesyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. WM, IgM monoklonal gammopati ile birlikte malign bir lenfoplazma-proliferatif bozukluktur. *MYD88* L265P WM için anahtar bir mutasyon niteliği taşımaktadır. Yapılan çalışmada 22 hastanın 18'inde sitogenetik verilerin mevcut olduğu belirtilmiştir. Heparinize BM numuneleri üzerinde standart G-bantlama teknikleri kullanılarak sitogenetik çalışmalar, tanısal çalışmanın bir parçası olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm hastalar Koreli olup, medyan yaşı 63,5'tir (40-88 yaş aralığı). Hastalar 17 erkek (% 77) ve 5 kadın (% 23) olarak belirtilmiştir. Konvansiyonel sitogenetik çalışmanın sonuçları; 18 hastada G-bantlama kullanılarak geleneksel

sitogenetik analiz yapılmıştır. 5 hasta (% 28) yapısal anormallikler sergilemiş, 3 hasta 6q delesyonu ile sunulmuştur. MYD88 geni için dizilemenin mümkün olduğu 16 hastadan 11'i (% 69) L265P mutasyonunu taşıdığı belirtilmiştir. MYD88 mutasyon pozitif ve mutasyon negatif hastalar karşılaştırıldığında, iki grup arasında klinik özellikler ve IgM monoklonal protein seviyeleri açısından anlamlı farklılık bulunamamıştır. Bu çalışma, Koreli WM hastalarında MYD88 L265P mutasyon durumunu açıklayan ilk rapordur. MYD88 L265P mutasyonu, genetik analizler için kullanılan yöntem ve dokulara bağlı olarak, WM ile ilgili son çalışmalarda yaygın olarak % 70-100 sıklıkta olduğu bildirilmiştir. MYD88 L265P mutasyonu ayrıca, önemi bilinmeyen IgM monoklonal gammopatisi olan hastalarda (IgM MGUS) WM'den daha düşük bir frekansta,% 10 ila 87 arasında bulunabilir. MYD88 L265P mutasyon sıklığı, splenik marjinal bölge B hücre lenfoması, multipl miyelom ve kronik lenfositik lösemi (<%10) gibi diğer ilgili kronik B hücre lenfoproliferatif bozukluklarda çok daha düşük olduğundan bu mutasyonun varlığı WM'yi diğer B hücresi ile ilişkili bozukluklardan ayırt eder ve WM için potansiyel bir terapötik hedef olabilir. Çalışmanın sonucu olarak, Koreli WM hastalarında MYD88 L265p mutasyonu ve 6q delesyonunun yüksek insidansını gözlemlenmiştir. Ayrıca, MYD88 L265P mutasyonu ve 6q delesyonu arasında yeni bir ilişki bulunmuştur. Ancak çalışmanın bulgularının yorumlanması için hasta sayısının artırılması gerektiği belirtilmiştir (Kim vd., 2014).

Jung-Ah Kim ve ark. 2014 yılında yapmış olduğu çalışma sonuçlarına göre MYD88 L265p mutasyonu ile 6q delesyonu arasında bir ilişki bulunmuş fakat bizim çalışmamızda olduğu gibi anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. Hasta sayımız bu çalışmaya oranla daha yüksek olsa da anlamlı sonuçlar elde edilememiştir ve hasta sayısının yetersiz olması anlamlı sonuçlar bulunamaması ile doğrudan ilişkilendirilmiştir. Çalışmamız hasta sayılarının daha fazla olacağı düşünülerek planlanmıştır fakat 2018-2020 yılları arasında Sanko Üniversitesi Üniversitesi Araştırma Hastanesine başvurmuş olan hasta sayısı 100'ü geçmemiştir. Süre yetersizliği sebebiyle çalışma 100 hasta 70 sağlıklı gönüllü ile gerçekleştirilmiştir. Bu sebeple WM hastalığının MYD88 L265p mutasyonu ile 6q delesyonunun doğrudan ilişkili olduğu düşünülerek başlatılan çalışma, bizim yapmış olduğumuz MYD88

L265p mutasyonunun KLL ile ilişkisi olduğu düşünülerek yola çıkılmasıyla benzerlik göstermektedir.

Trakya Üniversitesinde 2019 yılında yapılan bir çalışmada KLL’de SF3B1 ve MYD88 genlerindeki varyasyonlar araştırılmıştır. Araştıma 58 KLL hastası ve 100 sağlıklı kontrol bireyinde gerçekleştirilmiştir. MYD88 L265p’nin KLL’nin kötü seyrinde direk etkili olduğu düşünülerek başlatılan çalışma bu yönüyle bizim yapmış olduğumuz çalışma ile benzerlik göstermektedir. Çalışmada sadece 1 hastada SF3B1 p. K700E varyasyonu gözlenlenmiş olup, hiçbir hastada MYD88 L265p mutasyonu gözlenmemiş olup tüm hasta ve sağlıklı kontrol grubu Wild Type olduğu saptanmıştır. KLL hastaları arasında SF3B1 ve MYD88 genlerinin ne sıklıkla varyasyona uğradığını, tedavi ve genel sağ kalım suresi ile ilişkilerini aydınlatmayı amaçlanmıştır. Çalışmaya katılmayı kabul eden uygun hastaların medyan yaşı literatürle uyumlu olup 64 olarak tespit edilmiş, hastaların 28’i (%48,3) erkek ve 30’u (%51,7) kadındır. Hastaların 8’i (%13,8) Rai 0, 20’si (%34,5) Rai I, 17’si (%29,3) Rai II, 7’si (%12,1) Rai III, 6’sı (%10,3) Rai IV evresinde olarak belirlenmiştir. Hastaların %58,6’sının tedavi almadan takibi yapılırken, %5,17’sine tanıdan hemen sonra tedavi başlanmıştır. SF3B1 ve MYD88 genlerinin varyasyon durumunu incelenip, çalışmanın sonucunda sadece bir hastada SF3B1 geninde p.K700E varyasyonunun olduğu saptanmıştır. Varyasyon saptanan hasta Rai evrelendirme sistemine göre Rai evre IV hastası ve tanı aldıktan hemen sonra tedavi başlanmıştır (Cimşit, 2019). Bu tez çalışması kapsamında araştırılan varyasyonlar bizim çalışmamıza benzer olarak çalışmaya dahil edilen KLL olguları için prognoz ve tedavi açısından anlamlı bulunmamıştır. Bizim çalışmamız ile karşılaştırıldığında ortak olarak her iki çalışma sonucunda öneriler genetik olarak başka verilerin incelenmesi ve farklı varyasyonların araştırılmasıdır.

