

Kronik Miyeloid Lösemili Hastalarda Sitogenetik Analiz ve RT-PCR Tekniği ile Philadelphia Kromozomu ve BCR-ABL Füzyon Geninin Saptanması

Detection of Philadelphia Chromosome and BCR-ABL Fusion Gene in Patients with Chronic Myeloid Leukemia by Cytogenetic Analysis and RT-PCR Technique

Nuray Altıntaş¹ , Mustafa Aşçı² , Özge Sarıca Yılmaz³ , Mine Miskioğlu⁴ , Sefa Kızıldağ⁵ 

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda 25 KML (Kronik Miyeloid Lösemi) hastasında Sitogenetik Analiz ve RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) Tekniği ile Ph (Philadelphia) kromozomu ve BCR-ABL füzyon geninin saptanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamıza dahil edilen hastalardan kemik iliği veya kan örnekleri alındı. RNA izolasyonu için kullanılarak periferik kan, kemik iliği ve hücre hattından total RNA izolasyonu yapıldı. RNA saflığı spektrofotometre ile ölçülerek, çalışma için uygun saflıkta RNA'lar seçildi. Random hegzamer primerleri ve reverse transkriptaz enzimi kullanılarak mRNA'dan cDNA sentezi gerçekleştirildi. Hedef DNA oligonükleotid primerler kullanılarak iki basamaklı Nested PCR yöntemi ile çoğaltıldı. K562 hücre hattı pozitif kontrol olarak, distile su negatif kontrol olarak kullanıldı. PCR ürünleri ethidium bromide ile boyanmış agaroz jelde yürütülerek, jel görüntüleme sisteminde görüntülendi. Sitogenetik analiz için kemik iliği materyalinden 24 saatlik hücre kültürü yapıldı. Preparatlara G-Bantlama yapılarak mikroskopik incelemeleri gerçekleştirildi.

Bulgular: Çalışmamıza 10 kadın, 15 erkek hasta dahil edildi. Hasta grubunun yaş ortalaması 53,24 olarak hesaplandı. PCR sonuçlarına göre; M-BCR/ABL 5 hastada negatif, 20 hastada pozitif. Sitogenetik analizde her hasta preparatında 20 metafaz alanı incelendi. 5 hastada üreme gerçekleşmedi. 5 hastada 46,XY karyotip, 1 hastada 46,XX karyotip, 9 hastada 46,XY t (9;22) (q34, q11) karyotip, 5 hastada 46,XX (9;22) (q34;q11) karyotipi saptandı. Sitogenetik analizde üreme olmayan ve Ph kromozomu negatif olan hastalar moleküler analiz ile incelendi. 6 hastada M-BCR/ABL pozitif tespit edildi. Sonuçlarımıza göre M-BCR/ABL oranı 20/25 (% 80), Ph kromozom pozitifliği oranı % 80 olarak bulundu.

Sonuç: KML hastalığında teşhis ve tedavide yanıtın izlenmesinde sitogenetik analiz ile daha hızlı ve daha duyarlı RT-PCR tekniği birlikte uygulanarak sonuçlar irdelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: BCR-ABL geni, RT-PCR, KML, Ph kromozomu

ABSTRACT

Objective: In our study, we aimed to detect Ph (Philadelphia) chromosome and BCR-ABL fusion gene in 25 patients with CML (Chronic Myeloid Leukemia) by Cytogenetic Analysis and RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction).

Materials and Methods: Bone marrow or blood samples were obtained from the patients included in our study. Total RNA was isolated from peripheral blood, bone marrow and cell lines using an RNA isolation kit. RNA purity was measured by spectrophotometer and RNAs of appropriate purity were selected for the study. cDNA synthesis was performed from mRNA using random hexamer primers and reverse transcriptase enzyme. Target DNA was amplified by the two-step Nested PCR method using oligonucleotide primers. The K562 cell line was used as a positive control and distilled water was used as a negative control. PCR products were run on agarose gel stained with ethidium bromide and displayed on the gel imaging system. Cell culture was made from bone marrow material over 24 hours for cytogenetic analysis. Microscopic examinations were performed by applying G-banding to the preparations.

