

Lösemide Minimal Rezidüel Hastalık

Dr. Uğur ÖZBEK

İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

Lösemi tedavisindeki son yıllardaki gelişmelere karşın, nüksün varlığı hala ciddi bir sorun olarak sürmektedir. Hastaya uygulanan tedaviden (radyoterapi, kemoterapi, kemik iliği nakli) kaçan ve nükse neden olan hücrelerin varlığı “minimal rezidüel hastalık-MRH” tanımlamasını gündeme getirmektedir. Tedaviden kaçan bu rezidüel hücrelerin saptanması ve varlığının klinik önemi konusunda giderek yeni teknolojilerin de eklenmesiyle önemli gelişmeler olmuştur.

Günümüzde lösemi tedavisi sonrası nükse yol açan en önemli nedenin MRH olduğu düşünülmektedir. Morfolojik olarak saptanamayacak kadar düşük sayıda blastik hücre varlığı anlamına gelen MRH, laboratuvar bazında başlıca aşağıda belirtilen şekillerde gösterilebilir:

1. İmmüfenotipleme: akım sitometri ile lösemik hücre yüzeyindeki aberant protein ekspresyonunun gösterilmesi
2. Karyotip analizi: sitogenetik çalışma, fluoresan in situ hibridizasyon (FISH)
3. PCR yöntemi ile kromozomal aberasyonların gösterilmesi
4. PCR yöntemi ile klona özgü Ig ve TCR gen yeniden yapılanmalarının gösterilmesi

Bu teknikler arasında en sık kullanılan ve güvenilir sonuç veren yöntem PCR ile kromozomal aberasyonlara ve Ig/TCR gen yeniden yapılanmasına bakılmasıdır. Duyarlılığı son derece yüksek olan bu yöntemle 10^{-3} ile 10^{-6} hücrede bir blastik hücre saptanabilmektedir.

Klona özgü PCR analizi ile indüksiyon tedavisi sonrasında hastaların % 40- 70'inde MRH'nın bulunduğu ortaya konmuştur. Bu oran çoğun-

lukla tedavi sürecinin ilk 6 ayında tedrici olarak düşmektedir. İndüksiyon tedavisi sonrası bakılan klonal gen yeniden yapılanmasının 1/1000 oranından daha sık bulunmasının nüks açısından yüksek risk oluşturduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

MRH'nın düzenli kantitasyonu ile nüksün erken tanınabileceği kabul gören bir eğilim olmasına karşın bir kısım çalışmanın sonuçları da her MRH'lı hastanın nüks etmediğini göstermiştir.

ALL'de hastaliksız yaşam süresi rezidüel hastalığın kontrol altında tutulmasına bağlıdır. Bu nedenle MRH çalışmaları önem kazanmaktadır. Bu çalışmalar sayesinde MRH için eşik belirlenmesi, düzenli bakılan MRH'nın tedavi şemaları içinde nasıl bir yer alması gerektiği gibi konular netlik kazanacaktır. Örneğin, MRH (+), nüks riski yüksek hastalarda transplantasyon seçkin tedavi olarak kabul edilirken, MRH saptanmayan hastalarda uzun süreli sitotoksik tedavi yapılmasının gereksiz olabileceği tartışılmaktadır.

Tablo 1. MRH tanısında kullanılan yöntemler ve duyarlılıkları

Hastalık	Yöntem	Duyarlılık
ALL	Sitogenetik	10^{-1} - 10^{-2}
	Akım sitometrisi	10^{-3} - 10^{-3}
	PCR (Ig/TCR)	10^{-4} - 10^{-5}
	PCR (translokasyon)	10^{-4} - 10^{-6}
AML	Sitogenetik	10^{-1} - 10^{-2}
	Akım sitometrisi	10^{-3} - 10^{-3}
	PCR (traslokasyon)	10^{-4} - 10^{-6}
KML	Sitogenetik	10^{-1} - 10^{-2}
	PCR (traslokasyon)	10^{-4} - 10^{-6}

Akut lenfoblastik lösemi ve MRH

Her lösemide en azından bir ve hastalık için spesifik, "klonal" bir gen yeniden düzenlenmesi vardır ve hastalık izleminde marker olarak kullanılabilir. T yada B hücre kaynaklı ALL'de MRH tespiti için 2 tip lösemi spesifik markerla analiz imkanı vardır. Birincisi anormal kromozomal rekombinasyon sonucu gelişen özgün füzyon bölgelerinin tespiti, diğeri ise hastada hastalık spesifik olarak ortaya çıkan immüno globulin yada T-hücre reseptör (THR) genlerinin yeniden yapılanmalarının tespiti şeklindedir. Klinik çalışmaların çoğu hasta spesifik Ig yada T-hücre reseptörü kullanılarak yapılmıştır. Genellikle IgH geni bağlaç bölgesi, ve THR gamma ve delta düzenlenmeleri PCR la, MRH takibi için hedef bölge olarak seçilirler. MRH saptanması için hedef bölgelerin izlem sırasında sabit kalması gerekir. Örneğin B-ALL'lerin %40'ında poliklonal IgH gen düzenlenmeleri vardır, bu durum T-ALL'lerde THR leri açısından farklı oranlardadır (Tablo 3).

