



**AKUT MYELOİD LÖSEMİ TANISI ALAN HASTALARIN
MYELOİD MARKIRLARIN POZİTİFLİK ORANLARI**

Saliha FIRAT

İMMÜNOHEMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mehmet Ali ERKURT**

Yüksek Lisans tezi- 2022

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AKUT MYELOİD LÖSEMİ TANISI ALAN HASTALARIN MYELOİD
MARKIRLARIN POZİTİFLİK ORANLARI**

Saliha FIRAT

**İmmünohematoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mehmet Ali ERKURT**

**MALATYA
2022**

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Lösemi	4
2.2. Akut Myeloid Lösemi (AML)	4
2.2.1. Tanım.....	4
2.2.2. Etiyoloji.....	5
2.2.3. Epidemiyoloji.....	6
2.2.4. Sınıflama	7
2.2.5. Klinik Özellikler	10
2.2.6. Laboratuvar Bulguları.....	10
2.2.7. Prognostik Faktörler	12
2.2.8. Akut Myeloid Lösemide Standart Tedavi.....	13
2.3. Akut Myeloid Lösemide Genetik Değişiklikler.....	15
2.3.1. CBF.....	16
2.3.2. Retinoik Asid Reseptör alfa (RAR α).....	17
2.3.3. HOX Genleri.....	17
2.4. Flow Sitometri	17
2.4.1. Kondiloma Akuminata ve DNA Ploidi Analizi	18
2.4.2. Flow Sitometrik İmmunofenotiplendirme	18
2.5. Cluster of Differentiation (CD).....	18
2.5.1 Gen Yapısı ve Transkripsiyonu	19
3. MATERYAL VE METOD.....	21
3.1. Araştırmanın Modeli.....	21
3.2. Çalışma Gurubu	21
3.3. Verilerin Toplanması	21
3.4. Verilerin Analizi	21

4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA	28
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	30
6.1. Sonuç	30
6.2. Öneriler	30
KAYNAKLAR	31
EKLER.....	38
EK 1. Özgeçmiş	38
EK 2. Çalışma İzin Belgesi.....	39
EK 3. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Karar Formu.....	40



TEŐEKKÜR

Bu çalıŐmamın gerçekleŐmesine katkılarından dolayı Hematoloji Bۆlümü Ana Bilim Dalı BaŐkanı aynı zamanda Doku Tipleme laboratuvarı sorumlusu ve tez hocam; Prof. Dr. Mehmet Ali ERKURT'a teŐekkür ederim.



ÖZET

Akut Myeloid Lösemi Tanısı Alan Hastaların Myeloid Markırların Pozitiflik Oranları

Amaç: Bu çalışmanın amacı, power analizi ile ulaşılan örneklem sayısına uygun, Malatya Turgut Özal Tıp Merkezi Araştırma Hastanesi Hematoloji bölümünde AML tanısı alan ve histopatolojik olarak da tanısı kesinleşmiş hastalarının, flow sitometri ile çalışılmak istenen örneklerinde (rutin perifer kanları ve kemik iliği örnekleri) AML markırları pozitifliği açısından incelemektir.

Materyal ve metot: Bu çalışma Malatya Turgut Özal Tıp Merkezi Araştırma Hastanesi'nin Hematoloji Bölümünün poliklinik ve servisine gelen, Akut Myeloid Lösemi tanısı alan ve Doku Tipleme Laboratuvarı bünyesindeki, Flow Laboratuvarına rutin olarak gelen hastaların perifer kan ve kemik iliği örneklerinin on renkli multiparametrelili Flow cytometry cihazı tarafından taranmış ve ortaya çıkan veri histogramları değerlendirme için kaydedilmiştir.

Bulgular: Yüzey antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan alt gruplarındaki dağılımına ve kıyaslamaları incelenmiştir. Örnek frekanslara göre 45 örneğin %48.9'u myeloblast, %51.1'inin de myeloid olduğu tespit edilmiş ve yüzey antijenlerinin myeloblast ve myeloid alt gruplarındaki yüzey antijenlerinin myeloid ve myeloblast alt gruplarındaki kıyaslamaları incelenmiştir.