Results: Ten female and 15 male patients were included in our study. The average age of the patient group was calculated as 53,24. According to the PCR results; M-BCR/ABL was negative in 5 patients and positive in 20 patients. In cytogenetic analysis, 20 metaphase areas were examined in each patient preparation. No growth occurred in 5 patients. 46,XY karyotype in 5 patients, 46,XX karyotype in one patient, 46,XY t (9; 22) (q34, q11) karyotype in 9 patients, and 46,XX (9; 22) (q34; q11) karyotype in 5 patients was found. The patients with no reproduction in cytogenetic analysis and negative for the Ph chromosome were examined by molecular analysis. M-BCR / ABL was positive in 6 patients. According to our results, it was found the M-BCR / ABL ratio was 20/25 (80%), and the Ph chromosome positivity rate was 80%.

Conclusion: In CML disease, for monitoring diagnosis and treatment response, cytogenetic analysis and the faster and more sensitive RT-PCR technique were applied together and the results were examined.

Keywords: Physician, BCR-ABL gene, RT-PCR, CML, Ph chromosome

¹ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

² Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

³ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

⁴ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

⁵ Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

ORCID: N.A. 0000-0002-1994-455X;

M.A. 0000-0002-2840-3691;

Ö.S.Y. 0000-0001-9451-1300;

M.M. 0000-0003-2416-7991;

S.K. 0000-0001-7939-5153

Sorumlu Yazar/Corresponding Author:

Nuray Altıntaş,

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye
E-posta: naltintas35@gmail.com

Geliş tarihi / Submitted: 27.01.2021

Kabul Tarihi / Accepted: 17.04.2021

Atf/Citation: Altıntaş N, Aşçı M, Sarıca Yılmaz O, Miskioğlu M, Kızıldağ S. Detection of Philadelphia chromosome and BCR-ABL Fusion gene in patients with chronic myeloid leukemia by cytogenetic analysis and RT-PCR technique. Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2021; 4(2): 1-6.

https://doi.org/10.26650/JARHS2021-869345

GİRİŞ

Kronik Miyeloid Lösemi (KML), t (9; 22) (q34; q11) karşılıklı kromozomal translokasyon Ph (Philadelphia) kromozomu ile karakterize bir pluripotent hemopoietik kök hücre hastalığıdır. Translokasyon, kromozom 9'un uzun kolunda bulunan ABL geninin, kromozom 22'nin uzun kolunda bulunan BCR geni ile füzyonuyla sonuçlanır. BCR/ABL füzyon geni, önemli bir rol oynayan yüksek tirozin kinaz aktivitesine sahip kimerik bir proteini kodlar. KML, lösemi tanısında ve terapötik etkinin değerlendirilmesinde t (9; 22) (q34; q11) translokasyonu ve BCR/ABL füzyon geninin saptanması önemli rol oynar. KML de, tüm Ph1 pozitif hastaların yüzde 90'unda translokasyon [t (9; 22) (q34; q11)] olarak gözlenir. Ph kromozomu ayrıca Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL) hastalarının önemli bir bölümünde ve az sayıda Akut Miyeloid Lösemi (AML) vakasında da bulunur. (1-4). Lösemi hücrelerinde Ph, yalnızca fizyolojik sinyal yollarını bozmakla kalmaz, aynı zamanda genomik stabiliteyi de bozar. Bu anormal füzyon geni, kalıcı olarak artmış tirozin kinaz aktivitesi ile kırılma noktası küme bölgesi BCR-ABL1 (proto-onkogen tirozin-protein kinaz) onkogenik proteinini kodlar. Kinaz aktivitesi, proliferasyonu sürdürmek, farklılaşmayı inhibe etmek ve hücre ölümüne direnç kazandırmaktan sorumludur. KML'nin kronik fazdan hızlandırılmış faza ve ardından patlama fazına ilerlemesi sırasında, farklı BCR-ABL1 transkriptlerinin ekspresyon modelleri değişmektedir. Her BCR/ABL1 transkripti, hem terapiye yanıtı hem de klinik sonucu öngören farklı bir lösemi fenotipinde de mevcuttur. KML'nin yanı sıra Ph, ALM, AML ve karışık fenotip akut lösemi de bulunur (5-8).

