

# THD 2006

Türk Hematoloji Derneği'nin  
Eğitim Çalışmalarından  
Bilimsel Alt Komite Kursları

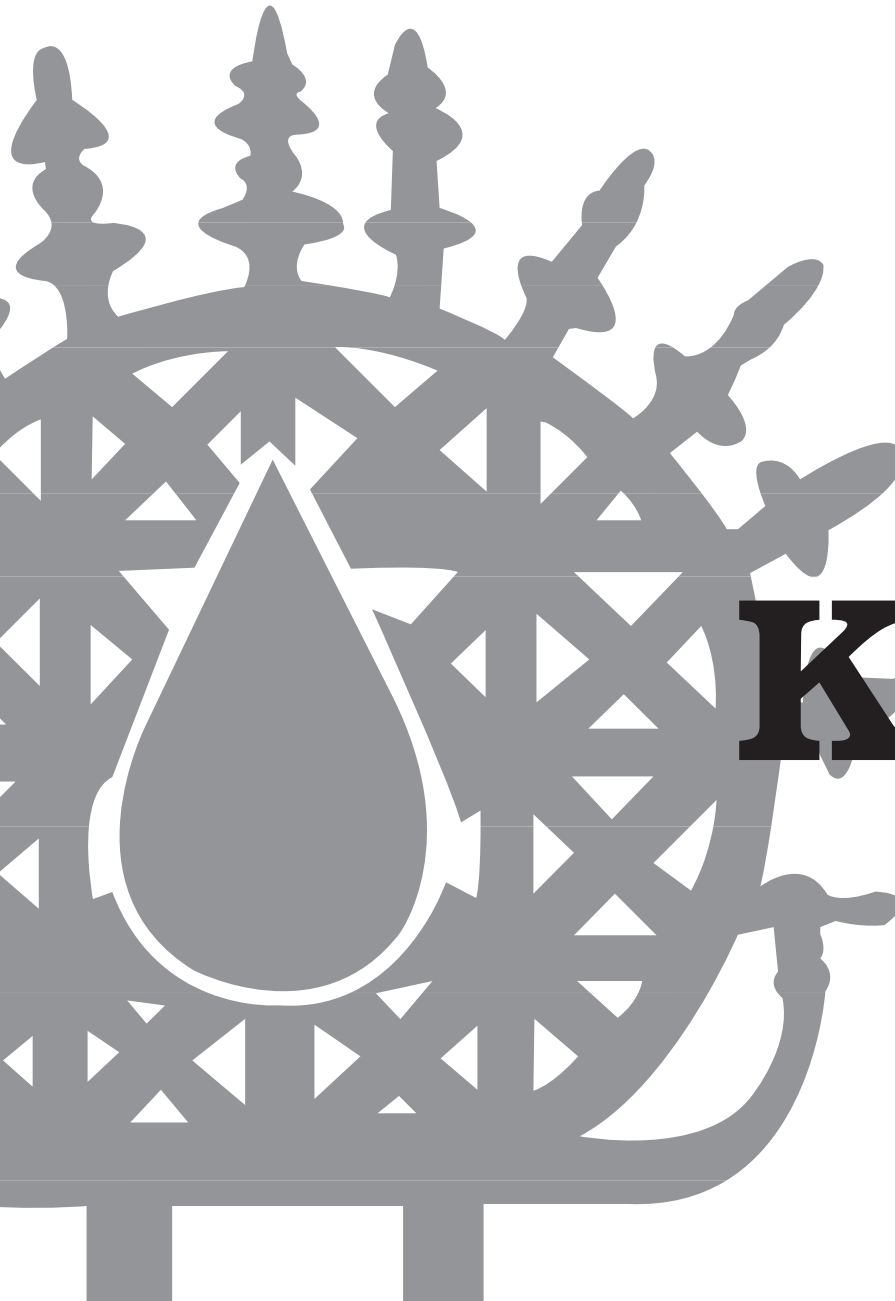
## Akut Lösemi Kursu

8-9 Nisan 2006

Anemon Otel - Aydın

## Kurs Kitabı

[www.thd.org.tr](http://www.thd.org.tr)





# İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL PROGRAM	5
AKUT LÖSEMİLER WHO SINIFLAMASI VE NADİR AKUT LÖSEMİ TİPLERİ <i>Dr.Rıdvan Ali</i>	7
AKUT MİYELOSİTİK VE AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ TANISINDA AKIM SİTOMETRİ; STANDART PANEL <i>Dr.G.Hayri Özsan</i>	11
AKUT MİYELOSİTİK VE AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLERDE FISH PANELİ VE PROGNOZ <i>Dr.Beyhan Durak</i>	15
AKUT MİYELOSİTİK VE AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLERDE MOLEKÜLER GENETİK VE PROGNOZ <i>Dr.Uğur Özbek</i>	19
AKUT MİYELOSİTİK VE AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLERDE MİNİMAL REZİDUEL HASTALIK İZLEMİ <i>Dr.Pervin Topçuoğlu, Dr.Mutlu Arat</i>	25
AKUT MİYELOİD LÖSEMİDE STANDART TEDAVİ <i>Dr.Tanju Atamer</i>	45
AKUT PROMİYELOSİTİK LÖSEMİ TEDAVİSİ <i>Dr.Elif Akdoğan, Dr.Serdar Bedii Omay</i>	49
AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİDE STANDART TEDAVİ <i>Dr.Burhan Ferhanoğlu</i>	54
YAŞLI AKUT MİYELOSİTER LÖSEMİ TEDAVİSİ <i>Dr.Seçkin Çağırğan</i>	58
FİLADELFİYA KROMOZOMU POZİTİF AKUT LENFOBLASTİK LEUKEMİADA TEDAVİ <i>Dr.Zahit Bolaman</i>	60
İLERİ YAŞ HASTALARDAKİ AKUT LENFOBLASTİK LEUKEMİA TEDAVİSİ <i>Dr.Zahit Bolaman</i>	64
RELAPS AKUT MİYELOSİTİK LÖSEMİ TEDAVİSİ <i>Dr.Önder Arslan</i>	68
RELAPS OLMUŞ ERİŞKİN AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLERDE TEDAVİ <i>Dr.İsmet Aydoğdu</i>	72
BURKİTT LÖSEMİ <i>Dr.Lebriz Yüksel Soycan</i>	76
ADÖLESAN AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ TEDAVİSİ <i>Dr.Lebriz Yüksel Soycan</i>	83
AKUT MİYELOSİTİK VE AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLERDE YENİ İLAÇLAR VE İMMUNOTERAPİ <i>Dr.Sevgi Kalayoğlu-Beşışık</i>	85
AKUT MİYELOİD LÖSEMİDE HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLI <i>Dr.Günhan Gürman</i>	91
AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİDE HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLI <i>Dr.Ali Ünal, Dr.Leylagül Kaynar</i>	94



# BİLİMSEL PROGRAM

8 NİSAN 2006

**08.30-08.45 Açılış** *Dr. Zafer Gülbaş*  
Kurs Bilimsel Başkanı  
*Dr. Muhit Özcan*  
THD Başkanı

**1. Oturum başkanı: Dr. Osman İlhan**

**08.45-09.10** Akut lösemiler WHO sınıflaması ve nadir akut lösemi tipleri  
*Dr. Rıdvan Ali*

**09.10-09.35** AML ve ALL tanısında akım sitometri, standart panel  
*Dr. Hayri Özsan*

**09.35-10.00** Tartışma

**10.00-10.30** **Ara**

**2. Oturum başkanı: Dr. Muhit Özcan**

**10.30-10.55** AML ve ALL de FISH paneli ve prognoz  
*Dr. Beyhan Durak*

**10.55-11.20** AML de ALL de moleküler genetik ve prognoz  
*Dr. Uğur Özbek*

**11.20-11.55** AML VE ALL de minimal rezidüel hastalık izlemi  
*Dr. Mutlu Arat*

**11.55 -12.15** **Tartışma**

**3. Oturum başkanı: Dr. Filiz Büyükkeçeci**

**13.30-13.55** AML de standart tedavi  
*Dr. Tanju Atamer*

**13.55-14.20** Akut promyelositik lösemi tedavisi  
*Dr. Serdar Bedii Omay*

**14.20-14.45** ALL de standart tedavi  
Dr. Burhan Ferhanoglu

**14.45-15.15** **Tartışma**

**15.15-15.45** **Ara**

**4. Oturum başkanı: Dr. Bülent Ündar**

**15.45-16.10** Yaşlı AML tedavisi  
Dr. Seçkin Çağırğan

**16.10-16.35** Yaşlı ALL ve Philadelphia poz.ALL tedavisi  
Dr. Zahit Bolaman

**16.35-16.55** **Tartışma**

**16.55-17.15** **Ara**

**5. Oturum başkanı: Dr. Zafer Gülbaş**

**17.15-17.30** Akut lösemide veri tabanı  
*Dr. Orhan Ayyıldız*

**17.30-17.45** Akut lösemide yaşam kalitesi  
*Dr. Mustafa Çetiner*

**17.45-18.15** Akut lösemide rehber  
*Dr. Zafer Gülbaş*

**18.15-18.40** **Tartışma**

**9 NİSAN 2006**

**6. Oturum başkanı: Dr. Murat Tombulođlu**

**08.30-08.55**

Relaps AML tedavisi

*Dr. Önder Arslan*

**08.55-09.20**

Relaps ALL tedavisi

*Dr. İsmet Aydoğdu*

**09.20-09.45**

Burkitt ALL ve Adölesan ALL tedavisi

*Dr Lebriz Yüksel*

**09.45-10.15**

**Tartışma**

**10.15-10.45**

**Ara**

**7. Oturum başkan: Dr. Levent Ündar**

**10.45-11.10**

AML ve ALL de yeni ilaçlar ve immünoterapi

*Dr. Sevgi Kalayoğlu Beşışık*

**11.10-11.35**

AML de hematopoetik kök hücre nakli

*Dr. Günhan Gürman*

**11.35-12.00**

ALL de hematopoetik kök hücre nakli

*Dr. Ali Ünal*

**12.00-12.30**

**Tartışma**





# AKUT LÖSEMİLER WHO SINIFLAMASI VE NADİR AKUT LÖSEMİ TİPLERİ

**Dr.Rıdvan Ali**

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

**A**kut lösemiler, hemopoietik progenitör hücrelerin neoplastik transformasyonu sonucu gelişen ve lösemik hücrelerin farklılaşma ve olgunlaşma kusuru göstermeleri ile, normal kan hücrelerinin yapılamaması, aşırı çoğalma kabiliyeti gösteren lösemik hücreleri kemik iliğini, periferik kanı ve takiben diğer dokuları istila etmesi ile karakterize kemik iliğinin malign bir grup hastalığıdır<sup>1</sup>.

Hipokrat'ın lösemi belirti ve bulgularından bahsettiği bildirilmekle birlikte, lösemnin klinik bulgularının yeterince tanımı ilk kez 1827 yılında Velpau tarafından yapılmıştır. Ancak tanısız gelişmeler 1839–1845 yılları arasında olmaya başlamıştır. 17. yüzyılda Malpighi'nin mikroskopun önemini fark etmesi, hematoloji tarihinde önemli bir dönüm noktasını oluşturmuştur. Yaşamda olan hastada lösemnin ilk fark edilmesi 1845'de Carigie ve Bennett, ardından 1846'da Virchow tarafından olmuştur. 1847'de Virchow "leukemia" kelimesi ile hastalığın adını koymuştur<sup>2</sup>. İyi tariflenmiş ilk akut lösemi olgusu Friedreich'e (1857) atfedilmekle birlikte, 1889'da ilk "acute leukaemie" tanımını kullanan Ebstein olmuştur<sup>1</sup>. 1879'da Ehrlich tarafından boya tekniklerini tanımlaması ve lökositleri granüllerine göre ayırımının yapılmasını takiben Nageli tarafından ilk miyeloblast ve miyelosit tanımı yapılmıştır (yıl 1900)<sup>1,2</sup>. 1913 yılında bir Türk hematoloğu olan Hasan Reşad Sığındı ile birlikte Schilling-Torgau ilk monositer lösemi tanımlamışlardır<sup>1</sup>.

1976 yılında Fransız, Amerikan ve İngiliz bir grup hematolog tarafından orijinal akut lösemi FAB sınıflaması oluşturulmuştur. FAB sınıflamasında akut lösemilerin morfolojik ve sitokimyasal boyanma özelliklerine göre gruplanmıştır. Ancak immüfenotipleme, elektron mikroskobu, sitogenetik, moleküler biyolojik tetkik yöntemlerini ve nadir lösemi tiplerini içermeyen bir sınıflamadır<sup>3-5</sup>.

Akut lösemide; hücre yüzey antijenlerinin, sitogenetiğin öneminin fark edilmesi ve FAB sınıflamasının yeterli olmadığı gözlenmesi, akut lösemi immünolojik sınıflamalarını (MIC ve EGIL) gündeme getirmiştir<sup>6,7</sup>. "EGIL Sınıflaması'nda" (European Group for the Immunological Classification of Leukemias), AML'ler 2 veya daha fazla miyeloid marker (MPO, CD13, CD33, CDw65, Cd117) ekspresyonu ile tanımlanmış ve akut lenfoblastik lösemiler de B-I pro-B hücreli, B-II common-B hücreli ve B-III pre-B hücreli olarak 3 alt gruba ayrılmıştır<sup>8-9</sup>.

Akut lösemide sitogenetik ve moleküler genetik anomalilerin bariz bir hale gelmesi ve bunların prognostik önem arz etmesi nedeni ile, yeni bir sınıflandırma ihtiyacı olduğu gözlenmiştir. 2001 yılında Dünya Sağlık Örgütü (World Health

**Tablo 1:** Akut Lösemide FAB Sınıflaması

Akut Miyeloid Lösemi (AML)	
Alt Tip	Tanımlama
<b>M0</b>	Minimal farklılaşma gösteren akut miyeloblastik lösemi
<b>M1</b>	Olgunlaşma göstermeyen akut miyeloblastik lösemi
<b>M2</b>	Granülositik olgunlaşma gösteren akut miyeloblastik lösemi
<b>M3</b>	Akut promiyelositer lösemi
<b>M3V</b>	Akut varyant promiyelositer lösemi (mikrogranuler)
<b>M4</b>	Akut miyelomonositer lösemi
<b>M4Eo</b>	Akut eozinoflik miyelomonositer lösemi
<b>M5a</b>	Akut monoblastik lösemi
<b>M5b</b>	Akut monositer lösemi
<b>M6</b>	Akut eritrolösemi
<b>M7</b>	Akut megakaryoblastik lösemi
Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL)	
<b>L1</b>	Çocukluk tipi ALL
<b>L2</b>	Erişkin tipi ALL
<b>L3</b>	Burkitt tipi ALL

Organization, WHO) akut lösemiler de dahil olmak üzere hemopoietik ve lenfoid neoplazmaları içeren yeni bir sınıflama yapılmıştır. WHO sınıflamasında; morfoloji, immüfenotipleme, sitogenetik ve moleküler biyolojik özellikler göz önüne alınmış, akut lösemi tanısı için blastik hücre sayısı %30'dan %20'ye indirilmiş ve nadir lösemi tipleri de dahil edilmiştir (Tablo 2)<sup>3,10</sup>. WHO sınıflamasında akut lösemiler; miyeloid, lenfoid ve serisi belirlenemeyen olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Akut miyeloid lösemiler: a. tekrarlayan sitogenetik anomalilerle seyreden AML, b. çoğul seri displazisi ile seyreden AML, c. tedaviye ikincil AML ve MDS, d. tanımlanan gruplara girmeyen AML olmak üzere dört gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. Lenfoid lösemiler ise: a. prekürsör B-lenfoblastik lösemi/lenfoma, b. prekürsör T-lösemi/lenfoma, c. Burkitt lenfoma/lösemi şeklinde 3 gruba ayrılmıştır. Üçüncü grup olarak belirsiz serili akut lösemiler göz önüne alınmış ve bu grup ta: a. bifenotipik akut lösemi b. farklılaşmamış akut lösemiler olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır<sup>2, 3,10,11</sup>.



**Tablo 2:** Akut Lösemi WHO Sınıflaması**Akut Miyeloid Lösemi****1. Tekrarlayan Genetik Anomalilerle Seyreden AML**

- t(8;21)(q22;q22), (AML 1/ETO) ile AML
- inv(16)(p13q229 veya t(16;16)(p13;q22), (CBFβ/MYH11) ile AML
- Akut promiyelositer lösemi (t(15;17)(q22;q22), (PML/RARα) ile AML)
- 11q23 (MLL) anomalisi ile AML

**2. Çoğul Seri Displazisi ile Seyreden AML**

- Önceden miyelodisplastik sendromlu
- Önceden miyelodisplastik sendrom olmadan

**3. Tedaviye İkincil AML ve MDS**

- Alkilleyici ajanlarla ilişkili
- Topoisomerez II inhibitör ile ilişkili

**4. Tanımlanan Gruplara Girmeyen AML**

- Minimal farklılaşma gösteren AML
- Olgunlaşma göstermeyen akut miyeloblastik
- Akut miyelofibrozis ile panmiyelozlösemi
- Granülositik olgunlaşma gösteren akut miyeloblastik lösemi
- RARα rearrajmanı göstermeyen akut promiyelositer lösemi
- Akut miyelomonositik lösemi
- Akut monoblastik ve monositer lösemi
- Akut eritrolösemi
- Akut megakaryoblastik lösemi
- Akut bazofilik lösemi
- Myeloid sarkom

**Akut Lenfoblastik Lösemi**

1. Prekürsör B-lenfoblastik lösemi/lenfoma
2. Prekürsör T-lenfoblastik lösemi/lenfoma
3. Burkitt lenfoma/lösemi

**Serisi Belirsiz Akut Lösemi**

1. Bifenotipik akut lösemi
2. Farklılaşmamış akut lösemi

AML'li olgularda 100'den fazla genetik bozukluklar tanımlanmış olmakla birlikte, sıklıkla saptanan kromozomal bozukluklar; t(8;21), t(15;17), inv(16) t(9;11) ve t(16;16)'dir. Bu kromozomal bozukluklar ve bunun varyantları yaklaşık olarak AML olguların %40'ını oluşturmaktadır. Tanımlanmış olan diğer kromozomal anomaliler ise olguların %10'undan azını kapsamaktadır. Geri kalan %50 olguda ise normal karyotip saptanmakta veya kromozomal anomali saptanamamaktadır. Translokasyon (12,13), inv(16), t(8;21) ve t(15;17); CBFβ/MYH11, AML1/ETO ve PML/RARA füzyon protein ekspresyonları ile sonuçlanmakta ve nispeten olumlu prognostik özelliği göstermektedirler. Translokasyon t(6;9) veya 5(q), 7(q)

kromozom delesyonları dahil, çeşitli kromozomal anomalileri kötü prognoz özelliği oluşturmaktadırlar. Çoğunda olmak üzere, bariz sitogenetik anomali göstermeyen diğer AML'ler ise intermediate prognoza sahip hastalıklar olarak ele alınırlar<sup>14</sup>.

Moleküler analiz tekniklerinin gelişmesi, lösemiye dönüşüm mekanizmalarının kısmen de olsa daha iyi anlaşılmasını sağlamış ve akut lösemide yeni ve kullanışlı diagnostik marker özelliğini almaya başlamışlardır. Örneğin AML'de internal FLT3-ITD mutasyonunun veya EV11 sinyal faktöründe artmış mRNA ekspresyonunun belirlenmesi kötü prognozu işaret ederken, CEBRA transkrip faktöründe mutasyonun saptanması iyi prognozu gösterdiği ileri sürülmektedir. Ancak hala %40 gibi AML'li olgularda sitogenetik anomali veya moleküler özellik saptanabilmiş değildir<sup>14,15</sup>.

**TEKRARLAYAN GENETİK ANOMALİLERLE SEYREDEN AML**

- **t(8;21)(q22;q22), (AML 1/ETO) ile AML:** AML'li olguların %10-15 oranını teşkil eder ve tipik olarak M2 morfolojisinde presende olur.
- **inv(16)(p13q229 veya t(16;16)(p13;q22), (CBFβ/MYH11) ile AML:** Sıklıkla M4 ve M4Eo morfolojisinde ve daha az sıklıkla M2 ve M5 morfolojisinde presende olur. AML'li olguların %6-8'ni oluşturur.
- **Akut promiyelositer lösemi (t(15;17)(q22;q22), (PML/RARα) ile AML):** Çoğunluğu klasik ve varyant M3 şeklinde presende olurken, %2-3 oranında M1 veya M2 morfolojisi de gösterebilmektedirler. APL, akut miyeloid lösemili olguların %8-10'unu oluşturur.
- **11q23 (MLL) anomalisi ile AML:** Olguların %5-8'ini oluşturur. Sıklıkla M5 morfolojisini gösterirken, M2, M4 veya M7 morfolojisi ile de görülebilir<sup>3</sup>.

**ÇOĞUL SERİ DİSPLAZİSİ İLE SEYREDEN AML**

Çoğul seri displazisi ile seyreden AML, MDS içinde yer alan sitogenetik anomalilerle karakterizedir. Olguların büyük popülasyonunu yaşlı grup oluştururken, genç olgular yaklaşık %15 oranını teşkil etmektedir ve ortanca yaş 70'tir<sup>3</sup>.

**TEDAVİYE İKİNCİL AML**

**Alkilleyici ajanlarla ilişkili AML:** Genellikle 5 yıllık bir süreden sonra belirir ve sıklıkla önce MDS tablosu gelişir. Genetik olarak da, çoğul seri displazisi ile seyreden AML özelliği gösterir.

**Topoizomerez II ile ilişkili AML:** Ortaya çıkışı, alkilleyici ajanlarla ilişkili AML'ye nazaran daha erken dönemde olur. Genetik olarak "tekrarlayan genetik anomalilerle seyreden AML" ile aynı özelliği gösterir. Epipodofilotoksin daha baskın olarak 11q23/MLL- tipi translokasyonu yapar<sup>3</sup>.

**TANIMLANAN GRUPLARA GİRMİYEN AML**

- FAB sınıflamasının modifiye edilmiş şeklidir. M0, M1 ve M2 yaklaşık olarak %50, M3 %10, M5 %10, M6 %5 ve M7 %3-5 oranlarını teşkil ederler. RARα rearrajmanı göstermeyen APL; klasik M3 morfolojisini gösterir, all-trans-retinoik asid tedavisine yanıt vermez. Tedaviye cevap ve seyir durumu t(15;17) translokasyonu göstermeyen AML gibidir.
- **Akut bazofilik lösemi (ABL):** Klasik akut lösemi kliniği ile



presende olan, bazofilik farklılaşma gösteren ve t(15;17) veya BCR-ABL olmaması ile karakterize nadir bir AML alt tipidir. Hepatosplenomegali diğer AML tiplerine nazaran daha sık belirlenir. Miyeloperoksidaz veya sudan black pozitifliği ve Auer cisimcikleri görülmez. İmmünofenotiplendirmede miyeloid yüzey antijenlerinin pozitifliği ile birlikte CD9 ve CD25 pozitifliği belirlenir. Asid fosfataz sıklıkla pozitif saptanır.

•**Akut panmiyeloz veya miyelofibroz:** Kısa sürede kemik iliğinin ilerleyici fibrozisi ile karakterize nadir bir hastalıktır.

•**Miyeloid sarkom:** Periferik kan veya kemik iliği bulguları olmadan miyeloblastlardan oluşan tümöral kitle oluşumudur<sup>3</sup>.

### AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ

WHO sınıflamasına göre ALL tanısı ancak immünofenotipleme ile mümkün olabilmektedir.

**1. Prekürsör B-lenfoblastik lösemi/lenfoma:** L1, L2 veya karışık blastik hücre morfolojisini gösterebilir. B hücre yüzey antijenlerinin pozitifliği ile karakterizedir (CD19+, CD20+, CD22+, CD79a+). Keza CD10, HLA-DR, TdT ve nadiren CD34 pozitifliği olabilir. Genetik olarak; a. iyi, b. ortalama c. kötü riskli olmak üzere 3 alt gruba ayrılabilir.

**2. Prekürsör T-lenfoblastik lösemi/lenfoma:** L1, L2 veya karışık blastik hücre morfolojisinde olabilir. T hücre yüzey antijen (CD2, CD3, CD5, CD7, cCD3) pozitifliği ile karakterizedir. Genellikle TdT pozitifliği ve HLA-DR negatifliği saptanır. Çeşitli kromozomal bozukluklar tarif edilmiştir.

**3. Burkitt lenfoma/lösemi:** Burkitt tipi lenfoma ve lösemi, prekürsör lenfoid neoplazma grubundan değildir. Lenfoma WHO sınıflamasında matür B hücreli neoplazma olarak ele alınmıştır. FAB sınıflamasına göre L3 morfolojisini gösterir. İmmünolojik olarak, slg, CD19, CD20, CD22, HLA-DR pozitifliği vardır. TdT negatiftir. CD10 pozitif saptanabilir<sup>3</sup>.

### SERİSİ BELİRSİZ AKUT LÖSEMİ

**Bifenotipik Akut Lösemi:** Miyeloid ve lenfoid hücre morfolojisi gösteren iki hücre popülasyonunun varlığında söz konusu olan tanıdır. Ancak çoğu zaman morfolojinin net olabilmesi mümkün değildir. Bu nedenle bifenotipik akut lösemi tanısı için miyeloid ve lenfoid hücre yüzey antijenleri yol göstericidir ve bir değerlendirme (skorlama) sistemi kullanılır (Tablo

**Tablo 3:** Bifenotipik Akut Lösemi Değerlendirme Sistemi

Puan	B-lenfoid serisi	T-lenfoid serisi	Miyeloid seri
2	CD79a (mb-1)	CD3	Anti-MPO
	CD22	Anti-TCR	
	cyt IgM		
1	CD19	CD2	CD13
	CD10	CD5	CD33
	CD20	CD8	CD65
		CD10	CD117
0.5	TdT	TdT	CD14
		CD7	CD15
		CD1a	CD11b
			CD11c
			CD64

3). T/miyeloid tipinde spesifik genotip söz konusu değilken, B/miyeloid tipinde sıklıkla t(9;22)(q34;q11) (*Ph kromozomu*) ve 11q23 kromozomal anomalisi belirlenebilmektedir. Lenfoid popülasyon L1 ve L2 morfolojisinde olabilir<sup>3,11,15-17</sup>.

**Farklılaşmamış Akut Lösemi:** Blastik hücreler sıklıkla M2 morfolojisi gösterirler, ancak herhangi bir seriye ait farklılaşma bulguları göstermezler<sup>3</sup>.

### NADİR LÖSEMİ TİPLERİ

**Akut mast hücreli lösemi:** De novo veya sistemik mastositoz'un progresyonu veya kronik klonal miyeloid hastalığın sonucunda ortaya çıkabilir. Ateş, baş ağrısı, flushing ve kaşıntı dikkat çekici klinik belirtileri oluşturur. Karın ağrısı, diare, kemik ağrıları, peptik ülser diğer AML tiplerine nazaran daha sıktır. Hepatosplenomegali karakteristik bir özelliktir. Lenfadenomegali olabilir. Kemik iliğinde fokal veya diffüz olarak mast hücreleri ile infiltrasyon saptanır. Işık mikroskopunda; oldukça immatür, agranüler ve monosite benzer hücre infiltrasyonu saptanır. Bu hücrelere paralel olarak agranüler miyeloblastlar da mevcuttur. Granüllü hücreler, spesifik mast hücresi granülleri sentezlemiş lösemik miyelositlerdir. Bu erken dönem miyelositler yanlış olarak, erken granülenmiş blastik hücreler olarak adlandırılırlar. Lösemik hücreler CD13, CD33, CD68, CD117 ile kuvvetle pozitiflik gösterirler. Karakteristik olarak bazofil (CD11b, CD25, CD123) ve monosit yüzey antijenleri (CD14, CD15) negatiftir. Hücreler mieloperoksidaz (MPO) ile negatif, ancak granül içeren lösemik hücreler  $\alpha$ -naftol klorasetat esteraz ile ve immünohistokimyasal olarak triptaz ile pozitif boyanırlar. Sitotoksik tedavi intravasküler koagülopati ile ve mast hücre mediatörleri ile ilişkili semptomlara neden olabilir<sup>13</sup>.

**Akut eozinofilik lösemi (AEL):** Anemi, trombositopeni, periferik kan ve kemik iliğinde blastik hücreler, kemik iliğinde eosinofilik farklılaşma ve periferik kanda lösemik eosinofilik hücrelerin çoğunluğu teşkil etmesi ile AEL tanısı konur. Klinik olarak hepatosplenomegali ve lenfadenomegali mevcuttur. Blastik hücreler ışık mikroskopunda granülsüz hücreler olarak görülür. Periferik kan ve kemik iliğindeki hücreler MPO, sudan black (SB), siyanid-rezistans peroksidaz boyası ile pozitif, ancak naftol AS-D klorasetat esteraz ile negatif boyanırlar. Sitogenetik olarak karakteristik bir anomali olmamakla birlikte, psödodiploidi veya anaploidi sıktır. BCR rearrajmanı negatiftir. Moleküler işaretleyici olarak Wilms tümör geni (*WT-1*) aşırı ekspresyonu mevcuttur<sup>13</sup>.

**Akut miyeloid dentritik hücreli lösemi:** Akut dentritik hücreli lösemi oldukça nadir lösemi tipi olup, lenfoplasmasitoid dentritik hücreli (DC2) ve miyeloid dentritik hücreli (DC1) olmak üzere iki tipi vardır.

**Akut miyeloid dentritik hücreli lösemi, AML'li olguların %0.08 oranını teşkil eder. Lenfadenomegali, splenomegali, anemi ve trombositopeni klinik bulgularıdır. Periferik kan ve kemik iliğinde dentritik hücreye benzer blastik hücre ve matür görünümü dentritik hücre infiltrasyonu saptanır. Blastik hücreler MPO ve esterazlar ile negatif boyanırlar. Hücreler immünolojik olarak CD86, CD11c, CD80, CD83 yüzey antijenleri pozitiflik gösterirler<sup>13</sup>.**



**KAYNAKLAR**

1. Lichtman MA. Acute myelogenous leukemia. In: Williams Hematology, Eds: Beutler E, Lichtman MA, Coller BC, Kipps TJ, New York: McGraw-Hill Co., 1995, pp:272-98.
2. Beksaç M. Akut miyeloid lösemi. Türkiye Klinikleri Hematoloji 2004;2:1-9.
3. Head DR. Classification and differentiation of the acute leukemias. In: Wintrobe's Clinical Hematology, Eds: Greer JP, Foerster J, Lukenks JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2004, pp:2063-76.
4. Schumacher HR. Acute Leukemia: Approach To Diagnosis. Iga-Shoin Med Pub, Inc:Tokyo, 1990.
5. Özkalemkaş F. Akut lösemiler, İç Hastalıkları Kitabı, Ed. Dolar E, Nobel Tıp Kitabevi: İstanbul, 2005, s: 576-80.
6. Morphologic, immunologic, and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukemias. Report of the Workshop held in Leuven, Belgium, September 15-17, 1986. Second MIC Cooperative Study Group. Cancer Genet Cytogenet 1988;30:1-15.
7. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). Leukemia 1995;9:1783-6.
8. Legnad O, Perrot JY, Baudard M, et al. The immunophenotype of 117 adults with acute myeloid leukemia: proposal of a prognostic score. Blood 2000;98:870-7.
9. Matsuo Y, Drexler HG. Establishment and characterization of human B cell precursor-leukemia cell lines. Leuk Res 1998;22:567-79.
10. Yanada M, Suzuki M, Kawashima K, et al. Long-term outcomes for unselected patients with acute myeloid leukemia categorized according to the World Health Organization classification: a single-center experience. Eur J Haematol 2005;74:418-23.
11. Haferlach T, Kern W, Schnittger S, Schoch C. Modern diagnosis in acute leukemia. Crit Rev Oncol Hematol 2005;56:223-34.
12. Alcalay M, Tiacci E, Bergomas R, et al. Acute myeloid leukemia bearing cytoplasmic nucleophosmin (NPMc+ AML) shows a distinct gene expression profile characterized by up-regulation of genes involved in stem-cell maintenance. Blood 2005;106:899-902.
13. Lichtman MA, Segel GB. Uncommon phenotypes of acute myelogenous leukemia: basophilic, mast cell, eosinophilic, and myeloid dendritic cell subtypes: a review. Blood Cells Mol Dis 2005;35:370-83.
14. Valk PJ, Delwel R, Lowenberg B. Gene expression profiling in acute myeloid leukemia. Curr Opin Hematol 2005;12:76-81.
15. Matutes E, Morilla R, Farhat N, et al. Definition of acute biphenotypic leukemia. Haematologica 1997;82:64-6.
16. Flater JL, Yaseen NR, Peterson LC, et al. Biphenotypic acute leukemia with coexpression of CD79a and markers of myeloid lineage. Arch Pathol Lab Med 2003;127:356-9.
17. Owaidah TM, Beihany AA, Iqbal MA, et al. Cytogenetics, molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system. Leukemia 2006, doi:10.1038/sj.leu.2404128.



# AKUT MİYELOSİTİK VE AKUT LENFOBlastİK LÖSEMİ TANISINDA AKIM SİTOMETRİ; STANDART PANEL

Dr.G. Hayri Özsan

9 Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı

Bir hücre serisinde olgunlaşmanın belirli bir kesitinde,

- normalde bulunan,
- normalden fazla sayıda bulunan,
- normalde saptanmayan ya da aynı anda bulunmaması gereken antijenik yapıların saptanması temeline dayanır.

Hücrelerin detaylı fenotipik analizi, hücrenin ait olduğu seri ve olgunlaşma aşaması hakkında bilgi sağlar.

- Hücre serisinin saptanmasında; özellikle morfoloji ve histokimyanın yardımcı olmadığı durumlarda
  - B- ve T-hücreli akut lösemilerin ayırımında
  - Birden fazla hücre serisi ile ilişkili lösemilerin saptanmasında
  - B-hücreli lenfoproliferatif hastalıkların monoklonalitelere saptanmasında
- Oldukça önemlidir.
- Genetik anormalliklerin taranmasında yardımcıdır<sup>1-9</sup>.
  - Minimal rezidüel hastalık saptanmasında yardımcıdır<sup>10-12</sup>.

## AKUT MYELOİD LÖSEMİLER (AML)

Tanı ve sınıflamadaki önemli göstergeler CD34, CD117, CD33, CD13, CD15, CD4, CD11b, HLA-DR ve sitoplazmik myeloperoksidazdır (cMPO).

Nötrofil, bazofil, eozinofil, monosit, mast, eritroid ve megakaryosit hücre serileri ve dendritik hücrelerin varlığı immünofenotiplemeyi kompleks hale getirir. Aynı anda iki ya da daha fazla blast topluluğu bir arada bulunabilir.

CD117, CD13 ve CD33 myeloid seriye ait gösterilebilen erken antijenlerdir [13-18]. Daha immatür hücrelerin göstergesi olan CD34+'lığı ile birlikte gözlenebilir<sup>19-20</sup>. Halen sitoplazmik myeloperoksidaz (cMPO), lizozim ve triptaz myeloid hücrelerin en önemli belirteçleri olarak kabul edilmektedir<sup>21-23</sup>. MPO granülositik seriye ait bir özellik iken triptaz mast ve bazofil hücrelerine farklılaşmanın bir göstergesidir<sup>13</sup>. CD15 olgun nötrofiller CD14 de olgun monositler tarafından eksprese edilir<sup>13,14,18</sup>. Bununla birlikte bu hücrelere dönüşmeden önce eş zamanlı eksprese edilmesi ayırımda kullanımını zorlaştırır<sup>13,17,18</sup>.

Glikoforin A oldukça özgün bir eritroid belirteç olmakla birlikte geç evrelerde eksprese edilmektedir<sup>13,18,24</sup>. Erken dönemde eksprese edilen CD36 ise bu seriye özgü değildir. Megakaryositik lösemi tanısında kullanılan CD61, CD41 ve CD42 bu seriye ait mükemmel belirteçlerdir<sup>25,26</sup>.

## Minimal myeloid farklılaşma gösteren AML

Hücreler agranülerdir. Düşük düzeyde forward (FS) ve side scatter (SS) gösterir.

Güçlü olarak CD34 ve HLA-DR, genelde CD38 ve CD117 ile CD13 ve CD33'den birini ya da her ikisini de eksprese eder.

## Matürasyon göstermeyen AML

Blastların FS ve SS'ı düşüktür. CD45 ve HLA-DR pozitiflerdir. Önemli bir kısmı CD38 ve CD117 pozitifdir. Myeloid farklılaşmanın daha matür dönemlerine ait antijenleri (CD15, CD11b ve CD16) eksprese etmezler. Blastların en az %3'ü MPO eksprese eder.

## Granülositik farklılaşma gösteren AML

En azından promyelosit ve myelosit evresine dek olan matürasyon gösterir.

Hücreler daha güçlü SS örneği gösterir. CD45 hafif-orta derecede pozitif iken HLA-DR negatiftir. Varolan az sayıdaki immatür hücreler, daha matür olanlardan CD45 ya da FS/SS özellikleri ile ayrılabilir. MPO, CD13, CD33, CD34, CD65, CD117 ve HLA-DR pozitifdir. Daha matür antijenik özellikler (CD15, CD11b vd) ortaya çıktıkça CD33, CD34 ve HLA-DR ekspresyonu azalır.

## Monositik farklılaşma gösteren AML

Blastlar daha büyüktür ve güçlü FS sinyaline sahiptir. Güçlü CD33 pozitiflikleri vardır. CD13 ve HLA-DR eksprese eder. Genelde CD34, CD117 ve CD11b negatiftir. Monositik antijenler CD64 ve CD14 ile CD4 tanıda yardımcı olabilirler. Myelomonositik tip lösemide immatürite göstergeleri negatiftir. Tipik immünofenotip CD33, CD13, CD11b, CD4 ve HLA-DR'dir.

## Megakaryoblastik lösemi

Blastlar CD41 ve CD61 pozitifdir.

## Tekrarlayan genetik anormalliklerle birliktelik gösteren AML

Bir grup AML'de düzenli tekrarlayan belli genetik anormallikler vardır.

AML: t(8; 21) (q22; q22), AML1/ETO.

Blastlar CD34, CD19 ve HLA-DR pozitifdir. CD13 ve CD33 ekspresyonu zayıftır. CD56 ekspresyonu CD19 kadar sık değildir. Blast olmayan hücreler matür fenotipe sahiptir.

Çocuklardaki bezir karakterdeki lösemide vakaların %81'i CD19 ve %63'ü CD56 pozitifdir. CD19/CD56 birlikte eksprese edilmektedir.

AML: t(15; 17) (q22; q21).

Olasılıkla granüller ile ilişkili proteinlerden kaynaklanan güçlü bir çevresel ışımaya vardır. CD33 ekspresyonu güçlü, CD13 ekspresyonu heterojendir. Erken myeloid antijenler CD34 ve HLA-DR ve matür dönemde izlenen antijen CD15 negatiftir. Sıklıkla CD2/CD19 birlikte ekspresyonu vardır. PML Proteinini-



ne karşı geliştirilen MoAb, PG-M3, normal ve lösemik promyelositlerin ayırımında büyük öneme sahiptir<sup>27</sup>.

Eozinofili ile birlikte olan akut myelomonositik lösemi (M4Eo)

Blastların büyük bölümü, CD2, CD4, CD7, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD64, CD65, CD117 ve HLA-DR ekspresyonu gösterir<sup>28-30</sup>.

### CD7 pozitif lösemi

Karaciğere ait hematopoietik dönemin çok primitif hematopoietik öncüllerinde, normal myeloid öncüllerde ve B öncül hücrelerde saptanan bir antijendir. Diferansiye olamamış hücrelerde tek başına ya da CD13 ile birlikte saptanabilir.

### B- HÜCRELERİNİN OLGUNLAŞMASI ve B ALL:

B-hücre serisine yönelmenin ardından CD20, CD10, CD19, nTdt ve sitoplazmik CD79a (cCD79a) ekspresyonu ortaya çıkar. CD34 ve nTdt kaybolurken CD10 ekspresyonu azalır. CD20 ekspresyonu ortaya çıkar. Sitoplazmada (c) Ig  $\mu$  ağır zincir birikimi başlar. Ig hafif zincir sentezini takiben fonksiyonel olarak olgun olmayan B-lenfositin yüzeyinde (surface; s) IgM ekspresyonu ortaya çıkar. Bu olgunlaşma aşamalarına göre prekürsör B-ALL dört gruba ayrılır<sup>19, 21, 31-35</sup>,

1. BI/ProB/Early B ya da null ALL : CD19+, cCD79a+, HLA-DR+, Tdt+ , CD10- , CD20-, cylgm-, Sig-
2. BII/ EarlyB ya da common ALL : CD19+, cCD79a+, HLA-DR+, Tdt+ , CD10+, CD20+/- , cylgm-, Sig-
3. BIII ya da pre-B ALL : CD19+, cCD79a+, HLA-DR+, Tdt+ , CD10+, CD20+/- , cylgm+, Sig-
4. BIV ya da matür B ALL : CD19+, cCD79a+, HLA-DR+, Tdt+ , CD10+, CD20+/- , cylgm-, Sig+ ( $\kappa$  ya da  $\lambda$ -)

Ancak olgunlaşma evresindeki antijenik yapılar her zaman tam olarak bu şemaya uygun olmayabilir ve B ve T ALL hücrelerinde aberran ekspresyonlar gözlenebilir.

Prognozla ilişkili genetik translokasyonları tanımlamak için spesifik antikor kombinasyonları kullanılabilir. t(12;21) (q12;q22)- (TEL/AML1) [4, 7, 36-38] ve hiperploid DNA içeriği<sup>38-40</sup>. iyi prognozla ilişkilidir ve immünofenotipi CD20'nin az ya da yok olması, CD10'un fazla ekspresyonu ve bimodal CD34 ekspresyonu ile karakterizedir. Kötü prognozla ilişkili t(9;22) (q34;q11) ve t(4;11) (q21;q23) translokasyonları, özgün CD34 ve CD38 ekspresyonu gösterir. 62. 11q23 translokasyonları NG2 ve CD15 pozitifliği ve CD10'un negatif olması ile karakterizedir<sup>36, 40-43</sup>

### T ALL:

Benzer şekilde T ALL de dört gruba ayrılır<sup>21</sup>;

1. T1 ya da pro-T ALL: Diğer T antijenleri olmaksızın erken T-belirteçleri olan cCD3/CD7 birlikte ekspresyonu gösterir.
2. TII ya da pre-T ALL: cCD3/CD7 ekspresyonuna ek olarak CD2, CD5 ve/veya CD8 ekspresyonu görülür.
3. TIII ya da kortikal ALL: CD1a reaktivitesi izlenir.
4. TIV ya da matür ALL: sCD3+, CD1a-, CD4+ ya da CD8+ olmakla birlikte bu fenotip daha çok T-lenfoblastik lenfomada izlenir.

TIII ve TIV'de izlenen CD3 ekspresyonu, TCR $\alpha$ / $\beta$  ya da TCR $\gamma$ / $\delta$  tiplerinin ekspresyonu ile ilişkili olabilir.

**Tablo 1:** Akut lösemilerde immünofenotipleme<sup>44</sup>.

#### Geniş spektrumlu ekspresyon gösteren antijenler

Pan-myeloid: CD13, CD33, CD64, MPO

Pan-B-hücre: cCD22, CD19, CD24, cCD79 $\alpha$ - $\beta$

Pan-T-hücre: cCD3, CD5, CD7

#### İmmatürite göstergesi antijenler

Pan-lenfoid and myeloid: Tdt, CD34, CD133, CD1-35

Pan-myeloid CD117

#### Hücre serisine özgü ve matürasyon bağımlı antijenler

Myeloid hücreler :CD14, CD15, CD65, Laktoferrin

Eritroid hücreler :Glikoforin A

Trombositler :CD41a, CD61

B-hücre :CD20, clg $\mu$ , slg,  $\kappa$ - $\lambda$

T-hücre :CD1a, CD2, sCD3, CD4, CD8

NK-hücre :CD16, CD56

**Tablo 2:** B-ALL tanımlanmasında kullanılabilecek antikor kombinasyonları<sup>44</sup>

### CD19 POZİTİF BLASTLAR

FITC	R-PE	Üçüncü renk
CD2	HLA-DR	CD19
CD24	CD33	CD19
CD65	CD13	CD19
CD38	CD22	CD19
CD34	CD135	CD19
CD16	CD56	CD19
CD15	CD14	CD19
CD61	GlycoA	CD19
cCD79 $\alpha$	CD79 $\beta$	CD19
TdT	clg $\mu$	CD19
Smlg	CD20	CD19
$\kappa$	$\lambda$	CD19

**Tablo 3:** T-ALL tanımlanmasında kullanılabilecek antikor kombinasyonları<sup>44</sup>.

FITC	R-PE	Üçüncü renk	Dördüncü renk
CD66c	NG2	CD45	CD34
CD34	CD133	CD19	CD38
CD15	CD14	CD19	HLA-DR
CD65	CD33	CD19	CD13
CD2	CD22	CD19	CD38
Smlg	clg $\mu$	CD19	CD20
CD61	CD135	CD19	CD45
TdT	clg $\mu$	CD19	CD20
CD10	CD34	CD19	CD20
CD58	CD10	CD19	CD45
cCD79 $\alpha$	CD79b	CD19	CD20
CD16	CD56	CD19	CD24

**KAYNAKLAR**

1. Bene MC, Bernier M, Castoldi G, Faure GC, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, Van't Veer M on behalf of EGIL (European Group on Immunological Classification of Leukemias). Impact of immuno-phenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica* 1999; 84: 1024–1034.
2. Orfao A, Chillon MC, Bortoluci AM, Lopez-Berges MC, Garcia-Sanz R, Gonzalez M, Tabernero MD, Garcia-Marcos MA, Rasillo AI, Herná'ndez-Rivas JM, San Miguel JF. The flow cytometric pattern of CD34, CD15 and CD13 expression in acute myeloblastic leukemia is highly characteristic of the presence of PML-RAR-alpha gene rearrangements. *Haematologica* 1999; 84: 405–412.
3. Ortuno Giner F, Orfao A. Aplicacion de la citometria de flujo al diagnostico y seguimiento inmunofenotipico de las leucemias agudas. *Med Clin (Barc)* 2002; 118: 423–436.
4. De Zen L, Orfao A, Cazzaniga G, Masiero L, Cocito MG, Spinelli M, Rivolta A, Biondi A, Basso G. Quantitative multiparametric immunophenotyping in acute lymphoblastic leukemia. Correlation with specific genotype. IETV6/AML1 ALLs identification. *Leukemia* 2000; 14: 1225–1231.
5. Tabernero MD, Bortoluci AM, Alaejos I, Lopez-Berges MC, Rasillo A, Garcia-Sanz R, Garcia M, Sayagues JM, Gonzá'lez M, Mateo G, San Miguel JF, Orfao A. Adult precursor B-ALL with BCR/ABL gene rearrangements displays a unique immunophenotype based on the pattern of CD10, CD34, CD13 and CD38 expression. *Leukemia* 2001; 15: 406–414.
6. Weir EG, Borowitz MJ. Flow cytometry in the diagnosis of acute leukemia. *Semin Hematol* 2001; 38: 124–138.
7. Borowitz MJ, Rubnitz J, Nash M, Pullen DJ, Camitta B. Surface antigen phenotype can predict TEL-AML1 rearrangement in childhood Bprecursor ALL: a pediatric oncology group study. *Leukemia* 1998; 12: 1764–1770.
8. Borowitz MJ, Hunger SP, Carroll AJ, Shuster JJ, Pullen DJ, Steuber CP, Cleary ML. Predictability of the t(1;19)(q23;p13) from surface antigen phenotype: implications for screening cases of childhood acute lymphoblastic leukemia for molecular analysis: a pediatric oncology group study. *Blood* 1993; 82: 1086–1091.
9. Navid F, Mosijczuk AD, Head DR, Borowitz MJ, Carroll AJ, Brandt JM, Link MP, Rozans MK, Thomas GA, Schwenn MR, Shields DJ, Vietti TJ, Pullen DJ. Acute lymphoblastic leukemia with the (8;14)(q24;q32) translocation and FAB L3 morphology associated with a B-precursor immunophenotype: the pediatric oncology group experience. *Leukemia* 1999; 13: 135–141.
10. Szczepanski T, Orfao A, van der Velden VH, San Miguel JF, van Dongen JJM. Minimal residual disease in leukaemia patients. *Lancet Oncol* 2001; 2: 409–417.
11. Campana D. Determination of minimal residual disease in leukaemia patients. *Br J Haematol* 2003; 121: 823–838.
12. Vidriales MB, Orfao A, San-Miguel JF. Immunologic monitoring in adults with acute lymphoblastic leukemia. *Curr Oncol Rep* 2003; 5: 413–418.
13. Orfao A, de Santiago M, Matarraz S, Lopez A, del Canizo MC, Fernandez ME, Villaron E, Vidriales B, Suarez L, Ortuno F, Escribano L, San Miguel JF. Contribucion del inmunofenotipo al estudio de los sindromes mielodisplasicos. *Haematologica* 2003; 88 (supp 6): 269–275.
14. Terstappen LW, Hollander Z, Meiners H, Loken MR. Quantitative comparison of myeloid antigens on five lineages of mature peripheral blood cells. *J Leukoc Biol* 1990; 48: 138–148.
15. Almeida J, Bueno C, Alguero MC, Sanchez ML, de Santiago M, Escribano L, Diaz Agustin B, Vaquero JM, Laso FJ, San Miguel JF, Orfao A. Comparative analysis of the morphological, cytochemical, immunophenotypical, and functional characteristics of normal human peripheral blood lineage(-)/CD16(+)/HLA-DR(+)/CD14(-/lo) cells, CD14(+) monocytes, and CD16(-) dendritic cells. *Clin Immunol* 2001; 100: 325–338.
16. Terstappen LW, Loken MR. Myeloid cell differentiation in normal bone marrow and acute myeloid leukemia assessed by multi-dimensional flow cytometry. *Anal Cell Pathol* 1990; 2: 229–240.
17. Terstappen LW, Safford M, Loken MR. Flow cytometric analysis of human bone marrow. III. Neutrophil maturation. *Leukemia* 1990; 4: 657–663.
18. Wells DA, Loken MR. Normal antigen expression in hematopoiesis. In: Stewart CC, Nicholson JKA, editors. *Immunophenotyping*. New York: John Wiley & Sons Inc.; 2000. p 133–160.
19. Menendez P, Prosper F, Bueno C, Arbona C, San Miguel JF, Garcia Conde J, Sola C, Cortes Funes H, Orfao A. Sequential analysis of CD34+ and CD34- cell subsets in peripheral blood and leukapheresis products from breast cancer patients mobilised with SCF plus G-CSF and cyclophosphamide. *Leukemia* 2001; 15: 430–439.
20. Menendez P, Canizo MC, Orfao A. Immunophenotypic characteristics of PB-mobilised CD34+ hematopoietic progenitor cells. *J Biol Regul Homeost Agents* 2001; 15: 53–61.
21. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, Van't Veer MB for the European Group for the Immunological Characterisation of Leukaemias. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia* 1995; 9: 1783–1786.
22. Sperr WR, Jordan JH, Baghestanian M, Kiener HP, Samorapompichit P, Semper H, Hauswirth A, Scherthaner GH, Chott A, Natter S, Kraft D, Valenta R, Schwartz LB, Geissler K, Lechner K, Valent P. Expression of mast cell tryptase by myeloblasts in a group of patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2001; 98: 2200–2209.
23. Escribano L, Diaz-Agustin B, Lopez A, Nunez R, Prados A, Orfao A on behalf of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA). Immunophenotypic analysis of mast cells in mastocytosis: when and how to do it? Proposals of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA). *Clinical Cytometry* 2004. DOI: 10.1002/cyto.b.10072.
24. Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow: I. Normal erythroid development. *Blood* 1987; 69: 255–263.
25. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HT, Sultan C. Criteria for the diagnosis of acute leuka-



- emia of megakaryocyte lineage (M7). A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Int Med* 1985; 103: 460-462.
26. San Miguel JF, Gonzalez M, Canizo MC, Ojeda E, Orfao A, Moro MJ, Fisac P, Romero M, Lopez Borrasca A. Leukaemias with megakaryoblastic involvement: clinical, hematological and immunological characteristics. *Blood* 1988; 72: 402-407.
  27. Flenghi L, Fagioli M, Tomassoni L, et al. Characterization of a new monoclonal antibody (PG-M3) directed against the aminoterminal portion of the PML gene product: immunocytochemical evidence for high expression of PML proteins on activated macrophages, endothelial cells, and epithelia. *Blood* 1995; 85: 1871-1880.
  28. Paietta E, Wiernik PH, Andersen J, Bennett J, Yunis J. Acute myeloid leukemia M4 with inv(16) (p13q22) exhibits a specific immunophenotype with CD2 expression. *Blood* 1993; 82: 2595.
  29. Adriaansen HJ, te Boekhorst PA, Hagemeijer AM, van der Schoot CE, Delwel HR, van Dongen JJ. Acute myeloid leukemia M4 with bone marrow eosinophilia (M4Eo) and inv(16) (p13q22) exhibits a specific immunophenotype with CD2 expression. *Blood* 1993; 81: 3043-3051.
  30. Larson RA, Willians SF, Le Beau MM, Bitter MA, Vardiman JW, Rowley JD. Acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils and inv (16) or t(16;16) has a favorable prognosis. *Blood* 1996; 68: 1242-1249.
  31. Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow. II. Normal B lymphocyte development. *Blood* 1987; 70: 1316-1324.
  32. Ciudad J, San Miguel JF, Lopez-Berges MC, Garcia-Marcos MA, Gonzalez M, Vazquez L, del Canizo MC, Lopez A, van Dongen JJM, Orfao A. Detection of abnormalities in B-cell differentiation pattern is a useful tool to predict relapse in precursor-B-ALL. *Br J Haematol* 1999; 104: 695-705.
  33. Lucio P, Parreira A, van den Beemd MWM, van Lochem EG, van Wering ER, Baars E, Porwit-MacDonald A, Bjorklund E, Gaipa G, Biondi A, Orfao A, Janossy G, van Dongen JM, San Miguel JF. Flow cytometric analysis of normal and leukemic bone marrow B-cell differentiation: a frame of reference for the detection of minimal residual disease in precursor B-ALL patients. *Leukemia* 1999; 13: 419-27.
  34. Dworzak MN, Fritsch G, Froschl G, Printz D, Gadner H. Four-color flow cytometric investigation of terminal deoxynucleotidyl transferase-positive lymphoid precursors in pediatric bone marrow: CD79a expression precedes CD19 in early B-cell ontogeny. *Blood* 1998; 92: 3203-3209.
  35. Rudin CM, Thompson CB. B-cell development and maturation. *Semin Oncol* 1998; 25: 435-446.
  36. Trka J, Zuna J, Haskovec C, et al. Detection of BCR/ABL, MLL/AF4 and TEL/AML1 hybrid genes and monitoring of minimal residual disease in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Cas Lek Cesk* 1999; 138: 12-17.
  37. Raynaud SD, Dastugue N, Zoccola D, Shurtleff SA, Mathew S, Raimondi SC. Cytogenetic abnormalities associated with the t(12;21); a collaborative study of 169 children with t(12;21)-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1999; 13: 1325-1330.
  38. Maloney K, Mc Gavran L, Murphy J, et al. TEL-AML1 fusion identifies a subset of children with standard risk acute lymphoblastic leukemia who have an excellent prognosis when treated with therapy that includes a single delayed intensification. *Leukemia* 1999; 13: 1708-1712.
  39. Behm FG, Raimondi SC, Schell MJ, Look AT, Rivera GK, Pui CH. Lack of CD45 antigen on blast cells in childhood acute lymphoblastic leukemia is associated with chromosomal hyperdiploidy and other favorable prognostic features. *Blood* 1992; 79: 1011-1016.
  40. Forestier E, Johansson B, Gustafsson G, et al. Prognostic impact of karyotypic findings in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a Nordic series comparing two treatment periods. For the Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO) Leukaemia Cytogenetic Study Group. *Br J Haematol* 2000; 110: 147-153.
  41. Pui CH, Behm FG, Downing JR, et al. 11q23/MLL rearrangement confers a poor prognosis in infants with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1994; 12: 909-915.
  42. Behm FG, Smith FO, Raimondi SC, Pui CH, Bernstein ID. Human homologue of the rat chondroitin sulfate proteoglycan, NG2, detected by monoclonal antibody 7.1, identifies childhood acute lymphoblastic leukemias with t (4;11) (q21;q23) or t(11;19)(q23;p13) and MLL gene rearrangements. *Blood* 1996; 87: 1134-1139.
  43. Smith FO, Rauch C, Williams DE, et al. The human homologue of rat NG2, a chondroitin sulfate proteoglycan, is not expressed on the cell surface of normal hematopoietic cells but is expressed by acute myeloid leukemia blasts from poor-prognosis patients with abnormalities of chromosome band 11q23. *Blood* 1996; 87: 1123-1133.
  44. Basso G, Buldini B, Zen LD, Orfao A. New methodologic approaches for immunophenotyping acute leukemias. *Haematologica* 2001; 86: 675-692.



# AKUT LÖSEMİLERDE FISH PANELİ VE PROGNOZ

Dr. Beyhan Durak

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bilim Dalı

Günümüzde malign hematolojik hastalıklarda spesifik kromozom anomalilerinin saptanmasında sitogenetik analizler vazgeçilmez bir öneme sahiptirler.

Klasik konvansiyonel sitogenetik ve FISH (*Floresan In Situ Hibridizasyon*) analizi, lösemi tanısı, prognozu ve tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde klinik tanıya büyük destek sağlar. Primer ve sekonder kromozom anomalilerine yaklaşım ayrı şekillerde değerlendirilir. Primer anomaliler hastalığın nedeni ve histolojik subtipin oluşumundan sorumlu olup, anomaliler çoğunlukla onkogen aktivasyonuna neden olan dengeli translokasyonlar ya da inversiyonlardır. Sekonder kromozom anomalileri hastalık seyri sırasında ortaya çıkar ve hastalığı ağırlaştırarak tedaviye direncin meydana gelmesine neden olurlar. Sekonder kromozom anomalileri çoğunlukla tümör supressör genlerin kaybına neden olan total ya da kısmi kromozom kayıp ve/veya kazanımlarıdır<sup>1,2,4,5,6,6,8,11,12,13,15,16,17,18,19</sup>.

FISH, nükleik asit problemleri aracılığı ile preparat üzerinde bulunan hücresel yada kromozomal DNA veya RNA'nın incelenmesi temeline dayanan bir tekniktir. FISH tekniğinin moleküler tekniklerdeki ilerlemelere paralel olarak gelişmesi ve geniş bir uygulama alanı bulmasının altında yatan gerçek, bu tekniğin kolay uygulanabilir olması, duyarlılığı ve güvenilirliğinin yüksek olması, diğer moleküler DNA hibridizasyon yöntemlerine göre rezolüsyon gücü, mozaikizm tanısı gibi avantajlarının olmasıdır<sup>3,6,9</sup>.

Tümör hücrelerinde metafaz kromozomu eldesi zorluğu bilinen bir gerçektir. Elde edilen bu metafaz kromozomlarının morfolojileri çoğunlukla klasik sitogenetik yöntemlerle, özellikle yapısal anomalilerin belirlenmesinde yetersiz kalabilmektedir. Kromozom elde edilemediğinde de ne yapısal ne de sayısal değerlendirme yapılamamaktadır. FISH analizi interfaz nükleusunda analizi olanaklı kılması nedeniyle kanser genetiğinde kullanılan en önemli tekniklerden biri olmuştur<sup>3,6,9</sup>.

Moleküler sitogenetik metodları (*ISH, FISH, CGH*) klasik sitogenetik yöntemlerle tanımlanamayan kromozomal mikrodelenmeler ve yeniden düzenlenmeleri ortaya koyma olanağı sağlar. Sitogenetikte rutin GTG bantlama tekniğinde >4Mb, HRB (*2000 band düzeyinde*) tekniğinde de >2 Mb ye kadar olan düzensizlikler saptanabilmektedir. Bu boyutlardan daha küçük olan yapısal düzensizlikler ancak FISH (*1-3Mb*) ile saptanabilmektedir. İnterfaz nükleusunda kromozomlar daha az yoğun ve metafaza göre 10-20 kat daha uzun olduğu için rezolüsyon 100 kilobaza kadar çıkabilir<sup>3,9</sup>.

FISH analizi tümöre özgü karyotipik anomalilerin saptan-

masında sitogenetik yöntemlere göre çok daha hızlı, hassas ve bazı durumlarda daha güvenilir bir tanı tekniğidir. FISH tekniği özellikle lösemilerde geniş bir kullanım alanına sahip olup birçok farklı amaçla avantajlı bir şekilde kullanılmaktadır. Bunlar; hastalığa özgü kromozom anomalilerini belirleyerek tanı koymak, prognoz takibi yapabilmek, en kısa sürede sonuç vermek, çok sayıda metafaz ve/veya interfaz hücresinde analiz yapabilmektir<sup>2,3,8,9,11,12,18,19</sup>.

## FISH Tekniğinde Kullanılan Problar:

Belirli bir kromozomal bölgenin veya DNA kesiminin FISH yöntemi ile görünür hale gelebilmesi için o bölgeye spesifik bir probun kullanılması gerekir. FISH yönteminde hedef DNA/RNA molekülüne komplementer işaretli nükleik asit dizisine "prob" denir. Günümüzde pratik olmaları ve ticari olarak bulunabilmeleri nedeniyle florokromlarla direkt işaretli problemler kullanılmaktadır. Hematolojik malign hastalıklarda tanı amaçlı kullanılmakta olan çok sayıda spesifik (*lokus spesifik ve/veya translokasyon spesifik*), bunun yanında 24 kromozoma özgü tüm kromozom, telomer ve  $\alpha$ -satellit problemleri bulunmaktadır. Ayrıca panel prob setleri de rutin kullanımda ticari olarak bulunabilmektedir.

Bu problemler kullanım şekilleri ve özelliklerine göre tek ve/veya çift renkli, prob setlerinde; üç ve/veya beş farklı renkle işaretli olabirler<sup>3,9</sup>.

## Akut Miyeloid Lösemi

Akut Miyeloid Lösemi (*AML*) de elliden fazla tekrarlayan yapısal kromozom anomalisi tanımlanmıştır. AML de erişkin hastaların % 50-75 inde klonal kromozomal yeniden düzenlenmeler gözlenir. Farklı kromozom aberasyonlarının sıklığı yaşa bağlı olmakla birlikte karyotip değişiminin prognostik anlamı yaşa bağlı değildir<sup>1,2,4,5,8,9,11,12,13,14,15,16,18,19</sup>.

## De Novo AML

De Novo AML de, tipik morfoloji ve belirli klinik seyre neden olan birçok karakteristik kromozomal aberasyonu vardır. Yeni WHO sınıflandırması AML de spesifik kromozom yeniden düzenlenmelerini temel kriter olarak almıştır. Bu spesifik sitogenetik translokasyonlar

- t(8;21)(q22;q22) (AML1/ETO) AML-M2
- t(15;17)(q22;q11-12) (PML/RAR $\alpha$ ) AML-M3/M3V
- inv(16)(p13q22) veya t(16;16)(p13;q22) (CBF $\beta$ /MYH11) AML- M4/M4eo
- 11q23 Translokasyonları (MLL)

## Sekonder AML

Sekonder, yani tedavi sonrası gelişen AML nin iki formu vardır.



Birincisi alkilleyici ajanlarla terapi sonrası oluşur. Genellikle bir prelökemik faz ile birlikte tüm üç hücre dizisinde displazi gözlenir ve kötü prognozla seyredir. Sitogenetik değişiklikler çoğunlukla 5. ve/veya 7. kromozomlarda gözlenir. İkincisi topoizomeraz II baskılayıcı tedavi sonrası oluşur. Çoğunlukla 11q23 bölgesinin yer aldığı dengeli yeniden düzenlenmeler karakteristiktir. Prelökemik başlangıç fazı görülmez ve iyi prognozla seyredir<sup>11,12,13,14,15,19</sup>.

İnterfaz FISH taraması AML de sadece bilinen anomalileri belirleyebildiği için hiçbir zaman klasik sitogenetik yerine geçebilecek bir tanı yöntemi değildir. Ancak hedeflenen bölgeye kromozomlara, anomaliye yönelik analiz yapmamıza yardımcı eder. Örneğin: Akut Promyelositer Lösemi (APL) ön tanısında, t(15;17)(q22;q12) PML/RAR $\alpha$  translokasyonunun belirlenmesinde FISH tekniği çabuk ve çok güvenilir bir metoddur. Yine t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13q22) ve 11q23 yeniden düzenlenmeleri de FISH ile belirlenmektedir. Bunun yanında sık görülen 5 ve 7. kromozomların uzun kol delesyonları FISH ile saptanabilmektedir<sup>1,2,8, 11,12,13,14,15,16,19</sup>.

#### AML de Spesifik Kromozom Anomalilerinin Tanısı ve Prognostik Anlamı

Birçok çalışma akut miyeloid lösemide primer kromozom anomalilerinin tanı ve prognozdaki rolünü ortaya koymuştur. İyi prognostik sitogenetik kategoriyi translokasyonlar t(-8;21), t(15;17) ve inversiyon 16 oluştururken, kötü prognostik grup kromozom 5 ve 7 nin total kaybı, kromozom 5, 7, 3 ün uzun kol kaybı ile kromozom 3q ve 11q23 yeniden düzenlenmeleri ve kompleks karyotip şeklindedir. Yine translokasyon t(6;9)(p23;q34) AML de FAB M2 ve M4 subtipinde gözlenir ve kötü prognostiktir<sup>9,11,12,14,15,19</sup>.

Sekonder kromozom anomalilerinin oluşumu ve eşlik eden genlerle ilgili etki mekanizması konusundaki bilgilerimiz daha sınırlı olmakla birlikte zaman içinde yapılacak sitogenetik ve moleküler sitogenetik kombine çalışmalarla bu konular aydınlatılacaktır.

Tüm AML hastalarının %15-20 si çoklu sayısal ve yapısal kromozom anomalilerinden oluşmuş kompleks karyotipe sahiptir. Çoğunlukla 5q-, -7 ve/veya 3q- anomalileri primer anomalilerdir. Bu türlü kompleks anomalileri farklı moleküler sitogenetik tekniklerle tanımlamak mümkün olabilmektedir. Klasik kromozom analizi ve bantlama yöntemleri ile tanı konamayan kompleks karyotiplerde M-FISH ya da SKY veya CGH gibi yöntemlerden yararlanılmaktadır. Ancak yapısal kromozom yeniden düzenlenmelerinin kesin tanımlanması için genlere spesifik problemler kullanılarak FISH analizi ile sonuçun doğrulanması gerekir.

Normal karyotipe sahip olgular, trizomi 8, kromozom 9 un uzun kol delesyonu, t(9;11)(p21~22;q23) ve diğer kromozom anomalileri intermedier (ortalama) prognostiktir. AML olguları arasında en büyük grubu normal karyotipe sahip ve prognostik anlamı bilinmeyen kromozom aberasyonları saptanmış hastalar oluşturur. Dolayısıyla FISH yönteminin AML tanısında klasik sitogenetik analize göre sınırlı bir teknik olduğu unutulmamalıdır<sup>9,11,12,14,15</sup>.

#### Sitogenetik Sonuç ve Tedavi Seçimi

AML de tedavi seçimi konusundaki en güzel örnek translo-

kasyon t(15;17) nin gözleendiği APL dir. Bu translokasyonun tanısı karşılıklı değişime katılan kromozom segmentleri küçük ve neredeyse eşit uzunlukta olduğundan sitogenetik yöntemle oldukça zordur. Ancak günümüzde farklı prob seçenekleri ile FISH analizi sonrası translokasyonun tanısı bir gün içerisinde kolaylıkla konulabilmektedir.

Son yıllarda spesifik bir terapi formu olan antrasiklinler ile kombine all-trans-retinoik asit (ATRA) tedavisidir. Retinoik asit promiyelositlerin terminal diferansiyasyonunu sağlayarak olgun granülositlere dönüşümü ve hücrelerin yaşam döngüsünü tamamlayarak yok olmalarını sağlar. Bu tedavi ve remisyon süresi FISH analizi ile kolaylıkla takip edilebilmektedir. Anormal klonun sayısal çokluğu/azlığı izlenir. Bölünen hücrelerde anomalinin durumu (metafazdaki mitoz hücreleri) takip edilebilmektedir<sup>9,11,12</sup>.