Cavé ve arkadaşları tarafından yapılan 246 pediatrik vakalık bir çalışmada indüksiyon tedavisi sırasında >1/100 oranında MRH (+)'liği olan hastalarda artmış oranda nüks gözlenmiştir (relatif risk=16). Konsolidasyon yada ara tedaviler sırasında 1/1000 den çok MR hücre varlığı ise relatif riski 7-9 kez artırmaktadır. MRH varlığının, artmış nüks riski olması hastalık için diğer bilinen risk faktörlerinden (yaş, lökosit sayısı, immüno fenotip vb.) bağımsız bir faktördür. Yine Van Dongen ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada 2 farklı dönemde MRH durumları analiz edilen (indüksiyon tedavisi sonrası ve konsolidasyon tedavisi öncesi) hastaları nüks açısından 3 ayrı risk grubuna

ayırılmışlardır. MRH açısından her iki dönemde de 10^{-3} den daha fazla yükü olanlar daha kötü gidişli ve % 79 oranında nüks gösterirken, her 2 dönemde de MRH negatif olanların nüks oranı % 2 idi. Bu limitlerin arasında kalan hastalarda ise nüks oranı %23 idi. Bu bulgular MRH varlığının sadece nüks olasılığı öngörüsü yapmaya olanak vermeden öte, aynı zamanda hasta gurubunu nüks riski açısından farklı kategorilere ayırma imkanı sağladığını da göstermektedir. Ancak bununla birlikte yapılan çalışmalar MRH açısından uzun izlemlerde farklı deneyimleri de göstermişlerdir. Tedavi sonrası on yıldan fazla yaşayan, 1134 çocuğun takibinde sadece 12'sinin (%1) nüksünün olduğunu ve DNA'sı analiz edilebilen 8'inin tanı ve geç nüks dönemlerindeki Ig ve T hücre reseptörü yeniden yapılanmalarının aynı olduğunu göstermiştir.

Erişkin ALL'de kötü prognoz göstergesi olan sitogenetik aberasyonlar t(9;22)(q34;q11), trizomi 8, t(4;11)(q21;q23), monozomi 7, t(1;19)(q23;p13) ve haploidi olarak bulunmuştur. Bu grupta 3 yıllık hastaliksız yaşam oranı \leq % 25'tir ve hastalar artmış risk nedeniyle denenen daha yoğun kemoterapi şemalarından yarar görmemektedirler. Orta dereceli prognoz işaret eden kromozomal bulgular normal veya hiperdiploid karyotipi, trizomi 21, del(9p) veya t(9p) ve del(6q) olarak sıralanmaktadır. % 26-50 arasında 3 yıllık hastaliksız yaşam oranları olan bu grup yoğun kemoterapi şemalarından fayda görmüştür. Literatürde del(12p) veya t(12p), t(14q11-q13) aberasyonlarının iyi prognoz göstergesi olduğu yönünde bulgular mevcuttur. Bu hastalarda beklenen hastaliksız yaşam süresi ve kalıcı tam remisyon oranları yüksektir. ALL tedavisinde başarısızlık, remisyon sağlanamamasından değil, remisyonun kalıcı olmamasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle nüks riski yüksek hasta grubunun erken tanınması ve uygun tedavilerle olası nüksün engellenmesi günümüz ALL tedavi stratejilerinin temelini oluşturur.

Tablo 2. ALL ve AML'de genetik değişiklikler sonucu oluşan füzyon genlerin saptanması ile MRD takibi yapılabilme oranı

Hastalık	Translokasyon ve füzyon gen	Sıklığı (%)	
		Çocukluk çağı	Erişkin
B hücreli ALL	B(2):B(2)RARI	4-8	25-40
	B(1):B(2)A19B1	5-8	20
	B(1):B(1)A4	2	5
	B(1):B(2)C4	1	4
	B(1):B(2)M1EN	1	4
	B(1):B(1)A3	1	4
	B(1):B(2)A11	1	4
	B(1):B(2)C4	1	4
	B(1):B(2)C4	1	4
	B(1):B(2)C4	1	4
T hücreli ALL	TAL1 delesyon	20-30	1-2
	TAL1 delesyon	20-30	10-20
	B(1):B(1)N(2)C(2)C(2)	5-10	5-10
	B(1):B(1)T(1)C(2)A(2)	1	1
AML	B(1):B(1)N(2)C(2)C(2)	1	1
	B(1):B(1)N(2)C(2)C(2)	1	1
	B(1):B(1)N(2)C(2)C(2)	1	1
	B(1):B(1)N(2)C(2)C(2)	1	1
	B(1):B(1)N(2)C(2)C(2)	1	1
	B(1):B(1)N(2)C(2)C(2)	1	1