Tez projesi çalışması için, Sitogenetik Analiz ile Ph (Philadelphia) kromozomu ve RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) Tekniği ile ve BCR-ABL füzyon geninin saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Kliniği'nde tanısı konulan, farklı safhalarda bulunan 25 KML hasta bireyin (10 kadın ve 15 erkek

hasta birey) periferik kan ve Kemik İliği (Kİ) örnekleri çalışılarak, ISCN (Uluslararası İnsan Sitogenetik İsimlendirme Sistemi)'ne göre kromozomal incelemeleri yapılmıştır. Bu çalışma için etik komite onayı Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır. Katılımcılardan bilgilendirilmiş onamları alınmıştır.

Sitogenetik Çalışma

Sitogenetik analiz, kemik iliği materyalinden 24 saatlik hücre kültürü yapılarak standart prosedürlere göre gerçekleştirilmiştir. Metafaz kromozomları elde edilerek, GTG bantlama tekniği ile bantlanarak, 20 metafaz alanı analiz edilmiştir.

Moleküler Çalışma

RNA izolasyonu için kan ve kemik iliği örnekleri K3EDTA içeren tüpe (Isolab, Eschau Germany) alındıktan hemen sonra RNA izolasyon işlemine başlanmıştır. RNA izolasyonu için Nucleospin RNA II Total RNA izolasyon kiti (Macharey Nagel, Dueren, Germany) kullanılmıştır. Elde edilen RNA'ların absorban ölçümleri spektrofotometre ile yapılarak konsantrasyonları hesaplanmıştır. Ekspresyon çalışmalarında 2-5 µg standart RNA, cDNA'ya çevrilmiştir. Buna uygun olarak 3 µg RNA, cDNA'ya çevrilmiştir. RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) işleminde, RNA'nın cDNA'ya dönüştürülmesi için RevertAid™ First strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, Massachusetts, USA) kullanılmıştır. Sentezlenen cDNA'lar, BCR/ABL geninin amplifikasyonuna dayanan Nested PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. Amplifikasyonlarda, reaksiyon final miktarı 25 µl olacak şekilde, 15 µl distile su (Applichem, Darmstadt, Germany), 2,5 ul 10 X buffer (1X), 2,5 µl MgCl₂ (2,5 mM), 0,5 µl dNTP mix (0,2 mM her dNTP'den), 0,5 µl Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific, Massachusetts, USA), 2 µl cDNA, 1 µl primer (10 pmol) (Tablo 1) ile karışım hazırlanmıştır. Nested PCR'da, birinci reaksiyon, PCR cihazında, 94°C'de 4 dk., 20 döngü olacak şekilde 95°C'de 40 sn., 56°C'de 40sn., 72°C'de 40 sn. ve 72°C'de 5 dk. son ekstensiyon olarak gerçekleştirilmiştir. Bu reaksiyon sonunda elde edilen ampiklonlar kalıp olarak kullanılarak, ilk reaksiyon ile aynı

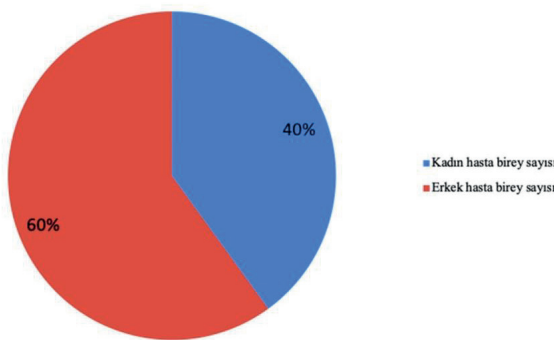
Tablo 1. Moleküler Çalışmada Kullanılan Oligonükleotid Primerler (9) (HPLC saflaştırılmış 0.2 µmol, liyofilize; 100 pmol olarak sulandırılan) (Sigma Genosys, Texas, USA).

