

AKUT LÖSEMİLER

Güray Saydam

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı, İzmir

1950'li yıllarda ABD'de yapılan retrospektif bir taramada o ana kadar tanı almış ve tedavi edilmiş akut lösemi hastalarının çok az bir kısmının yaşadığı saptanmıştır. Bu hastaların aynı tedavileri almalarına rağmen neden bir kısmının uzun süreli yaşama sahip olduğu uzun zaman merak konusu olmuştur. 1960'lı yıllarda Ph kromozomunun saptanması, lösemiler ve sitogenetik anomaliler arasındaki ilişki için iyi bir örnek olmuş ve akabinde bugün çok iyi bilinen akut myeloid ve lenfoid lösemilere özgü sitogenetik anomaliler ve prognostik önemi tanımlanmıştır. Bu çalışmada yeni tanı alan bir lösemi hastasında sitogenetik anomaliler neledir, ne zaman ve ne sıklıkla istenmelidir ve hangi durumlarda ne anlam ifade eder gibi sorulara, mümkün olduğunca hasta örnekleri ve hatta pratik uygulamalarla değinilmeye çalışılacaktır. Öncelikli olarak teorik anlamda hangi tip lösemide hangi sitogenetik tetkikin yapılması ve ne sıklıkla takip edilmesi gerektiği gibi konulara tarafımdan değinilecektir. Yrd. Doç.Dr. Buket Kosova da laboratuvar ortamında bu testlerin nasıl yapıldığı ve yorumlandığından bahsedecektir.

Akut myeloid lösemiler ve sitogenetik/moleküler patogenezi

Yeni tanı almış akut myeloid lösemi tanılı hastaların yaklaşık %55'inde blastik hücrelerde nonrandom (reziprokal translokasyon, inversiyon, insersiyoni, delesyon, trizomi ve monozomiler) klonal kromozom anomalileri tespit edilebilir. Çok uzun zamandır, tedavi öncesi saptanan bu anomaliler pek çok grup tarafından bağımsız risk faktörü olarak tanımlanmaktadır. Kromozom band analizinin tanısız testler arasına girmesiyle birlikte pek çok sitogenetik anomali [örneğin t(8;21), inv 16, t(16;16), t(15;17) gibi] tanımlanmış ve WHO tarafından yapılan yeni AML sınıflamasına girmiştir. Bu sınıflamalar 1997 JCO ve 2002 Blood dergilerinde yayınlanmıştır. Buna göre başlıca saptanan sitogenetik anomaliler ve prognostik önemi, değişik gruplara göre tablo 1'de özetlenmiştir.

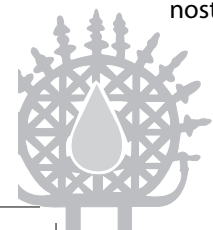
Ancak ilginç olan nokta, yeni tanı AML hastalarının %45'inde FISH ile bile dahi normal karyotip saptanmaktadır. Bu hastalarda ilgili genetik bozukluğun tanımlanması ve prognostik değerlendirme oldukça zor olmaktadır. Bu arada bu

Tablo 1. Genç AML hastalarında prognostik grupları tanımlamak için kullanılan sitogenetik anomaliler

Risk Category	MRC	SWOG/ECOG	CALGB*†
Favorable	t(8;21) inv(16)/t(16;16) t(15;17)	t(8;21) without del(9q) or complex karyotype inv(16)/t(16;16)/del(16q) t(15;17)	t(8;21) inv(16)/t(16;16) del(9q)
Intermediate	Normal karyotype del(7q) +8 del(9q) abn(11q23) +21 +22 All other aberrations	Normal karyotype -Y +6 +8 del(12p)	Normal karyotype -Y del(5q) del(7q) t(9;11) +11 del(11q) abn(12p) +13 del(20q) +21
Unfavorable	abn(3q) -5/del(5q) -7 ≥ 5 aberrations	abn(3q) -5/del(5q) t(6;9) -7/del(7q) t(9;22) abn(9q) abn(11q) abn(17p) abn(20q) abn(21q) ≥ 3 aberrations	inv(3)/t(3;3) t(6;9) t(6;11) -7 +8 sole or with 1 additional aberration t(11;19) ≥ 3 aberrations