Trakya Üniversite’sin de yapılmış olan çalışma da bizim çalışmamızdan farklı olarak DNA İzolasyonu onlarda kit kullanılarak bizde ise manuel yöntemle yapılmıştır. Çalışmada yine bizim çalışmamıza benzer şekilde RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Hasta sayıları kıyaslandığında bizim çalışmamızda mevcut olan hasta sayısı neredeyse 2 katı kadar olup anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. İki çalışma kıyaslandığında istatistiksel analizler Trakya Üniversitesinde Ki Kare bizim çalışmamızda ise Fisher's Exact testi uygulanmıştır. Her iki testin sonucu da anlamlı bulunamamıştır.

Sonuç olarak yapmış olduğumuz bu çalışma ile Sanko Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastahanesi Hematoloji Polikliniğine başvuran KLL hastaları arasında *MYD88* genlerinin ne sıklıkla varyasyona uğradığını, tedavi ve genel sağ kalım süreleri ile ilişkilerini aydınlatmayı amaçladık.

MYD88 genlerinin varyasyon durumunu inceledik, çalışmamızın sonucunda sadece beş hastada *L265p mutant* varyasyonunun olduğunu saptadık.

Bu nedenle, örnek sayısının artırılması ile planlanacak ileriki çalışmalarda *L265p rs387907272 T/C SNP*'leri ile KLL arasındaki olası ilişkinin istatistiksel olarak aydınlatılabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma, KLL tanılı hastaların sayısını artırmak ve farklı polimorfizmleri incelemek maksadıyla kurgulanacak çalışmalar için bir başlangıç noktası olarak değerlendirilebilir.

BÖLÜM 6

KAYNAKLAR

- Adachi, O., Kawai, T., Takeda, K., Matsumoto, M., Tsutsui, H., Sakagami, M., Nakanishi, K., Akira, S. (1998). Targeted disruption of the MyD88 gene results in loss of IL-1-and IL-18-mediated function. *Immunity*, **9(1)**, 143–150.
- Alhakeem, S. S. (2017). *Suppression of Anti-Tumor Immunity in Chronic Lymphocytic Leukemia Via Interleukin-10 Production* [Theses and Dissertations--Microbiology, Immunology, and Molecular Genetics].
- Alinari, L., Lapalombella, R., Andritsos, L., Baiocchi, R. A., Lin, T. S., Byrd, J. C. (2007). Alemtuzumab (Campath-1H) in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Oncogene*, **26(25)**, 3644–3653.
- Alsagaby, S. A., Brennan, P., ve Pepper, C. (2016). Key molecular drivers of chronic lymphocytic leukemia. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, **16(11)**, 593–606.
- Amaya-Chanaga, C. I., Rassenti, L. Z. (2016). Biomarkers in chronic lymphocytic leukemia: Clinical applications and prognostic markers. *Best Practice Research Clinical Haematology*, **29(1)**, 79–89.
- American Cancer Society. (2014). *Leukemia--Chronic Lymphocytic*.
- Arceci, R. J., Hann, I. M., Smith, O. P. (2006). *Pediatric hematology* (3th ed). Massachusetts Blackwell.
- Assem, M., Hamid, T. A., Kohla, A., Arsanyos, S. (2009). The prognostic significance of combined expression of ZAP-70 and CD38 in chronic lymphocytic leukemia. *J Egypt Natl Canc Inst*, **21(4)**, 287–297.
- Avbelj, M., Wolz, O.-O., Fekonja, O., Benčina, M., Repič, M., Mavri, J., rüger, J.,