#### Akut Lenfositik Lösemi

Akut Lenfositik Lösemi (ALL) de prognostik ve terapötik anlamı olan pek çok kromozom aberasyonu bildirilmiştir. ALL ya ploid derecesine veya yapısal aberasyonlara göre sınıflandırılmaktadır<sup>9,12,14,15,17,18,19</sup>.

#### ALL de Gen ve Kromozom Anomalileri

##### Ploidiler

Erişkin ALL olgularının % 2-9 unda kromozom sayısı 51-65 arasında değişen hiperdiploid bir karyotip gözlenir. Böyle bir karyotip sıklıkla c-ALL de görülür. Fazla kromozomlar genellikle kromozom X, 21, 4, 6, 14, 8, 10 ve 17 dir. Kromozom sayısının triploide yakın (66-80) veya tetraploide yakın (81-103) olması olguların % 2-4 ünde daha seyrek gözlenir. Tetraploid sayıya yakın karyotip T-hücre immün fenotipi ile ilişkilidir. ALL oluşumunda belli kromozomların fazla olması nedeniyle meydana gelen kromozom kazanımının etki mekanizması henüz tam anlaşılamamıştır<sup>9,12,14,15,17,18,19</sup>.

Hipodiploid karyotip (kromozom sayısı <46 erişkin ALL olgularının %4-9 unda görülür. Bu olgularda tanı Prekürsör-B-ALL dir. Genetik materyal kaybı ve bu nedenle potansiyel tümör supresör genlerin olmaması hipodiploid-ALL de lösemi oluşumunda hastalık modelini açıklayabilmektedir<sup>9,12,14,15,17,18,19</sup>.

##### İzole Sayısal Anomaliler

Başka bir yapısal ya da sayısal anomali olmaksızın tek bir kromozomun izole sayısal anomalisi erişkin ALL lerinde oldukça nadir görülür ve %0.5 altında bir sıklıkta izlenir. Bugüne kadar primer kromozom anomalisi olarak trizomi 8 ve monozomi 7 bildirilmiştir<sup>9,12,14,15,18</sup>.

##### Yapısal Kromozom Anomalileri

Erişkin ALL olgularında tekrarlayan 40 in üstünde yapısal kromozom yeniden düzenlenmesi bildirilmiştir. Bu anomaliler çok sayıda olmaları nedeniyle görülme sıklıkları %1 in altındadır. Bunun yanında yeniden düzenlenmeler çoğunlukla T-hücre reseptör zincir genlerinde yani immunglobulin genlerinde farklı kombinasyonlarda görülürler. Yapısal kromozom anomalilerinden tüm izo kromozomlar özellikli bir yere sahiptirler. Çünkü bu kromozomlar genetik materyal kayıp ve kazancının kombinasyonunu oluştururlar. ALL de gözlenen izokromozomlar i(7q), i(9q) ve i(17q) dur. ALL de



izokromozomların neden olduğu genetik materyal kazancının mı yoksa kaybının mı patolojiye sebep olduğu bilinmemektedir<sup>9,12,14,15,18,19</sup>.

## A.Kimerik Füzyon Genleri

### BCR/ABL Onkogeni

Erişkin ALL lerinde en sık gözlenen translokasyon t(9;22)(-q34;q11) yani Philadelphia (Ph) translokasyonudur. Hastaların % 20-30 unda yaşla birlikte artan bir insidansla gözlenmektedir. B-ALL de % 43 c-, % 34 pre ve % 6 pro-B-ALL de bildirilmektedir. Bu translokasyon ALL de kötü prognoz ile karakterizedir. İmatinib in (*spesifik tirozin, kinaz inhibitörü*) tedavide kullanılması ile birlikte Philadelphia translokasyonu ve BCR-ABL yeniden düzenlenmesinin moleküler genetik korelasyonu büyük bir önem kazanmıştır. ALL lerin küçük bir bölümünde kriptomik BCR-ABL yeniden düzenlenmesi sitogenetik olarak gözlenemez. Bu durumda anomalinin tanısı ve hasta tedavisi için özellikle B-ALL de FISH analizi ve/veya RT-PCR yapmak gerekir. Philadelphia translokasyonu FISH ile kolaylıkla tanısı konabilen bir translokasyondur. Farklı seçeneklerde farklı t(9;22) problemleri olmakla birlikte yanlış pozitif oranı en düşük olan LSI BCR/ABL Dual Color/Çift Füzyon Probu tercih edilmektedir<sup>4,5,9,12,14,15,18,19</sup>.

Ph-pozitif ALL olgularının % 41-86 sında ilave kromozom abrazyonları gözlenir. En sık gözlenenler sırasıyla 9p anomalileri, hiperdiploid karyotip ve monozomi 7 dir.

Ph pozitif ALL olgularının üçte birinde, tümör süpressör gen olan p<sub>16</sub><sup>INK4a</sup> homozigot delesyonu gözlenir<sup>4,5,9,12,14,15,18,19</sup>.

### MLL-Füzyon Geni

İkinci sık gözlenen yapısal kromozom anomalisi %3-7 ile translokasyon t(4;11)(q21;q23) dür. Pro-B-ALL de CD65 ekspresyonu ile birlikte gözlenir. 11q23 de lokalize MLL geni ile 4q21 de lokalize AF4 geni arasında bir füzyon oluşur. Diğer MLL yeniden düzenlenmeleri erişkin ALL lerinde çok nadir gözlenir. MLL yeniden düzenlenmeleri FISH analizi LSI MLL Dual Color, kırık noktası yeniden düzenlenme probu ile belirlenebilir. Bu analizle kromozomun sadece yeniden düzenlenmeye girip girmediğini söyleyebiliriz ancak translokasyon partnerini bulabilmemiz için sitogenetik analiz sonrası karyotipleme yapmak gerekir<sup>9,12,14,15,18,19</sup>.

### CALP-AF-10 Füzyon Geni

Yeni tanımlanan translokasyon t(10;11)(p13;q13-12) T-ALL de gözlenir. Füzyon genler 10p de lokalize AF10 geni ile 11-q13-12 de lokalize CALM (*Clathrin Assambly Lymphoid Myeloid Leukemia Gene*) genleridir. FISH ile tanısı mümkün değildir<sup>12,18</sup>.

## B. Tümör Süpressör İnaktivasyonu

### CDKN2A Delesyonu

Erişkin ALL lerinin % 7-15 inde 9. kromozomun kısa kolunda delesyon veya yeniden düzenlenmeler gözlenir. 9p21 bant bölgesinde siklin bağımlı kinaz inhibitörleri p<sub>16</sub><sup>INK4a</sup> (CDKN2A) ve p<sub>15</sub><sup>INK4b</sup> (CDKN2B) bulunur. İki genin inaktivasyonu homozigot ya da hemizigot delesyonu, gen promoterinin hi-

permetilasyonu ve nadir olarak da intragenik mutasyonla meydana gelir, p<sub>16</sub><sup>INK4a</sup> genindeki değişimler sıklıkla T-ALL de gözlenir. T-ALL olgularının % 90 dan fazlasında mRNA ya da protein düzeyinde p<sub>16</sub><sup>INK4a</sup> ve p<sub>15</sub><sup>INK4b</sup> nin inaktivasyonu vardır. Yine p<sub>16</sub><sup>INK4a</sup> geninin homozigot delesyonu B-ALL olgularının % 20 sinde gözlenir. 9p21 hemizigot ve/veya homozigot delesyonları FISH analizi ve LSI p16(9p21)/CEP9 probu ile belirlenir. Kullanılan prob 9p21 bölgesinde yaklaşık 190 kb bir kesimi işaretleyen lokus spesifik bir probdur<sup>4,5,9,12,14,15,18</sup>.

### P53 Delesyonu

P53 geni 17p13-1 bölgesinde lokalizedir. Kromozom 17 nin kısa kol kaybı veya yeniden düzenlenmeleri şeklindeki anomalileri yeni tanı erişkin ALL lerinde % 2,2 sıklıkla görülür. Bu sıklıkla dirençli ALL lerde % 88 lere kadar yükselmektedir.

Yine kompleks karyotipe sahip dirençli ALL olgularında p53 mutasyonları ve/veya delesyonları gözlenmektedir.

P53 delesyon veya amplifikasyonları FISH analizi ile belirlenebilir. FISH probumuz LSI P53(17p13.1), P53 geninin yaklaşık 145 kb lık kısmını işaretlemektedir. Bu bölgenin varlığı ve/veya yokluğu metafaz veya interfaz nükleusunda analiz edilir<sup>9,12,14,15,18,19</sup>.

### 13q Delesyonları

Erişkin ALL lerinde 13 delesyonu nadir gözlenir. Bulgular henüz hangi genin 13q14 bölgesinde heterozigote kaybının olduğunu tam olarak belirleyememiştir. 13q14 bölgesine ilişkin farklı prob seçeneklerimiz mevcut bunlar; olup bu bölgelerin varlığı ve/veya yokluğu metafaz veya interfaz nükleusunda analiz edilebilir<sup>9,12,14,15,18</sup>.

### ATM Delesyonu

Erişkin ALL lerinde % 10 olguda kromozom 11q23 bandında yeniden düzenlenmeler gözlenmiştir. Bu yeniden düzenlenmelerin büyük kısmını farklı kromozomların yer aldığı translokasyonlar oluşturur. 11q23 bölgesinde delesyon ender gözlenir. 11q23 bölgesindeki ATM geninin protein ürünü p53 proteininin stabilizasyonu ve aktivasyonundan sorumludur. ATM delesyonu ya da yeniden düzenlenmeleri 1Mb dan büyük ise FISH analizi ile metafaz ve interfaz hücrelerinde gözlenebilmektedir. Bu amaçla LSI ATM(11q22.3) probu kullanılmaktadır. Bu prob ATM genini de içine alacak biçimde 11q22.3 bölgesinde yaklaşık 500 kb lık bir alanı işaretlemektedir. Bir başka seçeneğimiz PONC 1111 ATM(11q22)/Alpha satelit 11 Probe Coctail dir. Bu prob iki renkli olup ATM bölgesini yaklaşık 250 kb işaretlerken 11. kromozom sentromerini kontrol olarak kullanır (9,12,14,15,18).

## Protoonkogen Aktivasyonları

### MYC-Gen Aktivasyonu

Erişkin ALL lerinin % 4 ü matür-B-ALL dir. Blastlar kuvvetli bir immun globulin yüzey antijeni ekspresyonu ile yüzey antijeni ekspresyonu ile karakterize olup hemen her zaman L3 morfolojisi gösterirler. Olguların % 85 inde translokasyon t(8;14)(q24;q32) gözlenir. Daha az sıklıkla varyantlar; % 5 oranında t(2;8)(p12;q24) ve % 15 oranında t(8;22) (q24;q11) izlenir. Tüm translokasyonlarda rekombinasyona giren lo-



kus 8q24 bölgesindeki MYC genidir. Partner genler ise her zaman immunglobulin zincir genleridir. Bu translokasyonlar nedeniyle B hücrelerinde MYC protoonkogeninin, onkogen transformasyonu gerçekleşir.

8q24 translokasyonu gözlenen B-ALL olgularının %60'ında ilave kromozomal yeniden düzenlenmeler gözlenir. Bu yeniden düzenlenmelerin büyük kısmı kompleks karyotiplerdir. MYC yeniden düzenlenmeleri FISH ile metafaz ve interfaz hücrelerinde analiz edilebilmektedir. Bu amaçla LSI MYC Dual Color, kırık noktası yeniden düzenlenme probu bize yardımcı olmaktadır. Prob MYC geninin sayısal anomalilerini (amplifikasyon ve delesyon) belirlediği gibi translokasyona girip girmediği konusunda da bilgi vermektedir. Ayrıca sadece sayısal anomalilerin belirlenebildiği 8q24 bölgesine ilişkin lokus spesifik problemlerde sentromer kontrollü olarak bulun-

#### KAYNAKLAR

- Aslan, V., Durak, B., Başaran, N., Gülbaş, Z.: Akut Lösemili Hastalarda Sitogenetik Bulgular. XXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi ve III. Mezuniyet Sonrası Hematoloji Kursu, 31 Ekim-3 Kasım 1998, Ankara, Poster Bildiri Özetleri, P205, s.284, 1998.
- Aslan, V., Durak, B., Başaran, N., Gülbaş, Z.: Akut Pomyelositik Lösemili Olgularda t(15;17)'nin FISH ve Klasik Sitogenetik Yöntemlerle Analizi. XXVIII. Ulusal Hematoloji Kongresi ve V. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu, 1-4 Kasım 2000, İzmir, Poster Bildiri Özetleri, SP-211, s. 235.
- Başaran N., Acar H., Artan S., Silahtaroğlu A.: Teorik ve Pratik Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH). Kurs Kitapçığı. Editör Nurretin Başaran, Eskişehir, 1996.
- Bradtke, J., Durak, B., Ottoman, O., Rieder, H.: Fehlen von Microdeletionen in 9q34 bei Erwachsenen mit Rezidiv einer Ph positiven Akuten Lymphatischen Leukaemien. 17. Tumorzitogenetische Arbeitstagung 13 -15 Mai 2004 Kiel.
- Bradtke, J., Durak, B., Ottoman, O., Rieder, H.: Lack of 9q34 Microdeletions in Relaps Ph Positive Acute Lymphoblastic Leucemia Patients. European Human Genetics Conference 2004. 12-15 June 2004, Munich, Germany. European Journal of Human Genetics, **12**(Suppl. 1), P-0486, 2004.
- Branch M.J., Knutsen T., Spurbeck J.L.: The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, Thirt Edition, USA, 1997.
- Durak, B., Aslan, V., Gülbaş, Z., Üstüner, D., Çilingir, O., Artan, S., Başaran, N.: Results of cytogenetics and FISH studies in patients with chronicmyeloid leukemia. European Human Genetics Conference 2000. 27-30 May 2000, Amsterdam, the Netherlands. European Journal of Human Genetics, **8**(Suppl. 1), P-368, 2000.
- Durak, B., Aslan, V., Başaran, N., Gülbaş, Z.: t(8;21) in Saptanmasında FISH Yönteminin Konvansiyonel Sitogenetik Yöntemle Karşılaştırılması. Türk Hematoloji Derneği 29. Ulusal Kongresi 25-29 Ekim 2002, Kemer-Antalya. Turkish Journal of Haematology **19** (3) : 121.
- Durak, B.: Hematolojide FISH. Moleküler Hematoloji ve Sitogenetik Alt Komitesi Temel Moleküler Hematoloji Kurs Kitapçığı. Taksim International Otel 12-13 Mart 2005, Mersin.
- Durak, B., Akay, O.M., Kaytaç, B., Burul, İ., Gündüz, E., Özdemir, M., Artan, S., Gülbaş, Z.: Detection of Chromosomal Aberrations in CLL and correlation of Them with Clinical Staging. 5th European Cytogenetics Conference. 4-7 June 2005, Madrid, Spain. Chromosome Research, **13** (Suppl. 1), 9.18 -P:154, 2005.
- Fonatsch C., Krömer E.: Myelologische Leukaemien. Medizinische Genetik, 2:100-107, 2002.
- Ganten D., Ruckpaul K.: Molekularmedizinische Grundlagen von haematologischen Neoplasien. Springer, Heidelberg, 2003.
- Greer J.P., Foerster J., Lukens J.N., Rodgers G.M., Paraskevas F., Glader B.: Wintrobe's Clinical Haematology (II.th Edition). Lippincot Williams and Wilkins, Philadelphia USA, 2004.
- Heim S., Mitelman F.: Cancer Cytogenetics (2.nd ed.). Wiley-Liss, New York, 1995.
- Mitelman F, Johansson B and Mertens F (Eds.): Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer (2006). <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>.
- Özdemir, M., Durak, B., Aslan, V., Artan, S., Gülbaş, Z., Başaran, N.: Results of cytogenetics studies in patients with acute leukemia. European Human Genetics Conference 2000. 27-30 May 2000, Amsterdam, the Netherlands. European Journal of Human Genetics, **8**(Suppl. 1), P-369, 2000.
- Özkalemkaş F.: Akut Lenfoblastik Lösemi. Türkiye Klinikleri Journal of Hematology, 2:10-23.
- Rieder H., Flohr T.: Akute Lymphatische Leukaemien der Erwachsene. Medizinische Genetik, 2:100-107, 2002.
- Rooney D.E.: Human Cytogenetics malignancy and acquired abnormalities (Thrid Edition). Oxford University Pres, New York, 2001.



# AKUT MİYELOSİTİK VE AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLERDE MOLEKÜLER GENETİK VE PROGNOZ

Dr.Uğur Özbek

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

Lösemilerin moleküler genetiği tekrarlayıcı kromozom anomalilerinin bu hastalıkta tanımlanmaları ile başlamıştır. Translokasyonlar sonucu fonksiyonu değişen/bozulan genlerin incelenmesi hematopoetik hücrelerin ana kontrol yollarının tespitini ve bozulduklarında lökomogeneze nasıl yol açtıklarının anlaşılmasını sağlamıştır. Translokasyonlar sonucu ya karşılıklı 2 kromozomun yan yana gelmesi burada bulunan genlerin birleşerek yeni bir onkojenik özellikli füzyon genin oluşmasına neden olabilir, ya karşılıklı yer değişim bir taraftaki genin fonksiyonunun artarak onkojenik özellik kazanmasına, yada mevcut olan baskılayıcı özelliğini kaybederek hücreyi lökomogenez sürecine sokacak kazanımlara karşı engelleyememesine neden olabilir.

## Akut Myeloid Lösemi:

Akut myeloid lösemi (AML) fenotipik olduğu kadar, genotipik olarak da heterojenite gösteren kompleks bir hastalıktır. 100'den fazla sitogenetik aberasyon ve çeşitli genlerdeki mutasyonlar bu hastalıkta tanımlanmıştır. Örneğin, AML'de t(8;21) translokasyonu yada inv(16) varlığı iyi prognozlu hastaları tanımlarken, t(9;22) translokasyonu varlığı kötü gidişli hastalıkla birlikte. Ailevi AML çeşitli klinik sendromların bir bulgusu olarak ortaya çıkabilmekle beraber, AML olgularının çoğu hematopoetik progenitör hücrede olan sporadik mutasyonlar sonucu gelişmektedir. Kromozomal translokasyonlarda yer alan genlerin klonlanması ile AML gelişiminde rolü olan genlerin tanımlanması sağlanmıştır. Bunlar arasında CBF (*core binding factor*), RARA (*retinoik asit reseptör alfa*), HOX gen ailesi, MLL proteini ve bazı transkripsiyon aktivatörleri, CBP, MOZ, TIF2 gibi, bulunmaktadır. Bunların yanı sıra olguların yüksek bir bölümünde çeşitli genlerdeki nokta mutasyonları bu sürece katkıda bulunmaktadır. Bunlar arasında FIt3 ve KIT gibi reseptör tirozin kinaz genlerindeki yada RAS gen ailesindeki aktive edici mutasyonlar sayılabilir. Ayrıca, çeşitli hematopoetik transkripsiyon faktörlerinin, AML1, CEBPalfa, GATA1 gibi, fonksiyonlarını bozucu nokta mutasyonları da AML etyolojisinde sayılması gereken genetik değişimlerdendir.

## 1. AML'de kromozomal translokasyonlar:

AML'de görülen translokasyonların çoğu kimerik füzyon gen ürünü oluşturur.

**1.1 CBF-core binding faktör:** 20'ye yakın translokasyon CBF genini hedef alır.CBF gurubundaki genler bir çok dokunun farklılaşmasında rol oynayan çeşitli hedef genlerle heterodimer kompleksi oluşturarak işlev görür. DNA'ya bağlanarak işlev gören alfa ve DNA'ya bağlanmadan transkripsiyonel aktiviteyi artıran beta alt üniteleri vardır. Öncelikle t(8;21), AML1-ETO translokasyonu tespit edilmiş olup, buradaki

AML1 geni CBF'nin DNA'ya bağlanarak transkripsiyonu başlatma özelliğine sahip alfa1 alt gurup üyesidir. 16. kromozomun inversiyonu-inv(16) sonucu fonksiyonu değişen diğer bir CBF'de, CBF betadır. Burada CBFB-MYH11 füzyonu söz konusudur. Her 2 translokasyon da hematopoezi bozsalar da tek başlarına AML başlatmaya yeterli değildir. AML1-ETO ve CBFA-MYH11 translokasyonları AML'li olguların yaklaşık olarak sırasıyla % 2-12 ve % 1-5 kadarında görülür ve her ikisi de iyi prognozla birlikte gösterir. Bu nedenle hastalık tanısı ve takibinde kullanılan markerlardır.

**1.2 RARA-Retinoik asit reseptör alfa:** t(15;17) ve t(11;17) translokasyonları sonucu 17. kromozomda bulunan RARA ile 15. kromozomda lokalize PML geni yada 11. kromozomda lokalize PLZF geni füzyonu oluşur. Her iki durum da retinoik asit tarafından sağlanan transaktivasyonu dominant negatif olarak inhibe eder. Bu durum fenotipik olarak gelişimin promyelositik safhasında durmasına neden olur. Tedavide kullanılan ATRA'nın etkisi, ilacın PML-RARA füzyon proteinine bağlanarak hematopoetik farklılaşmada olan bu blokajı kısmen kaldırmasıyla olur. Ancak yine CBF mutasyonları gibi, RARA mutasyonlarının da lösemi gelişimi için başka mutasyonların da katkısına gereksinimleri vardır. t(15;17) translokasyonu AML 3 alt gurubuna özgün olup, olguların % 95'inde tanı sırasında pozitifler.

**1.3 MLL geni translokasyonları:** 11q23 bölgesini içeren translokasyonlar AML yanında ALL'de de görülür. 30'dan fazla partner gen bu bölgede bulunan MLL geni ile translokasyon yapar. Bu durum 1 yaş altı infant lösemilerinde en sık görülen genetik değişikliktir. Ayrıca yine tedaviye bağlı sekonder lösemilerde de 11q23 abersayonlarına sıklıkla rastlanır. MLL geninin lösemi gelişimindeki katkısı tam olarak aydınlanmamıştır, bunun bir nedeni de çeşitli translokasyonlarda sabit bir motifinin partner olarak yer almamasıdır. MLL partner genlerinin protein-protein etkileşimindeki özgünlük, bu genin lösemi yapıcı fonksiyonunun doğasına açıklık getirebilir. Ancak MLL ile ilişkili lösemilerin fenotipik benzerlikleri ve özellikle M1-M2 tipi olmaları transformasyona yol açan olayın MLL'nin partnerlerinden çok kendisi olduğunu düşündürmektedir. MLL geninin yer aldığı t(4;11) translokasyonunun tüm akut lösemiler için kötü prognostik özellikte olduğu kabul görünürken, diğer translokasyonları aynı kategoriye sokabilecek yeterli takip verisi henüz bulunmamaktadır.

**1.4 Homeotik genler\*HOX ve CDX ailesi:** HOX gen ailesine ait genler omurga gelişimi ve ayrıca normal hematopoezde önemli rol oynarlar. HOX genlerinin ekspresyon sırası hematopoezde çok sıkı olarak kontrol edilmektedir. AML'de HOX genleri, çeşitli tipleriyle MLL geni ile translokasyon yapmak-



tadır. Burada HOX genlerindeki sorun, normal hematopoezi regüle edici fonksiyonunu kaybetmeleri tarzında olmaktadır. Bunun dışında HOX genlerini hedefleyen kromozomal translokasyonlar arasında t(7;11) NUP98-HOXA9 ve t(2;11) NUP98-HOXD13 sayılabilir. Son çalışmalar bu translokasyonların hematopoetik progenitörün fonksiyonunu kısmen bozduğunu ancak lösemi gelişimi için tek başına yeterli olmadığını göstermiştir.

## 2.AML'de görülen nokta mutasyonları

**2.1 RAS gen ailesi mutasyonları:** Onkogenik RAS mutasyonları AML ve MDS'de görülür. Tipik olarak N- ve K-RAS genlerinin 12, 13, yada 61. kodonlarında olur. Bu mutasyonların sıklığı farklı çalışmalarda değişmekler beraber % 25-44 arasındadır. Yapılan çalışmalarda aktive edici mutasyon varlığının kötü prognozla birlikte olduğunu göstermiştir. RAS aktivasyonuna karşı inhibe edici küçük moleküllerin geliştirilmesi yönündeki çalışmalar devam etmektedir.

**2.2 Reseptör tirozin kinazları aktive edici mutasyonlar:** AML olgularının oldukça yaygın bir bölümünde FLT3 ve c-KIT geninde aktive edici mutasyonların varlığı gösterilmiştir. BCRABL pozitif olgularda ABL-tirozin kinaza karşı geliştirilen moleküler hedef tedavisindeki başarı sonrası, AML için de yukarıdaki hedefler kullanılarak benzer tedavi stratejilerinin oluşturulması için çalışmalar sürdürülmektedir. FLT3, bugün için AML'de en sık mutasyona uğrayan genidir (yaklaşık %30-35). Olguların yaklaşık % 20-25'inde genin bir bölge-

AML olgularının yaklaşık % 5'inde c-KIT geninin D816 pozisyonu mutasyonları bildirilmektedir. Bu mutasyon da yine genin aktive edici loop bölgesinde olup genin kinaz aktivitesini artırmaktadır.

FLT3, KIT ve RAS mutasyonlarının tümü AML olgularının yaklaşık % 50'sinde görülmektedirler. Hastaların diğer kısmında da sinyal iletim sisteminin aktive olmasını sağlayacak başka genlerin mutasyonlarının varlığı olasıdır.

**2.3 AML1, CEBPA, GATA1 mutasyonları.** AML1 geni lösemilerde sıklıkla transloke olmakla birlikte, bazı kalıtsal AML olgularında da genin fonksiyon kaybına neden olan mutasyonları gösterilmiştir. Bunun yanında olguların % 3-5'lik bir bölümünde AML1 mutasyonları da tespit edilmiştir. Bunlar daha çok AML1 ve trizomi 21 ile birlikte görülen AML yada MDS olgularıdır.

CEBPalfa geni normal myeloid gelişim için gerekli bir transkripsiyon faktörüdür. Birçok translokasyon yanında, yine bu genin de fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar görülmektedir. Bu mutasyonlar daha çok M2 alt tipindeki olgularda bildirilmiştir ve son çalışmalar mutasyonun iyi prognozla birlikteliğini göstermiştir.

GATA1 gen mutasyonları akut megakaryoblastik lösemiler (M7), ve özellikle trizomi 21-Down sendromunda gelişen lösemilerde görülmektedir. Bu mutasyonla GATA1 geninde

**Tablo 1:** AML'de morfolojik alt tipler ve genetik değişimler arasındaki ilişki

FAB alt tipi	Sitogenetik değişim	Moleküler değişim
M0, M1 ve ALL	t(10;11)	<b>CALM-AF10</b>
M1	Trizomi 11	<b>MLL duplikasyonu</b>
M1	t(8;21)	<b>AML1-ETO</b>
M3	t(15;17), t(11;17), t(5;17)	<b>PML-RARA, PLZF-RARA, NPM-RARA</b>
M4eo	inv(16)	<b>CBFB-MYH11</b>
M4 ve eritrofagositoz	t(8;16)	<b>MOZ-CBP</b>
M5	11q23 translokasyonları	<b>MLL diğer partner genleri ile karşılıklı füzyon gen oluşturur</b>
M6	t(3;5)	<b>NPM-MLP1</b>
M1,M2, M4,MDS	t(6;9)	<b>DEK-CAN</b>
M2, M4, KML	t(7;11)	<b>NUP98-HOXA9</b>

sinin (*juxtamembrane domain*) duplikasyonu (*internal tandem duplication-ITD*) genin aktive olmasına neden olur. Bu mutasyonla genin otinhibitör bölgesinin hasara uğradığı ve kinaz aktivitesinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Olguların yaklaşık % 5-10'unda ise genin D835. pozisyonunda "aktive edici loop" bölgesinde oluşan nokta mutasyonu yine tirozin aktivitesine neden olabilmektedir. Hem pediatrik, hem de erişkin gurubunda yapılan çalışmalar FLT3 mutasyonlarının AML hastalarında kötü prognozla birliktelik gösterdiğini bildirmektedir. FLT3 mutasyonları önceki bölümde bildirilen diğer kromozomal translokasyonlarla birlikte aynı olguda görülebilmektedir.

fonksiyon kaybı olmaktadır.

## 3. Genetik değişiklikler ve AML'de prognoz

Heterojen bir hastalık gurubu olan AML'de görülen genetik değişiklikler de hastalığın bu karakterini yansıtır. Klasik kitaplarda yer alan genetik prognostik faktörler şunlardır:

- Kötü prognoz için;
  - o5, 7, 8. kromozom anomalileri
  - oKlonal kompleks karyotipik anomaliler
  - ot(9;22)
  - ot(6;9)
- İyi prognoz için:

oNormal karyotip varlığı  
oinv(16), t(15;17), t(8;21)

AML'nin güncel tedavisi ile 60 yaş altı hastaların yaklaşık % 80'inin tam remisyonu sağlanabilmektedir. Ancak yüksek orandaki hasta gurubunda ilk 4 yılda ciddi oranda lösemi nüksü görülmektedir. Hasta yaşı ve lösemnin genetik profili AML'de bugün için en önemli tedavi yanıt kriterleridir. Örneğin, iyi prognostik genetik profili olan olguların tam remisyona girme şansları % 90 ve sonrasında hastalısız sağ kalımları % 70 iken, aynı yaş gurubunda kötü prognostik genetik profili olan olgular için tam remisyon oranı % 60 ve nüks olasılığı ise % 70'dir. Benzer olarak 60 yaş üstü hastaların tedaviye tam yanıt oranı % 50 ve 4 yıllık sağ kalım olasılıkları ise % 10 civarındadır.

Ancak AML'li olguların yaklaşık yarısında klonal kromozom anomalisi yoktur. Bu olgular orta prognozlu gurubu oluşturmakla beraber, bunların sadece % 40'ının uzun dönem sağ kalımı mümkün olabilmektedir. Bu yüzden hastaların prognozlarının takibi, nüks öngörüsü ve uzun süreli takipleri için moleküler markerlara ihtiyaç vardır. Son yıllarda risk kategorilerini daraltacak yeni moleküler prognostik markerlar listelere eklenmektedir. Bunlar arasında FLT3 mutasyonları yukarda belirtildiği gibi AML'de en sık görülen anomali olarak karşımıza çıkmaktadır. FLT3 anomalisi olan hastalar daha yüksek nüks riski ve düşük sağ kalım olasılığına sahiptirler. Ayrıca yapılan çalışmalar kantitatif olarak yapılan takiplerle mutant/normal FLT3 oranlarının da sağ kalım için takip kriteri olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bunun yanın-

**Tablo 2.** AML'de FLT3-ITD mutasyonu olan ve olmayan olguların prognostik karşılaştırımı

Çalışılan olgu sayısı	FLT3-ITD mutasyon %	Tam remisyon oranı Mutant / normal
201	23	Takip sonucu yok
64	11	% 43 / % 93
81	22	% 47 / % 80
106	13	Takip sonucu yok
854	27	% 78 / % 80
1003	20	% 67 / % 70
979	20	% 52 / % 67

da p53, Bcl-2, tümör baskılayıcı gen değişiklikleri ve Evi-1 ve WT-1 genlerindeki ekspresyon artışları AML'de kötü prognozlu olgularla birliktelik gösteren genetik değişikliklerdir.

### Akut Lenfoblastik Lösemi

Normal lenfoid hücre topluluğu, immünglobin ve T hücre reseptörü genlerinin farklı ve klonal yeniden yapılanma sürecini geçirerek, B ve T hücrelerine proliferolma ve farklılaşma sürecini tamamlar. Bu sürecin herhangi bir safhasında meydana gelen somatik genetik değişiklikler proliferasyonun bozulmasına, klonal olarak hücre popülasyonunda artışa ve ALL'ye neden olur. Somatik olarak meydana gelen çoklu genetik değişiklikler bu sürece neden olmaktadır. ALL'lerin yak-

laşık % 75'inde kromozomal translokasyonlar mevcuttur. Bu translokasyonlardan yola çıkarak yapılan moleküler çalışmalar transkripsiyon faktör genlerinin özellikle partner olarak transloke olan bölgelerde yer aldığını göstermiştir (şekil 1). 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.

ALL'de hastalısız yaşam süresi rezidüel hastalığın kontrol altında tutulmasına bağlıdır. Bu nedenle minimal rezidüel hastalık (MRH) çalışmaları önem kazanmaktadır. Bu çalışmalar sayesinde MRH için eşik belirlenmesi, düzenli bakılan MRH'nin 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.

### 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 hasta da hastalık spesifik olarak ortaya çıkan immünoglobulin 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 diğeri bilinen risk faktörlerinden (yaş, lökosit sayısı, immünfenotip 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 gurubuna ayırmışlardır. 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.



**Tablo 3.** ALL'de kromozomal translokasyonlar sonucu etkilenen transkripsiyon faktör genleri

Gen ailesi	Translokasyon	İlgili gen	Hastalık
Basic helix-loop*helix proteinleri	t(8;14)	MYC	Burkitt lenfoma ve B hücreli ALL
	t(2;8)	MYC	
	t(8;22)	MYC	
	t(8;14)	MYC	T hücreli ALL
	t(7;19)	LYL1	T hücreli ALL
	t(1;14)	TAL1	T hücreli ALL
	t(7;9)	TAL2	T hücreli ALL
Sisteinden zengin (LIM) proteinler	t(14;21)	BHLHB1	T hücreli ALL
	t(11;14)	LMO1	T hücreli ALL
	t(11;14)	LMO2	T hücreli ALL
	t(7;11)	LMO2	T hücreli ALL
Homeodomein (HOX) proteinleri	t(10;14)	HOX11	T hücreli ALL
	t(7;10)	HOX11	T hücreli ALL
	t(5;14)	HOX11L2	T hücreli ALL
AT hook minor groove bağlanma proteinleri	t(1;19)	E2A-PBX1	T hücreli ALL
	t(4;11)	MLL-AF4	Erken B hücreli ALL
ETS benzeri proteinler	t(11;19)	MLL-ENL	ALL yada AML
	t(12;21)	TEL-AML1	B hücreli ALL

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 ne-

**Tablo 4.** Çocukluk çağı ALL'sinde klinik risk ayrımı

Risk gurubu	Özellikler	Etkilenmiş hasta oranı
Düşük risk	Hiperdiploid	<b>% 20</b>
	TEL-AML1 füzyonu	<b>% 20</b>
Orta risk	Standart riskte yaş/lökosit sayısı	<b>% 15</b>
	E2A-PBX1 füzyonu	<b>% 6</b>
Yüksek risk	T hücreli ALL	<b>% 15</b>
	Yüksek riskte yaş/lökosit sayısı	<b>% 15</b>
	BCR-ABL füzyonu	<b>% 3</b>
Çok yüksek risk	MLL gen değişimi	<b>% 3</b>
	İndüksiyon olmaması	<b>% 2</b>

**Tablo 5.** Genetik takipte kullanılan yöntemler ve duyarlılıkları

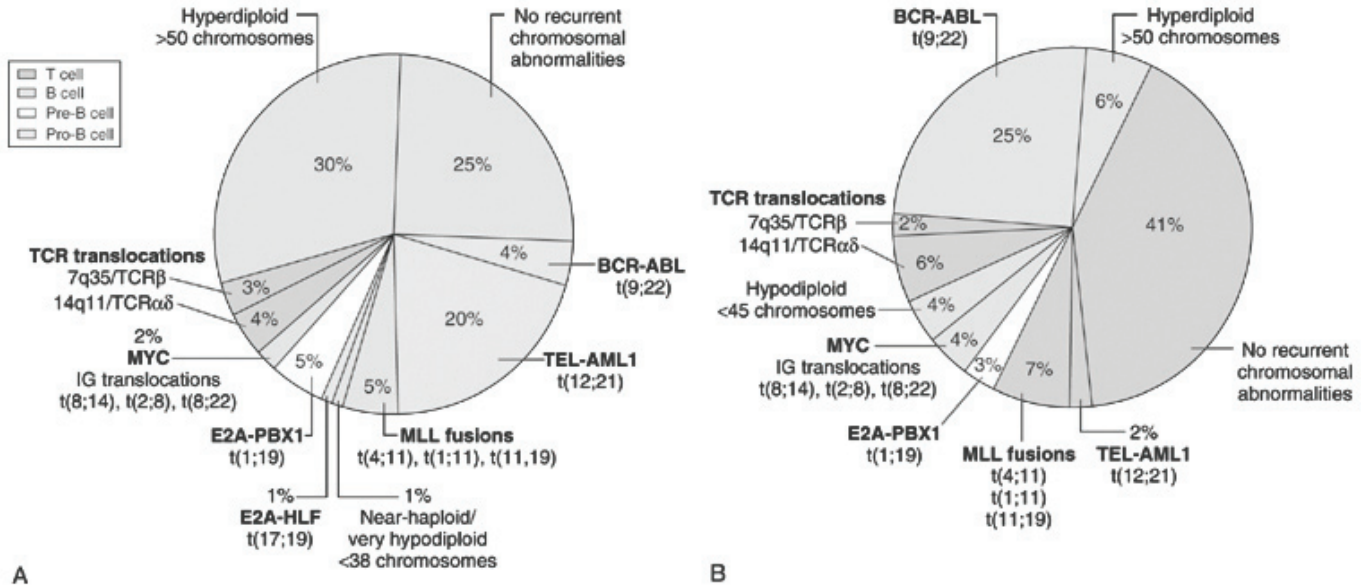
Hastalık	Yöntem	Duyarlılık	Uygulanabilirlik
ALL	Sitogenetik	$10^{-1}$ - $10^{-2}$	
	Akım sitometrisi	$10^{-3}$ - $10^{-3}$	%60-95 BALL, %90-95 TALL
	PCR (Ig/TCR)	$10^{-4}$ - $10^{-5}$	%85-90 BALL, %90-95 TALL
	PCR (translokasyon)	$10^{-4}$ - $10^{-6}$	% 40-45 BALL % 35-45 TALL
AML	Sitogenetik	$10^{-1}$ - $10^{-2}$	
	Akım sitometrisi	$10^{-3}$ - $10^{-3}$	
	PCR (traslokasyon)	$10^{-4}$ - $10^{-6}$	
KML	Sitogenetik	$10^{-1}$ - $10^{-2}$	
	PCR (traslokasyon)	$10^{-4}$ - $10^{-6}$	

**Tablo 6.** ALL ve AML'de genetik değişiklikler sonucu oluşan füzyon genleri ve sıklıkları t(15;17)

Hastalığı	Translokasyon ve füzyon gen	Sıklığı %	
		Çocukluk Çağı	Erişkin
B Hücreli ALL	t(9;22) BCR/ABL	4-6	25-40
	t(1;19) E2A/PBX1	5-6	2-3
	t(4;11) MLL/AF4	2	5
	t(5;14) IL3/IGH	<1	<1
	t(11;19) MLL/ENL	<1	<1
	t(9;11) MLL/AF9	<1	<1
	t(17;19) E2A/HLF	<1	<1
	t(8;14) MYC/IgH	1-2	4-5
	t(12;21) TEL/AML1	20-30	1-2
T Hücreli ALL	TAL 1 Delasyonu	20-30	10-30
	t(11;14) RHCM2/TCRD	5-10	5-10
	t(1;14) TAL1/TCRalfa	1-3	1-3
	t(10;14) HOX11/TCRalfa	1-3	51-3
AML	t(8;21) AML1/ETC	5-10	5-10
	t(15;17) PML/RARalfa	5-10	5-10
	inv(17)CMFB/MYH11	5-10	5-10
	t(9;11) MLL/AF9	5-10	1-5
	t(9;22) BCR/ABL	<1	1-3
	t(6;9) DEK/CAN	<1	<1



Şekil 1. ALL'de görülen kromozomal translokasyonlar ve sıklıkları (A. Çocukluk çağı, B. Erişkin yaş gurubu)



Copyright © 2005 Elsevier Inc. (USA) All rights reserved.

**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 add independent prognostic 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-AIE-OP multicenter trial. *Blood* 1998; 92:784.
13. Hoffmann et al. *Hematology. Basic Principles and practice*. Elsevier Churchill Livingstone. Philadelphia, 2005..





# AKUT MİYELOSİTİK VE AKUT LENFBLASTİK LÖSEMİLERDE MİNİMAL REZİDUEL HASTALIK İZLEM

Dr. Pervin Topçuoğlu, Dr. Mutlu Arat

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

## GİRİŞ

Akut lösemili hastalar tanıda yaklaşık  $10^{12}$  malign hücreye sahiptir. Remisyon-indüksiyon tedavisi(leri) ile kemik iliğinde blast sayısı morfolojik olarak % 5'in altında kabul edildiğinde hematolojik tam remisyon tanımlaması kullanılır. Bunun anlamı kantitatif olarak lösemik hücrenin 2 log indirgenmesidir ( $10^{10}$ ). Tam remisyondan itibaren klinik belirgin lösemik nüklese kadar geçen sürede vücuttaki lösemik hücre yükü büyük oranda bilinmez. Bu nedenle de  $10^{10}$  lösemik yükten itibaren hastalar benzer veya farklı rejimlerle lösemik yükü azaltmak, belki de tamamen yok edilmesi için tedavi alırlar<sup>1</sup>.

## TANIM

Hematolojik malignitelerinin tedavilerinde ilerlemeler yanıt oranlarını artırmakta ve pek çok hastada hastaliksız sağkalımı uzatmaktadır. Akut lenfoblastik lösemide (ALL) yaklaşık % 80-90'ında ve akut miyeloblastik lösemili (AML) yetişkinlerin % 70-80'inde ilk sıra tedaviler ile tam remisyon elde edilmektedir. Fakat hastaların yaklaşık % 60-70'i tedavi sonrası residuel hastalık nedeniyle nüks etmektedir. Konvansiyonel morfolojik bulguların saptadığı eşik değerinin altında kalan residuel malin hücrelerin devam etmesine **minimal residuel hastalık (MRH)** denir ve nüks riski yüksek hastaları öngörebilir. Bu nedenle son dekadlarda MRH saptanması ve değerlendirilmesi için çeşitli laboratuvar yöntemleri kullanıma girmiştir: Akım sitometri (ASM) ile immuntiplendirme, flöresan in situ hibridizasyon (FISH), sitogenetik analizler ve çeşitli polimeraz zincir reaksiyon (PCR=Polimerase change reaction) analizleri bunların arasında sayılabilir (Tablo 1)<sup>2</sup>.

Residuel hastalığın morfolojik olarak değerlendirmesi yöntemindeki duyarlılığın düşük olması (genelde 1 lösemik hücre/100 normal hücre) ve bazen lösemik hücreler ile rejenerasyon olan kemik iliğindeki hematopoetik öncüllerin ayırlanamaması nedeniyle MRH değerlendirmesinde morfolojik yöntemin kullanımını sınırlıdır. Ancak morfolojinin duyarlılık ve özgüllüğü immuntiplendirme ve FISH gibi diğer yöntemler ile artırılabilir<sup>2-5</sup>.

Klonojenik analizler ise in vitro olarak lösemik hücrelerin uygun koşullarda uyarılması ile oluşan blast kolonilerinin analizidir. Bu yöntem yoğun bir laboratuvar çalışması gerektirir ve zaman alıcıdır. Ayrıca değerlendirmede lösemik hücrelerin büyüme hızına bağlı olması ve tek koloni hedeflenmesi gibi dezavantajları vardır. Bu yöntemin avantajları ise: **1.** Okkült malign hücrelerin tanımlanması, **2.** Bu hücrelerin biyolojik özellikleri ve büyümeleri için gereksinimlerinin bilinmesi, ve **3.** Tek koloni ile immunolojik, sitogenetik veya moleküler tekniklerin gelişimidir.

Konvansiyonel karyotiplendirme hem tanıda malin hücreye özgü klonal anormallikler, sayısal ve/veya yapısal belirleyicileri tanımlar, ayrıca hastaların risk sınıflandırması ile birlikte prognozlarının belirlenmesinde önemlidir. Hastaların takibinde ve nükste yeni gelişen klonal anormalliklerin kazanımı da bu yöntem ile saptanabilir. Hastaların % 60-70'inde kullanılabilir bir yöntemdir, ancak duyarlılığı % 1-5 arasında değişir ve zaman alıcıdır. Ayrıca, bölünen hücrelerde karyotiplendirme yapılabildiği için residuel hücrelerin kaybına yol açar.

FISH tüm kromozom veya lokusa-özgü flöresanla işaretli problemler kullanılarak duyarlılık artabilir. Genelde kromozom kayıp veya kazanımlarında translokasyonların saptanmasına

Yol açar.

**Tablo 1:** Minimal residuel hastalıkları saptamada kullanılan yöntemler

Yöntem	Değerlendirilen Hücresel Yapı	Duyarlılık
Işık Mikroskobu	Morfoloji	$10^{-1} - 10^{-2}$
İmmuntiplendirme (ASM, Fluoresan mikroskobu, immunhistokimya)	Nükleer, sitoplazmik ve hücre yüzey antijenleri	$10^{-2} - 10^{-5}$
Klonojenik analizler	İn vitro koloni büyüme	$\sim 10^{-4}$
Sitogenetik analizler	Karyotip anormallikleri	$10^{-1} - 10^{-2}$
Fluoresan insitu hibridizasyon	Karyotip anormallikleri (Sayılan hücre ve sayısına göre)	$10^{-1} - 10^{-4}$
Southern blot	Antijen reseptör gen rearanjmanları, lösemiye özgü translokasyonlar	$10^{-1} - 10^{-2}$
Polimeraz zincir reaksiyonu	Antijen reseptör gen rearanjmanları, lösemiye özgü translokasyonlar	$10^{-4} - 10^{-6}$

**Kaynak:** Faderl S, et al. Minimal Residual Disease in Hematologic Malignancies. Arc Pathol Mol Med 1999; 123: 1030-1034.



göre daha duyarlıdır. Avantajları vardır: **1.** Özgüllüğü, **2.** Çok sayıda hücrede kısa zamanda çalışılabilmesi, **3.** İn vitro kültüre gereksinim olmaması, **4.** Hem metafaz hem de bölünmeyen interfaz hücrelerinin analiz edilebilmesi, ve **5.** DAPI ile hücre morfolojisi değerlendirilmesi yanısıra **6.** Fikse edilen hücrelerde yeniden değerlendirilme yapılabilmesine izin verebilmesidir. Özellikle interfaz FISH yöntemi ile periferik kan analizde kullanılabilir. Translokasyon problemlerinde iki sinyalin birlikte yerleşimi ile yanlış pozitif sonuçlar alınabilmesi bu yöntemin duyarlılığını sınırlar.

PCR yöntemi ile nükleik asit amplifikasyon teknikleri MRH saptamada en duyarlı yöntemdir. Bu yöntemle lösemiye özgü translokasyonlar, klona özgü immunglobulin ağır zincir (IgH) ve T-hücre reseptörü (*TCR=T-cell receptor*) gen rearanjmanları saptanır. Ayrıca, son zamanlarda hastalık prognozu ve MRH izleminde WT-1, FLT-3 geninin mutasyonları, TAL1 gen anormallikleri vb de bu yöntemle belirlenebilmektedir. Çeşitli PCR yöntemleri ile, kantitatif gerçek zamanlı (RT)-PCR, yuvalanmış (nested) PCR gibi, mevcut anormallikler kantifiye edilebilir. Bu yöntemin aşırı duyarlı olması, özellikle aynı "primer" setlerinin farklı hastalarda kullanımı kontaminasyon nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar verebilir. Ayrıca, ma-

lign klon geçici olarak tanısıl transkriptleri eksprese etmez ise yanlış negatif sonuçlar da alınabilir.

İmmunfenotipleme de ise floresan mikroskopu veya akım sitometri yöntemi kullanılır. Bu yöntemlerinde birtakım dezavantajları vardır: **1.** Malin hücrelerin normal hücrelere benzer antijen profili göstermesi, **2.** Birkaç altpopulasyonun bulunması ve bazısı az miktarda olduğu için tanımlanmasının bu yöntemler ile zorluğu ve **3.** Nükste fenotipik dönüşümün tanımlanamamasıdır.

Günümüzde MRH belirlemede en geçerli kantitatif yöntemler:

1. Çok parametrelili akım sitometri yöntemi ile immunfenotipleme,
2. İmmunglobulin ve T-hücre reseptör (TCR) genlerinin rearanjman olan "juntional" bölgelerinin PCR ile tayini, ve
3. Kromozomal anormalliklerine eşlik eden füzyon transkriptleri, kromozomal veya moleküler rearanjmanların etrafındaki kırılma-noktası bölgeleri ve anormal eksprese edilen genlerin PCR ile tayinidir.

**Tablo 2:** Akut Lösemide MRH Saptamada En Sık Kullanılan İmmunotiplendirme ve PCR Yöntemlerinin Kullanımı, Duyarlılığı, Avantaj ve Dezavantajları

	İmmunotipleme	Ig/TCR rearanjmanları	PCR Füzyon gen transkriptleri	Kimerizmin VNTR/STR ile PCR analizi
<b>Kullanımı</b>				
<b>Çocuklukta</b>				
AML	% 75 - 85	< % 10	% 25 - 30	> % 95
Öncül B-ALL	% 60 - 95	> % 95	% 30 - 35	> % 95
T-ALL	> % 95	> % 95	% 10 - 20	> % 95
<b>Yetişkinlerde</b>				> % 95
AML	% 75 - 85	< % 100	% 10 - 20	> % 95
Öncül B-ALL	% 80 - 90	> % 90	% 35 - 40	> % 95
T-ALL	> % 95	> % 95	% 10 - 20	> % 95
<b>Duyarlılık</b>	$10^{-3} - 10^{-4}$	$10^{-4} - 10^{-5}$	$10^{-4} - 10^{-6}$	$10^{-2}$ - (hücre ayrılması sonrası $10^{-4}$ )
<b>Avantajları</b>	+Hızlı +Görece hastaya özgün +Normal hücrelerde informatif +Görece kolay +Tek hücre analizi +Hücre canlılığı tanımlanabilir	+DNA stabilitesi +Hastaya özgü +DNA miktarı göreceli stabil	+stabil hedef +(gerçekte) zemin yok +Görece kolay ve hızlı	+Çoğu hastada kullanılabilir +Engraftman analizinde yararlı
<b>Dezavantajları</b>	+Normal hücre zemini +İmmunfenotipik şift +Altklon	-Rearanjman kaybı (devam eden/ikincil rearanjmanlar ve/veya altklonlar) -Genomik instabilite -Yoğun ve zaman alıcı -Normal hücre zemini -Yüksek kompleksite	-RNA insatbilitesi -Değişen ekspresyon düzeyleri (hasta ve zaman arasında) -Tümöre özgü (kontaminasyon riski)	-Duyarlılığı sınırlı -Lösemiye özgü değil

**Kaynak:** Van der Velden VH, et al. Detection of Minimal Residual Disease in Acute Leukemi. *J Biol Regulators&Homeostatic Agents*. 2004; 18: 146-154; Uzunel M. *The Methodology and Significance of Minimal Residual Disease Detection after Allogeneic Stem Cell Transplantation*. Karolinska University Press. 2003

Bu üç laboratuvar yönteminin avantajları, dezavantajları, uygulanabilirlikleri ve duyarlılıkları tablo 2'de özetlenmektedir<sup>6,7</sup>. Birçok çalışma akut lösemide MRH'nin kuvvetli ve bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermektedir. MRH saptamada kullanılan submikroskopik yöntemler konvansiyonel yöntemlerden en az 100 kat daha duyarlıdır.

### AKIM SİTOMETRİ YÖNTEMİ İLE MRH SAPTANMASI

Normal kemik iliği ve perifer kanda eksprese edilmeyen immunfenotiplerin lösemik hücreler tarafından eksprese edildiğinin saptanması ile MRH çalışmalarında akım sitometrinin (ASM) kullanımını gündeme gelmiştir<sup>3,8</sup>. İlk olarak ortak ALL antijeni (CALLA=CD10) ve TdT'nin periferik kandaki hücrelerde olmazken ALL'de lösemik hücrelerde eksprese edilmesi lösemik belirleyici olarak bu antijenlerin kullanımı gündeme getirmiştir<sup>9</sup>.

ASM yöntemi ile birkaç hücre parametresi eş zamanlı analiz edilebilir. Hücre büyüklüğü, granülaritesi ve hücre yüzey ve hücre içi moleküllerin ekspresyon şiddeti birlikte değerlendirildiğinde lösemik hücreler normal hücrelerden immunfenotipik özellikler ile ayırt edilebilirler. PCR yönteminden farklı olarak, ASM'de çalışılan örnekte normal hücre ve hücre canlılığı hakkında da bilgi alınabilir, ölü hücreler ve hücre debrisleri tanınır. Bu nedenle de, geri dönüşümsüz olarak kemoterapi ile hasara uğramış ve daha fazla ekspansiyon yapılamayan (fakat pozitif PCR sinyalleri üretebilen) lösemik hücreler sayıma dahil edilmezler. Bu özellik sayesinde yalnızca analiz edilen örnek taze olduğunda (örn, 4 saat veya az) yani hücrenin sağkalımını sağlayan faktörler olmadığı için hücrelerin apoptozisinin önemli sayıda hücreyi etkilemediğinde bu yöntemin kullanımı yararlıdır. Ayrıca, kısa zamanda çok sayıda hücrede analiz imkanı da sağlar. Ancak, lösemiye-eşlik eden belirgin bir immunfenotip saptanmaz ise MRH çalışmalarında ASM kullanımı sınırlıdır. Günümüzde, bu sınırlama hastaların az bir kısmında görülür ve lösemide yeni belirleyicilerin kullanıma girmesiyle olasılık dışı olay azalacaktır. Hastalık seyri esnasında fenotipik değişiklikler nükste çalışılan hastaların % 20 ile % 70'i arasında değişen sıklıkta meydana geldiği bildirilmiştir<sup>10-13</sup>. Normal ve rejeneren olan lenfohematopoezin immunfenotipik özelliklerinin ASM ile kesin tanımlanması ile tanısallık bir diagnostik immunfenotipik profil yokluğunda da ASM'nin MRH çalışmalarında kullanımına izin verecektir<sup>14-18</sup>.

Çalışmalarda hastaların klinik özellikleri ve tedavi sonuçları ile ASM yöntemi ile MRH arasında çarpıcı bir ilişki saptanmıştır<sup>19-22</sup>. Çoğu PCR tabanlı analizlere göre, kantitatif PCR dışında, ASM'nin tek bir özel avantajı MRH'nin doğrudan kantifikasyonudur<sup>23</sup>.

ASM'nin MRH saptamada duyarlılığı  $10^{-4}$  ile  $10^{-5}$  arasındadır. Duyarlılık çalışılan örnek, fenotipik anormallik tipine, kullanılan monoklonal antikor kombinasyonlarına göre değişir. İki esas değişken ASM sonuçlarını etkiler: **1.** Hedef hücreler ile kalan hücreler arasında morfolojik ve fenotipik farklılık derecesi, ve **2.** Analiz edilebilen hücre sayısıdır. İdeal koşullarda, yani **analiz için çok farklı hedef hücreler ve çok sayıda hücre ( $\geq 10^2$ ) olması, ASM duyarlılığını PCR ile aynı yapar**<sup>24</sup>.

ASM bazı özel sınırlamalara da sahiptir. Bu yöntem ile  $10^5$  veya daha fazla normal hücre arasında 1 lösemik hücrenin saptanması gibi aşırı duyarlılığı devamlı sağlamak zordur. Böyle yüksek duyarlılık arzulanabilir, örneğin, hastalığın yamalı bir dağılımına sahip hastalarda MRH saptamada yada otolog graftlar içinde lösemik hücre kontaminasyonunun aranmasında. Diğer bir sınırlama **lösemik hücrelerin immunfenotipi hastalık ilerlemesi esnasında değişebilir (Lienage Infidelity)**. Bu değişiklik MRH izlemede kullanılan belirleyicileri etkilerse, yanlış negatif veya pozitif sonuçlar alınabilir<sup>25-27</sup>. Bu fenomenin potansiyel dezavantajı her bir hastada kullanılan immun-belirleyici kombinasyonun sayısı ile ters ilişkili olmasıdır. Kısaca, hücreler bir uygun fenotipten daha fazlasını eksprese ederse, kaybolan bir fenotipin etkisi diğer anormal örneğin devam etmesi ile dengelenebilir. Son olarak da, **ASM analizlerinin diğer bir sınırlaması PCR kadar "siyah ve beyaz" görünmez**. Bu lösemi hücrelerinin immunfenotip özelliklerini ayırma sık, ancak devamlı olmayıp, lösemik ve normal hücreler arasındaki antijen ekspresyonundaki kantitatif farklılıkların sonucudur. Yine de, objektif MRH değerlendirmeleri, eğer çeşitli normal örneklerde normal antijenik ekspresyonun sınırları tanımlanırsa ve normal hücreler ile kısmen örtüşen immunfenotiplerin kullanımından sakınılırsa mümkündür.

Lösemik blast hücrelerin immunfenotipi ile normal kemik iliği hücrelerinin immunfenotipini karşılaştıran çalışmalarda lösemik hücrelerin sıklıkla ya anormal immunfenotip yada nadir bir fenotip eksprese ettikleri gösterilir. Bu özellik lösemik blastların normal hücrelerden ayrılmasına izin verir<sup>17,18,27-32</sup>. Bu lösemiye eşlik eden immunfenotipler (LEIFr) genellikle **1.** Karşı serideki antijenlerin ekspresyonu (örn, AML hücrelerinde lenfoid antijen ekspresyonu), **2.** Aşırı ekspresyon (normal kemik iliğinde gözlenen veya normalde kemik iliğinde eksprese edilmeyen antijenin ekspresyonu), **3.** Asenkron ekspresyon (normalde granülositik, monositik ve lenfositik farklılaşma esnasında ardışık olarak eksprese edilen, ancak eş zamanlı eksprese edilmeyen antijenlerin birlikte ekspresyonu), ve **4.** Antijen ekspresyon eksikliği (normal granülositik, monositik ve lenfositik farklılaşma esnasında eksprese edilen antijenin eksprese edilmemesi)<sup>29,30,31-35</sup> (Tablo 3). Ayrıca, T hücreli ALL'de, lösemik hücreler normal T lenfositlere benzer belirleyiciler eksprese ederler, fakat bu normal T hücreler özel dokulara sınırlı olup (timus), kemik iliği ve periferik kanda saptanmazlar<sup>3,36,37</sup>. Günümüzde LEIFr AML hastalarının % 80 ve ALL hastalarının % 95'inde tanımlanır. Yetişkin akut lösemisinde MRH çalışmasında kullanılan belirleyiciler tablo 4 de gösterilmiştir<sup>38</sup>.

### Akut Lenfoblastik Lösemide MRH Saptamada Kullanılan Belirleyiciler

Normal T-hücreli ALL immatür T hücrelerden kaynaklanır. İmmatür T hücreler timusa sınırlıdır halbuki lösemik T lenfoblastlar dolaşabildikleri için, T-hücreli ALL'de MRH çalışmaları immatür T hücre fenotiplerinin kemik iliği ve periferik kanda aranmasını içerir. Bunun için en yararlı immunfenotip TdT veya CD34 ile birlikte CD3 ve CD5 gibi T hücre belirleyicilerin birlikte saptanmasıdır (Tablo 4)<sup>38</sup>. Ayrıca, diğer çalışmacılar T-ALL'de CD2 veya CD5 ile birlikte CD7 ve CD3 anormal ekspresyonunun MRH izlemede yararlı olduğuna işaret ederler<sup>39,40</sup>.



**Tablo 3:** AML de Lösemiye Eşlik Eden Anormal İmmunfenotipler (LEIFr)

LEIF	Örnekler
AML de Lösemiye Eşlik Eden Anormal İmmunfenotipler (LAIF)	CD33 <sup>+</sup> /CD2 <sup>+</sup> /CD34 <sup>+</sup> CD34 <sup>+</sup> /CD13 <sup>+</sup> /CD19 <sup>+</sup>
Aşırı ekspresyon	HLADR <sup>++</sup> /CD33 <sup>++</sup> /CD34 <sup>++</sup> /CD64 <sup>++</sup> /CD4 <sup>++</sup> /CD45 <sup>++</sup>
Bir antijen ekspresyonunun olmaması	HLA-DR/CD33 <sup>+</sup> /CD34 <sup>+</sup>
Antijenlerin ekspresyonunun asenkron olması	CD15 <sup>+</sup> /CD33 <sup>+</sup> /CD34 <sup>+</sup> CD65 <sup>+</sup> /CD33 <sup>+</sup> /CD34 <sup>+</sup>

(+) ekspresyon; (++) aşırı ekspresyon; (-) ekspresyon yok: Aynı LEIF AML de lösemik hücrelerin tamamı veya alt grubunda görülür.

**Kaynak:** Kern W, et al. Monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia Crit Rev Oncol&Hematol 2005; 56: 283-309.

B hücreli ALL B hücre öncüllerinden kaynaklanır. Bu hücreler kemik iliğinde yer alır ve az miktarda da olsa periferik kanda da bulunabilirler. Bu nedenle, MRH çalışmalarında B hücreli ALL normal B hücrelerden lösemik hücreleri ayırmalıdır. Bu da birkaç molekülün anormal olarak düşük veya yüksek düzeyde lösemik hücreleri ekspresyona edebilmesi ile mümkündür<sup>14,16,41-43</sup>. Örneğin, CD19<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> B progenitör hücreli ALL'de miyeloid antijenler, CD13, CD15, CD33 ve CD65 ve olgun B hücre belirleyicileri CD21 ekspresyona edilebilirken, normal CD19<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> B hücre öncülleri bu belirleyicileri ekspresyona etmezler veya çok zayıf ekspresyona ederler<sup>44</sup>. B hücreli ALL'de CD19, CD10, TdT ve CD34 ekspresyonu normal hücrelerden önemli oranda farklıdır (düşük veya yüksek)<sup>3,44,45</sup>, CD38 ve CD45 (ya da CD45RA) sıklıkla lösemik hücrelerde ekspresyonu düşüktür<sup>41,44</sup>.

Gen ekspresyon analizlerinin kullanımı ile MRH çalışmalarında belirleyicileri tanımlamak için yeni olasılıklar gündeme geldi<sup>46</sup>. ALL hücrelerini normal B hücre öncüllerinden ayırmak için yapılan gen profili çalışmasında<sup>47</sup>, yaklaşık 4000 gen çalışıldı ve bir lösemik örnekten daha fazlasında aşırı ekspresyona edilen 250'nin üzerinde gen bulundu. Antikorları kolayca elde edilebilen ve ASM ile ekspresyonları ölçülebilen 9'u seçildi. Yedi proteinin (CD58, kreatin kinaz B, ninjurin 1, Ref1, caplastatin, HDJ-2 ve annexin VI) ekspresyonunun normal CD19<sup>+</sup>CD10<sup>+</sup> B öncüllere göre B-hücreli ALL'de aşırı ekspresyona edildiği saptandı. Özellikle CD58 günümüzde B-ALL'de MRH çalışması için en yararlı belirleyicilerden biridir<sup>48</sup>. Normal ve lösemik hücrelerin gen profillerinin karşılaştırması akut lösemide yeni, yaygın olarak kullanılacak belirleyicileri tanımlayacaktır ve sonunda pratik, güvenilir ve evrensel bir izleme sağlanabilmiştir.

#### Akut Miyeloblastik Lösemide MRH Saptamada Kullanılan Belirleyiciler

Lösemik miyeloblastlar ile normal kemik iliği miyelositer seri hücrelerini ayırt etmek önemlidir. AML'de ASM ile MRH saptanmasında bazı zorluklar vardır. İmmunfenotipik heterojenitesi nedeniyle<sup>49</sup>, AML hücreleri genellikle sıkı kümelenme oluşturmak yerine herbiri pekçok alanda nokta dağılımlar (dot plot) tarzında yayılır. Bu nedenle, herhangi bir belirleyici kombinasyonu ile hücrelerin yalnızca ufak bir kısmı fenotipik olarak anormal olarak görülebilir. Ayrıca, AML hücre-

leri sıklıkla yüksek otoflöresansı olan normal hücrelerine benzer olarak ışık dağılımına sahiptir. Bu özellikler analizdeki karışıklığa neden olur, ve testin duyarlılığını azaltır. Yine de, AML'de duyarlı MRH saptanması olasıdır. Dört renkli ASM kullanılarak AML'li çocuklarda MRH çalışıldığında, çocukların % 48'inde 10000 veya daha fazla normal hücre arasında 1 lösemik hücre ve ayrıca % 37'inde de 1000 hücre arasında

**Tablo 4:** Yetişkin lösemi MRH izleminde kullanılan belirleyicilerin kombinasyonu (Salamanca Üniversitesi Hastanesinden adapte edilmiştir)

Lösemi alttipi	Kombinasyon	Kullanılabilirlik (%) <sup>*</sup>
T-hücreli ALL	CD7/CD5/CD3/CD34	70-80
	CD7/CD2/CD3/CD34	70-80
	CD7/CD4/CD8/CD34	60-70
	CD7/CD13/CD3/CD34	15-20
	CD7/CD33/CD3/CD34	15-20
	Anti-TdT/CD5/CD3/CD7	90
B-hücreli ALL	CD10/CD20/CD19/CD34	60-70
	CD10/CD13/CD19/CD34	20-30
	CD10/CD33/CD19/CD34	20-30
	Anti-TdT/CD10/CD19/CD45	70-80
	CD15/CD10/CD19/CD45	5-10
AML	CD10/anti-NG2/CD19/CD20	3-5
	CD34/CD33/HLA-DR/CD45	40-50
	CD34/CD117/CD33/CD45	20-30
	HLA-DR/CD117/CD33/CD34	20-30
	CD15/CD13/CD33/CD34	30-40
	CD15/CD33/HLA-DR/CD34	20-30
	CD15/CD117/CD33/CD34	30-40
	CD34/CD56/CD33/CD45	10-20
	CD7/CD33/CD34/CD45	10-15
	CD2/CD33/HLA-DR/CD34	20-25
	CD19/CD13/CD33/CD34	5-10
	CD34/CD11b/CD33/CD34	5-10
	CD15/anti-NG2/CD33/CD34	5-10

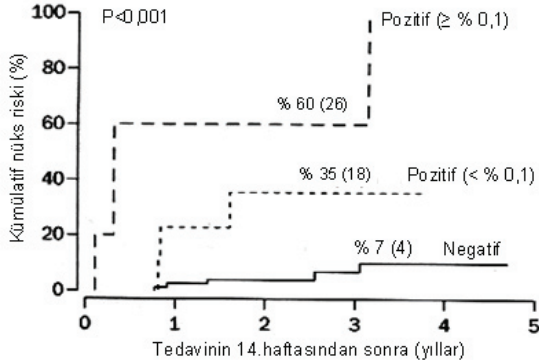
<sup>\*</sup> Gösterilen kombinasyonlarda bir lösemi alttipinde yer alan vakaların yüzdesi duyarlı MRH çalışmalarına izin verir (ALL'de 10<sup>-4</sup> duyarlılık; AML'de 10<sup>-3</sup> duyarlılık).

**Kaynak:** Vidrales MB, et al. Minimal residual disease monitoring by flow cytometry. Best Practice&Research Clin Hematol. 2003; 16: 599-612.

1 lösemik hücre duyarlılığı saptanır<sup>49</sup>. San Miguel ve ark.ları AML'li 233 yetişkin hastanın 175'inde<sup>21</sup>, Venditti ve ark.ları 93 hastadan 65'inde<sup>50</sup> lösemiye eşlik eden immunfenotipleri saptadılar.