Abbreviations: MRC, Medical Research Council¹⁰⁵; SWOG/ECOG, Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group¹⁰⁷; CALGB, Cancer and Leukemia Group B.¹⁰⁴

sitogenetik anomalilerin tek başına lösemi oluşumu için yeterli olup olmadığı tartışılmış ve AML oluşumunda multistep patogenezi teorisi geliştirilmiştir. Buna göre sitogenetik anomali ortaya çıktıktan sonra, ek bir başka moleküler anomali daha oluşmakta ve lösemi ortaya çıkmaktadır. Örneğin en iyi bilinen anomalilerden bir tanesi t(8;21) sonucu oluşan RUNX1-CBFA2T1 ya da bilinen adıyla CBFβ-MYH11 füzyon genidir. Deneysel modellerde bu füzyon geni myeloid farklılaşmayı bloke edebilmekte ancak aşikar lösemiye neden olmamaktadır. Ancak buna FLT3 ya da RAS ailesinin üyelerinden birinin daimi aktivasyonu eşlik ederse aşikar lösemi ortaya çıkmaktadır. Multistep lösemi patogenezi diğer bir



Tablo 2. AML patogenezinde sitogenetik bulgular ve sıklıkla onlara eşlik eden moleküler anomaliler

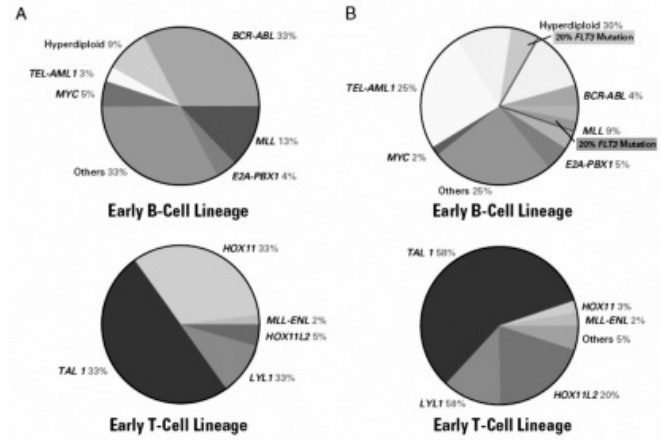
Cytogenetic Finding	Molecular Abnormality
t(8;21)(q22;q22)	<i>KIT</i> exon 8 mutation <i>KIT</i> codon 816 mutation <i>CEBPA</i> downregulation
inv(16)(p13q22)/ t(16;16)(p13;q22)	<i>KIT</i> exon 8 mutation <i>KIT</i> codon 816 mutation <i>NRAS</i> mutation <i>KRAS</i> mutation <i>CEBPA</i> downregulation
t(15;17)(q22;q11~21)	<i>FLT3</i> ITD <i>FLT3</i> activation loop mutation
t(6;9)(p23;q34)	<i>FLT3</i> ITD
del(9q)	<i>CEBPA</i> mutation
+11	<i>MLL</i> PTD
+21	<i>RUNX1</i> mutation
Normal karyotype	<i>MLL</i> PTD* <i>FLT3</i> ITD*† <i>FLT3</i> activation loop mutation* <i>CEBPA</i> mutation <i>NPM</i> mutation† <i>BAALC</i> overexpression

örnek de bazı germline mutasyonların, *RUNX1* gibi, 10–30 yıl sonra lösemiye neden olmalarıdır. Ayrıca bazı sporadik lösemi hastalarında birden fazla rekürren genetik anomali saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında AML oluşumu multistep bir süreç olarak tanımlanmaktadır.

AML patogenezinde rol oynayan mutasyonlar genelde iki alt grupta tanımlanmaktadır. Bunlardan birinci grup sinyal ileti sistemini aktiver ederler ki proliferasyon artışı veya survi avantajı ile sonuçlanır. İkinci grup ise transkripsiyon faktörleri üzerinden transkripsiyonel koaktivasyon komplekslerini etkiler kifarklılaşmada azalma ya da kendini yenileme kapasitesinde artış ile sonuçlanırlar. Nadiren aynı hastada aynı gruptan iki mutasyon birarada olmakla birlikte genelde iki gruptan ayrı mutasyonlar aynı hastada olma eğilimindedir.

Sıklıkla sitogenetik anomalilere eşlik eden moleküler anomalilikler Tablo 2’de özetlenmiştir.