- Schärfe, C., Delmiro Garcia, M., Panter, G. (2014). Activation of lymphoma-associated MyD88 mutations via allosterically-induced TIR-domain oligomerization. *Blood*, **124**(26), 3896–3904.
- Bagacean, C., Le Dantec, C., Berthou, C., Tempescul, A., Saad, H., Bordron, A., Zdrengea, M., Cristea, V., Douet-Guilbert, N., Renaudineau, Y. (2017). Combining cytogenetic and epigenetic approaches in chronic lymphocytic leukemia improves prognosis prediction for patients with isolated 13q deletion. *Clinical Epigenetics*, **9**(1), 1–11.
- Baliakas, P., Hadzidimitriou, A., Agathangelidis, A., Rossi, D., Sutton, L.-A., Kminkova, J., Scarfo, L., Pospisilova, S., Gaidano, G., Stamatopoulos, K. (2015). Prognostic relevance of MYD88 mutations in CLL: the jury is still out. *Blood*, **126**(8), 1043–1044.
- Binet, J. L., Auquier, A., Dighiero, G., Chastang, C., Piguët, H., Goasguen, J., Vaugier, G., Potron, G., Colona, P., Oberling, F. (1981). A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*, **48**(1), 198–206.
- Blachly, J. S., Ruppert, A. S., Zhao, W., Long, S., Flynn, J., Flinn, I., Jones, J., Maddocks, K., Andritsos, L., Ghia, E. M. (2015). Immunoglobulin transcript sequence and somatic hypermutation computation from unselected RNA-seq reads in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**(14), 4322–4327.
- Blair, A., Purdue, M. P., Weisenburger, D. D., Baris, D. (2007). Chemical exposures and risk of chronic lymphocytic leukaemia. *British Journal of Haematology*, **139**(5), 753–761.
- Bohers, E., Mareschal, S., Bouzefen, A., Marchand, V., Ruminy, P., Maingonnat, C., Ménard, A., Etancelin, P., Bertrand, P., Dubois, S. (2014). Targetable activating mutations are very frequent in GCB and ABC diffuse large B-cell lymphoma. *Genes, Chromosomes and Cancer*, **53**(2), 144–153.
- Boonstra, J. G., van Lom, K., Langerak, A. W., Graveland, W. J., Valk, P. J. M., Kraan,

- J., van't Veer, M. B., Gratama, J. W. (2006). CD38 as a prognostic factor in B cell chronic lymphocytic leukaemia (B-CLL): Comparison of three approaches to analyze its expression. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, **70(3)**, 136–141.
- Braggio, E., Van Wier, S., Ojha, J., McPhail, E., Asmann, Y. W., Egan, J., Da Silva, J. A., Schiff, D., Lopes, M. B., Decker, P. A. (2015). Genome-wide analysis uncovers novel recurrent alterations in primary central nervous system lymphomas. *Clinical Cancer Research*, **21(17)**, 3986–3994.
- Brown, J. R. (2008). Inherited predisposition to chronic lymphocytic leukemia. *Expert Review of Hematology*, **1(1)**, 51–61 [2021].
- Bustin, S. A., Benes, V., Nolan, T., Pfaffl, M. W. (2005). Quantitative real-time RT-PCR—a perspective. *Journal of Molecular Endocrinology*, **34(3)**, 597–601.
- Cao, Y., Zhu, T., Zhang, P., Xiao, M., Yi, S., Yang, Y., Li, Q., Ling, S., Wang, Y., Gao, L. (2016). Mutations or copy number losses of CD58 and TP53 genes in diffuse large B cell lymphoma are independent unfavorable prognostic factors. *Oncotarget*, **7(50)**, 83294.
- Caporaso, N., Goldin, L., Plass, C., Calin, G., Marti, G., Bauer, S., Raveche, E., McMaster, M. Lou, Ng, D., Landgren, O. (2007). Chronic lymphocytic leukaemia genetics overview. *British Journal of Haematology*, **139(5)**, 630–634.
- Caporaso, N., Goldin, L., Plass, C., Calin, G., Marti, G., Bauer, S., Raveche, E., McMaster, M. Lou, Ng, D., Landgren, O., Slager, S. (2007). Chronic lymphocytic leukaemia genetics overview. In *British Journal of Haematology* **139(5)**, 630–634).
- Carabaza, N. G. (2019). *Targeted Therapies in CLL: New drugs against CLL recurrent mutations*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Barcelona Üniversitesi [2021].
- Chiorazzi, N. (2012). Implications of new prognostic markers in chronic lymphocytic

leukemia. *Hematology 2010, the American Society of Hematology Education Program Book*, **2012(1)**, 76–87.

Chiorazzi, N., & Ferrarini, M. (2003). B cell chronic lymphocytic leukemia: lessons learned from studies of the B cell antigen receptor. *Annual Review of Immunology*, **21(1)**, 841–894.

Chiorazzi, N., Rai, K. R., & Ferrarini, M. (2005). Chronic Lymphocytic Leukemia. *New England Journal of Medicine*, **352(8)**, 804–815.

Choi, J.-W., Kim, Y., Lee, J.-H., Kim, Y.-S. (2013). MYD88 expression and L265P mutation in diffuse large B-cell lymphoma. *Human Pathology*, **44(7)**, 1375–1381.

Cimşit, G. (2019). *Kronik lenfositik lösemide SF3B1 ve MYD88 genlerindeki varyasyonların araştırılması*. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü [2021].

Coombs, C. C., Rassenti, L. Z., Falchi, L., Slager, S. L., Strom, S. S., Ferrajoli, A., Weinberg, J. B., Kipps, T. J., Lanasa, M. C. (2012). Single nucleotide polymorphisms and inherited risk of chronic lymphocytic leukemia among African Americans. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **120(8)**, 1687–1690.

Cunningham, L. M., Chapman, C., Dunstan, R., Bell, M. C., Joske, D. J. L. (2003). Polymorphisms in the interleukin 10 gene promoter are associated with susceptibility to aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia & Lymphoma*, **44(2)**, 251–255.

Dai, Z. M., He, A. L., Zhang, W. G., Liu, J., Cao, X. M., Chen, Y. X., Ma, X. R., Zhao, W. H., Dai, Z. J. (2014). Association of the four common polymorphisms in interleukin-10 (rs1800890, rs1800896, rs1800871, And rs1800872) with non-Hodgkin's lymphoma risk: A meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, **7(12)**, 4720–4733.

Dameshek, W. (1967). Chronic lymphocytic leukemia—an accumulative disease of

immunologically incompetent lymphocytes. *Blood*, **29(4)**, 566–584.