Sonuç: Çalışma sonucunda 45 örneğin %71.1'i, kemik iliği olurken, %28.9'u periferik kan olduğu tespit edilmiştir. Yüzey antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan alt gruplarındaki dağılıma göre, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenleri kemik iliği ve periferik kan alt grup dağılımları ile normal dağılım arasında fark bulunmuş, kıyaslamalarına göre ise CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan alt gruplarında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akut Myeloid Lösemi, Flow Sitometri, CD (Cluster of Differentiation), AML Hastaları, İmmünfenotipleme

ABSTRACT

Myeloid Marker's Positivity Rates of Patients Diagnosed as Acute Myeloid Leukemia

Aim: The aim of this study was to determine the positivity of AML markers in the samples (routine peripheral blood and bone marrow samples) of the patients who were diagnosed with AML in the Hematology Department of Malatya Turgut Özal Medical Center Research Hospital and whose diagnosis was confirmed histopathologically, suitable for the number of samples reached by power analysis perspective to examine.

Material and method: This study was carried out by ten-color multiparameter Flow cytometry of peripheral blood and bone marrow samples of patients diagnosed with Acute Myeloid Leukemia and routinely admitted to the Flow Laboratory within the Tissue Typing Laboratory, who came to the outpatient clinic and service of the Hematology Department of Malatya Turgut Özal Medical Center Research Hospital. scanned by the device and the resulting data histograms were recorded for evaluation.

Results: The distribution and comparisons of surface antigens in bone marrow and peripheral blood subgroups were investigated. According to sample frequencies, 48.9% of 45 samples were myeloblasts and 51.1% were myeloids, and the comparisons of surface antigens in myeloblast and myeloid subgroups of surface antigens in myeloid and myeloblast subgroups were examined.

Conclusion: As a result of the study, 71.1% of 45 samples were found to be bone marrow, while 28.9% were peripheral blood. According to the distribution of surface antigens in bone marrow and peripheral blood subgroups, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR and MPO antigens are between bone marrow and peripheral blood subgroup distributions and normal distribution. A difference was found, and when compared, it was determined that CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR and MPO antigens did not show a statistically significant difference in bone marrow and peripheral blood subgroups.

Keywords: Acute Myeloid Leukemia, Flow Cytometry, CD (Cluster of Differentiation), AML Patients, Immunophenotyping

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALL	: Akut Lenfoblastik (lenfositik) Lösemi
AML	: Akut Miyeloid Lösemi
APL	: Akut Olmayan Promiyelositik Lösemi
AS	: Akış Sitometrisi
CD	: Cluster of Differentiation
DFS	: Daha Uzun Hastalısız Sağkalım
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
FAB	: Federal Araştırma Bürosu
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi
KML	: Kronik Miyeloid Lösemi
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
OS	: Genel Sağkalım
Vd	: Ve diğerleri
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa No

Şekil 2.1. Üç alanlı CD'nin yapısal detayları ve kodlama ekzonları 19



TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Akut Myeloid Lösemiye Eğilim Yaratan Durumlar	6
Tablo 2.2. AML’de FAB sınıflaması	8
Tablo 2.3. AML’lerde WHO sınıflaması	9
Tablo 2.4. AML’de morfolojik alttipler ve genetik değişimler arasındaki ilişkiler.....	12
Tablo 2.5. AML’li hastalarda risk değerlendirilmesi	14
Tablo 2.6. AML’de tedavi planı.....	15
Tablo 2.7. Lösemide Transkripsiyon Faktörlerinin Kromozomal Translokasyonları....	16
Tablo 4.1. Örneklem frekansları	22
Tablo 4.2. Değişkenlerin normallik analizi.....	22
Tablo 4.3. Hücre yüzey antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan örneklerinde kıyaslanması.....	23
Tablo 4.4. Myeloblast ve myeloid örnek frekanslarının kıyaslanması	25
Tablo 4.5. Yüzey antijenlerinin myeloblast ve myeloid örneklerinde normallik analizi	25
Tablo 4.6. Hücre yüzey antijenlerinin myeloblast ve myeloid örneklerinde kıyaslanması.....	26