AML etyopatogenezinde sinyal ileti sistemi anomalileri sıktır. Bunlar genelde gain-of-function tipi anomalilerdir ve *RAS*, *KIT* ya da *FLT3* gibi genleri ilgilendirir. *RAS* mutasyonları özellikle hematopoyetik öncüllerin proliferasyonu ve survi avantajından sorumludur. *RAS* mutasyonlarının prognostik rolü konusunda değişik görüşler mevcuttur. Bunun nedeniyle mutant *RAS*’ın tedavi için hedef olmasıdır. *RAS* proteinleri posttranslasyonel modifikasyona uğrar ve bu işlemde sorumlu olan farnesyl transferase’in inhibisyonuna yönelik ilaçlar geliştirilmektedir. *KIT* geni, *SCF* için reseptör proteini kodlar. AML hastalarında t(8:21) taşıyanların %20-30’unda *KIT* mutasyonlarının varlığı bildirilmektedir. Bu mutasyon varlığında, t(8:21) ya da inv (16) taşıyan hastalarda relaps



Şekil 1. ALL tanısı alan hastalarda erken B ya da T cell lineage için erişkinler(A) ve çocuklarda (B)sık görülen kromozomal anomaliler[Armstrong SA. JCO, 2005;23(26):6306-6315]

riski artmaktadır. Mutasyon olmayan *KIT* taşıyan bazı AML hastalarında imatinib etkin olarak bulunmuştur. *FLT3* ITD, tek başına AML hastalarında en çok görülen (%25) mutasyondur. Bazı serilerde *FLT3* ITD varlığının yüksek relaps riski ve kısa sürvi ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Aynı zamanda *FLT3* ITD’nin tedavi için iyi bir hedef olduğu saptanmış ve geliştirilen ilaçlar klinik deneme aşamasına ulaşmıştır.

Transkripsiyon faktörlerini ilgilendiren mutasyonlar genelde Core Binding Factor (CBF), *CEBPA*, *RARA*, *MLL* ve transkripsiyonel koaktivasyon kompleksinin diğer üyelerinde gerçekleşir. Bunlardan özellikle t(15;17) mutasyonu ile açığa çıkan *PML/RAR* alfa füzyon proteinin patogenetik rolü ve *ATRA* ile tedavideki önemi çok iyi bilinmektedir. *AML-M3* ya da akut promyelositik lösemi tanısında ve takibinde bu sitogenetik anomalinin varlığı çok önemlidir. Bazı yayınlarda klasik sitogenetik ile t(15;17) varlığı ya da PCR ile *PML/RAR* alfa füzyon protein transkriptinin varlığının tedavi süresince yakından. Tedaviden sonraki iki yıl içinde 3 ay aralarla takip edilmesi ve negatifleşmesinin zaman alabileceği bildirilmektedir. T(8;21) mutasyonu neticesinde *RUNX1-CBFA2T1* füzyon proteini ortaya çıkmakta ve nispeten iyi bir prognoz sağlamaktadır. Inv(16) ya da daha nadiren t(16;16) neticesinde *CBFB-MYH11* füzyon geni ortaya çıkmakta ve bu da nispeten iyi prognoz sağlamaktadır. Bu iki füzyon geninin ürünleri, tedavi bittikten sonra MRD takibi amacıyla PCR ile saptanabilmektedir. CBF mutasyonu taşıyan hastalarda *HDAC* inhibitörlerinin başarıyla kullanılabileceğini gösteren yayınlar mevcuttur.

Akut lenfoid lösemiler ve sitogenetik/moleküler patogenezi

ALL tanısında ve etyopatogenezinde rol oynayan sitogenetik ve moleküler anomalilerin tanımlanması konusunda son zamanlarda ciddi yol alınmıştır. Bunların bir kısmı tedavi hedefi olarak da tanımlanmış ve ilaçlar geliştirilmeye baş-



Tablo 3. B lineage ALL'de ortaya çıkan kromozom anomalileri sonucu oluşan gen aktivasyon ve füyonları