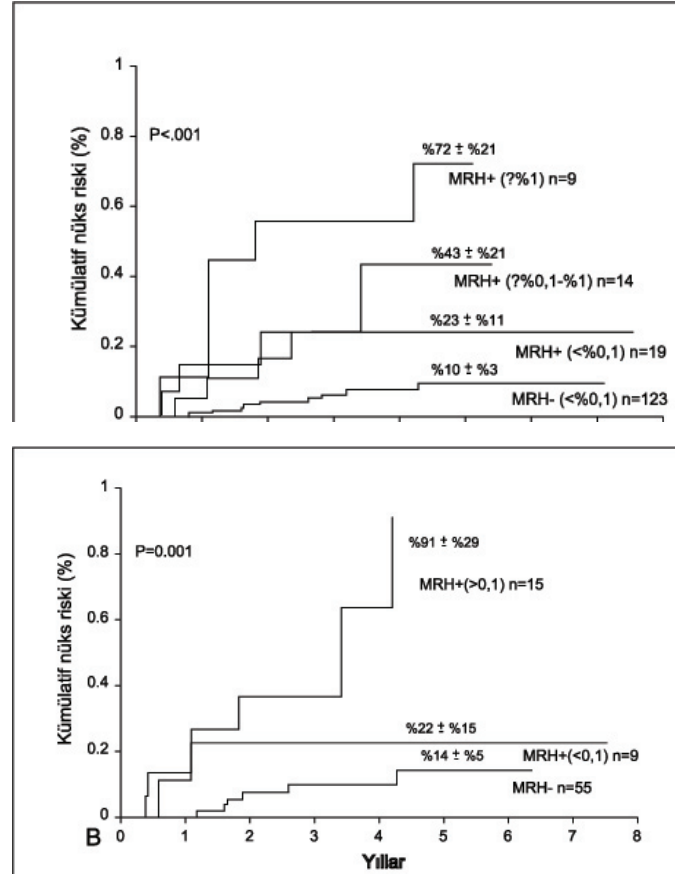
### Akut Lenfoblastik Lösemide ASM ile MRH'nin Saptanmasının Klinik Önemi

St Jude Çocuk Hastanesinde 1991-1997 yılları arasında yeni tanı ALL'li çocuk hastalardan (n=316) Total XIII kemoterapisine kaydedilen ve tanıda ayrıntılı immunfenotipleme yapılan 290 hastada prospektif bir çalışmada MRH değerlendirilmiştir<sup>28</sup>. Lösemiye eşlik eden immunfenotip saptanan 166 hastanın 158'sinde (% 95,2) remisyona induksiyon tedavisinin sonunda (tanıdan 6 hafta sonra), tedavinin devamında 14, 32 ve 56.hafta ve tedavi sonunda (120.hafta) kemik iliğinde MRH bakılmıştır. Bu çalışmada 3-yıllık nüks sıklığının tanıda herhangi bir LEIF saptananlarda % 11,3±3,0 (Standart Hata-SH) LEIF negatif olanlarda % 4,8±2,4(SH) olarak bulunmuştur (p=0,04). Remisyona induksiyon tedavisi sonunda hastaların % 23,4'ünde LEIF pozitif olarak saptanmış ve ayrıca MRH pozitif örnek oranının takip noktalarında anlamlı oranda azaldığı (14.haftada % 17,1, 32.haftada % 5,3 ve 56.haftada %3,6) ve tedavi sonunda hastaların tamamında (n=65) MRH negatifleştiği izlenmiştir. Tüm takip noktalarında MRH pozitifliğinin tedavi başarısızlığı ve nüks eşlik ettiği gözlenmiştir (p=0,002). Tedavinin 14.haftasındaki MRH düzeyinin nüksü kuvvetle öngerebildiğini saptamışlardır (Şekil 1).



**Şekil 1:** ALL tedavisinin 14.haftasında MRH düzeyine göre nüks sıklığı (Kaynak: Coustan-Smith E, et al. Immunological detection of minimal residual disease in children with acute lymphoblastic leukaemia. Lancet 1998;351:550-554)

Çalışmada vaka sayısı artırılarak (MRH için değerlendirilebilen 195 hasta) çalışmanın sonuçlarını güncellediklerinde<sup>20</sup>, değerlendirme yapılan zaman noktalarında MRH pozitifliğinin 5-yıllık nüks olasılığını artırdığını gösterdiler (p<0,001) (Tablo 5). Remisyona induksiyon sonunda MRH düzeyinin hem hastaların tamamında hem de standart riskli hastalarda nüks olasılığını öngerebildiğini gösterdiler (Şekil 2A ve B).



**Şekil 2A-B:** ALL'li hastalarda (A) ve standart riskli (B) ALL'li hastalarda remisyona induksiyon sonunda MRH düzeyine göre nüks sıklığı (Kaynak: Coustan-Smith E, et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 2000; 96: 2196-2199)

Bu çalışmalara benzer olarak Dworzak ve ark.ları ALL'li 108 çocuk hastanın tanı ve takibinde (tedavinin 15.gün, 33.gün, 22-24 hafta, ve az vakada daha ileri bir zaman noktasında) kemik iliği örnekleri ASM yöntemi ile MRH'nin prognostik önemini bildirdiler<sup>22</sup>. MRH düzeyi takip dönemindeki örneklerde

**Tablo 5:** ALL'li çocuklarda klinik ve morfolojik remisyona esnasında MRH durumuna göre nüks sıklığı

	Test edilen örnek sayısı	MRH+ liğinde LEIF (%)	5-yıllık nüks sıklığı (SH)	
			MRH pozitif	MRH negatif
<b>İndüksiyon tedavisi sonrası</b>	165	25,5	% 43 ± % 11	% 10 ± % 3
<b>Tedavi devamı</b>				
14.hafta	145	13,8	% 69 ± % 16	% 10 ± % 3
32.hafta	156	3,8	% 86 ± % 17	% 14 ± % 4
56.hafta	163	4,3	% 51 ± % 25	% 12 ± % 4

**Kaynak:** Coustan-Smith E, et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 2000; 96: 2691-2696.

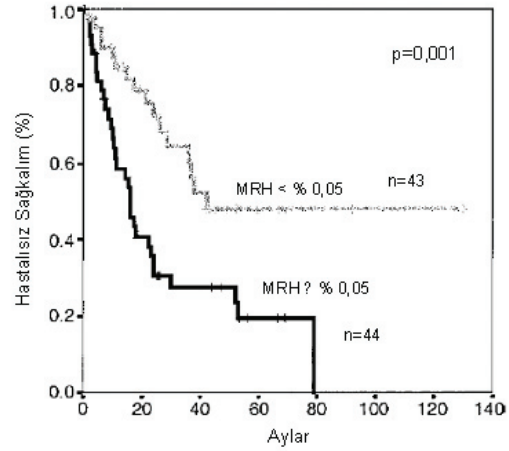


azaldığını gözlediler. Özellikle 33.günde ve 22-24.haftalarda MRH+ olması nüks olasılığını belirgin artırmaktadır ( $p < 0,001$ ). Bu durumun çok değişkenli analizlerde bağımsız bir risk faktörü olduğu saptanmıştır.

Yeni tanı ALL'li 231 çocukta kemik iliği ve periferik kan örneğini içeren 747 çift örnekte MRH değerlendirildiğinde<sup>57</sup>, 78'inde hem kemik iliği hem de periferik kanda MRH pozitif, ancak 67'inde periferik kanda MRH'nin negatif olarak değerlendirilmiştir. Kalan 602 çiftte her iki örnekte de MRH saptanmıştır. T-hücreli ALL'de 179 çift örnekte periferik kan ve kemik iliği birbiri ile uyumlu olduğunu gösterilmiştir. B hücreli ALL'de ise 104 pozitif kemik iliği örneğinden yalnızca 37'inde periferik kan pozitifliği saptanmıştır. Periferik kanda MRH saptanan hastalarda çok yüksek olasılıkla hastalık nüksü olduğu ve B-hücreli ALL'de 4 yıllık kümülatif nüks insidansının remisyona-indüksiyon tedavisi sonunda periferik kanda MRH pozitif saptananlarda %  $80 \pm 24,9$ , fakat yalnızca kemik iliğine sınırlı ise %  $13,3 \pm 9,1$  olduğunu göstermişlerdir ( $p=0,007$ ): Bu sonuçlar periferik kanın MRH izlemede T-hücreli ALL'de kullanılabileceği ve remisyona-indüksiyon tedavisi sonrası periferik kanda MRH pozitif B-hücreli ALL'li hastalarda çok yüksek nüks riski olduğu sonucuna ulaşmaktadır.

Yetişkin ALL'de mevcut terapötik rejimler ile nüks insidansının yüksek ve uzun-dönem sağkalım olasılığının düşük olması nedeniyle MRH değerlendirilmesinin klinik önemi vardır. Yetişkin ALL'de MRH değerlendirmesinde ASM kullanımı ile ilgili az sayıda çalışma vardır ve ilk çalışmalar örneklerin ardışık takibine dayanır. Çoğu çalışmada residual blast sayısının yüksek olması ve/veya bir artış saptanması hematolojik nüksün yakın zamanda olacağını öngörmektedir. Yirmidokuz yetişkin ALL'de yapılan çalışmada takipte iki ardışık çalışmada MRH  $\geq 10^{-3}$  veya artış eğiliminde olması yüksek nüks riskine eşlik ettiği gösterilmiştir<sup>40</sup>. GIMEMA LAL0496 protokoluna alınan 53 T-ALL'li yetişkin hastalık bir seride tedavinin ilk yılında farklı takip noktalarında CD3 ve TdT'nin birlikte ekspresyonuna göre MRH saptanmasının yüksek nüks riskini öngördüğü bildirilir (52). Bu çalışmada konsolidasyon öncesi, 3.reindüksiyon ve 6.indüksiyon tedavisi öncesi MRH pozitif ve negatif olanlarda 2 yıllık hastalısız-sağkalım % 39'a karşın % 82 ( $p=0,0007$ ), % 16 karşın % 55 ( $p=0,009$ ) ve % 16 ya karşın % 50 ( $p=0,03$ ) idi. Adölesan ( $>14$  yaş) ve yetişkin ALL'li 102 hastalık büyük bir seride tedavinin ilk fazın esnasında ASM yöntemi ile saptanan MRH düzeyinin nüks ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>53</sup>. Tedavinin 35.gününde kemik iliğinde düşük düzeyde MRH olanlarda (MRH  $< 0,05$ ) yüksek düzeyde MRH saptananlara göre hastalısız sağkalımı daha uzundur (medyan 3 yıllık hastalısız sağkalım 42 aya karşın 16 ay,  $p=0,001$ ) (Şekil 3). MRH'nin prognostik gücü test zamanında yalnızca morfolojik remisyonda olanlar değerlendirildiğinde de devam etmiştir (medyan 3 yıllık hastalısız sağkalım 42 aya karşın 17 ay,  $p=0,001$ ). ASM ile tedavinin 14.gününde MRH çok düşük ( $< 0,03$ ) veya negatif olan 12 hastanın prognozlarının çok iyi olduğu gözlenmiştir (tahmini hastalısız sağkalım 5 yılda % 90). Aksine, MRH'li ( $> 0,1$ ) hastaların hepsi 2 yılda nüks etmiştir. Çok değişkenli analizde, adölesan ve yetişkin ALL hastalarında 35.gün MRH değerlendirmesi en kuvvetli bağımsız prognostik belirleyiciydi ( $p=0,01$ ); yaşla birlikte ( $p=0,05$ ) ve tanıdaki lökosit sayısı ile ( $p=0,05$ ). 35.günde morfolojik remisyonda olan hastalar

arasında yalnızca MRH düzeyleri ( $p=0,02$ ) ve Philadelphia kromozomu ( $p=0,02$ ) hastalısız sağkalım için bağımsız bir değişkendi.



**Şekil 3:** Tedavinin 35.günü MRH ile hastalısız sağkalım ilişkisi (**Kaynak:** Vidriales VB, et al. Minimal residual disease (MRD) in adolescent ( $>14$  years) and adult acute lymphoblastic leukaemias (ALL): early immunophenotypical evaluation has high clinical value. *Blood*. 2003;101:4695-700).

Allojeneik transplantasyon grubunda yapılan önçalışmalar MRH'nin immunfenotipik olarak araştırılmasının klinik olarak yararlı olduğunu gösterir. Çocuk ve yetişkin hastayı içeren ( $n=24$ ) bir çalışmada transplantasyon öncesi mononükleer hücrelerde yüksek MRH saptanan ( $\geq 0,2$  blast hücresi) hastalarda MRH düşük düzeyde olanlara göre nüks oranı anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (hastalısız sağkalım % 33,3 e karşın % 73,5,  $p=0,03$ )<sup>54</sup>. MRH düzeyinde transplantasyon sonrası artış saptanan 8 hastanın 1 ile 6 ay sonra nüks ettiği, MRH stabil düzeyde kalan 2 hastanın remisyonda seyrettiği gözlenmiştir.

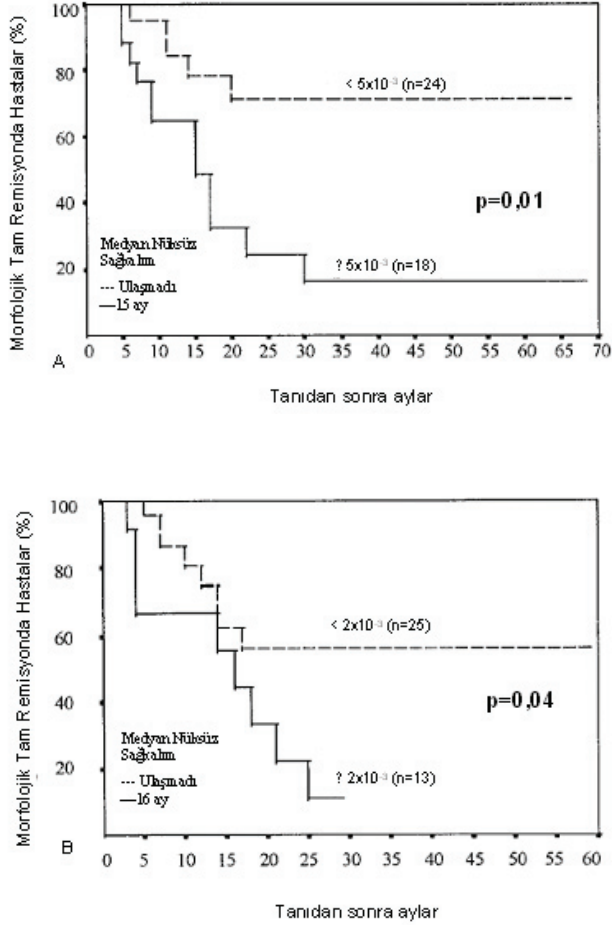
Sonuçta çok parametrelili ASM'nin MRH değerlendirmede kullanımı nüks olasılığını öngörebilir ve yeni alternatif tedavi yaklaşım(ları) gerektiren kötü prognozlu hastaların tanınmasını sağlar.

### Akut Miyeloblastik Lösemide ASM ile MRH'nin Saptanmasının Klinik Önemi

İmmunfenotipik yöntemlerle MRH ile nüks arasındaki ilişkiyi değerlendiren ilk çalışmalar 1990 yıllarında bildirilir<sup>8</sup>. Bu çalışmalar floresan mikroskopu ile TdT ve myeloid antijenlerin (CD13 ve CD33) anormal olarak birlikte ekspresyonunu gösteren çift-monoklonal antikörlerin kullanımını esas almaktaydı. ASM ile yapılan ilk çalışmalar az sayıda hasta grubu içermekteydi ve immunfenotipik olarak MRH'nin prognostik önemini teyit etmekteydi<sup>34,55</sup>. Erken yıllarda yapılan bir çalışmada 45 yetişkin AML hastasında ilk tam morfolojik remisyonda kemik iliğinde hastaların 2/3'ünde  $> 0,5$  fenotipik olarak anormal hücre saptandı ve bu hastaların yarısı bir yıl içinde nüks etti<sup>56</sup>.

Tanıda immunfenotipleme yapılan 53 yetişkin AML hastasında LEIF saptanan ve morfolojik tam remisyona elde edilenlerde kemik iliğinde indüksiyon tedavisi ve intensifikasyon

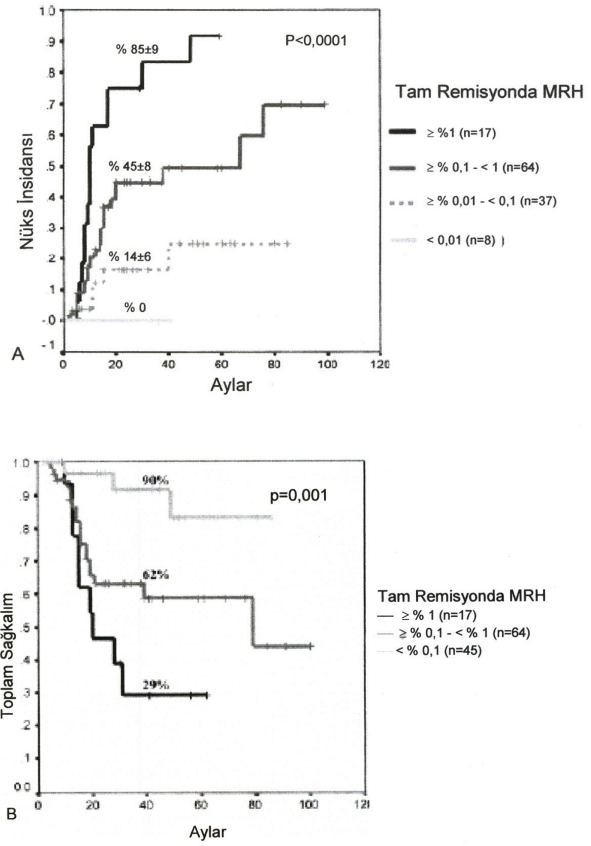
tedavisi sonunda MRH düzeyinin hastaliksız sağkalıma etkisi değerlendirilmiştir<sup>57</sup>. İndüksiyon sonrası MRH düzeyi % 0,5 ve intensifikasyon tedavisi sonunda % 0,2'ye göre hastalar iki farklı gruba ayrıldığında istatistiksel olarak farklı hastaliksız sağkalımına ulaşabileceği gösterilmiştir (Şekil 4A ve B).



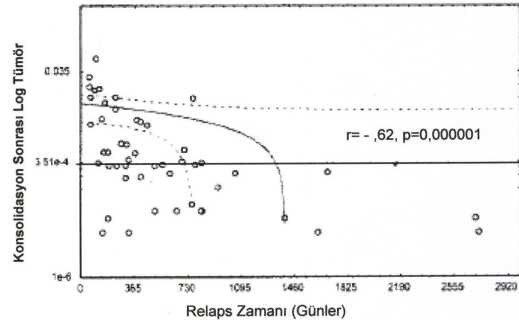
**Şekil 4A-B:** İndüksiyon tedavisi sonunda (A) ve intensifikasyon tedavisi sonunda (B) MRH düzeyi ve hastaliksız sağkalım ilişkisi (**Kaynak:** San Miguel JF et al. Immunophenotyping investigation of minimal residual disease is a useful approach for predicting relapse in acute myeloid leukemia patients. Blood 1997;90:2465-70)

Aynı çalışmacılar 2001 yılında indüksiyon tedavisi sonrası morfolojik remisyonunda olan yetişkin AML'li hastalarda MRH değerlendirmesinin çok bilgi verici olduğunu gösterdiler<sup>21</sup>. Bu çalışmada 126 yetişkin AML hastası çalışılmış ve indüksiyon tedavisi sonrası MRH düzeyi ile nüks arasında ve toplam sağkalım arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır (Şekil 5A-B).

**Şekil 5A-B:** Morfolojik tam remisyonunda MRH düzeyine göre 4 farklı risk kategorisinde nüks sıklığı (A) ve 3 risk kategorisine göre genel sağkalım (**Yüksek Risk:** MRH  $> 10^{-2}$  LEIF+ hücre; **Orta Risk:** MRH =  $10^{-3}$ - $10^{-2}$  LEIF + hücreler; **Düşük Risk:** MRH  $< 10^{-3}$  LEIF+ hücreler ve **Çok Düşük Risk:**  $< 10^{-4}$  LEIF+ hücreler-hiç biri nüks etmedi) (**Kaynak:** San Miguel JF et. Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. Blood 2001;98:1746-1751)



Diğer bir çalışmada ise 51 hastada konsolidasyon sonrası MRH çalışıldığında, en belirleyici MRH düzeyinin % 0,35 olduğu saptanmıştır (Şekil 6)<sup>50</sup>.

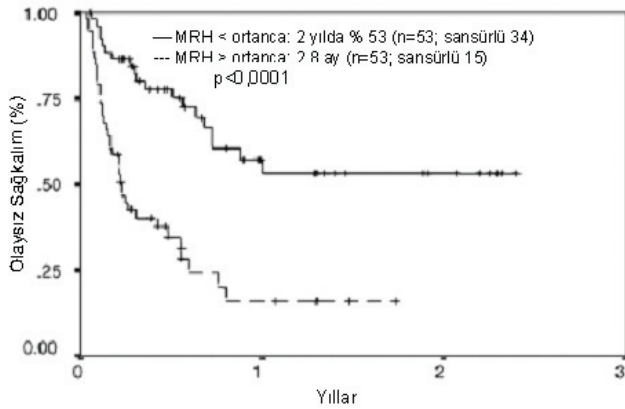


**Şekil 6:** Konsolidasyon Sonrası MRH Düzeyi ile Relaps zamanı Arasında İlişki (Sürekli tam remisyonunda kalan hastalarda konsolidasyon sonunda residuel lösemik hücre miktarı  $< 3,5 \times 10^{-4}$ ) (**Kaynak:** Venditti A et al. Level of minimal residual disease after consolidation therapy predicts outcome in acute myeloid leukemia Blood 2000; 96:3948-3952).

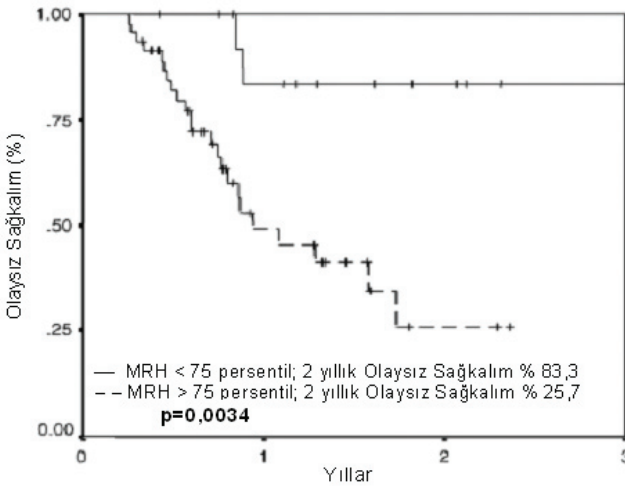
Munöz ve ark.ları AML'li ve MLL-gen rearanjmanı olan indüksiyon ve/veya intensifikasyon tedavisi sonrası ASM ile yüksek MRH ( $> 3 \times 10^{-3}$ ) saptanan 6 hastanın 5'inin nüks ettiğini bildirmiştir (58). Yukarıda bahsedilen çalışmalar ASM için analizler genelde tam remisyon sonrası MRH değerlendirmesidir, son zamanlarda yayınlanan bir çalışmada indüksiyon tedavisi tamamlandıktan sonra hastanın aplazi döneminde sitomorfolojik olarak residuel hücre miktarı hastaların tam remisyonuna



ulaşması ve uzun dönem sonuçları üzerinde bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir<sup>59</sup>. Kern ve ark.ları 2003 yılı ASH kongresindeki bildirimlerinde 106 AML hastasında tanı ve indüksiyon tedavisinin 16.günü aplazide iken ASM ile belirlenen MRH düzeyi ile tam remisyona elde edilmesi ( $p=0,0001$ ), olaysız ( $p=0,0001$ ), relapstan bağımsız ( $p=0,0003$ ) ve genel sağkalım ( $p=0,003$ ) arasında kuvvetli bir ilişki göstermişlerdir. Prognoz üzerine etkileri diğer değişkenlerden bağımsız olduğunda saptanmıştır (Şekil 7)<sup>60,61</sup>. Konsolidasyon öncesi ve sonrası MRH hastalık için ayrıca analiz yapıldığında MRH'nin her iki zaman noktasında da bağımsız bir prognostik değişken olduğudur (Şekil 8).



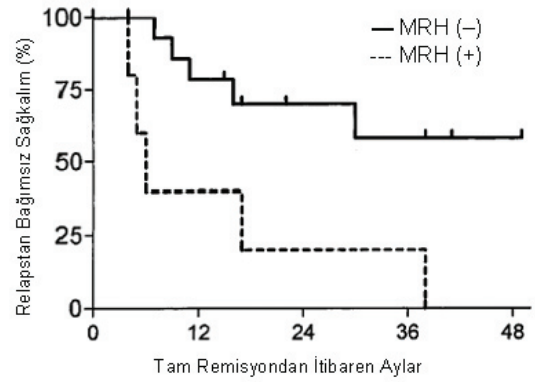
ASM ile 16.günde MRH'nin prognostik etkisi (**Kaynak:** Kern W, et al. Prognostic impact of early response to induction therapy as assessed by multiparameter flow cytometry in acute myeloid leukemia. Blood 2003;102:876a)



**Şekil 8:** Çok parametrelili ASM ile konsolidasyon sonrası MRH'nin prognostik önemi (**Kaynak:** Kern W, et al. Prognostic impact of early response to induction therapy as assessed by multiparameter flow cytometry in acute myeloid leukemia. Blood 2003;102:876a)

Otolog hematopoetik hücre nakli yapılan AML'li hastalarda ASM ile otolog graft içeriğindeki MRH ile hastalık nüksü arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (Şekil 9)<sup>62</sup>.

**Şekil 9:** Otolog graftta MRH ile hastaliksız sağkalım ilişkisi (**Kaynak:** Reichle A et al. Transplant characteristics: Minimal residual disease and impaired megakaryocytic colony growth as sensitive parameters for predicting relapse in acute myeloid



leukemia. Leukemia 1999;13:1227-1234).

Sonuçta, ASM yöntemi ile MRH değerlendirmesi tüm AML hastalarında kullanılabilir. AML'de morfolojik tam remisyonda, indüksiyon tedavisinden sonra elde edilen ilk kemik iliği örneklerinde MRH değerlendirmesi daha spesifik konsolidasyon tedavilerine yönlenmekte yardımcı olabilir. Klinik çalışmalarda prognostik belirleyici olarak remisyona sonrası sınıflandırma ve risk stratifikasyonunda kullanılabilir.

#### POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU YÖNTEMİ İLE MRH SAPTANMASI

Pek çok hematolojik malignitede klinik sonuç ile PCR yöntemiyle saptanabilen çok düşük düzeyde hastalığa özgü belirleyiciler arasında önemli oranda ilişkili olduğu gösterilir. MRH saptamada PCR'ın üç esas hedefi vardır<sup>63</sup>:

1. İmmünglobulin (Ig) allel veya T hücre reseptör (TCR= T-cell reseptör) genlerinin rearanjmanları,
2. Kromozom anormalliklerinin kırılma noktası füzyon bölgeleri ve füzyon gen transkriptleri, ve
3. Anormal genler veya anormal ekspres edilen genler.

Bu hedeflerin bazısı lösemi hücrelerine yüksek oranda özgüdür ve normal hücrelerde çok düşük veya hiç yoktur. Bu hedeflere başvurma ve duyarlılık hastalıklara göre değişir (Tablo 6). Kronik miyelositer lösemi ve ALL'de saptanan bir PCR hedefi tüm hastalarda normalde düşük düzeyde bulunabilir iken, AML'ye özgü PCR hedefleri yalnızca hastaların % 30-50'sinde saptanır.

#### Ig/TCR Gen Rearanjmanları

Erken B ve T hücre farklılaşması esnasında Ig ve TCR gen komplekslerinin V, D ve J gen segmentleri yeniden düzenlenir, ve böylece her bir lenfosit özel bir V-D-J segment kombinasyonuna sahip olur. Her bir lenfoid (öncü) hücrenin birbirinden farklı olduğu sanılan rearanje olmuş Ig ve TCR gen "junctional" bölgelerine sahiptirler ve bu özellikte tek bir "DNA-parmak izi" sekansı oluştururlar. Bir lenfoid malignitenin tüm hücreleri aynı Ig ve/veya TCR gen rearanjmanları ile ortak bir klonal orijine sahiptirler. Bu nedenle Ig ve/veya TCR gen "junctional bölge" rearanjmanları PCR hedefleri olarak kullanılırlar. ALL'de Ig/TCR gen rearanjmanları atklon oluşturma eğiliminde olabilir. Tanıda saptanan oligoklonun nükste yeniden ortaya çıkacağı kesin değildir, yine de PCR ile



**Tablo 6:** Akut lösemilerde MRH-PCR hedefleri, duyarlılığı ve kullanımı

	Ig/TCR gen rearanjman.	Füzyon genleri (örn, transkriptler)	Diğer genler		
			FLT3-ITD	WT-1	HOX11L2
<b>Duyarlılık</b>	$10^{-4} - 10^{-5}$ (%)	$10^{-4} - 10^{-6}$ (%)	$10^{-4} - 10^{-5}$ (%)	$10^{-4}$ (%)	$10^{-4}$ (%)
<b>B hücre</b>					
Öncül B-ALL çocuk	95	40 – 50	< 2	Veri yok	< 2
Öncül B-ALL yetişkin	90	35 – 45	< 2	70 – 90	Veri yok
<b>T hücre</b>					
T-ALL çocuk	> 95	10 – 25	< 2		20 – 35
T-ALL yetişkin	90	5 – 10	< 2	75	20 – 35
<b>Miyeloid seri</b>					
APL	Veri yok	> 95	20 – 30	Veri yok	Veri yok
AML çocuk	5 – 10	20 – 40	10 – 20	85 – 100	< 2
AML yetişkin	5 – 10	10 – 20	15 – 30	85 -100	Veri yok

Kaynak: van der Velden VHJ, Hochhaus A, Cazzaniga G, Szczepanski T, Gabert J and van Dongen JJM. Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspect. *Leukemia* 2003;17: 1013-1034.

MRH takip edilmesi önerilir. Ancak ikincil Ig/TCR gen rearanjmanları ve devam eden Ig/TCR gen rearanjmanları tanı ve nüks arasındaki zaman periyodunda oluşabilir. Tüm B-hücreli ALL hastaları IgH zincir gen rearanjmanlarına sahiptir. Ayrıca Ig kappa delesyon bölümündeki (IgK-Kde) rearanjman kısmen yüksek sıklıkta bulunur (yaklaşık % 60). Çoğu T-ALL hastalarında TCR-B, TCR-G ve/veya TCR-D genleri rearanjmanı olur. B hücreli ALL'de TCR gen rearanjmanları saptanabilir. Doksan dört B-ALL'li çocuk hastada tanıda tanımlanan Ig ve TCR gen rearanjmanlarının hastalık nüksünde % 71'inde saptandığı gösterilmiştir. En stabil olan IgK-Kde rearanjmanları, en az stabil olan ise TCR-D rearanjmanları olduğu görülmüştür (63,64). Çocukluk öncül B-ALL'de monoklonal MRH-PCR hedefleri yüksek oranda stabil iken, oligoklonal MRH-PCR hedefleri nükste sıklıkla kaybolur<sup>65,66</sup>. Yanlış negatif MRH sonuçlarını azaltmak için klinik çalışmalarda her hastada **en az iki Ig/TCR hedefi belirlemek gerekir**.

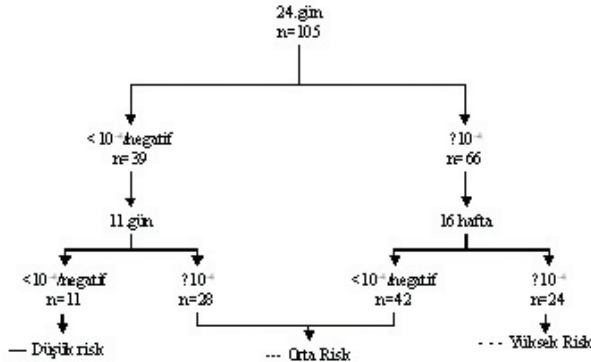
Çok merkezli lösemik hücrelerin klonalite tayininde TCR veya Ig gen rearanjmanları kullanılarak 246 çocuk hastada MRH >  $10^{-2}$  olduğunda nüks için rölatif riskin 16 olduğu, konsolidasyon sonrası MRH >  $10^{-3}$  ise riskin 7 ve idame sonrası pozitiflik devam ederse riskin 9 olduğu saptanmıştır<sup>67</sup>. Çok değişkenli

analizde de diğer risk faktörlerinden sonra, yaş, yüksek lökosit sayısı ve immunfenotip gibi, MRH saptanması nüksü öngörmeye bağımsız bir değişken olduğu gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada iki farklı zaman noktasında (indüksiyon sonrası ve konsolidasyon öncesi) TCR ve Ig gen rearanjmanları ve TAL1 delesyonları PCR ile değerlendirilerek, MRH düzeyi temel alınarak nüks olasılığına göre hastalar üç gruba ayırdıklarında<sup>68</sup>, 3-yıllık nüks oranı yüksek riskli hastalarda (MRH >  $10^{-3}$ ) % 73, orta risk grubunda ( $\geq 10^{-2}$ - $10^{-3}$ ) % 23 ve MRH negatif olanlarda ( $\leq 10^{-4}$ ) ise % 2 olduğu gözlenmiştir (p<0,0001).

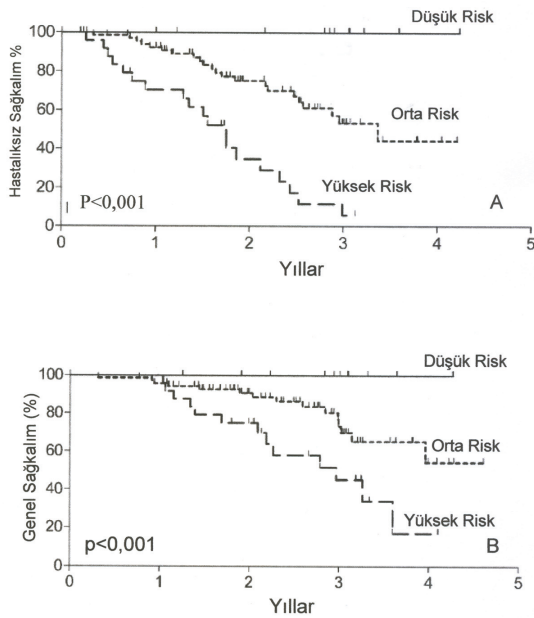
Alman grubunun çok merkezli, herhangi bir konvansiyonel kötü prognostik kriteri olmayan standart riskli 196 yetişkin ALL hastasında, prospektif olarak kantitatif PCR ile farklı zaman noktalarında MRH değerlendirmesi ile hastalık seyri arasındaki ilişki sonuçları bildirilmiştir<sup>69</sup>. Bu çalışmada hastaların tümü GMAL 06/09 standart risk prokolundadır. Bu çalışmada standart risk tanımlaması aşağıdaki kriterler esas alınarak yapılmıştır: **1.** t(4;11)/MLL-AF4 ve t(9;22)/BCR-ABL olmaması; **2.** Tanıda lökosit sayısı < 30x10e9/L olan common-/pre-B-ALL veya lökosit sayısı < 100x10e9/L olan kortikal- veya olgun-T-ALL; **3.** Yaş 15-65 yıl arası; ve **4.** Faz I indüksiyon tedavisi sonrası tam remisyona ulaşma. Tanıda tüm hastalarda TCR gen-



leri TCR-B, TCR-G ve TCR-D ve Ig genleri IgH ve IgK-Kde için klonalite analizi yapılmış ve MRH indüksiyon tedavisi sonrası 9 farklı zaman noktasında değerlendirilmiştir. Hastaları MRH düzeyinde azalmaya göre üç farklı risk grubuna ayırmışlardır (Şekil 10): Hastaların % 10'u düşük risk grubunda (MRH  $\leq 10^{-4}$ ) ve 3 yıllık nüks oranı % 0 iken, hastaların % 23'ü yüksek risk grubunda ve nüks oranı % 94 (% 95 CI; % 83-% 100) ve kalan hastalar orta risk grubunda ve nüks oranı % 47 (% 31-% 63) ( $p < 0,001$ ) olarak bildirilmiştir (Şekil 11A). Benzer olarak MRH düzeyinin toplam sağkalıma etkisi gözlenmiştir (Şekil 11B).



**Şekil 10:** İndüksiyon tedavisinin 11.günü, 24.gün ve 26.haftadaki MRH-düzeyleri esas alınarak risk grupları (Kaynak: Brüggemann M, et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard risk acute lymphoblastic leukemia. Blood 2006; 107:1116-1123)



**Şekil 11:** Risk gruplarına göre hastaliksız (A) ve toplam sağkalım (B) (Kaynak: Brüggemann M, et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard risk acute lymphoblastic leukemia. Blood 2006; 107: 1116-1123)

Mortuza ve arkları yetişkin B-ALL'li 85 hastada yarı-kantitatif PCR yöntemiyle IgH analizi yapıldığında kemik iliğinde tedavinin ilk 2 yılında 4 farklı zamanda MRH değerlendirilmiş ve tüm zaman noktalarında MRH pozitifliğinin nüks sıklığını

artırdığı ve hastaliksız sağkalımı kısalttığını göstermişlerdir<sup>70</sup>. Bu çalışmada hastalara yalnızca kemoterapi (n=50) veya 1.tam remisyonda iken otolog (n=16) yada allojeneik kemik iliği nakli (n=19) yapılmıştır. Allojeneik transplantasyon yapılanlarda transplantasyon sonrası MRH durumu ve otolog transplantasyonda ise transplantasyon öncesi MRH pozitifliğinin tam remisyon süresine etkisi olduğu saptanmıştır. Ayrıca çok değişkenli analizde nüksü öngermeye bağımsız bir değişken olduğu da vurgulanmıştır.

Transplantasyon öncesi PCR ile Ig gen (IgH ve IgK-Kde) ve TCR gen (TCR-D ve TCR-G) rearanjmanları ile MRH değerlendiren bir çalışmada<sup>71</sup>, 30 ALL hastasının 15'i yüksek MRH ( $10^{-2} - 10^{-3}$ ), 10'u düşük MRH ( $10^{-4} - 10^{-5}$ ) ve 5'inde ise MRH negatifti. Hastalık nüksü sıra ile 8, 5 ve 0 hastada gözlemlendi ( $p=0,05$ ). Transplantasyon öncesi MRH yüksek ve düşük olan grupta nüks oranları arasında istatistiksel fark saptanmamıştır. Ancak bu çalışmada yazarlar yüksek ve düşük MRH grubu arasında fark olmamasını vaka sayısının az olması ve transplantasyon hazırlık rejimi ve bazı hastalarda T-hücre depleksyonu yapılması istatistiksel sonuçları etkilediği düşüncesindedirler.

Standart riskli yetişkin ALL'de Almanların Çok Merkezli çalışmasında (GMAL) tedavi sırasında ve birinci yılında ki MRH düzeyine göre risk sınıflaması yapmışlar (Tablo 7) ve bu sınıflandırmaya göre de tedavilerini planlanmıştır. Düşük riskli hastalarda tedavi sonlandırılmış, yüksek riskli hastalarda ise kök hücre nakli veya deneysel tedaviler planlanmıştır. Orta risk grubunda ise yoğunlaştırılmış idame tedavisi verilmiştir. Ön sonuçlar böyle bir sınıflandırmanın güvenilir olduğunu göstermektedir. GMAL07/2003 MRH için ara değerlendirmeyi indüksiyon ve iki konsolidasyon tedavisi sonrayı yapmayı planlayarak, yüksek riskli MRH hastalarını belirlemeyi amaçlamıştır<sup>72</sup>.

#### MRH'da Füzyon Gen Transkriptlerinin PCR ile Analizi

Kromozom anormallikleri ile birlikte birkaç akut lösemi tümöre-özümlü füzyonlara sahiptir. Örneğin BCR-ABL füzyon gen transkriptleri t(9;22)'ye sahip yetişkin ALL vakalarında, t(1;19)'a sahip çoğu pre-B-ALL'de E2A-PBX1, t(4;11)'li infant pro-B-ALL'de yüksek sıklıkta MLL-AF4 füzyon gen transkriptleri ve t(12;21)'li çocukluk prekürsör-B-ALL'de TEL-AML1 füzyon gen transkriptleri gibi (73). Böylece RT-PCR ile lösemiye-özümlü gen transkriptleri prekürsör-B-ALL'de MRH saptamada kullanılabilir (Tablo 2). T-ALL'li hastaların % 10'u kadarında SIL-TAL1 füzyon gen transkriptleri RT-PCR analizi ile saptanabilir; hatta yine T-ALL'lilerin % 10'unda CALM-AF10 füzyon gen transkriptleride saptanabilir<sup>72-74</sup>.

AML'de MRH'ın moleküler saptanması tanımlanan kromozomla anormallikler ve füzyon genleri ile sınırlıdır. Son beş yılda AML'de MRH saptamada *kantitatif-revers transkriptaz PCR (QRT-PCR) en sık kullanılan PCR yöntemidir*. AML'de üç tane sık önemli resiprokal rearanjman üreten füzyon genleri t(15;17), inv(16)/t(16;16) ve t(8;21) dir. Bu rearanjmanlar tüm AML hastalarının % 20'sinde saptanır ve iyi prognozu gösterir (75-77). Bu genleri taşıyan hastaların çoğu tam remisyona ulaşır, ancak % 10-30'u sonunda nüks eder (78-80). RQ-PCR için kullanılan primerler, probalar ve kontrol genler European Against Cancer Network tarafından tanımlanmıştır (81,82). Genelde duyarlılıkları en az  $10^{-4}$  (yada 10 kopya)'dır. Ancak,

**Tablo 7:** GMAL06/09 çalışmasında risk sınıflandırması

MRH göre risk grupları	71.gün (indüksiyon sonrası, konsolidasyon öncesi)		Konsolidasyon esnasında 16.haftadan itibaren 52.haftaya kadar
Düşük	$<10^{-4}$	ve	Daima $<10^{-4}$ 52.haftada negatif
Yüksek	$>10^{-4}$	ve	2 kez $>10^{-4}$ ve 52.haftada negatif değil
Orta	MRH değerlendirmesi olası değil		

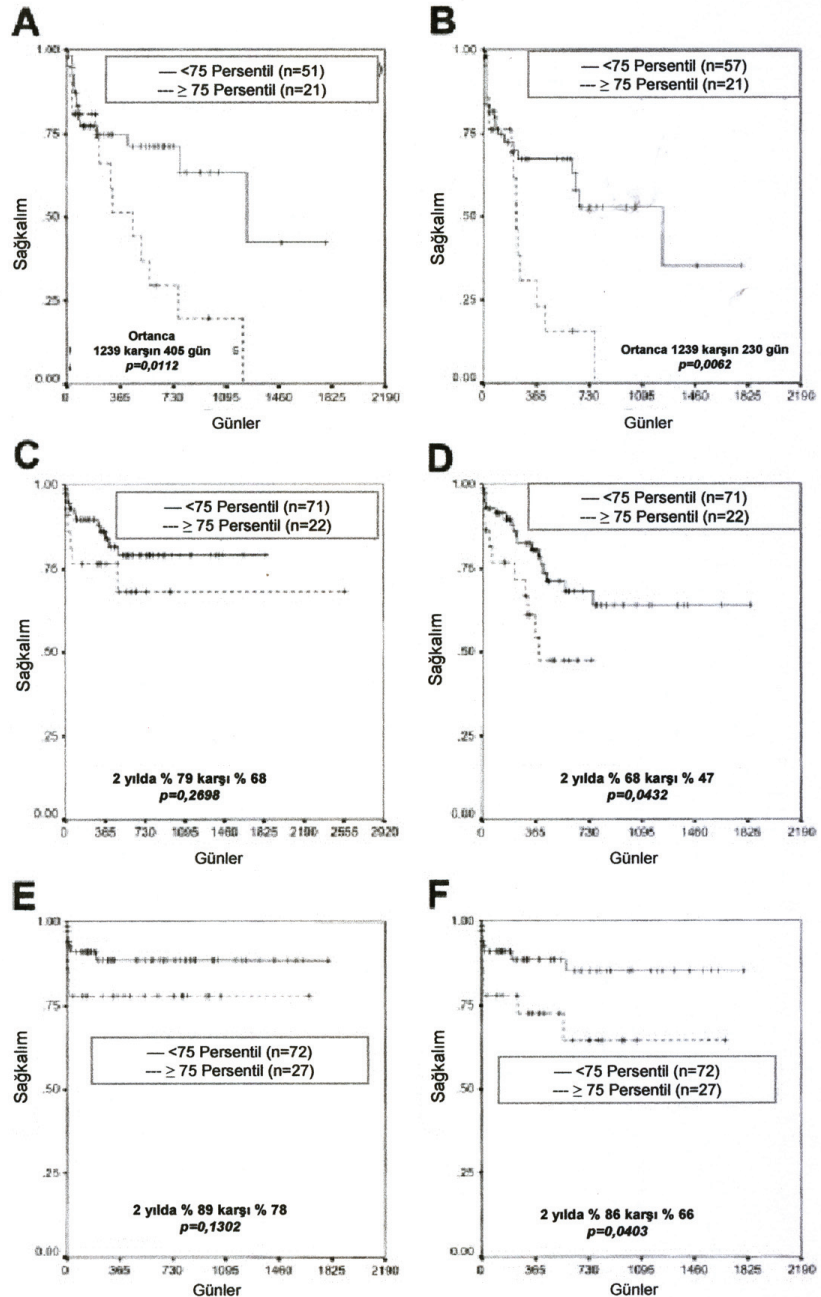
**Kaynak:** Gokbuket N, et al. Risk/MRD adapted GMALL trials in adult ALL. Ann Hematol. 2004; 83 (Suppl 1): S129-31

sağlıklı bireylerde (83-85), kordon kanında veya uzun-dönem tam remisyondaki lösemik hastalarda füzyon gen transkriptleri düşük düzeylerde ( $<10^{-6}$ ) bulunabilir<sup>86,87</sup>. Ancak bu veriler tartışmalıdır<sup>88-90</sup>. Yine de, malin-olmayan hücrelerde füzyon gen transkriptleri RQ-PCR analizinin duyarlılığının çok üstündeyse ( $<10^{-6}$ ) MRH saptanmasını engelleyebilir. PCR tekniklerinin yüksek duyarlılığı nedeniyle, hasta örnekleri arasında RT-PCR ürünlerinin çapraz-kontaminasyonu füzyon gen transkriptleri kullanan PCR-aracılı MRH çalışmalarında yanılmalara yol açabilir<sup>87</sup>. Lösemiye özgü füzyon gen RT-PCR ürünleri hastaya özgü olmadığı için çapraz-kontaminasyonu tanımlamak zordur. Ayrıca, RNA oldukça anstabil ve füzyon gen transkriptlerinin ve kontrol gen transkriptlerinin diferansiyel stabilitesi inandırıcı olmayan MRH verilerine yol açabilir<sup>91</sup>.

AML'de bu füzyon transkriptleri *PML-RARA*, *CBFB-MYH11* ve *AML1-ETO(RUNX1-MTG8)* olup, en çok çalışılan ise *PML-RARA*'dır. Kantitatif olmayan PCR ile yapılan ilk çalışmalarda akut promiyelositik lösemide (APL) PCR negatifliğinin uzun dönem remisyonu gösterirken<sup>92-99</sup> PCR pozitifliği yüksek oranda relapla sonuçlanır<sup>92,95,96,99-103</sup>. Residüel *PML-RARA*-pozitif hücreler hastalık nüksünü öngörür ve bu nedenle de tedavi kararlarında önemli bir parametredir<sup>96,103-106</sup>. Kantitatif olmayan PCR APL'de oldukça önemli olmasına rağmen, sınırlı bir parametredir, tümör yükü hakkında kesin bir bilgi vermez. Residüel *CBFB-MYH11* veya *AML1-ETO* transkriptlerinin morfolojik tam remisyonda saptanması henüz aydınlatılmamıştır. t(8;21)(+) AML'li hastalarda konvansiyonel ve nested PCR ile tanımlanan MRH verileri, uzun dönem remisyonlarda sürekli pozitif olan pek çok olguda eşlik ettiği gösterilmiştir<sup>107-114</sup>. Ayrıca MLL-AF9<sup>115</sup> ve diğer MLL-füzyon transkriptlerinde<sup>116</sup> önemini gösteren az sayıda çalışma da vardır.

Günümüzde QRT-PCR ile AML'de tanımlanan MRH düzeylerinin prognostik etkisi üzerine toplanan veriler takiplerde lösemik transkriptlerin doğru değerlendirmesine izin verir<sup>117-119</sup>.

AML-özgü füzyonlar için RQ-PCR kullanımı 1998 yılında başlar<sup>120</sup> ve yapılan çalışmalar AML'de PCR-esaslı MRH saptanmasının klinik önemini gösterir<sup>121-126</sup>. QRT-PCR üç konuyu değerlendirir: **1.** Tanıda transkripsiyon oranı, **2.** Lösemik klonun azalma kinetikleri, ve **3.** Tekrarlayan klonun erken tanısı.



**Şekil 12**

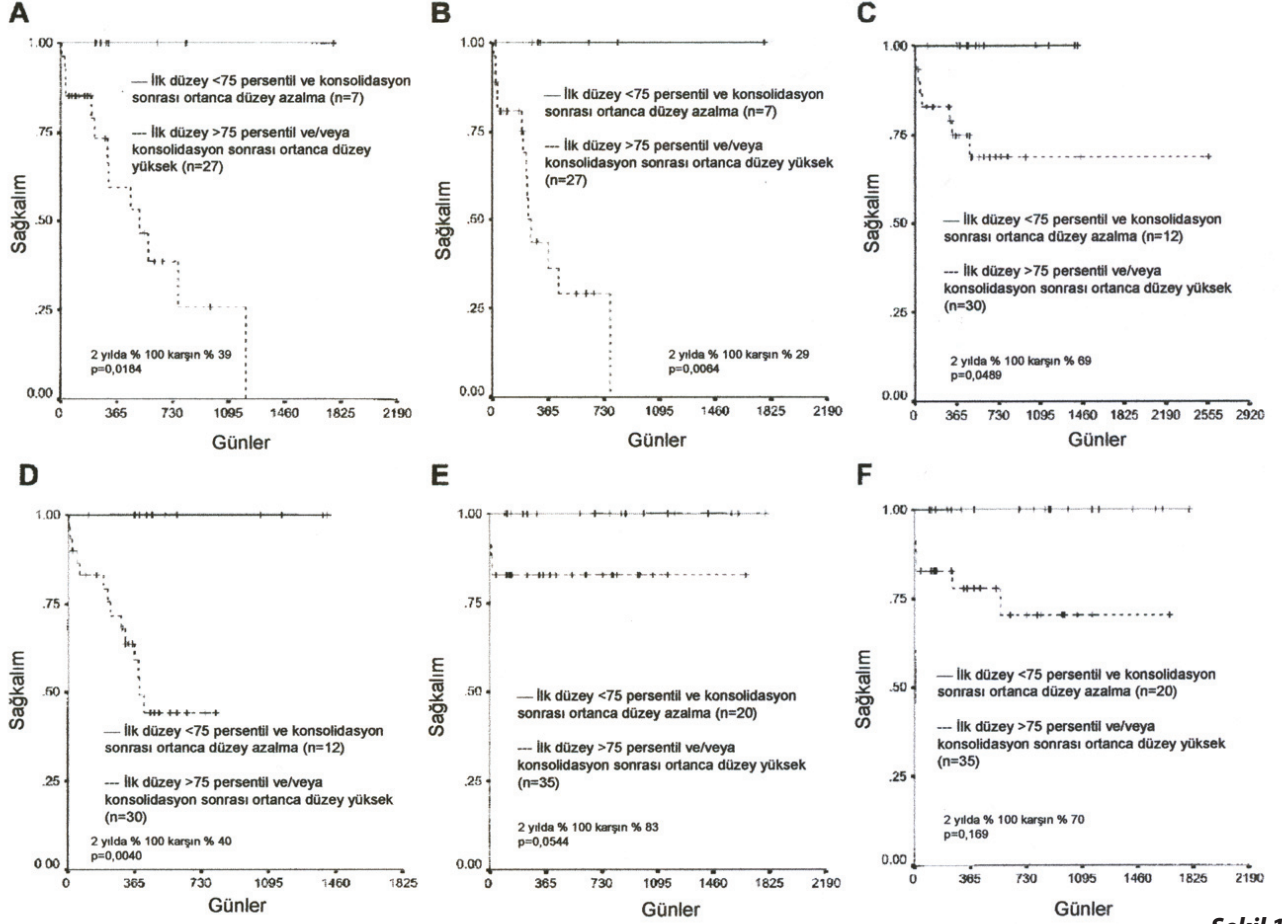


ALL'de MRH tayininde periferik kan kullanımı gösterilmesine rağmen, AML'de MRH değerlendirilmesinde periferik kanın kullanımı ile ilgili veriler az ve tartışmalıdır. Bu nedenle AML'de MRH değerlendirmesinde kemik iliği kullanımı önerilir.

Herhangi bir tedaviye başlamadan önce ilk tanıda bu füzyon genlerinin miktarını ölçmek önemlidir. Bu moleküler düzeyde değiştiği gibi, füzyon genin alttipini değerlendirme esasen önemlidir. Ayrıca, tanıdaki ilk değer MRH değerlendirme noktalarında bazal değer oluşturmak için zorunludur. Referans aenlere göre tanıda bu ilk oranların herhangi bir proc-

transkripsiyon oranı % 75 percentilden az olan altgruplarda konsolidasyon sonrası transkript düzeyi olaysız sağkalım ve toplam sağkalımı etkilediği gösterilmiştir (Şekil 13).

**Şekil 12:** AML1-ETO (A-B), CFBF-MYH11 (C-D) ve PML-RARA (E-F) füzyon transkriptlerine göre Toplam Sağkalım (A,C,E) ve Olaysız Sağkalım (B,D,F) (**Kaynak:** Schnittger S et al. New score predicting for prognosis in PMLRARA-, AML1-ETO-, or CFBF-MYH11-positive acute myeloid leukemia based on quantification of fusion transcripts. Blood 2003;102:2746-55)



**Şekil 13**

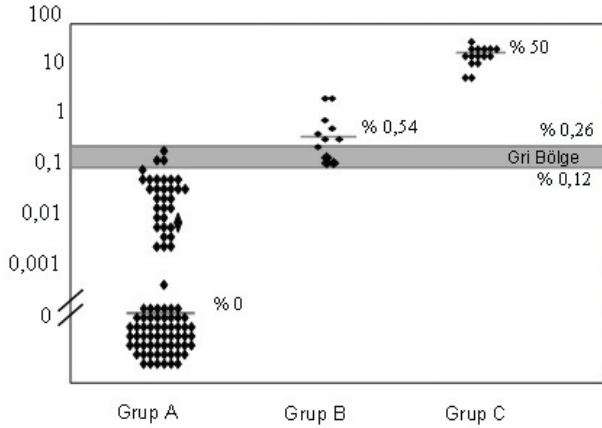
nostik etkisi gösterilememiştir<sup>126-128</sup>. Ancak, CFBF-MYH11-pozitif AML'li 14 hasta ile yapılan bir çalışmada yüksek transkript oranlarının yüksek blast sayısı ve kısa sağkalıma eşlik ettiği gösterilmiştir<sup>129</sup>.

Başka bir çalışmada 131 hastada (34 AML1-ETO, 42 CFBF-MYH11 ve 55 PML-RARA) tanıda transkript miktarlarının yüksek olması üç tip AML'de klinik sonuçlar ile pozitif bir ilişkisi olduğu (Şekil 12), tam remisyon oranları üzerine etkisi gösterilememiştir<sup>121</sup>. Üç AML alttipinde de olaysız sağkalım füzyon gen ekspresyon miktarından etkilenirken, toplam sağkalıma etki sadece AML1-ETO grubunda görülmüştür. Ayrıca, PML-RARA pozitif AML'de bcr3 transkripti bcr1'e göre daha kötü prognoza sahiptir, bu etki M3v ve lökosit sayısı arasındaki ilişkiyi yansıtır. Benzer olarak, AML-M4eo'da kötü prognozu göstermez. Yine bu çalışmada AML'de ilk ve ikinci indüksiyon tedavisi sonrası transkript oranlarında azalma kinetiğinin toplam ve olaysız sağkalıma etkisi olmadığı, halbuki tanıda

**Şekil 13:** Tanıda ortalama transkript miktarı 75. persentil ve tedaviden 3-4 ay sonra ortalama transkript oranına göre hastalar iki farklı grupta değerlendirildiğinde AML1-ETO (A-B), CFBF-MYH11 (C-D) ve PML-RARA (E-F) füzyon transkriptlerinde Toplam (A,C,E) ve Olaysız Sağkalım (B,D,F) (**Kaynak:** Schnittger S et al. New score predicting for prognosis in PMLRARA-, AML1-ETO-, or CFBF-MYH11-positive acute myeloid leukemia based on quantification of fusion transcripts. Blood 2003;102:2746-55)

Krauter ve ark.ları indüksiyon tedavisi sonrası MRH  $\geq$  % 1 saptanması ile nüks kadar geçen sürenin ortalama 3 ay olduğunu, bu nedenle de bu vakalarda tedaviye yüksek riskli hastalar gibi devam edilmesini önerirler<sup>125</sup>. Başka bir çalışmada nüks eden hastalarında morfolojik tam remisyonundaki örneklerinde CFBF-MYH11 transkript düzeyi (ortalama 0-133) nüks etmeyenlere göre (ortalama 0-133) yüksek olduğu (p<0,0001) ve sonuçta sürekli tam remisyon

için PCR negatifliğinin elde edilmesi gerektiğini göstermektedir<sup>123</sup>. Ayrıca, 1.tam remisyondaki hastaları CFBF-MYH11 kopya/ 10000 ABL kopyası eşliğine göre ( $10^{-4}$ ) yüksek ve düşük riskli olarak ikiye ayırdıklarında, eşik değerinin altında kalan hastaların takip periyodunda tam remisyonların devam ettiğini gözlemişlerdir. Diğer bir çalışmada inv(16)/CBFB-MYH11 pozitif AML'ye odaklandığında, sınırlı sayıda hastada remisyonun herhangi bir zamanında % 0,25 kritik bir transkript oranı nüksü belirlediğini gösterilir (Şekil 14)<sup>122</sup>.



**Şekil 14:** inv(16) AML'li 21 hastada 125 örnekte-A: Nüks olmayanlarda tedavi esnasında ve sonrasında; B: Nüksten hemen önce herhangi bir zamanda ve C: Tanıda veya nükste transkript düzeyi. MRH <% 0,12 ise nüks yok, fakat > % 0,25 ise nüks var (**Kaynak:** Buonamici S et al. Real-time quantitation of minimal residual disease in inv(16)-positive acute myeloid leukemia may indicate risk for clinical relapse and may identify patients in a curable state. Blood 2002;99:443-9).

PML-RARA pozitif AML için 5 logdan az azalma 4 kat nüks riskine sahip olduğu gösterdiler (Tablo 8)<sup>124</sup>.

Bu nedenle, farklı gruplar tarafından tanımlanan farklı eşikler çok duyarsız olabilir ve transkript düzeylerinde hastalar arasında yüksek varyasyon nedeniyle genel bir eşik değer belirlemek uygun değildir. Farklı çalışmalarda kullanılan farklı zaman noktalarında MRH testi nedeniyle takip değerlendirmeleri arasında en belirleyici zaman noktası ve zaman aralığı halen bilinmiyor ve bu konuda ileri dönük ve çok merkezli çalışmalar gereklidir.

Yukarıdaki çalışmalarda halen risk değerlendirmesi için en güvenilir takip noktası tartışmalı olmasına rağmen, 3 ayda bir takip önerilmektedir<sup>121,125,129</sup>.

#### MRH'in Saptanmasında PCR İçin Yeni Hedefler

Normal karyotipli veya resiprokal-olmayan kromozomal anormallikleri saptanmayan AML hastalarında PCR kullanımı olası değildir. Normal karyotipli AML'de veya diğer prognostik orta derece anormallikler, trizomi 8 veya 11 ve del(9q), FLT-3 geninde uzunlamasına mutasyonlar (FLT3-LM) ve MLL geninin parsiyel tandem duplikasyonu (MLL-PTD) sıklıkla saptanır ve MRH tanımlanmasında ümit vaat eden belirleyicilerdir. Ayrıca, WT1 geni veya EVI1 geninin anormal ekspresyonu gibi önemli belirleyiciler sınırlı sayıda çalışmada kullanılır. Böylece, sensitif PCR esaslı değerlendirilebilen hasta sayısı günümüzde artabilmektedir (Tablo 9).

Malin hastalıklarda allojeneik hematopoetik kök hücre nakilleri sonrası önemli komplikasyonlardan biride hastalığın nüksüdür. Akut lösemili hastaların az kısmında füzyon transkriptleri vardır. Bu nedenle, transplantasyon sonrası hastaların hepsinde PCR esaslı VNTR/STR (Variable Number of Tandem Repeats/Short Tandem Repeats) amplifikasyonu ile kimerizm takibi altta yatan esas hastalık nüksünü öngörebilmektedir. Mattsson ve ark.ları AML'li 30 hastada lösemik

**Tablo 9:** AML'de MRH Değerlendirmede Farklı PCR Hedefleri

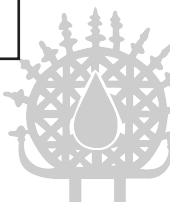
PCR-hedefi	Yeni Tanı AML'de Pozitiflik	Normal veya orta riskli karyotipli AML'de pozitiflik	Kompleks anormal karyotipli AML'de pozitiflik
PML-RARA	% 7 - 8	-	-
AML1-ETO	% 7 - 8	-	-
CBFB-MYH11	% 7 - 8	-	-
MLL-AF6			
MLL-AF9			
MLL-AF10	% 5	-	-
MLL-ENL			
MLL-ELL			
MLL-PTD	% 6	% 10	% 2
FLT3-LM	% 23	% 40	% 2
WT1	% 100	% 100	% 100
EVI1	% 20	% 10	% 10

**Kaynak:** Kern W, Schoch C, Haferlach T, Schnittger S. Monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia Crit Rev Oncol&Hematol 2005;56:283-309

**Tablo 8:** 53 hastada PML-RARA/GAPDH göre nüks riski ve hastaliksız sağkalım

Transkript miktarı	Relaps/Hastalar	Risk Oranı	p	Hastaliksız Sağkalım (%)		
				1 yıl	2 yıl	3 yıl
> $10^{-5}$	6/9			56	44	33
< $10^{-5}$	16/44	4,1	0,008	86	72	65
< $10^{-7}/10^{-8}$	8/13			62	54	46
< $10^{-7}/10^{-8}$	14/40	2,4	0,074	88	72	63
> $10^{-10}$	11/21			67	62	52
Negatif	11/32	1,7	0,244	91	70	64

**Kaynak:** Gallagher RE, et al. Quantitative real-time RT-PCR analysis of PML-RAR{alpha} mRNA in acute promyelocytic leukemia: assessment of prognostic significance in adult patients from intergroup protocol 0129. Blood 2003;101:2521-8.



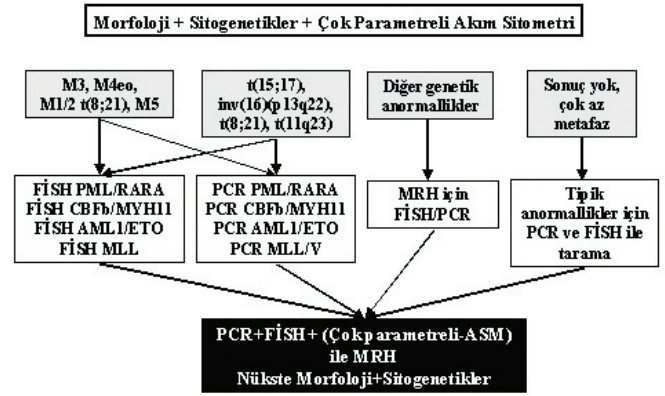
hücre serilerine özgü kimerizmin tayini ile hastalık nüksünün belirlenebildiğini göstermişlerdir<sup>130</sup>.

## SONUÇ

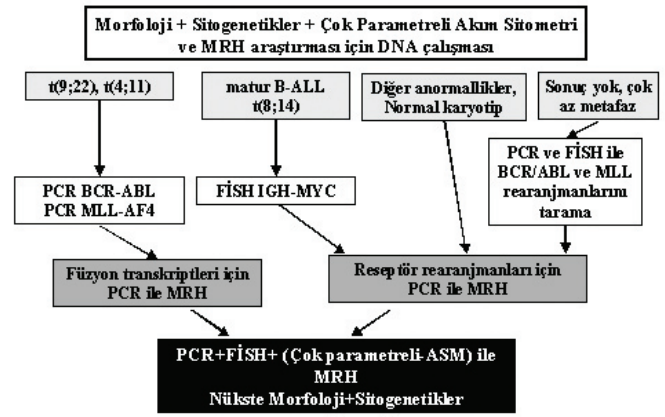
Akut lösemide kantitatif PCR ve akım sitometri yöntemi MRH takibinde günümüzde yaygın olarak kullanılmakta, ayrıca tedavi stratifikasyonu için bir risk sınıflandırılması yapılmasına izin verebilmektedir. Her bir tekniğin kendine özgü avantaj ve dezavantajları bulunmakta ve günümüzde bazı noktalar hem immunolojik hem de moleküler izlem esaslı yöntemler için tartışmalıdır (Tablo 10)<sup>131</sup>. Bu nedenle de her hastalık kategorisine ve klinik amaca göre en uygun yöntem dikkatle seçilmelidir. Böylece hem pozitif hem de negatif yanlış sonuçlar azalacak, gerçekten düşük riskli hastaların tanımlanmasında yeterli duyarlılık sağlayacaklardır. Ayrıca, en önemli hastalık nüksünü erkenden öngörüp, uygun tedavi yaklaşımının kullanımına hekimi yönlendirebilecektir.

Kısaca, aşağıdaki akış çizelgesindeki gibi AML ve ALL hastaları tanı anında morfoloji, çok parametrelili ASM yöntemi ile immunfenotiplendirme ve konvansiyonel sitogenetik ile kromozomal anormallikler yönünden tetkikleri ile birlikte füzyon transkriptleri veya klonal IgH/TCR rearanjmanları yönünden tetkik edilmeli, tedavi sonrası MRH takibi için hangi yöntemin kullanılacağına hasta bazında değerlendirme yapılmalıdır.

### AML'de Tanı ve Takip Algoritması



### ALL'de Tanı ve Takip Algoritması



**Akış Çizelgesi:** AML ve ALL'de tanı ve takip algoritması

**Tablo 10:** MRH izlemede tartışmalı konular

#### Immünojenik izlemede:

- § Seçilen doku tipi ve kullanımı.
- § Hücre hazırlamada kalite kontrol.
- § Çok parametrelili akım sitometre kullanıldı mı?
- § Şüpheli hücre nereden seçilmeli?
- § Hangi lösemik antijen(ler) seçilmeli?
- § Kullanılan antikor panelleri lösemik antijen profilindeki değişiklikleri yeterince tanımlayabildi mi?
- § Bir duyarlılık düzeyi (en az  $10^{-3}$ ) gösterildi mi?

#### Moleküler izlemede:

- § RT-PCR (RNA analizi) karşı genomik DNA PCR?
- § Nükleik asit bütünlüğünün değerlendirilmesi.
- § Kaliteye karşı kantitatif PCR/nested PCR?
- § Diğer genler ile birlikte primer homologlarının seçimi?
- § Normal hücrelerdeki karşılaştırılabilir gen rearanjmanlarının sıklığı.
- § Normalizasyon için hangi kontrol genleri kullanılmalı?
- § Bir duyarlılık düzeyi (en az  $10^{-4}$ ) gösterildi mi?

**Kaynak:** Paietta E. Assessing minimal residual disease (MRD) in leukemia: a changing definition and concept? Bone Marrow Transplant 2002; 29:459-465.