Damle, R. N., Wasil, T., Fais, F., Ghiotto, F., Valetto, A., Allen, S. L., Buchbinder, A., Budman, D., Dittmar, K., Kolitz, J. (1999). Ig V Gene Mutation Status and CD38 Expression As Novel Prognostic Indicators in Chronic Lymphocytic Leukemia: Presented in part at the 40th Annual Meeting of The American Society of Hematology, held in Miami Beach, FL, December 4-8, 1998. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **94(6)**, 1840–1847.

Deguine, J., Barton, G. M. (2014). MyD88: a central player in innate immune signaling. *F1000prime Reports*, 6.

DeVita, V. T., Lawrence, T. S., Rosenberg, S. A. (1997). *DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology* (Fifth Editi). Lippincott-Raven.

Dielschneider, R. F., Xiao, W., Yoon, J. Y., Noh, E., Banerji, V., Li, H., Marshall, A. J., Johnston, J. B., Gibson, S. B. (2014). Gefitinib targets ZAP-70-expressing chronic lymphocytic leukemia cells and inhibits B-cell receptor signaling. *Cell Death & Disease*, **5(10)**, e1439–e1439.

Dighiero, G., Maloum, K., Desablens, B., Cazin, B., Navarro, M., Leblay, R., Leporrier, M., Jaubert, J., Lepeu, G., Dreyfus, B. (1998). Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. *New England Journal of Medicine*, **338(21)**, 1506–1514.

Döhner, H., Stilgenbauer, S., Benner, A., Leupolt, E., Kröber, A., Bullinger, L., Döhner, K., Bentz, M., Lichter, P. (2000). Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *New England Journal of Medicine*, **343(26)**, 1910–1916.

Ekmekçi, A., Konaç, E., Önen, H. İ. (2008). *Gene polymorphism and genetic susceptibility to cancer*.

Fernández-Rodríguez, C., Bellosillo, B., García-García, M., Sánchez-González, B.,

- Jimeno, E., Vela, M. C., Serrano, S., Besses, C., Salar, A. (2014). MYD88 (L265P) mutation is an independent prognostic factor for outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*, **28(10)**, 2104–2106.
- Finn, W. G., Peterson, L. C. (2004). *Hematopathology in oncology*. Cluwer Academic.
- Furman, R. R., Sharman, J. P., Coutre, S. E., Cheson, B. D., Pagel, J. M., Hillmen, P., Barrientos, J. C., Zelenetz, A. D., Kipps, T. J., Flinn, I. (2014). Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *New England Journal of Medicine*, **370(11)**, 997–1007.
- Goldin, L. R., Slager, S. L., Caporaso, N. E. (2010). Familial chronic lymphocytic leukemia. *Current Opinion in Hematology*, **17(4)**, 350.
- Gonzalez-Aguilar, A., Idbaih, A., Boisselier, B., Habbita, N., Rossetto, M., Laurence, A., Bruno, A., Jouvett, A., Polivka, M., Adam, C. (2012). Recurrent mutations of MYD88 and TBL1XR1 in primary central nervous system lymphomas. *Clinical Cancer Research*, **18(19)**, 5203–5211.
- Groth, T., Seifert, B., Malsch, G., Albrecht, W., Paul, D., Kostadinova, A., Krasteva, N., Altankov, G. (2002). Interaction of human skin fibroblasts with moderate wettable polyacrylonitrile-copolymer membranes. *Journal of Biomedical Materials Research*.
- Gruber, M., Wu, C. J. (2014). Evolving understanding of the CLL genome. *Seminars in Hematology*, **51(3)**, 177–187.
- Guièze, R., Robbe, P., Clifford, R., de Guibert, S., Pereira, B., Timbs, A., Dilhuydy, M.-S., Cabes, M., Ysebaert, L., Burns, A. (2015). Presence of multiple recurrent mutations confers poor trial outcome of relapsed/refractory CLL. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **126(18)**, 2110–2117.
- Hallek, M., Cheson, B. D., Catovsky, D., Caligaris-Cappio, F., Dighiero, G., Döhner, H., Hillmen, P., Keating, M. J., Montserrat, E., Rai, K. R., Kipps, T. J. (2008). Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia:

a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute–Working Group 1996 guidelines. *Blood*, **111(12)**, 5446–5456.

Hamblin, T. J., Davis, Z., Gardiner, A., Oscier, D. G., Stevenson, F. K. (1999). Unmutated Ig VH genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **94(6)**, 1848–1854.

Herling, M., Patel, K. A., Weit, N., Lilienthal, N., Hallek, M., Keating, M. J., Jones, D. (2009). High TCL1 levels are a marker of B-cell receptor pathway responsiveness and adverse outcome in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, **114(21)**, 4675–4686.

Hermelink, H. K., Montserrat, E., Catovsky, D., Harris, N. L. (2001). *Chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma* (V. J. Jaffe ES, Harris NL, Stein H (Ed.)). Lyon, France: IARC Press.

Horng, T., Medzhitov, R. (2001). Drosophila MyD88 is an adapter in the Toll signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98(22)**, 12654–12658.

Horwitz, S. M., Zelenetz, A. D., Gordon, L. I., Wierda, W. G., Abramson, J. S., Advani, R. H., Andreadis, C. B., Bartlett, N., Byrd, J. C., Fayad, L. E., Fisher, R. I., Glenn, M. J., Habermann, T. M., Lee Harris, N., Hernandez-Ilizaliturri, F., Hoppe, R. T., Kaminski, M. S., Kelsey, C. R., Kim, Y. H., ... Porcu, P. (2016). NCCN Guidelines Insights: Non-Hodgkin's Lymphomas, Version 3.2016. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, **14(9)**, 1067–1079.