1. GİRİŞ

Akut miyeloid lösemi (AML), kemik iliği, periferik kan ve/veya diğer dokularda miyeloid blastların klonal genişlemesi ile karakterize heterojen bir hematolojik malignite şeklidir (1). Erişkinler arasında en sık görülen akut lösemi şeklidir. AML sınıflandırmasında altın standart yöntem Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırmasıdır (2). AML'de prognozu değerlendirmede en doğru sonucu elde etmek için farklı parametreleri birleştirmek zordur. Klinik, morfolojik ve immünofenotipleme değerlendirmesine ek olarak, moleküler sitogenetik yöntemler AML sınıflandırmasında ve prognozu tahmin etmede kullanılan başlıca yöntemlerdir (2,3). Akut olmayan promiyelositik lösemi (APL olmayan) AML'nin risk sınıflandırması 3 gruplu bir sınıflandırma sisteminden oluşur ve bu şekilde tedaviye rehberlik ederken prognozu tahmin eder: Olumlu, orta, kötü/olumsuz (3).

Kanser ve Lösemi B Grubu protokolleri ile tedavi edilen AML'li yetişkin hastaların gözden geçirilmesinde, olumlu, orta ve kötü risk alt gruplarına sahip hastalar için 5 yıllık sağkalım oranları sırasıyla %55, %24 ve %5 dir (4). AML 11 denemesi, sırasıyla %34, %13 ve %2'lik olumlu, orta ve düşük riskli alt grupların 5 yıllık benzer sağkalım oranlarına sahipti (5).

Monoklonal antikorlar kullanılarak hücrelerin eksprese ettikleri antijenlere karşı identifiye edilmesi ve bu yöntemle karışık bir popülasyonda belli bir hücrenin belirlenmesi ve ayrılmasına immünofenotipleme denir (4). Son yıllarda hibridoma teknolojisi ve faj gösterim teknolojisi sayesinde farklı tipteki lenfosit popülasyonlarıyla hem spesifik hem de selektif olarak reaksiyona giren birçok türe özgü monoklonal antikorların üretimi yapılmaktadır. Antijen; monoklonal antikorlar tarafından tanınan hücre yüzey molekülleri olarak tanımlanır ve bu moleküller tarafından farklı türdeki hücre popülasyonlarının ayrımları yapılabilmektedir. Bu hücre yüzey molekülleri farklı kategorilerde sınıflandırılabilir.

Günümüzde hücre yüzeyindeki bu antijenik oluşumlar CD (Cluster of differentiation) farklılaşma kümeleri olarak adlandırılır. AML hastalığının teşhisinde; Flow Sitometri de belirleyici CD molekülleri ile çalışılır. Temel antikorların kullanıldığı bir panel ile akut myeloid lösemilerin %95' i tanımlanabilir. Bu panel ile hücre serisinin tanımlanamadığı durumlarda, AML M6- M7 den morfolojik verilere göre şüphe edildiğinde, prognostik verilere ulaşılmak istendiğinde, takibinde kullanılması için

minimal rezidüel hastalığa bir parametre arandığında, literatür ışığında kullanılan diğer antikörler yardımcı olabilir (3).

Multiparametre akış sitometrisi, morfolojik değerlendirme ile birlikte genellikle kesin tanı veya dar ayırıcı öneren akut lösemilerde antijen ekspresyon profillerinin hızlı ve ayrıntılı olarak belirlenmesini sağlar. Multiparametre akış sitometrisi; AML hastalarının tanı, sınıflandırma ve izlenmesinde paha biçilmez bir araçtır (6). Çalışmamızda Malatya Turgut Özal Tıp Merkezi Araştırma Hastanesinde, AML tanısı alan hastaların, AML markırlarının pozitiflik oranları yüzdelik olarak hesaplanacaktır. Ulusal ve uluslararası çalışmalarda bu konuda veri analizlerini sunan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Güncel çalışmalarda hastaların ilk tanılarında ve hastalığın nüksü sırasındaki verilerin analizi de karşılaştırılmaktadır. Akış sitometrisi (AS) çeşitli hücrelerin bir süspansiyon halinde bir akış kanalı boyunca tek tek geçmesi ve bu esnada hücre büyüklük ve içeriğine göre sınıflandırılması esasına dayanan florokromojenik-lazer tabanlı bir tanı yöntemidir (7). Hematolojik malignitelerin tanısında AS cihazı en fazla kullanılır. AS; hematolojik malignitelerin tanı ve tedaviye yanıtlarına, HIV analizine, B ve T lenfosit fonksiyon ve sayılarına, hücre canlılığının değerlendirilmesine, DNA analizine, retikülosit/eritrosit analizine, trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesini ve hücre içi glutasyon tayinini sağlayan bir immunoematolojik laboratuvar uygulamasıdır. AS cihazının günümüzde en fazla kullanım alanlarından birisi hematolojik malignitelerin tanısıdır (8).