## KAYNAKLAR:

1. Campana D, Pui CH. Detection of minimal residual disease in acute leukemia: methodologic advances and clinical. *Blood* 1995;8: 813-818.
2. Faderl S, Kurzrock R, Estrov Z. Minimal Residual Disease in Hematologic Malignancies. *Arc Pathol Mol Med* 1999; 123: 1030-1034.
3. Campana D. Determination of Minimal Residual Disease in Leukemia. *Bri J Haematol* 2003; 121: 823-838.
4. Liu Yin JA and Grimwade D. Minimal Residual Disease Evaluation in Acute Myeloid Leukaemia. *Lancet* 2002; 360: 160-162.
5. Raanani P and Ben-Bassat I. Detection of Minimal Residual Disease in Acute Myelogenous Leukemia. *Acta Haematol*. 2004; 112: 40-54.
6. Van der Velden VH, Boeckx N, Van Wering ER, Van Dongen JJM. Detection of Minimal Residual Disease in Acute Leukemia. *J Biol Regulators&Homeostatic Agents*. 2004; 18: 146-154.
7. Uzunel M. The Methodology and Significance of Minimal Residual Disease Detection after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Karolinska University Press*. 2003
8. Campana D, Coustan-Smith E, Janossy G: The immunologic detection of minimal residual disease in acute leukemia. *Blood* 1990;76: 163-171.
9. Janossy G, Bollum FJ, Bradstock KF and Ashley J. Cellular phenotypes of normal and leukemic hematopoietic cells determined by analysis with selected antibody combinations. *Blood* 1980; 50: 430-441.
10. Guglielmi C, Cordone I, Boecklin F, Masi S, Valentini T, Vegna ML, Ferrari A, Testi AM, Foa R. Immunophenotype of adult and childhood acute lymphoblastic leukemia: changes at first relapse and clinico-prognostic implications. *Leukemia* 1997; 11: 1501-1507.
11. Oelschlagel U, Nowak R, Schaub A, Koppel C, Herbst R, Mohr B, Löffler C, Range U, Gunther H, Assmann M, Siegert E, Wendt E, Huhn R, Brautigam E, Ehninger G. Shift of aberrant antigen expression at relapse or at treatment failure in acute leukemia. *Cytometry* 2000; 42: 247-253.
12. Baer MR, Stewart CC, Dodge RK, Leget G, Sule N, Mrozek K, Schiffer CA, Powell BL, Kolitz JE, Moore JO, Stone RM, Davey FR, Carroll AJ, Larson RA, Bloomfield CD. High frequency of immunophenotype changes in acute myeloid leukemia at relapse: implications for residual disease detection (Cancer and Leukemia Group B Study 8361). *Blood* 2001; 97: 3574-3580.
13. Tomova A & Babusikova O. Shifts in expression of immunological cell markers in relapsed acute leukemia. *Neoplasma* 2001; 48: 164-168.
14. Lucio P, Gaipa G, van Lochem EG, Van Wering ER, Porwit-MacDonald A, Faria T, Bjorklund E, Biondi A, van den Beemd MW, Baars E, Vidriales B, Parreira A, van Dongen JJ, San Miguel JF, Orfao A: BIOMED-1 concerted action report: Flow cytometric immunophenotyping of precursor B-ALL with standardized triple-stainings. BIOMED-1 Concerted Action Investigation of Minimal Residual Disease in Acute Leukemia: International Standardization and Clinical Evaluation. *Leukemia* 2001; 15:1-185-1192.
15. Wells DA, Sale GE, Shulman HM et al. Multidimensional flow cytometry of marrow can differentiate leukemic from normal lymphoblasts and myeloblasts after chemotherapy and bone marrow transplantation. *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 84-94.
16. Ciudad J, San Miguel JF, Lopez-Berges MC, Garcia Marcos MA, Gonzalez M, Vazquez L, del Canizo MC, Lopez A, Van Dongen JJ, Orfao A. Detection of abnormalities in B-cell differentiation pattern is a useful tool to predict relapse in precursor-B-ALL. *Bri J Haematol* 1999;104: 695-705.
17. Lucio P, Parreira A, van den Beemd MW, van Lochem EG, van Wering ER, Baars E, Porwit-MacDonald A, Bjorklund E, Gaipa G, Biondi A, Orfao A, Janossy G, van Dongen JJ, San Miguel JF. Flow cytometric analysis of normal B cell differentiation: a frame of reference for the detection of minimal residual disease in precursor-B-ALL. *Leukemia* 1999; 13: 419-427.
18. Ciudad J, Orfao A, Vidriales B, Macedo A, Martinez A, Gonzalez M, Lopez-Berges MC, Valverde B, San Miguel JF. Immunophenotypic analysis of CD19+ precursors in normal human adult bone marrow: implications for minimal residual disease detection. *Haematologica* 1998; 83: 1069-1075.
19. Farahat N, Morilla A, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Pinkerton CR, Treleaven JG, Matutes E, Powles RL, Catovsky D. Detection of minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukaemia by quantitative flow cytometry. *Bri J Haematol* 1998;101:158-164.
20. Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, Boyett JM, Behm FG, Raimondi SC, Sandlund JT, Rivera GK, Rubnitz JE, Ribeiro RC, Pui CH, Campana D. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000;96:2691- 2696.
21. San Miguel JF, Vidriales MB, Lopez-Berges C, Diaz-Mediavilla J, Gutierrez N, Canizo C, Ramos F, Calmuntia MJ, Perez JJ, Gonzalez M, Orfao A. Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood* 2001;98:1746-1751.
22. Dworzak MN, Froschl G, Printz D, Mann G, Potschger U, Muhlegger N, Fritsch G, Gadner H. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;99:1-952-1958.
23. Neale GA, Coustan-Smith E, Pan Q, Chen X, Gruhn B, Stow P, Behm FG, Pui CH, Campana D. Tandem application of flow cytometry and polymerase chain reaction for comprehensive detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1999;13:1221-1226.
24. Campana D&Coustan Smith E. Minimal Residual Disease Studies by Flow Cytometry in Acute Leukemia. *Acta Haematol*. 2004; 112: 8-15.
25. Oelschlagel U, Nowak R, Schaub A, Koppel C, Herbst R, Mohr B, Löffler C, Range U, Gunther H, Assmann M, Siegert E, Wendt E, Huhn R, Brautigam E, Ehninger G: Shift of aberrant antigen expression at relapse or at treatment failure in acute leukemia. *Cytometry* 2000;42:247-253.



26. Baer MR, Stewart CC, Dodge RK, Leget G, Sule N, Mrozek K, Schiffer CA, Powell BL, Kolitz JE, Moore JO, Stone RM, Davey FR, Carroll AJ, Larson RA, Bloomfield CD: High frequency of immunophenotype changes in acute myeloid leukemia at relapse: Implications for residual disease detection (Cancer and Leukemia Group B Study 8361). *Blood* 2001; 97:3574-3580.
27. Terstappen LW, Safford M, Konemann S, Loken MR, Zurlutter K, Buchner T, Hiddemann W, Wormann B. Flow cytometric characterization of acute myeloid leukemia. Part II. Phenotypic heterogeneity at diagnosis. *Leukemia* 1992; 6: 70-80.
28. Coustan-Smith E, Behm FG, Sanchez J, Boyett JM, Hancock ML, Raimondi SC, Rubnitz JE, Rivera GK, Sandlund JT, Pui CH, Campana D. Immunological detection of minimal residual disease in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 1998;351:550-554.
29. Macedo A, Orfao A, Gonzalez M et al. Immunological detection of blast cell subpopulations in acute myeloblastic leukemia at diagnosis: implications for minimal residual disease studies. *Leukemia* 1995; 9: 993-998.
30. Coustan-Smith E, Behm FG, Hurwitz CA, Rivera GK, Campana D. N-CAM (CD56) expression by CD34+ malignant myeloblasts has implications for minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1993; 7: 853-858.
31. Macedo A, Orfao A, Vidriales MB, Lopez-Berges MC, Valverde B, Gonzalez M, Caballero MD, Ramos F, Martinez M, Fernandez-Calvo J, et al. Characterization of aberrant phenotypes in acute myeloblastic leukemia. *Ann Hematol* 1995; 70: 189-194.
32. Weir EG, Cowan K, LeBeau P, Borowitz MJ. A limited antibody panel can distinguish B-precursor acute lymphoblastic leukemia from normal B precursors with four color flow cytometry: implications for residual disease detection. *Leukemia* 1999; 13: 558-567.
33. Lamkin T, Brooks J, Annett G, Roberts W, Weinberg K. Immunophenotypic differences between putative hematopoietic stem cells and childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia cells. *Leukemia* 1994; 8: 1871-1878.
34. Reading CL, Estey EH, Huh YO, Claxton DF, Sanchez G, Terstappen LW, O'Brien MC, Baron S, Deisseroth AB. Expression of unusual immunophenotype combinations in acute myelogenous leukemia. *Blood* 1993; 81: 3083-3090.
35. Kern W, Schoch C, Haferlach T, Schnittger S. Monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia *Crit Rev Oncol&Hematol* 2005; 56:283-309
36. Bradstock KF, Janossy G, Pizzolo G, Hoffbrand AV, McMichael A, Pilch JR, Milstein C, Beverley P, Bolland FJ. Subpopulations of normal and leukemic human thymocytes: an analysis with the use of monoclonal antibodies. *Journal of the National Cancer Institute* 1980; 65: 33-42.
37. Bradstock KF, Janossy G, Tidman N et al. Immunological monitoring of residual disease in treated thymic acute lymphoblastic leukaemia. *Leuk Res* 1981; 5: 301-309.
38. Vidriales MB, San Miguel JF, Orfao A, Coustan-Smith E, Campana D. Minimal residual disease monitoring by flow cytometry. *Best Practice&Research Clin Hematol.* 2003; 16: 599-612.
39. Porwit-MacDonald A, Bjorklund E, Lucio P, van Lochem EG, Mazur J, Parreira A, van den Beemd MW, Van Wering ER, Baars E, Gaipa G, Biondi A, Ciudad J, van Dongen JJ, San Miguel JF, Orfao A: BIOMED-1 concerted action report: Flow cytometric characterization of CD7+ cell subsets in normal bone marrow as a basis for the diagnosis and follow-up of T cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL). *Leukemia* 2000;14:816-825.
40. Ciudad J, San Miguel JF, Lopez-Berges MC, Vidriales B, Valverde B, Ocqueteau M, Mateos G, Caballero MD, Hernandez J, Moro MJ, Mateos MV, Orfao A: Prognostic value of immunophenotypic detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1998;16:3774-3781.
41. Dworzak MN, Fritsch G, Fleischer C, Printz D, Froschl G, Buchinger P, Mann G, Gadner H. Comparative phenotype mapping of normal vs. malignant pediatric B-lymphopoiesis unveils leukemia-associated aberrations. *Exp Hematol* 1998;26:305-313.
42. Hurwitz CA, Loken MR, Graham ML, Karp JE, Borowitz MJ, Pullen DJ, Civin CI. Asynchronous antigen expression in B lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1988;72:299-307.
43. Wells DA, Hall MC, Shulman HM, Loken MR: Occult B cell malignancies can be detected by three-color flow cytometry in patients with cytopenias. *Leukemia* 1998;12:2015-2023.
44. Campana D, Coustan-Smith E: Advances in the immunological monitoring of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2002;15:1-19.
45. Lavabre-Bertrand T, Janossy G, Ivory K, Peters R, Secker-Walker L, Porwit-MacDonald A: Leukemia-associated changes identified by quantitative flow cytometry. I. CD10 expression. *Cytometry* 1994;18:209-217.
46. Yeoh EJ, Ross ME, Shurtleff SA, Williams WK, Patel D, Behm FG, Raimondi SC, Relling MV, Patel A, Cheng C, Campana D, Wilkins D, Zhou X, Li J, Pui CH, Evans WE, Wong L, Downing JR. Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell* 2002;1:133-143.
47. Chen JS, Coustan-Smith E, Suzuki T, Neale GA, Mihara K, Pui CH, Campana D. Identification of novel markers for monitoring minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2001;97:2115-2120.
48. De Waele M, Renmans W, Jochmans K, Schots R, Lacor P, Trullemans F, Otten J, Balduck N, Vander GK, Van Camp B, van Schie RC, Van Riet I. Different expression of adhesion molecules on CD34+ cells in AML and B-lineage ALL and their normal bone marrow counterparts. *Eur J Haematol* 1999;63:192-201.
49. Coustan-Smith E, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Razzouk BI, Pui CH, Pounds S, Andreansky M, Behm FG, Raimondi SC, Shurtleff SA, Downing JR, Campana D. Clinical significance of residual disease during treatment in childhood acute myeloid leukemia. *Bri J Haematol* 2003; 123:243-252.
50. Venditti A, Buccisano F, Del Poeta G, Maurillo L, Tamburini A, Cox C, Battaglia A, Catalano G, Del Moro B, Cudillo L, Postorino M, Masi M, Amadori S: Level of minimal residual disease after consolidation therapy predicts outcome in acute myeloid leukemia. *Blood* 2000; 96:3948-3952.





51. Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, Razzouk BI, Ribeiro RC, Rivera GK, Rubnitz JE, Sandlund JT, Pui CH, Campana D. Use of peripheral blood instead of bone marrow to monitor residual disease in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;100: 2399-2402
52. Krampera M, Vitale A, Vincenzi C, Perbellini O, Guarini A, Annino L, Todeschini G, Camera A, Fabbiano F, Fioritoni G, Nobile F, Szydlo R, Mandelli F, Foa R, Pizzolo G. Outcome prediction by immunophenotypic minimal residual disease detection in adult T-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Bri J Haematol* 2003; 120: 74-79.
53. Vidriales MB, Perez JJ, Lopez-Berges MC, Gutierrez N, Ciudad J, Lucio P, Vazquez L, Garcia-Sanz R, del Canizo MC, Fernandez-Calvo J, Ramos F, Rodriguez MJ, Calmuntia MJ, Porwith A, Orfao A, San-Miguel JF. Minimal residual disease (MRD) in adolescent (>14 years) and adult acute lymphoblastic leukaemias (ALL): early immunophenotypical evaluation has high clinical value. *Blood* 2003; 101: 4695-4700.
54. Sánchez J, Serrano J, Gomez P, Martinez F, Martin C, Madero L, Herrera C, Garcia M, Casano J, Torres A. Clinical value of immunological monitoring of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia after allogeneic transplantation. *Bri J Haematol* 2002; 116: 686-694.
55. Drach J, Drach D, Glassl H et al. Flow cytometric determination of atypical antigen expression in acute leukemia for the study of minimal residual disease. *Cytometry* 1992; 13: 893-901.
56. Wormann B, Griesinger F & Innig G. Detection of residual leukemic cells in patients with acute myeloid leukemia based on cell surface antigen expression. *Sangre* 1992; 37(supplement 3): 133-135.
57. San Miguel JF, Martinez A, Macedo A, Vidriales MB, López-Berges C, González M, Caballero D, Garcý-Marcos MA, Ramos F, Fernández-Calvo J, Calmuntia MJ, Diaz-Mediavilla J, Orfao A. Immunophenotyping investigation of minimal residual disease is a useful approach for predicting relapse in acute myeloid leukemia patients. *Blood* 1997;90:2465-70.
58. Munóz L, Nomdedeu JF, Villamor N, Guardia R, Colomer D, Ribera JM, Torres JP, Berlanga JJ, Fernandez C, Llorente A, Queipo de Llano MP, Sanchez JM, Brunet S, Sierra J; Spanish CETLAM Group. Acute myeloid leukemia with MLL rearrangements: clinicobiological features, prognostic impact and value of flow cytometry in the detection of residual leukemic cells. *Leukemia* 2003; 17: 76-82.
59. Kern W, Haferlach T, Schoch C, Löffler H, Gassmann W, Heinicke A, Sauerland MC, Berdel W, Büchner T, Hiddemann W. Early blast clearance by remission induction therapy is a major independent prognostic factor for both achievement of complete remission and long-term outcome in acute myeloid leukemia: data from the German AML Cooperative Group (AMLCG) 1992 Trial. *Blood* 2003;101:64-70.
60. Kern W, Voskova D, Schnittger S, Schoch C, Hiddemann W, Haferlach T. Determination of relapse risk based on assessment of minimal residual disease during complete remission by multiparameter flow cytometry in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2003;102:100a.
61. Kern W, Voskova D, Schoch C, Schnittger S, Hiddemann W, Haferlach T. Prognostic impact of early response to induction therapy as assessed by multiparameter flow cytometry in acute myeloid leukemia. *Blood* 2003;102:876a.
62. Reichle A, Rothe G, Krause S, Zaiss M, Ullrich H, Schmitz G, Andreesen R. Transplant characteristics: Minimal residual disease and impaired megakaryocytic colony growth as sensitive parameters for predicting relapse in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1999;13:1227-1234.
63. van der Velden VHJ, Hochhaus A, Cazzaniga G, Szczepanski T, Gabert J, van Dongen JJM. Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspect. *Leukemia* 2003;17: 1013-1034.
64. Szczepanski T, Beishuizen A, Pongers-Willems MJ, Hahlen K, Van Wering ER, Wijkhuijs AJ, Tibbe GJ, De Bruijn MA. and van Dongen JJ. Cross-lineage T cell receptor gene rearrangements occur in more than ninety percent of childhood precursor-B acute lymphoblastic leukemias: alternative PCR targets for detection of minimal residual disease. *Leukemia* 1999; 13: 196-205.
65. Szczepanski T, Willems MJ, Brinkhof B, van Wering ER, van der Burg M, van Dongen JJ. Comparative analysis of Ig and TCR gene rearrangements at diagnosis and at relapse of childhood precursor-B-ALL provides improved strategies for selection of stable PCR targets for monitoring of minimal residual disease. *Blood* 2002; 99: 2315-2323;
66. Szczepanski T, Flohr T, van der Velden VH, Bartram CR, van Dongen JJ. Molecular monitoring of residual disease using antigen receptor genes in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2002; 15: 37-57.
67. Cave H, van der Werff ten Bosch J, Suciu S, Guidal C, Waterkeyn C, Otten J, Bakkus M, Thielemans K, Grandchamp B, Vilmer E. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *European Organization for Research and Treatment of Cancer-Childhood Leukemia Cooperative Group*. *N Engl J Med* 1998, 339:591-598.
68. van Dongen JJ, Seriu T, Panzer-Grumayer ER, Biondi A, Pongers-Willems MJ, Corral L, Stolz F, Schrappe M, Masera G, Kamps WA, Gardner H, van Wering ER, Ludwig WD, Basso G, de Bruijn MA, Cazzaniga G, Hettinger K, van der Does-van den Berg A, Hop WC, Riehm H, Bartram CR. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Lancet* 1998, 352:1731-738.
69. Brüggemann M, Raff T, Flohr T, Gökbuket N, Nakao M, Droese J, Lüschen S, Pott C, Ritgen M, Scheuring U, Horst HA, Thiel E, Hoelzer D, Bartram CR and Kneba M. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2006; 107: 1116-1123.
70. Mortuza FY, Papaioannou M, Moreira IM, Coyle LA, Gameiro P, Gandini D, Prentice HG, Goldstone A, Hoffbrand AV, and Foroni L. Minimal Residual Disease Tests Provide an Independent Predictor of Clinical Outcome in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* 20:1094-1104.
71. Mehmet Uzunel, Jonas Mattsson, Marie Jaksch, Mats Remberger, and Olle Ringdén. The significance of graft-versus-host disease and pretransplantation minimal residual disease sta-



- tus to outcome after allogeneic stem cell transplantation in patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2001;98: 1982-1984.
72. Gokbuget N, Raff R, Brugge-Mann M, Flohr T, Scheuring U, Pfeifer H, Bartram CR, Kneba M, Hoelzer D. Risk/MRD adapted GMALL trials in adult ALL. *Ann Hematol*. 2004; 83 (Suppl 1): S129-31.
  73. van Dongen JJ, Macintyre EA, Gabert JA, Delabesse E, Rossi V, Saglio G, Gottardi E, Rambaldi A, Dotti G, Griesinger F, Parreira A, Gameiro P, Diaz MG, 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. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. *Leukemia* 1999; 13: 1901-28
  74. Asnafi V, Radford-Weiss I, Dastugue N, Bayle C, Leboeuf D, Charrin C, Garand R, Lafage-Pochitaloff M, Delabesse E, Buzyn A, Troussard X, Macintyre E. CALM-AF 10 is a common fusion transcript in T-ALL and is specific to the TCRgammadelta lineage. *Blood* 2003; 102:1000-1006.
  75. Grimwade D, Walker H, Harrison G, Oliver F, Chatters S, Harrison CJ, Wheatley K, Burnett AK, Goldstone AH; Medical Research Council Adult Leukemia Working Party. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood* 2001;98:1312-20.
  76. Mrozek K, Heinonen K, Bloomfield CD. Clinical importance of cytogenetics in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001;14:19-47.
  77. Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, Pettenati MJ, Patil SR, Rao KW, Watson MS, Koduru PR, Moore JO, Stone RM, Mayer RJ, Feldman EJ, Davey FR, Schiffer CA, Larson RA, Bloomfield CD; Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood* 2002;100:4325-36.
  78. Plantier I, Lai JL, Wattel E, Bauters F, Fenaux P. Inv(16) may be one of the only 'favorable' factors in acute myeloid leukemia: a report on 19 cases with prolonged follow-up. *Leuk Res* 1994;18:885-8.
  79. Larson RA, Williams SF, Le Beau MM, Bitter MA, Vardiman JW, Rowley JD. Acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils and inv(16) or t(16;16) has a favorable prognosis. *Blood* 1986;68:1242-9.
  80. Martinelli G, Ottaviani E, Testoni N, Visani G, Terragna C, Amabile M, Trabacchi E, Montefusco V, Tura S. Molecular remission in PCR-positive acute myeloid leukemia patients with inv(16): role of bone marrow transplantation procedures. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:694-7.
  81. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, Bi W, Grimwade D, Pallisgaard N, Barbany G, Cazzaniga G, Cayuela JM, Cave H, Pane F, Aerts JL, De Micheli D, Thirion X, Pradel V, Gonzalez M, Viemann S, Malec M, Saglio G, van Dongen JJ. Standardization and quality control studies of "real-time" quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) of fusion gene transcripts for minimal residual disease detection in leukemia -A Europe Against Cancer Program. *Leukemia* 2003; 17: 2318-57
  82. Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VH, Bi W, Dee R, van der Schoot E, Delabesse E, Macintyre E, Gottardi E, Saglio G, Watzinger F, Lion T, van Dongen JJ, Hokland P, Gabert J. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) - a Europe against cancer program. *Leukemia* 2003; 17: 2474-86.
  83. Bose S, Deininger M, Gora-Tybor J, Goldman JM, Melo JV. The presence of typical and atypical BCR-ABL fusion genes in leukocytes of normal individuals: biologic significance and implications for the assessment of minimal residual disease. *Blood* 1998; 92: 3362-7.
  84. Biernaux C, Loos M, Sels A, Huez G, Stryckmans P. Detection of major bcr-abl gene expression at a very low level in blood cells of some healthy individuals. *Blood* 1995; 86: 3118-22; Kim-Rouille MH, MacGregor A, Wiedemann LM, Greaves MF, Navarrete C. MLL-AF4 gene fusions in normal newborns. *Blood* 1999; 93: 1107-8
  85. Quina AS, Gameiro P, Sa da Costa M, Telhada M, Parreira L. PML-RARA fusion transcripts in irradiated and normal hematopoietic cells. *Genes Chromosomes Cancer* 2000; 29: 266-75.
  86. Jurlander J, Caligiuri MA, Ruutu T, Baer MR, Strout MP, Oberkircher AR, Hoffmann L, Ball ED, Frei-Lahr DA, Christiansen NP, Block AM, Knuutila S, Herzig GP, Bloomfield CD. Persistence of the AML1/ETO fusion transcript in patients treated with allogeneic bone marrow transplantation for t(8;21) leukemia. *Blood* 1996; 88: 2183-91.
  87. Nucifora G, Larson RA, Rowley JD. Persistence of the 8;21 translocation in patients with acute myeloid leukemia type M2 in long-term remission. *Blood* 1993; 82: 712-5.
  88. Trka J, Zuna J, Hrusak O, Michalova K, Muzikova K, Kalinova M, Horak J, Stary J. No evidence for MLL/AF4 expression in normal cord blood samples. *Blood* 1999; 93:1108-1110.
  89. Kwong YL, Chan V, Wong KF, Chan TK. Use of the polymerase chain reaction in the detection of AML1/ETO fusion transcript in t(8;21). *Cancer* 1995; 75: 821-5.
  90. Satake N, Maseki N, Kozu T, Sakashita A, Kobayashi H, Sakurai M, Ohki M, Kaneko Y. Disappearance of AML1-MTG8(ETO) fusion transcript in acute myeloid leukaemia patients with t(8;21) in long-term remission. *Bri J Haematol* 1995; 91: 892-8.
  91. van der Velden VH, Boeckx N, Gonzalez M, Malec M, Barbany G, Lion T, Gottardi E, Pallisgaard N, Beillard E, Hop WC, Hoogeveen PG, Gabert J, van Dongen JJ; Europe Against Cancer Program. Differential stability of control gene and fusion gene transcripts over time may hamper accurate quantification of minimal residual disease-a study within the Europe Against Cancer Program. *Leukemia* 2004; 18: 884-6.
  92. Sanz MA, Martin G, Rayon C, Esteve J, Gonzalez M, Diaz-Medavilla J, Bolufer P, Barragan E, Terol MJ, Gonzalez JD, Colomer D, Chillon C, Rivas C, Gomez T, Ribera JM, Bornstein R, Roman



- J, Calasanz MJ, Arias J, Alvarez C, Ramos F, Deben G. A modified AIDA protocol with anthracycline-based consolidation results in high antileukemic efficacy and reduced toxicity in newly diagnosed PML/RARalpha positive acute promyelocytic leukemia. PETHEMA group. *Blood* 1999;94:3015-21.
93. Avvisati G, Lo Coco F, Diverio D, Falda M, Ferrara F, Lazzarino M, Russo D, Petti MC, Mandelli F. AIDA (all-trans retinoic acid + idarubicin) in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: a Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) pilot study. *Blood* 1996;88:1390-8.
94. Perego RA, Marengo P, Bianchi C, Cairoli R, Urbano M, Nosari AM, Muti G, Morra E, Del Monte U. PML/RAR alpha transcripts monitored by polymerase chain reaction in acute promyelocytic leukemia during complete remission, relapse and after bone marrow transplantation. *Leukemia* 1996;10:207-12.
95. Koller E, Karlic H, Krieger O, Mistrik M, Michlmayr G, Gadner H, Lutz D, Heinz R, Pittermann E. Early detection of minimal residual disease by reverse transcriptase polymerase chain reaction predicts relapse in acute promyelocytic leukemia. *Ann Hematol* 1995;70:75-8.
96. Korninger L, Knobl P, Laczika K, Mustafa S, Quehenberger P, Schwarzingler I, Lechner K, Jaeger U, Mannhalter C. PML-RAR alpha PCR positivity in the bone marrow of patients with APL precedes haematological relapse by 2-3 months. *Bri J Haematol* 1994;88:427-3.
97. Laczika K, Mitterbauer G, Korninger L, Knobl P, Schwarzingler I, Kapiotis S, Haas OA, Kyrle PA, Pont J, Oehler L, et al. Rapid achievement of PML-RAR alpha polymerase chain reaction (PCR)-negativity by combined treatment with all-trans-retinoic acid and chemotherapy in acute promyelocytic leukemia: a pilot study. *Leukemia* 1994;8:1-5.
98. Diverio D, Pandolfi PP, Biondi A, Avvisati G, Petti MC, Mandelli F, Pelicci G, Lo Coco F. Absence of reverse transcription-polymerase chain reaction detectable residual disease in patients with acute promyelocytic leukemia in long-term remission. *Blood* 1993;82:3556-9.
99. Huang W, Sun GL, Li XS, Cao Q, Lu Y, Jang GS, Zhang FQ, Chai JR, Wang ZY, Waxman S, et al. Acute promyelocytic leukemia: clinical relevance of two major PML-RAR alpha isoforms and detection of minimal residual disease by retrotranscriptase/polymerase chain reaction to predict relapse. *Blood* 1993;82:1264-9.
100. Miller Jr WH, Levine K, DeBlasio A, Frankel SR, Dmitrovsky E, Warrell Jr RP. Detection of minimal residual disease in acute promyelocytic leukemia by a reverse transcription polymerase chain reaction assay for the PML/RAR-alpha fusion mRNA. *Blood* 1993;82:1689-94.
101. Jurcic JG, Nimer SD, Scheinberg DA, DeBlasio T, Warrell Jr RP, Miller Jr WH. Prognostic significance of minimal residual disease detection and PML/RAR-alpha isoform type: long-term follow-up in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 2001;98:2:651-6.
102. Burnett AK, Grimwade D, Solomon E, Wheatley K, Goldstone AH. Presenting white blood cell count and kinetics of molecular remission predict prognosis in acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid: result of the Randomized MRC Trial. *Blood* 1999;93:4131-43.
103. Ikeda K, Sasaki K, Tasaka T, et al. PML-RAR alpha fusion transcripts by RNA PCR in acute promyelocytic leukemia in remission and its correlation with clinical outcome. *Int J Hematol* 1994;60:197-205.
104. Lengfelder E, Reichert A, Schoch C, Haase D, Haferlach T, Löffler H, Staib P, Heyll A, Seifarth W, Saussele S, Fonatsch C, Gassmann W, Ludwig WD, Hochhaus A, Beelen D, Aul C, Sauerland MC, Heinecke A, Hehlmann R, Wormann B, Hiddemann W, Buchner T. Double induction strategy including high dose cytarabine in combination with alltrans retinoic acid: effects in patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. German AML Cooperative Group. *Leukemia* 2000;14:13:62-70.
105. Tallman MS, Nabhan C, Feusner JH, Rowe JM. Acute promyelocytic leukemia: evolving therapeutic strategies. *Blood* 2002;99:759-67.
106. Diverio D, Rossi V, Avvisati G, De Santis S, Pistilli A, Pane F, Saggio G, Martinelli G, Petti MC, Santoro A, Pelicci PG, Mandelli F, Biondi A, Lo Coco F. Early detection of relapse by prospective reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of the PML/RARalpha fusion genes in patients with acute promyelocytic leukemia enrolled in the GIMEMA-AIEOP Multicenter "AIDA" Trial. GIMEMA-AIEOP Multicenter "AIDA" Trial. *Blood* 1998;92:784-9.
107. Inokuchi K, Iwakiri R, Futaki M, Hanawa H, Tanosaki S, Nomura T, Dan K. Minimal residual disease in acute myelogenous leukemia with PML/RAR alpha or AML1/ETO mRNA and phenotypic analysis of possible T and natural killer cells in bone marrow. *Leuk Lymphoma* 1998;29:553-61.
108. Chang KS, Fan YH, Stass SA, Estey EH, Wang G, Trujillo JM, Erickson P, Drabkin H. Expression of AML1-ETO fusion transcripts and detection of minimal residual disease in t(8;21)-positive acute myeloid leukemia. *Oncogene* 1993;8:983-8; Nucifora G, Larson RA, Rowley JD. Persistence of the 8;21 translocation in patients with acute myeloid leukemia type M2 in longterm remission. *Blood* 1993;82:712-5.
109. Marcucci G, Caligiuri MA, Bloomfield CD. Defining the "absence" of the CBFbeta/MYH11 fusion transcript in patients with acute myeloid leukemia and inversion of chromosome 16 to predict long-term complete remission: a call for definitions. *Blood* 1997;90:5022-4.
110. Tobal K, Newton J, Macheta M, Chang J, Morgenstern G, Evans PA, Morgan G, Lucas GS, Liu Yin JA. Molecular quantitation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia with t(8;21) can identify patients in durable remission and predict clinical relapse. *Blood* 2000;95:815-9.
111. Tobal K, Johnson PR, Saunders MJ, Harrison CJ, Liu Yin JA. Detection of CBFbeta/MYH11 transcripts in patients with inversion and other abnormalities of chromosome 16 at presentation and remission. *Bri J Haematol* 1995;91:104-8.
112. Nucifora G, Larson RA, Rowley JD. Persistence of the 8;21 translocation in patients with acute myeloid leukemia type M2 in longterm remission. *Blood* 1993;82:712-5.
113. Verma A & Stock W. Management of adult acute lymphoblastic leukemia: moving toward a risk-adapted approach. *Current Opinion Oncology* 2001; 13: 14-20.



- 114.** Bassan R, Gatta G, Tondini C, Willemze R. Adult acute lymphoblastic leukaemia Crit Rev Oncol&Hematol. 2004; 50:223-261.
- 115.** Scholl C, Breitinger H, Schlenk RF, Dohner H, Frohling S, Dohner K. Development of a real-time RT-PCR assay for the quantification of the most frequent MLL/AF9 fusion types resulting from translocation t(9;11)(p22;q23) in acute myeloid leukemia. Genes Chromosomes Cancer 2003;38:274-80.
- 116.** Weisser M, Kern W, Schoch C, Hiddemann W, Haferlach T, Schnittger S. Risk assessment by monitoring expression levels of partial tandem duplications in the MLL gene in acute myeloid leukaemia. Haematologica 2005;90:881-9.
- 117.** Tobal K, Newton J, Macheta M, Chang J, Morgenstern G, Evans PA, Morgan G, Lucas GS, Liu Yin JA. Molecular quantitation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia with t(8;21) can identify patients in durable remission and predict clinical relapse. Blood 2000;95:815-9.
- 118.** Evans PA, Short MA, Jack AS, Norfolk DR, Child JA, Shiach CR, Davies F, Tobal K, Liu Yin JA, Morgan GJ. Detection and quantitation of the CBFbeta/MYH11 transcripts associated with the inv(16) in presentation and follow-up samples from patients with AML; Leukemia 1997;11:364-9.
- 119.** Laczika K, Novak M, Hilgarth B, Mitterbauer M, Mitterbauer G, Scheidel-Petrovic A, Scholten C, Thalhammer-Scherrer R, Brugger S, Keil F, Schwarzinger I, Haas OA, Lechner K, Jaeger U. Competitive CBFbeta/MYH11 reverse-transcriptase polymerase chain reaction for quantitative assessment of minimal residual disease during postremission therapy in acute myeloid leukemia with inversion(16): a pilot study. J Clin Oncol 1998;16:1519-25.
- 120.** Marcucci G, Livak KJ, Bi W, Strout MP, Bloomfield CD, Caligiuri MA. Detection of minimal residual disease in patients with AML1/ETO-associated acute myeloid leukemia using a novel quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assay. Leukemia 1998;12:1482-9.
- 121.** Schnittger S, Weisser M, Schoch C, Hiddemann W, Haferlach T, Kern W. New score predicting for prognosis in PMLRARA-, AML1-ETO-, or CBFbeta-MYH11-positive acute myeloid leukemia based on quantification of fusion transcripts. Blood 2003;102:2746-55.
- 122.** Buonamici S, Ottaviani E, Testoni N, et al. Real-time quantitation of minimal residual disease in inv(16)-positive acute myeloid leukemia may indicate risk for clinical relapse and may identify patients in a curable state. Blood 2002;99:443-9.
- 123.** Guerrasio A, Pilatino C, De Micheli D, Cilloni D, Serra A, Gottardi E, Parziale A, Marmont F, Diverio D, Divona M, Lo Coco F, Saglio G. Assessment of minimal residual disease (MRD) in CBFbeta/MYH11-positive acute myeloid leukemias by qualitative and quantitative RT-PCR amplification of fusion transcripts. Leukemia 2002;16:1176-81
- 124.** Gallagher RE, Yeap BY, Bi W, Livak KJ, Beaubier N, Rao S, Bloomfield CD, Appelbaum FR, Tallman MS, Slack JL, Willman CL. Quantitative real-time RT-PCR analysis of PML-RAR{alpha} mRNA in acute promyelocytic leukemia: assessment of prognostic significance in adult patients from intergroup protocol 0129. Blood 2003;101:2521-8.
- 125.** Krauter J, Gorlich K, Ottmann O, Lubbert M, Dohner H, Heit W, Kanz L, Ganser A, Heil G. Prognostic value of minimal residual disease quantification by real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction in patients with core binding factor leukemias. J Clin Oncol 2003;21:4413-22;
- 126.** Grimwade D. The significance of minimal residual disease in patients with t(15;17). Best Pract Res Clin Haematol 2002;15:137-58.
- 127.** Krauter J, Wattjes MP, Nagel S, Heidenreich O, Krug U, Kafert S, Bunjes D, Bergmann L, Ganser A, Heil G. Real-time RT-PCR for the detection and quantification of AML1/MTG8 fusion transcripts in t(8;21)-positive AML patients. Bri J Haematol 1999;107:80-5.
- 128.** Krauter J, Hoellge W, Wattjes MP, Nagel S, Heidenreich O, Bunjes D, Ganser A, Heil G. Detection and quantification of CBFbeta/MYH11 fusion transcripts in patients with inv(16)-positive acute myeloblastic leukemia by real-time RT-PCR. Genes Chromosomes Cancer 2001;30:342-8
- 129.** Marcucci G, Caligiuri MA, Dohner H, Archer KJ, Schlenk RF, Dohner K, Maghraby EA, Bloomfield CD. Quantification of CBFbeta/MYH11 fusion transcript by real time RT-PCR in patients with INV(16) acute myeloid leukemia. Leukemia 2001;15:1072-80.
- 130.** Mattson C, Uzunel M, Tammik I, Aschan J, Ringden O. Leukemia lineage-specific chimerism analysis is a sensitive predictor of relapse in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after allogeneic stem cell transplantation. Leukemia 2001;15:1976-1985.
- 131.** Paietta E. Assessing minimal residual disease (MRD) in leukemia: a changing definition and concept? Bone Marrow Transplant 2002; 29:459-465.



# AKUT MİYELOİD LÖSEMİDE STANDART TEDAVİ

Dr.Tanju Atamer

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

**A**kut miyeloid lösemilerde (AML) lösemik öncül hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalmaları yanı sıra olgunlaşma ve farklılaşma özelliklerini kaybetmeleri söz konusudur. Habis karakterli bu hücreler genellikle blastlar ya da ona yakın düzeyde (*promiyelosit, promonosit gibi*) hücrelerdir. Bu hücreler kemik iliğini tamamen infiltre ederek hematopoiezin yetersizliğine yol açarlar. Diğer taraftan çoğalan lösemi hücreleri kanda da artma gösterirler ve seyrek de olsa ekstramedüller dokuları ve merkezi sinir sistemini infiltre edebilirler. Vücuttaki toplam sayısı artmış olan bu lösemi hücre kitlesi ayrıca metabolik yönden olumsuz etkilere de neden olabilir. Akut lösemili hastalarda kemik iliğindeki monoklonal lösemik hücre kitlesinin yanı sıra azalmış sayıda normal hematopoietik kök hücre kitlesi de vardır. Sitotoksik ilaç tedavisinin ana ilkesi lösemik hücre kitlesini kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisinde görülemeyecek derecede şiddetle baskılamak ve normal hematopoiezin yenilenmesini sağlamaktır. Bu tedavi hastalıksız sağkalımın ya da şifaya kavuşmanın ilk ve en önemli basamağıdır.

Akut lösemi hastanın vücudunda bu olumsuz biyolojik etkilerinin yanı sıra, hastada ve yakın çevresinde yine olumsuz psikolojik etkilere de yol açar. Bütün bunlar göz önünde tutulacak olursa akut miyeloid lösemili hastalarda tedavi çok yönlü olarak ele alınmalıdır. Burada hastayı bilgilendirme ve tedavi için olurlu almak, tedavinin tasarımı, uygulama planı, komplikasyonların önlenmesi ya da tedavisi ve gereken konsültasyonların belirlenmesi hem iç hastalıkları ya da pediatriinin, hem de hematoloji uzmanının bilgi ve deneyimini gerektirir. Hastanın ve yakınlarının hastalık, tedavisi, yan etkiler, ortaya çıkabilecek komplikasyonlar hakkında bilgilendirilmesi mutlaka gereklidir ve bu işlem hastanın tedaviye uyumunu da kolaylaştırır. Ayrıca imzalanmış onayının alınarak saklanması hem etik yönden hem de hukuksal yönden önemli olduğu unutulmamalıdır. AML tanısı konmuş çok ileri yaşta ve diğer bazı hastalıkları olan hastalar, ve kan almayı reddeden hastalarda standart sitotoksik ilaç tedavisi yapılması olası görülmeyebilir. Bu hastalarda destekleyici tedavi uygulanabilir. Sadece ileri yaş tedavi kararını olumsuz olarak etkilemez.

Akut miyeloid lösemisinin tedavisine karar vermeden önce şu basamakların bilinmesi gereklidir:

•AML tanısı mutlaka çevre kanı ve kemik iliğinin mikroskopik değerlendirilmesi ile koyulmalıdır. Bundan sonra immunofenotipleme, sitogenetik ya da moleküler biyolojik incelemeler için örnekler alınmalıdır. Bu ikinci incelemeler tanıya ve prognozu belirlemede yardımcı incelemelerdir. Hastalarda performans durumu ve risk değerlendirmeleri en başta ya-

pılmalı, tedavi buna göre tasarlanmalıdır. Tablo 1'de risk değerlendirilmesi özetlenmiştir.

## **Tablo 1.** AML'li hastalarda risk değerlendirmesi

Yaş (>60 yaş olumsuz etki)  
Kötü performans durumu (tedaviden önce)  
Başlangıç lökosit sayısı (> 20,000/mm<sup>3</sup> ise olumsuz etki) veya artmış LDH değeri  
AML alt tipi  
Karyotip verileri (iyi prognozlu, kötü prognozlu ve standart risk taşıyan grupların belirlenmesi)  
Diğer tıbbi özellikler  
Mantar enfeksiyonu kuşkusunda: toraks ve karın BT incelemeleri  
Hematolojik ve biyokimyasal testler yanısıra pıhtılaşma testleri de yapılmalı (santral kateter takmadan önce yapılmalıdır)  
Kalb hastalığı öyküsü varsa ekokardiyografi \_\_\_\_\_

•AML tedavisi multidisipliner yaklaşıma sahip merkezlerde ve klinik çalışmalar kapsamında yapılmalıdır. Bu merkezde yeterli alt yapı olmalı bulunmalı, Kemik iliği transplantasyon ünitesi ve enfeksiyon hastalıkları bölümleriyle sıkı işbirliği yapabilmelidir. Tedavi planı tablo 2'de özetlenmiştir.

•AML'nin yeni ortaya çıkmış (*de novo*) ya da bir başka habis hastalığın ilerlemesinden ya da tedavisinden sonra ortaya çıkmış (*sekonder*) olup olmadığı araştırılmalıdır. Sekonder AML örnekleri olarak miyelodisplastik sendromdan transformasyon, kronik miyeloproliferatif bir hastalıktan transformasyon, ya da hematolojik olmayan habis bir hastalığın tedavisinden sonra ortaya çıkmış AML sayılabilir. Sekonder AML genellikle yaşlı hastalarda daha sık görülür, tedaviye kötü yanıt vermesi ve prognozunun kötü olması nedeniyle yeni ortaya çıkmış AML'den farklılıklar gösterir.

•AML'nin bir özel tipi olan akut promiyelositik lösemi tedavisinde bir retinoik asid türevi olan ATRA (all trans retinoik asid)

## **Tablo 2.** AML'de tedavi planı

Tedavi küratif amaçla yapılmalı  
İndüksiyon ve konsolidasyon olmalı  
Allojeneik KİT adayı olan hastalar indüksiyonun erken döneminde saptanmalı  
Küratif tedaviye uygun olmayan hastalara destek tedavisi uygulanmalı. Bu hastalar:  
-kötü performans  
-ek morbiditesi olan hastalık varlığı  
-ileri yaş



özgül etkisinden dolayı başarıyla kullanılır. Bu tipin tedavisi farklılıklar gösterir ve başka bir bölümde ele alınacaktır.

Akut miyeloid lösemili hastaların tedavisi çok yönlü olup bunlar sırasıyla başlıca üç grupta sıralanabilir:

- Genel önlemler ve hazırlıklar
- Komplikasyonlar ve sorunların tedavisi
- Kan hücresi desteği tedavisi
- Sitotoksik ilaç tedavisi

### Genel önlemler ve hazırlıklar.

Hastalara infeksiyonların önlenmesi için bilgiler verilmelidir. Çiğ sebze ve meyve yememeleri, odada toz tutacak eşya tutulmaması, çiçek sokulmaması sağlanmalıdır. Hastalara el temizliğinin çok önemli olduğu, nasıl yapılması gerektiği iyice anlatılmalıdır. Hastalar tam remisyona sağlanıncaya kadar ziyaretten izole edilmelerine dikkat edilmelidir. Hastaya yapılacak her türlü enjeksiyondan önce cilt pavidon-iyod çözeltisi ile temizlenmelidir. İlaçların uygulanması için iyi bir damar yoluna gereksinim vardır. Bunun için santral vena kateteri tercih edilmelidir. Kateterin gerekli bakımı bu konuda eğitim almış bir hemşire tarafından yapılmalıdır. Sitotoksik ilaç tedavisine başlanmadan önce lökosit sayısı 20,000/mm<sup>3</sup>'den fazla olan veya serum ürik asid düzeyi 7 mg/dl'den fazla olan hastalarda allopurinol 300 mg/gün başlanmalıdır. Allopurinolun allerjik dermatite neden olabilmesi nedeniyle, bu değerleri göstermeyen hastalarda allopurinol kullanılmasına gerek yoktur ve sadece hidrasyon yeterlidir (= idrar miktarı >150ml/saat).

### Tablo 3. AML tedavisinde karşılaşılabilecek bazı sorunlar

- Kanama (trombositopeni, yaygın damar içi pıhtılaşması)
- İnfeksiyon
- Tümör erimesi sendromu
- Lökostaz
- Mukozitis (infeksiyon, beslenme zorluğu)
- Hiperürisemi
- Hiperpotasemi veya hipopotasemi
- Karaciğer işlev bozuklukları (sitotoksik ilaçlar)
- Böbrek yetersizliği (antimikrobiyal tedaviler)
- Oral beslenememe
- Ototoksisite
- Nörotoksisite

### Komplikasyonların tedavisi.

AML'li hastalarda tanı sırasında ya da tedaviler sona erip hasta düzeline kadar birçok komplikasyonlarla karşılaşılabilmektedir. Bu komplikasyonlar ve sorunlar Tablo 3'de özetlenmiş olup, bunların erkenden tanınması, önlem alınması ya da tedavileri gereklidir.

### Kan hücresi desteği tedavisi.

Kemik iliği yetersizliğine bağlı anemi, trombositopeni ve genellikle nötropeni olan AML'li hastalar, remisyona tedavisinden sonra daha da sitopenik olurlar. Gerek başlangıçta gerek kemoterapiyi izleyen dönemde trombosit ve eritrosit süspansiyonlarıyla destek tedavisi yapılmalıdır. Bu tedavide hedef kan hemoglobin yoğunluğunun ve trombosit sayısının normale çıkartmak olmamalıdır. Hemoglobin

düzeyinin koroner kalb hastalığı olan hastalarda 9 g/dl üzerine, olmayanlarda ise 7,5 ile 8,5 g/dl arasında tutulması yeterli olur.

### Sitotoksik ilaç tedavisi.

Bu tedavi başlıca *remisyon indüksiyon tedavisi* ve sağlanan remisyona nüks olmadan sürdürülebilmesi için *remisyon sonrası tedavileri* olarak iki aşamadan oluşur.

### Remisyon indüksiyonu tedavisi:

AML'de uzun süre hastalıksız sağkalım ya da şifa elde etmenin birinci basamağı (*ön koşulu*) tam remisyona sağlanmasıdır. Diğer habis hastalıklarda kemoterapi ile elde edilen parsiyel yani kısmi remisyona AML'de prognoz yönünden olumlu etkisi olmadığı iyi bilinmektedir. Birden fazla ilacın birlikte uygulanması yapılır. Amaç lösemi hücrelerinin kemik iliğinde saptanamayacak düzeye indirilmesi ve normal hematopoiesin sağlanmasıdır. Bu düzey matematiksel olarak ifade edilecek olursa, tanı koyulduğunda vücutta 10<sup>12</sup> adet olan lösemi hücresi tam remisyon sağlandığında ise 10<sup>9</sup> adet veya daha düşük sayıdadır. Standart indüksiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar sitozin arabinosid (*ara-C*) ve antrasiklin kombinasyonudur. Antrasiklin olarak daunorubisin standart ilaçtır. Diğer antrasiklin ya da antrasendion grubu ilaçlar olarak idarubisin, mitoksantron ve daha seyrek olarak amsakrin, aklarubisin de kullanılmaktadır. İlaça direnç gelişmesi idarubisin ile daha az olmaktadır. Miyelosupresyon daha güçlü ve uzun süreli olduğundan 65 yaşın üzerindeki hastalarda bu durum göz önünde bulundurulmalıdır. Diğer antrasiklinlerle alınan sonuçlar standart doz daunorubisinden daha iyi düzeydedir. En sık uygulama biçimi "3 + 7" şeklinde gösterilen rejimdir. Burada 3, üç gün üst üste uygulanan antrasiklini; 7 ise yedi gün süreyle uygulanan *ara-C*'yi ifade eder. Her iki ilaç da aynı gün uygulanmaya başlanır. Standart uygulama şekli ve dozlar şu şekildedir:

•**Antrasiklin tedavisi:** daunorubisin 45-60 mg/m<sup>2</sup>/gün, veya idarubisin 12 mg/m<sup>2</sup>, veya mitoksantron 10 mg/m<sup>2</sup>, intravenöz bolus olarak, (3 ardışık gün)

•**Ara-C tedavisi:** 100 veya 200 mg/m<sup>2</sup>, devamlı intravenöz perfüzyon, (7 ardışık gün)

Tablo 4'de AML remisyon indüksiyonu tedavisi için kullanılan bazı örnekler verilmiştir. İndüksiyon tedavisi ile 60 yaşın altındaki hastalarda %60-80 oranında tam remisyon elde edilir. 60 yaşın üstünde bu oran %50 civarındadır. İndüksiyon tedavisinde Ara-C'nin yüksek dozlarda kullanılmasının toksisiteyi ve buna bağlı ölüm oranını artırdığı, remisyon oranlarında bir değişiklik yapmadığı gösterilmiştir. Hematopoietik büyüme faktörlerinin kullanımının da genellikle yarar sağlamadığı bildirilmiştir.

### Tablo 4. Akut miyeloid lösemide kullanılan indüksiyon tedavisi örnekleri

- Daunorubicin (45-60 mg/m<sup>2</sup>)(1,2,3. Günler)
- Cytosine arabinoside (100-200 mg/m<sup>2</sup>)(1-7 gün) (3+7)
- Mitoksantrone 12 mg/m<sup>2</sup>
- Cytosine arabinoside (100-200 mg/m<sup>2</sup>)(1-7 gün) (3+7)
- İdarubicin 12 mg/m<sup>2</sup> "
- Cytosine arabinoside (100-200 mg/m<sup>2</sup>)(1-7 gün) (3+7)
- Antrasiklin + Etoposide (100 mg/m<sup>2</sup>, 5 gün)

- Mitoxantrone (10 mg/m<sup>2</sup>, 5 gün)  
Orta doz Cytosine arabinoside (1 g/m<sup>2</sup>, 3 gün)

Remisyon indüksiyonu tedavisi ile tam remisyon geç sağlanan hastalarda hastaliksız sağkalım süresi daha kısa olmaktadır. Birinci indüksiyon tedavisiyle tam remisyon sağlanamayan hastalara ikinci kez aynı tedavi verilmelidir. Bu hastalarda tam remisyon oranı daha düşük olmaktadır. Bu nedenle yüksek riskli sitogenetik anormallikler saptanan veya sekonder AML'li hastalarda ikinci indüksiyon tedavisini tekrar vermek yerine başka tedaviler veya allojeneik hemopoietik kök hücre transplantasyonu seçilmelidir.

**Remisyon sonrası tedavileri:** Tam remisyonun sağlandığı, yani, iyi değerlendirilebilir hücresellikte kemik iliği aspirasyonunda blast oranının %5'den az olduğu, çevre kanının düzeldiği ve varsa ekstremiteler tutulum bulgularının kaybolduğu AML'li hastalarda, vücutta toplam lösemik hücre sayısının 10<sup>12</sup>'den 10<sup>9</sup>'a veya daha aza indiği bilinmektedir. Bundan sonra ek bir sitotoksik tedavi yapılmazsa hastaların %100'ünde nüks olmaktadır. Remisyon sonrası tedaviler değişik yoğunlukta tedavilerdir ve bunlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Tabloda görülen idame tedavisi dışında kalan tedavilerin her biri konsolidasyon tedavisi çeşitidir. Transplantasyon yüksek ya da orta derecede risk faktörleri taşıyan ve aynı zamanda HLA uygun vericisi olan hastalarda düşünülmelidir. Buna karşılık t(8;21), inv (16), t(15;17) gibi sitogenetik yünden elverişli özellikler gösteren AML'li hastalarda ilk remisyondayken miyeloablative transplantasyon tedavisi genellikle önerilmemektedir. İdame tedavisi olarak ayda bir verilen hafif ya da güçlü miyelosupresif etkileri olan çeşitli tedavi örnekleri önerilmektedir. Bu amaçla bazı merkezlerde ayda bir 5 gün süreli ve düşük dozda 6-tioguanin ile birlikte ara-C kullanılmıştır. Ayda bir 5 gün standart doz ara-C'ye ek olarak antrasiklin veya siklofosfamid ekleyen merkezler de vardır. İdame tedavisinin kullanımı birçok tedavi klavuzunda rutin bir yer almamış olmakla beraber, Büchner ve ark. nın 14 fark-

lı çalışmadan çıkardıkları sonuç, konsolidasyon tedavisinden sonra idame tedavisi uygulanan hastalarda en uzun hastaliksız sağkalım beklentisi olacağını (hastaliksız sağkalımı 4. ve 5. yıllarda %35 ve %42 olmak üzere) ortaya koymuştur. Bu tedaviyle hastaliksız sağkalımın uzadığı, ancak bazı çalışmalarda genel sağkalıma etkisi olmadığı bildirilmiştir.

### **Tablo 5. Remisyon sonrası tedavileri**

Konsolidasyon tedavisi (intensifikasyon tedavisi)  
Ototolog hematopoietik kök hücre transplantasyonu (OHKT)  
Allojeneik hematopoietik kök hücre transplantasyonu (AHKT)  
İdame tedavisi

**Konsolidasyon tedavisi** hemen hemen tüm remisyon giren hastalara uygulanır. Bu amaçla değişik rejimler kullanılmıştır. Bu rejim indüksiyon tedavisinde uygulananın aynı olabileceği gibi daha az ya da daha çok yoğunluktaki dozlarda da kullanılmıştır. Bu tedavilerden yüksek doz ara-C (YDAC) tedavisi hastaliksız sağkalımı en yüksek oranda sağlamaktadır. Değişik ara-C dozlarını kullanarak karşılaştırmanın yapıldığı bir çalışmada yüksek doz ara-C tedavisiyle 4 yıllık sağkalım %42 oranında, daha düşük dozlarda (400 mg ve 100 mg/gün x 5 gün) kullanıldığında ise bu oran sırasıyla %29 ve %19 olarak bulunmuştur. Bu nedenle bugün için yüksek doz ara-C tedavisi ile yapılan konsolidasyon en etkili olarak gözükmektedir. Kullanılan ara-C dozları 3 g/m<sup>2</sup> bir saat içinde intravenöz yolla, 12 saatte bir ve toplam 12 doz şeklindedir. Bu konsolidasyon tedavisinin toplam ne kadar yapılması gerektiği hakkında kesin bilgiler olmamakla beraber, 60 yaş altı hastalara uygulanması ve toplam 4 kez yapılabileceği bildirilmiştir. Tedavinin serebellar toksisitesi ve %10'a varan mortalitesi olduğu unutulmamalıdır. Karşılaştırmalı tedavilerin yapıldığı bir çalışmada, YDAC tedavisi alan hastalarda lösemi nüksü başlıca sorun olmakta (%61), remisyondayken hasta ölümü düşük oranda (%3), 4 yıllık sağkalım ise OKHT ve AKHT sonuçlarından anlamlı bir farklılık göstermediği bildirilmiştir.

### **KAYNAKLAR:**

1. Cassileth PA, Harrington DP, Appelbaum FR ve ark. Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. *NEJM* 1998; 339:1649-1656.
2. Rowe JM, Liesveld JL. Treatment and prognostic factors in acute myeloid leukemia. *Baillier's Clin Haematol* 1996; 9:87-105.
3. Lichtman MA, Liesveld JL. Acute myelogenous leukemia. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U (eds). *William's Hematology*. McGraw-Hill. Newyork, 6th ed, 2001; 1047.
4. Ohno Ryuzo. How high can we increase complete remission rate in adult acute myeloid leukemia? *Int J Hematol* 2000, 72:272-279.
5. Stone RM. Treatment of acute myeloid leukemia: state of the art and future directions. *Semin Hematol* 2002, 39: 4-10.
6. Büchner T, Hiddemann W, Wörmann B, Löffler H, Ludwig W et al. Acute myeloid leukemia in adults: is postconsolidation maintenance therapy is necessary? *Int J Hematol* 2000;72:285-289.
7. Moore JO, George SL, Dodge RK, Amrein PC, Powell BL, Kolitz JE, Baer MR, Davey FR, Bloomfield CD, Larson RA, Schiffer CA. Sequential multiagent chemotherapy is not superior to high-dose cytarabine alone as postremission intensification therapy for acute myeloid leukemia in adults under 60 years of age: Cancer and Leukemia Group B Study 9222. *Blood*. 2005 May 1;105(9):3420-7.
8. de Greef GE, van Putten WLJ, Boogaerts M, Huijgens PC, Verdonck LF, Vellenga E, Theobald M, Jacky E and Löwenberg B on behalf of The Dutch Belgian Hemato-Oncology Co-operative Group HOVON and The Swiss Group for Clinical Cancer Research SAKK Criteria for defining a complete remission in acute myeloid leukaemia revisited. An analysis of patients treated in HOVON-SAKK co-operative group studies. *BJH* 2005;128:184-191.
9. Büchner T, Urbanitz D, Hiddemann W, et al. Intensified induction and consolidation with or without maintenance chemotherapy for acute myeloid leukemia (AML): two multicenter



studies of the German AML Cooperative Group. J Clin Oncol. 1985;3:1583-1589.

1995;332:217-223.

**10.** Zittoun R, Mandelli F, Willemze R, et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. N Engl J Med.

**11.** Mayer R, Davis R, Schiffer C, et al. Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 1994;331:896-942.





# AKUT PROMİYELOSİTİK LÖSEMİ TEDAVİSİ

Dr.Elif Akdoğan, Dr.Serdar Bedii Omay

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı

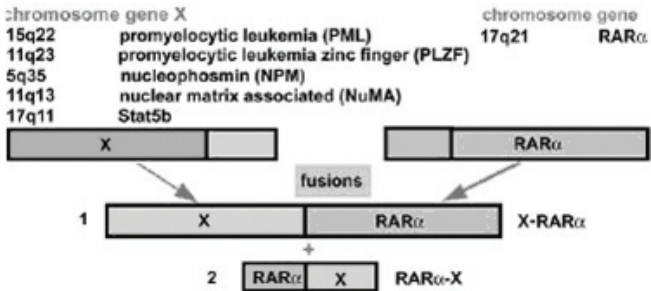
**A**kut promyelositik lösemisinin (APL) all-trans retinoik asit (ATRA) ile tedavisi, akut lösemilerin hedefe yönelik tedavisi konusundaki ilk örnektir. ATRA'nın keşfinden önce APL, fatal kanamalara sebep olması nedeniyle yüksek oranda ölüm ile ilişkili iken, şimdi akut lösemilerin en iyi tedavi edilebilir alt tipini oluşturmaktadır.

Bu tedavi yaklaşımının son zamanlarda klinik uygulamaya girmesinin nedenleri şunlardır:

1. APL için karakteristik olan translokasyon t(15;17) ve moleküler karşılığı PML / RAR  $\alpha$  nın, tedavi için spesifik hedefi oluşturması,
2. Retinoidlerin sporadik vakalarda diferansiyasyonu indükleyerek remisyonu sağlaması,
3. In vitro deneylerde ATRA'nın diğer retinoidlere göre APL blastlarını daha fazla diferansiye etme potansiyeline sahip olması.

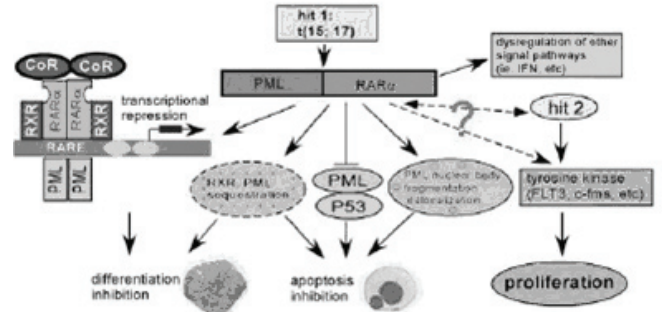
Diferansiye edici ajanlardan önce kullanılan antrasiklin temelli tedavi protokolleri ile komplet remisyon oranı %60-74 iken, beş yıllık olaysız sağkalım oranı %23-35 idi.

APL'de spesifik translokasyon, 15 ve 17. kromozomun uzun kolları arasındaki resiprokal translokasyondur [t(15;17)(q22;q21)]. 17q21'in t(15;17)'nin varyant formları olan t(11;17)(q23;q21), t(5;17)(q35;q21), t(11,17)(q13;q21), dup(17)(q11;q21)'de de bulunması bunun normal hematopoez için önemli olduğunu ve 17q21 kopmasının APL patogenezinde önemli olduğunu göstermektedir.

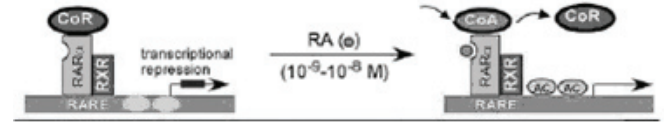


PML/RAR $\alpha$  füzyon proteini üzerine korepresörlerin bağlanması transkripsiyonun engellenmesine ve miyeloid diferansiyasyonun inhibisyonuna neden olmaktadır. PML/RAR $\alpha$

onkoproteini, normal RXR ve PML'nin sekestrasyonuna, PML/P53 apoptotik yolunun inhibisyonuna ve PML ve diğer proteinlerin nükleer body'den ayrılmasına neden olur. Ayrıca interferon ve diğer sinyal yollarını da etkileyebilir. Protein kinazdaki bozukluklar (FLT3, c-fms), PML/RAR $\alpha$  ile birlikte APL gelişimine neden olabilir.



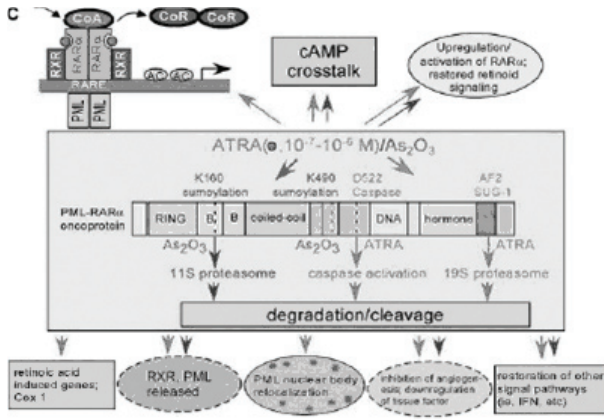
Fizyolojik konsantrasyonda Retinoik asit (RA) varlığında ( $10^{-9}$ - $10^{-8}$  M) transkripsiyon korepresörü uzaklaşır ve koaktivatör RAR $\alpha$ /RXR üzerine yerleşirken histon deasetilasyonu gerçekleşir böylece transkripsiyon blokajı ortadan kalkar.



Farmakolojik dozda ATRA ve arsenik trioksit (ATO), kaspas ve proteasom bağımlı yollarla PML/RAR $\alpha$  füzyonunu degrade eder. PML/RAR $\alpha$  degradasyonu transkripsiyon supresyonunun ortadan kalkmasına ve PML nükleer body yapısının yeniden düzenlenmesine neden olur. Diğer sinyal yollarının blokajı sağlanır. PML/RAR $\alpha$ 'nın anti apoptotik etkisi kaybolur. ATRA ayrıca siklik AMP'yi indükleyerek RA ile indüklenen genlerin ve siklooksijenaz 1'in ekspresyonunu artırır, anjiyogenezi inhibe eder ve doku faktörünün downregülasyonuna neden olur. Son olarak, ATRA terminal hücre diferansiyasyonunu indüklerken, ATO, APL hücrelerinin parsiyel diferansiyasyonuna ve/veya apoptosine neden olur.

APL tedavisindeki genel kural teşhisin genetik düzeyde doğrulanmasını gerektirse de, tedavi genetik sonuçlar beklenmeden başlanmalıdır. Morfolojik olarak AML-M3 düşünüldü-





günde;

- Koagülopatiyi kontrol altına almak için taze donmuş plazma, fibrinojen, platelet transfüzyonu yapılmalı, platelet sayısı 30-50x10<sup>9</sup>/L, fibrinojen düzeyi 150mg/dl'de tutulmalıdır. Destek tedavisine, D-dimer, protrombin zamanı normale dönene kadar devam edilmelidir.
- AML-M3 teşhisi düşünüldüğü gün, genetik sonuçlar beklenmeden, koagülopatiyi kontrol edebilmek için ATRA tedavisi acilen başlanmalıdır (45mg/m<sup>2</sup>/gün).
- Genetik düzeyde teşhis doğrulanmalıdır. FISH, reverse transkripsiyon-PCR veya konvansiyonel karyotiplendirmeyle t(15;17) veya bunun moleküler karşılığı PML/RARα gösterilmelidir. Diğer bir yöntem de anti-PML antikörlerle immün boyama yapılmasıdır.

Genetik olarak APL teşhisi doğrulandığında indüksiyon tedavisi başlanmalıdır.

### İNDÜKSİYON TEDAVİSİ

Yapılan randomize çalışmalarda ATRA ve kemoterapi kombinasyonunun survival ve remisyon süresi üzerine olumlu etkisinin gösterilmesinden sonra kombinasyonun optimizasyonu için üç ana tedavi yaklaşımı planlanmıştır. İlki, ATRA+ antrasiklin+ standart doz ARA-C ile indüksiyondan sonra 2-3 siklus konsolidasyondan oluşan French/European APL grup, USA Inter-grup, British MRC. İkincisi, indüksiyon tedavisinin yoğunluğunu azaltmak amacıyla ATRA'nın antrasiklin monoterapisi ile kombine edildiği indüksiyon tedavisi ve takiben üç konsolidasyon tedavisinden oluşan İtalyan GIMEMA ve İspanyol PETHEMA protokolü. Üçüncüsü ise ATRA'nın yüksek doz ARA-C içeren yoğunlaştırılmış çift indüksiyon kemoterapisiyle kombinasyonundan oluşan Alman AMLCG protokolü. Bu tedavi protokolleri ile yeni tanı APL'li hastaların%70-80'i remisyona girmektedir.

Antrasiklin grubundan monoterapide en sık kullanılan idarubisin, Daunorubisin, daha çok Ara-c ile uygulanan kombinasyonlarda kullanılmaktadır.

Antrasiklin temelli tedavi, hastada ciddi organ yetmezliği, 80 yaş üzeri gibi kemoterapinin kontrendike olduğu durumlarda kullanılmaz. Hastanın t(15;17) dışında ek kromozom anomalilerinin varlığı, CD56 ekspresyonu, kısa PML/RARα isoformu gibi kötü prognostik faktörlerinin olması durumunda standart tedavi yaklaşımının değiştirilmesi önerilmemektedir.

**Destek tedavisi:** Hastada koagülopatiyi kontrol altına almak için gerekli yukarıda bahsedilen destek tedavileri dışında, diğer lösemi tedavileri sırasında gerek görülen uygulamalar APL için de geçerlidir (eritrosit transfüzyonu, antibiyotikler...).

### A. ATRA Tedavisi Sırasında Karşılaşılan Durumlar

**1. ATRA Sendromu:** ATRA tedavisi sırasında ateş, kilo artışı, respiratuar distres, interstisyel pulmoner infiltrasyon, plevral-perikardiyel efüzyon, hipotansiyon ve akut böbrek yetmezliği gibi retinoik asit sendromunu düşündüren bulgular açısından dikkatli olunmalıdır. Bu sendrom başlangıç beyaz küresi yüksek olanlarda daha sık görülse de beyaz küre değeri düşük olanlarda da görülebilir. Sendrom sırasında görülebilen bulgular bakteriyemi, sepsis veya konjestif kalp yetmezliği bulgularıyla karışabilir. Dexametazon 2x10mg IV acil olarak başlanmalı, 4 gün süreyle veya semptomlar gerileinceye kadar devam edilmelidir. ATRA'nın kesilmesi konusunda görüş birliği sağlanmamış olmasına rağmen, sendrom sırasında kesilmesi önerilmektedir. Hastanın semptomları düzelmeye başladığında ATRA yeniden başlanmalı, semptomlar kaybolduğunda deksametazon kesilmelidir. Sendromun önlenmesinde profilaktik kortikosteroid tedavisinin yeri yoktur. Ancak kontrolsüz bir çalışmada beyaz küre değeri 5000/μl'in üzerinde olan vakalara profilaktik deksametazon verilmesinin retinoik asit sendromuna bağlı mortalityi azalttığı gösterilmiştir.

**2. ATRA'ya karşı rezistans gelişimi:** Bu fenomen ATRA tedavisinin kısa süre sonra yeniden uygulandığı durumlarda ortaya çıkan bir durumdur. Fransız çalışmasında ATRA kesilmesinden sonra üç aydan daha kısa sürede yeniden uygulandığında ATRA'ya cevabın gözlenmediği bildirilmiştir. Bu yüzden ATRA ile reindüksiyon tedavisine cevap hastanın hala ATRA alıyor olmasına veya ATRA'sız dönemin süresine bağlanmaktadır.