Gene activation		Gene fusion			
Abnormality	Genes involved	Abnormality	Genes involved	Abnormality	Genes involved
t(1;14)(q21;q32)	<i>IGH/BCL9</i>	t(1;19)(q23;p13)	<i>TCF3/PBX1</i>	t(10;11)(p12;q23)	<i>MLL/MLLT10</i>
t(1;14)(q24;q32)	<i>IGH/LHX4</i>	t(2;11)(q11-12;q23)	<i>MLL/LAF4</i>	t(11;16)(q23;p13)	<i>MLL/CREBBP</i>
t(2;8)(p12;q24)	<i>IGK/MYC</i>	t(4;11)(q21;q23)	<i>MLL/MLLT2</i>	t(11;19)(q23;p13)	<i>MLL/MLLT1</i>
t(3;11)(q27;q23)	<i>POU2AF1/BCL6</i>	t(5;11)(q31;q23)	<i>MLL/AF5Q31</i>	t(12;13)(p13;q14)	<i>TTL/ETV6</i>
t(3;14)(q27;q32)	<i>IGH/BCL6</i>	t(6;11)(q27;q23)	<i>MLL/MLLT4</i>	t(12;17)(p12;q11)	<i>TAF15/ZNF384</i>
t(5;14)(q31;q32)	<i>IGH/IL3</i>	t(6;12)(q23;p13)	<i>ETV6/STL</i>	t(12;21)(p13;q22)	<i>ETV6/RUNX1</i>
t(8;14)(q24;q32)	<i>IGH/MYC</i>	t(9;11)(p22;q23)	<i>MLL/MLLT3</i>	t(12;22)(p12;q12)	<i>EWSR1/ZNF384</i>
t(8;22)(q24;q11)	<i>IGL/MYC</i>	dic(9;12)(p13;p13)	<i>PAX5/ETV6</i>	t(16;21)(p11;q22)	<i>FUS/ERG</i>
t(11;14)(q23;q32)	<i>IGH/DDX6</i>	t(9;12)(p24;p13)	<i>ETV6/JAK2</i>	t(17;19)(q22;p13)	<i>TCF3/HLF</i>
t(12;14)(p13;q32)	<i>IGH/ETV6</i>	t(9;12)(q34;p13)	<i>ETV6/ABL1</i>	t(19;19)(p13;q13)	<i>TCF3/TFPT</i>
t(14;18)(q32;q21)	<i>IGH/BCL2</i>	t(9;22)(q34;q11)	<i>BCR/ABL1</i>		

*The gene designations follow the recommendation of the HUGO Gene Nomenclature Committee (<http://ash.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/>).

Tablo 4. T lineage ALL'de ortaya çıkan kromozom anomalileri sonucu oluşan gen aktivasyon ve füyonları

Gene activation		Gene fusion			
Abnormality	Genes involved	Abnormality	Genes involved	Abnormality	Genes involved
del(1)(p32p32)	<i>SIL/TAL1</i>	t(7;10)(q34;q24)	<i>TRB/TLX1</i>	t(1;12)(q24-25;p13)	<i>ETV6/ABL2</i>
t(1;3)(p32;p21)	<i>TCTA/TAL1</i>	t(7;11)(q34;p13)	<i>TRB/LMO2</i>	t(4;11)(q23-25;p15)	<i>NUP98/RAP1GDS1</i>
t(1;7)(p34;q34)	<i>TRB/LCK</i>	t(7;19)(q34;p13)	<i>TRB/LYL1</i>	t(4;21)(q28;q22)	<i>RUNX1/FGA7</i>
t(1;7)(p32;q34)	<i>TRB/TAL1</i>	t(8;14)(q24;q11)	<i>TRA/MYC</i>	t(6;11)(q27;q23)	<i>MLL/MLLT4</i>
t(1;14)(p32;q11)	<i>TRD/TAL1</i>	t(10;14)(q24;q11)	<i>TRD/TLX1</i>	t(9;12)(p24;p13)	<i>ETV6/JAK2</i>
t(5;14)(q34;q32)	<i>BCL11B/NKX2-5</i>	t(11;14)(p15;q11)	<i>TRD/LMO1</i>	t(9;12)(q34;p13)	<i>ETV6/ABL1</i>
t(5;14)(q35;q11)	<i>TRD/TLX3</i>	t(11;14)(p13;q11)	<i>TRD/LMO2</i>	t(9;22)(q34;q11)	<i>BCR/ABL1</i>
t(5;14)(q35;q32)	<i>BCL11B/TLX3</i>		<i>TRD/TCL2</i>	t(10;11)(p12;q14)	<i>PICALM/MLLT10</i>
t(7;9)(q34;q32)	<i>TRB/TAL2</i>	t(14;21)(q11;q22)	<i>TRA/OLIG2</i>	t(10;11)(q24;p15)	<i>NUP98/ADD3</i>
t(7;9)(q34;q34)	<i>TRB/NOTCH1</i>			t(11;15)(q23;q14)	<i>MLL/AF15Q14</i>
				t(11;16)(q23;p13)	<i>MLL/CREBBP</i>
				t(11;19)(q23;p13)	<i>MLL/ELL</i>
					<i>MLL/MLLT1</i>
					<i>MLL/MLLT7</i>
				t(X;11)(q13;q23)	