Hüttmann, A., Klein-Hitpass, L., Thomale, J., Deenen, R., Carpinteiro, A., Nüchel, H., Ebeling, P., Führer, A., Edelmann, J., Sellmann, L. (2006). Gene expression signatures separate B-cell chronic lymphocytic leukaemia prognostic subgroups defined by ZAP-70 and CD38 expression status. *Leukemia*, **20(10)**, 1774–1782.

- Into, T., Inomata, M., Niida, S., Murakami, Y., Shibata, K. (2010). Regulation of MyD88 aggregation and the MyD88-dependent signaling pathway by sequestosome 1 and histone deacetylase 6. *Journal of Biological Chemistry*, **285**(46), 35759–35769.
- Janssens, S., Burns, K., Vercammen, E., Tschopp, J., Beyaert, R. (2003). MyD88S, a splice variant of MyD88, differentially modulates NF- κ B- and AP-1-dependent gene expression. *FEBS Letters*, **548**(1–3), 103–107.
- Juskevicius, D., Jucker, D., Klingbiel, D., Mamot, C., Dirnhofer, S., Tzankov, A. (2017). Mutations of CREBBP and SOCS1 are independent prognostic factors in diffuse large B cell lymphoma: mutational analysis of the SAKK 38/07 prospective clinical trial cohort. *Journal of Hematology & Oncology*, **10**(1), 70.
- Kang, X., Kim, H.-J., Ramirez, M., Salameh, S., Ma, X. (2010). The septic shock-associated IL-10 –1082 A>G polymorphism mediates allele-specific transcription via poly (ADP-Ribose) polymerase 1 in macrophages engulfing apoptotic cells. *The Journal of Immunology*, **184**(7), 3718–3724.
- Kawai, T., Adachi, O., Ogawa, T., Takeda, K., Akira, S. (1999). Unresponsiveness of MyD88-deficient mice to endotoxin. *Immunity*, **11**(1), 115–122.
- Kern, W. F. (2005). *PDQ hematology*. BC Decker Inc. Khan, J. A., Brint, E. K., O'Neill, L. A. J., Tong, L. (2004). Crystal structure of the Toll/interleukin-1 receptor domain of human IL-1RAPL. *Journal of Biological Chemistry*, **279**(30), 31664–31670.
- Kim, J.-A., Im, K., Park, S. N., Kwon, J., Choi, Q., Hwang, S. M., Sekiguchi, N., Yoon, S.-S., Lee, D. S., Kim, S. Y. (2014). MYD88 L265P mutations are correlated with 6q deletion in Korean patients with Waldenström macroglobulinemia. *BioMed Research International*, 2014.
- Kipps, T. J., Stevenson, F. K., Wu, C. J., Croce, C. M., Packham, G., Wierda, W. G., O'Brien, S., Gribben, J., Rai, K. (2017). Chronic lymphocytic leukaemia. *Nature Reviews Disease Primers*, **3**(1), 16096.

- Kitada, S., Andersen, J., Akar, S., Zapata, J. M., Takayama, S., Krajewski, S., Wang, H.-G., Zhang, X., Bullrich, F., Croce, C. M. (1998). Expression of apoptosis-regulating proteins in chronic lymphocytic leukemia: correlations with in vitro and in vivo chemoresponses. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **91**(9), 3379–3389.
- Knittel, G., Liedgens, P., Korovkina, D., Pallasch, C. P., Reinhardt, H. C. (2016). Rewired NFκB signaling as a potentially actionable feature of activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. *European Journal of Haematology*, **97**(6), 499–510.
- Kraan, W., van Keimpema, M., Horlings, H. M., Schilder-Tol, E. J. M., Oud, M. E. C. M., Noorduin, L. A., Kluin, P. M., Kersten, M. J., Spaargaren, M., Pals, S. T. (2014). High prevalence of oncogenic MYD88 and CD79B mutations in primary testicular diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*, **28**(3), 719–720.
- Kufe Donald, W., Pollock Raphael, E., Weichselbaum Ralph, R., Bast Robert, C., Gansler Ted Jr, S., Holland James, F. (2003). *Frei Emil III: Pyrimidine and Purine Antimetabolites*. BC Decker Inc. Kulis, M., Heath, S., Bibikova, M., Queirós, A. C., Navarro, A., Clot, G., Martínez-Trillos, A., Castellano, G., Brun-Heath, I., Pinyol, M. (2012). Epigenomic analysis detects widespread gene-body DNA hypomethylation in chronic lymphocytic leukemia. *Nature Genetics*, **44**(11), 1236–1242.
- Lord, K. A., Hoffman-Liebermann, B., Liebermann, D. A. (1990). Nucleotide sequence and expression of a cDNA encoding MyD88, a novel myeloid differentiation primary response gene induced by IL6. *Oncogene*, **5**(7), 1095–1097.
- Mareschal, S., Lanic, H., Ruminy, P., Bastard, C., Tilly, H., Jardin, F. (2011). The proportion of activated B-cell like subtype among de novo diffuse large B-cell lymphoma increases with age. *Haematologica*, **96**(12), 1888–1890.
- Marti, G. E., Rawstron, A. C., Ghia, P., Hillmen, P., Houlston, R. S., Kay, N., Schleinitz, T. A., Caporaso, N., Consortium, I. F. C. L. L. (2005). Diagnostic

- criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis. *British Journal of Haematology*, **130(3)**, 325–332.
- Martinez-Lopez, A., Curiel-Olmo, S., Mollejo, M., Cereceda, L., Martinez, N., Montes-Moreno, S., Almaraz, C., Revert, J. B., Piris, M. A. (2015). MYD88 (L265P) somatic mutation in marginal zone B-cell lymphoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, **39(5)**, 644–651.
- Martínez-Trillos, A., Pinyol, M., Navarro, A., Aymerich, M., Jares, P., Juan, M., Rozman, M., Colomer, D., Delgado, J., Giné, E. (2014). Mutations in TLR/MYD88 pathway identify a subset of young chronic lymphocytic leukemia patients with favorable outcome. *Blood*, **123(24)**, 3790–3796.
- Mc Clanahan, F., Dreger, P. (2011). Current strategies for the diagnosis and management of chronic lymphocytic leukemia (CLL), with a focus on poor-risk CLL: A review. *Turkish Journal of Hematology*, **28(2)**.
- Medzhitov, R., Janeway, C. A. (1997). Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*, **91(3)**, 295–298.
- Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, P., Janeway, C. A. (1997). A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, **388(6640)**, 394–397.
- Melo, J. V, Catovsky, D., Gregory, W. M., Galton, D. A. G. (1987). The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia: IV. Analysis of survival and prognostic features. *British Journal of Haematology*, **65(1)**, 23–29.
- Mitsui, T., Koiso, H., Nakahashi, H., Saitoh, A., Shimizu, H., Ishizaki, T., Ogawa, Y., Takizawa, M., Yokohama, A., Saitoh, T. (2016). SF3B1 and IGHV gene mutation status predict poor prognosis in Japanese CLL patients. *International Journal of Hematology*, **103(2)**, 219–226.
- Mohamed, A. (2019). *Deciphering the ontogeny of unmutated and mutated subsets of Chronic Lymphocytic Leukemia*.

- Montserrat, E., Moreno, C. (2008). Chronic lymphocytic leukaemia: a short overview. *Annals of Oncology*, **19**, vii320–vii325.
- Moreno, C., Montserrat, E. (2008). New prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Reviews*, **22**(4), 211–219.
- Mori, N., Ohwashi, M., Yoshinaga, K., Mitsuhashi, K., Tanaka, N., Teramura, M., Okada, M., Shiseki, M., Tanaka, J., Motoji, T. (2013). L265P mutation of the MYD88 gene is frequent in Waldenström's macroglobulinemia and its absence in myeloma. *PLoS One*, **8**(11), e80088.
- Morrison, V. A. (2010). Infectious complications of chronic lymphocytic leukaemia: pathogenesis, spectrum of infection, preventive approaches. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, **23**(1), 145–153.
- Muzio, M., Scielzo, C., Bertilaccio, M. T. S., Frenquelli, M., Ghia, P., Caligaris-Cappio, F. (2009). Expression and function of toll like receptors in chronic lymphocytic leukaemia cells. *British Journal of Haematology*, **144**(4), 507–516.
- Ngo, V. N., Young, R. M., Schmitz, R., Jhavar, S., Xiao, W., Lim, K.-H., Kohlhammer, H., Xu, W., Yang, Y., Zhao, H. (2011). Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature*, **470**(7332), 115–119.
- Niemeyer, C. M., & Sallan, S. E. (1993). Acute lymphoblastic leukemia. In D. G. Nathan (Ed.), *Hematology of Infancy and Childhood II*. (pp. 1249–1353). Philadelphia: WB Saunders.
- Nomura, N., Miyajima, N., Sazuka, T., Tanaka, A., Kawarabayasi, Y., Sato, S., Nagase, T., Seki, N., Ishikawa, K., Tabata, S. (1994). Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. I. The coding sequences of 40 new genes (KIAA0001-KIAA0040) deduced by analysis of randomly sampled cDNA clones from human immature myeloid cell line KG-1. *DNA Research*, **1**(1), 27–35.
- Nosari, A. (2012). Infectious complications in chronic lymphocytic leukemia.

- Nussbaum, R. L., McInnes, R. R., Willard, H. F., Boerkoel III, C. F. (2005). *Thompson & Thompson Tibbi Genetik. 6. baskı*. Ankara, Güneş Kitabevi.
- Oscier, D., Fegan, C., Hillmen, P., Illidge, T., Johnson, S., Maguire, P., Matutes, E., Milligan, D., Haematology, G. W. G. of the U. K. C. L. L. F. B. C. for S. in. (2004). Guidelines on the diagnosis and management of chronic lymphocytic leukaemia. *British Journal of Haematology*, **125(3)**, 294.
- Parikh, S. A. (2018). Chronic lymphocytic leukemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer Journal*, **8(10)**, 1–10.
- Patkar, N., Subramanian, P. G., Deshpande, P., Ghodke, K., Tembhare, P., Mascarenhas, R., Muranjan, A., Chaudhary, S., Bagal, B., Gujral, S. (2015). MYD88 mutant lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia has distinct clinical and pathological features as compared to its mutation negative counterpart. *Leukemia & Lymphoma*, **56(2)**, 420–425.
- Poplack, D. G., Morgolin, J. F. (1997). Management of common cancers of childhood. In D. G. Poplack (Ed.), *Principles and practice of pediatric oncology I*. (pp. 409–504). Saunders.
- Poulain, S., Roumier, C., Decambron, A., Renneville, A., Herbaux, C., Bertrand, E., Tricot, S., Daudignon, A., Galiègue-Zouitina, S., Soenen, V. (2013). MYD88 L265P mutation in Waldenström macroglobulinemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **121(22)**, 4504–4511.
- Puente, X. S., Pinyol, M., Quesada, V., Conde, L., Ordóñez, G. R., Villamor, N., Escaramis, G., Jares, P., Beà, S., González-Díaz, M. (2011). Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*, **475(7354)**, 101–105.
- Rassenti, L. Z., Jain, S., Keating, M. J., Wierda, W. G., Grever, M. R., Byrd, J. C., Kay, N. E., Brown, J. R., Gribben, J. G., Neuberg, D. S. (2008). Relative

value of ZAP-70, CD38, and immunoglobulin mutation status in predicting aggressive disease in chronic lymphocytic leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **112(5)**, 1923–1930.