Birçok mekanizma suçlanmaktadır: Metabolize edici enzimlerle (*sitokrom p450*) intraselüler ATRA konsantrasyonunun hızlı azalması, PML/RARα füzyon geni üzerindeki ATRA bağlanan bölgede mutasyon bunlardan ikisidir. ATRA'nın intra-

venöz formu olan Lipozomal ATRA alternatif olarak kullanılabilir. Rutin kullanımda bulunmayan ATRA'ya göre 10 kat fazla diferansiyasyon kapasitesi olan sentetik retinoid AM80 diğer bir alternatiftir. Daha önceden ATRA rezistansı gelişmiş hastada histon deasetilaz inhibitörü fenilbutirat'ın ATRA ile kombinasyonunun olumlu etkisi bir vakada gösterilmiştir.

**3. Psödötümör serebri:** İntrakraniyel basınçta artışla karakterize baş ağrısı, bulantı, kusma gibi semptomlarla kendini gösteren görme bozukluğu ve papil ödeminin eşlik ettiği bir tablodur. ATRA'nın kesilmesini gerektirir. Deksametazon, analjezikler ve mannitol tedavi seçeneklerindedir.

### B. İndüksiyon tedavisine cevabın değerlendirilmesi:

Diğer AML tiplerinin aksine kemik iliğinin erken dönemde değerlendirilmesi APL'de önerilmemektedir. İndüksiyondan sonraki 40-50 güne kadar kemik iliğinde anormal promyelositlerin varlığı, blastik maturasyonda gecikme gibi bulgular devam edebildiğinden bu durum yanlış olarak lösemik direnç olarak yorumlanabilir. Terminal blastik transformasyon tamamlanana kadar tedavi sürdürülmelidir. İndüksiyon sonrası erken dönemde sitogenetik değerlendirme de önerilmemektedir.

### KONSOLIDASYON TEDAVİSİ

2 veya 3 siklus şeklinde uygulanan antrasiklin temelli tedavi ile moleküler remisyon oranı %90-99'a ulaşmaktadır. Bu tedaviye ATRA'nın eklenmesinin araştırıldığı randomize bir çalışma olmamasına rağmen GIMEMA ve PETHEMA çalışma gruplarında ATRA'nın eklenmesinin sinerjistik etkisinin olabileceği bildirilmektedir.

İndüksiyon tedavisinde olduğu gibi intensif kemoterapi protokollerinin uygulanamayacağı hastalarda ATO ve gemtuzumab ozogamisın (GO) konsolidasyon için alternatif olarak kullanılabilir.

### Konsolidasyon sonrası Moleküler Değerlendirme

RT-PCR ile konsolidasyon tedavisi tamamlandıktan sonra cevap değerlendirmesi yapılması önerilmektedir. Pozitif vakalar daha yoğun bir tedaviye yönlendirilirken, negatif vakalar idame tedavisi almalıdır.

### İDAME TEDAVİSİ

İdame tedavisi ATRA'nın sürekli veya aralıklı olarak verilmesi şeklinde yapılmaktadır. Sürekli ATRA tedavisi alan hastalarda toksisitenin fazla olması nedeniyle aralıklı tedavi daha fazla tercih edilmektedir. APL93 protokolü, ATRA'ya metotresat

ve 6-merkaptopurin eklenmesinin daha düşük relaps oranıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Her ne kadar GIMEMA grubu idame tedavisinin etkinliğinin olduğunu göstermemiş olsa da pek çok çalışmada idame tedavisi önerilmektedir.

### İdame ve Sonrasında Moleküler İzlem

Başlangıç beyaz küresi yüksek (> 10.000/ $\mu$ l) olan vakalarda postkonsolidasyon erken dönemde 2 ayda bir, sonrasında 2 yıl boyunca 6 ayda bir moleküler izlem önerilmektedir. Başlangıç beyaz küresi düşük olan vakalarda moleküler izlemin kost-efektif olmadığı bildirilmektedir.

### APL'de Prognostik Faktörler

- Başlangıç beyaz küre değerinin yüksek olması(> 10.000/ $\mu$ l)
- İleri yaş
- CD56 ekspresyonu
- Kısa PML-RAR $\alpha$  isoformu
- FLT3 mutasyonu
- Diğer kromozomal anomalilerin varlığının prognoza etkisi net değil.

### RELAPS VEYA REFRAKTER VAKALARDA TEDAVİ

**ATO:** Relaps veya refrakter vakalarda önerilen ATO dozu 10mg/gün veya 0.15mg/kg/gün 60 gün boyunca önerilmektedir. ATO ile moleküler remisyon oranı %83, hematolojik remisyon oranı %80-100 olarak bulunmuştur. ATO sonrası post-remisyon tedavisi ATO'nun yeniden uygulanması, kemoterapi, Otolog veya allojeneik transplantasyonun kombinasyonu şeklinde değişiklik göstermektedir. Amerikan çalışmasına göre ATO monoterapisinden sonra oto veya allotransplant uygulanımının relapsız sağkalım süresini uzattığı gösterilmiştir. ATO'ya ATRA tedavisinin eklenmesinin yeni tanı veya relaps vakalardaki sonuçları değişkendir. Sinerjistik etkinin faydalı olduğunun gösterildiği vakalar mevcuttur.

### Stem Cell Transplantasyonu:

APL'li hastalarda ATRA+ kemoterapiyle sağlanan yüksek başarı oranı nedeniyle ilk komplet remisyon sonrası tansplantasyon önerilmemektedir.

EBMT sonuçlarına göre ikinci komplet remisyonunda allojeneik SCT yapılanlarda otolog SCT yapılanlara göre relaps oranı daha düşük bulunmuştur. Genç ve uyumlu donörü bulunan vakalarda allojeneik SCT tercih edilmelidir. Donörü olmayanlarda toplanan ürün PCR negatif olduğu takdirde otolog SCT diğer bir alternatif olarak kabul edilmektedir.



**Monoklonal Antikorlar**

Anti CD33 ve <sup>131</sup>I-işaretli M195, antilösemik etkisi gösterilmiş antikorlandandır. Gemtuzumab ozogamisın (Mylotarg, anti-CD33) ile başarılı sonuçlar bildirilmişse de ileri araştırmalar gerekmektedir.

**Özel vakalarda tedavi:**

**Yaşlı APL'li hastalarda tedavi:** 60 yaş üstü normal standart tedavilerle sorunsuz tedavi edilebilir. Ancak 70 yaş üstünde

idarubisin dozunda redüksiyon yapılmalıdır.

**Ciddi komorbiditesi olan vakalar:** Kemoterapi yerine ATRA, ATO, GO monoterapisi uygulanmalıdır.

**Çocuklarda APL:** Çocuklarda daha sık gözlenebilen psödo-tümör serebri insidansını azaltmak için ATRA dozu 25mg/m<sup>2</sup>'ye indirilmelidir.

**Hamile Vakalarda Tedavi:** ATRA tedavisi alan annelerde ve fetusta herhangi ciddi komplikasyon bildirilmemiş olmasına rağmen bu tedavi 2.-3. trimestride daha güvenlidir.

**KAYNAKLAR**

- Lengfelder E, Saussela S, Weisser A, Büchner T, Hehlmann R. Treatment Concepts of acute promyelocytic leukemia. Critical Reviews in oncology/hematology 56(2005)261-274.
- Borrow J, Audrey DG, Sheer D, Solomon E. Molecular analysis of acute promyelocytic leukemia breakpoint cluster region on chromosome 17. Science 1990;149:1577-80.
- De The H, Chomienne C, Lanotte M, Degos le, Dejean A. The t(15;17) translocation of acute promyelocytic leukemia fuses the retinoic acid receptor  $\alpha$  gene to a novel transcribed locus. Nature 1990; 347:558-61.
- Fontana JA, Sogers JR, Durhamm JP. The role of 13 cis-retinoic acid in the remission induction of a patient with acute promyelocytic leukemia. Cancer 1986;57:208-17.
- Chomienne C, Balerini P, Balitrand N, et al. All-trans retinoic acid in acute leukemias. II. In vitro studies: structure function relationship. Blood 1990;76:1710-7.
- Huang M, Ye Y, Chen S, et al: Use of all-trans retinoic acid in the treatment acute promyelocytic leukemia. Blood 1998;72:567-72.
- Zhou GB, Chen SJ. Acute promyelocytic leukemia: a model of molecular target based therapy. Hematology, 2005;10:278-80.
- Zhou GB, Zhao WL, Wong ZY, Chen SJ. Retinoid Acid and Arsenic for treating acute promyelocytic leukemia. Research in transplantation.2005.2:33-38.
- Sanz MA, Tallman MS, Coco FL. Practice points, consensus and controversial issues in the management of patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. The Oncologist 200-5;10: 806-814.
- Falini B, Flenghi L, Fagioli M et al. Immunocytochemical diagnosis of acute promyelocytic leukemia with monoclonal antibody PG M3 (Anti PML). Blood 1997;90:4046-4053.
- Gomis F, Sanz J, Sempere A et al. Immunofluorescent analysis with the anti-PML monoclonal antibody PG-M3 for rapid and accurate genetic diagnosis of acute promyelocytic leukemia. Ann Hematol 2004;83:687-690.
- Fenaux P, Castaigne S, Dombert H, et al. All-trans retinoic acid followed by intensive chemotherapy gives a high complete remission rate and may prolong remissions in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: a pilot study on 26 cases. Blood 1992;80:2176-81.
- Tallman MS, Andersen JW, Schiffer CA, et al. All-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. N Engl J Med 1997; 337: 1021-8.
- Burnett AK, Grimwade D, Solomon E, Wheatley K, Goldstone AH. Presenting white blood counts and kinetics of molecular remission predict prognosis in acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid: results of the randomized MRC trial. Blood 1999;90:1041-21.
- Mandelli F, Diviero D, Avviasti G, et al. Molecular remission in PML-RAR alpha positive acute promyelocytic leukemia by combined all-trans retinoic acid and idarubicine (AIDA) therapy. Blood1999;1014-21.
- Sanz MA, Martin G, Rayon C, et al. A modified AIDA protocol with anthracycline-based consolidation results in high antileukemic efficacy and reduced toxicity in newly diagnosed PML/RAR  $\alpha$  positive acute promyelocytic leukemia. Blood 1999;94: 3015-21.
- Lengfelder E, Reichert A, Schoch C, et al. Effects in patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. Leukemia 2000;14:1362-70.
- Sham RL, Tallman MS. Treatment of acute promyelocytic leukemia in the very elderly: case report and review of the literature. Leuk res 2004;28:1347-1350.
- Vahdat L, Maslak P, Miller WH, et al. Early mortality and the retinoic acid syndrome in acute promyelocytic leukemia: impact of leukocytosis, low dose chemotherapy, PML/RAR  $\alpha$  isoform



- and CD13 expression in patients treated with all-trans retinoic acid. *Blood* 1994;84:3843.
- 20.** Sanz M, Martin G, Gonzales M et al. Risk adapted treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans retinoic acid and anthracycline monochemotherapy: a multicenter study by the PETHEMA group. *Blood* 2004;103:1237-1243.
- 21.** Wiley JS, Fikrin FC. Reduction of pulmonary toxicity by prednisolone prophylaxis during all-trans retinoic acid treatment of acute promyelocytic leukemia. Australian Leukaemia Study Group. *Leukemia* 1995;9:774-778.
- 22.** Warrell RP. Retinoic resistance in acute promyelocytic leukemia: new mechanism, strategies, and implications. *Blood* 1993;82:1949-53.
- 23.** Degos L, Dombert H, Chomienne C et al. All-trans retinoic acid as a differentiating agent in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1995;85:2643-53.
- 24.** Muindi JR, Frankel SR, Miller WH, et al. Continuous treatment with all-trans retinoic acid causes a progressive reduction in plasma drug concentrations: implications for relapses and retinoic acid resistance in patients with acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1992;79:229-303.
- 25.** Delva L, Cornic M, Balitrand N, et al. Resistance to all-trans retinoic acid (ATRA) therapy in relapsing acute promyelocytic leukemia: study of in vitro ATRA sensitivity and cellular acid binding protein levels in leukemic cell. *Blood* 1993;82:2175-81.
- 26.** Shao W, Bendetti L, Lamph W, Nevri C, Miller WH. A retinoid resistant acute promyelocytic leukemia subclone express a dominant negative PML/RAR  $\alpha$  mutation. *Blood* 1997;89:4282-9.
- 27.** Ding W, Li YP, Nobile LM, et al. Leukemic cellular resistance and missense mutations in the PML-RAR  $\alpha$  fusion gene after relapse of acute promyelocytic leukemia from treatment with all-trans retinoic acid and intensive chemotherapy. *Blood* 1998;92:1172-83.
- 28.** Douer D, Estey E, Santillana S, et al. Treatment of newly diagnosed and relapsed acute promyelocytic leukemia with intravenous liposomal all-trans retinoic acid. *Blood* 2001;97:73-80.
- 29.** Tobito T, Takeshita A, Kitamura K et al. Treatment with new synthetic retinoid, Am80, of acute promyelocytic leukemia relapsed from complete remission induced by all-trans retinoic acid. *Blood* 1997;90:967-73.
- 30.** Warrell RP, Li-Zhen GE, Richon V, et al. Therapeutic targeting of transcription in acute promyelocytic leukemia by use of an inhibitor of histone deacetylase. *J Natl Cancer Inst* 1998;21:1621-5.
- 31.** Soignet SL, Frankel SR, Douer, et al. United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2001;19:3852-60.
- 32.** Jing Y, Wang L, Xia L, et al. Combined effect of all-trans retinoic acid and arsenic trioxide in acute promyelocytic leukemia cells in vitro and in vivo. *Blood* 2001;97:264-9.
- 33.** Sanz MA, Arcese W de la Rubai J, et al. Stem cell transplantation for acute promyelocytic leukemia in pre-ATRA era: a survey of the European Blood and marrow transplantation group (EBMT). *Blood* 2000;96:522a.
- 34.** Estey EH, Giles FJ, Beran M, et al. Experience with gemtuzumab (mylotarg) and all-trans retinoic acid in untreated acute promyelocytic leukemia. *Blood* 2002;99:4222-4.
- 35.** Scherlinberg DA, Lovett D, Divgi CR, et al. A phase I trial of monoclonal antibody M195 in acute myelogenous leukemia: specific bone marrow targeting and internalization of radionuclide. *J Clin Oncol* 1999;



# AKUT LENFBLASTİK LÖSEMİDE STANDART TEDAVİ

Dr.Burhan Ferhanoglu

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

**ALL**, çocukluk yaşlarında en sık görülen hematolojik malignite iken erişkinlerde yılda 0.8-1.8/100000 oranında rastlanan hematolojik malignitedir. Çocukluk yaş grubunda 3-4 yaşlarında en sık görülmekte, ikinci pikini 70 yaşlarında oluşturmaktadır. Kemik iliğinde çoğalan lenfatik progenitör hücreler normal hematopoezin supresyonuna neden olarak anemi, trombositopeni, granulositopeni ve bunların yarattığı semptomatoloji ile karşımıza çıkmaktadır. Hastaların yaklaşık % 90 da periferik yaymada lenfoblastların varlığı dikkati çekerken tanı çoğunlukla kemik iliği aspirasyonunun morfolojik, sitoşimik, flow-sitometrik ve genetik incelemesi ile ortaya konmaktadır.

Çocukluk çağı ALL'lerin yaklaşık 2/3 ü erişkin ALL'lerin ise 1/3 ü kür şansı bulmaktadır. Prognostik faktörlere göre hastalar standart risk ve yüksek risk olarak sınıflandırılmakta ve bu bilgiler ışığında tedavi yoğunluğu, transplantasyon endikasyonu olup olmadığına karar verilmektedir.

Erişkin ALL de tedavi genellikle 4 fazdan oluşur. Bu fazlar remisyon indüksiyonu, intensifikasyon (*konsolidasyon*), idame tedavisi ve CNS profilaksisi ve tedavisi olarak özetlenebilir.

Remisyon indüksiyon tedavisi ile lösemik klonun hızla azaltılması ve rezidüel lösemik klonun minimuma indirilmesi hedeflenir. Intensifikasyon veya konsolidasyon ile total vücut lösemi klonunun daha fazla azaltılması ve lösemi direncinin üstesinden gelinmesi hedeflenir. Bu aşama indüksiyonda kullanılan ajanlar diğer ajanlarda devreye sokularak daha yüksek dozda uygulanır. Şayet indüksiyondaki ajanlar intensifikasyon aşamasının bir etabında aynı dozda kullanılmış ise re-indüksiyon adını alır. İdame tedavisi ile rezidüel lösemik klonun eradikasyonu hedeflenir. CNS tedavisi ile lösemik hücrelerin var olduğu ve tedavinin arzulan düzeyde ulaşmadığı yerler olan CNS ve spinal kord a ulaşmayı hedefler.

## İndüksiyon Tedavisi:

İndüksiyon tedavisi sırasında metabolik komplikasyonların önlenmesi ve tedavisi, akut lösemi tedavisinde ilk aşamayı oluşturur. Hiperürisemi, renal yetersizlik, hiperlökositoz varlığı metabolik komplikasyon riskini daha fazla artırır. Komplikasyonların önlenmesi için tedavi öncesi hidrasyon (asgari 100 ml/saat) yanında 8 saatte bir 100 mg allopurinol başlatılması hastanın sıvı ve elektrolit dengesinin yakın takibi gerekir. Kreatinin düzeyi >1.6 mg/dl ve ürik asit düzeyi >8mg/dl olanlarda özellikle dikkatli olunmalıdır<sup>1</sup>.

İndüksiyon tedavisi ile hedef tam remisyon sağlamaktır. Hastalığın aktif döneminde var olduğu düşünülen  $10^{12}$  malign hücrenin  $10^3$  veya  $10^4$  azaltılması hedeflenir. Genel olarak

erişkin indüksiyon tedavileri Vincristin, Antrasiklin, Steroid, L-Asparaginase içerir.

İndüksiyon tedavisinde steroid olarak deksametason kullanımı ile daha iyi antilösemik etki ve CNS penetrasyonu sağlanabildiği ve çocukluk yaş grubunda CNS nüksünün azaltılabileceği ifade edilirse de dexamethasone kullanımını septisemi ve fungal enfeksiyon riskini arttırdığı da bir gerçektir<sup>2,3</sup>.

Keza randomize çalışmalar ile (*GIMEMA*) indüksiyon tedavisine siklofosamid eklenmesinin yararı gösterilememiştir. Buna karşın CALGB nin erken dönem tek doz siklofosamid ( $1200 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ ) uyguladığı bir çalışmada %85 oranında tam remisyon (*CR*) elde edilmiştir<sup>4,5</sup>. Antrasiklin olarak çalışmaların çoğu Daunorubisin kullanmaktadır. Daunorubisin'i haftada bir olmak üzere 4 kez veren protokoller olduğu gibi ardışık 3 gün veren çalışmalarda vardır. Büyük çok merkezli çalışmalar ile antrasiklin dozunu arttırmanın remisyon oranını arttırmadığı buna karşın ciddi destek (*G-CSF*) gerektirdiği gösterilmiştir<sup>6,7,8</sup>.

İndüksiyon tedavisinde L-Asparaginas'ın rolünü araştıran tek çalışma remisyon oranına etkisini kanıtlayamamıştır. Remisyon süresini uzatacağı düşünülmektedir<sup>9</sup>. Kullanılan üç farklı L-Asparaginas'ın tedavi aralığını belirlemede farklı yanılma ömrü dikkate alınmaktadır (*E.Coli*; 1.2 gün, *Erwinia*; 0.6 gün, *PEG*: 5.7 gün).

ARA-C nin indüksiyondan önce veya hemen sonra kullanımı ile CR oranının % 85 e ulaştığı çalışmalar vardır<sup>10</sup>. Ancak randomize çalışma sonucu henüz bilinmemektedir. Nötropeni süresi ve mortaliteyi arttıracığı göz ardı edilmemelidir<sup>11</sup>. Bütün bu verilere yeni yayınlanan Internatinal ALL Trial'a ait ve 1500 hastayı kapsayan çalışmada da indüksiyon rejimi olarak kullanılan Daunorubisin ( $60 \text{ mg/m}^2, 1, 8, 15, 22.\text{günler}$ ), Vincristin ( $1.4 \text{ mg/m}^2, 1, 8, 15, 22$ ) L-Asparaginase ( $10.000 \text{ U}, 17-28.\text{günler}$ ), Prednisone ( $60 \text{ mg/m}^2 1-28.\text{günler}$ ) ile %91 oranında CR elde edildiği dikkate alındığında ALL de indüksiyon rejiminin bu dört ajandan oluşacağı gerçeği ortaya çıkar<sup>12</sup>.

## Post-indüksiyon ( intensifikasyon, konsolidasyon) tedavisi:

Genel olarak idame tedavisi öncesi yaptığımız konsolidasyon (pekiştirme) ile hastalık seyrinin düzeltildiği düşünülür. Amaç remisyon ile 3 - 4 log azaltılmış tümör yükünün 3 log daha azaltılmasını sağlamaktır.

Konsolidasyonun etkinliğini gösteren British MRC çalışmasında intensifikasyon erken, geç ve çift zamanlı (erken + geç) intensifikasyon yanında, intensifikasyon yapmamanın



sonuçları randomize olarak araştırılmış ve çift zamanlı intensifikasyonun lösemisiz yaşam oranını arttırdığı (%37 vs %28) gösterilmiştir<sup>13</sup>.

GIMEMA ise konsolidasyonu idame tedavisi ile karşılaştırdığında yaşam süresi açısından bir fark bulmamış ancak konsolidasyon alan gruptaki hastaların hedeflenen tedavinin sadece %42 sini alabildiği gözlenmiştir<sup>14</sup>. Uzun süreli konsolidasyonun gerek komplikasyon gerekse komplians açısından sorun yarattığı bir gerçektir. Bir yıldan sonra yapılan konsolidasyonun yararı gösterilememiştir.

İndüksiyon tedavisi ile remisyon sağlanan hastalar risk gruplarına göre kategorize edilirler. Düşük riskli hasta ile uzun süreli remisyon şansı >0.50 olan, orta (intermediate) risk ile uzun süreli remisyon şansı > 0.25-0.50 ve yüksek riskli hasta ile < 0.25 olan hasta kastedilmektedir<sup>1</sup>.

Avrupa'da çok merkezli Alman çalışması risk modeli olarak geniş kabul görmüş ve birçok merkeze referans oluşturmuştur.

Konsolidasyonda optimal kemoterapötikler ve süresi konusunda randomize çalışma yoktur. Çoğu konsolidasyon rejimi GMALL (*Germal Multicenter ALL*) protokolünden orijinini alır. Genel olarak aktif kemoterapötiklerin alterne kullanılması hedeflenir. Bu rejimlerde yüksek doz ARA-C (4-12 doz ,1-3 g/m<sup>2</sup>), yüksek doz Metotrexate (Mtx) (3g/m<sup>2</sup>) ve yüksek doz etoposide özellikle orta ve yüksek risk hastaya uygulanmaktadır. Ayrıca yüksek riskli hasta uygun donör varlığında allojeneik kök hücre transplantasyonuna tabi olmaktadır.

T-ALL erkeklerde daha sık görülmesi, genç yaşta ve çoğunlukla yüksek lökosit sayısı ile prezantasyonu, SSS tutulumu, mediastinal tümör varlığı ile karakterizedir. Yüksek tümör yükü vardır ve hızlı progresyon gösterir. Ancak geç nöksler (>3 yıl) azdır. GMALL verilerine göre erken ve matur T-ALL nin prognozu timik ALL ye göre daha kötüdür(*uzun süreli sağkalım %30 vs.%50*)<sup>21</sup>. Timik T-ALL de HOX11 geni moleküler marker olarak kullanılabilir. Early/matur ALL de ise uzun süreli sağkalım %20-30 dolaylarındadır ve indüksiyon sırasında erken ölüm sıklığıdır. ALL nin sonuçları CALGB verilerine göre B lineage ALL den daha iyidir<sup>22</sup>. Siklofosamid ve sitarabin T-ALL tedavisinde çok aktif ajanlardır. T-ALL grubunda tedavi sırasında enfeksiyon olguların 2/3 ünde görülür ve dikkatli olmadıkça enfeksiyondan kayıplar yüksektir. T lenfoblastlara spesifik aktivitesi olan Cladribine, Campath, arabinosil guanosin gibi ajanların T-ALL prognozunu olumlu etkileyeceği düşünülmektedir.

T-ALL de özellikle yoğun SSS profilaksisi gerektiği unutulmamalıdır. Var olan mediastinal tümörün tedavisi konusunda konsensus yoktur. İndüksiyon sonrası rezidüel tümör varlığında mediastinal alanın ışınlanması Alman ALL grubunca önerilmektedir.

Pro-B ALL erişkin ALL lerin % 11 ini oluşturur. %60 oranında t(4/11)'e rastlanır. CD19+,CD20+ CD10- tir. CNS tutulumu bu grupta % 6 dolaylarındadır. 50 yaş üstü, Lökosit>50000/mm<sup>3</sup> olan hasta sayısı çoğunluktadır. 1.CR da transplantasyon ile uzun süreli sağkalım % 42 düzeyine yükselmiştir.

B lineage ALL de en sık görülen (%60) common (CALLA +) ALL dir. Bu grubun yaşam süresi %30-35 dolaylarındadır. GMALL protokolü ile bu grupta uzun süreli sağkalım %40'ı geçmektedir. pre-B ALL ile klinik ve biyolojik bir farklılık yoktur. Prognozu fazla düzeltilemeyen grup olarak gösterilir. Bunun nedeni ortalama görülme yaşının ileri olması, Ph + hastaların bu grupta fazla olması ve geç nökslerin (>5-7 yıl) görülmesidir. Ph+ hasta grubuna imatinib eklenmesi ile bu gruptaki hastanın prognozunun değişebileceği tahmin edilebilir. Geç nöksler nedeni ile uzun idame tedavisi şarttır. Yüksek doz metotrexat ın prognozu etkilediği gösterilmiştir<sup>23</sup>. Pre B ALL grubunda tedavi intensifikasyonu için bir diğer yaklaşım monoklonal antikorların (CD20, CD19, CD22) tedaviye entegre edilmesidir. Böyle bir yaklaşım MRD eradikasyonunda katkıda bulunabilir. B-prekürsör ALL lerin 1/3 ü CD 20 ekspres etmektedir. İlk uygulamalarda etkinlikleri çok minimal bulunmuştur. Ancak daha uzun takip süresi ve daha geniş hasta grubuna uygulamadan sonra karar verilmelidir. GMALL 1200 hasta sonuçlarını 2001 yılında ASH'te prezante etmiş ve intensifikasyonun sadece bazı subgrupların seyrini değiştirebildiğini göstermiştir. Bu çalışmada ; değerlendirme sonucu hastaların %75'i B prekürsör ALL, %24 T-ALL olduğu belirtilmiştir.

Ph (bcr/abl ) pozitifliği, t (4/11) varlığı, Pro B ALL,lökosit sayısının (B ALL için) > 30000/mm<sup>3</sup> olması olarak özetlenecek kriterlerden birinin varlığında yüksek riskli hasta olarak farklı konsolidasyon tedavisi uygulanmıştır.

Hastaların %25'i standart risk (SR), %30 yüksek risk (YR), %19 yaşlı (YH) ve %26'sı T ALL(T) grubunda yer almış. Tedavi sonuçları tabloda özetlenmiştir. Tablodan da anlaşılacağı gibi T-ALL de uzun süreli remisyon (*5 yıllık hastalısız yaşam*) %54, standart risk ALL de %55 yaşlı hastada %32 ve yüksek riskli (YR) hastada ise % 32 bulunmuştur<sup>15</sup>. GMALL protokolü hastayı bu derece alt gruplara strafiye ederken yeni yayınlanan MRC UKALL XII/ECOG protokolü ise tüm hastalara aynı intensifikasyon rejimini uygulamıştır<sup>12</sup>. Bu seride remisyon oranı %91 bulunurken remisyon elde edilmeyen hastalarda uzun süreli sağkalım %5 remisyon elde edilen hastalarda ise % 45 bulunmuş ve yaş, lökosit sayısının B -ALL için >30.000/mm<sup>3</sup> ve T-ALL için >100.000/mm<sup>3</sup> olması ve T immunfenotipi prognozu etkileyen parametreler olarak dikkati çekmiştir.

### ERİŞKİN ALL DE RİSK BELİRLENMESİ (GMALL 06/99)

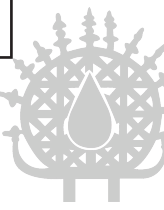
**Yüksek BK > 30.000/mm<sup>3</sup> pre-B ALL  
Subtip pro-B, erken T, erişkin T  
Geç TR >3 hafta  
Sitogenetik/moleküler t(9;22), BCR-ABL  
t(4;11)**



### RİSK

**Standart  
Yüksek  
Çok yüksek**

**Risk faktörü yok  
> 1 risk faktörü  
t(9;22)**



**İdame tedavisi:**

İdame tedavisi genel olarak 6-Merkaptopurin ve metotrekstat'ı içerir ve ortalama 2-3 yıl devam eder. Bazı protokollerde idame tedavisi vincristin ve prednisolon ile güçlendirilmiştir. İndüksiyon ve konsolidasyon sonrası transplantasyona başvurulmamış ise idame tedavisinin ihmal edilmesi sonuçları olumsuz etkilemiştir<sup>16</sup>.

	SR	YR	YH	T-ALL
Değerlendirilen hasta	291	351	216	304
CR (%)	87	85	70	86
Erken ölüm(<56g) (%)	3	3	17	5
5 yıl DFS (%)	47	27	16	51
5 yıllık hastalıklı yaş.(%)	55	32	24	57

**Santral Sinir Sistemi(SSS) Profeksi ve Tedavisi:**

SSS tutulumunu engellemek için genel yaklaşım metotrekstat (ve/veya ARA-C, steroid ) ile intratekal tedavi ve sistemik yüksek doz metotrekstat ve SSS nin ışınlanmasıdır. Bu kombinasyonlar ile SSS nüksü olasılığı %5 in altına iner. SSS ışınlanması hala tartışmalıdır. Erişkinlerde çocuk yaş grubu kadar uzun süreli toksisite yaratmıyorsa da ne zaman ve hangi hasta grubuna SSS ışınlanmasını uygulanacağı çok net değildir. Özellikle T-ALL, matür B-ALL ve tanıda yüksek lökosit sayılı hastalara mutlaka uygulanmalıdır. GMALL ın SSS ışınlanmasını ihmal ettiği çalışmalarda SSS nüksünde artış görülmüştür<sup>17</sup>.

Hastaların yaklaşık % 5 i SSS lösemisi ile prezante eder. Sito-pin preparatlarda mikrolitrede 5 lökositten fazla hücre mevcut ve morfolojik olarak lenfoblast olduğu anlaşılan olgular başlangıçta SSS tutulumu olarak kabul edilir. Bu hastalara remisyon indüksiyon evresinde sık (*haftada iki*) intratekal me-

**KAYNAKLAR**

1. R.Bassan et al. Adult acute lymphoblastic Leukemia. Critical Review in Oncology/ Hematology. 50:223-261,2004
2. Jones B, Freeman AI, Shuster JJ, et al.lower incidence of meningeal leukemia when prednisone is replaced by dexamethasone in the treatment of acute lymphocytic leukemia. Med Pediatr Oncol.19:269-275,1991
3. Hurwitz CA,Silverman LB, Schorin MA, et al.Substituting dexamethasone for prednisone complicates remission induction in children with acute lymphoblastic leukemia.Cancer, 88 :1964-1969,2000
4. Annino L,Vegna ML, Camera A, et al.Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia(ALL): Long-term follow up of the GIMEMA ALL 0288 randomised study. Blood,99: 863-871,2002
5. Larson RA,Dodge RK, Burns CP et al.A five-drug remission induction regimen with intensive consolidation for adults with acute lymphoblastic leukemia: Cancer and Leukemia Group B Study 8811.Blood,85:2025-2037,1995
6. Linker CA, Ries CA, Damon RE et al. Intensified and shortened chemotherapy for adult acute lymphoblastic leukemia. Blood , 90: 1485a,1997
7. Takeuchi J, Kyo T ,Miyawaki S,et al.Induction therapy with dose escalated adriamycin and four other drugs ,followed by intensive consolidation and maintenance therapy for adult ALL. The JALSG All93 Study.Blood,94:295a,1999
8. Mandelli MF,Annino L, Vegna ML, et al.Interim analysis of the GIMEMA ALL0496 trial for adult acute lymphoblastic leukemia(ALL). The Hematol J.1:692a,2001
9. Nagura E. Nation-wide randomised comparative study of doxorubicin, vincristine and prednisone combination therapy with and without L-sparaginase for adult acute lymphoblastic leukemia.Cancer Chemother Pharmacol,33:359-365,1994
10. Weiss M, Maslak P, Feldman E,et al. Cytarabine with high-dose mitoxantrone induces rapid complete remission in adult acute lymphoblastic leukemia without the use of vincristine or prednisone. J Clin Oncol,14:2480-485,1996

totrekstat tedavisine başlanmalı, likörde kayboluncaya kadar devam edilmeli ve hasta remisyon girer girmez SSS ışınlanması yapılmalıdır. CNS riskini önlemede BFM grubu 1800 cGy nin etkili olduğunu ortaya koymuştur<sup>18</sup>.

**ALL de Transplant Endikasyonları:**

ALL de 1.CR da transplant hala tartışmalıdır. Genel olarak kabul gören yaklaşım yüksek riskli hastalar 1.CR da uygun donör varlığında transplant yönlendirilmesi, buna karşın standart risk her hasta nüksedip 2.CR sağlandığında transplant endikasyonu konulmasıdır. GMALL bu endikasyona katılırken örneğin MRC/ECOG uygun 1.derece yakın donörü olan her hastaya allo-transplant önermektedir. Keza GMALL grubu yüksek riskli ve MUD donörü olan her hastaya transplant yapmaktadır.

ALL de ototransplantın rolü daha tartışmalıdır. IBMTR 1.CR da ototransplant olanların 3 yıllık yaşam oranını %43 olarak bildirmiştir. Bugüne kadar bildirilen yegane randomize çalışmada ise sonuçlar yeni update edilmiştir. Fransızların bu çalışmasında 922 hastanın % 84' ünde CR elde edilmiş ve yüksek riskli hastalar uygun donör varlığında allotransplanta alınır iken diğerleri konsolidasyon ve oto-transplantasyon olarak randomize edilmiş ve yüksek riskli bu grupta kemoterapi ile oto-transplant arasında fark tespit edilmemiştir (*5 yıllık hastaliksız yaşam OKIT için %25 kemoterapi için %13*).

**ERİŞKİN ALL TEDAVİSİNDE MRD DURUMUNU DİKKATE ALAN TEDAVİ YAKLAŞIMI**

MRD takibinin standart olarak her hastaya uygulanabildiği merkezlerde takriben ALL hastaların %90 da MRD değerlendirmesi için bir hedef bulma şansı vardır. MRD negatif hastaların (<10<sup>-4</sup>) prognozunu daha iyi olduğu bilinmektedir. Buna rağmen %10-20 hastada MRD negatif iken nüksler görülebilmektedir. Erişkinlerde MRD negatifleşmeye daha yavaş başlamakta ve pek az hasta MRD negatif olabilmektedir. GMALL çalışmaları indüksiyon tedavisinden sonra MRD düzeyinin 10<sup>-2</sup> olması durumunda nüks oranının %60 çıktığını göstermiştir. Bir yıl içinde mümkün olduğunca sık MRD takibi



11. Weiss M. Induction therapy of adult acute lymphoblastic leukemia without the use of vincristine or prednisone. In: *Advances in the Treatment of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia, Part II*, Kantarjian HM, Hoelzer D, Larson RA (eds). W.B. Saunders Company, Philadelphia pp.1-7, 2001
12. J.M. Rowe, G. Buck, A.K. Burnett et al. Induction therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia (ALL): Results of over 1.500 patients from the international ALL trial: MRC UKALL XII/ ECOG E 2993. *prepublished online August 2005;04-1623*
13. Durrant IJ, Prentice HG, Richards SM. Intensification of treatment for adults with acute lymphoblastic leukemia: Results of U.K. Medical Research Council randomised trial. *UKALL XA. Br J Haematol*, 99: 84-92, 1997
14. Annino L, Vegna ML, Camera A, et al. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): Long-term follow-up of the GIMEMA ALL 0288 randomised study. *Blood*, 99: 863-871, 2002
15. Gökbuket N, Arnold R, Buechner Th, et al. Intensification of induction and consolidation improves only subgroups of adult ALL: Analysis of 1200 patients in GMALL study 05/93. (abstract) *Blood* 2001;98:802a
16. Wernli M, Tichelli A, von Flidner V, et al. Intensive induction/consolidation therapy without maintenance in adult acute lymphoblastic leukemia: A pilot assessment. *Br J Haematol*, 87: 39-43, 1994
17. Goekbuget N, Aguion-Freire E, Diedrich H, et al. Characteristics and outcome of CNS relapse in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 94: 1287 a, 1999
18. Nesbit ME, Sather HN, Robison LE et al. Presymptomatic central nervous system therapy in previously untreated childhood acute lymphoblastic leukemia: Comparison of 1800 rad and 2400 rad: A report from the Children's Cancer Study Group. *Lancet* 1: 462, 1981
19. Gökbuket N, Hoelzer D: recent approaches in acute lymphoblastic leukemia in adults. *Rev Clin Exp Hematol*. 62; 114-141, 2002
20. Thomas X, Boiron JM, Huguet F, et al. Outcome of treatment in adult with acute lymphoblastic leukemia: Analysis of the LALA-94 trial. *J Clin Oncol* 22: 4075-4086, 2004
21. Pullen J, Shuster JJ, Link M, et al. Significance of commonly used prognostic factors differs for children with T cell acute lymphocytic leukemia (ALL), as compared to those with precursor B ALL. A pediatric Oncology Group (POG) Study. *Leukemia*, 13: 1696-1707, 1999
22. Czucman MS, Dodge RK, Steward CC, et al. Value of immunophenotype in intensively treated adult acute lymphoblastic leukemia: Cancer and leukemia Group B study 8364. *Blood*, 93: 3931-3939, 1999
23. Mahoney DH Jr, Shuster JJ, Nitschke R, et al. Intensification with intermediate-dose intravenous methotrexate is effective therapy for children with lower-risk B-precursor acute lymphoblastic leukemia: A Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol*, 18: 1285-1294, 2000
24. Brueggemann M, Droese J, Raff TH, et al. The prognostic significance of minimal residual disease in adult standard risk patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 98; 314a, 2001



# YAŞLI AKUT MİYELOSİTER LÖSEMİ TEDAVİSİ

Dr.Seçkin Çağırğan

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana bilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

**A**kut myelositer lösemnin (AML) insidansı yaşla artar ve Atanıda medyan yaş 65'dir. AML olgularının yarıdan fazlasını 60 yaş üstü hastalar oluşturur. Son 20 yılda genç AML hastalarının tedavisinde önemli gelişmeler yaşanmasına, kür olan hasta oranlarının artmasına karşın, yaşlı AML tedavisinde hala önemli sıkıntılar vardır ve standartlar yoktur.

AML'de uzun süreli hastaliksız yaşam ve kür için ulaşılması gereken ilk basamak tam remisyon sağlanmasıdır. Genç hastaların büyük çoğunluğu sitozin arabinozid ve antrasiklinden oluşan kombinasyon kemoterapisi için uygundur ve yaklaşık %70'inde tam remisyon elde edilir. 60 yaş üstü yaşlı AML hastalarının önemli bir kısmı, eşlik eden sağlık sorunları ve performans durumları nedeniyle remisyon indüksiyon tedavisi için uygun olarak değerlendirilmez; palyatif ve semptomatik yaklaşımlar. Remisyon indüksiyon tedavisi uygulanan hastalarda, genç hastalara göre tedavi ilişkili mortalite oranlarının gençlere oranla yüksek olması ve bu yaş grubunda AML'nin farklı biyolojik özellikleri nedeniyle remisyon oranı daha düşüktür. Hastaların ancak %30-50'sinde tam remisyon sağlanabilir. Remisyon sonrası tedaviler ile genç hastalarda medyan hastaliksız yaşam süresi yaklaşık 2 yıl ve total kür oranı %30-40 iken, yaşlı AML'li hastalarda genellikle kısa sürede relaps gelişir; hastaliksız yaşam süresi medyan 9-12 aydır ve hastaların çok azı 2 yıldan fazla yaşar.

Yaşlı AML hastalarının kombinasyon kemoterapisine gençlere göre daha dirençli olması daha çok hastalık biyolojisi ile ilişkili görünmektedir. Genç hastalar ile karşılaştırıldığında; 1. Sekonder AML oranı daha yüksektir. Hastaların önemli bir kısmında myelodisplaziye veya daha önce uygulanmış bir kemoterapiye sekonder AML söz konusudur. 2. Olumsuz prognozu tanımlayan 5 ve 7. kromozom anomalileri ile kompleks karyotipik bozukluklar yaşlı hastalarda daha sık, buna karşın iyi prognoz belirleyicileri olan t(8;21) ve inv16 genç hastalara göre belirgin olarak daha az bulunur. Akut promyelositik lösemi bu yaş grubunda oldukça nadir görülür. 3. Lösemik blastlarda intrensek ilaç direncine yol açan MDR1, MRP VE LRP ekspresyonu yaşlı AML'li hastaların önemli bir kısmında, %70'inde saptanır ve dirençli hastalık ve kısa yaşam süresi için bağımsız risk faktörleri olarak tanımlanmışlardır.

Remisyon indüksiyon tedavisinde ara-C/mitoksantron kombinasyonunun yaşlı AML hastalarında daunomisin kombinasyonuna göre anlamlı olarak daha yüksek oranda yanıt sağlayabileceğini gösteren çalışmalar yanı sıra kombinasyonda daunomisinin dozunda önemli olabileceğini gösteren çalışmalar vardır. 60 mg/m<sup>2</sup> daunomisin ile 30 mg/m<sup>2</sup>'ye göre anlamlı olarak daha yüksek oranda remisyon sağlanmıştır (%54 ve %43). Kombinasyona 6-tioguanin ilave-

si yanıt oranını artırabilir. İndüksiyon veya remisyon sonrası tedavide yüksek doz ara-C'nin hastaliksız yaşam süresine anlamlı bir şekilde katkıda bulunduğu genç hastalarda gösterilmesine karşın, yaşlı hastalarda bunun yararı açık değildir. Antrasiklinsiz FLAG rejimi ile yaşlı AML'li hastalarda yüksek oranda (%58) tam remisyon sağlanabileceği bildirilmiştir. Kemoterapi sonrası dönemde en önemli mortalite nedeni genç hastalarda olduğu gibi infeksiyonlardır. Genç hastalara göre ciddi infeksiyonlara karşı toleransları daha düşüktür. Yaşlı hastalarda kemik iliği düzelleme süresi genç hastalara göre daha uzun olabilir. Bu durum özellikle myelodisplaziye sekonder yaşlı AML'li hastalarda daha belirgindir. Uzamış aplazi dönemi mortalite riskini artıran önemli bir etkidir. Buna yönelik olarak nötropeni süresini azaltma amacıyla yaşlı AML'li hastalarda büyüme faktörleri G-CSF ve GM-CSF kullanılmış; uygulanan hastalarda nötropeni süresinde kısalma sağlanmasına karşın genellikle infeksiyon, mortalite, hastanede kalış, remisyon ve yaşam süreleri üzerine olumlu bir etkisi gözlenmemiştir. Bu nedenle büyüme faktörlerinin kullanımı bu grup hastalarda bireyselleştirilmelidir.

MDR1 fenotipi nedeniyle gelişen ilaç direncini aşmaya yönelik olarak siklosporin ve analogları direnç modülatörleri olarak çalışmalarda kemoterapi ile birlikte kullanılmış; bazı çalışmalarda olumlu etki gözlenmesine karşın, diğer çalışmalar bunu desteklememiştir.

Remisyon sağlanan yaşlı AML'li hastalarda en önemli sorun remisyonun devamlılığını sağlamaktır. Hastaların büyük çoğunluğunda 1 yıl içinde relaps gelişir. Durumu uygun hastalarda bir veya iki siklus daha kemoterapi verilmesi genellikle uygulanan yöntemdir. Ardışık olarak uygulanan düşük yoğunluklu idame tedavilerinin remisyon süresini uzatıp uzatmadığı açık değildir. Uzun süreli aylık 5 gün ara-C (SC)/daunomisin, ara-C/thioguanin idame tedavisinin remisyon süresini anlamlı olarak uzattığını gösteren çalışmalar vardır. AML blastlarında sıklıkla ekspresse edilen CD33'e karşı monoklonal antikor, Gemtuzumab Ozogamicin tek ajan olarak relaps AML hastalarında (*medyan yaş 61*) denenmiş ve hastaların %12'sinde tam remisyon elde edilmiştir. Tam remisyon sağlanan 60 yaş üstü hastalarda medyan yaşam süresi, genç hastalara göre daha kısa olmak üzere 11 ay olarak gerçekleşmiştir. Anti-CD33, diğer ajanlar ile kombinasyonda yaşlı AML'li hastaların tedavisinde alternatif bir tedavi yaklaşımı olabilir. Yaşlı AML'li hastalarda histon deasetiltransferaz inhibitörü olarak valproik asid tek başına veya all-trans retinoik asid ile kombine olarak, ayrıca VEGFR karşıtı bir antianjiyogenetik ajan kullanılmış, ancak belirgin bir etkinlik belirlenmemiştir.



Son yıllarda düşük yoğunluklu (*non-myeloablatif*) hazırlama rejimleri eşliğinde allojeneik hematopoetik kök hücre transplantasyonu yaşlı AML'li hastalarda da uygulanmaya başlamıştır. Transplant ilişkili ölüm oranı belirgin azalmasına

karşın, relaps riski myeloablatif transplantasyona göre daha yüksek gözükmetedir. İlk sonuçlar ümit vericidir ve graft versus lösemi etkisi ile yaşlı AML'li hastaların tedavisinde gelecekte önemli açılım sağlayabilir.

### KAYNAKLAR

1. Büchner T, et al. Treatment of older patients with AML. *C Rev Oncol Hematol* 2005;56:247.
2. Löwenberg B. Therapeutic approaches to the older patient with acute myeloid leukemia. In *EHA 5 Educational Book*, 2000; 61.
3. Leith CP, et al. Acute myeloid leukemia in the elderly: assessment of multidrug resistance and cytogenetics distinguishes biologic subgroups with remarkably distinct responses to Standard chemotherapy. *Blood*. 1997;89:3323.
4. Kantarjian H, et al. Results of intensive chemotherapy in 998 patients age 65 years of older with acute myeloid leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome.
5. Bashay A, et al. Non-antracycline based remission induction therapy for newly diagnosed patients with acute myeloid leukemia aged 60 or older. *Leuk Res*. 2006;30:503.
6. Larson RA, et al. Final report of the efficacy and safety of Gemtuzumab Ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first recurrence. *Cancer* 2005;104:1442.
7. Kuendgen A, et al. The histone deacetylase inhibitor valproic acid as monotherapy or in combination with all-trans retinoic acid in patients with acute myeloid leukemia. *Cancer* 2006;106:112.
8. Giles FJ, et al. The anti-angiogenesis agent, AG-013736, has minimal activity in elderly patients with poor prognosis acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2005;
9. Aoudjhane M, et al. Comparative outcome of reduced intensity and myeloablative conditioning regimen in HLA identical sibling allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for patients older than 50 years of age with acute myeloblastic leukaemia: a retrospective survey from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Leukemia* 2005;19:2304.
10. Kröger N, et al. Reduced-toxicity conditioning with treosulfan, fludarabine and ATG as preparative regimen for allogeneic stem cell transplantation in elderly patients with secondary acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:339.



# FİLADELFİYA KROMOZOMU POZİTİF AKUT LENFBLASTİK LÖSEMİDE TEDAVİ

Dr.Zahit Bolaman

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

## Filadelfiya kromozomu pozitif akut lenfoblastik leukemia da klinik özellikler

Filadelfiya (Ph) kromozomu 9 ile 22. kromozom arasında oluşan resiprokal translokasyonu t(9;22)(q34;q11) tanımlar. Bu translokasyon 22. kromozomu üzerindeki bcr bölgesinin 5' ucu ile 9. kromozomdaki abl proto-onkogeninin baş-kuyruk şeklinde füzyonuna neden olur<sup>1</sup>. Kansere özgü tanımlana ilk translokasyondur. Oluşan bcr-abl füzyon geni 210 kd (8.5 kb ağırlığında mRNA'sı bulunur) veya 190 kd ağırlığında protein (7.5 kb mRNA) oluşumundan sorumludur. Kronik myelositer leukemiada (KML) 210 kd; akut lenfoblastik leukemia (ALL) ve KML'de 190 ve 210 kd ağırlığında protein yapımı mevcuttur. Bu anormal füzyon proteinleri anormal tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Translokasyon (9;22)(q34;q11) ALL'de saptanılan en sık kromozomal anomalisidir. ALL hastalarının %20-30'nda bulunur. Yaş ile görülme sıklığı artar.50 yaş üzeri ALL hastalarında bulunma sıklığı %50 oranına ulaşmaktadır. Ph+ ALL hastaların fenotipi genellikle B hücreli ALL nadiren T hücreli ALL hastalarında olmaktadır. Bu hastalarda beyaz küre sayısı, CD19, CD10 ve CD34 antijenlerinin yüzey ekspresyonu; CD13 ve CD33 antijenlerinin co-ekspresyonu siktir. 60 yaş üzeri Ph+ ALL'de 5 yıl yaşam olasılığı %10'dan azdır. Bu hastalarda başlangıç döneminde santral sinir sistemi leukemia'sı sıklığı diğer ALL hastalarında farklı değil iken hastalığın seyri sırasında santral sinir sistemi leukemia tutulumu daha sık olmaktadır<sup>2</sup>. Ph+ ALL hastalarının tanısalla yaklaşımı bir özellik arz etmez. Hastaların büyük kısmında bir hafta içinde sitogenetik olarak Ph kromozomunun varlığı ortaya konulur. Özellikle yaşlı, prekürsör B-ALL ve myeloid antijenleri ekspresse eden hastalarda ve Ph kromozomunun varlığı aranmalıdır<sup>3</sup>.

## Yeni teşhis edilen Ph+ akut lenfoblastik leukemia da kemoterapi

İmatinib'in tedavide kullanılmadığı dönemlerde adult Ph+ ALL'in kemoterapi ile elde edilen sonuçlar iyi değildir. Ph-ALL'de kemoterapi ile hastaların %70-95 tam remisyon ve %30-40 oranında uzun süreli yaşam elde edilirken Ph+ ALL de %60-90 tam remisyon elde edilmekte ancak hastalarda uzun süreli yaşam olasılığı %10'dan az olmaktadır<sup>3,4</sup>. CALGB çalışmasında Ph+ ALL'de tam remisyon oranı %79 iken 5 yıl tam remisyon oranı %8'dir (diploid ALL'de %38)<sup>5</sup>. Kantarjian ve arkadaşları<sup>6</sup> hyper-CVAD kemoterapisi ile 32 Ph+ ALL hastasında %91 oranında tam remisyon elde etmiştir. Bu hastalarda 5 yıllık yaşam süresi %7'dir. Houout ve arkadaşlarının<sup>7</sup> çalışmasında 25 yaşlı Ph+ ALL hastasında steroid, vinkristin, siklofosamid ve antrasiklin kombinasyonu uygulanmıştır. Hastalardan 1'i kemoterapi verilemeden eksitus olmuştur. Diğer 24 hasta en azından 1 kez indüksiyon tedavisi almıştır. Bu tedavi ile hastaların %60'nda tam remisyon elde edilmiştir.

Toksik ölüm gözlenilmeyen bu çalışmada median hastaliksız yaşam 5.6 ay ve yaşam süresi 10.1 ay olarak rapor edilmiş olup Ph- ALL hastalarından farklılık göstermemektedir. Ph+ ALL'de genç ve tanı anında lökosit sayısı düşük olan hastalarda kemoterapi ile hastalık kontrol edilebilir. Günümüzde Ph+ ALL'de tam remisyon elde edilse bile imatinib ve veya kök hücre transplantasyonu gibi diğer tedavi seçenekleri tercih edilmektedir. Ancak erişkin Ph+ ALL olgularının büyük oranda myeloid antijenleri ekspresse etmesi nedeni ile sitarabin bazlı kemoterapi rejimleri ile daha iyi sonuçlar elde edilebileceği ileri sürülmektedir<sup>8</sup>.

## Ph+ akut lenfoblastik leukemia da kök hücre transplantasyonu

Ph+ ALL'de kemoterapi ile elde edilen sonuçların kötü olması nedeni ile remisyon elde hastalarda kök hücre transplantasyonu yapılması önerilir. Avivi ve arkadaşlarının<sup>9</sup> çalışmasında 27 Ph+ ALL hastasında 1.tam remisyonda kök hücre nakli yapılan hastalarda %65 oranında uzun süreli yaşam elde edilmesi bu tedavinin etkinliğini göstermektedir. Uluslar arası ALL çalışma gurubu 167 Ph+ ALL hastasından akraba tam uyumlu HLA donörü 49; akraba olmayan tam uyumlu HLA donörü olan 23, otolog transplantasyon yapılan 7 ve devamlı kemoterapi alan 77 hastanın sonuçlarını yayınlamıştır. Bu hastalarda tedavi ile ilişkili mortalite oranları sırası ile %37, %43, %14 ve %8 bulunmuştur. 5 yıllık takipte hastalığın tekrarlama olasılığı allojenik kök hücre transplantasyonu yapılan grupta %29 iken otolog kök hücre transplantasyonu veya kemoterapi alan grupta %81'dir. Aynı sürede yaşam oranı ise kök hücre transplantasyonu yapılan grupta %43; otolog kök hücre transplantasyonu veya kemoterapi alan grupta %19 olmaktadır<sup>10</sup>. Dombret ve arkadaşlarının<sup>11</sup> çok merkezli LALA 94 çalışmasında 154 adult Ph+ ALL hastasında indüksiyon ve konsolidasyon tedavi sonrasında %67 oranında (103 hasta) tam remisyon elde etmişlerdir. Hastaların %5'nde mortalite; %28'nde tedaviye direnç gözlenilmiştir. Tam remisyon elde edilen hastalardan 46'na allojenik, donörü olmayan 14'ne akraba dışı allojenik ve 43 hastaya otolog kök hücre transplantasyonu yapılmıştır. Bu hastalarda 3 yıllık yaşam süresi donörü olan grupta %37 olmayan grupta ise %12 olarak bulunmuştur. Transplantasyon sonrası 3 yıllık yaşam olasılığı BCR-ABL- olan hastalarda %53 iken BCR-ABL+ olan hastalarda %19'dur. Elde edilen tüm bu sonuçlar Ph+ ALL'de transplantasyon sonrası elde edilen sonuçların çok iyi olmadığını göstermektedir. Kök hücre transplantasyonu 2. veya 3. remisyonda %17 ve refrakter hastalıkta %5 olasılıkla etkin olmaktadır<sup>3</sup>.

## Ph+ ALL'de imatinib kullanılması

Rölaps ve refrakter Ph+ ALL'de imatinib: İntensif kombinasyon



yon tedavisi veya kök hücre transplantasyonu yapılan Ph+ ALL'de tedavi seçenekleri oldukça kısıtlıdır. Otmann ve arkadaşlarının<sup>12</sup> çok merkezli faz 2 çalışmasında 48 Ph+ ALL ve 8 kronik myeloid leukemia-lenfoid blastik kriz olan toplam 56 hastaya 400 veya 600 mg imatinib verilmiştir. Hastaların %40'nda 1. remisyon sonrası rölaps; %25'i 2.veya daha sonra rölaps ve %35'i refrakter olan olgulardan oluşmuştu. Tedavinin 1. haftasından sonra hastaların %60'nda hematolojik cevap, %19'nda tam remisyon elde edilmişti. Sitogenetik remisyon oranı %17 idi. Ancak elde edilen cevap oranları oldukça kısa süreli idi. Bu çalışmada 6. ayda progresyon göstermeyen hasta oranı %12, median yaşam süresi 4.9 ay bulundu. Hematolojik cevap elde edilen hastalarda median yaşam süresi 9.2; kısmı yanıt verenlerde 7.2 ve cevapsız hastalarda 3.2 ay spatanılmıştı. Bu hastalara allojenik kök hücre transplantasyonu uygulanır ise 1 yıllık hastaliksız yaşam oranı %51 olmaktadır<sup>13</sup>. Rölaps ve refrakter Ph+ ALL'de elde edilen bu sonuçlar imatinib'in bu hastalarda tek başına yeterli bir tedavi seçeneği olmadığını göstermektedir.

#### **Ph+ ALL'de kemoterapi ile birlikte imatinib kullanılması:**

Ph ALL'de indüksiyon ve konsolidasyon kemoterapisine imatinib'in eklenmesi ile antileukemik etkinin artacağı ve sekonder direnç gelişiminin azalacağı düşünülmüştür. MD Anderson Kanser Merkezinde yapılan bir çalışmada yeni tanı konulan Ph+ ALL hastalarına sekiz kez verilen indüksiyon/konsolidasyon (*alternate hyper-CVAD, methotreksat ve sitozin arabinosid*) esnasında her siklüsde 14gün süre ile imatinib verilmiştir. Bu tedaviyi 1 yıl süre ile idame oral 600 mg imatinib tedavisi izlemiştir. İmatinib tedavisi ilave bir toksisite oluşturmamaktadır. Ön sonuçlar bu kombinasyonun güvenli ve remisyon oranının yüksek; hastalara uygulanan kemoterapi ve imatinib tedavisi arasında bir sinerji olduğunu göstermiştir. Ancak bu tedavinin uzun süreli hastaliksız yaşam süresi üzerine etkisi açık değildir<sup>11</sup>. Thomas ve arkadaşları (14) 26 Ph+ ALL hastasında imatinib ile tedavinin median 21. gününde %96 oranında tam remisyon elde etmiştir. Aynı araştırmacılar 20 Ph+ ALL hastasında hyper-CVAD ve imatinib tedavisi ile hastalığı aktif olan 15 hastanın tümünde tam remisyon elde etmiştir<sup>15</sup>. Japon Adult Leukemia Çalışma Gurubunun yaptığı faz 2 çalışmada 24 Ph+ ALL hastasında kemoterapi ve imatinib kombine tedavi sonuçlarını rapor etmiştir. Bu çalışmada kemoterapi ve imatinib hastaların %95'inde ile tam remisyon elde edilmiştir. İmatinib hem indüksiyon hem de konsolidasyon tedavisi sırasında verilmiştir. 15 hastaya daha sonra allojenik kök hücre transplantasyonu uygulanmıştır<sup>16</sup>. Diğer araştırmacıların sonuçları da benzer şekildedir<sup>17</sup>. Hastalarda kemoterapi ve imatinib ile Sitogenetik remisyon elde edilme olasılığı %35-50 düzeyindedir.<sup>12-16</sup>. Tüm bu çalışmalarda imatinib'in optimal verilme şekli ve süresi henüz açıklığa kavuşmamıştır.

#### **Ph+ ileri yaş ALL'de tek ajan olarak imatinib kullanılması:**

Ph+ yaşlı ALL hastalarında tam remisyon oranının düşük, remisyon süresinin kısa ve tedavi ile ilişkili mortalitenin yüksek olması nedeni ile prognoz kötüdür. Ayrıca bu hastalarda komorbid nedenler ile tedavide kısıtlamalar olmaktadır. İmatinib'in yan etkisinin düşük olması nedeni ile yeni tanı konulan Ph+ yaşlı ALL hastalarında imatinib kullanılmıştır. İtalyanların GIMEMA çalışmasında 60 yaş üzeri 12 hastaya indüksiyon tedavisi olarak sadece prednizolon ile beraber 30 gün süre

ile imatinib 800 mg kullanılmış postremisyon tedavisi olarak da imatinib ile devam edilmiştir. Bu tedavi ile hastaların %92'nde tam remisyon elde edilmiş, 7 aylık izlem boyunca 8 hasta (%67) remisyonda kalmıştır<sup>18</sup>. GMALL araştırmasında yeni tanı konulan Ph+ yaşlı ALL hastalarında kemoterapi ile imatinib tedavisinin sonuçları karşılaştırılmıştır. Hastalar 4 hafta boyunca imatinib 600 mg veya kemoterapi almıştır. Tam veya kısmi remisyon elde edilen hastalarda imatinib verilmiştir. İndüksiyon tedavisi olarak imatinib alan hastaların %93'nde tam,%7'nde kısmi remisyon elde edilmiştir. Hastalarda tedavi ile ilişkili mortalite oluşmamıştır. İnfeksiyöz komplikasyonlar daha azdır<sup>19</sup>.

#### **Ph+ ALL'de konsolidasyon tedavisi olarak imatinib kullanılması:**

Allojenik kök hücre transplantasyonu öncesi bcr-abl ürünlerinin düşük düzeyde veya yokluğu Ph+ ALL de iyi risk faktörüdür. Konsolidasyon tedavisine imatinib'in eklenmesi PCR ile Ph+ kromozomunun pozitiflik oranında azalma ve kök hücre transplantasyonu sonrası rölaps olasılığını azaltır. Yapılan çalışmalar imatinibin ilk indüksiyon tedavisi sırasında tedaviye eklenmesinin yarar sağladığını göstermektedir<sup>3</sup>. İmatinib 800 mg dozunda kullanıldığında toksisiteyi artırabilir. Dellanoy ve arkadaşları yeni tanı konulan Ph+ ALL hastalarında indüksiyon tedavisi sonrası 2 ay süre ile deksametazon ve imatinib'in vermiştir. Daha sonra kemoterapi ile imatinib ve santral sinir sistemi leukemia için profilaksi alternate olarak kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar imatinib'in deksametazon'un antileukemik etkisini artırıcı yönde olduğunu destekler niteliktedir<sup>20</sup>.

#### **Ph+ ALL'de ilk seçenek olarak imatinib sonrası kök hücre transplantasyonu:**

Ph+ ALL'de imatinibin kemoterapiye ilave edilmesi ile elde edilen sonuçların iyileşmesi transplantasyon adayı hastalarda imatinib kullanılması yararlı olabileceğini desteklemiştir. Bu sorunun cevabı faz iki çalışmada araştırılmış sonuçlar historik olarak karşılaştırılmıştır. Yeni tanı koyulan 29 Ph+ ALL hastasına hyper-CVAD kemoterapisinin 1 siklüsden iyileşme sonrası imatinib 400-600 mg verilmiştir. Daha sonra hastalar konsolidasyon tedavisi almış ve tekrar imatinib kullanmışlardır. Hastaların %79'nde tam remisyon elde edilmiştir. 3 hastada imatinib tedavisi ile tam remisyon elde edilmiştir. Ancak 1 hastada kök hücre transplantasyonu öncesi imatinib kullanırken rölaps gelişmiştir. Toplam 25 hastaya kök hücre transplantasyonu uygulanmıştır. Transplantasyon sonrası hastalardaki rölaps, nonrölaps mortalite, hastaliksız yaşam süresi ve total yaşam süresi %3.8, %18.7, %78.1, ve %78.1 olarak saptanmıştır. Historik kontrolde hastaliksız yaşam süresi ve total yaşam süresi %38.7 olarak tanımlanmıştır<sup>21</sup>.

Ph+ ALL'de minimal reziduel hastalığın varlığında imatinib kullanımı: Ph+ ALL'de minimal reziduel hastalığın varlığı rölapsin erken bir göstergesidir. Eğer kök hücre transplantasyonu yapılan bir hastada minimal reziduel hastalığın varlığı ortaya konur ise imatinib yararlı olabilir. 29 hastayı içeren bir çalışmada transplantasyondan hemen sonra saptanılan minimal reziduel hastalığın varlığında başlanılan imatinib tedavisi ile median 1.4 ay içinde hastaların %52'nde RT-PCR ile reziduel hastalığın kaybolduğu gösterilmiştir. Bu hastalarda donör lenfosit infüzyonları belirgin bir yarar sağlamamıştır



(22). Transplantasyon yapılmayan hastalarda minimal reziduel hastalığın tedavisinde ko-morbid sorunlar nedeni ile güçlük yaşanılmaktadır. Transplantasyon veya indüksiyon kemoterapisi sonrası minimal reziduel hastalığı olanlara düşük doz interferon (3MÜ/haftada3 kez)'un yalnız veya imatinib ile verilmesi hastalarda remisyon sağlayabilir<sup>23</sup>.

#### **Ph+ ALL'de imatinibe direnç mekanizmaları:**

İmatinib verilen olgularda cevapsızlık imatinibe primer direnç, imatinib ile remisyon elde edilen ve tedavi sırasında rölaps gelişen olgulara sekonder direnç olarak adlandırılır<sup>3</sup>. İmatinibe direnç mekanizmaları başlıca olarak ATP bağlayan domainde veya BCR-ABL onkoprotein'in aktivasyon lupunda noktasal mutasyonlar, BCR-ABL füzyon geninde genomik amplifikasyon, BCR-ABL yazımında düzensizlik, çoklu direnç

proteinlerinin düzensizliği nedeni ile imatinibin hücre dışına atılması ve imatinib'in hücrel biyo-kullanılabilirliğinin azalmasına dayanmaktadır<sup>24,25</sup>.

#### **Ph+ ALL'de yeni ilaçlar:**

İmatinib'in Ph+ ALL'de ilk tedavi seçeneği olarak kullanılabilir olması sonrası yeni kinaz inhibitörleri geliştirilmiştir. Bunlarda ikisi AMN107 ve BMS354825 faz I ve II klinik çalışmalara girmiştir. AMN107 Bcr-Abl'nin yeniATP kompetitif inhibitörüdür.

BMS354825 SRC/ABL kinaz inhibitörüdür.

#### **KAYNAKLAR**

1. Kurzrock R, Gutterman JU, Talpaz M. The molecular genetics of Philadelphia chromosome positive leukemias. *N Engl J Med.* 1988;319:990-998.
2. Hoelzer D, Gokbuget N. Treatment of elderly patients with acute lymphoblastic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2000;36:49-58.
3. Ottmann OG and Wassmann B. Acute lymphoblastik leukemia: Older patients and newer drugs. *American Society Hematology Education Book* 2005;118-122.
4. Garcia-Manero G, Kantarjian HM. The hyper-CVAD regimen in adult acute lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2000;14:1381-1396.
5. 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;93:3983-3993.
6. Kantarjian H, O'Brien S, Smith TL, et al. Results of Treatment With Hyper-CVAD, a Dose-Intensive Regimen, in Adult Acute Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol* 200;18:547-561.
7. Houot R, Tavernier E, Le QH, et al. Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in the elderly: prognostic factors and treatment outcome. *Hematology* 2004;9:369-376.
8. Arico M, Valsecchi MG, Camitta B, et al. Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 2000;342:998-1006.
9. Avivi I, Goldstone AH. Bone marrow transplant in Ph+ ALL patients. *Bone Marrow Transplan* 2003;31:623-632.
10. Goldstone AH, Prentice HG, Durant J, et al. Allogeneic transplant (related or unrelated donor) is the preferred treatment for adult Philadelphia chromosome positive Ph<sub>+</sub> acute lymphoblastic leukemia (ALL). Results from the International ALL Trial (MRC UKALLXII/ECOG E2993) *Blood* 2001;98:856a (abstract).
11. Dombret H, Gabert J, Boiron JM, et al. Outcome of treatment in adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia—results of the prospective multicenter LALA-94 trial. *Blood.* 2002;100:2357-2366.
12. Ottmann OG, Druker BJ, Sawyers CL, et al. A phase 2 study of imatinib in patients with relapsed or refractory Philadelphia chromosome-positive acute lymphoid leukemias. *Blood.* 200-2;100:1965-1971.
13. Matloub Y, Asselin BL, Stork L, et al. Outcome of children with T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) and standart risk (SR) features: results of CCG 1952, CCG-1991 and POG 9404. *Blood* 2004;104:195 a (abstract).
14. Thomas D, Faderl S, Cortes J, et al. Update of the hyper-CVAD and imatinib regimen in Philadelphia (Ph+) positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2004;104(abstract).
15. Thomas D, Faderl S, Cortes J, et al. Treatment of Philadelphia (Ph+) positive acute lymphoblastic leukemia with hyper-CVAD and imatinib mesylate. *Blood* 2004; 103:4396-4407.
16. Towatari M, Yanada M, Usui N, et al. Combination of intensive chemotherapy and imatinib can rapidly induce high-quality complete remission for a majority of patients with newly diagnosed BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2004;104:3507-3512.
17. Ribera JM, Oriol A, Gonzales M, et al. Treatment of Philadelphia (Ph+) positive acute lymphoblastic leukemia with concurrent chemotherapy and imatinib mesylate. *Blood* 2004;104(abstract).
18. Vignetti M, Fazi P, Meloni G, et al. Dramatic improvement in CR rate and CR duration with imatinib in adult and elderly Ph+ ALL patients: results of the GIMEMA prospective study LAL02-01 *Blood* 2004;104(abstract).
19. Ottmann OG, Wassman B, Gokbuget N, et al. A randomized phase 2 study comparing imatinib with chemotherapy as induction therapy in elderly patients with newly diagnosed Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemias (Ph+ ALL). *Blood* 2004;104(abstract).
20. Delannoy A, Lheritier V, Thomas X, et al. Treatment of Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL) in elderly with imatinib mesylate (STI 571) and chemotherapy: an interim analysis of the GRALL AFR09 Trial. *Blood* 2004;104(abstract).
21. Lee S, Kim YJ, Min CK, et al. The effect of first-line imatinib interim therapy on the outcome of allogeneic stem cell transplantation in adults with newly diagnosed Philadelphia

chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2005;105:3449-3457.