| Primer adı | Baz dizisi |
|------------|------------------------------|
| KML1 | 5'-GCTTCTCCCTGACATCCGTG-3' |
| KML2 | 5'-GGAGCTGCAGATGCTGACCAAC-3' |
| KML3 | 5'-CGAGCGGCTTCACTCAGACC-3' |
| KML4 | 5'-CTGAGGCTCAAAGTCAGATG-3' |
| β-aktin1 | 5'-ATCATGTTTGAGACCTTCAA-3' |
| β-aktin2 | 5'-CATCTCCTGCTCGAAGTCCA-3' |

konsantrasyonlarda, 94°C' de 4 dk., 30 döngü olacak şekilde 95°C' de 40 sn., 56°C' de 40sn., 72°C' de 40 sn. ve 72°C' de 5 dk. son ekstensiyon olarak PCR cihazında programlanarak ikinci reaksiyona alınmıştır. Moleküler çalışmada, Ph pozitif ve Ph negatif olduğu bilinen K562 hücre hattı pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. β-aktin geni housekeeping gen olup, tüm hücrelerde eksprese olduğu için, β-aktin1 ve β-aktin2 internal kontrol olarak kullanılmıştır. 30 döngünün sonunda, 2³⁰ gen amplifikasyon ürünü elde edilmiş ve örnekler ethidium bromide ile boyanmış % 2' lik jel elektroforezinde yürütülmüştür.

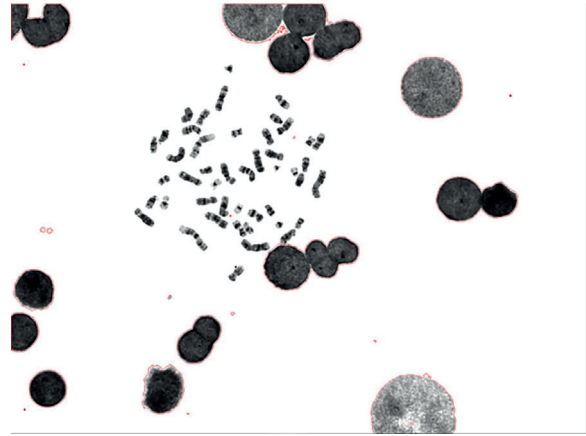
BULGULAR

Hasta grubumuz yaş aralığı 20 ile 85 arasında, yaş ortalaması 53,24 olan, 10 kadın ve 15 erkek bireyden oluşmaktadır (Grafik 1).

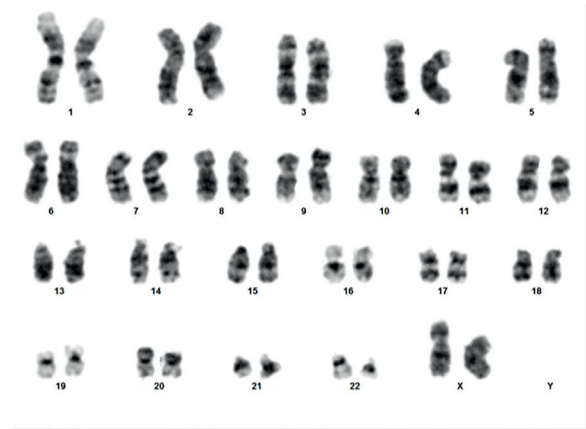


Grafik 1. Hasta bireylerin kadın/erkek oranı

Sitogenetik analizde, her hasta preparatında 20 metafaz alanı incelenmiştir. 5 hastada 46,XY karyotip, 1 hastada 46,XX karyotip, 9 hastada 46,XY t (9;22) (q34, q11) karyotip, 5 hastada 46,XX (9;22) (q34;q11) karyotipi saptanmıştır (Şekil 1, Şekil 2).