Fransız-Amerikan-İngiliz Kooperatif Grubu, morfolojik kriterlere (hücre boyutu, sitoplazma, nükleol, bazofili, vakuolasyon) dayalı olarak üç ALL grubunu (L1-L3) ayırt eder (7). L1 ve L2 arasındaki morfolojik ayırım prognostik önemini yitirmiştir. L3 morfolojisi, olgun B-hücresi ALL ile ilişkilidir ve kemik iliği biyopsi örneklerinde "yıldızlı gökyüzü" modeli ile sonuçlanan yüksek hücre döngüsü oranı ile karakterize edilir. ALL'deki patlamalar miyeloperoksidaz için negatiftir, ancak aksi takdirde akış sitometrisi ile miyeloid belirteçlerin ekspresyonu olmayan nadir durumlarda düşük seviyeli miyeloperoksidaz pozitifliği (%3-5) ortaya çıkabilir (6).

Akut lösemi tanısında, morfolojik kriterler sitokimyasal ve immünofenotipik bilgilerle desteklendiğinde, deneyimli gözlemciler arasındaki uyum %70'ten %99'a yükselir. Morfolojik yorumlamanın zor olduğu durumlarda immünofenotiyoloji önemli bir rol oynar. İmmünofenotiplenmenin en büyük avantajı, sadece morfolojik kriterlerle tanımlanamayan özellikle lösemi alt tipinin belirlenmesidir. Lösemide periferik kan ve kemik iliği immünofenotiplenmesi belirli bir terapötik rejim için karar verme kararını

belirler ve pratik bir prognostik indikatördür. Akut lösemi tanı ve tedavisi öncelikle lösemi hücrelerinin saptanması, tanımlanması ve karakterizasyonuna bağlıdır.

Bu çalışmanın amacı, power analizi ile ulaşılan örneklem sayısına uygun, Malatya Turgut Özal Tıp Merkezi Araştırma Hastanesi Hematoloji bölümünde Akut Myeloid Lösemi (AML) tanısı alan ve histopatolojik olarak da tanısı kesinleşmiş hastalarının, flow sitometri ile çalışılmak istenen örneklerinde (rutin perifer kanları ve kemik iliği örnekleri) AML markırları pozitifliği açısından incelemektir. Sonuç olarak amacımız; hastalarının myeloid markırlarının pozitiflik oranlarının yüzdelerini inceleyip literatüre bu markırlarının pozitif yüzdelik oranlarını saptayarak katkı sağlamaktır.

Multiparametre akış sitometrisi, morfolojik değerlendirme ile birlikte genellikle kesin tanı veya dar ayırıcı öneren akut lösemilerde antijen ekspresyon profillerinin hızlı ve ayrıntılı olarak belirlenmesini sağlar. Multiparametre akış sitometrisi; AML hastalarının tanı, sınıflandırma ve izlenmesinde paha biçilmez bir araçtır (1).