22. Wassmann B, Peifer H, Stadler M, et al. Early molecular response to post-transplant imatinib determines outcome in MRD-positive in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL). Blood 1995;106: 458-463.
23. Wassmann B, Scheuring U, Peifer H, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate (Gliveca) in combination with interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) in Philadelphia chromosome-positive acute lymphob-

lastic leukemia (Ph+ ALL). Leukemia 2003;17:1919-1924.

24. von Bubnoff N, Schneller F, Peschel C, Duyster J. BCR-ABL gene mutations in relation to clinical resistance of Philadelphia-chromosome-positive leukaemia to STI571: a prospective study. Lancet 2002;359:487-491.
25. Hofmann WK, Komor M, Wassmann B, et al. Presence of the BCR-ABL mutation Glu255Lys prior to STI571 (imatinib) treatment in patients with Ph\_ acute lymphoblastic leukemia. Blood 2003;102:659-661.



# İLERİ YAŞ HASTALARDAKİ AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ TEDAVİSİ

Dr.Zahit Bolaman

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

**A**kut lenfoblastik leukemia (ALL) çocukluk çağı malign hastalıklarının %25'ni oluştururken erişkinlerde daha az sıklıkta görülmektedir. ALL 2-4 yaş çocuklarda 4-5/100.000 oranında gözlenirken erişkinlerde görülme oranı giderek azalır. 50 yaş üzerinde ise tekrar hafif bir artış gösterir (1/100.000)<sup>1</sup>. Çocukluk çağı ve genç adultlerdeki ALL tedavisindeki başarı ileri yaş gurubundaki hastalara yansımamıştır. İleri yaş gurubunda bir malign hastalığın ortaya çıkması genel durumun daha kolay bozulmasına neden olur. Kemoteropetiklere tolerans azalır. Hastanın tedavi yaklaşımında sınırlamalar oluşur. Hastada olası var olan diabetes, hipertansiyon, daha evvel geçirilmiş iskemik kalp hastalığı, serebral vasküler hastalık, renal fonksiyon bozukluğu, respiratuvar ve hepatik yetmezlik nedeni ALL de klinik belirtiler daha karmaşık hale gelir<sup>2</sup>. İleri yaş ALL denildiği zaman literatürlerin büyük kısmı 60 yaş gurubunu ele alırken bazı otörler 55 diğerleri ise 65 yaş ve üzeri gurubu hastaları ileri yaş ALL olarak değerlendirmiştir.

## Yaş ile ilişkili biyolojik farklılıklar

Çocukluk çağı, orta ve ileri yaş ALL'li hastalarda klinik ve biyolojik farklılıklar söz konusudur. 60 yaş üzeri ALL'li hastalarda erkek/kadın oranı 0.97 iken erişkin ALL'li hastalarda 1.75'dir. Yaşlı ALL'li hastaların %14'nde; erişkin ALL'li hastaların %3'nde evvelce bir başka malign hastalık bulunur. Yaşlı hastalarda lenfoid organların tutulumu da erişkinlerden farklılık gösterir. Yaşlı hastalarda yüzeyel lenfadenopati oranı %21 iken erişkin ALL'li hastalarda %51'dir. Keza mediastinal lenfadenopati yaşlı ALL'de beklenti değildir (%1 karşılık %14). Yaşlı ALL'li hastaların %26'nda splenomegali gözlenirken erişkin ALL'li hastaların %45'nde splenomegali mevcuttur. Hepatomegali ve santral sinir sistemi tutulumu yönünden bir farklılık bulunmaz. Kilo kaybı yaşlı ALL'de biraz daha sık gözlenirken; blastik ateş, enfeksiyon ve kanama olasılığı daha azdır. Hastaların laboratuvar verilerinde en önemli farklılıklar beyaz küre sayısında olmaktadır. Yaşlı ALL de BK sayısı 8.400/µL (500-520.000) iken erişkin ALL'de 13.200 (500-1.440.000) saptanmıştır. Buna karşılık hemoglobin düzeyi ve trombosit sayısında anlamlı bir farklılık mevcut değildir. Yaşlı ALL'li hastalardaki immünofenotipik özellikler erişkinlerden farklıdır. Erişkin ALL'li hastaların %66'nda B hücreli ALL gözlenirken yaşlı hastaların %89'nda B hücreli ALL gözlenir. Buna karşılık T hücreli ALL yaşlı hastalara göre erişkin hastalarda daha siktir (%8'e karşılık %29)<sup>3</sup>. Bazı otörler myeloid antijen ekspresyonunun yaşlı ALL'de erişkinlere göre daha sık olduğunu rapor etmektedir (%19'a karşılık %11). Bu hastalarda prognoz kötü seyirli olabilir. Baz otörler ise myeloid antijen ekspresyonunun bir farklılık oluşturmadığına inanmaktadır<sup>4,5</sup>. 1984-1999 yılları arasında Alman ALL Çalışma Grubunun (GMALL) 1984-1999 yılında 55-65 yaşındaki 342 hasta 15-54 yaş ALL'li hastaların karşılaştırıldığı çalışmada elde edilen

bulgular benzer niteliktedir<sup>6</sup>.

## Yaş ile ilişkili sitogenetik farklılıklar

ALL'li hastalarda sitogenetik anormalliklerin varlığı biyolojik heterojenite ile karakterizedir. Sitogenetik anormallikler tedavide güçlü ve bağımsız bir prognostik faktördür. Klonal kromozomal anormallikler erişkin ALL'de %85 iken 60 yaş üzeri hastalarda bu oran %13'tür. Filadelfiya (Ph) kromozomu yaş ile artma göstermekte ve tedavi daha dirençli olmaktadır. 40 yaş altındaki ALL'li hastalarda Ph kromozomu varlığı %18; 40-60 yaş gurubunda %46 ve 60 yaş üzerindeki hastalarda ise %35 olarak rapor edilmiştir<sup>7,8</sup>. Kanser ve Leukemia Grup B çalışmasında hastaların %76'nda kromozomal anormallik saptanılmıştır. Bu hastalarda Ph kromozom varlığı %28 olup 60 yaş üzerindeki hastalarda ise %33'tür<sup>9</sup>. Diğer çalışmalarda da PH kromozomu ile elde edilen sonuçlar benzerdir<sup>3,6</sup>. Buna karşılık kromozom 11q23 rearanjmanı yaşlı ALL'de %2 iken erişkinlerde %2 oranında gözlenir<sup>10</sup>.

## Yaşlı ALL'de tedavi yaklaşımı

Yaşlı ALL'li hastalar ile ilişkili ilk rapor 1996 yılında Bassan ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır<sup>5</sup>. Bu döneme kadar yaşlı ALL hastalarında yaklaşım hastaya tedavi vermeme veya kişiselleştirilmiş ya da de non-küratif olabilmekte idi. Bazı araştırmacılar ise yaşlı ALL hastalarını farklı bir grupta değerlendirmeden erişkin ALL olarak tedavi etmiştir. 1989 yılında Hussein ve arkadaşları<sup>11</sup> 50 yaş üzeri 40 hastayı içeren 15 yaş üzeri toplam 168 ALL'li hastada vinkristin, doksorubisin, prednison dan oluşan kemoterapi sonuçlarını yayınlamıştır. Bu çalışmada indüksiyon anında 50 yaş altında %79 tam remisyon elde edilirken %7 oranında ölüm gerçekleşmiştir. Ancak 50 yaş üzerinde tam remisyon oranı %35 iken ölüm oranı %50'dir. Benzer sonuçlar Hoelzer ve arkadaşları tarafından da yayınlanmıştır<sup>12</sup>. Bu nedenle yaşlı ALL'li hastalara verilen kemoterapideki kümülatif toksisite özellikle kardiyak toksisite nedeni ile hastalara yaklaşımda önemli sorun olup sıklıkla post remisyon ve idame fazlarında doz azaltılması gerekli olmaktadır<sup>13</sup>.

## Yaşlı ALL'de retrospektif çalışma sonuçları

Bu çalışmalarda araştırmacılar küratif veya palyatif kendi sonuçların rapor etmişlerdir. Delannoy ve arkadaşları<sup>14</sup> 18 yaşlı ALL hastasının 14'ünü OPAL (vinkristin, prednizolon, adriamisin, L-asparaginaz); 4'ünü MAV (metilprednizolon, adriamisin vinkristin) ve 1'ni vinkristin ve 6-merkaptopürin vererek tedavi etmiştir. Hastaların %44'nde tam remisyon elde edilirken; %28 hasta tedaviye dirençli ve diğer %28 hasta aplazi nedeni ile eksitus olmuştur. 1992 de Taylor ve arkadaşları<sup>2</sup> 60 yaş üzerindeki hastalarda (COAP, DAT, modifiye MACHO, UK ALL X) veya palyatif tedavi ile elde ettiği sonuçları yayınlamıştır. İn-





tesif tedavi alan 22 hastanın %36'nda cevap Hastaların 22'si intensif tedavi almış olup hastaların %36'nda cevap elde edilmiş %64 hasta tedaviye dirençli bulunmuştur. Bu oranlar palyatif tedavi alan hastaların %27 ve %73'tür. Ortalama yaşam süresi intensif kemoterapi alan gurupta 3 palyatif tedavi alan gurupta 1 aydır. Bu çalışma 2 yıl sonra genişletilmiş olarak rapor edilmiştir. Yaşlı 53 ALL'li hastanın 28'inde intensif kemoterapi ile %39 iken palyatif tedavi alan 25 hastada toplam cevap %36 elde edilmiştir. Her iki gurupta da toplam yaşam süresi 3 aydır<sup>15</sup>.

Spath-Schwalbe ve arkadaşlarının<sup>16</sup> 60 yaş üzeri 29 hasta üzerinde VIDAP (*vinkristin, daunorubisin, prednizon*) COAP (*siklofosfamid, vinkristin, sitarabin, prednizon*) GMALL (*vinkristin, sitarabin, prednizon, siklofosfamid, daunorubisin, 6-merkaptopurine, L-asparaginaz*) veya palyatif tedavi Vip (*vinkristin, prednizon*) ile hastaların %43'nde tam remisyona elde etmiştir. Toplam yaşam süresi 5 ay (*cevap verenlerde 9 ay*) olup hastaların %41'nde induksiyon tedavisi ile ilişkili mortalite gözlenilmiştir<sup>16</sup>. Ferrari ve arkadaşları<sup>4</sup> ALL GIMEMA protokolü ile tedavi gören 13 yaşlı ALL ve palyatif tedavi (*vinkristin ve prednizon*) alan 36 hastayı değerlendirilen bir başka çalışmada intensif tedavi alan gurupta %77 tam remisyona, %23 tedavi ile ilişkili mortalite gözlenirken palyatif tedavi alan gurupta ise %53 hastada tam remisyona, %18 hastada tedaviye direnç ve %23 hastada tedavi ile ilişkili ölüm gerçekleşmiştir. Hastalardaki ortalama yaşam süresi 5 tam remiyonda kalma süresi 5.5 aydır .

Legrand ve arkadaşlarının<sup>17</sup> 46 yaşlı ALL hastasını irdeleyen çalışmasında 25 hasta EORTC protokolleri ile, 21 hasta ise palyatif olarak vinkristin ve prednizon ile tedavi edilmiştir. Intensif tedavi alan hastaların %69'nda; palyatif tedavi alan hastaların %34'nde tam remisyona elde edilmiştir. Toplam tam remisyona oranı %43 olup hastaların %39'u tedaviye dirençlidir. Hastaların %18'i induksiyon anında eksitus olmuştur. Otörler düşük remisyona oranı elde edilmesinde ana faktör olarak tam remisyona süresi, kısa süreli yaşam süresi, yaş>70, Ph kromozom varlığı,WHO perfomans konumunun>2 ve beyaz küre sayısının>40x10<sup>9</sup>/L olmasının saptamıştır.

Pagano ve arkadaşları<sup>18</sup> 37 yaşlı ALL hastasını prognostik faktörlere bakmaksızın 2 yıl süre ile gözlemiştir. 25 hasta GIMEMA ALL-0183 and 0288 veya modifiye Magrath tipi protokolünü alırken; 12 hasta sadece vinkristin ve prednizon kullanılmıştır. Intensif tedavi alan hastalarda tam remisyona oranı %80,indüksiyon tedavisinde ölüm oranı %16 ve %4 hasta tedaviye dirençli bulunmuştur. Palyatif tedavi alan hastalarda ise %42 tam remisyona,%42 indüksiyon tedavisi ile ilişkili ölüm ve %16 direnç saptanılmıştır.Toplam tam remisyona ve yaşam süresi intensif tedavi alan gurupta daha iyidir (*13 ve 14 aya karşılık 4 ve 2.6 ay*).

Japonyada yapılan çok merkezli bir çalışmada 60 yaş üzeri 20 ALL'li hastanın 8'inde siklofosfamid ve antrasiklin kullanılmış 12 hasta konservatif olarak tedavi edilmiştir. Toplam remisyona oranı yaşa bakmaksızın %55 olan bu çalışmada median yaşam süresi 6.8 ay olup intensif tedavi alan hastalarda daha uzundur (*9.2 aya karşılık 4 ay*)<sup>19</sup>. Thomas ve arkadaşları da<sup>3</sup> 60 yaş üzeri 69 ALL'li hastayı değerlendirmiştir. Hastaların 5'i bir tedavi almadan eksitus olmuştur. 64 hastanın 1'i sa-

dece steroid ile tedavi edilmiş, 4 hastaya yanlış tanı nedeni ile AML tedavisi verilmiştir. Geriye kalan 59 hasta vinkristin, ± siklofosfamid, ± antrasiklin, ± bleomisin kombinasyonu ile tedavi edilmiştir. Hastaların %62'nde tam remisyona elde edilmiştir. Hastaliksız yaşam süresi 8.3 ay ve toplam yaşam süresi 7 aydır.

Retrospektif çalışmalar özetlendiğinde yaşlı ALL'li hastalarda ortalama cevap oranı %56 (%36-80) ve ortalama yaşam süresi ise 4.5 (3-9) aydır.

### **Yaşlı ALL'de prospektif çalışma sonuçları**

Çeşitli prospektif çalışmalarda ALL tedavisinde yaş dışlanma kriteri olarak değerlendirilmemiştir. GIMEMA tarafından yapılan çalışmada 60 yaş üzeri ALL'li hastalar ALL0288 çalışmasına dahil edilmiş ve 15-60 yaş gurubundaki hastalar ile aynı tedaviyi aldıktan sonra ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Tedavi süresi 30 ay olup pretedavi döneminde steroid kullanılmıştır. Tedavini iki induksiyon ve bir intensifikasyon fazı vardır. Cevap elde edilen olgular 6-merkaptopürin ve methotreksat ile idame tedavisi almıştır. Değerlendirmeye tabii tutulan 77 hastanın 36'ında (%47) tam remisyona elde edilmiştir. Hastaların 42'i induksiyon tedavisi sırasında kaybedilirken, 9 hasta %12) tedaviye refrakterdir. En kötü prognoz 70 yaş üzeri hastalarda gözlenilmiştir. Hastalarda iki yıl içerisinde relaps oranı %25, hastaliksız yaşam süresi %13 ve toplam yaşam süresi %19 dur<sup>20</sup>.

Kantarjian ve arkadaşları<sup>21</sup> 60 yaş üzeri ve altı ALL hastalarını VAD tedavisi sonrası değerlendirmiştir. Yaşlı ALL hastalarında tam remisyona oranı %58, induksiyon anında ölüm %12 ve dirençli hasta oranını %29 olarak rapor etmiştir. Bu oranlar 60 yaş altı ALL hastalarında %82, 53 ve 12 olarak rapor edilmiştir. Yaş>60, kötü performans konumu, löksositoz, hipoalbumemi, hiperbilirubinemi, böbrek yetmezliği ve tanı anında anormal karyotip varlığı kötü prognostik faktörler olarak değerlendirilmiştir. Bassan ve arkadaşları<sup>5</sup> ise 60 yaşından büyük 22 ALL hastada idarubisin ,vinkristin, prednizon ve L-asparaginaz tedavisi ile tam remisyona oranını %59, induksiyon anında mortalite%18, dirençli olgu %14 ve kısmi remisyona oranını %9 olarak rapor etmiştir.

Daunorubisin dozunun 30mg/m<sup>2</sup> haftada 1 olmak üzere 4 kez uygulandığı bir çalışmada 55 yaş üzerindeki ALL'li hastalarda tam remisyona oranı %85 (*60 yaş üzerindekielerde %82*) ve toplam yaşam süresini 14 ay (*60 yaş üzeri 10 ay*) olarak saptanmıştır. Bu çalışmada tam remisyona elde edilen hastalarda idame tedavisi olarak interferon (*3MÜ/m<sup>2</sup> haftada 3 kez*), methotreksat (*6mg/m<sup>2</sup> hafatada 1 kez*) ve 6-merkaptopürin (*20 mg/m<sup>2</sup> /gün*) 2 yıl süre ile verilmiştir<sup>22</sup>. Offidan ve arkadaşları<sup>23</sup> ekstra hematolojik yan etkileri azaltmak amacıyla yaşlı ALL tedavisinde lipozomal daunorubisin kullanmıştır. 7 hastalık bu seride tam remisyona oranı %64 ve hastaliksız yaşam süresi 6 aydır.

### **Yaşlı ALL tedavisinde yeni ilaçlar**

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda doz azaltımı veya ilaçların verilme şeklinin değiştirilmesi yaşlı ALL hastalarının seyrinde belirgin bir değişiklikler oluşturmamıştır. Bu hastalarda yeni ilaçlara ihtiyaç olduğu aşikardır. Ph pozitif ALL hastalarında imatinibin etkinliğinin anlaşılmasından sonra AMN107



(Novartis) ve dasatinib (BMS354825; Bristol-Myers Squibb) gibi ikinci jenerasyon ABL kinaz inhibitörleri faz II çalışmalarda imatinibe dirençli Ph pozitif ALL hastalarında uygulanmaya devam edilmektedir.

Rituximab yaşlı ALL'li hastaların tedavisinde bir umut olabilir. Thomas ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 17 yaşlı ALL hastasında Hyper-CVAD rejimine Rituximab eklenmesi ile hastaların tümünde cevap elde edilmiştir. Hastalarda 8-33 haftalardaki erken ölüm oranı %29'dur<sup>24</sup>. GMALL çalışmasında 55 yaş üzerindeki 19 hastada hastada rituximab kemoterapinin her siklüsü ile beraber verildiğinde %63 tam remisyon ve %54 bir yıllık yaşam süresi elde edilmiştir<sup>25</sup>.

## KAYNAKLAR

1. Ries LA, Smith MA, Gurney JG, et al. Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975-1995. Bethesda: National Cancer Institute, 1999.
2. Taylor PRA, Reid MM, Bown N, Hamilton PJ, and Proctor SJ. Acute lymphoblastic leukemia in patients aged 60 years and over: a population-based study of incidence and outcome. Blood 1992;80:1813-1817.
3. Thomas X, Olteanu N, Charrin C, Lheritier V, et al. Acute Lymphoblastic Leukemia in the Elderly: The Edouard Herriot Hospital Experience Am J Hematol 2001; 67:73-83.
4. Ferrari A, Annino L, Crescenzi S, Romani C. and Mandelli F. Acute lymphoblastic leukemia in the elderly: results of two different treatment approaches in 49 patients during a 25-year period. Leukemia 1995;9:1643-647.
5. Bassan R, Di Bona E, Lerede T, et al. Age-adapted moderate-dose induction and flexible outpatient postremission therapy for elderly patients with acute lymphoblastic leukaemia. Leukemia and Lymphoma 1996;22:295-301.
6. Gökbüget N, Hoelzer D, Arnold R, et al. Subtypes and treatment outcome in adult acute lymphoblastic leukemia less than or greater than 55 years. Hematol J 2001;1(Suppl 1):186.
7. Secker-Walker LM, Prentice HG, Durrant J, et al. Cytogenetics add independent prognostic information in adults with acute lymphoblastic leukemia on MRC trial UKALL XA. Br J Hematol 1997;96:601-610.
8. Groupe Francais de Cytogenetique Hematologique. Cytogenetic abnormalities in adult lymphoblastic leukemia: correlations with hematologic findings and outcome. Blood 1996;93:3983-3993.
9. 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;93:3983-3993.
10. Secker-Walker LM, Clark R, Hawkins JM, et al. Age distribution of good and poor risk chromosomal subgroups the first 1500 cases in the LRF UKCCG karyotype database in acute lymphoblastic leukemia. Br J Hematol 1997;97(Suppl 1):45.
11. Hussein KK, Dahlberg S, Head D, et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults with intensive induction, consolidation, and maintenance chemotherapy. Blood 1989;73:57-63.
12. Hoelzer D, Thiel E, Löffler H, et al. Intensified therapy in acute lymphoblastic and acute undifferentiated leukemia in adults. Blood 1984;64:38-47.
13. Pagano L, Mele L, Trape G, Leone G. The Treatment of Acute lymphoblastic leukaemia in the elderly. Leukemia and Lymphoma 2004; 45:117-123.
14. Delannoy A, Ferrant A, Bosly A, Chatelain C, et al. Acute lymphoblastic leukemia in the elderly. Europ J Haematol 1990;45:90-93.
15. Taylor PRA, Reid MM and Proctor SJ. Acute lymphoblastic leukaemia in the elderly. Leukemia and Lymphoma 1994;13:373-380.
16. Spath-Schwalbe E, Heil G, and Heimpel H. Acute lymphoblastic leukemia in patients over 59 years of age. Experience in a single center over a 10-year period. Ann Hematol 1994; 69:291-296.
17. Legrand O, Marie JP, Marjanovic Z, et al. Prognostic factors in elderly acute lymphoblastic leukaemia. Brit J Haematol 1997;97:596-602.
18. Pagano L, Mele L, Casorelli I, et al. Acute lymphoblastic leukemia in the elderly. A twelve-year single center, retrospective study. Haematologica 2000;85:1327-1329.
19. Nagura E, Minami S, Nagata K, et al. Analysis of elderly patients, aged 60 years old or over, with acute lymphoblastic leukaemia. Nippon Ronen Igakkai Zasshi, 1996;36:52-58.
20. Mandelli F, Annino L, Vegna ML, et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in the elderly: result of the GIMEMA ALL 0288 460 years trial. In Acute Leukemias VI. Prognostic factors and treatment strategies, edited by Buchner et al. 1997;6-88-694.
21. Kantarjian HM, O'Brien S, Smith T, et al. Acute lymphocytic leukaemia in the elderly: characteristics and outcome with the vincristine-adriamycin-dexamethasone (VAD) regimen. Br J Haematol 1994;88:94-100.
22. Delannoy A, Sebban C, Cony-Makhoul P et al. Age adapted induction treatment of acute lymphoblastic leukemia in the elderly and assessment of maintenance with interferon combined with chemotherapy. A multicentric prospective study in forty patients. Leukemia 1997;11:1429-1434.



- 23.** Offidani M, Corvatta L, Malerba L, et al. (High-dose Daunorubicin as liposomal compound in patients with ALL older than 60 years. Blood 2000;96: Abstr 4650.
- 24.** Thomas DA, Cortes J, Giles F, et al. The modified Hyper-CVAD regimen in newly diagnosed adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). Blood 2001;98(Suppl 1):Abstr 2474.
- 25.** Hoelzer D; Gokbuget N, Beck J, et al. Subtype adjusted therapy improves outcome of elderly with acute lymphoblastic leukemia. Blood 2004;104 (Suppl 1):Abstr 2732.
- 26.** Larson RA. Acute lymphoblastic leukemia: Older patients and newer drugs. American Society Hematology Education Book 2005;131-136.



# RELAPS AKUT MİYELOBLASTİK LÖSEMİ TEDAVİSİ

Dr.Önder Arslan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

Genç AML'li hastaların %70-80'inde tedavi ile remisyonda elde edilmesine ve uygun pekiştirme tedavileri yapılmasına rağmen hastaların %50'sinde nüks görülür. Nüksler çoğunlukla ilk 2 yılda olmakla birlikte, özellikle 1. yılda daha fazla oranda görülmektedir. Nüks sonrası tedaviler yetersizdir ve bu nedenle AML'de tedavi başarısızlığının en önemli nedeni hastalık nüksü olarak görülmektedir. Nüks gelişen hastalarda bugün için kullanılan çeşitli tedavi rejimleri ile ancak %50 tam remisyona (TR) elde edilebilmektedir<sup>1,2</sup>. Tercih edilen altın bir kurtarma rejimi yoktur. Elde edilen remisyona oranları düşük olmakla birlikte, ikinci remisyona süreleri de oldukça kısadır. Bu hastalardaki ortalama yaşam süreleri 3-12 aydır. Remisyona elde edilen hastalarda allogeneik kök hücre transplantasyonu pekiştirme amacıyla uygulanmalıdır. Transplant uygulanamayan TR2 elde edilmiş hastalarda uzun süreli yaşam %5-10 olarak bildirilmektedir. TR2 sonrası transplantasyon yapılan hastalarda ise 3 yıllık yaşam %10-41 arasındadır.

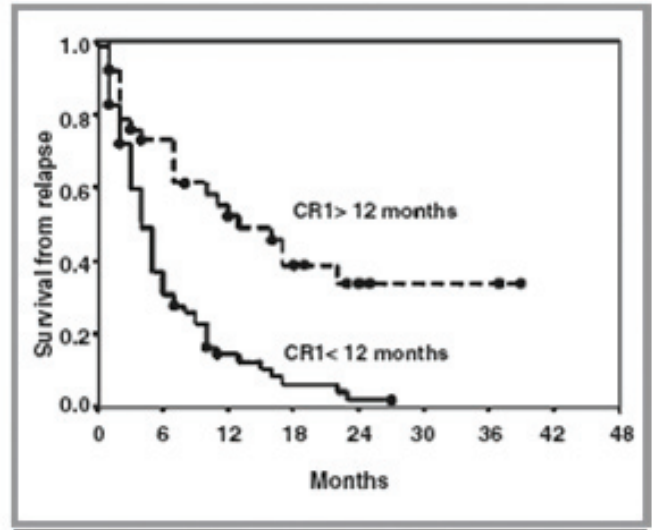
AML'de klasik olarak 3 çeşit nüks görülmektedir. Bunlardan en sık görüleni hematolojik nüksdür. Kemik iliğindeki blast sayısının >%5 olarak tespit edilmesi olarak tanımlanmaktadır.

Ayrıca özellikle M3 subtipinde görülmek üzere moleküler relapsta tanımlanmaktadır. Son olarak ise hastaların daha az bir kısmında ekstramedüller nüks görülebilmektedir. Bu bölümde sadece hematolojik nükslere yaklaşım ele alınmıştır. M3 subtipinde görülen nüksler de konu dışında bırakılmıştır.

Nüks AML'li hastaların değerlendirilmesinde kullanılan prognostik işaretleyiciler;

**1. Sitogenetik:** Tanı sırasında tespit edilmiş olan sitogenetik anomalilere göre AML'li hastalar düşük, orta ve yüksek (veya standart, iyi ve kötü) risk kategorilerine ayrılmaktadırlar. Nüks sırasında da bu veriler aynen korunabileceği gibi yeni sitogenetik anomalilerin de ilave olmuş olabileceği göz önüne alınarak yeniden değerlendirme yapılabilir. Nüks sırasında sitogenetik kategorizasyonun yenilenmesinin mutlak olduğunu gösteren çalışma yoktur. Tanı sırasındaki sitogenetik belirleyiciler aynen kullanılarak hastalar kategorize edilebilir. Nüks sırasındaki bu tasnif hastanın verilecek tedavi ile remisyona girip girmeyeceğini gösteren en önemli parametrelere birini oluşturmaktadır. Weltermann ve ark. yaptığı bir çalışmada iyi risk sitogenetiğine sahip hastalarda %88 TR elde edilirken, orta ve yüksek risk hastalarda bu oranlar sırasıyla %64 ve %36 olarak bulunmuştur. Yine aynı hastaların 3 yıllık yaşam süreleri sırasıyla %43, %18 ve %0 olarak tespit edilmiştir<sup>3</sup>. Sitogenetik hastada remisyona belirlenmesinde dikkate alınması gereken en önemli parametredir.

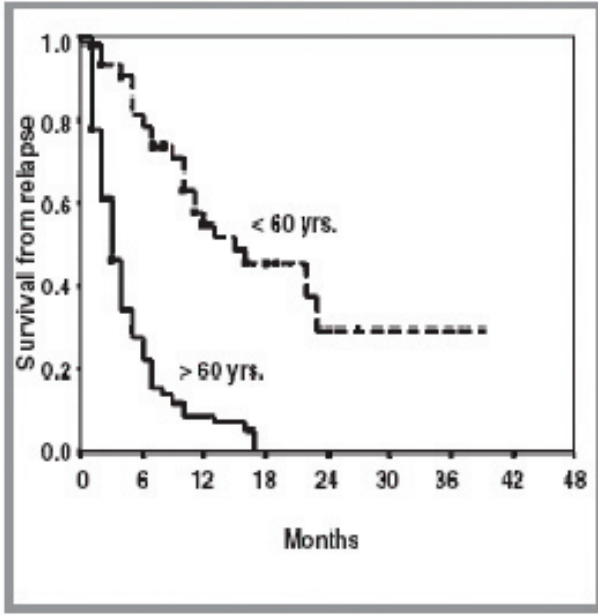
**2. İlk remisyona süresi:** Nüks kadar geçen süre tedavide alınacak başarının göstergelerinden biridir. Genellikle <12 ay nüks görülen hastalarda tedavi ile remisyona elde etme olasılığı >12 ay sonrasında nüks görülenlere göre daha azdır. Bir yıldan önce nüks görülen olgular kötü prognostik olarak değerlendirilir ve bu olgular çoğunlukla kötü veya orta sitogenetik özellik taşıyan hastalardır. Ferrara F ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TR1 sürelerine göre tedavi sonrası yaşam süreleri Şekil 1'de gösterilmiştir (p=0.0001)<sup>4</sup>. Rees ve arkadaşlarının çalışmalarında ise TR1 süresi <12 ay olan 251 hastada TR2 oranı %19 iken, TR1 süresi en az 12 ay olan 234 hastada remisyona oranı %48 olarak bulunmuştur<sup>5</sup>. TR1>12 ay ise genellikle ilk indüksiyon tedavisinde verilen ajanlar tekrarlanabilirken, TR1<12 ay ise farklı tedavi yaklaşımları uygulanmalıdır. TR1 süresi <12 ay olan genç hastalar deneysel tedavilere adaydırlar.



**Şekil 1:** 101 hastanın nüks görülme zamanlarına göre sağlanan yaşam süreleri (p=0.0001)

**3. Yaş:** İleri yaş hastalarda nüks sonrası tedavi ile elde edilen başarı daha düşük olmaktadır. Ferrara F ve arkadaşlarının çalışmalarındaki veriler Şekil 2'de gösterilmiştir<sup>5</sup>. Rees ve arkadaşlarının yaptıkları oldukça fazla sayıda hastayı içeren retrospektif bir çalışmada 375 genç hastada TR2 oranı %33 bulunurken, 110 ileri yaş hastada bu oran %19 olarak saptanmıştır<sup>5</sup>. Yaşa göre TR2 oranlarına ait çalışmalar Tablo 1'de özetlenmiştir<sup>5</sup>.

**Şekil 2:** Hastaların yaşlarına göre TR2 elde edilme oranları. (p=0.001)



4. Lokal tedavi ve arkasından sistemik konsolidasyon (ekstramedüller nüksler)
5. Tedavisiz takip

**Orta veya yüksek doz Ara-C içeren kombine kurtarma tedavileri**

2002 yılında yapılan bir derlemede bu tarihe kadar 20'nin üzerinde olgu içeren nüks AML çalışma sayısı literatürde 31 adet olarak bulunmuştur (2). Bu çalışmalardan 10'u retrospektif, 21'i ise prospektif çalışmalardır. Bu çalışmalarda konvansiyonel dozlar ile yüksek dozlarda Ara-C kullanılmakla birlikte %30-64 arasında değişen oranlarda TR2 elde edilmiş ve remisyon süreleri ise 3-7.5 ay sürmüştür. Bu hastaların 3 yıllık ortalama yaşam süreleri ise %8-22 olarak saptanmıştır. Tedaviye bağlı erken ölüm oranları ise %8-32 arasında değişmektedir.

**Tek ajan içeren prospektif faz II çalışmalarda** ise TR' oranları %8-25 arasında bulunmuştur. Tek ajan olarak yüksek doz Ara-C (YD-Ara-C) ile ise %40 oranında TR oranları bildirilmiştir.

**Tablo 1:** Refrakter ve relaps AML'de yaşa göre TR2 oranları<sup>2</sup>

Referans	< 60 yaş altı (TR2 %)			≥ 60 yaş ve üzeri (TR2 %)		
	TR2/n*	TR2 (%)	CI	CR2/n*	TR2 (%)	CI
<b>Retrospektif çalışma</b>						
Rees (1986)(5)	124/375	33	26-38	21/110	19	2-28
Keating (1989)(6)	75/208	36	29-42	5/35	14	5-30
Hiddemann (1990)(7)	56/104	54	44-64	14/32	44	26-62
Davis (1993)(8)	-	40	-	-	40	-
Angelov (1991)(9)	24/35	69	51-83	7/20	35	15-59
MacCallum (1993)(10)	12/19	63	38-84	4/6	67	22-96
Letendre (1984)(11)	8/20	40	19-64	1/4	25	1-81
<b>Prospektif çalışma</b>						
Kern (1998)(12)	67/138	49	40-57	21/48	44	40-57
Harousseau (1989)(13)	14/23	61	39-80	7/12	58	39-80
Sternberg (2000)(14)	10/22	45	24-68	19/25	76	55-91

**4. Daha önceki almış olduğu tedavi:** Sırasıyla allogeneik veya otolog hematopoietik kök hücre tedavisinde sonra nüks eden hastalar, kemoterapi sonrası nüks eden hastalara göre daha kötü prognostik özelliğe sahip olarak kabul edilirler. Kemoterapiler sonrası görülen her nüks ise sağlanabilecek remisyon oranlarını azaltmaktadır.

**5. Tedavi öncesi hastanın performans durumu**

Nüks AML'de tedavi yaklaşımları

1. Kurtarma tedavileri (genellikle yüksek veya orta doz ara-c içeren)
2. Up-front allo-tx (düşük oranda kemik iliği infiltrasyonu gösteren olgularda)
3. Deneysel yaklaşımlar

tır. YD-Ara-C nüks AML'de kullanılan en etkili ajan olarak kabul edilmektedir.

Kombine tedaviler ile remisyon oranları daha yüksek olmakla birlikte uzun süreli myelosupresyon ve erken ölümler daha fazladır, ayrıca kombine tedavilerin yaşam süresine etkileri yoktur. En iyi sonuçlar orta ve yüksek doz içeren Ara-C alan iyi veya orta sitogenetik işaretleyicilere sahip hastalarda gözlenmiştir. Altın standart bir kurtarma tedavisi yoktur. Genellikle seçim hekimin deneyimine kalmıştır. Tedavi antilösemik etkinliği fazla ancak ekstreahematolojik yan etkileri az olmalıdır. Kurtarma tedavileri daha sonradan uygulanması gereken özellikle allo-tx için bir köprüdür.



**Prospektif randomize faz II kombine kemoterapi rejimleri** ile %14-87 oranında remisyon oranları bildirilmiştir. Erken ölüm oranları %3-24 arasında değişmektedir. Bu tedaviler ile hücre toparlanma süreleri nötrofil için 17-31 gün, trombosit için 21-47 gündür. Grade 3-4 infeksiyon oranları %17-83, hepatik toksisite %0-20 ve grade 3-4 mukozit ise %0-50 arasında bulunmuştur. Kombine tedavi rejimleri sonrası ise TR2 süreleri 3.3-13 ay ve 3 yıllık yaşam süreleri %11-29 arasında değişmiştir. Bu kombine tedaviler ile tek ajan tedavilere göre daha yüksek oranda TR2 oranları bildirilmekle birlikte önemli derecede toksisite artışı gözlenmiştir. Yaşam sürelerinde ise belirgin bir iyileşme gözlenmemiştir. %29 ile en yüksek yaşam süresini veren çalışmada hastaların hemen yarısı TR2 sonrası transplantasyona gitmişlerdir. Bu çalışmalardan %87 ile en yüksek TR oranı elde edilen çalışmada düşük doz Ara-C, aclarubisin ve G-CSF kullanılmıştır. Ancak çalışmadaki hasta sayısı azdır ve olguların çoğunun TR1 süreleri oldukça uzundur. En sık olarak kullanılan rejimlerden biri olan EMA protokolü ile %76 remisyon oranı bildirilmektedir ancak bu protokolün ise en önemli dezavantajı aşırı toksik oluşudur. Tedavi sonrası nötrofillerin toparlanma süresi 31 gün, trombositlerin toparlanma süresi 47 gündür. Bu rejim sonrası olguların %54'ünde grade 3-4 infeksiyon, %24'ünde ise grade 3-4 mukozit görülmüştür. Özellikle 60 yaşın üzerindeki hastalara verilemeyecek bir tedavi rejimidir.

**Faz III prospektif randomize** ise 4 çalışma bulunmaktadır (Tablo 2)<sup>2</sup>. TR' oranları %40-89 olup, ortalama remisyon süreleri 3-25 ay, ortalama yaşam süreleri 5-10 aydır. Ortalama 3 yıllık yaşam oranları ise %8-18 arasında değişmektedir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde hiçbir rejim ön plana çıkmamaktadır ve tedavilerden sonra gözlenen toksisite oldukça önemli problem oluşturmaktadır. Son yıllarda fludarabin'in orta doz Ara-C ile kombine edilme-

nin yanıt oranlarını arttırdığı gözlenmiştir (20). Ancak G-CSF kullanılmayan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. MRC çalışmasında ise G-CSF ilavesinin önemli olmadığı gösterilmiştir<sup>21</sup>. Antrasiklinlerin ilave edilmesi de belirgin değişikliğe neden olmamaktadır. Pastore D ve ark refrakter/relaps AML'de fludarabine+yüksek doz Ara-C +idarubisin ve G-CSF kombinasyonunun toksisitesi ve etkinliğini araştırmışlardır.<sup>22</sup> 46 hastaya bu kombinasyon verilmiştir. Ara-C, etopozid, daunorubicin/mitoksantron sonrası nüks olan 30, otolog-SCT sonrası nüks olan 4 ve allo-SCT sonrası nüks olan 2 hasta bu tedaviyi almış. 10 hasta ise refrakter olarak tanımlanmış olarak bu tedaviyi almıştır. TR %52 olarak bulunmuştur. Nötrofil toparlanması 19-22.günlerde olmuş. 10 hasta ortanca 13 aylık takiplerde remisyonunda tespit edilmiş ve FLAG-IDA'nın refrakter relaps AML de tolere edilebilir etkili bir tedavi rejimi olduğu belirtilmiştir.

AML'de ppg ekspresyonu yeni tanıda %20-30, nüks etmiş olgularda %30-50, sekonder AML'de %70 ve tedaviye bağlı gelişen olgularda %90 oranında görülmektedir. Uygulanan kemoterapi programlarına MDR-1 proteinin inhibe eden CsA veya PSC 833 gibi ajanların ilave edilmesinin yapılan randomize çalışmalarda klinik önemlerinin olmadığını göstermiştir. Eastern Cooperative Oncology Group'un 113 nüks/refrakter AML'li olguda yaptığı çalışmada Mitoksantron, Etopozid ve ARA C'nin tek başına kullanımı ile PSC 833 ile kombine kullanımı arasında herhangi bir avantaj saptanmamıştır. The Cancer and Leukemia Group'un yaşlı AML'li olgularda yaptığı çalışmada Sitarabin, Dounomisin ve Etopozid alan kol ile doz redüksiyonu yapılmış olarak PSC-833 ile kombine grup karşılaştırılmıştır. PSC-833'li grupta aşırı erken ölüm nedeniyle çalışmaya son verilmiştir. Bu nedenle rutin uygulamalarda önerilmemektedirler.

**Tablo 2:** Faz III Prospektif randomize çalışmalar<sup>2</sup>

Referans	Tedavi	Yaş	TR1 süresi (ay)	TR2/n	TR2 (%)	TR2 (ay)	Genel sağkalım (ay)	3 yıl hastalısız yaşam oranı (%)
Kern (1998)(15)	HiDAC+Mito	50(18-60)	-	38/73	52	5	5	-
	IDAC+Mito	50(18-759)	-	50/113	44	3	-	-
Vogler (1994)(16)	HiDAC	-	-	19/47	40	12	5	8
	HiDAC+ E	-	-	20/44	45	25	5	12
Thomas (1999)(17)	EMA	46(16-65)	>6	29/36	81	4	8.5	18
	EMA+GM	47(17-65)	>6	32/36	89	5	10	18
Ohno (1994)(18)	Ara-C+Mito+E	47(16-66)	-	11/26	42	14	-	-
	Ara-C+Mito+E+G	43(18-63)	-	13/24	54	12	-	-

si ve G-CSF ilavesi ile (FLAG) %50'yi aşan oranlarda remisyon oranları elde edilmiştir<sup>19</sup>. Bu kombinasyona antrasiklinlerin ilave eden çalışmalarda vardır. Bu kombinasyonlardaki temel prensip fludarabin ve Ara-C'nin sinerjistik etkileşimi ile hücre içi aktif metabolit olan Ara-CTP düzeylerinin artmasıdır. Fludarabin ilave edilmesi sitotoksitesini arttırmaktadır. G-CSF'nin rolü ise lösemik hücreleri proliferasyona iterek onları kemoterapiye daha sensitif hale getirmesi yanı sıra tedavi sonrası nötropeni dönemini kısaltmalarıdır. Randomize olmayan çalışmalarda bu kombinasyona G-CSF ilave edilmesi-

#### Relaps AML'de etkili olabilen deneysel yaklaşımlar

1. Monoklonal antikolarlar (gemtuzumab ozogomycin)
2. Flt3 inhibitörleri (CEP 701-Cephalon, SUS416, SU11-248-SuGen, SUS 614, PKC412-Novartis)
3. Farnesil transferaz inhibitörleri (Tipifarnib-Zarnestra-R115777)
4. Nükleozid analogları (clofarabin, troxacitabine)
5. Apoptozu indükleyen ajanlar (bcl-2 inhibitörleri) (G3139-Genasense-Oblimersen)
6. MDR gen modülatörleri (CsA, PSC833)

7. Hipometile edici ajanlar (desitabine)
8. Histon deasetilaz inhibitörleri (SAHA, valproic asit, depsipectit)
9. Antiangiogenik ajanlar (thalidomide, anti-VEGF-Bevacizumab, SU5416)
10. Proteozom inhibitörleri (Bortezomib).

Thalidomide, refrakter/relaps AML'li 16 hastayı içeren faz II çalışmada 200-800 mg p.o./gün (*median doz 400 mg/gün*) kullanılmıştır. Tedavi süresi ortanca 27 gün (3-94) olarak bulunmuştur. Bir hastada %6 TR (36 ay), 2 hastada geçici blast azalması görülmüş, toksisite 400mg/gün dozunun üzerine çıkılmasına izin vermemiştir. Bu çalışmada çok aktif bir ajan olarak kabul edilmemiş ve hematoloji cevap ile antiangiogenik etki arasında korelasyon bulunmamıştır<sup>23</sup>

Topotecan, topoisomerase I inhibitörü, özellikle MDS ve CMMML'de kullanımı vardır. 12 refrakter, 40 relaps AML'li hastayı içeren bir çalışmada Cy 500 mg/m<sup>2</sup> / 12 saatte bir 1-3.gün, topotecan 1.25 mg/m<sup>2</sup>/devamlı infüzyon ile 2-6gün ve Ara-C 2 g/m<sup>2</sup> 4 saatlik infüzyonlarla 2-6 günler arasında uygulanmıştır<sup>24</sup>. Hastaların ortanca yaşı 57 (8 to 79)'dir.

Toplam yanıt 12 (%23) hastada sağlanmıştır. Bunlardan 10'unda TR(%19), 2'sinde ise kısmi yanıt elde edilmiştir (Trombosit sayıları < 100x10e9/L). Non-hematologic toksisite olarak en çok gastrointestinal sistem yan etkileri olguların %8'inde görülmüştür.

Sung WJ ve ark. faz II bir çalışmada, 51 relaps ya da refrakter akut lösemi olgusuna (29 AML) amsacrine + Ara-C (orta doz) +Etoposide kombinasyonunu kullanmışlardır (25). Toplam TR oranı AML'li hastalarda %45, ALL'de %68 olarak bulunmuşlardır. Genel sağkalım 144 gün olarak saptanmıştır. Grade 3-4 infeksiyon olguların %87'sinde görülmüştür. Myokardit ve SSS toksisitesi 2 olguda gözlenmiştir.

Li JM ve ark. ise 112 hastada aclarubicin + Ara-C (düşük doz) ve G-CSF kombine rejimini kullanmışlardır. Ara-C 10 mg/m<sup>2</sup> x 2/gün (1-14 gün arası), aclarubicin: 14 mg/m<sup>2</sup>/gün (1-4 gün arası) (A kolu veya 7 mg/m<sup>2</sup>/gün (1-8 gün arası) (B kolu), G-CSF: 1-14 gün arası uygulanmıştır. (26). Toplam TR oranı refrakter olgularda %48.4, relaps AML olgularında ise %44.4 olarak bulunmuştur. Çok önemli nonhematolojik toksisite görülmeyen çalışma etkin bir tedavi olarak değerlendirilmiştir.

Pirarubicin ise Li QH ve ark. tarafından 40 (E/K:26/14) hastada denenmiş bir ajandır. Bir kola Pirarubicin + Ara-C verilirken diğer kontrol koluna mitoksantron + Ara-C kullanılmıştır (27). Toplam yanıt, tam yanıt ve kısmi yanıt oranları pirarubicin kolunda sırasıyla %72,5, %47.5 ve %25 olarak bulunurken aynı cevap oranları kontrol kolunda sırasıyla %65, 45% ve %20 olarak bulunmuştur. Remisyon süresi pirarubicin kolunda 528 güne karşılık 463 gün ile anlanlı olarak daha uzundur. Myelosüpresyon ve enfeksiyon oranları çalışma grubunda yüksek bulunmuştur. Kontrol grubuna göre daha etkili bir tedavi protokolü olmakla birlikte daha ciddi myelosüpresyon ve enfeksiyon riski vardır.

Cladribine+Ara-C+G-CSF+Mitoksantrone 43 olguyu içeren (25 primer rezistan, 18 relaps) çok merkezli, faz II çalışmada

kullanılmıştır. 2-CdA 5mg/m<sup>2</sup>; Ara-C 2g/m<sup>2</sup>; Mitoksantrone 10 mg/m<sup>2</sup> dozunda kullanılmıştır<sup>28</sup>. Kısmi remisyon elde edilenlere aynı protokol ile reindüksiyon verilmiştir. Tam yanıt elde edilenlere ise aynı tedavi konsolidasyon olarak uygulanmıştır. ARA-C + Mitoksantrone ± 2 CdA konsolidasyonu verilmiştir. Hastaların 21 (%49)'inde TR, elde edilirken, 20 (%47) hasta refrakter kalmıştır. 2 (%5) hastada ise erken ölüm olmuştur. 1 yıllık tüm olgularda toplam sağkalım %43 iken, remisyon giren hastalarda %73 olarak saptanmıştır. Hastalısız sağkalım ise %68,6'dır. Bu sonuçlarla bu rejim, pek çok protokole göre daha az yan etki profiline sahip, görece daha etkili bir protokol olarak değerlendirilmiştir.

Gemsitabin tek başına veya diğer ajanlarla kombine olarak solid ve lenfoid malignitelerin tedavilerinde kullanılmaktadır. Rizzieri ve ark'nın çalışmasında 10 mg/m<sup>2</sup>/gün gemsitabin, 12 mg/m<sup>2</sup>/gün mitoksantron ile 3 gün boyunca verilmiştir (29). Nüks/refrakter 26 olguda yanıt oranı %42, TR oranı %25 olarak saptanmıştır. Ciddi myelosüpresyon ve mukozit en sık gözlenen doz kısıtlayıcı toksisiteler olarak görülmüştür.

Klofarabin fludarabin ve kladrininin önemli antitümör özelliklerinin bir arada bulunabildiği bir moleküldür. Nükleozid metabolizmasında etkili olan DNA polimerazı ve ribonükleotid redüktazı inhibe ederek etki gösterir. Akut lösemili olgularda yapılan Faz 1 çalışmalarda 55mg/m<sup>2</sup> i.v. olarak 1 saatten uzun süren infüzyonlarla her 3-6 haftada bir 5 gün verilen tedavilerde doz kısıtlayıcı yan etki olarak geçici hepatik fonksiyon bozukluğu olduğu gözlenmiştir. Refrakter veya nüks akut lösemili olgular da tedaviye yanıt oranı %16 olarak saptanmıştır<sup>30</sup>. Devam etmekte olan çalışmalarda AML'li olgularda klofarabin ile kombine Ara C ve antrasiklin kullanımının tedavideki başarısı değerlendirilmektedir.

Hum 195(CD 33 antikoru) CD 33 AML hücrelerinin hücre yüzeylerinde %90 dan fazla oranında eksprese edilmektedir. Genç AML'li relaps olgularda kemoterapi ile kombine, yaşlı tedavi alamayacak olgularda tek başına kullanılmaktadır. Gemtuzumab ozogamicin (GO) (*myelotarg*) (*yaşlı AML'de relaps hastalarda FDA onaylı ajan*) rekombinant insan CD33 monoklonal antikoru ile potent bir antitümör antibiyotik olan calicheamicinin kombinasyonundan oluşmaktadır. Relaps/refrakter 50 AML'li hastada yapılan bir çalışmada 3 hastada TR elde edilmiştir<sup>31</sup>. Bu hastalarda tedavi öncesi blast oranları %30'un altında olması nedeniyle düşük tümör yüküne sahip hastalarda kullanılabileceği düşünülmüştür.

191 relaps/refrakter AML'li hastayı içeren faz III randomize çalışmada mitoksantron, etoposide, ve Ara-C HuM195 ile birlikte kullanılmıştır<sup>32</sup>. Antikor kullanılan grupta 36% toplam yanıt (TR + TRp) elde edilirken, antikor içermeyen grupta bu oran %28 bulunmuştur (P = 0.28).

İlk nüks AML'li 277 hastada 9mg/m<sup>2</sup> dozunda 2 haftada bir uygulandığında %16 TR ve %13 TR<sub>p</sub> elde edilmiştir<sup>33</sup>. En önemli yan etki olarak %23 hiperbilirubinemi, %17 transaminaz yüksekliği gözlenmiştir. Tedavi sonrasında transplanta giden hastaların %64'ünde ise VOD gözlenmiştir.

Bir anti vasküler endotelial growth faktör monoklonal antikor olan Bevacizumab'ın AML,MDS ve KML'li olgularda et-



kinliği çalışılmaktadır. Bevacizumab ile Ara-C ve mitoksantron arka arkaya kombine kullanımın değerlendirildiği tedavi almamış 3 yüksek riskli AML'li olgu, 16 refrakter AML'li olgu, 13 nüks AML'li olgu ve 1 KML transforme olgudan oluşan 33 hastada yapılan bir Faz II çalışmada TR oranı %44, toplam cevap oranı %56 olarak saptanmıştır<sup>34</sup>.

HuM 195 Bi 213 (*radyoizotop ile konjüge monoklonal antikor*)  $\alpha$ -ışınları yayan radyoizotoplarla konjüge edilmiş olan monoklonal antikorların prelinik aktiviteleri gösterilmiştir. Juncic ve ark'larının yaptığı Faz I çalışmada dirençli nüks etmiş AML ve KMMML'li olguların HuM 195-Bi213 ile tedavisinde 15 olgunun 14'ünde kemik iliğinde ve dolaşımdaki blast oranında azalma olduğu gözlenmiştir<sup>35</sup>.

## KAYNAKLAR

1. Robak T, Kus AW. The Search for Optimal Treatment in Relapsed and Refractory Acute Myeloid Leukemia Leukemia and Lymphoma, 2002; 43 (2): 281–291.
2. Leopold LH, Willemze R The Treatment of Acute Myeloid Leukemia in First Relapse: A Comprehensive Review of the Literature. Leukemia & Lymphoma, 2002, 43 (9); 1715–1727
3. Weltermann A et al. Impact of cytogenetics on the prognosis of adults with de novo AML in first relapse. Leukemia 2004;18(2):293-302.
4. Ferrara F et al. Prognostic factors and therapeutic options for relapsed or refractory acute myeloid leukemia. Haematologica 2004;89:998-1008
5. Rees J.K. et al. 1986 Principal results of the Medical Research Council's 8th acute myeloid leukaemia trial. Lancet 2, 1236–1241.
6. Keating M.J. et al. 1989. Response to salvage therapy and survival after relapse in acute myelogenous leukemia", Journal of Clinical Oncology 7, 1071–1080.
7. Hiddemann W et al. 1990. Definition of refractoriness against conventional chemotherapy in acute myeloid leukemia: a proposal based on the results of retreatment by thioguanine, cytosine arabinoside and daunorubicin (TAD 9) in 150 patients with relapse after standardized first line therapy, Leukemia 4, 184–188.
8. Davis CL et al. 1993. The management of recurrent acute myelogenous leukaemia at a single centre over a fifteen-year period, British Journal of Haematology 83, 404–411.
9. Angelov L et al. 1991. Results of Therapy for Acute Myeloid Leukemia in First Relapse", Leukemia and Lymphoma 6, 15–24.
10. MacCallum PK et al. 1993. Mitoxantrone and cytosine arabinoside as treatment for acute myelogenous leukemia (AML) at first relapse, Leukemia 7, 1496–1499.
11. Letendre L et al. 1984. Reinduction chemotherapy for acute nonlymphocytic leukemia", Mayo Clinic Proceedings 59, 618–621.
12. Kern W et al. 1998. Superiority of high-dose over intermediate-dose cytosine arabinoside in the treatment of patients with high-risk acute myeloid leukemia: results of an age-adjusted prospective randomized comparison. Leukemia 12, 1049–1055.
13. Harousseau JL et al. 1989. Treatment of relapsed acute myeloid leukemia with idarubicin and intermediate-dose cytarabine. Journal of Clinical Oncology 7, 45–49.
14. Sternberg DW et al. 2000. Treatment of patients with recurrent and primary refractory acute myelogenous leukemia using mitoxantrone and intermediate-dose cytarabine: a pharmacologically based regimen. Cancer 88, 2037–2041.
15. Kern W et al. 1998. Superiority of high-dose over intermediate-dose cytosine arabinoside in the treatment of patients with high-risk acute myeloid leukemia: results of an age-adjusted prospective randomized comparison. Leukemia 12, 1049–1055.
16. Vogler WR et al. 1994. A phase III trial of high-dose cytosine arabinoside with or without etoposide in relapsed and refractory acute myelogenous leukemia. A Southeastern Cancer Study Group trial", Leukemia 8, 1847–1853.
17. Thomas X. et al. 1999. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) to increase efficacy of intensive sequential chemotherapy with etoposide, mitoxantrone and cytarabine (EMA) in previously treated acute myeloid leukemia: a multicenter randomized placebo-controlled trial (EMA91 Trial, Leukemia 13, 1214–1220.
18. Ohno R et al. 1994. A double-blind controlled study of granulocyte colony-stimulating factor started two days before induction chemotherapy in refractory acute myeloid leukemia. Kohseisho Leukemia Study Group, Blood 83, 2086–2092.
19. Jackson GH. 2004. Use of fludarabine in the treatment of acute myeloid leukemia. Hematol J.5 Suppl 1:562-7.
20. Estey, E. 1996. Treatment of refractory AML. Leukemia 10, 932–936.
21. Milligan DW. Et al. 2006. Fludarabine and cytosine are less effective than standard ADE chemotherapy in high-risk acute myeloid leukemia, and addition of G-CSF and ATRA are not beneficial: results of the MRC AML-HR randomised trial. Blood (baskıda).
22. Pastore D. 2003. FLAG-IDA in the treatment of refractory/relapsed acute myeloid leukemia: single-center experience. Ann Hemato 82(4):231-5)
23. Thomas DA et al. 2003. Single agent thalidomide in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia. Br J Haematol. 123(3):436-41.
24. Cortes J et al. 2000. Cyclophosphamide, ara-C and topotecan (CAT) for patients with refractory or relapsed acute leukemia. Leuk Lymphoma.36(5-6):479-84.
25. Sung WJ et al. 2005. Phase II Trial of Amsacrine Plus Intermediate-dose Ara-C (IDAC) with or without Etoposide as Salvage Therapy for Refractory or Relapsed Acute Leukemia. Jpn J Clin Oncol 35(10):612–616
26. Li JM et al. 2005. Aclarubicin and low-dose Cytosine arabinoside





de in combination with granulocyte colony-stimulating factor in treating acute myeloid leukemia patients with relapsed or refractory disease and myelodysplastic syndrome: a multicenter study of 112 Chinese patients. *Int J Hematol* 82(1):48-54.

27. Li QH et al. 2005. Therapeutic effects of chemotherapeutic regimens containing pirarubicin on the treatment of high-risk or refractory and relapsed acute leukemia in adults. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 85(17):1195-7.
28. Wrzesień-Kuś A et.al .2005. A multicenter, open, noncomparative, phase II study of the combination of cladribine (2-chlorodeoxyadenosine), cytarabine, granulocyte colony-stimulating factor and mitoxantrone as induction therapy in refractory acute myeloid leukemia: a report of the Polish Adult Leukemia Gro Ann Hematol 84: 557–564
29. Rizzieri DA. et al. 2002. Phase I evaluation of prolonged-infusion gemcitabine with mitoxantrone for relapsed or refractory acute leukemia. *J Clin Oncol*. 20(3):674-9.
30. Kantarjian HM et al. 2003. Phase 1 clinical and pharmacology study of clofarabine in patients with solid and hematologic

cancers *J Clin Oncol* 21:1167-1173.

31. Feldman E, et al. 2003. Treatment of relapsed or refractory acute myeloid leukemia with humanized anti-CD33 monoclonal antibody HuM195. *Leukemia*.17:314-318.
32. Feldman E et al. 2002. Phase III randomized trial of an anti-CD33 monoclonal antibody (HuM195) in combination with chemotherapy compared to chemotherapy alone in adults with refractory or first-relapse acute myeloid leukemia (AML). *Proc Am Soc Clin Oncol*. 21:261a.
33. Larson R et al. 2005. Final Report of the Efficacy and Safety of Gemtuzumab Ozogamicin (Mylotarg) in Patients with CD33-Positive Acute Myeloid Leukemia in First Recurrence. *Cancer* 104:1442–52.
34. Aguayo A et al. 2000 . Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes.*Blood* 96:2240-2245)
35. Jurcic JG et al. 2002. Targeted alpha particle immunotherapy for myeloid leukemia .*Blood* 100:1233-1239



# RELAPS OLMUŞ ERİŞKİN AKUT LENFBLASTİK LÖSEMİLERDE TEDAVİ

Dr.İsmet Aydoğdu

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Turgut Özal Tıp Merkezi

## TANIM VE GİRİŞ

Akut lenfoblastik lösemi (ALL) olgunlaşmamış lenfosit öncüllerinin (lenfoblastlar) klonal çoğalması ile karakterize bir hastalıktır. Lenfoblastların çoğunluğu B lenfosit orijinli (%80-85), geri kalanı ise T lenfosit orijinlidir. Nadiren hücrelerin hangi seriyeye ait oldukları belirlenemez.

ALL tedavisi genellikle 3 aşamada yapılır. İlk aşama remisyon indüksiyonu olup, remisyon sağlandıktan sonra konsolidasyon (pekiştirme) ve idame tedavileri uygulanır. Akut myeloblastik lösemiden farklı olarak, santral sinir sistemi (SSS) nüksleri sık görüldüğünden ayrıca SSS profilaksisi uygulanmaktadır.

ALL prognozu son yıllarda uygulanan tedavi rejimleri ile gerek çocuklarda gerekse de yetişkinlerde düzelmiştir. Hastalığın biyolojisinin anlaşılması, destekleyici tedavilerin gelişmesi ve yeni ilaçların kullanılması, prognozun düzelmesi üzerine etkisi olan faktörlerdir. Yetişkin hastalarda %60-90 oranında remisyon elde edilmesine rağmen, uzun süreli hastaliksız yaşam süresi ancak %30-40 hastada görülmektedir. Bu oran kötü risk faktörü olan hastalarda %20 civarına düşmektedir.

## TEDAVİYE CEVABI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Hastalığın seyrini ve tedaviye cevabı etkileyen bazı faktörler tanımlanmıştır. Bunlar; remisyonunda kalma süreleri, yani relaps olana kadar geçen süre, nüksün lokalizasyonu, immüno-fenotipik karakterler, yaş, relaps sırasındaki toplam lökosit sayısı gibi faktörler sayılabilir.

Bir çok merkez bunlar arasında en çok erken relapsı dikkate almaktadır. Erken relaps olarak ilk iki yıl içinde ortaya çıkan relapslar dikkate alınmaktadır. Yapılan çalışmalarda, ilk iki yıl içinde relaps olanların geç relaps olanlara göre daha kötü prognoza sahip olduğu görülmüştür.

T hücreli ALL, 10 yaşından büyük olmak da kötü prognoz göstergesi sayılmaktadır. Relapsın lokalizasyonu da önemlidir. Ekstramedüller relapsın (genellikle santral sinir sistemi), kemik iliği relapsına göre daha iyi prognozlu olduğu bilinmektedir.

35 yaşından büyük hastalar, yüksek lökosit sayısı, null veya ayırımı yapılamayan blastların olması, Philedelphia kromozomu (Ph+) pozitifliği ve remisyonla geç ulaşılan hastalarda tüm tedavilere rağmen ALL seyri kötü gitmektedir. Maalesef ALL hastalarının %60-70'inde tanı anında, bu kötü prognoz faktörleri bulunmaktadır. Özellikle ilk remisyon süresi 18 aydan az olan hastalarda, uzun süreli yaşam şansı %5'in altına

düşmektedir. Salvage tedavi ile %40-60 oranlarında remisyon elde edilmesine rağmen hastaliksız yaşam süresi 2-7,5 ay arasında düşmektedir. Tüm bu verilere rağmen hastaların hastaliksız yaşam süresini etkileyen üç faktör en önemli olarak bulunmuştur.

**a.Hastalık ve hastaların özellikleri:** Relaps riski; yaşlılarda, lökosit sayısı 30-50 X 10<sup>9</sup>/l olanlarda, Ph kromozomu pozitif olan ve tam remisyonla geç ulaşılan hastalarda en yüksektir. Philedelphia kromozomu (Ph+) yetişkin ALL hastalarında %20-30 oranında bulunmaktadır. Bu oran 50 yaş üzeri hastalarda %50 oranlarına ulaşmaktadır. t(9;22), t(4;11) ve t(8;14) kromozom bozuklukları kötü riskli hastalarda tespit edilir. Yukarıda sayılan faktörler dışında, hastalığın seyrini etkileyen faktörlerde bildirilmiştir. Santral sinir sistemi tutulumu, blast oranı, kemik iliği tutulumunun tipi, hemoglobin, trombosit, laktik dehidrogenaz yüksekliği ve organomegalilerde sayılmaktadır. Bu risk faktörleri genellikle tedaviyle ilişkilidir.

**b.Remisyon süresi:** Birinci remisyon süresinin uzunluğu hastalığın seyrini etkilemektedir. 18 aydan uzun süren remisyonlarda prognozun daha iyi seyrettiği bilinmektedir.

**c.Biyolojik özellikler:** Relaps sırasında karyotipik ve immüno-fenotipik değişiklikler gözlenebilmektedir. Çocukluk çağındaki relapslarda, farklı karyotipik blastların bulunması %30 ile %96 arasında görülmektedir. Tam olarak farklı blastların klonal farklılaşmadan ziyade sekonder lösemiye akla getirilmektedir. Chucrallah ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, klonal dönüşümün yaşam süresi üzerinde kötü etkisini göstermişlerdir. Aynı çalışmada bu değişikliklerin başlangıçta kötü prognostik kriterleri olan hastalarda olduğunu belirtmişlerdir.

ALL hastalarında prognostik kriterler aşağıdaki tabloda (Tablo 1.) gösterilmiştir.

## RELAPS AKUT LENFBLASTİK LÖSEMİDE TEDAVİ SEÇENEKLERİ

### 1.Kombinasyon kemoterapisi

Hastalarda kullanılan tedaviler; ilk indüksiyon tedavisinde kullanılan kemoterapi programı, remisyon süresi, relapsın karakteri ve uygun allojenik donörün olup olmamasına göre planlanır. Bu amaçla değişik kombinasyon kemoterapileri kullanılmıştır. Bunlar; a-vinkristin, steroid ve antraksilinler, b-asparaginaz ve methoraksat, c-sitozin arabinozid temelinde olanlar, d-diğer kombinasyonlar şeklinde sınıflandırılabilir. Bu tedavilerle, özellikle kombinasyon şeklinde uygulanan tedavilerle %50-60 arasında değişmektedir. Fakat remisyon süreleri 6-11 ay arasında değişmektedir. Sonuç olarak bu



**Tablo 1.** ALL hastalarında prognostik faktörler.

Faktör	İyi prognosis	Kötü prognosis
yaş	2-10 yaş arası	2 yaş altı ve 10 yaş üzeri
lökosit sayısı	lökosit <10000/ $\mu$ l	lökosit $\geq$ 50000/ $\mu$ l
fenotip	pre-B hücreli pre-T hücreli	matür B hücreli T- hücreli miks tip
cinsiyet	kadın	erkek
organomegali	yok	var
remisyona kadar geçen süre	kısa(<7-14 gün)	uzun sürede sağlanan remisyon yada remisyon sağlanamaması
sitogenetik	hiperdiploidi DNA indeksi >1,6 t(12;21) trizomy 2, 10	psödodiploidi hipodiploidi tetraploidi t(9;22), t(1;19)

tedavilerle remisyon elde edilen uygun hastaların hızla kök hücre nakline yönlendirilmesi en uygun tedavi gibi gözük-  
mektedir.

## 2.Kök hücre nakli

**a.Allojenik kök hücre nakli.** Ph + hastalarda uzun süreli yaşam süresi oranı kemoterapiye rağmen %10'un altındadır. Bu hastalara, HLA uyumlu allojenik kök hücre nakli Ph + hastalarda birinci remisyonunda uygulanmalıdır. Buna rağmen birçok hasta kök hücre nakli olmadan relaps olur. Allojenik kök hücre nakli ile indüksiyon tedavisine refrakter hastaların %15-20'sinde uzun süreli yaşam süresi sağlanabilmektedir. Bir çok çalışmada, tam remisyonunda nakil uygulanan hastaların hastalısız yaşam süreleri, relaps sırasında kök hücre nakli uygulanan hastalara göre uzun bulunmuştur. Aktif relaps olan veya primer refrakter hastalarda kök hücre nakli ile kemoterapiye göre daha uzun hastalısız yaşam süresi elde edilmiştir. Relaps ALL hastalarının ikinci veya daha sonra elde edile remisyon süreleri kısa olmaktadır. ALL hastalarında allojenik kök hücre naklinin gidişatı, ilk remisyon süresine, tümör yüküne, yaşa ve hastalığın biyolojisine bağlıdır. Uluslar arası kök hücre nakli kayıtlarının verilerine göre; ikinci remisyonunda nakil yapılan yüksek riskli ALL hastalarının 4 yıllık yaşama ihtimali %22 iken, standart riskli hastalarda bu oran %36 olarak bulunmuştur. Erken nüks, ileri yaşlı veya uygun donör olmayan hastalar için allojenik kök hücre şansı düşük olmaktadır. Çoğu hasta bu şansı bulamadan ölmektedir. Bu nedenle ALL hastaları için tanı sırasında donör araştırması yapmak akılcı gibi görülmektedir. Çünkü relaps sonrası işleri kolay olmamaktadır. GIMEMA grubundan Giana ve arkadaşları, 55 yaşından küçük 61 ilk relaps olan hastanın sonuçlarını yayınlamışlardır. Bu sonuçlara göre; iki yıldan fazla remisyon-  
da kalan hastalarla, daha az yoğunlukta ilk tedavi alan hastaların gidişatları iyi olmasına rağmen, 3 yıllık yaşam oranları

## KAYNAKLAR

1. Dr. Mustafa Çetiner, Dr. Tanju Atamer. Akut Lösemiler e-kursu, 2004.
2. Dr. Burhan Ferhanoglu. Akut Lenfoblastik lösemide transplantasyon. Türkiye Klinikleri Hematoloji Dergisi (Sayı editörü: dr. Taner Demirer), 1; 33-36, 2003
3. Guillermo Garcia-Manero, Deborah A. Thomas. Salvage therapy for refractory or relapsed acute lymphocytic leukemia. Hematology/Oncology Clinics of North America, 2001
4. Dr. Deniz Sargin. Erişkin akut lenfoblastik lösemide güncel tedavi yaklaşımı. 1. Uludağ Hematoloji Günleri, Özet Kitabı, 9-12 Mart 2006, Bursa.