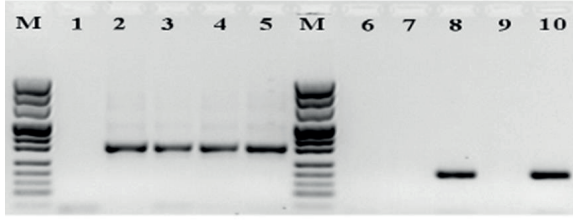
Şekil 1. Ph kromozomu (+) hastaya ait metafaz alanı



Şekil 2. 46,XY t (9;22) (q34, q11) karyotipi

25 KML hastasından alınan Kİ örneklerinden elde edilen hücre kültürü sonuçlarında; 5 olguda hücre kültürü elde edilememiş, 16 olguda Ph kromozomu pozitif, 4 olguda Ph kromozomu negatif olarak saptanmıştır. 25 KML hastasından alınan kemik iliği örneklerinden elde edilen M-BCR/ABL 5 olguda negatif, 20 olguda pozitifdir. BCR/ABL transkriptinin 20 olguda Ph kromozomu pozitif, 5 olguda Ph kromozomu negatif olarak RT-PCR yöntemi ile tespit edilmesi hastaların sitogenetik analizleri ile uyum göstermiştir. Sitogenetik analizde üreme olmayan ve Ph kromozomu negatif olan hastalar moleküler analiz ile incelenmiştir. 6 hastada M-BCR/ABL pozitif tespit edilmiştir (Şekil 3).

Hücre kültürü yapılamayan 5 olgunun 4 tanesinde BCR/ABL pozitif, 1 tanesinde BCR/ABL negatif bulunmuştur. Sitogenetik açıdan Ph negatif olan 2 olgu moleküler çalışmada BCR/ABL pozitif bulun-



Şekil 3. Jel Görüntüsü (M-BCR/ABL pozitif). M- DNA marker, 1- Distile su β-aktin PCR, 2- Negatif kontrol β -aktin 3- Pozitif kontrol β-aktin K562 Hücre hattı, 4- Hasta 1 β-aktin, 5- Hasta 2 β-aktin (394 bp), 6- Distile su KML primerleri ile, 7- Negatif kontrol, 8- Pozitif kontrol K 562 hücre hattı, 9- Negatif hasta, 10- Pozitif hasta (196 bp).

muştur. Olgularımızın büyük bir kısmı kronik fazda bulunan hastalardan oluşmuştur. Çalışmamızda RT-PCR ve sitogenetik yöntemi kullanılarak, klinik ve laboratuvar bulguları ile KML tanısı konulan hastalarda BCR/ABL füzyon geninin pozitif bulunma oranı açısından karşılaştırılmıştır. M-BCR/ABL oranı 20/25 (% 80), Ph kromozom pozitifliği oranı % 80 olarak bulunmuştur. Çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş ve cinsiyetleri, Ph kromozomu ve M-BCR/ABL nin korelasyonları Tablo 2' de özetlenmiştir.

TARTIŞMA

KML kötü huylu bir klonal pluripotent hematopoietik kök hücre hastalığıdır (10,11). KML genellikle orta ve ileri yaşlarda görülür (12). Ph kromozomu, KML hastalarının yaklaşık % 90' ında saptanır ve % 5-10' unda da varyant tipler olabilmektedir (4). Sitogenetik incelemelerle, vakaların % 90'ına KML tanısı konulmakta ve bu vakaların karyotipinde 22 numaralı kromozomun küçüldüğü görülmektedir (11,13).