İmmünofenotipik değerlendirme akut lösemilerin doğru tanı ve sınıflandırılması için gereklidir. Multiparametre Akış Sitometrisi bu bilgileri toplamak için hızlı ve etkili bir yöntemdir. Ulusal ve uluslararası çalışmalarda bu konuda veri analizlerini sunan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, power analizi ile ulaşılan örneklem sayısına uygun olarak belirlenen sayıda, Malatya Turgut Özal Tıp Merkezi Araştırma Hastanesinde, AML tanısı alan hastaların, AML markırlarının pozitiflik oranlarını yüzdelik olarak saptamaktır. Bu veriler ile Akut Myeloid Lösemilerin tanı yönteminde, Akış Sitometrik İmmünofenotip uygulamasının sonuçları, etkinlik ve faydaları açısından kendi hasta serimizde de değerlendirilecektir. Aynı zamanda AML hastaların yaş ve cinsiyet dağılımlarının ortaya konması, bölgesel verilerin analizleri açısından da önem arz etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lösemi

Lösemi, bazı farklı kan kanseri türlerinin genel adıdır. Dört ana lösemi türü vardır (9). Bunlar;

1. Akut Lenfoblastik (lenfositik) Lösemi (ALL)
2. Akut Miyeloid Lösemi (AML)
3. Kronik Lenfositik Lösemi (KLL)
4. Kronik Miyeloid Lösemi (KML).

Miyeloid lösemi bu hücrelerde başlayabilir. İkinci iş ise, bağışıklık sisteminin bir parçası olan lenfositleri oluşturmaktır (10). Lenfositik lösemi bu hücrelerde ortaya çıkabilir. Kanserli değişiklik, lenfositleri oluşturan bir tür kemik iliği hücresinde meydana gelirse, lösemiye lenfositik veya lenfoblastik denir (9).

Lösemi, kan ve kemik iliği kanseridir. Kemik iliği, çoğu kemiğin merkezinde bulunan ve kan hücrelerinin oluştuğu süngerimsi dokudur. Lösemi, kemik iliğindeki olgunlaşmamış hücrelerden birinde başlar. Hücrenin DNA'sında bir veya daha fazla değişiklik (mutasyon) meydana gelir ve "lösemi hücresi" adı verilen bir kanser hücresi türü haline gelir. Lösemi hücreleri, sağlıklı, işleyen kan hücrelerine olgunlaşmazlar. Normal kan hücrelerinden daha hızlı büyürler ve daha uzun yaşarlar. Daha fazla lösemi hücresi yapmak için bölünürler ve kendilerini kopyalarlar. Zamanla, lösemi hücreleri ya kalabalıklaşır ya da kemik iliğindeki normal, sağlıklı kan hücrelerinin gelişimini baskılar. Bu hücreler kemik iliğinden kan dolaşımına dökülür ve daha sonra karaciğer ve dalak gibi organlara yayılabilir (11).

Lösemi hastalıkları ve bunlar arasında en ölümcül lösemi çeşidi olan Akut Lenfoblastik Lösemi çok hızlı ilerleyen ve kısa sürede kişiyi ölüme sürükleyebilen bir tiptir. Araştırmamızda da incelemiş olduğumuz Akut Myeloid Lösemi aşağıda geniş bir şekilde incelenmiştir.

2.2. Akut Myeloid Lösemi (AML)

2.2.1. Tanım

AML, kemik iliği ve periferik kandaki miyeloid progenitörlerinin (blastların) klonal genişlemesi ile karakterize heterojen bir hastalıktır (12). Önceden tedavi

edilemeyen AML, Őimdi 60 yaŐın altındaki hastaların yaklaşık %35-40'ında tedavi edilmektedir (12). 60 yaŐın üzerindekiiler iÇin prognoz iyileŐmekte, ancak gaddar olmaya devam etmektedir. Son ŐalıŐmalar, bozukluğun yaşla birlikte biriken bir dizi tekrarlayan hematopoitik kök hücree genetik deĐiŐikliĐinden kaynaklandığını ortaya koymuŐtur. Birincil ve nükseden tümörler üzerinde derin dizileme teknikleri kullanarak, klonal evrim adı verilen bir fenomen, hem kurucu klonlar hem de yeni alt klonlar ile karakterize edilmiş ve terapötik yaklaŐımı etkilemiŐtir (13).

2.2.2. Etiyoloji

Etiyolojisinde ön planda kromozomal değişiklikler yer almakta olup, kimyasal maddeler (benzen), iyonize radyasyon, retrovirüsler ve ilaçlar (kemoterapötikler) da rol oynamaktadır (Tablo 2.1) (14).