*The gene designations follow the recommendation of the HUGO Gene Nomenclature Committee (<http://ash.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/>).

lanmıştır. Şekil 1'de bugüne kadar çocukluk ve erişkin çağı ALL'de tanımlanmış sitogenetik ve moleküler anomaliler özetlenmektedir.

1960'da ph kromozomunun keşfi, benzer şekilde ALL için de kromozom anomalilerinin araştırılmasını gündeme getirmiştir. Bandlama tekniklerinin gelişimine kadar sadece diplod ve anöploid durumlar saptanmış ve tetraploid hastaların daha iyi sürviye sahip olduğu daha o zaman keşfedilmiştir. 1970'de t(9;22)(q34;q11)'in ALL hastalarında da oluşabildiğinin saptanması, ALL'de sitogenetik değişikliklere ilgiyi yeniden uyandırmıştır.

Tablo 3 ve 4'de ALL'de saptanabilen kromozom anomalileri ve eşlik eden gen aktivasyon ve füyonları özetlenmiştir. 1977'de t(4;11)(q23;p13) tanımlanmış ve 1980'lerin sonuna doğru bu anomalilerin sayısı 30'a ulaşmıştır. FISH

uygulamalarının kliniğe girmesiyle 1994'de t(12;21)(p13;q22) tanımlanmış ve bugün bile çocukluk çağı B ALL'lerinde %15–20 gibi sık bir saptanma oranıyla en sık görülen anomali olma özelliğini korumuştur. Bu translokasyonlar ve eşlik eden gen değişikliklerinin saptanması tanısal olduğu kadar prognozun takibi ve tedavi hedefi olarak da yarar sağlamaktadır. Her ne kadar bu translokasyonlar sonucunda ortaya çıkan gen değişimlerinin büyük bir kısmı tirozin kinaz ve benzeri enzim aktivitesine sahip değilse de, Ph kromozomu pozitif ALL'de imatinib ve benzerleriyle ilgili çalışmalar gittikçe artmaktadır. Ayrıca bu genlerin gerek tedavi esnasında ve gerekse tedavi sonrasında PCR ile takibi ve MRD saptanması prognostik öneme sahiptir ve pek çok klinikte kullanılmaktadır. Tablo 5 ve 6'da bu moleküler değişikliklere eşlik eden klinik bulgular ve prognoz beklentileri özetlenmiştir.

Tablo 5. T lineage ALL'de kromozom anomalilerine eşlik eden klinik özellikler

Cytogenetic feature	Median age		Median WBC	CNS disease (%)	Immunophenotype	Prognosis
	Children	Adults				
der(1)(p32)/ TAL1 rearrangements	8	25	>200	10	CD1a+/-, CD2+, CD3+/-, CD4+/-, CD5+, CD7+, CD8+/-, CD10-, CD15+/-, CD38+, CD71+/-	Favorable
t(5;14)(q35;q32)	6	NA	50-100	?	CD1a+, CD2+, cCD3+, CD4+/-, CD5+, CD7+, CD8+/-, CD10+/-, CD34+/-	Standard (?)
t(8;14)(q24;q11)	6	NA	90-100	30-40	CD2+, CD3+, CD7+	Poor (?)
t(10;14)(q24;q11)	7	33	50	?	CD1+, CD2+, CD3+, CD4+, CD5+, CD7+, CD8+, CD10+/-	Favorable
t(11;14)(p13;q11)	9	NA	>200	20-30	CD2+, CD3+/-, CD4+, CD5+, CD7+, CD8+, CD10-	Poor (?)
t(11;19)(q23;p13)	12	NA	80-90	<5	CD1+, CD2+/-, CD3+/-, CD4+, CD5+, CD7+, CD8+, CD10+/-, CD34+	Favorable

CNS = central nervous system.