KML' de translokasyonun bulunması, hastalığın patogenezinde nedensel olarak rol oynadığını düşündürmekte ve moleküler düzeydeki çalışmalar da bu fikri doğrulamaktadır. Translokasyonun sonucu olarak, kromozom 9 üzerinde bulunan Abelson proto-onkogen (ABL), BCR olarak bilinen kesik bir gene birleştiği kromozom 22' ye taşınmakta ve genomik yeniden yapılanmanın sonucu olarak, gelişmiş protein tirozin kinaz aktivitesine sahip yeni bir kimerik protein ürününü kodlayan bir hibrit gen oluşmaktadır (14).

Tablo 2. KML hastalarında Ph kromozomu ve M-BCR/ABL nin korelasyonları

| Hasta no | Cinsiyet | Yaş | Ph kromozomu | M-BCR/ABL |
|----------|----------|-----|--------------|-----------|
| 1 | Kadın | 73 | 0 | + |
| 2 | Erkek | 39 | + | + |
| 3 | Kadın | 76 | + | + |
| 4 | Erkek | 55 | + | + |
| 5 | Erkek | 36 | - | - |
| 6 | Erkek | 45 | 0 | - |
| 7 | Kadın | 58 | - | + |
| 8 | Kadın | 85 | 0 | + |
| 9 | Kadın | 50 | + | + |
| 10 | Kadın | 48 | + | + |
| 11 | Erkek | 20 | - | - |
| 12 | Erkek | 60 | + | + |
| 13 | Erkek | 32 | - | - |
| 14 | Kadın | 65 | + | + |
| 15 | Erkek | 57 | + | + |
| 16 | Erkek | 58 | + | + |
| 17 | Kadın | 83 | 0 | + |
| 18 | Erkek | 63 | + | + |
| 19 | Erkek | 51 | - | + |
| 20 | Erkek | 49 | + | + |
| 21 | Kadın | 42 | 0 | + |
| 22 | Erkek | 38 | + | + |
| 23 | Kadın | 45 | + | + |
| 24 | Erkek | 49 | - | - |
| 25 | Erkek | 54 | + | + |

(0)= Üreme yok, (-)= Negatif sonuç, (+)= Pozitif sonuç.

Kromozom 22 üzerindeki BCR geninde üç farklı kırılma noktası ayırt edilir: M-bcr, m-bcr ve mu-bcr. Ph (+) lösemi hücre dizileri bu araştırma alanında önemli araçlardır. 20' den fazla ALL (Akut Lenfoblastik Lösemi) ve 40' tan fazla KML' den türetilmiş Ph (+) lösemi hücre dizisi tanımlanmıştır. Ph (+) ALL veya KML' li hastalardan oluşturulan üç Ph (+) B-lenfoblastoid hücre dizisi de mevcuttur. BCR-ABL füzyon geninin ek kopyalarını elde etmenin bir yolu da KML hücre hattı K-562, BCR-ABL hibridinin ardışık tekrarlarının oluşumudur. Her iki mekanizmada, 22. kromozomun seçici çoğalması ve füzyon geninin BCR-ABL nin ardışık replikasyonu, muhtemelen füzyon proteininin ve tirozin kinaz aktivitesinin artmış seviyelerine yol açmaktadır. Oldukça bilgilendirici bu lösemi modelleri ve Ph (+) hücre dizileri panelinin mevcudiyeti, bu malignitelerin patobiyolojisini ve Ph kromozomunun lösemogenezdeki rolünü analiz etmek için eşsiz bir fırsat sunmaktadır (3,15).

Tirozin-kinaz inhibitörleri, sentetik oligodeoksinükleotitler veya BCR/ABL onkogenik füzyon sekansına karşı tasarlanmış bölgeye özgü DNA bağlama proteinleri gibi mekanizmalar kullanılarak spesifik tedavilerin önünün açılacağı bildirilmektedir (8).