AML'nin geliŐimi, birkaç risk faktörü ile ilişkilendirilmiştir. Genel olarak, bilinen risk faktörleri, gözlemlenen vakaların yalnızca küçük bir kısmından sorumludur (15). Bunlar arasında yaş, öncül hematolojik hastalık ve genetik bozukluklar yer alır; virüslere maruz kalmanın yanı sıra radyasyon, kimyasal veya diğer mesleki tehlikeler ve önceki kemoterapi bulunur (16). Lösemogenez, hematopoitik progenitör hücrenin birçok aŐamada indüktif ajanlara duyarlılığını gerektiren ők aŐamalı bir süreçtir. AML'nin farklı alt tipleri, belirli moleküler anormallik veya mutasyon ile nedensel ajan arasında işlevsel bir bağlantı olduğunu düşündüren farklı nedensel mekanizmalara sahip olabilir (17). őkü AML vakası, nesnelleŐtirilebilir lösemojenik maruziyet olmaksızın de novo ortaya őkır.

Tablo 2.1. Akut Myeloid Lösemiye Eğilim Yaratın Durumlar (14)

Çevresel Faktörler	Hastalıklar	Kalıtım
-Radyasyon	-Kronik myeloid lösemi	-AML'li kardeş
-Benzen	-İdiopatik myelofibroz	-Konjenital amegakaryositik
-Alkile edici ajanlar	-Primer Trombositopeni	trombositopeni
-Sigara dumanı	-Polystemia vera	-Bloom sendromu
	-Klonal sitopeniler	-Ataksi-pansitopeni
	-Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri	-Konjenital agranülositozis (Kostmann sendromu)
	-Aplastik anemi	-Down sendromu
	-Eozinofilik fascitis	-Dubowitz sendromu
	-Myeloma	-Diskeratozis konjenita
		-Nonsendromik ailesel AML
		-Ailesel trombosit hastalığı
		-Fankomi anemisi
		-Naksoz sendromu
		-Nörofibromatöz
		-Noonan sendromu
		-Poland sendromu
		-Rothmund-Thomson sendromu
		-Seckel sendromu
		-Shwachman sendromu
		-Werner sendromu
		-Wolf Hirschhorn sendromu
		-WT sendromu

2.2.3. Epidemiyoloji

Çocukluk çağı AML insidansı Amerika Birleşik Devletleri'nde, bazı göstergelerle birlikte zaman içinde insidanda bir artışa dair, 2015–2020 yılları arasında 0-14 yaş arası milyon çocuk başına 7.7 vaka olarak tahmin edilmiştir (18). 1 yaşından

küçük bebeklerde milyonda 18.4' lük bir oranla insidans zirve yapar, 5-9 yaşları arasında milyonda 4.3'e düşer ve 10-14 yaş arası çocuklarda milyonda 7.7'ye yükselir (18).

ABD'deki ırksal/etnik gruplar tarafından, Hawaiiilerde olası bir artış oranı (6) ve Hispanik/Latin çocuklarda AML'nin spesifik bir alt tipi olan akut promyelositik lösemnin (APL) potansiyel olarak daha yüksek insidansı dışında çok az çeşitlilik görülmektedir (19). Gözetim, Epidemiyoloji ve Son Sonuçlar (SEER) Programından elde edilen verileri kullanan bir raporda, Asya ve Pasifik Adalıları en yüksek çocukluk AML oranına sahipti (milyonda 8.4), ardından Hispanikler (milyonda 8.1), Kafkasyalılar (7.5), ve Afrikalı Amerikalılar (6.6) olarak açıklanmıştır (20).

AML temel olarak ileri yaş erişkin hastalığı olarak bilinmesiyle birlikte her yaşta görülebilir. İnsidans yaşla birlikte yükselir ve 65 yaş üzerinde 100.000'de 12.6'ya ulaşır. Çocuklardaki akut lösemilerin tümü %15-20'sini oluştururken, erişkinlerde ise bu oran %80'e yükselir (19).