Ravandi, F., O'Brien, S. (2006). Immune defects in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **55(2)**, 197–209.

Rawstron, A. C., Fazi, C., Agathangelidis, A., Villamor, N., Letestu, R., Nomdedeu, J., Palacio, C., Stehlíková, O., Kreuzer, K. A., Liptrot, S. (2016). A complementary role of multiparameter flow cytometry and high-throughput sequencing for minimal residual disease detection in chronic lymphocytic leukemia: an European Research Initiative on CLL study. *Leukemia*, **30(4)**, 929–936.

Redaelli, A., Laskin, B. L., Stephens, J. M., Botteman, M. F., Pashos, C. L. (2004). The clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukaemia. *European Journal of Cancer Care*, **13(3)**, 279–287.

Ries, L. A. G., Harkins, D., Krapcho, M., Mariotto, A., Miller, B. A., Feuer, E. J., Clegg, L. X., Eisner, M. P., Horner, M.-J., Howlader, N. (2006). *SEER cancer statistics review, 1975-2003*.

Rodrigues, C. A., Gonçalves, M. V., Ikoma, M. R. V., Lorand-Metze, I., Pereira, A. D., Farias, D. L. C. de, Chauffaille, M. de L. L. F., Schaffel, R., Ribeiro, E. F. O., Rocha, T. S. da. (2016). Diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: recommendations from the Brazilian Group of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, **38(4)**, 346–357.

Rodríguez-Vicente, A. E., Bikos, V., Hernández-Sánchez, M., Malcikova, J., Hernández-Rivas, J.-M., Pospisilova, S. (2017). Next-generation sequencing in chronic lymphocytic leukemia: recent findings and new horizons. *Oncotarget*, **8(41)**, 71234.

Rodriguez-Vicente, A. E., Díaz, M. G., Hernández-Rivas, J. M. (2013). Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogenous disease. *Cancer*

Genetics, **206(3)**, 49–62.

Rosmarin, A. G., Yang, Z., Resendes, K. K. (2005). Transcriptional regulation in myelopoiesis: Hematopoietic fate choice, myeloid differentiation, and leukemogenesis. *Experimental Hematology*, **33(2)**, 131–143.

Rossi, D., Ciardullo, C., Spina, V., Gaidano, G. (2013). Molecular bases of chronic lymphocytic leukemia in light of new treatments. *Immunology Letters*, **155(1–2)**, 51–55.

Royle, J. A., Baade, P. D., Joske, D., Girschik, J., Fritschi, L. (2011). Second cancer incidence and cancer mortality among chronic lymphocytic leukaemia patients: a population-based study. *British Journal of Cancer*, **105(7)**, 1076–1081.

Ruddon, R. W. (1995). *Cancer biology* (Third Edit). Oxford University Press.

Russell, D. W., Sambrook, J. (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual* (Vol. 1). Cold Spring Harbor Laboratory Cold Spring Harbor, NY.

Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*. (Issue Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press.

Scanga, C. A., Aliberti, J., Jankovic, D., Tilloy, F., Bennouna, S., Denkers, E. Y., Medzhitov, R., Sher, A. (2002). Cutting edge: MyD88 is required for resistance to *Toxoplasma gondii* infection and regulates parasite-induced IL-12 production by dendritic cells. *The Journal of Immunology*, **168(12)**, 5997–6001.

Schweighofer, C. D., Coombes, K. R., Majewski, T., Barron, L. L., Lerner, S., Sargent, R. L., O'Brien, S., Ferrajoli, A., Wierda, W. G., Czerniak, B. A. (2013). Genomic variation by whole-genome SNP mapping arrays predicts time-to-event outcome in patients with chronic lymphocytic leukemia: a comparison of CLL and HapMap genotypes. *The Journal of Molecular Diagnostics*, **15(2)**, 196–209.

Shaffer III, A. L., Young, R. M., Staudt, L. M. (2012). Pathogenesis of human B cell

- lymphomas. *Annual Review of Immunology*, 30, 565–610.
- Shanafelt, T. D., Byrd, J. C., Call, T. G., Zent, C. S., Kay, N. E. (2006). Narrative review: initial management of newly diagnosed, early-stage chronic lymphocytic leukemia. *Annals of Internal Medicine*, **145**(6), 435–447.
- Sheikh, S. (2017). *Translational development of MyD88 as a biomarker for selecting patients with lymphoma responsive to histone deacetylase inhibitors*.
- Shelmani, G. (2017). *Exploring Novel Stratified Therapeutic Targets in B- Cell Chronic Lymphocytic Leukaemia*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, University of Leicester. [2021]
- Shipley, J. L., Butera, J. N. (2009). Acute myelogenous leukemia. *Experimental Hematology*, **37**(6), 649–658.
- Slager, S. L., Caporaso, N. E., De Sanjose, S., Goldin, L. R. (2013). Genetic susceptibility to chronic lymphocytic leukemia. *Seminars in Hematology*, **50**(4), 296–302.
- Speck, N. A., Gilliland, D. G. (2002). Core-binding factors in haematopoiesis and leukaemia. *Nature Reviews Cancer*, **2**(7), 502–513.
- Taguchi, T., Testa, J. R., Mitcham, J. L., Dower, S. K., Sims, J. E. (1996). Chromosomal localization of TIL, a gene encoding a protein related to the Drosophila transmembrane receptor Toll, to human chromosome 4p14. *Genomics*, **32**(3).
- Takahashi, S. (2011). Current findings for recurring mutations in acute myeloid leukemia. *BioMed Central*, 143.
- Takeuchi, O., Hoshino, K., Akira, S. (2000). Cutting edge: TLR2-deficient and MyD88-deficient mice are highly susceptible to Staphylococcus aureus infection. *The Journal of Immunology*, **165**(10), 5392–5396.
- Tobin, G., Thunberg, U., Johnson, A., Eriksson, I., Söderberg, O., Karlsson, K., Merup, M., Juliusson, G., Vilpo, J., Enblad, G. (2003). Chronic lymphocytic