Tanıda kullanılan moleküler genetik analizler, BCR-ABL füzyon transkriptini göstermeye odaklanmaktadır. RT-PCR, ribonükleik asit seviyesinde BCR-ABL transkriptlerini tespit etmektedir. Bunun dışında daha az kullanılan öncül yöntemler Southern Blotting ve Western Blotting'dır. Az kullanılma nedeni, blotlama yöntemlerinin duyarlılığının düşük olmasıdır. BCR-ABL füzyonu DNA, RNA ve protein seviyesinde tespit edilebilmektedir. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH), Southern Blotlama, ve İmmünoresipitasyon teknikler, araştırmacıların kişisel becerisine ve kullanılan hücre örneklerine bağlı olduğundan avantajları ve dezavantajları da bulunmaktadır. Bu nedendir ki kullanılan yöntemin duyarlılığının yanı sıra hızlı ve tekrarlanabilir olması da önemlidir (6,13,16).

İnsan gen haritası hakkındaki bilgiler arttıkça, etkilenen kromozomlardaki değişikliklerin, hapis hücredeki biyokimyasal anormalliklerle ilişkilendirilmesi beklenilmektedir. Bu da seçilmiş hücrelerin kötü huylu dönüşüm yoluyla nasıl proliferatif bir avantaj kazandığına dair anlayışımızı geliştirecek, bu hastalıkların kesin sınıflandırmasına yardımcı olabilecek ve böylece spesifik tedavi biçimlerinin tasarlanmasına yol açabilecektir (10).

Lösemilerde metafaz kromozomu elde etmek kolay değildir. Bu nedenle günümüzde moleküler biyolojide RT-PCR yöntemi, genetik bozuklukların tespiti için hassas yöntemlerden biri olarak rutinde tercih edilmektedir. RT-PCR yönteminin genetik bozuklukların tespitinde hassas bir yöntem olarak kullanıldığından, çalışmamızda RT-PCR yöntemi ve geleneksel sitogenetik çalışma yöntemi de kullanılarak, KML tanısı alan hastalarda BCR-ABL füzyon geni saptama oranı her iki yöntem açısından karşılaştırılması amaçlanmıştır. Sonuçlarımız literatürlerle uyumludur. Ph kromozomu pozitif olan KML hastalarında yapılan RT-PCR çalışmalarında, BCR-ABL pozitifliği % 98'e varan sonuçlar da bulun-

maktadır (17). Çalışmamızda klinik ve laboratuvar bulguları ile KML tanısı alan hastalarda RT-PCR ile BCR-ABL füzyon geninin pozitifliği % 80 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonucun, diğer araştırmalara oranla düşük olmasının nedeni olarak, olgu sayısının az olmasıyla ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

SONUÇ

Bu hastalığın teşhisinde konvansiyonel yöntem kullanılarak, tanı kit bağımlılığının ortadan kaldırılması planlanmıştır. KML hastaları için yaşam beklentisini ve yaşam kalitesini iyileştirmede, BCR-ABL transkriptinin RT-PCR ile gösterilmesi ve geleneksel sitogenetik çalışma yöntemi de kullanılarak, KML tanısı alan hastalarda BCR-ABL füzyon geni saptama oranı her iki yöntem açısından karşılaştırılması olarak planlanan çalışmamız BAP tarafından desteklenerek projelendirilmiştir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Bilgilendirilmiş Onam: Katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Informed Consent: Written consent was obtained from the participants

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

Ethics Committee Approval: This study was approved by the Ethics Committee of Manisa Celal Bayar University Faculty of Medicine.

Çalışma Konsepti/Tasarım- N.A., M.A.; Veri Toplama- N.A., M.A., M.M.; Veri Analizi/Yorumlama- N.A., S.K., M.A., Ö.S.Y.; Yazı Taslağı- N.A., S.K., M.A., Ö.S.Y.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- N.A., S.K., M.A., Ö.S.Y.; Son Onay ve Sorumluluk- N.A., M.A., Ö.S.Y., M.M., S.K.