2.2.4. Sınıflama

AML'nin standart sınıflaması seri farklılaşmasına ve olgunlaşma derecesine bağlı olarak tanımlanmış FAB sınıflaması 8 alttıpten oluşur (Tablo 2.2). Büyük ölçüde FAB sınıflaması basit sitokimyasal boya yöntemlerine ve standart morfolojiye dayanır fakat AML için prognostik sayılabilecek displastik değişikliklerin varlığı veya daha önceden kemoterapi görmüş olmak, sitogenetik anomaliler gibi faktörleri göz önüne almaz. Kemik iliğindeki hücrelerin en az %30'unun myeloblastlardan oluşması FAB sınıflaması için temel kriterdir. Bazı tekrarlayan kromozomal translokasyonlar ile belli FAB alttıpleri arasında da ilişki gösterilmiştir fakat FAB sınıflamasının prognostik değeri sınırlıdır (14).

Tablo 2.2. AML’de FAB sınıflaması (14)

Altıtip	Özellikler	Yorum
Mo: Minimum farklılaşma gösteren AML	Blastların <math><3\%</math>’ünde MPO veya SB pozitifdir, ancak akım sitometrisinde myeloid antijen ekspresyonu vardır.	AML’lerin %5-10’unu oluşturur; morfolojik olarak ALL’ye benzer; Auer cisimcikleri ve lenfoid antijen ekspresyonu olmamalıdır.
M1: Olgunlaşma göstermeyen AML	Myeloid hücrelerin >math>90\%</math>’i blastik hücrelerden oluşur; blastların >math>3\%</math>’ü MPO ve SB ile boyanır.	AML’lerin %10-20’sini oluşturur.
M2: Olgunlaşma gösteren AML	Myeloid hücrelerin >math>10\%</math>’u promyelosit düzeyi veya daha geç evrelere olgunlaşmıştır; myeloblastların oranı $\geq 30\%$ ’dur.	AML’lerin %30-45’ini oluşturur; t(8;21) olguların %25’inde görülür.
M3: Akut promyelositer lösemi (APL)		
• Hipergranüler varyant	• Baskın olan hücre grubu büyük stoplazmik granüller veya Auer cisimcikleri içeren promyelositlerdir.	AML’lerin %5-10’unu oluşturur; 17.kromozom üzerindeki RAR a ile ilişkilendirilmiştir. Yaygın damar içi pıhtılaşması sıktır; her iki varyant da all-trans-retinoik aside (ATRA) yanıtlıdır.
• Mikrogranüler varyant (M3v)	• Küçük granülleri ve katlanmış çekirdekleri olan promyelositler	
M4: Akut Myelomonositik lösemi	Periferik kanda monositöz; kemik iliği hücrelerinin $\geq 20\%$ ’si monositik hücrelerden oluşur	AML’lerin %15-25’ini oluşturur; diş etleri ve MSS’de dahil olmak üzere doku invazyonuna eğilim vardır.
• Alt tip: İlikte anormal eozinofillerin varlığı ile karakterize (M4Eo)	• Kemik iliğinde büyük bazofilik granüllü anormal eozinofiller bulunur.	• M4Eo varyant inv(16) veya t(16;16) ile ilişkilendirilmiştir; AML-M4’lerin yaklaşık %15-30’unu oluşturur.
M5: Akut monositik lösemi		
• M5A	• Kemik iliğindeki hücrelerin >math>80\%</math>’i monoblastlardan oluşmuştur.	• AML’lerin %5-8’ini oluşturur; genç erişkinlerde daha sık görülür.
• M5B	• Promonositler ön plandadır.	• AML’lerin %3-6’sını oluşturur; daha çok ileri yaşlarda görülür.
M6: Akut eritrolösemi	Kemik iliği çekirdekli hücrelerinin >math>50\%</math>’si eritroid öncüllerden ve noneritroid hücrelerin >math>30\%</math>’u myeloblastlardan oluşur.	AML’lerin %5’ini oluşturur; ileri yaşlarda daha sıktır.
M7: Akut megakaryositik lösemi	Myeloblastların >math>50\%</math>’si akım sitometri incelemesinde megakaryositik antijenleri ekspresyon eder.	AML’lerin %8-10’unu oluşturur; tanı için akım sitometrik inceleme gerekir; sıklıkla ilik fibrozu ile beraberdir.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sınıflaması (Tablo 2.3) prognostik ve tedaviye yönelik anlamı olan translokasyonların varlığına göre AML'leri ayırır. Aynı şekilde sınıflamada myelodisplastik bulguların varlığı ve daha önce kemoterapi görmüş olmak (tedaviye bağlı AML) ve gibi faktörlerde dikkate alınmaktadır. WHO sınıflamasında, FAB'da %30 olan kemik iliğindeki blastik infiltrasyon oranının %20'ye indirilmiş olması da WHO sınıflamasının FAB'dan önemli bir farkıdır. FAB sınıflamasında, kemik iliğindeki myeloblast sayısı %20-30 arasında olan olgular myelodisplastik sendrom (RAEB-T) olarak adlandırılır. WHO sınıflamasında bu olgular AML tanısı almaktadır (21).