Tablo 3. ALL'de antijen / T-hücre reseptör geni yeniden düzenlenmelerinin saptanması ile MRD takibi yapılabilme oranları

PCR ile antijen / reseptör tespiti	Sıklığı (%)			
	Çocukluk çağı	Erişkin	B-ALL	T-ALL
CDRβ geni yeniden düzenlenmesi	55	45	50	20
TDRβ geni yeniden düzenlenmesi	50	50	50	40
CDRδ geni yeniden düzenlenmesi	50	50	0	0
TAL1 delesyon	0	0	5-10	0
Testleri	50	70	25	20

Akut myeloid lösemi ve MRH

Hastaya özgü Ig ve THR gen yeniden yapılanmaları AML'de klonal yapılanmanın izlemeyi sağlayamaz. Burada AML'ye özgü füzyon genlerinin PCR ile izlenmesi ön plana çıkmaktadır. Tablo 2'de verilen translokasyonlar ve FLT3 geni mutasyon ve duplikasyonlarının takibi bu amaçla kullanılır. Ancak bu aberasyonlar hastaların kısıtlı bir oranının izleminde kullanılabilir.

Bunlardan AML M3 alt tipi için spesifik olan t(15;17), PML-retinoik reseptör alfa geni füzyonu için MRH varlığının daha önceleri yüksek nüks riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Günümüzde bu izlem kantitatif PCR ile yapılabilmektedir. t(8;21), inv(16) gibi AML spesifik aberasyonlar farklı alt guruplarda MRH takibinin PCR'la takibi için kullanılmaktadır.

MRH izleminde kullanılabilir marker eksikliği çeşitli gurupların çalışmalarıyla çözümlenmeye çalışılmaktadır. Son yıllarda hem ALL, hem de AML'de MRH takibi için WT1 geninin kullanılabilmesi için çalışmalar sürdürülmektedir.

Kaynaklar

1. Stock W, Estrov Z Studies of minimal residual disease in acute lymphocytic leukemia. Clin North Am Hematol 2000;14:1289
2. Wetzler M, Dodge RK, Mrozek K, et al. Prospective karyotype analysis in adult acute lymphoblastic leukemia: The cancer and leukemia group B experience. Blood 1999;93:383
3. Secker-Walcker LM, Prentice HG, Durrant J, et al. On behalf of the MRC Adult leukemia working party: cytogenetics adda independent prognodtic information in adults with acute lymphoblastic leukemia on MRC trial UKALL XA. Br J Haematol 1997;96:601
4. Heid CA, Steven J, Livak KJ, et al: Real time quantitative PCR. Genome Res 1996;6:986
5. Radich JP, Kopecky KJ, Boldt DH, et al. Detection of bcr-abl fusion genes in adult acute lymphoblastic leukemia by PCR. Leukemia 1994;9:1668
6. Cave H, van der Werften Bosch J, Suci S, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. N Eng J Med 1998;339:591
7. Hoelzer D, Gökbuget N, Reutzel R, Multizentrische intensivierte Therapiestudie der akuten lymphatischen Leukämie des Erwachsenen (GMALL) 05/93
8. Pongers-Willems MJ, Seriu T, Stolz F, d'Aniello E, Gameiro P, Pisa P, Gonzalez M, Bartram CR, Panzer-Grümayer ER, Biondi A, San Miguel JF, van Dongen JJM. Primers and protocols for standardized detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia using immunoglobulin and T cell receptor gene rearrangements and TAL1 deletions as PCR targets. Report of The BIOMED-1 CONCERTED ACTION: Investigation of minimal residual disease in acute leukemia. Leukemia. 1999;13:110
9. Van Dongen JJM, Macintyre EA, Gabert JA, Delabesse E, Rossi V, Saglio G, Gottardi E, Rambaldi A, Dotti G, Griesinger, Parreira A, Gameiro P, Gonzalez-Diaz M, Malec M, Langerak AW, San Miguel JF, Biondi A. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Leukemia. 1999;13:1901
10. Van Dongen JJM, Seriu T, Panzer-Grumayer ER et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia in childhood. Lancet 1998; 352:1731.
11. Vora A, Frost L, Godeve A et al. Late relapsing childhood lymphoblastic leukemia. Blood 1998; 92:2334.
12. Diverio D, Rossi V, Avvisti G et al. Early detection of relaps by prospective reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of the PML/RARalpha fusion gene in patients with acute promyeloblastic leukemia enrolled in the GIMEMA-AIEOP multicenter trial. Blood 1998; 92:784.