Author Contributions: Conception/Design of Study- N.A., M.A.; Data Acquisition- N.A., M.A., M.M.; Data Analysis/Interpretation- N.A., S.K., M.A., Ö.S.Y.; Drafting Manuscript- N.A., S.K., M.A., Ö.S.Y.; Critical Revision of Manuscript- N.A., S.K., M.A., Ö.S.Y.; Final Approval and Accountability- N.A., M.A., Ö.S.Y., M.M., S.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Finansal Destek: Bu çalışma Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2003-049)

Financial Disclosure: This study was supported by Manisa Celal Bayar University Scientific Research Projects. (Project No: 2003-049)

KAYNAKLAR

- Rowley JD. The Philadelphia chromosome translocation. A paradigm for understanding leukemia. *Cancer* 1990;15;65(10):2178-84.
- Rowley JD. Chromosome abnormalities in leukemia and lymphoma. *Ann Clin Lab Sci* 1983;13(2):87-94.
- Drexler HG, MacLeod RA, Uphoff CC. Leukemia cell lines: in vitro models for the study of Philadelphia chromosome-positive leukemia. *Leuk Res* 1999;23(3):207-15.
- Abdullah MA, Amer A, Nawaz Z, Abdullah AS, Al-Sabbagh A, Kohla S, Nashwan AJ, Yassin MA. An uncommon case of chronic myeloid leukemia with variant cytogenetic. *Acta Biomed* 2018;3;89(3-S):28-32.
- Kang ZJ, Liu YF, Xu LZ, Long ZJ, Huang D, Yang Y, Liu B, Feng JX, Pan YJ, Yan JS, Liu Q. The Philadelphia chromosome in leukemogenesis. *Chin J Cancer* 2016;27;35-48.
- Hagemeyer A. Chromosome abnormalities in CML. *Baillieres Clin Haematol* 1987;1(4):963-81.
- Barnes DJ, Melo JV. Cytogenetic and Molecular Genetic Aspects of Chronic Myeloid Leukaemia. *Acta Haematol* 2002;108:180-202.
- Costello R, Bouabdallah R, Sainty D, Gastaut JA, Gabert J. Chronic myeloid leukemia, biological aspects. *Rev Med Interne* 1996;17(3):213-23.
- Sercan HO, Eresen Ç, Yüksel E, Sercan Z, Paralı F, Altungöz O, Sakızlı M. Molecular detection of bcr/abl m-RNA and cytogenetic analysis in CML patients: Comparison of results and factors affecting the methodologies used. *Turk J Cancer* 1998;28(4):166-73.
- Larson RA, Golomb HM, Rowley JD. Chromosome changes in hematologic malignancies. *CA Cancer J Clin* 1981;31(4):222-38.
- Szántó A, Pap Z, Dénes L, Lázár EB, Horváth A, Tunyogi AB, Baróti BA, Pávai Z. Real-time quantitative PCR detection of WT1 and M-BCR-ABL expressions in chronic myeloid leukemia. *Rom J Morphol Embryol* 2015;56(2):703-7.
- Arslan S. KML ve ALL tanılı hastalarda bcr/abl füzyon geni mutasyonlarının taranması. T.C.Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi 2014.
- Özbey Ü, Yüce H, Elyas H. Kronik Myeloid Lösemili Hastalarda Kromozomal Anomalilerin Belirlenmesi için Sitogenetik ve FISH Tekniği Uygulamaları. *FÜ Sağ Bil Derg* 2006;20(6):383-9.
- Morgan GJ, Wiedemann LM. Molecular biology of the Philadelphia positive leukaemias. *Recent Prog Med* 1989;80(10):508-19. PMID: 2690217.
- Laurent E, Talpaz M, Kantarjian H, Kurzrock R. The BCR Gene and Philadelphia Chromosome-positive Leukemogenesis. *Cancer Research* 2001;61(6):2343-55.
- Bilen Y. Philadelphia Pozitif Kronik Myelositer Lösemi Hastalarında İmatinib Mesilata Alınan Klinik, Hematolojik, Sitogenetik Ve Moleküler Yanıtın Değerlendirilmesi. T.C. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi 2009.
- Varmius H, Weinberg RA. *Genes and Biology of Cancer*, New York; Scientific American Library Series, No.42; 1993. p.147-65.