WBC = white blood cell count; NA = not applicable (due to low number of cases).

Tablo 6. B lineage ALL'de kromozom anomalilerine eşlik eden klinik özellikler

Cytogenetic feature	Median age		Median WBC	CNS disease (%)	Immunophenotype	Prognosis
	Children	Adults				
Near-haploidy (<35)	4	NA	10-20	<5	clg-, CD10+, CD19+	Poor
Hypodiploidy (35-44)	5	38	10-20	<5	clg-, CD10+, CD19+	Poor
Hyperdiploidy (>50)	4	21	<10	<5	clg-, CD10+, CD19+, CD45-	Favorable
t(1;19)(q23;p13)	6	32	10-30	<5	clg+, CD9+, CD10+, CD19+, CD20+/-, CD22+, CD34-	Favorable (if intensively treated)
t(4;11)(q21;q23)	<1	42	>100	10-20	CD9+, CD10-, CD15+, CD19+, CD24+/-, CD34+, CD65+, NG2+	Poor (particularly in infants)
t(8;14)(q11;q32)	10	28	10	<5	CD10+, CD19+	Favorable
t(8;14)(q24;q32)	9	39	10-20	50-60	B cell with slg	Favorable (if intensively treated)
dic(9;12)(p13;p13)	4	NA	<10	<5	CD10+, CD19+, CD20+, CD22+, CD24+	Favorable
dic(9;20)(p11-13;q11)	4	NA	20-30	30	CD10+, CD19+, CD20+/-, CD24+	Favorable (?)
t(9;22)(q34;q11)	8	44	20-75	<5	clg+/-, CD10+, CD13+/-, CD15+/-, CD19+, CD33+/-, CD34+	Poor
t(11;19)(q23;p13)	<1	33	>100	10	CD10-, CD13+/-, CD15+/-, CD19+, CD24+, CD33+/-, CD34+/-, NG2+	Poor (particularly in infants)
t(12;21)(p13;q22)	4	NA	10-20	<5	CD9+/-, CD10+, CD13+/-, CD19+, CD20+/-, CD24+, CD33+/-, CD34+, CD45+, CDw65+/-	Favorable
dup(21q)/ RUNX1 amplification	8	NA	<10	10	clg+/-, CD10+, CD19+	Poor (?)

WBC = white blood cell count.

CNS = central nervous system; NA = not applicable (due to low number of cases).

ALL'de, AML hastaları için yapıldığı gibi, risk tanımlaması yapılmış ve tedavinin buna göre planlanması gerektiği önerilmiştir. Bunlardan bir tanesi de minimal residual disease (MRD) düzeyidir ve hastaların %90'ı MRD saptanması için klonal bir anomali taşımaktadır. Bu amaçla flow sitometri (FACS) ile lösemiye özgül yüzey belirteçleri saptanabilir, PCR ile bcr/abl transkriptinin varlığı araştırılabilir, real-time PCR ile Ig gen ya da TCR gen yeniden düzenlenmesi araştırılabilir. Hangisi yapılırsa yapılsın, MRD düzeyi 10-3'den büyük saptanan hastalarda relaps oranlarının yüksek olduğu, ancak MRD negatif %10-20 hastanın da relaps olabildiği değişik yayınlarda bildirilmektedir.

Sonuç olarak; yeni tanı almış her lösemi hastasında mutlak suretle klasik konvansiyonel yöntemlerle sitogenetik analiz, yapılabiliyorsa FISH ve PCR ile moleküler düzeyde genetik analiz önerilmektedir. Remisyon elde edildikten sonra da

relaps durumunu erken saptama ve sonraki tedavinin planlanması için MRD takibi hastalığa özgü belirteçlerle ve her hastalık için uygun aralıklarla yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Fröhling S, Scholl C, Gilliland DG, Levine RL. Genetics of myeloid malignancies: pathogenetic and clinical implications. JCO 2005;23:6285-6295
2. Gökbuğut N, Kneba M, Raff T, et al. Risk-adapted treatment according to minimal residual disease in adult ALL. Best Prac Res Clin Haem 2003;15(4):639-652
3. Armstrong S, Look AT. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. JCO 2005;23(26)6306-6315
4. Johansson B, Mertens F, Mitelman F. Clinical and biological importance of cytogenetic abnormalities in childhood and adult acute lymphoblastic leukemia. Ann Med 2004;36:492-503