%10'dan az olmuştur. İkinci remisyonunda giren hastalarında Allojenik kök hücre nakli ile %20-42 arasında uzun süreli hastalısız yaşam süresi sağlanırken, graft-versus-lösemi etkisinin relaps oranlarını azaltabileceği öngörülmüştür. Weisdorf ve arkadaşları otolog kök hücre nakli ile akraba dışı allojenik kök hücre nakillerinin sonuçlarını yayınlamışlardır. Hastalısız yaşam oranı akraba dışı vericilerden yapılan nakillerde daha üstün bulunmuştur. Otolog nakillerde relaps oranı yüksek iken, nakil ile ilişkili komplikasyona bağlı ölümleri daha az bulunmuştur. Buna rağmen relaps oranının, özellikle yaşlı hastalarda olmak üzere akraba dışı vericilerden yapılan nakillerde nakile bağlı mortalite oranının yüksekliği göz önüne alındığında göz ardı edilebileceğini belirtmişlerdir.

Sonuç olarak, relaps veya refrakter ALL hastalarında; immü-  
supresif tedavi konusundaki gelişmeler, nonmiyeloablative tedavi rejimlerinin geliştirilmesi, destekleyici tedavilerin ve rezidüel hastalığın tespitindeki gelişmeler kök hücre naklinin uygulama sıklığını artıracak gibi görülmektedir. Gelecekte kord kanı gibi alternatif verici kaynaklarının daha sık kullanılması gündeme gelecektir.

**b.Otolog kök hücre nakli.** ALL' de otolog kök hücre naklinin yeri tartışmalıdır. Fransız çalışma grubunun randomize çalışmasında otolog kök hücre naklinin kemoterapiye üstünlüğü gösterilememiştir. İyi prognostik kriterleri olan hastalarda, otolog kök hücre nakli az yan etkiye sahip olduğu için remisyon süresini uzattığı düşünülmektedir. Uçkun ve arkadaşları, otolog nakilde prognozu infüze edilen lösemi hücrelerinin yüküyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, ALL hastalarında gerek remisyon üzerinde, gerekse hastalısız yaşam süresi üzerinde prognostik kriterlerin önemi büyüktür. Gelecekte imatinib ve yeni geliştirilen ilaçların tek başına veya kök hücre nakli ile birlikte uygulanması ile sonuçlar daha yüz güldürücü olabilir.



# BURKITT LÖSEMİ

Dr.Lebriz Yüksel Soycan

Bizim Lösemili Çocuklar Vakfı ve Haliç Üniversitesi

Burkitt lösemi çocuklarda akut lenfoblastik lösemilerin yaklaşık %2'sini oluşturan ve klinik, sitolojik, immünolojik ve genetik özellikleri ile diğer lösemilerden çok Burkitt lenfomaya benzerlik gösteren bir hastalıktır<sup>1</sup>. Diğer akut lösemilerle birlikte tedavi edildiği dönemlerde en kötü prognostik grup içinde yer alan Burkitt lösemi, ileri evre Burkitt lenfoma ile birlikte tedavi edilmeye başlanması ile tedavi edilebilir bir hastalık haline gelmiştir<sup>2</sup>. Bu iki hastalığın benzerliği sadece tedaviye yanıt ile sınırlı değildir. Aynı hastalığın olasılıkla birbirini izleyen iki klinik forması olarak kabul edilen Burkitt lenfoma ve lösemi, aynı blastik hücrenin kemik iliğindeki oranı için gelişigüzel saptanmış bir sınır olan %25'in altında veya üzerinde hücre varlığı ile ayırt edilmektedir<sup>3</sup>. Bu blastik hücre klasik olarak FAB L3 morfolojisi gösterir, yüzey membran immünglobulin ekspresyonu eden olgun bir B-hücresidir ve 8. kromozomdaki myc protoonkogeninin en sık 14., daha nadiren de 2. veya 22. kromozomlardaki immünoglobulin zincir geni bölgelerine translokasyonu söz konusudur<sup>4</sup>. Önceleri, lösemiler ve lenfomalar içinde ayrı ayrı sınıflanan bu iki hastalık, immünoloji ve genetik alanındaki gelişmeleri izleyerek Dünya Sağlık Örgütü'nün hematopoietik ve lenfoid neoplaziler sınıflamasında, olgun B-hücreli neoplaziler başlığı altında Burkitt lenfoma/lösemi olarak birlikte yer almaktadır<sup>5</sup>. Burkitt lenfomanın kemik iliği infiltrasyonu ve lösemik fazı çok önceden bilinmekle birlikte, primer L3 lösemi ilk olarak 19-72'te bildirilmiştir<sup>6</sup>. Ancak, Burkitt lenfoma ile primer Burkitt lösemi arasında henüz biyolojik ve genetik bir fark bildirilmemiştir<sup>7</sup>. Bu nedenle artık ikisi birlikte Burkitt lenfoma/lösemi olarak adlandırılmaktadır.

## Morfoloji

Burkitt lenfoma/lösemili hastaların kemik iliği, periferik kan, pleura veya assit sıvılarından elde edilen hücreler tipik ALL FAB L3 morfolojisi gösterir<sup>8</sup>. Bu L3 lenfoblastlar orta büyüklükte veya büyük, genellikle homojen görümlü ve düzgün sınırlı, koyu bazofilik, bol vakuollü sitoplazma içinde ince kromatinli ve belirgin nükleollü, yuvarlak veya oval nüve içeren hücrelerdir. Lipid içeren vakuoller PAS boyası ile negatiftirler. Mitotik indeks yüksektir. Hücrelerin hemen tamamı hücre döngüsünde olup, bu yüksek çoğalma hızı, blastik hücre nüvelerinde Ki-67 antikoru ile kuvvetli boyanmaya neden olur.

## İmmünfenotip

İmmünfenotipleme özellikle lenfoid malign hücrelerin kökeni ve olgunluk derecesinin saptanmasında çok yararlı olmuş ve lösemi ve lenfomaların sınıflanmasında yaygın olarak kullanılmıştır. Olgun B hücrelerinin belirleyici özelliği, disülfid bağları ile birleşen iki ağır ve iki hafif immünglobulin (Ig) zinciri içeren yüzey reseptör moleküllerinin varlığıdır<sup>9</sup>. Olgun B hücrelerinden kaynaklanan B hücreli lösemilerde hücre yüzeyinde

μ ile birlikte κ veya λ, yani IgM bulunur. Fenotipik ve genotipik olarak iki tür Burkitt lösemi (*B hücreli lösemi*) tanımlanmaktadır<sup>9</sup>. Sık görülen türünde hücre yüzeyinde ek olarak CD19, CD20, CD22 ve CD79, sıklıkla da CD10 bulunur, CD34 ve TdT ise bulunmaz. Morfolojisi ALL FAB L3, genetik yapısı ise Burkitt lenfoma için tipik olan, 8. kromozom translokasyonlarıdır. Buna karşılık, nadir türünde yüzeyde ağır ve hafif zincirler bulunmakla birlikte, immünoglobulin ve CD20 yoğunluğu düşüktür, morfoloji ALL FAB L1 veya L2 ile uyumludur ve tipik translokasyonlar bulunmaz<sup>10-12</sup>. Ayrıca, daha çok geçiş pre-B hücrelerine benzer immünfenotipik özellikler, TdT ve CD34 varlığı gözlemlenebilir. Bu türün ayırımı, tedavide öncül-B ALL tedavisinin daha başarılı olması nedeni ile önemlidir. Hücrelerin sitoplazma ve yüzeyinde μ ağır zincirinin bulunduğu, ancak hafif zincirlerin henüz saptanmadığı geçiş pre-B ALL de, B hücreli lösemilerle karıştırılmamalıdır<sup>13</sup>.

Nadiren, tipik morfoloji ve translokasyonları olan bazı lösemilerde (%2), sitoplazmada veya yüzeyde immünglobulin veya μ bulunmaz<sup>14,15</sup>. Bu hastalarda B-hücreli lösemi tedavisi başarılı olmuştur. Olguların yaklaşık %5'inde ise IgM yerine IgA veya IgG bulunur<sup>9</sup>. Diğer taraftan, yüzey immünoglobulin bulunan bazı B lösemi hücrelerinde FAB L3 morfolojisi vardır ama tipik translokasyonlar bulunmaz veya FAB L3 morfolojisi yoktur ama tipik translokasyonlardan biri saptanır<sup>16-18</sup>. Sonuç olarak, olguların çoğunda tipik morfoloji, genetik ve fenotip birlikte bulunmakla birlikte, bir veya ikisinin bulunmadığı durumlar da söz konusu olabilmektedir<sup>19,20</sup>. Çıkış noktamız olgun B hücreli, yani immünfenotipik tanımlama olmakla beraber, günümüzde gelinen bilgi birikimi tanıda birinci sırada translokasyonların ve ikinci sırada morfolojinin güvenilirliğini göstermektedir<sup>4</sup>. İmmünfenotip bunların yokluğunda tanı için tek başına yeterli olmamaktadır. Prekürsör B hücreli lösemilerde hücre yüzeyinde olgun B hücrelerine özgü tek tip hafif zincir ekspresyonu saptanabilmesi, B hücre serisi neoplazilerinin tanısında multidisipliner yaklaşımın önemini vurgulamaktadır<sup>21,22</sup>.

## Sitogenetik ve moleküler patoloji

Burkitt lösemi/lenfoma hücrelerinde üç tipik kromozom translokasyonu saptanır. Bunlar arasında yaklaşık %85 sıklık ile birinci sırada olan t(8;14)(q24;q32), t(2;8)(p11;q24) ve t(8;22)(q24;q11) tarafından izlenir<sup>23-25</sup>. Her üç translokasyonun ortak noktası, 8. kromozomdaki MYC protoonkogeninin, ağır veya hafif zincir genlerinden biri ile bitişerek, işlevsel değişikliğe uğramasıdır. İşlevsel hafif zincirlerin μ ağır zinciri ile birleşmesi sonucu hücre yüzeyinde beliren immünoglobulin, olgun B hücrelerinin tanımlayıcı özelliğidir. Bu genlerin, yeniden düzenlenmeleri sırasında onkojenik potansiyeli olan genlerle birleşmeleri, veya meydana gelen somatik mu-



tasyonlar, lenfositlerde malign değişime neden olabilir. MYC, çoğalan hücrelerde ekspresyonu artan, hücre döngüsünün ilerlemesini ve hücre dönüşümünü uyaran, farklılaşmayı engelleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Sonuç olarak MYC ekspresyonu, hücre döngüsünün ilerlemesi, farklılaşma, metabolizma, apoptozis, ölümsüzlük ve adhezyon gibi çeşitli hücresel işlevleri etkiler.

Burkitt lenfoma/löseminde translokasyon sonucu MYC geni yapısal olarak değişebilir veya aktivitesi artabilir. Translokasyon, MYC geninin işlevini değiştirerek MYC:MAX kompleksini artırır ve lenfoblastların proliferasyonunu uyarır<sup>26</sup>. Bildirilen yapısal değişiklikler arasında translokasyon kırılma noktasında kesilme veya genin düzenleyici veya kodlayıcı bölgelerinde mutasyonlar bulunmaktadır. Translokasyona uğrayan immünooglobulin genlerinde de değişiklikler söz konusudur ve Burkitt lenfoma/löseminde hücrelerinde ağır ve hafif zincir genlerinde somatik mutasyonlar saptanmıştır<sup>27</sup>. Translokasyonlar sırasında 8. kromozom endemik ve sporadik hastalıkta da farklı olmak üzere değişik noktalarda kırılabilir<sup>7</sup>. Bu translokasyonlar ya metafaz kromozomlarının karyotiplenmesi ile, ya da metafaz veya interfazdaki nüvelerde FISH tekniği ile saptanmaktadır.

Hayvanlardaki deneysel lenfomalarda, MYC geninin aktivasyonunun tek başına klinikte gözlenen hızda malignite gelişimine yetmediği gözlenmiştir<sup>25</sup>. Lösemi/lenfoma gelişiminde MYC ile işbirliği düşünülen genler arasında BCL2, BCL6, PIM-1, RAS, ABL, BMI-1, RAF-1 ve p53 tümör supressör geni vardır. MYC içeren translokasyonların yanı sıra birçok Burkitt lenfoma/löseminde p53 mutasyonu, t(14;18)(q32;q21), 1q duplikasyonu, daha nadiren de t(8;9)(q24;p13), t(1;2)(q22-23;p13), t(12;21)(p13;q22), t(9;22)(q34;q11), der(1;15)(p10;q10) ve 13q32, 3q27 gibi değişik bölgelerle ilgili translokasyonlar bildirilmiştir (28-34). B hücreli neoplazilerde MYC ile ilgili üç tipik translokasyonun yanı sıra farklı kromozomal değişikliklerin de bulunması morfolojik, immüfenotipik ve en önemlisi de prognostik farklılıklara da neden olduğundan, bunların araştırılması ve özelliklerinin tanımlanması önem taşımaktadır.

### Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Burkitt lenfoma/löseminin görülme sıklığı, dünya üzerinde belirgin coğrafi farklılık gösterir<sup>7,35</sup>. Japonya'da çok nadir, Afrika'da çok sık olup, ayrıca klinik özellikler de ülkeden ülkeye değişmektedir. Tipik olarak Afrika'da görülen endemik hastalık daha çok lenfoma prezentasyonu, çene ve santral sinir sistemi tutulumu göstermekte iken, batı Avrupa ve kuzey Amerika'da görülen sporadik tipte kemik iliği tutulumu, lösemik prezentasyon ve ileoçekal kitle daha siktir. Ayrıca 14. kromozomdaki kırılma noktasının MYC protoonkojenine göre konumu, CD10 pozitifliği, IgM sekresyonu ve Epstein-Barr virusu (EBV) ile ilişki de bu iki tip arasında farklılık gösterir. Endemik bölgelerdeki yüksek insidandan EBV tek başına sorumlu tutulmamakta olup, holendemik malaryanın katkısı da tartışılmaktadır<sup>36</sup>. Burkitt lenfoma/löseminde hücreleri endemik hastalıkta %95'e varan oranda, sporadik hastalıkta ise yaklaşık % 20 olguda klonal Epstein Barr virusu (EBV) DNA içerir<sup>25,37</sup>. EBV genomunun bu tümörlerin gelişimine nasıl katkıda bulunduğu netlik kazanmamış olmakla birlikte,

EBV'nin B lenfositlere ölümsüzlük kazandırabildiği bilinmektedir. EBV'nin önce B lenfositlerde poliklonal bir hücre çoğalmasını uyardığı, bu hücrelerde gelişen bir MYC aktivasyonunun başlattığı malign değişimin ise latent EBV özelliklerine dönüşüm sonucu immün kontrolden kaçarak hayatta kaldığı ve varlığını sürdürdüğü hipotezi ileri sürülmektedir. Diğer taraftan, Wiskott-Aldrich sendromu, ataksi-telanjiyektazi veya X'e bağlı lenfoproliferatif hastalık gibi doğumsal immün yetersizlik sendromları, edinsel immün yetersizlik sendromu (AIDS) ve kemik iliği veya organ nakli nedeni ile immün sistemi baskılanmış hastalar, Burkitt lenfoma/löseminin açısından artmış risk altındadır<sup>7,36</sup>.

### Klinik özellikler

Burkitt lenfoma/löseminde hastalar kemik iliği infiltrasyonuna bağlı olarak kemik ağrıları, bisitopeni veya pansitopeni, halsizlik, yorgunluk, solukluk, cilt ve mukoza kanamaları ve enfeksiyonlarla ilişkili ateş ile başvurabilirler<sup>7,35</sup>. Kemik iliği invazyonu bulgularına sıklıkla böbrek tutulumu, hepatosplenomegali ve lenfadenomegali eşlik eder<sup>38</sup>. Blastların hızlı çoğalma özellikleri nedeni ile lökosit sayısı katlanarak hızla artabilir. Lösemili hastalarda başlangıç bulguları bunlarla sınırlı olabilir, veya hastalık ekstramedüller bölgelerde başlayabilir. Bazen de tanı sırasında her ikisi birlikte bulunur. Ekstramedüller hastalık baş-boyun bölgesinde çene, nazofarenks, tonsiller veya servikal lenf düğümlerini, gastrointestinal sistemde başta ileoçekal bölge olmak üzere appendix veya kolonu ve santral sinir sisteminde (SSS) meninksleri, kraniyal sinirleri veya kitle oluşturarak parenkimi tutabilir. Batında yaygın hastalığı masif assit ve pleural effüzyon izleyebilir. Bu sivilarda bol miktarda FAB L3 morfolojisi gösteren Burkitt hücreleri bulunur. SSS tutulumunda pleositöz bulunabilir, başağrısı, görme bozukluğu ve kraniyal sinir paralizileri gibi nörolojik bulgular ortaya çıkabilir. Testisler, overler ve meme gibi organ ve dokular da tutulabilir. Ekstramedüller kitleler hücrelerin hızlı çoğalma eğilimi nedeni ile hızla büyürler. L3 lösemi/lenfoma ayırımı 10 yıl öncesine kadar bazı gruplar tarafından kemik iliği tutulumu olsun veya olmasın, kitle oluşumu varlığı ile yapılmakta iken, günümüzde Murphy tarafından tanımlanan St.Jude evreleme sistemine göre kemik iliğinde %25 ve üzeri blast varlığı ile yapılmaktadır<sup>3,39</sup>. Ancak, gelişigüzel belirlenmiş bir sınıra dayanan bu ayırım da artık büyük oranda önemini yitirmiştir. Olgun B hücreli lenfomalara birlikte bildirildikleri büyük klinik çalışmalarda B-hücreli lösemiler %15-18 oranında yer almakta, Burkitt lenfoma/löseminin ise %18-22'sini oluşturmaktadır<sup>40-42</sup>.

Santral sinir sistemi tutulumu B-hücreli lösemilerde %29-35 gibi yüksek oranda görülmekte olup, en önemli prognostik faktördür<sup>41-42</sup>. Tedavide elde edilen başarıya rağmen, santral sinir sistemi tutulumu olan hastalarda EFS daha düşüktür. Başarılı LMB89 protokolunda 5-yıllık EFS Evre IV'te %88, B-ALL'de %87 ve SSS+ hastalarda %79 olarak bildirilmiştir<sup>41</sup>. Hastaların bir kısmında randomizasyonla 5g metotreksatin 4 satte verildiği NHL-BFM95 protokolu ile tedavi edilen hastalarda 3-yıllık EFS evre IV'te % 81, B-ALL'de %77 ve SSS tutulumu olan hastalarda %69 bulunmuştur<sup>42</sup>. Tedaviye yanıt ve 10 veya 15 üzeri yaş ta bazı gruplarda prognostik değer taşımaktadır.

### Acil tedavi

Tümör yükünün hızla ikiye katlanması nedeni ile Burkitt



lenfoma/lösemi tanı ve tedavi açısından en hızlı yaklaşımı gerektiren malignitedir. Burkitt lösemide blastları perifer ve kemik iliğinde görmek kolay olduğundan, tanıda zaman kaybı genellikle olmaz. Ancak, ön planda kitle bulguları ile başvuran hastalarda kemik iliğinin ve periferik yaymanın ilk aşamada incelenmeden diğer testlerin veya girişimlerin yapılması, tanıda gecikmeye neden olabilmektedir. Tanıda ve tedavinin başlangıç döneminde en önemli tehlike tümör lizis sendromudur. Tedaviye başlamadan önce veya tedavi sırasında gelişebilir ve böbrek infiltrasyonu ve üriner sisteme bası gibi diğer risk faktörleri ile birlikte böbrek yetersizliğine neden olabilir. Bu nedenle Burkitt lenfoma/lösemi tanısı şüphesi olduğu an ilk yapılacak şey, tümör lizis sendromunu önleyici yaklaşımları uygulamak, yani alkali hiperhidrasyona ve ürikolitik tedaviye başlatmaktır. En uygun ürikolitik tedavinin artık ürat oksidaz olduğu konusunda günümüzde fikir birliğine varılmıştır<sup>41-43</sup>. Günlük doz 0,20 mg/kg olup, 30 dak infüzyonla uygulanır. Ürat oksidaz kullanılan olgularda idrar alkalinizasyonuna gerek yoktur. Allopurinol kullanılacaksa mutlaka alkalinizasyon yapılmalıdır. Tüm önlemlere rağmen tümör lizis sendromu gelişir ve olugo/anüriye ilerlerse, diyalize başvurmak gerekmektedir.

Olgun B-hücreli neoplaziler, tanıda blast yükünün fazla, hücre çoğalma hızının yüksek ve tedavi ile tümör yıkımının hızlı olduğu malinitelerdir. Bu özellikler, tümör lizis sendromunun ve buna bağlı gelişen akut böbrek yetersizliğinin sık görülmesine neden olur. Gelişen metabolik komplikasyonlar bir taraftan kemoterapiyi geciktirir ve sınırlarken, bir taraftan da dializ gibi girişim gereksinimlerini ve erken ölümleri artırır. Tümör lizis sendromunun en önemli komponenti olan hiperürisemi tedavisinde alkali hidrasyon ile birlikte klasik olarak uzun yıllardır allopurinol kullanılır. Allopurinol ksantin oksidazı inhibe ederek, böylece de hipoksantin ksantine, ksantin de ürik aside dönüşmesini önleyerek, ürik asit düzeyini düşürür. Hipoksantin ürik asitten daha kolay çözünürken, ksantin çözünürlüğü düşük olup, kristalizasyon ve taş oluşumuna neden olabilir. Ayrıca, allopurinol daha önceden oluşmuş olan ürik asit üzerine etkili olmaz.

Diğer memelilerden farklı olarak, ürik asiti suda çözünen allantoina çeviren ürat oksidaz enzimi insanda ve bazı maymunlarda bulunmaz. Tümör lizis sendromu tedavisinde yeni bir strateji olarak rekombinan olmayan ürat oksidaz enzimi (*Uricozyme*®) ilk olarak 1972'de Fransa'da kullanılmaya başlanmış, 1984'ten beri de İtalya'da kullanılmaktadır. Fransa'da LMB89 protokolu ile tedavi edilen ileri evre B-NHL ve B-ALL'li hastalarda 50-100 U/kg/ gün doğal ürat oksidaz kullanılmış ve doz gereğine göre artırılmıştır. Tüm gruptaki 410 hastanın % 3'ten azında dializ gerekmiş, ve Patte ve ark. tarafından yürütülen retrospektif çalışmada, tanıda tümör yükü fazla ve metabolik komplikasyonlar açısından yüksek riskli olgular olmalarına rağmen, daha detaylı olarak incelenen 57 hastanın sadece birinde dializ şart olmuş, hiçbirinde ölüm veya alerjik reaksiyon gözlenmemiştir<sup>44</sup>. Pui ve ark. tarafından yürütülen bir çalışmada da, doğal ürat oksidaz ile allopurinole göre ürik asit düzeyleri çok daha hızlı ve etkin olarak düşürülmüş, sadece % 4,5 oranında hipersensitivite reaksiyonu bildirilmiştir<sup>45</sup>. Buna karşılık, POG tarafından yürütülen bir çalışmada ileri evre B-hücreli neoplazisi olup, ürat oksidaz kullanılmayan 133 hastanın 28'inde (% 21) diyaliz gerekmiş ve 6'sı meta-

bolik komplikasyonlarla erken dönemde kaybedilmiştir. İngiltere'de UKCCSG 9003 protokolü ile tedavi edilen ve ürat oksidaz kullanılmayan 63 hastanın 10'unda (%16) dializ gerekmiş, bunların 5'i daha sonra enfeksiyon nedeni ile kaybedilmiş ve ayrıca 28 (% 44) hastada da kemoterapi geciktirilmiş veya modifiye edilmiş ve bunların 7'si nüksetmiştir.

Allerjik reaksiyonların saptanması doğal ürat oksidazın kullanımını sınırlarken, genetik mühendislik alanındaki ilerlemeler sonucu rekombinan ürat oksidaz geliştirilmiştir. Rekombinan ürat oksidazı kodlayan gen bir cDNA klonu olarak *Aspergillus flavus*'tan izole edilmiş ve *Saccharomyces cerevesiae*'de ekspresyonu sağlanarak bol miktarda protein (*rasburikas*) elde edilebilmiştir. Bu yeni ürünün etkinliği ve güvenilirliği ile ilgili faz I/II çalışmaların sonuçları ilk olarak 2001'de yayınlanmıştır (45, 46). Rekombinan ürat oksidaz Pui ve ark. tarafından çok merkezli bir çalışmada 131 hastada 0.15-0.20 mg/kg dozda 5-7 gün kullanılmış ve plazma ürik asit düzeylerinde hızlı bir azalma sağlanmış, hiperürisemisi olan 65 hastada 4 saat içinde ortanca ürik asit düzeyi 9.7 mg/dL'den 1 mg/dL'ye inmiştir. Avrupa'da yürütülen çok merkezli çalışmada 207 çeşitli tanıli hastada kemoterapiden önce ürat oksidaz tedavisine başlanmış, 4. saatte ürik asit düzeyi % 88 azalmıştır. Tüm hastalarda tedavi süresince ürik asit 2 mg/dL'nin altında kalmış; fosfor, kalsiyum ve kreatinin artmamıştır. Yan etki olarak bir dermatit, bir döküntü ve daha sonra G-6-PD eksikliği olduğu saptanan bir hastada hemoliz saptanmıştır. Alerjik reaksiyon hiçbir hastada gözlenmemiştir. ABD'de altı merkezde 52 hastada yürütülen randomize bir faz III çalışmada da, tedavinin 4. saatinde *rasburikas* grubunda ürik asit düzeyinde % 86, allopurinol grubunda % 12 azalma saptanmıştır. Bu çalışmaların sonucunda rekombinan ürat oksidazın daha az allerji yaptığı, G-6-PD eksikliği olan hastalar dışında güvenilir ve allopurinole göre daha etkili olduğu, ve metabolik ve klinik komplikasyonları önlediği gösterilmiştir. Güncel protokollerde tümör yükü yüksek tüm olgularda rutin olarak uygulanmaktadır<sup>47-49</sup>.

### Kemoterapi

Burkitt lenfoma/lösemi tedavisinde en önemli prognostik faktör aslında kemoterapidir. B-hücreli akut lenfoblastik lösemi (*B-ALL*) veya ALL-FAB L3 olarak adlandırıldığı ve diğer akut lenfoblastik lösemiler ile birlikte tedavi edildiği dönemde tedavide büyük güçlükler oluşturmakta, en kötü prognozu göstermekte idi. Siklofosamid, yüksek-doz metotreksat (*MTX*) ve sitozin arabinosid (*ARA-C*) ile intratekal kemoterapi içeren yoğun ve kısa tedavi protokolleri ile elde edilen başarı, % 90'ı geçen 5 yıllık olaysız sağ kalım değerlerine ulaşılmasını sağlamıştır. Bunların en tipik örnekleri iyi bilinen Fransız LMB89 ile Alman NHL-BFM 90 protokollarıdır<sup>40-42</sup>. Ancak, tedavide elde edilen bu başarıda risk grubuna uygun ve yoğun kemoterapi protokollerinin yanısıra başarılı destek tedavisi uygulanmasının da büyük rolü vardır.

### BFM protokolleri

Kötü prognozlu hastalıklar olarak bilinen B-hücreli neoplazilerin farklı biyolojik özellikleri nedeni ile ayrı tedavi edilmeleri gerektiği 80'li yılların başında anlaşılmış ve ilk tedavi sonuçları yayınlanmaya başlamıştır. NHL-BFM 81 ve 83 protokolleri 0.5 g/m<sup>2</sup> MTX içermekte, ileri evre hastalarda 8 ve 6

kür olarak uygulanmakta idi. NHL-BFM 81 protokolünde EFS Evre IV'te %20, B-ALL'de %40 bulundu. Blok sayılarının azaldığı NHL-BFM 83 protokolünde EFS Evre III, Evre IV ve B-ALL'de %53'e yükselmiştir. Bunun bir nedeni yeni tedavi protokolüne alışma sürecinin tamamlanması ve tedaviye bağlı ölümlerin azalması, %9'dan %3'e düşmesi iken, bir nedeni de nükslerin %27'den %15'e inmesidir. NHL-BFM 83 protokolünde nükslerin azalmasına katkısı bulunmuş olabilecek başlıca değişiklikler, indüksiyondaki dört haftalık prednisolonun yerini tüm bloklarda deksametazonun alması ve B-ALL'de fraksiyone intraventriküler kemoterapi uygulanmasıdır. Bu iki çalışmada en sık nüks bölgeleri kemik iliği ve SSS idi.

NHL-BFM 86 protokolünde her ikinci kürde ifosfamidin yerini eşdeğer dozda siklofosfamid almış, teniposid ve sitozin arabinozidin dozları yükseltilmiştir. En önemli yenilik ise, Evre IV ve B-ALL'nin ayrı bir grupta ele alınarak MTX dozunun 5g/m<sup>2</sup>'ye yükseltilmesi, başlangıçta tutulumu olmayan hastalarda profilaktik kraniyal ışınlamanın kaldırılmasıdır. Bu yoğunlaştırılmış tedavi ile B-ALL'de 6 yıllık EFS %78'e yükselmiştir. NHL-BFM 90 protokolünde Haziran 1993'te yapılan bir değişiklik ile prefazda siklofosfamid doz sayısı 5'ten 2'ye indirilmiştir. Birinci kürü izleyen nötropenik dönemde görülen 6 ölümden 5'i bu değişiklikten önce, sadece 1'i sonra gerçekleşmiştir.

NHL-BFM 90 protokolünün bir hedefi de, ilk iki tedavi kürü sonunda tam regresyon sağlanamayan hastalardır. İki kür sonunda tam regresyon sağlanamayan hastalarda yüksek doz sitozin arabinozid ve etoposid içeren CC bloğu ile tedavi güçlendirilmiştir. Buna rağmen canlı tümör kalıntısı olan hastalarda ise mega-doz kemoterapi ve otolog kök hücre nakli önerilmiştir. İnisyel SSS tutulumu olan hastalarda ise fraksiyone intraventriküler kemoterapi uygulaması ile kraniyal ışınlama kaldırılabilmiştir. Altı yıllık EFS B-ALL'de %74'tür. Üç kür sonunda histolojik olarak aktif tümör bulunan hastalarda megadoz kemoterapi ve otolog kök hücre nakli yararlı olmuş gözükmemektedir, çünkü bu tedaviyi alan 6 hastadan sadece 1'inde progresyon görülürken, NHL-BFM 86'da benzer durumda olup otolog kök hücre nakli uygulanmayan 5 hastadan 4'ü ilerleyen hastalık nedeni ile kaybedilmiştir. Ancak, tam kontrol sağlanan hastalarda da nüksler görülmüş ve kalıntı bulunup ikincil-operasyon geçirmedikleri için canlı tümör bulunup bulunmadığı bilinmeyen birçok hastada da progresyon gelişmemiştir. Bu nedenle, kemoterapiye klinik yanıtı bakarak tedavinin yönlendirilmesinin çok anlamlı olmadığı ve önemli riskler taşıdığı sonucuna varılmıştır. İnisyel SSS tutulumu olan hastalardaki yaklaşımın da başarılı olduğu görülmüştür.

Tedavi yoğunluğunun erken evreler dışında giderek arttırılmasına paralel olarak NHL-BFM 86 ve 90'da nüksler giderek azalmış ve B-ALL'de progresyon %10 oranında görülmüştür. Tedavi komplikasyonlarına bağlı ölümler ise sırası ile %9 ve %4 olarak gerçekleşmiştir. Büyüme faktörü kullanımının bu ölümleri önlemedeki rolü net değildir. Enfeksiyona bağlı ölümlerin çoğu birinci blok sonrasında gerçekleşmiş, sitoredüktif prefazda tedavi yoğunluğunun azaltılmasından sonra toksik ölümlerin bir kısmı önlenbilmiştir. Toksik ölümlerde diğer önemli bir neden tümör lizis sendromu ve akut böbrek yetersizliğidir. NHL-BFM 90 protokolunda ölümlerin çoğu-

nun tedavinin erken dönemlerinde olduğu ve ürat oksidaz kullanılmamış olmasının bunda rol oynamış olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle NHL-BFM 95 protokolünde Kasım 1997'den itibaren tüm R3 ve R4 hastalara ilk günlerde ürat oksidaz uygulanmaya başlanmıştır<sup>50</sup>. Bunun sonucunda tümör lizis sendromuna bağlı anüri gelişimi anlamlı olarak azalmış, B-ALL'de %15.4'ten %3.8'e inmiştir.

Toksisiteyi arttıran önemli bir faktörün ağır orointestinal mukozitler olması ve çok değişik doz ve infüzyon sürelerinde kullanılabilen MTX ile mukoza tosisitesi arasındaki yakın ilişki nedeni ile MTX doz ve infüzyon sürelerindeki değişikliklerin antineoplastik ve toksik etkilerini araştırmak NHL-BFM 95 protokolünün önemli bir amacı olmuştur. MTX infüzyon süresinde 4 ile 24 saat arasında yapılan randomizasyon R3 ve R4'teki 5 g/m<sup>2</sup> MTX'e uygulanmış, ancak ara değerlendirmedeki olumsuz sonuçlar nedeni ile 1999 yılında randomizasyona son verilmiştir<sup>42</sup>. İzlemede bu hastaların EFS'sinin 4 saatlik infüzyonla %77, 24 saatlik infüzyonla %93 olduğu bildirilmiştir. B-ALL'de EFS %77 olarak bildirilmekle birlikte, bu hesabın randomizasyon dahil tüm hastalar için yapıldığı göz önüne alındığında, 24 saat kolunda EFS değerinin çok daha yüksek, %90'ın üzerinde olduğu tahmin edilebilir. R3'te 5 kür, R4'te 6 kür kemoterapi öngörülmüş, her iki grupta 5 kür sonunda vital tümör varsa otolog megadoz kemoterapi ve kök hücre nakli planlanmıştır. Ancak, yoğun bloklar tarzında uygulanan yeni kemoterapi protokollerindeki gelişmeler B-hücreli neoplazilerin tedavisinde kemik iliği naklinin yerini sınırlamaktadır.

Son B-hücreli neoplazi protokolü olan B-NHL BFM 04'te, B-NHL BFM 95'te elde edilen verilere dayanarak, Risk Grubu 3 ve 4'te anlamlı olarak daha başarılı bulunan 24 saatlik MTX infüzyonu kolu, 6 bloktan oluşan tek kolu oluşturmaktadır. Bir gözlem protokolü olarak adlandırılan bu protokole önceki başarının sürdürülmesi beklenmekte, tedavi başarısını arttırmak amacı ile tedavi öncesine pencere çalışması olarak anti-CD20 (*rituximab*) eklenmesi denetlenmektedir. B-NHL BFM 95 protokolünde SSS tutulumu olan hastalarda etkili lokal tedaviyi sağlamak amacı ile yerleştirilen Ommaya rezervuarı, çok fazla komplikasyona neden olduğu için terkedilmiştir. Bunun yerine, inisyel SSS tutulumu olan hastalarda, prefaz ve birinci blokta gūnaşırı olmak üzere toplam 5 adet ve tüm protokol boyunca toplam 14 adet, doz azaltımı yapılmadan uygulanan yoğunlaştırılmış üçlü intratekal tedavi planlanmıştır. Bu hastalara radyoterapi önerilmemektedir. Böylece, inisyel SSS tutulumunun kötü prognozu düzeltilmeye çalışılmaktadır. B-NHL BFM 95'te randomizasyon dahil tüm hastalar için verilen EFS, SSS+ hastaları da içeren risk grubu 4'te %81 iken, salt SSS+ hastalarda %69 bulunmuştur. Bu yoğun intratekal tedaviye rağmen 3. blok sonunda likörde blastlar devam ediyorsa, hasta busulfan, etoposid ve tiotepa içeren bir otolog periferik kök hücre nakline yönlendirilmektedir.

Dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta da B-NHL BFM 90 protokolünde tümör yükü fazla Evre III ve Evre IV ve B-ALL'den oluşan risk grubu 3'te %78 EFS elde edilirken, aynı hastaları ikiye ayrılmış olarak içeren B-NHL BFM 95'te 24 saat MTX infüzyonu kolunda EFS'nin %93'e yükselmiş olmasıdır. Bundan 90 protokolünde salt yanıtız olgulara uygulanan CC bloğunun 95 protokolünde tüm yüksek riskli hastalara uygu-



lanması yanı sıra özellikle ilk blok sonrası toksik ve enfeksiyöz ölümlerin azaltılmasını hedefleyen önlemler de sorumludur. Artık tüm hastalara rutin olarak tanı anında rasburikas önerilmektedir. Enfeksiyöz/toksik ölümler % 3.4'ten % 1.9'a indirilebilmiştir. Ülkemizde yayınlanan serilerde enfeksiyöz/toksik ölümlerin %15 ile %25 arasında bulunması, tedavi başarısındaki en önemli engeli oluşturmaktadır.

### LMB Protokolleri

Fransız Pediatrik Onkoloji Cemiyeti (SFOP) de 1981'den beri B-hücreli neoplazilerde LMB prokolleri ile başarılı çok merkezli çalışmalar yürütmektedir<sup>41,43</sup>. BFM protokollarına benzer şekilde bir prefazla başlayan tedavi, kısa ve yoğun bloklarla devam eder. İlk üç çalışmada, LMB 81, 84 ve 86'da, EFS giderek SSS(-) hastalarda %75-90'a çıkartılmıştır. Bu sırada tedavi süresi 4 aya kısaltılmış, klinik deneyimin artmasına paralel olarak toksik ölümler azalmıştır. SSS profilaksisi 3 g/m<sup>2</sup> MTX ve intratekal tedavi ile uygulanmış, prefaza yanıtızlığın kötü prognozu gösterilmiştir (EFS %22). İnisyel SSS tutulumu olan hastalarda MTX dozu 8g/m<sup>2</sup>'ye çıkartılmış, üçlü intratekal tedavi ve sistemik yüksek doz Ara-C infüzyonu ve etoposid ile desteklenmiştir. Böylece SSS+ hastalarda EFS %75'e ulaşmıştır. B-ALL ilk olarak bir pilot çalışma olan LMB 86'da protokole dahil edilmiş, az sayıdaki SSS(-) B-ALL hastasında EFS %82 bulunmuştur.

LMB 89 çalışmasında, B-ALL, SSS(-) ve kemik iliğinde blast oranı <%70 ise B grubunda, aksi takdirde C grubunda yer almıştır. C grubunda MTX 8 g/m<sup>2</sup> dozda ve 3 saatte uygulanmış, bu grupta yüksek doz fraksiyone siklofosamid ve yüksek doz ARA-C tedavinin önemli bir komponentini oluşturmuştur. Yanıtı yetersiz olan olgularda kök hücre nakli desteği ile tedavi daha da yoğunlaştırılmıştır. Bu çalışmada B-ALL'li 100 hastada EFS %87, SSS (+) hastalarda ise %77 bulunmuştur. Protokolün başarılı sonuçlarına dayanılarak 1996'da SFOP, UKCCSG ve CCG biraya gelerek uluslararası bir çalışma başlatmışlardır. FAB LMB 96 olarak adlandırılan protokolün bir amacı siklofosamid ve doksorubisin dozunu azaltmak, idameyi kısaltmak, bir amacı da SSS tutulumu olan hastalarda kraniyal ışınlamayı kaldırmak olmuştur (52). BFM grubuna benzer şekilde, tedavi yoğunluğunu azaltmak yönündeki çabalar başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Tam doz tedavi uygula-

nan standart kolda C grubunda EFS %94 ile BFM grubundaki 24 saat MTX kolu ile hemen hemen aynı (%93) bulunmuştur. Buna karşılık, tüm hastalar birlikte değerlendirildiğinde, SSS(+) B-ALL'de EFS %60'lara kadar inmiş, SSS(-) B-ALL'de ise ancak %87'ye yaklaşmıştır. SSS tutumlu, görüldüğü gibi B-hücreli lösemi tedavisinde en önemli başarısızlık nedenidir. Bunu izleyerek ise, yine BFM grubu ile benzer bir noktaya gelinmiş, en son hali ile COG ANHL01P1 protokolünde standart tedaviye ek olarak her bir blok sırasında ikişer doz rituximab uygulanması planlanmıştır. Erişkinden sonra çocuklarda da Rituximab monoklonal antikoru ile refrakter veya nüks olgularda başarılı sonuçlar bildirilmiştir<sup>53-55</sup>.

Sonuç olarak, Burkitt lösemi tedavisinde günümüzde gelişen nokta ve başlıca sorunlar şöyle özetlenebilir:

1. Bilinen başlıca etkili ilaçlar olan siklofosamid, metotreksat ve sitozin arabinozid yüksek dozda ve çeşitli kombinasyonlarda, BFM ve LMB protokollerinde başarılı olmuş, B-ALL'de EFS %90'a ulaşmıştır.
2. Başarılı protokollerde doz ve süre azaltma çabaları iyi sonuçlanmamıştır. Protokoller bir bütün olarak düşünülmeli ve değerlendirilmelidir.
3. İnisyel santral sinir sistemi tutulumu en önemli olumsuz risk faktörüdür, EFS'yi en az %10 düşürmektedir. Tedavide kraniyal ışınlama gerekli değildir, yoğun üçlü intratekal tedavi üzerinde çalışılmaktadır.
4. Kök hücre naklinin birinci tam remisyonda yeri yoktur. Tedaviye yanıtız olgularda ve ikinci remisyonda denenebilir. B-ALL'de allojeneik verici tercih edilebilir.
5. Başarılı protokollerden sonra nükseden olguların prognozu çok kötüdür. Yeni ilaç ve yaklaşımlar gereklidir.
6. Tedavi başarısında kemoterapinin etkinliği kadar destek tedavisi ve toksik ölümlerin önlenmesi de önemlidir. LMB protokollerini temel alan İngiliz protokolleri aynı başarıya ulaşamamış, özellikle de 9003 serisinde yüksek orandaki erken metabolik komplikasyon ve ölümden ürüt oksidazın bulunmaması sorumlu tutulmuştur<sup>43</sup>.
7. Anti-CD20, yani rituximab, gelecek vaad eden ve belki de bugüne kadar başarılı olamayan doz azaltma çabalarını olası kılacak bir tedavi yöntemidir. Tüm büyük gruplar bu yönde çalışmalarını sürdürmektedir.

### KAYNAKLAR

1. Pui CH. Childhood leukemias. N Engl J Med 1995;332:1618-30.
2. Bowman WP, Shuster J, Cook B, et al. Improved survival for children with B cell acute lymphoblastic leukemia and stage IV small noncleaved cell lymphoma: a Pediatric Oncology Group Study. J Clin Oncol 1996;14:1252-61.
3. Murphy SB, Bowman WP, Abramowitch M, et al. Results of treatment of advanced-stage Burkitt's lymphoma and B cell (Slg+) acute lymphoblastic leukemia with high-dose fractionated cyclophosphamide and coordinated high-dose methotrexate and cytarabine. J Clin Oncol 1986;12:1732-39.
4. Head DR. Classification and differentiation of the acute leukemias. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glyader B, eds. Wintrobe's clinical hematology. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004:2063-76.
5. Diebold J, Jaffe ES, Raphael M, Warnke RA. Burkitt lymphoma/leukemia. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, eds. World Health Organisation classification of tumours, pathology and genetics: tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Pres, 2001.
6. Stevens DA, O'Connor GT, Levine PH, and Rosen RB. Acute leukemia with 'Burkitt's lymphoma cells' and Burkitt's lymphoma. Simultaneous onset in American siblings; description of a new entity. Ann Intern Med 1972;76:967-73.
7. Sandlund JT and Behm FG. Non-Hodgkin lymphomas in children. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glyader B, eds. Wintrobe's clinical hematology. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004:2411-27.
8. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. The morphologic classification of acute lymphoblastic leukemia: concordance





- among observers and clinical correlations. *Br J Haematol* 1981;47:553-61.
9. Behm FG and Campana D. Immunophenotyping. In: Pui C-H, ed. *Childhood leukemias*. Cambridge: Cambridge University Press,1999: 111-44.
  10. Michiels JJ, Adriaansen AD, Head DR, et al. TdT positive B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) without Burkitt characteristics. *Br J Haematol* 1988;68:423-6.
  11. Frater JL, Batanian JR, O'Connor DM, Grosso LE. Lymphoblastic leukemia with mature B-cell phenotype in infancy. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004;26:672-7.
  12. Li S, Lew G. Is B-lineage ALL with a maturphenotype and L1 morphology a precursor B-lymphoblastic leukemia/lymphoma or Burkitt leukemia/lymphoma? *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:1340-4.
  13. Koehler M, Behm FG, Shuster J, et al. Transitional pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia of childhood is associated with favorable prognostic clinical features and an excellent outcome: a Pediatric Oncology Group Study. *Leukemia* 1993;7:2064-68.
  14. Navid F, Mosijczuk AD, Head DR, et al. Acute lymphoblastic leukemia with the (8;14)(q24;q32) translocation and FAB L3 morphology associated with a B-precursor immunophenotype: the Pediatric Oncology Group experience. *Leukemia* 1999;13:135-41.
  15. Gupta AA, Grant R, Shago M, Abdelhaleem M. Occurrence of t(8;22)(q24.1;q11.2) involving the MYC locus in a case of pediatric acute lymphoblastic leukemia with a precursor B cell immunophenotype. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004;26:532-4.
  16. Ohtsuki T, Ogawa Y, Izumi T, et al. Two cases of mature B-cell acute lymphocytic leukemia with normal karyotype in adults. *Acta Haematol* 1996;96:258-61.
  17. Hammami A, Chan WC, Michels SD, Nassar VH. Mature B-cell acute leukemia: a clinical, morphological, immunological and cytogenetic study of nine cases. *Hematol Pathol* 1991;5:109-18.
  18. Chng WT, Yeoh AEJ, Liu TC, Quah TC. t(8;14) Mature B-cell (Burkitt's) lymphoma/leukaemia with atypical morphology in a pediatric patient. *Eur J Haematol* 2004; 73: 386-387
  19. Sullivan MP, Pullen DJ, Crist WM, et al. Clinical and biological heterogeneity of childhood B cell acute lymphocytic leukemia: implication for clinical trials. *Leukemia* 1990;4:6-11.
  20. Chan NPH, Ma ESK, Wan TSK, Chan LC. The spectrum of acute lymphoblastic leukemia with mature B-cell phenotype. *Leukemia Research* 2003;27:231-4.
  21. Kansal R, Deeb G, Barcos M, et al. Precursor B lymphoblastic leukemia with surface light chain immunoglobulin restriction: a report of 15 patients. *Am J Clin Pathol* 2004;121:512-25.
  22. Tsao L , Draoua HY , Osunkwo I , et al. Mature B-cell acute lymphoblastic leukemia with t(9;11) translocation: a distinct subset of B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Mod Pathol* 2004; 17 : 832-9.
  23. Raimondi SC. Cytogenetics of acute leukemias. In: Pui C-H, ed. *Childhood leukemias*. Cambridge: Cambridge University Press,1999: 168-96.
  24. Rubnitz JE, Look AT. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. In: Pui C-H, ed. *Childhood leukemias*. Cambridge: Cambridge University Press,1999: 197-218.
  25. Rosenwald A, Staudt LM, Duyster JG, Morris SW. Molecular aspects of non-Hodgkin lymphomagenesis. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glyader B, eds. *Wintrobe's clinical hematology*. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004:2325-61.
  26. Schmidt EV. MYC family ties [news, comment]. *Nat Genet* 1996;14:8-10.
  27. van der Burg M, Barendregt BH, van Wering ER, et al. The presence of somatic mutations in immunoglobulin genes of B cell acute lymphoblastic leukemia (ALL-L3) supports assignment as Burkitt's leukemia-lymphoma rather than B-lineage ALL. *Leukemia* 2001;15:1141-3.
  28. Dunphy CH, van Deventer HW, Carder KJ, et al. Mature B-cell acute lymphoblastic leukemia with associated translocations (14;18)(q32;q21) and (8;9)(q24;p13) A Burkitt Variant? *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:610-13.
  29. Stamatoullas A, Buchonnet G , S Lepretre S, et al De novo acute B cell leukemia/lymphoma with t(14;18). *Leukemia* 2000; 14: 1960-66.
  30. Lones MA, Sanger WG, Le Beau MM, et al. Chromosome abnormalities may correlate with prognosis in Burkitt/Burkitt-like lymphomas of children and adolescents. A report from Children's Cancer Group study CCG-E08. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004;26:169-178.
  31. Greer WL, Lee CLY, Mary B. Callanan MB, et al. Case of acute lymphoblastic leukemia presenting with t(14;18)/BCL2, t(8;14)/cMYC, and t(1;2)/FCGR2B. *Am J Hematol* 2003;74:112-18.
  32. Loh ML, Samson Y, Motte E, et al. Translocation (2;8)(p12;q24) associated with a cryptic t(12;21)(p13;q22) TEL/AML1 gene rearrangement in a child with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet and Cytogenet* 2000;122: 79-82.
  33. Mann G , Trebo MM , Haas OA , et al. Philadelphia chromosome-positive mature B-cell (Burkitt cell) leukaemia *Br J Haematol* 2002; 118: 559-62.
  34. Gündüz C, Coşulu O, Çetingül N, et al. New chromosome rearrangement in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2002;137:150-2.
  35. Sandlund JT, Magrath IT. B-cell acute lymphoblastic leukemia and Burkitt lymphoma. In: Pui C-H, ed. *Childhood leukemias*. Cambridge: Cambridge University Press,1999: 313-21.
  36. Shad A, Magrath I. Malignant non-Hodgkin's lymphomas in childhood. In: Pizzo PA, Poplack DG, eds. *Principles and practice of pediatric oncology*, third ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers,1997:545-587.
  37. Talbot SJ, Crawford DH. Viruses and tumours – an update. *European Journal of Cancer* 2004;40:1998-2005.



38. Patte C. B-acute lymphoblastic leukemia. The European experience. *Int J Pediatr Hematol Oncol* 1998;5:81-88.
39. Dayton VD, Arthur DC, Gajl\_Peczalska KJ, Brunning R. L3 acute lymphoblastic leukemia. Comparison with small noncleaved cell lymphoma involving the bone marrow. *Am J Clin Pathol* 1994;101:130-139.
40. Reiter A, Schrappe M, Tiemann M, et al. Improved treatment results in childhood –cell neoplasms with tailored intensification of therapy: a report of the Berlin-Frankfurt-Münster Group trial NHL-BFM 90. *Blood* 1999;94:3294-306.
41. Patte C, Auperin A, Michon J, et al. The Societe Française d'Oncologie Pédiatrique LMB89 protocol: highly effective multiagent chemotherapy tailored to the tumor burden and initial response in 561 unselected children with B-cell lymphomas and L3 leukemia. *Blood* 2001;97:3370-79.
42. Woessmann W, Seidemann K, Mann G, et al. The impact of methotrexate administration schedule and dose in the treatment of children and adolescents with B-cell neoplasms: a report of the BFM Group Study NHL-BFM95. *Blood* 2005;105:948-58.
43. Patte C. Treatment of mature B-ALL and high-grade B-NHL in children. *Best Practice & Research Clin Haematol* 2003;15:695-711.
44. Patte C, Sakiroglu O, Sommelet D. European experience in the treatment of hyperuricemia. *Semin Hematol* 2001;38(suppl 10):9-12.
45. Pui C-H. Urate oxidase in the prophylaxis or treatment of hyperuricemia: The United States experience. *Semin Hematol* 2001;38(suppl 10):13-21.
46. Patte C, Sakiroglu C, Ansoborlo S, et al. Urate-oxidase in the prevention and treatment of metabolic complications in patients with B-cell lymphoma and leukemia, treated in the Societe Française d'Oncologie Pédiatrique LMB89 protocol. *Annals Oncol* 2002;13:789-95.
47. Cairo MS, Bishop M. Tumour lysis syndrome: new therapeutic strategies and classification. *Br J Haematol* 2004; 127: 3-11.
48. Pession A, Barbieri E, Santoro N, et al. Efficacy and safety of recombinant urate oxidase (rasburicase) for treatment and prophylaxis of hyperuricemia in children undergoing chemotherapy. *Haematologica* 2005;90:141-2.
49. Jeha S, Pui C. Recombinant urate oxidase (rasburicase) in the prophylaxis and treatment of tumor lysis syndrome. *Contrib Nephrol* 2005; 147:69-79.
50. Wössmann W, Schrappe M, Meyer U, et al. Incidence of tumor lysis syndrome in children with advanced stage Burkitt's lymphoma/leukemia before and after introduction of prophylactic use of urate oxidase. *Ann Hematol* 2003;82:160-165.
51. Patte C, Laplanche A, Bertozzi AI, et al. Granulocyte colony-stimulating factor in induction treatment of children with non-Hodgkin's lymphoma: a randomized study of the French Society of Pediatric Oncology. *J Clin Oncol* 2002;20:441-8.
52. Cairo MS. Treatment of Burkitt acute lymphoblastic leukemia, B-ALL. *State of the Science, Leukemia*. May 12, 2003.
53. Corbacioglu S, Eber S, Niggli F. Successful therapy in a child with relapsed B-ALL with anti CD20 antibodies. *Eur J Pediatr* 2001;160:Abstract).
54. Maloney DG, Smith B, Rose A. Rituximab: mechanism of action and resistance. *Semin Oncol* 2002;29 (Suppl 2):2-9.
55. de Vries MJ, Veerman AJP, Zwaan CM. Rituximab in three children with relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia/Burkitt non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2004;125, 405–17.



# ADÖLESAN AKUT LENFOBlastİK LÖSEMİ TEDAVİSİ

Dr. Lebriz Yüksel Soycan

Bizim Lösemili Çocuklar Vakfı ve Haliç Üniversitesi

Pediyatrik hematoloji-onkoloji alanında son 30 yılda yoğun olarak yürütülen multisentrik klinik araştırmaların sonucunda çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemi tedavisinde büyük ilerleme kaydedilmiş, uzun süreli olaysız sağkalım değerleri %80'e ulaşmıştır. Bu çalışmalarda ergenler ve 18-21 yaşına kadar olan genç erişkinler de belli oranda yer almıştır. Pediyatrik çalışmaların sonuçları incelendiğinde, 10 yaş önemli bir risk sınırı olarak bulunmuş, 10 yaş üzeri hastalarda gerek bazı olumsuz prognostik hastalık özelliklerinin daha çok görüldüğü, gerekse tedaviye yetersiz yanıtın ve tedavi ile ilgili komplikasyonların daha fazla olduğu gözlenmiştir. Tüm büyük çalışma gruplarında, 10 yaş üzerinde uzun süreli olaysız sağkalım değerleri en iyi 1-5 yaş arasında görülmekte, bunu izleyen 5'er yıllık dönemlerde ortalama %10 bir düşüş gözlenmektedir. Sonuç olarak 10-20 yaş arası 5 yıllık EFS %50 ile 70 arası bildirilmektedir (Tablo 1)<sup>1-10</sup>.

Bu farkın nedeni şu anda kesin olarak bilinmemekte ve araştırılmaktadır. Pediyatrik protokollerde birçok ilaç daha yüksek dozda kullanılmakta, pediyatrik protokoller pediatri merkezlerinde daha yoğun ve düzenli olarak uygulanmaktadır. Pediatri merkezlerinde tedavi gecikmeleri çok daha kısa bulunmuştur. Ayrıca, ergen ve genç erişkinler için "anne faktörü" olarak adlandırılan psikolojik destek ve yönlendirmenin, çocuk bölümlerinde tedavi edilen ergen ve genç erişkinlerin kompliansını arttıran bir faktör olduğu belirtilmektedir.

Adölesanda daha yoğun tedavinin daha başarılı olduğu konusunda birleşimle birlikte, osteonekroz, pankreatit, vb. çeşitli ilaç toksisitesine bağlı komplikasyonların da daha fazla görüldüğü iyi bilinmektedir. Bu nedenle, çocukta kullanılan protokollerin, belli kurallar dahilinde, bu yaş grubu için hazır-

**Tablo 1.** Çeşitli pediyatrik çalışmalarda adölesanlarda (>10 yaş) ALL tedavi sonuçları

Çalışma	Yaş (yıl)	n	% Toplam hasta sayısı	5y-pEFS (SE)	Kaynak
AIEOP 91	10-17y	190	15.9	52.5 (3.6)	1
BFM 90	10-18y	386	17.7	64.4 (2.5)	3
CCG 1800 serisi	≥10y	1107	21.6	66.0 (2.0)	2
COALL 92	10-18y	104	19.3	70.5 (4.6)	7
DFCI 91-01	10-18y	69	18.3	79.0 (5.0)	8
EORTC-CLCG 58881	10-18y	361	17.5	58.2 (2.9)	4
NOPHO 92-98	10-15y	179	15.7	72.3 (3.6)	5
SJCRH 13A	10-18y	43	26.1	55.7 (7.6)	6
TCCSG L92-13	≥10y	83	23.9	57.0 (5.8)	9
UKALL XI	10-14y	316	15.1	62 (2.9)	10

Diğer taraftan, adölesan hastalardan özellikle 15 yaş ve üzeri olanların bir kısmı erişkin ALL protokolleri kullanılarak, erişkin hematoloji bölümlerinde tedavi edilmektedir. Erişkinde ALL tedavisi sonuçlarının genelde çocuk yaş grubuna göre daha düşük olduğu, 5 yıllık EFS değerinin %30-40 düzeyinde kaldığı iyi bilinmektedir. Adölesan hastaların tedavisinde iki grup tarafından elde edilen sonuçların karşılaştırması bir süredir gündemde olup, değişik ülkelerden bildirilen ortak gözlem, pediyatrik protokoller ile çok daha iyi sonuçlar elde edildiği, 5 yıllık EFS değerlerinde en az %25-30 fark olduğu (Tablo 2)<sup>7-11</sup>.

lanen özel klinik araştırmalar kapsamında uygulanması ve en uygun tedavi protokolünün böylece geliştirilmesi en doğru yaklaşım olarak gözükmektedir. Nitekim, klinik araştırmalar kapsamında tedavi, bir hasta ve hastalık grubunda başarıyı arttırmanın ön koşuludur. ALL, çocuklarda tüm kanserlerin %30'unu oluştururken, bu oran adölesanda %6'ya inmektedir. ALL tedavisinde deneyim ve başarı pediyatrik merkezlerde olduğu için, 15-25 yaş arası adölesan ve genç erişkinlerin pediyatrik merkezlerde, kendileri için özel hazırlanan klinik çalışmalar kapsamında tedavi edilmeleri konusunda fikir birliği oluşmuştur (11-14).



**Tablo 2.** Adölesan ve genç erişkin ALL'si tedavisinde çocuk ve erişkin çalışma gruplarının elde ettiği sonuçların karşılaştırması.

Çalışma Grubu/Çalışma Dönemi	Hasta sayısı	CR (%)	EFS (%), 5-yıl
Kuzey Amerika 1988–1998 Yaş (yıl): 16–21			
CCG 1882 (çocuk)	196	96	64*
CALGB 8811-9511 (erişkin)	103	93	38*
Fransa 1993–1994 Yaş (yıl): 15–20			
FRALLE-93 (çocuk)	77	94	67
LALA-94 (adult)	100	83	41
Hollanda 1985–1999 Yaş (yıl): 15–20			
DCOG-ALL (çocuk)			
15–18 yıl	47	98	69
HOVON (erişkin)			
15–18 yıl	44	91	34
19–20 yıl	29	90	34
İtalya 1996–2000, Yaş (yıl): 14–18			
AIEOP (çocuk)	153	94	83
GIMEMA (erişkin)	95	95	55
* 6-yıl EFS			
DFS			

**KAYNAKLAR**

1. Conter V, Arico M, Valsecchi MG, et al. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) acute lymphoblastic leukemia studies, 1982–1995. *Leukemia*. 2000;14:2196–2204.
2. Gaynon PS, Trigg ME, Heerema NA, et al. Children's Cancer Group trials in childhood acute lymphoblastic leukemia: 1983–1995. *Leukemia*. 2000;14:2223–2233.
3. Schrappe M, Reiter A, Zimmermann M, et al. Long-term results of four consecutive trials in childhood ALL performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 1995. *Leukemia*. 2000;14:2205–2222.
4. Vilmer E, Suci S, Ferster A, et al. Long-term results of three randomized trials (58831, 58832, 58881) in childhood acute lymphoblastic leukemia: a CLCG-EORTC report. *Children Leukemia Cooperative Group*. *Leukemia*. 2000;14:2257–2266.
5. Gustafsson G, Schmiegelow K, Forestier E, et al. Improving outcome through two decades in childhood ALL in the Nordic countries: the impact of high-dose methotrexate in the reduction of CNS irradiation. *Nordic Society of Pediatric Haematology and Oncology (NOPHO)*. *Leukemia*. 2000;14:2267–2275.
6. Pui CH, Boyett JM, Rivera GK, et al. Long-term results of Total Therapy studies 11, 12 and 13A for childhood acute lymphoblastic leukemia at St Jude Children's Research Hospital. *Leukemia*. 2000;14:2286–2294.
7. Harms D, Janka-Schaub G. Co-operative study group for childhood acute lymphoblastic leukemia (COALL): Long-term follow-up of trials 82, 85, 89, and 92. *Leukemia*. 2000;14:2234–2239.
8. Silverman LB, Declerck L, Gelber RD, et al. Results of Dana-Farber Cancer Institute Consortium protocols for children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia (1981–1995). *Leukemia*. 2000;14:2247–2256.
9. Tsuchida M, Ikuta K, Hanada R, et al. Long-term follow-up of childhood acute lymphoblastic leukemia in Tokyo Children's Cancer Study Group 1981–1995. *Leukemia*. 2000;14:2295–2306.
10. Eden OB, Harrison G, Richards S, et al. Long-term follow-up of the United Kingdom Medical Research Council protocols for childhood acute lymphoblastic leukaemia, 1980–1997. *Medical Research Council Childhood Leukaemia Working Party*. *Leukemia*. 2000;14:2307–2320.
11. DeAngelo DJ. The treatment of adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia. *Hematology* 2005;(Am Soc Hematol Educ Program):123-130.
12. Nachman J. Clinical characteristics, biologic features and outcome for young adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Br J Haematol* 2005;130:166-73.
13. Desandes E, Lacour B, Sommelt D, Danzon A, Delafosse P, Grosclaude P, Mace-Lesech J, Maarouf M, Marr A, Raverdy-Bourdon N, Tretarre B, Velten M, Brugieres L. Cancer survival among adolescents in France. *Eur J Cancer* 2006;42:403-9.
14. Pui CH, Schrappe M, Ribeiro RC, Niemeyer CM. Childhood and adolescent lymphoid and myeloid leukemia. *Hematology* 2004;(Am Soc Hematol Educ Program):118-45.



# ADÖLESAN AKUT LENFOBlastİK LÖSEMİ TEDAVİSİ

Dr. Sevgi Kalayoğlu-Beşışık

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

**A**kut miyeloid lösemide (AML) son 40 yıldır yaygın olarak kullanımda olan remisyona indüksiyonu tedavisi hücre siklusüne özgül ajan sitozin arabinosid (24 saatlik infüzyon şeklinde günde 100mg/m<sup>2</sup>, 7 gün) ile hücre siklusüne özgül olmayan ajan daunorubisin' (intravenöz olarak 45-60mg/m<sup>2</sup>/gün; 3 gün) den oluşmaktadır. Bu tedavi ile elde edilen tam remisyona oranı (TR) genç erişkin (<55 – 60yaş) AML olgularında %60-80, yaşlı AML (>55 – 60yaş) olgularında %40-55, genel sağkalım oranı ise sırasıyla %30 ve %10-15'dir<sup>1</sup>. Remisyona sonrası tedavi dozu artırılmasının faydası genç erişkin (<60 yaş) AML hastalarında gözlenmiştir. Bu faydalanımın boyutu kısmen tanı sırasındaki sitogenetik değişikliklerden etkilenmektedir.

Akut miyeloid lösemide tedavi başarısının artırılabilmesine yönelik (remisyona indüksiyonu, konsolidasyon, idame) yeni yaklaşımlar getirme çabaları vardır. Aşağıda bu amaçla yürütülen çalışmaların kapsamındaki ajanlar bildirilmiştir.

1. İmmünoterapi (örneğin gemtuzumab ozogamicin, IL-2, histamine dihidroklorid),
2. Nükleozid analogları (klofarabin, troksasitabin)
3. Hücre sinyal iletilişinin yönlendirilmesi (örneğin FLT3 inhibitörleri; CEP-706, PKC412, SU5416, SU5614, SU11248, farnesil transferaz inhibitörleri; R11577-ZARNESTRA)
4. İlaç direnci yönlendirilmesi (siklosporin, PSC-833),
5. Apoptoza yönlendirici (G3139-Genasense)
6. Metillenmeyi azaltan ajanlar
7. Antianjiojenik tedavi,
8. Proteozom inhibisyonu (örneğin bortezomib)

## GEMTUZUMAB OZOGAMICIN

Monoklonal antikor tedavileri normal hücreye zarar vermeden tümör hücrelerine özgül sitotoksositeye yol açmaktadır. Monoklonal antikorlar laboratuvarında üretilen proteinlerdir; tümör hücrelerini yerinde bulur, hücreyi doğrudan öldürür ya da bağışıklık sistemini uyararak onun ölümünü uyarır. Bazı monoklonal antikorlar radyoaktif izotop ya da toksine bağlanır. Bu durumda antikor tümör hücrelerini öldürecek ajanın vericisi konumuna geçer.

Gemtuzumab ozogamicin (GO) (Mylotarg; Wyeth-Ayerst Laboratuvarları; Madison, New Jersey) rekombinant hazırlanmış insan-fare monoklonal anti-CD33 antikorunun çift sarmal DNA'yı parçalayan antitümör antibiyotiği kalikamisine kovalanarak bağlı halidir.

CD33 siyalik asit bağlayan reseptör ailesinden bir glikoproteindir. Miyeloid blastların yaklaşık %90'unda, ayrıca bütün normal erken miyeloid ve eritroid progenitör hücrelerde eksprese olur, normal kan kök hücresi ya da kan dışı dokuda ekspresyonuyok denecek kadar azdır. O nedenle AML tedavisinde hedefe yönelik tedavi için uygun antijendir. Anti-CD33 yüzeyde reseptöre bağlandığında hızla hücre içine alınır, bu özelliği tek başına etkisini azaltmaktadır.

## Faz I çalışması (Blood 1999 93:3678-3684)

Nüks etmiş ya da remisyona elde edilememiş AML olgularında GO farklı dozlarda 2 haftalık arayla 3 doz olarak verilmiş. Doz, etkinlik ve farmokokinetik araştırılmış. 40 hastalık çalışmada bir hastada TR elde edilmiş, 7 hastada kemik iliğinde blast oranı <%5 olmakla birlikte trombosit sayısı toparlanması olmamış. Bu durum trombosit düzelmesi olmayan TR (TRtr) olarak isimlendirilmiş. Sonuç olarak 1.nüks halinde yaşlı AML hastalarında tek ajan GO ile TR oranı: %15 olarak elde edilmiş.