leukemias utilizing the VH3-21 gene display highly restricted V λ 2-14 gene use and homologous CDR3s: implicating recognition of a common antigen epitope. *Blood*, **101(12)**, 4952–4957.

Toll benzeri reseptör - Vikipedi. (n.d.). Retrieved September 27, 2021, from https://tr.wikipedia.org/wiki/Toll_benzeri_reseptör 12.09.2021

Treon, S. P., Cao, Y., Xu, L., Yang, G., Liu, X., Hunter, Z. R. (2014). Somatic mutations in MYD88 and CXCR4 are determinants of clinical presentation and overall survival in Waldenström macroglobulinemia. *Blood*, **123(18)**, 2791–2796.

Treon, S. P., Xu, L., Yang, G., Zhou, Y., Liu, X., Cao, Y., Sheehy, P., Manning, R. J., Patterson, C. J., Tripsas, C., Arcaini, L., Pinkus, G. S., Rodig, S. J., Sohani, A. R., Harris, N. L., Laramie, J. M., Skifter, D. A., Lincoln, S. E., Hunter, Z. R. (2012). MYD88 L265P somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia. *New England Journal of Medicine*, **367(9)**, 826–833.

Tsiodras, S., Samonis, G., Keating, M. J., Kontoyiannis, D. P. (2000). Infection and immunity in chronic lymphocytic leukemia. *Mayo Clinic Proceedings*, **75(10)**, 1039–1054.

Tutar, E., Gedikoğlu, G. (2002). Liposarkom patogenezinde p53 ve MDM2'nin rolü. *Patoloji Bülteni*, **19**, 75.

Türk Hematoloji Derneği. (2012). *Kronik Lenfositik Lösemi Tanı ve Tedavi Kılavuzu*. 3–18. <http://www.thd.org.tr/thdData/Books/83/bolum-i-kronik-lenfositik-losemi.pdf>. 04.03.2021 04.03.2021

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. (2018). *Kanser Daire Başkanlığı, Kanser İstatistikleri, 2015*. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Trkiye_Kanser_statistikleri_2015.pdf 04.03.2021

Varettoni, M., Arcaini, L., Zibellini, S., Boveri, E., Rattotti, S., Riboni, R., Corso, A., Orlandi, E., Bonfichi, M., Gotti, M. (2013). Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P) somatic mutation in Waldenström's

macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **121(13)**, 2522–2528.

Wikipedia. (n.d.). *Lenfosit*. Retrieved February 1, 2020, from <https://tr.wikipedia.org/wiki/Lenfosit> 04.03.2021

Von Bernuth, H., Picard, C., Jin, Z., Pankla, R., Xiao, H., Ku, C.-L., Chrabieh, M., Mustapha, I. Ben, Ghandil, P., Camcioglu, Y. (2008). Pyogenic bacterial infections in humans with MyD88 deficiency. *Science*, **321(5889)**, 691–696.

Wang, J. Q., Jeelall, Y. S., Ferguson, L. L., Horikawa, K. (2014). Toll-like receptors and cancer: MYD88 mutation and inflammation. *Frontiers in Immunology*, **5**, 367.

Wang, J. Q., Jeelall, Y. S., Horikawa, K. (2013). *Emerging targets in human lymphoma: targeting the MYD88 mutation*.

Wang, Z., Moulton, J. (2001). SNPs, protein structure, and disease. *Human Mutation*, **17(4)**, 263–270.

Wiernik, P. H. (2015). Familial leukemias. *Current Treatment Options in Oncology*, **16(2)**, 8.

Wujcik, D. (2003). Molecular biology of leukemia. *Seminars in Oncology Nursing*, **19(2)**, 83–89.

Yakıcıer, C. (2005). *Lösemilerin Moleküler Genetiği*. Temel Moleküler Hematoloji Kursu. <http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/cengizyakicier.pdf> 04.03.2021

Ye, J., Ma, N., Madden, T. L., & Ostell, J. M. (2013). IgBLAST: an immunoglobulin variable domain sequence analysis tool. *Nucleic Acids Research*, **41(W1)**, W34–W40.

Yıldız, S. T. (2019). *Kronik Lenfoid Lösemi Hastalarında İnterlökin-6 ve İnterlökin-10 Polimorfizimleri*.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Naciye İrem YİKİRİK

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/ Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y.Lisans	Biyoloji	Gaziantep Üniversitesi	2021
Lisans	Genetik ve Biyomühendislik	Gümüşhane Üniversitesi	2018
Lise		Akşemseddin Anadolu Lisesi	2013

YAYIN

Tiryaki- Yikrik, N.I., Ozaslan, M. Bayıl-Oğuzkan, S. & Yilmaz, M. (2021). ‘MYD88 Gene Polimorphism in patients with chronic lenfoid leukemia.’ The Eurasia Proceedings of Health, Environment and Life Sciences (EPHELS), 1, 24-29.