## Faz II çalışması (J Clin Oncol 2001; 19: 3244 –54)

### Nüks AML olguları

1. **Nüks AML olgularındanda tek başına GO:** Nüks etmiş 142 AML olgusunu kapsayan (her yaş, otolog sonrası nüks olguları ya da sadece >60 yaş grubu dahil eden) birinci remisyona süresine göre oluşturulmuş 3 çalışmada genel yanıt oranı yani TR (%16) ve TRtr durumunun (%13) birlikte ele alınması ile elde edilen yanıt oranı yaklaşık %30 bulunmuş. Prognozu etkileyen en önemli faktör hasta yaşı ve ilk remisyona süresi olmuş. Nitekim nüksüz sağ kalım süresi <60 yaş 17 ay iken >60 yaş hastalarda 2.3 ay bulunmuş. Bu bulgularla GO tek ajan olarak FDA onayı almış.



**2- Nüks AML olgularında kemoterapi ile birlikte GO:** Tedavi etkinliği olmakla birlikte ciddi toksisite sorunu olduğu gözlenmiştir

### Yeni tanı konulmuş yaşlı AML olguları

#### 1- Yeni tanı konulmuş yaşlı AML olgularında tek başına

**GO:** Nabhan ve ark'ın çalışmasında  $\geq 65$  yaş yeni tanı konulmuş AML olgularına GO tek başına remisyona indüksiyonu, konsolidasyon ( $6 \text{ mg/m}^2$ ) ve idame ( $3 \text{ mg/m}^2$ ) 4 haftada bir 4 kez) tedavisi olarak verilmiş. Yanıt oranı %27 ve ortanca yanıt süresi 7.6 ay olarak bulunmuş. Bir başka çalışma; European Organization for Research and Treatment of Cancer – Leukaemia Group (EORTC-LG)/Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto (GIMEMA) çalışmasında,  $>60$  yaş AML olgularında 61-75 yaş arasında yanıt oranı %33 bulunurken daha ileri yaşta bu oran %5'e düşmüştür.

#### 2- Yeni tanı konulmuş yaşlı AML hasta grubunda kemoterapi ile birlikte GO:

61 – 75 yaş arası 64 AML'li hastaya remisyona indüksiyonu amacıyla GO ( $9 \text{ mg/m}^2$ , 2 saatlik infüzyon) 1. ve 15.günlerde standart kemoterapi (MICE; with mitoxantrone, cytarabine, and etoposide) ile birlikte verilmiş. Yanıt % 35.1 olarak bildirilmiştir. 26 hastanın 13'ü remisyona girmiştir. MICE tam doz verilirse %65.8 en iyi yanıt hali elde edilmiştir. Bu çalışmada 2 yıllık genel sağkalım %11 ve hastalıksız sağ kalım %12.1 tespit edilmiştir.

### Faz III çalışmaları

Tablo halinde aşağıda verilmiştir.

**Tablo 1.** GO ile AML'de faz III çalışmaları

Çalışma	Süre	Hasta sayısı	Yaş	CD33 durumu	Kemoterapi
SWOG SO106	5	684	18 - 55	Dikkate alınmıyor	DNR + c-ARA±GO→ YDAC →GO ya da tedavisiz
ECOG E1900	5	830	16 -60	Dikkate alınmıyor	DNR + c-ARA±GO→ KHT
MRC AML15	5	>2500	<60 ->60	Dikkate alınmıyor	ADE ya da DA ya da FLAG-IDA±GO→ MACE±GO ya da MiDAC±GO ya da YDAC±GO
EORTC/GIMEMA-06012, 2005	3.75	450	61 - 75	(+)	GO →MICE ya da MICE

AML, acute myeloid leukaemia; SWOG, Southwest Oncology Group; GO, gemtuzumab ozogamicin; HDAC, high-dose cytarabine; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; MRC, Medical Research Council; ADE, daunorubicin, cytarabine, etoposide; DA, daunorubicin, cytarabine; FLAG, fludarabi-

ne and cytarabine; Ida, idarubicin; MACE, amsacrine, cytarabine, etoposide; MidAC, intermediate-dose cytarabine; EORTC, European Organization for Research and Treatment of Cancer; GIMEMA, Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto; MICE, mitoxantrone, cytarabine and etoposide.

GO önerilen dozlarda ciddi hepatotoksisite ile birlikte. Sinüzoidlerde bulunan hücrelere toksik etkinin veno-oklüsif hastalığa yol açtığı düşünülmektedir. Transplant planlı hastalarda en az 4 ay önce kullanılmış olmalıdır.

Sonuç nük etmiş ya da tedaviye dirençli AML grubunda GO umut verici olmamıştır (APL hariç). GO için gelecek daha düşük dozlarda kemoterapi ile verilmesi gibi durmaktadır.

AML tedavisinde GO ile sunulabilecek gelişmeler

1. Genç hasta grubunda antilösemik tedavi etkinliği artırılabilir
2. Yoğun tedavi verilemeyen hasta grubunda başka bir tedavi seçeneği oluşturma
3. Yaşlı AML grubunda daha uygun yan etkili tedavi gelişmesi
4. İdame kullanımı
5. Kök hücre nakli öncesi hazırlama rejimlerine ekleme
6. In vitro tümör hücresi uzaklaştırma

### NÜKLEOZİD ANALOGLARI

Klofarabin (*2-chloro-2'-fluoro-deoxy-9-D-arabinofuranosyladenine*) hibrid bir moleküldür; ribonükleotid redüktaz inhibitörüdür.

### Faz I çalışması:

Daha önceden çeşitli basamak tedaviler kullanılmış 32 erişkin akut lösemili hastaya tek başına klofarabin verilmiş; 5 hastada (%16) (2'si 2.TR, 3'ü 3.kismi yanıtı iken) tam yanıt elde edilmiştir. Faz I çalışmasında çocuk hastalarda yanıt

daha iyi elde edilmiştir. 22 çocuk hastanın 8'inde (%36) yanıt; 5 çocukta (%23) TR şeklinde elde edilmiştir.

### Faz II çalışması

Tedaviye dirençli ya da nüks etmiş akut lösemi olgularında tek başına klofarabin ile 62 hastanın 30'unda (%48) yanıt (TR, TRtr, kısmi yanıt) elde edilmiş. AML olgularında bu yanıt genel olarak %42 ilk remisyon süresi uzun olan (>12 ay) hasta grubunda %87,  $\geq$  2.basamak kurtarma tedavisi olarak klofarabin kullanılan hasta grubunda ise %67 olarak bulunmuştur.

Sitozin arabinozidin (c-ARA) sitotoksik etki gösterebilmesi için fosforillenmesi ve trifosfat hale geçmesi gereklidir. Orta düzey doz c-ARA'nın hücre içinde birikmesi saturasyonla sınırlıdır. Bu nedenle c-ARA fludarabin ya da kladribin ile birlikte verilmiştir. Fludarabin ve kladribinin etkisizlik noktaları klofarabin ile çözülmeye çalışılmıştır. Adenin 2.pozisyonunda halojenlenmesi ve C-2' pozisyonunda arabinofuranosil adeninin florlanması, klofarabin yüksek etkinliğine yol açan özelliklere sahip olmasını sağlamıştır: **1.** bakteriyel pürin nükleozid fosforilazın fosforilolitik etkisine direnç vardır, **2.** Asidik ortamda stabildir; bu durum ağız yoluyla kullanılabilir şeklin gelişmesine fırsat vermiştir **3.** Adenozin deaminaz tarafından deaminasyona dirençlidir **4.** aktivite doğrudan DNA'ya yöneliktir. Klofarabin ile fludarabin ya da kladribin ile gözlenen nörotoksosite de yoktur. Antilösemik etkiyi artırmak için klofarabinin c-ARA ile birlikte verildiği nüks etmiş 32 akut lösemiye kapsayan bir çalışmada genel yanıt %38 (TR: %22, TRtr: %16) bulunmuştur.

Yaşlı ( $\geq$ 50 yaş) 60 yeni tanı konulmuş AML hastasını kapsayan çok yeni tamamlanmış bir Faz II çalışmada genel yanıt oranı %60 (TY: %52, TRtr: %8) olarak elde edilmiştir. Ancak sağ kalımda düzelleme gözlenmediği bildirilmiştir.

Antiviral ajan lamivudinden türetilen troksasitabinin tek başına ya da c-ARA ile birlikte verilmesinde etkinlik %20'in altında kalmıştır.

### FLT3 TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRLERİ

AML'de bilinen tirozin kinaz (TK) mutasyonlarının çoğu sınıf III reseptör TK (RTK) ailesindedir (KIT, PDGFB, FLT3, FMS). En sık FLT3 ve KIT mutasyonuna rastlanır. FLT3 mutasyonu FLT3 aktivasyonu ve böylelikle büyüme sinyal iletisine yol açar. AML olgularının %30'unda rastlanır ve kötü prognoz belirtisidir. KIT mutasyonu %5 olguda bulunur. Gastrointestinal stromal tümörlerden farklı bir bölgede mutasyon vardır; imatinibe dirençlidir.

Bu gün çalışmalarda kullanılan 4 adet FLT3 inhibitörü bulunmaktadır; PKC-412 (Novartis, Basel, Switzerland), CEP-701 (Cephalon, Frazer, PA), MLN518 (Millennium, San Francisco, CA), ve SU11248 (SuGen, New York, NY). Nüks etmiş AML olgularında her birinin de etkisi gösterilmiştir. Ancak etki kısmi ve geçicidir. Çevre kanında blast sayısı azalmakla birlikte remisyon nadirdir. Yeni çalışmalarda FLT3 etkinliği kemoterapiler ile birlikte araştırılmaktadır.

### FARNESİL TRANSFERAZ İNHİBİTÖRLERİ

Hücre siklusü ve sinyal iletisi ile apoptoz ve proliferasyonun kontrolü için RAS dahil olmak üzere çeşitli proteinlerin farnesillenmesi gereklidir. Onkoproteinlerin transforme edici etkisi farnesillenmesine bağlıdır. RAS geninde mutasyon çeşitli kanserlerde tespit edilmektedir. RAS mutasyonu miyeloid habis hastalık gelişimi ile birlikte. AML'de %30-40 oranında anormal sinyal iletisi ve RAS mutasyonuna rastlanır. RAS proteini dışında çok çeşitli onkoproteinler de farnesillenmektedir. Farnesil transferaz (Ftaz) hücre membranında proteinlerin yer almasını yönlendirir. Ftaz inhibitörleri (FTI) ile AML olgularında etkinlik gözlenmiştir. RAS mutasyonu olmadan da FTI etkisi gözlenebilmektedir. Genetik diğer değişiklikler ile RAS geninde beklenmedik aktivasyonu gösterebilir.

Faz I çalışma ile FTI'dan R115777 (tipifarnib; Zarnestra) ile kötü prognoza sahip AML olgularında enzim önlenmesi, düşük toksisite ve etkinlik (yaklaşık %30) gösterilmiştir. Daha sonra ardısıra Faz II çalışma sonuçları açıklanmış, FTI ile düşük oranda yanıt elde edildiği ve yanıt elde edilen grupta sağ kalımın yanıt elde edilemeyen gruba göre daha iyi olduğu bildirilmiştir. Tipifarnib ile **yeni tanı konulmuş 148 hastadan oluşan ileri yaş grubu AML olgularında TR + KR oranı %34 ve TR oranı %18 bulunmuştur.** Bir Faz III çalışmada; **ECOG 2902**, R115777 idame tedavisi olarak verilmektedir. Çalışma  $\geq$ 2.TR'da olan ve transplantasyon için uygun olmayan AML olgularını kapsamaktadır, aktif haldedir.

R115777 (Tipifarnib) ağız yoluyla kullanılabilen bir ajandır. 6 haftada bir 4 hafta boyunca günde iki kez sıklığında verilir.

### ÇOĞUL İLAÇ DİRENCİNİN DEĞİŞTİRİLMESİ

P-glikoproteini MDR1 genince kodlanır, kemoterapide kullanılan ilacın hücre dışına çıkarılmasında pompa görevi görür. İkincil bir hastalık olarak gelişmeyen (de novo) genç AML olgularında blast hücrelerinde kabaca %20 – 40 P-gp bulunur. Yaşlı hastalarda bu oran >%70'e varır. İkincil gelişimli ya da nüks AML ya da CD34 bulunan AML olgularında da P-gp bulunması yüksek orandadır. Lösemik hücrelerde P-gp bulunması ile TR oranında düşüklük gözlenmektedir.



Cyclosporine (CSA) ve PSC 833 P-gp antagonistlerdir. AML tedavisinde kemoterapiye duyarlılığı artırma amaçlı kullanılmıştır. Bu güne kadarki çalışmalarda P-gp CSA ya da PSC 833 ile birlikte verilen kemoterapi sonrası klinik yanıt durumu bazı çalışmalarda düzelme şeklinde bildirilirken bazı çalışmalarda bir değişiklik olmadığı şeklinde bildirilmiştir.

### APOPTOZA YÖNLENDİRİCİLER

AML'de apoptoz işleyişinde bozulma, hücrelerin bölünmesinden bağımsız olarak lösemik hücrelerin sağ kalım avantajına yol açmaktadır. Bcl-2 kaspaz ve kaspaz dışı apoptoza yönelmeyi önleyen bir proteindir. Bu proteinin fazla bulunması radyasyon, steroid ve kemoterapi gibi apoptoza yönlendirici sinyale yol açan tedavilere direnç gelişimi ile birlikte dir. Çeşitli hematolojik habis hastalıklarda Bcl-2 ekspresyonunun tedaviye kötü yanıt ve kötü klinik seyir ile birlikte olduğu gösterilmiştir. Genasens (G3139) 18-merfosfortiyonat olup güçlü bir proteozom inhibitörüdür. Apoptozun gelişmesine yol açabilir. Direncin üstesinden gelebilir. Genasens tedaviye dirençli ya da nüks etmiş akut lösemili 20 hastaya FLAG tedavisi ile birlikte Genasens verilen faz I çalışmasında %45 genel yanıt oranı elde edilmiştir. bcl-2 mRNA düzeyinde ciddi anlamda (%75) azalması ile birlikte kan ve kemik iliğinde blast azalması gözlenmiştir. Bu olumlu sonuç yeni tanı konulmuş AML olgularında faz III çalışmasının başlatılmasına yol açmıştır.

### METİLENMEYİ AZALTAN İLAÇLAR

Çeşitli habis hastalıklarda DNA'nın anormal metillenmesi söz konusudur. Akut lösemilerde de birtakım genetik değişikliklerden promoter bölgesindeki metillenme önemlidir. Miyeloid habis hastalıklarda promoter gen bölgesindeki p15 geni-

nin fazla metillenmesi hastalık ilerlemesi ve kötü klinik seyir ile birlikte dir. Desitabin (5-aza-2'-deoksisitidin) antilösemik etkiye sahip bir primidin analogudur. DNA yapısına girdiğinde geri dönüşümsüz olarak DNA metil transferazı önler. Bu enzim yeni sentezlenen DNA'nın metillenmesini önler. Nüks etmiş ya da tedaviye dirençli lösemi olgularında desitabinin etkili olduğu gösterilmiştir.

### HİSTON DEASETİLAZLARI

Kromatinlerin yeniden yapılanması sırasında gen ekspresyonu histon asetillenmesi ile ilişkilidir. Lösemi gelişiminde histon deasetillenmesinde değişiklik bildirilmiştir. Bazı translokasyonlar seyirinde oluşan füzyon proteinleri DNA'ya bağlanarak trnaskripsiyon yönetimi ile etkileşime geçer. Bu durumda histon deasetilaz birikir. Öncül hücrelerde farklılaşmada duraklama gelişir bu duraklamayı önlemeye yönelik histon deasetilaz inhibitörleri (HDAC) ile AML olgularında faz I ve faz II çalışmaları yürümektedir. Sonuçlar henüz bilgi verici durumda değildir.

### ANTİANJİJENİK AJANLAR

Reseptör tirozin kinazları (RTK) transmembran proteinlerdir. Hücre dışında ve hücre içinde ligand bağlayan bölümleri vardır. RTK'ları ligandı ile etkileşmesi halinde 1. sinyal iletisi tümör dokusunda büyüme, yayılma ve metastaza yol açar, 2. bazı RTKlar; vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü B (PDGFB) tümör anjiogenezinde rol oynar. VEGF tümör hücrelerinde üretilir, stroma hücreleri ile birlikte dir. Endotel hücrelerine etkir. Proliferasyon, göç, invazyon ve sağ kalımı sağlar. PDGFRB damar yapısına destek görevi gören perisit ve düz kas hücrelerinde bulunur. Ayrıca tümör hücresi, tümör stromasında

**Tablo 2:** Akut lenfoblastik lösemide yeni ajanlar

	Mekanizma	Özelliği
<b>Monoklonal antikorlar</b>		
Rituximab	Anti-CD20	B hücreli neoplazilerde KT etkisini artırabilir
Alemtuzumab	Anti-CD52	Damar yolu ya da deri altı uygulanabilir.
<b>Antimetabolitler</b>		
Clofarabine	Nükleozid analogu: ribonükleotid redüktaz ve DNA polimerazı inhibe eder	Nüks etmiş çocuk hasta ALL için onay almıştır.
Nelarabine	ARA-G'in ön maddesi: pürin nükleozid fosforilazı (PNP) önler.	T-ALL'de etkilidir.
Forodesine	PNP'I önler.	T-ALL'de araştırılıyor.
Trimetrexate	Dihidrofolat redüktazı önler.	Hücre içine girişi kolaylaştırır.
Aminopterin	Antifolat	Biyoyararlanım çok iyi.
<b>Liposom kaplı ilaçlar</b>		
Liposomal vinkristin		Nörotoksisite azalmıştır.
Lipozomal daunorubisin		Kardiyotoksisite azalmıştır.
Pegillenmiş asparaginaz		Yarılanma ömrü uzundur (6 gün)



fibroblastlarda bulunur. Sözü edilen hücrelerde ayrıca VEGF ve diğer büyüme faktörleri de bulunur.

AML'de blastik hücrelerde hastaların hemen hemen yarısında VEGF salgılır. Bu faktör endotel hücrelerinin proliferasyonu ve aktivasyonunu uyarır, aktif endotel hücrelerinden lösemik hücre büyümesi ve sağ kalımı için gerekli olan hematopoetik koloni stimüle edici faktör (*GM-CSF*) salgılır. AML olgularının yaklaşık %50'inde blastlarının üzerinde SCF için reseptör (*c-kit*) ve %10 – 20'inde VEGF reseptörü-2 (*VEGFR-2*) bulunur. Mikroçevreden gelen büyüme uyarısına yanıt veren bu reseptörlerin apoptoza direnç ve proliferasyonda rol oynayabileceği düşüncesine dayanarak RTK'lardan FLT3'ü inhibe

eden SU416 kemik iliğindeki angiogenezi de önler.

### PROTEOZOM İNİHİTÖRÜ

Multipl myelomda stroma üzerinden proteazom inhibisyonu ile etki yapan bortezomibin AML blast sağkalımını kısalttığı gözlenmiştir.

**Akut lenfoblastik lösemi (ALL)** 'de yeni ajanlar aşağıda bildirilmiştir.

Ph(+) ALL: TK inhibitörleri tedavide hem remisyon indüksiyonu hem de konsolidasyona yerleştirilmiştir. İkinci kuşak ABL kinaz inhibitörleri (AMN107, Novartis) ve dasatinib (BM3548-25, BMS) ile faz II çalışmaları tamamlanmaktadır.

### KAYNAKLAR

1. Shannon-Dorcy, K., Berger, M.S. & Bernstein, I.D. Selective ablation of acute myeloid leukemia using antibody-targeted chemotherapy: a phase I study of an anti-CD33 calicheamicin immunoconjugate. *Blood*, 1999; **93**: 3678–3684
2. Bross, P.F., Beitz, J., Chen, G., et al., Approval summary: gemtuzumab ozogamicin in relapsed acute myeloid leukemia. *Clinical Cancer Research*, 2001; **7**: 1490–1496 van der Velden V, te Marvelde J, Hoogeveen P, et al. Targeting of the CD33-calicheamicin immunoconjugate Mylotarg (CMA-676) in acute myeloid leukemia: in vivo and in vitro saturation and internalization by leukemic and normal myeloid cells. *Blood*. 2001;97: 3197-3204
3. Larson R, Sievers E, Stadtmauer E, et al. Use of gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg) in 157 patients > 60 years of age with acute myeloid leukemia in first relapse [abstract]. *Blood*. 2003;102: 176a
4. De Angelo D, Stone R, Durant S, et al. Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg) in combination with induction chemotherapy for the treatment of patients with de novo acute myeloid leukemia: two age-specific phase 2 trials [abstract]. *Blood*. 2003;102: 100a
5. Estey E, Thall P, Giles F, et al. Gemtuzumab ozogamicin with or without interleukin II in patients 65 years of age or older with untreated acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome: comparison with idarubicin plus continuous-infusion, high-dose cytosine arabinoside. *Blood*. 2002;99: 4343-4349
6. Nabhan C, Rundhaugen L, Riley M, et al. Phase II pilot trial of gemtuzumab ozogamicin (GO) as first line therapy in acute myeloid leukemia patients age 65 or older. *Leuk Res*. 2004;28: 909-919
7. Naito K, Takeshita A, Shigeno K, et al. Calicheamicin-conjugated humanized anti-CD33 monoclonal antibody (gemtuzumab ozogamicin, CMA-676) shows cytotoxic effect on CD33-positive leukemia cell lines, but is inactive on P-glycoprotein-expressing sublines. *Leukemia*. 2000;14: 1436-1443
8. Kell W, Burnett A, Chopra R, et al. A feasibility study of simultaneous administration of gemtuzumab ozogamicin with intensive chemotherapy in induction and consolidation in younger patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2003;102: 4277-4283
9. Nabhan, C., Rundhaugen, L.M., Riley, M.B., Rademaker, A., Boehlke, L., Jatoi, M. & Tallman, M.S. () Phase II pilot trial of gemtuzumab ozogamicin (GO) as first line therapy in acute myeloid leukemia patients age 65 or older. *Leukemia Research*, 2005; **29**: 53–57
10. Amadori, S., Suci, S., Stasi, R., et al., Gemtuzumab ozogamicin as single-agent treatment for frail patients 61 years of age and older with acute myeloid leukemia: final results of AML-15B, a phase 2 study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer and Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto Leukemia Groups. *Leukemia*, 2005; **19**: 1768–177
11. Amadori, S., Suci, S., Willemze, R., et al., () Sequential administration of gemtuzumab ozogamicin and conventional chemotherapy as first line therapy in elderly patients with acute myeloid leukemia: a phase II study (AML-15) of the EORTC and GIMEMA leukemia groups. *Haematologica*, 2004; **89**: 950–956

### NÜKLEOZİD ANALOGLARI

1. Kantarjian HM, Gandhi V, Kozuch P, et al. Phase I clinical and pharmacology study of clofarabine in patients with solid and hematologic cancers. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1167–73.



2. Kantarjian HM, Gandhi V, Cortes J, et al. Phase II clinical and pharmacology study of clofarabine in patients with refractory or relapsed acute leukemia. *Blood* 2003;102: 2379–86.
3. **Faderl S, Gandhi V, O'Brien S et al.**, Results of a phase 1-2 study of clofarabine in combination with cytarabine (ara-C) in relapsed and refractory acute leukemias. ***Blood* 2005; 105: 940-947**
4. **Faderl S**, Verstovsek S, Cortes J, et al. Clofarabine and cytarabine combination as induction therapy for acute myeloid leukemia (AML) in patients  $\geq$  50 years. *Blood* 2006 Jan 10; [Epub ahead of print]
5. Giles FJ, Garcia-Manero G, Cortes JE, et al., Phase II study of troxacitabine, a novel dioxolane nucleoside analog, in patients with refractory leukemia. *J Clin Oncol* 2002;20:656–64

**FTI**

1. Karp JE, Lancet JE, Kaufmann SH, et al. Clinical and Biologic Activity of the Farnesyltransferase Inhibitor R115777 in Adults with Refractory and Relapsed Acute Leukemias: a Phase 1 Clinical-Laboratory Correlative Trial. *Blood* 2001;97:3361-3369
2. Lancet J, Gotlib J, Gojo I, et al. Tipifarnib (Zarnestra) in previously untreated poor-risk AML of the elderly: updated results of a multicenter phase 2 trial. *Blood* 2004;104:249a
3. Harousseau J-L, Reiffers J, Lowenberg B, et al. Zarnestra™ (RM115777) in Patients with Relapsed and Refractory Acute Myelogenous Leukemia (AML): Results of a Multicenter Phase 2 Study. Proceedings of the 45th meeting of the American Society of Hematology. *Blood* 2003;102:176a, Abstract #614
4. Kurzrock R, Albitar M, Cortes JE, et al. Phase II study of R115777, a farnesyl transferase inhibitor, in myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol.* 2004;22:1287–1292

**FLT-3 İNHİBİTÖRLERİ**

1. Kottaridis P, Gale R, Frew M, et al. The presence of FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood* 2001;98: 1752-1759
2. Levis M, Smith BD, Beran M, et al. A randomized, open-label study of lestaurtinib (CEP-701), an oral FLT3 inhibitor, administered in sequence of chemotherapy in patients with relapsed

AML harboring FLT3 activating mutations: clinical response correlates with successful FLT3 inhibition. *Blood* 2005;106:12-1a. Abstract 403

**ÇOĞUL İLAÇ DİRENCİ DEĞİŞTİRİLMESİ**

1. Nooter K, Sonneveld P, Oostrum R, Herweijer H, Hagenbeek T, Valerio D. Overexpression of the *mdr1* gene in blast cells from patients with acute myelocytic leukemia is associated with decreased anthracycline accumulation that can be restored by cyclosporin-A. *Int J Cancer* 1990; 45: 263–8
2. Greenberg PL, Lee SJ, Advani R, et al. Mitox-antrone, etoposide, and cytarabine with or without valspodar in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome: a phase III trial (E2995). *J Clin Oncol* 2004; 22: 1078-86

**APOPTOZA YÖNLENDİRİCİLER**

1. **Marcucci G, Byrd JC, Dai G et al.**, Phase 1 and pharmacodynamic studies of G3139, a Bcl-2 antisense oligonucleotide, in combination with chemotherapy in refractory or relapsed acute leukemia. *Blood* 2003; 101: 425-432

**METİLENMEYİ AZALTAN İLAÇLAR**

1. Issa JPI, Garcia-Manero G, Giles FJ et al. Phase 1 study of low-dose prolonged exposure schedules of the hypomethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in hematopoietic malignancies. *Blood* 2004; 103:1635-40

**HİSTON DEASETİLAZLAR**

1. Pandolfi PP, Moe-Behrenz GHG. Targeting aberrant transcriptional repression in acute myeloid leukemia. *Rev Clin Exp Hematol* 2003;7:139-59

**ANTİANJİJENİK AJANLAR**

1. Fiedler W, Mesters R, Tinnefeld H, et al. A phase 2 clinical study of SU5416 in patients with refractory acute myeloid leukemia. *Blood* 2003;102:2763-2767

**PROTEAZOM İNHİBİTÖRLERİ**

1. Liesveld JL, Rosell KE, Lu C et al., Acute myelogenous leukemia-microenvironment interactions: role of endothelial cells and proteasome inhibition. *Hematology* 2005 ;10:483-94

**ALL'DE YENİ AJANLAR**

1. Thomas DA, Cortes J, Kantarjian HM. New agents in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Best Pract Res Clin Haemat.* 2003;15:771–790



# AKUT MİYELOİD LÖSEMİDE HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLI

Dr.Günhan Gürman

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

Hematopoietik hücre nakli (HHN) işleminin tüm gelişmelere rağmen yüksek sayılabilecek oranda mortaliteye sebep olması, günümüzdeki uygulamalarını ömür beklentisinin yüksek olmadığı hastalıklarla sınırlamaktadır. Akut miyeloid lösemi (AML) bunlardan biridir. Heterojen bir hastalık olan AML'de yaşam süresi beklentisi değişik subtipler, prognostik özellikler ve hastalık safhalarında farklıdır. Bu yüzden nakilin önerileceği durumları iyi değerlendirmek lazımdır. Aslında allojeneik hematopoietik hücre nakli (alloHHN) AML'de kür vaad eden ispatlanmış en etkili yaklaşımdır.

Bindokuzyüzyetmişli yılların başlarında AML'de kemoterapinin bir grup hastada sağladığı remisyonun yaşam sürelerine yansımaması üzerine, remisyonun idamesinde hastalara yüksek doz kemoterapi ve sonrasında kurtarma/toparlanma amaçlı allojeneik kemik iliği verilmesi uygulamalarının hastaların yarısına kür şansı verdiği 1980'li yılların başlarında bildirilmeye başlanmıştır. Bu etkinin, 30 yıl öncesinde ilk düşünüldüğü gibi yüksek doz kemoterapi ve miyeloablasyonla değil, öncelikle graft versus lösemi (GVL) etkisi ile ortaya çıktığı uzun zamandır bilinmektedir. Bu da bir çeşit immünoterapidir.

Ancak işlemin komplikasyonları, bilinen ve beklenen bu etkinin istatistiklere uzun yaşam süresi oranlarıyla yansımaları engellemiştir. Bu komplikasyonlar başlıca doku uyumu farklılıkları ve hazırlama rejimi toksisitesi ile ilgilidir. Graft versus host hastalığı (GVHH), fırsatçı enfeksiyonlar, organ yetmezlikleri, venooklüzif hastalık, interstisyel pnömoni en önemlileridir. Doku uyumu analizinin hassasiyetinin artışı, GVHH profilaksisinin optimizasyonu, GVL etkisini öne çıkaran uygulamalar, hazırlama rejimlerinin hastalığa özgü spesifitesinin ve immünsüpresif yönlerinin artırılıp toksisitelerinin azaltılması arayışları, verilen hematopoietik hücre içeriği ve dozunun optimizasyonu, viral enfeksiyon monitorizasyonu, fungal enfeksiyonlara yaklaşımdaki gelişmeler, nakille ilgili uygulama kısıtlılığının azalmasını sağlamaya başlamıştır. Akraza dışı uyumlu verici, aile içi uyumsuz verici, haploidentik verici ve kordon kanı kaynakları da ciddiyle değerlendirilmektedir.

## NAKİL TİPİ ve ZAMANLAMA

Sonuçlar ve tercihleri etkileyen prognostik özelliklerin diğer malinitelerde olduğu gibi AML'de de önemi çoktur. Tedavi seçeneklerini değerlendirirken gerçekten faydalı en önemli parametreler sitogenetik özelliklerdir. t(8;21), inv(16), t(15;-17) anomalileri iyi risk işaretidir. İyi veya kötü risk özelliklerine sahip olmayan hastalar standart riskli olup, -5, -7, del(5q), kompleks, vd kötü genetik anomalili veya 1. kürden sonra kemik iliğinde %15'den fazla blastı olan hastalar kötü riskli gruptadırlar<sup>1</sup>. İleri yaş, ileri hastalık fazı gibi özellikler kötü

olsa da, nakil tercihindən çok, prognozun ön görülmesine etkilidir. Erkek hastaya kadın verici ve CMV seropozitifliği gibi özellikler de aynı şekilde değerlendirilip, verici seçiminin mümkün olduğu hastalarda yararlı olabilir .

Çalışmalar genellikle, allojeneik nakil, otolog nakil ve sadece kemoterapi (uzun süreli hastalısız yaşam süresi öngörecektir şekilde iyi seçilmiş) uygulamalarını karşılaştırma yönünde değerlendirilmiştir. Bu karşılaştırmalarda allojeneik nakil çoğunlukla düşük başarı göstermeyip, bazı gruplarda üstün çıksa da, her hastaya uygulanabilme şansı olmaması, diğer seçeneklerin de onunla ve kendi aralarında değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Risk gruplarındaki bu değerlendirmelerde allojeneik nakilin en sık akla geldiği ve ümit vaad ettiği grup nüks eden ve nüks etme olasılığı yüksek olan lösemili hastalardır (Tablo 1)<sup>2,3</sup>.

Sitogenetik olarak iyi subtiplerde ("Core binding factor" (CBF) AML; t(8;21), inv(16), t(15;17)) birinci tam remisyonunda (1.TR) nakil önerilmez, nüks gelişirse 2.TR'da önerilir (Tablo 2)<sup>2</sup>. Yine bu hastalık grubunda, uygun verici çıkmaması halinde, otolog HHN de yararlı olabilir (Tablo 3)<sup>3,4</sup>.

Standart risk ve kötü risk AML'de 1.TR'da alloHHN önerilir. Öncesindeki konsolidasyon kemoterapisi siklus sayısı konusunda yerleşmiş bir yaklaşım yoktur. Fazla uzamasının nakille ilgili komplikasyonları artırdığı kanaati mevcuttur. Otolog HHN'in ise bu grup hastalardaki etkinliği tartışmalıdır. Uzun birinci tam remisyonla sahip hastalarda allojeneik ile aynı veya üstün olduğunu bildirenler vardır<sup>7</sup>.

Akut promyelositik lösemide (APL) ise spesifik tedavi ve kemoterapi ile kontrol altına alınamayan ısrarlı PCR pozitifliği veya nüks durumunda alloHHN gündeme gelir<sup>7</sup>.

Primer veya sekonder refrakter AML'de allojeneik nakil çaresizlik sonucudur. Bu grup hastada kemoterapi veya otolog nakil ile beklenti çok zayıftır.

Hasta yaşı AML tedavisinin genelinde bir risk özelliği olması ötesinde, özellikle allojeneik transplantın başarılarına da şimdiye kadar yapılan uygulamalarda olumsuz olarak yansımıştır. Avrupa Kan ve Kemik İliği Nakli Grubu (EBMT) Akut Lösemi Çalışma Grubu'nun (ALWP) verilerine göre (1990-2000); 35 yaş üstü grupta nakille ilişkili ölüm oranlarında giderek artış görülmektedir<sup>5</sup>.

Allojeneik nakil uygulamalarının tümünde uyumlu kardeş verici ilk tercihtir. Hastaların yarısından azının bu imkana sahip olabileceği düşünüldüğünde, yüksek riskli durumlarda



bu imkan yoksa aile dışı uyumlu verici ikinci seçenektir. Bu tip nakillerde GVHH ve graft yetmezliği riski artmakta, nakille ilişkili ölüm oranı da ikiye katlanmaktadır. Verici yokluğu halinde, çoğu deneysel nitelikli olup, bu tür hastalara yine de bir ümit sunabilen aile içi uyumsuz verici, haploidentik verici ve kordon kanı uygulamaları denenebilir. Kordon kanı uygulamalarında, yeterli hücre ve minimum uyumsuzluk başarı ölçülerini aile dışı uyumlu verici ile yapılan nakillerdekine yaklaştırmaktadır<sup>5</sup>. Alıcıya karşı verici NK hücre alloreaktivitesi olan vakalarda yapılan haploidentik nakillerde başarı oranı, diğer haploidentik uygulamalara göre daha yüksektir<sup>5</sup>.

Son on yılda uygulaması giderek artan allojeneik periferik kan (PK) hematopoietik hücre nakli şu anda kemik iliği uygulamalarının önüne geçmiştir. Uygulama kolaylığı, hızlı engraftman, genellikle kısa yatış süresi, daha fazla GVL etkisi beklentisi gözlemlenen veya öngörülen avantajlardır. Ancak kronik GVHH'ında artış en önemli dezavantajdır. Periferik kan kullanımındaki avantajların verilen hücrelerin dozuna bağlanabilmesi durumunu araştıran çalışmalarda kemik iliği hücrelerinin yüksek dozlarında artmış başarı gözlenmiştir<sup>6</sup>.

Azaltılmış yoğunluklu hazırlama rejimleri yeterli immüno-süpresyon ile allojeneik engraftmanı sağlarken, miyeloablas-

yon yapmadan daha az toksisite ile nakilin gerçekleşmesini sağlamaktadır. Malin olmayan hastalıklarda ve kemik iliği yetmezliği sendromlarında bu yaklaşım makul iken, özellikle hızlı gelişme potansiyeli olan ve akut lösemi gibi kemik iliğinden kaynaklanan malinitelerde hastalık eradikasyonu sadece GVL etkisine bırakılmış olacaktır. Allo HHN sonrası GVL etkisinin ortaya çıkışı için 2-3 aylık bir zaman dilimi gerektiği ve bu etkinin en çok minimal rezidüel hastalıkta ortaya çıktığı düşünüldüğünde, bu tip hastalıklardaki nakillerde hazırlama rejimlerinin uzunca süre hastalığı baskılayıcı özellikler içermesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bunu miyeloablasyon yapmadan oluşturabilme arayışları hedefli tedaviler (*monoklonal antikolar gibi*) ve/veya busulfan, melfelan tiotepa gibi ajanların yoğun dozlarının eklenmesi yaklaşımlarıyla sürmektedir. AML'de gerçekleştirilen uygulamalar diğer tedavi yöntemleri ile karşılaştırma yapacak yeterlilikte değilse de, azaltılmış yoğunluklu hazırlama rejimleri ile AML'li hastalara yapılan nakillerin sonuçları, transplantla ilgili morbidite ve mortalitenin azalması, nüksün artışı, ileri yaştaki hastalarda uygulama rahatlığı, GVHH gelişen veya akraba dışı uyumlu verici ile yapılan nakillerde daha az nüks görülmesi özelliklerini ortaya çıkartmaktadır<sup>3</sup>. Tablo 4'te AML'li hastaların nakillerinde kullanılan miyeloablatif olan ve olmayan hazırlama rejimlerine örnekler verilmiştir<sup>7</sup>.

**Tablo 1.** Sitogenetik risk gruplarına göre verici olması ve olmamasının hastalısız yaşam süresine etkileri<sup>3</sup>.

Çalışma grubu, risk durumu	Hasta Sayısı		Risk Oranı	95% Güven Sınırları
	Verici	Verici yok		
<b>EORTC-GIMEMA</b>				
ara	61	104	1.16	(0.75–1.81)
kötü	64	94	0.58*	(0.39–0.87)
<b>MRC 10</b>				
ara	192	416	0.74*	(0.59–0.92)
kötü	48	121	0.88	(0.61–1.28)
<b>HOVON/SAKK</b>				
ara	187	336	0.76*	(0.59–0.92)
kötü	120	194	0.65*	(0.49–0.85)
* Verici grubunda belirgin yarar, (p < 0.05).				
EORTC-GIMEMA (EORTC; European Organization for Research and Treatment of Cancer, GIMEMA; Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto); MRC 10 (MRC; Medical Research Council); HOVON/SAKK (HOVON; Dutch-Belgian Hemato-Oncology Cooperative Group, SAKK; Swiss Group for Clinical Cancer Research)				

**Tablo 2.** AML'de alloHHN endikasyonları<sup>3</sup>.

Prognostik Subgrup	1.TR	2. veya ileri TR
<b>İyi risk AML</b>		
APL	Yok	Var
CBF AML	Yok	Var
Ara risk AML	Var	Var
<b>Kötü risk AML</b>		
Yaş 60 yıl	Var	Var
Yaş > 60 yıl	Deneysel	Deneysel

**Tablo 3.** AML'de otolog HHN endikasyonları (4).

Prognostik Subgrup	1. TR	2. veya ileri TR
<b>İyi risk AML</b>		
APL	Yok	Vart†
CBF AML	Yok	Vart†
Ara risk AML	Deneysel	Vart†
<b>Kötü risk AML</b>		
AML ≤ 60 yaş	Deneysel†	Vart†
AML > 60 yaş	Yok	Yok

†Bu durumların hepsinde alloHHN ilk tercihtir.

**Tablo 4.** Kullanılmakta olan hazırlama rejimi örnekleri.

Ajanlar	Dozları*
-	
TBI	12 cGy
Cyclophosphamide	120-200 mg/kg
TBI	12 cGy
Cyclophosphamide	120 mg/kg
ATG	
Busulfan	16 mg/kg
Cyclophosphamide	120-200 mg/kg
Busulfan	8 mg/kg
TBI	6 cGy
Pürin analogu	
ATG	
Cyclophosphamide	60 mg/kg
TBI	6 cGy
Pürin analogu	
ATG	

\* **Dozlar, rejimlerin kullanıldıkları endikasyonlara, hematopoyetik hücrelerin kaynağına ve ürünün özelliklerine, ayrıca hastayla ilişkili faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir.**

#### KAYNAKLAR

1. Guidelines on the management of acute myeloid leukaemia in adults. British Committee for Standards in Haematology, 2005.
2. Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M, Demirer T, Dini G, Einsele H, Gratwohl A, Madrigal A, Niederwieser D, Passweg J, Rocha V, Saccardi R, Schouten H, Schmitz N, Socie G, Sureda A, Apperley J; European Group for Blood and Marrow. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. Bone Marrow Transplant. 2006;37(-5):439-49.
3. Jan J. Cornelissen and Bob Löwenberg; Role of Allogeneic Stem Cell Transplantation in Current Treatment of Acute Myeloid Leukemia. Hematology 2005;151-155.
4. Dimitri A. Breems, Bob Löwenberg; Autologous stem cell transplantation in the treatment of adults with acute myeloid leukaemia. Br J Haematol 2005;130:825-833.
5. Frassoni F; Acute Leukemia, in; Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T (eds): Haemopoietic Stem Cell Transplantation. France, 2004
6. Gorin NC, Labopin M, Rocha V, Arcese W, Beksac M, Gluckman E, Ringden O, Ruutu T, Reiffers J, Bandini G, Falda M, Zikos P, Willemze R, Frassoni F; European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation Acute Leukemia Working Party. Marrow versus peripheral blood for geno-identical allogeneic stem cell transplantation in acute myelocytic leukemia: influence of dose and stem cell source shows better outcome with rich marrow. Blood. 2003;15;102(8):3043-51.
7. European Group for Blood and Bone Marrow Transplantation Definitions Committee, London November 2005.



# AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİDE HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLI

Dr.Ali Ünal, Dr.Leylagül Kaynar

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı

**E**rişkin akut lösemili hastalarda kök hücre nakli, bu yıla kadar hala hastalığı en iyi kontrol eden tedavi seçeneği olarak yer almaktadır. Tedavide en önemli hedef, relaps oranını en aza indirmektir.

Bu amaçla, AML ve Akut Lenfoblastik Lösemi tedavisinde en önemli hedef;

- Bde başlangıçta uygulanan remisyon indüksiyon tedavisi ile Tam Remisyon elde etmektir
- Konsolidasyon ve lidame tedavileri ile de , reziduel hastalığın en aza indirilmesi ve ortadan kaldırılmasıdır,.
- Relaps oranının en aza indirilmesidir.

ALL tedavisinde, erişkinlerde % 80 oranında kemoterapi ile tam remisyon elde edilmektedir. Ancak, dirençli vakalar ve nüks oranının fazla olması nedeniyle ancak % 20 vakada uzun süreli yaşam sağlanabilmektedir. Bu durum, kısmen hastalığın biyolojisi ile açıklanabilmektedir. Örneğin, Ph pozitif ALL kötü gidiş ve kötü prognoza sahiptir ve erişkin ALL vakalarının % 25 inde Ph kromozomu mevcuttur.

Kemoterapi sonrası relaps olan ve kötü prognostik özellikleri taşıyan hastalar (ör: Ph (+) veya ilave karyotipik anomalileri olan vakalar) daha intensif tedavi protokollerine ihtiyaç gösterirler. Bu vakalarda, kardeş veya akraba dışı donörden allojenik kök hücre nakli (AKİT) yapılması en uygun seçenektir ve % 40-50 vakada başarılı sonuç elde edilebilmektedir.

Kombine Kemoterapiler ile erişkin hastalarda % 80 oranında tam remisyon elde edilmektedir. Remisyon elde edildikten sonraki tedavi, Kemoterapi ile idame veya Kök Hücre Naklidir.

Bu aşamada; AML ve ALL de, farklı tedavi yöntemleri ve stratejiler uygulanmaktadır.

## Kök Hücre Nakli ile nasıl kür elde edilir?

Otolog Kök Hücre naklinde, relaps nedeni; yüksek doz tedaviye rağmen kemik iliğinde kalan lösemik kök hücreler veya harvest eldikten sonra tekrar verilen lösemik hücrelerdir. Nüks gelişmeyen hastalarda, kalan lösemik hücrelerin sayısı, hastalığın yeniden gelişmesi için yeterli olmamaktadır.

Yüksek doz kemoterapi veya radyoterapi uygulandığında, Lösemik hücre oranı minimale indirilmektedir. Ancak, hastaya önceden toplanan kök hücreleri tekrar verildiğinde, vücutta kalan lösemik hücreden daha fazla lösemik hücreyi kendimiz vermekteyiz.

Alojenik kök hücre naklinde ise, hedef lösemik hücre sayısını

minimale indirmektir. Ancak otolog nakilden iki farklı yönü vardır.

1. Nakil sırasında lösemik hücre verilmesi söz konusu değildir.
2. Nakledilen hemopoetik sistem, alıcıya ve alıcının hemopoetik hücrelerine karşı immün reaksiyon verir (GVL) ve kür elde edilebilir.

## OTOLOG NAKİLDE LÖSEMİK HÜCRE SAYILARI

Kemoterapi sonrası kalan lösemik hücre sayısı: 1-5 x 10<sup>10</sup>  
Normal Hücre sayısı: 10<sup>12</sup>  
Periferik kök hücre toplanması ile elde edilen kök hücre sayısı: 2 x 10<sup>8</sup> x 60 kg = 1.2 x 10<sup>10</sup>  
Periferik kandan toplanan lösemik hücre sayısı: 1-5 x 10<sup>8</sup>  
Yüksek doz tedavi sonrası kalan lösemik hücre sayısı: 1-5 x 10<sup>7</sup>  
Yüksek doz tedaviyi takiben verilen kök hücredeki lösemik hücre sayısı: 1-5 x 10<sup>8</sup>

## Allojenik Kök Hücre Nakli

Alojenik ve Otolog kök hücre naklinde (OKİT) hedef, lösemik hücre sayısını minimale indirmektir. Ancak, Allojenik kök hücre naklinin otolog nakilden iki farklı yönü vardır.

1. Nakil sırasında lösemik hücre verilmesi söz konusu değildir.
2. Nakledilen hemopoetik sistem, alıcıya ve alıcının hemopoetik hücrelerine ve lösemik hücrelere karşı immün reaksiyon verir (GVL) ve kür elde edilebilir.

Allojenik Kök Hücre nakli; Erişkin akut lösemili hastalarda, hastalığı en iyi kontrol eden tedavi seçeneği olarak yer almaktadır. Bununla birlikte, bu hastaların bir kısmında allojenik transplantasyona rağmen kür elde edilememektedir.

## ERİŞKİN AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ

### Hangi Hastada Kök Hücre Nakli Yapılmalıdır?

Akut Lenfoblastik lösemide remisyon sonrası en iyi tedavi seçeneği hangisidir? Hangi hastaya kök hücre nakli yapılmalıdır? sorularının cevabı hHala kesin değildir.

Cevabı belirleyecek en önemli faktörler, lösemiye ait risk faktörleridir.

ALL de AKİT'in etkinliğini gösteren geniş serilere baktığımızda; Tartışmaların yine en önemli prognostik faktör olan, minimal reziduel hastalık üzerinde yoğunlaştığını görmekteyiz. Remisyon-indüksiyon ve konsolidasyon tedavileri sonrası minimal rezidüel hastalığın olmadığı gösterilmesi; Düşük



risk ALL'nin en önemli göstergesidir. Bu hastalarda, Allojenik nakil olmadan, sadece kemoterapi ile kür elde edilebilmektedir. Ancak, diğer risk faktörlerini taşıyan hastalarda, minimal rezidüel hastalık negatif olsa bile, allojenik KİT uygulamasında yarar olduğu görüşünde olanlar da vardır.

Kemoterapi sonrası, Remisyon-indüksiyon ve konsolidasyon tedavileri sonrası sebat eden mMinimal rezidüel hastalığın (MRD) tesbiti, yüksek riskli hastalığın en önemli göstergesi en önemli faktörüdür. Bu hastalarda relaps insidansı çok yüksektir..

Bu nedenle hastalarda, tek küratif seçenek, aAllojenik kök hücre naklidir. Bununla birlikte, bu hastaların bir kısmında allojenik nakile rağmen kür elde edilememektedir.

Bununla birlikte, pretransplant peryotta minimal rezidüel hastalığın olmadığı gösterilmesi, düşük risk ALL nin en önemli göstergesidir. Bu hastalarda, Allojenik nakil olmadan kür elde edilebilmektedir.

ALL 'de Allojenik Kök Hücre Nakli: Tam Remisyon 1, 2, ve ileri hastalar

ALL de Allo KİT in etkinliğini anlayabilmek için geniş serilere bakmak gereklidir. Tartışmaları sonuçlandırarak en önemli veri, minimal rezidüel hastalığın tesbiti ve değerlendirilmesi olacaktır.

MRC UKALL XII /EGOG çalışması, Erişkin ALL de remisyon sonrası tedaviyi değerlendiren en büyük araştırma olmaktadır MRC UKALL XII /EGOG çalışmasında; 1500 hasta çalışmaya alınmıştır. Yaklaşık 1000 hasta Ph (-) hastalarda ve bunların % 93 oranında 'ünde kemoterapi ile tam remisyon elde edilmiştir.

Tam remisyon elde edilen Ph neg hastalarda, relaps insidansına bakıldığında; araştırılmış. Allo KİT yapılan hastalarda (sn:190), 5 yıllık Relaps insidansı % 23 bulunmuş, Otolog KİT yapılan veya Kemoterapi alan hastalarda ise (sn:253), relaps insidansı daha yüksek (% 61) bulunmuştur.

Hastaliksız yaşam yönünden karşılaştırıldığında; Allo KİT yapılan hastalarda 5 yıllık hastaliksız yaşam % 54, otolog KİT yapılanlarda % 34 bulunmuştur.

Standart riskli hastalarda ise; 5 yıllık hastaliksız yaşam, AKİT yapılanlarda % 64, OKİT yapılanlarda % 46 bulunmuştur.

1. Tam Remisyonunda Allo KİT yapılan hastalar ile 2. tam remis-

**Tablo 1:** EBMT ALWP sonuçları

	TRM %	RI %	LFS %	OS % (3 YIL)
HLA id - MUD	28 -39	30 - 30	48 - 38	41 - 31
TR 1	24	24	56	50
TR 2	38	30	34	31
İLERİ EVRE	41	41	38	18

yon ve ileri evrede AKİT yapılan hastalar karşılaştırıldığında; 1. remisyonunda hastalarda transplanta bağlı mortalite (TRM) ve Relaps insidansı (RI) daha az, hastaliksız (LFS) ve toplam yaşam (OS) daha fazla bulunmuştur. **Tablo 1.**

#### Kemoterapi ile Kök Hücre Nakli Karşılaştırılması

IBMTR verilerine göre (Horowitz ve ark. Çalışmasında); Erişkin ALL hastalarında (15-45 yaş), 1. Tam remisyonunda, Kemoterapi ile AKİT karşılaştırılmış. AKİT yapılan hastalarda hastaliksız yaşam daha uzun, relaps oranı daha düşük bulunmuştur. Ancak, bu çalışmaların sonucunu etkileyen en önemli faktör, transplanta bağlı mortalitedir. TRM oranı daha aşağılara çekilebildiği takdirde, ALL de AKİT yapılmasının üstünlüğü tam olarak gösterilebilecektir.

TRM oranının yüksek olması nedeniyle, standart riskli ALL de, birinci remisyonunda Allojenik transplantasyon yapılmasının, kemoterapiye karşı avantajlı olduğu söylenemez. TRM azaltıldığı takdirde, bu grup hastalarda da Allojenik kök hücre naklinin avantajı ortaya çıkabilir. **Tablo 2.**

**Tablo 2 :** ALL 1. Tam Remisyon

	TRM %	RI %	DFS %	OS % (3 YIL)
KEMOTERAPİ	4	59	38	
AKİT	38	26	44	

Bir diğer büyük çalışmalardan, French LALA87 Çalışmasında; 15 - 40 yaşındaki Tam Remisyon elde edilen hastalarda Uygun kardeş donörü olanlara AKİT yapılmış, diğerlerine OKİT yapılmış veya Kemoterapi verilmiş, tedavi sonuçları karşılaştırılmıştır.

AKİT yapılan hastalarda: 10 yıllık yaşam % 46 dolayında bulunurken, OKİT yapılan veya Kemoterapi alan hastalarda: 10 yıllık yaşam % 31 bulunmuştur.

ALL 'de Yüksek Riskli hastalar:

- Ph (+)
- Yaş >35,
- BK > 30 000,
- Tam remisyon eldesi > 4 haftadan uzun olan vakalardır.

Yüksek riskli hastalarda 10 yıllık toplam yaşam: AKİT yapılanlarda: % 44, OKİT veya Kemoterapi grubunda: % 11 bulunmuştur. Yüksek riskli hastalarda, allojenik KİT, tek seçenek olmalıdır ve yararı tartışmasızdır. **Tablo 3.**

**Tablo 3:** Fransız LALA87 Çalışması

10 yıllık yaşam %	1. Tam Remisyonunda	Yüksek Riskli Hastalar
AKİT	46	44
OKİT , Kemoterapi	31	11

#### Refrakter ve relaps ALL

Relaps ve refrakter ALL , kötü prognoza sahiptir. Bu vakalarda seçilecek tedavi, reindüksiyon kemoterapisini takiben allojenik kök hücre nakli olmalıdır. Bir çalışmada, bu hastalara



FLAG-IDA kemoterapisi uygulanmış ve % 39 komplet remisyon elde edilmiştir. Donörü olan vakalara AKİT yapılmış, Tüm hastalar için toplam yaşam 4.5 ay.(1-38 ay), tam remisyon elde edilenlerde toplam yaşam 9 ay (7-38 ay), hastalısız yaşam 6 ay bulunmuştur. AKİT yapılan hastalarda, hastalısız yaşam 10 ay (7-38 ay) bulunmuştur.

Relaps ve refrakter vakalarda allojenik kök hücre nakline rağmen, uzun süreli yaşam elde edilememektedir. Ancak, bu hastalarda başka bir alternatif tedavi yöntemi bulunmamaktadır.

### Ph (+) ALL'de AKİT

Erişkin ALL hastalarının % 25'inde Ph kromozomu pozitifdir. Bu hastaların % 60'ında tam remisyon elde edilmesine rağmen, relaps oranı çok yüksek ve 5 yıllık yaşam % 10 – 20 düzeyindedir. Kemoterapideki başarı oranının çok düşük olması nedeniyle, Ph (+) hastalarda AKİT, en iyi seçimdir.

MRC UKALL XII / ECOG 2993 Çalışmasında; 167 Ph + ALL vakasından, 49 hastaya 1. Tam Remisyonunda, uygun kardeş donörden, 23 hastaya akraba dışı donörden AKİT yapılmış, 88 hasta idame kemoterapisi almış ve 7 hastaya OKİT yapılmıştır.

Beklenen 5 yıllık hastalısız yaşam, AKİT yapılanlarda % 36, OKİT ve KT kolunda % 17 bulunmuştur. Toplam yaşam; AKİT yapılanlarda % 42, OKİT ve KT kolunda % 19 bulunmuştur. Bu çalışmalarda; Transplant sonrası relaps insidansını belirleyen en önemli faktörler; MRD tesbiti ve GVHH derecesidir.

**Tablo:** Ph (+) ALL 'de AKİT ile OKİT ve KT karşılaştırılması.

	Hastalısız Yaşam (5 YIL) %	Toplam Yaşam (5 YIL) %	TRM %	RI %
AKİT	36	42	27	34
OKİT veya KT	17	19	4	69

**Sonuç olarak:** Ph (+) ALL hastaları, 1. tam remisyonu takiben uygun akraba veya akraba dışı donörü varsa, AKİT için refere edilmelidir.

### Ph + ALL de, Tyrosin Kinaz inhibitörü kullanımı

Kemoterapi ile Imatinib kombinasyonu, Ph + ALL ' de remisyon oranını artırmaktadır., Refrakter/Relaps vakalarda, cevap oranı % 60'a kadar ulaşmaktadır. Buna rağmen, kısa sürede direnç gelişmektedir.

AKİT, Ph + ALL tedavisinde yegane küratif yöntemdir. Özellikle tam remisyonunda uygulandığında etkili olmaktadır. AKİT sonrası Imatinib ile idame tedavisi, tümör yükünü azaltmak için verilebilir. Böylece, DLI için optimal ortam sağlanır. Imatinib ile tam remisyon elde edildikten sonra DLI uygulanıp, arkasından tekrar Imatinib ile tedaviye devam edilmesi, hastalısız yaşam süresini uzatmaktadır.

Imatinib tedavisi; Kök hücre nakli sonrası lösemi yükünü azaltır, daha az sayıda Donör Lökosit verilmesini sağlar, DLI ile sağlanacak lösemi kontrolünü artırır ve GVHH riskini azaltır.

### Haploidentik Kök Hücre Nakli

Haploidentik nakil, uygun kardeş donörü olmayan hastalar için potansiyel bir donör kaynağıdır. Aversa ve ark. nın çalışmasında, 40 ALL hastasına (9' u 1. Tam remisyonunda) haploidentik nakil yapılmış, 2 yıllık takipte, 40 hastanın 17'si (% 42.5) relaps olmuştur. Hastalısız sağ kalan oranı ise % 20 bulunmuştur. Bu hastalarda görülen yüksek relaps oranının nedeni, donör NK hücrelerinin, alıcının lösemik hücrelerine karşı GVL etkisinin olmayışındır.

### Otolog Kök Hücre Nakli

ALL de otolog kök hücre nakli, araştırma protokolü içerisinde yapılmaktadır. Bu işlem sırasında hastaya yüksek doz tedavi verilmesi sonrası, kök hücre infüzyonu sırasında lösemik hücrelerin geri verilme riski vardır. Karşılaştırmalı çalışmalarda, birinci tam remisyonadaki ALL li hastalarda, otolog nakil ile kemoterapi sonuçları arasında anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir. Sadece kötü prognostik hastalarda, idame tedavisine ek olarak otolog kök hücre nakli yapılabilir.

Otolog Kök Hücre naklinde relaps oranı yüksektir. Bunun nedeni; yüksek doz tedaviye rağmen kemik iliğinde kalan lösemik kök hücreler veya harvest edildikten sonra tekrar verilen lösemik hücrelerdir.

ALL' de Otolog naklin kemoterapiye üstünlüğü hala gösterilememiştir. Ancak, klasik uzun süreli konsolidasyon ve idame tedavilerine karşılık, daha kısa süreli tedavi sağlaması açısından otolog nakil düşünülebilir.

### Sonuç Olarak:

1. Ph + ALL hastalarında, 1. tam remisyonunda AKİT sonuçları, OKİT ve Kemoterapi sonuçlarından daha iyi bulunmuştur. Bu hastalarda, 1. remisyonunda AKİT yapılmalıdır.
2. Diğer yüksek riskli ALL hastalarında da, birinci tam remisyonunda, AKİT sonuçlarının, OKİT ve Kemoterapiye üstünlüğü gösterilmiştir. AKİT yapılmalıdır.
3. Standart risk ALL de, birinci tam remisyonunda AKİT ' in kemoterapiye üstün olduğu gösterilememiştir. Ancak, transplanta bağlı mortalite oranı azaltılabildiği takdirde, standart risk ALL' de AKİT yapılması önerilebilir.
4. ALL de OKİT, standart riskli hastalarda, uzun süreli konsolidasyon ve idame tedavisinin süresini kısaltmak için uygulanabilir.

### KAYNAKLAR

1. Apperly J, Carreras E, Gluckman at al. Hematopoietic stem cell transplantation. The EBMT handbook 2004.
2. Gleissner B, Gökbüget N, Bartram CR, et al. Leading prognostic relevance of the BCR-ABL translocation in adult acute B-lineage lymphoblastic leukaemia:A prospective study of the German Multicenter Trial Group and confirmed polymerase chain reaction analysis. Blood 2002;99: 1536-1543.
3. Hoelzer D, Ottman O, et al. Acute lymphoblastic leukaemia. Hematology (Am Soc Hematol) 2002;162-192.



- Holzer D, Gökbüget N. New approaches in acute lymphoblastic leukaemia in adults:Where do we go ? Semin Oncol 2000;27:540-559.
- Avivi I, Rowe JM, Goldstone AH. Stem cell transplantation in adult ALL patients. Best Pract Res Clin Haematol 2003;15:653-674.
- Horowitz MM, Messerer D, Hoelzer D et al. Chemotherapy compared with bone marrow transplantation for adults with lymphoblastic leukaemia in first remission. Ann Intern Med 1991;115:13-18.
- Oh H, Gale RP, Zhang MJ et al. Chemotherapy vs HLA-identical sibling bone marrow transplants for adults with acute lymphoblastic leukaemia in first remission. Bone Marrow Transplant 1998;22:253-257.
- Sebban C, Lepage E, Vernant JP et al. Allogeneic bone marrow transplantation in adult acute lymphoblastic leukaemia in first complete remission: A comparative study, French Group of Adult Acute Lymphoblastic Leukaemia. J Clin Oncol 1994;12:2580-2587.
- Thiebaut A, Veran JP, Degos L et al. Adult acute lymphoblastic leukaemia study testing chemotherapy and autologous and allogeneic transplantation. A follow-up report of the french protocol LALA 87. Hem Onc Clin North Am 2000;14:1353-1366.
- Dombret H, Gabert J, Boiron JM, et al. Outcome of treatment in adults with philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia-Results of the prospective multicenter LALA-94 trial. Blood 2002, 100:2357-2366.
- Shimoni A et al. Imatinib mesylate (STI571) in preparation for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and donor lymphocyte infusions in patients with philadelphia- positive acute leukemias Leukemia 2003; 17:290-297.
- Mortuza FY, Papaioannu M, Moreira IM et al. Minimal residual disease test provide an independent predictor of clinical outcome in adult acute lymphoblastic leukaemia. J Clin Oncol 2002;20 1094-1104.

### AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ

ALL, çocuklarda % 80 oranında kemoterapi ile kür elde edilirken, erişkinlerde kemoterapi ile başarı oranı çok düşük olup ancak % 20 vakada uzun süreli yaşam elde edilebilmektedir. Bu durum, kısmen hastalığın biyolojisi ile açıklanabilmektedir. Örneğin, Ph pozitif ALL kötü gidiş ve kötü prognoza sahiptir ve erişkin ALL vakalarının % 25 inde mevcuttur.

Kemoterapi sonrası relaps olan ve kötü prognostik özellikleri taşıyan hastalar (ör: *ilave karyotipik anomalileri mevcut, 28 günde kemik iliğinde lösemik blastların kaybolmadığı hastalar*) daha intensif tedavi protokollerine ihtiyaç gösterirler.

Bu vakalarda, kardeş veya akraba dışı donörden allojenik

kemik iliği nakli yapılması en uygun seçenektir ve % 40-50 vakada başarılı sonuç elde edilebilmektedir.

Bununla birlikte, bu hastaların bir kısmında kemoterapi veya allojenik transplantasyon ile de kür elde edilememektedir.

ALL de, yeni kemoterapi protokolleri ile daha başarılı sonuçlar bildirilmesine rağmen, hastaların % relaps olmaktadır. Bu hastaların % yüksek riskli hastalardır.

Yüksek risk özellikleri; lökosit sayısı yüksekliği (> 100.000), Sitogenetik anomaliler (*Ph Kromozomu*), İndüksiyon kemoterapisine tam cevap alınamaması,

Yüksek riskli hastalar, daha intensif kemoterapi rejimleri, yüksek doz tedaviler veya allojenik kemik iliği nakli ile tedavi edilmektedir.

ALL de ilk remisyonda Allojenik naklin faydası tam gösterilememiştir. Ancak bu konuda birkaç çalışma vardır.

### SONUÇ

Yüksek risk ALL de, birinci remisyonda Allojenik transplantasyon yapılmasının, kemoterapiye karşı avantajlı olduğu söylenemez.

TRM azaltıldığı takdirde, Allojenik transplantasyonun avantajı ortaya çıkabilir.

Ph Pozitif ALL vakaları karşılaştırıldığında, Allo Transplantın avantajı ortaya çıkabilir.

### Relaps ve refrakter ALL:

Relaps ve refrakter ALL, kötü prognoza sahiptir. Bu vakalarda strateji, reindüksiyon kemoterapisini takiben allojenik kök hücre nakli olmalıdır. Bu vakalarda öncelikle FLAG-IDA rejimi uygulandığında, % 39 komplet remisyon, % 56 refrakter vaka bildirilmiştir.

9 remisyon vakasına ikinci kez FLAG-IDA verilmiş ve arkasından 7 vakaya allojenik KİT yapılmıştır. 2 vaka CR sonrası erken relaps oldu KİT yapılamadı.

OS 23 hasta için 4.5 ay.(1-38 ay) 9 cevap veren hasta için OS 9 ay (7-38 ay), DFS 6 ay.

Allo transplant olan 7 hasta için, DFS 10 : 7-38) (, OS FLAG-IDA iyi tolere edildi. Relaps hastalar için.

### ALL DE KEMOTERAPİ SONUÇLARI

Uluslararası ALL çalışması, 1500 hasta 60 yaş altı, yeni tanı hastalar alınmış. Bütün hastalara induksiyon tedavisi verilmiş ve % 91 tam remisyon elde edilmiş.

50 yaş altı ve kardeş donörü olanlara allo KİT yapılmış. Diğerlerine Otolog veya idame tedavisi verilmiş. 2.5 yıl

İndüsyon sonrası CR elde edilenlerde OS oranı % 45 CR elde edilemeyenlerde % 5 bulunmuş.



OS ve DFS için prediktif faktörler: Yaş, B Cell için WBC (30.000), T cell için 100.000 , ve Immunofenotip, sitogenetik.

4 haftada remisyon elde edilememesi, bağımsız prediktif faktör değilmiş.

#### **ALL DE AKRABA VE AKRABA DIŞI TRANSPLANT**

221 hasta 1990-2002 arası. Uygun donör ile transplant yapılmış.

221 match akraba (103 ) veya akraba dışı (118)

148 hastada tam remisyonda transplant yapılmış.

62 hasta relaps iken

11 hasta refrakter iken yapılmış

DFS (*Hastaliksız Yaşam*) : 5 Yılda: % 28 bulunmuş.

3 yılda: % 29

6 yılda: % 24 bulunmuş.

TRM: akraba donörde % 45 bulunmuş. (5 yılda)

TRM: akraba dışı donörde % 50) bulunmuş.

DFS, Birinci tam remisyonda daha iyi. İkinci Remisyonda ise daha az iyi. Relaps vakalarda daha kötü bulunmuş.

B ALL de Survi 5 yılda: % 28 , T ALL (% 18) den daha iyi bulunmuş.

Ph Kromozom pozitif hastalarda gidiş, Ph kromozom negatif hastalardan daha kötü değildi.

TBI, hazırlama rejimleri ile (% 30), busulfana göre (%17) daha iyi 5 yıllık DFS sağlamış.

**GVHD:** Grade  $\wedge$ -4 GVHD insidansı: Akraba donörde % 7, Akraba dışı donör ile: % 15 bulunmuş.

**SONUÇ:** Myeloablativ HLA uygun akraba ve akraba dışı transplant ALL hastalarında 1. tam remisyonda yapılmalıdır.

#### **ALL DE ALLOJENİK VE OTOLOG TRANSPLANT SONUÇLARI**

GOELAL 02 ÇALIŞMASINDA, 15-50 yaş ve HLA uygun donörü olan hastalara allo transplant yapılmış. 50 yaş üstü vya ful match donörü olmayanlara otolog transplantasyon yapılmış.

Inclusyon kriterleri: 35 yaş üstü, Lökosit sayısı > 30.000, t (9;22), t (4;11) , t (1;19). Birinci remisyon-indüksiyon kürü sonrası tam remisyon elde edilemeyenler.

198 hastada. İnd kürü sonrası tam remisyon oranı: % 80 bulundu.

Ortalama takip: 5.1 yıl

Toplam Yaşam: 29 ay

6 Yıllık Toplam Yaşam: % 41

50 Yaş altı allo BMT de 6 yıllık (AY) Toplam Yaşam % 75

50 yaş altı Otolog BMT de 6 yıllık Toplam Yaşam: % 40

Erken Allo Transplant, gecikmiş Otolog transplanttan daha iyi bulunmuş.

**ALLO BMT:** 39 HASTAYA ALLO TRANSPLANT YAPILABİLMİŞ.

TRM: 6 AYLIK İÇİN % 15 OLMUŞ. HASTALARIN % 74' Ü 6 AYDA TAM REMİSYONDA İMİŞ.

4 HASTADA RELAPS GÖZLENMİŞ.

**6 YILLIK:** TOPLAM YAŞAM: % 75 HASTALIKSIZ YAŞAM: % 72 BULUNMUŞ.

**OTOLOG BMT:** 115 VAKADAN 91 HASTAYA YAPILABİLMİŞ. ANCAK 5.7 AY SONRA (2-10.8 AY)

**TOPLAM YAŞAM:** % 39

**HASTALIKSIZ YAŞAM:** % 31 6 YILDA.