Tablo 2.3. AML'lerde WHO sınıflaması (21).

Tekrarlayan sitogenetik translokasyonlu AML'ler
t(8;21); AML1 (CBF α)/ETO ilişkili AML. İyi prognozlu
APL (t(15;17) (q22;q11-12) ilişkili AML ve varyantları; PML/RAR α). İyi prognozlu
İlikte anormal eozinofillerle karakterize AML (inv(16)(p13;q22) veya t(16;16)(p13;q11);CBF β /MYH11X). İyi prognozlu
11q23 (MLL) anomalileriyle ilişkili AML: Kötü prognozlu
Çoklu dizi displazisi gösteren AML: Genellikle kötü prognozludur.
Öncesinde MDS olan AML
Öncesinde MDS olmayan AML
İlaça bağlı AML ve myelodisplastik sendromlar: Genellikle kötü prognozludur.
Alkilleyici ajanlarla ilişkili
Topoizomeraz II inhibitör ile ilişkili
Tanımlanan gruplara girmeyen AML
Minimal farklılaşma gösteren AML
Olgunlaşma göstermeyen AML
Akut myelomonositik lösemi
Akut monoblastik ve monositer lösemi
Akut eritroid lösemi
Akut megakaryoblastik lösemi
Akut bazofilik lösemi
Myelofibroza giden akut panmiyeloz
Myeloid sarkom

2.2.5. Klinik Özellikler

AML hastaları enfeksiyon, ateş, halsizlik, yorgunluk ve peteşi, menoraji ve burun kanaması gibi hemorajik bulguları içeren pansitopeni ile ilgili belirti ve semptomlarla başvurabilir. Bunun nedeni, kötü huylu hücrelerin çoğalmasının yavaş yavaş kemik iliğinde normal kan hücresini devralmasıdır. Nadiren, alt ekstremitelerde sternal rahatsızlık veya hassasiyet ve ağrı vardır. Lösemi hücreleri tarafından kutanöz veya dişeti infiltrasyonu olabilir. Fizik muayenede solukluk, lenf nodu büyümesi, hepatomegali ve splenomegali saptanabilir (22).

WHO sınıflamasında genetik mutasyonlar, karyotipleme anormallikleri, farklı olgunlaşma evreleri ve blast hücre alt tipleri dikkate alınmaktadır. Böylece, AML'nin gelişiminde altta yatan çeşitli mekanizmalara işaret eder. Bu nedenle, AML'nin klinikte sık görülen ve nadir görülen sunumlarını bildirmek için hızlı tanı ve zamanında yönetime yardımcı olacağı için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Araştırmalar, tedavi ve prognoz farklı olabileceğinden AML alt tipinin belirlenmesi önemlidir (23). İyi bir örnek, diğer AML alt tiplerinden çok farklı yönetimi olan akut promiyelositik lösemidir (APL). APL'de, kemoterapi sonrası tam remisyon (CR) oranı %90'ın üzerindedir ve prognoz, daha düşük bir nüks oranı ve daha uzun hastalısız sağkalım (DFS) ve genel sağkalım (OS) oranları ile kendini gösterdiği gibi büyük ölçüde iyileşmiştir (24). Bununla birlikte, farklı çağdaş çalışmalar cinsiyet, yaş, şikayetlerin sunulması, inceleme profili ve tanı gibi çeşitli özellikler açısından farklılıklar bildirmiştir (25.26).

Minör kesi ve yaralanmalar sonrası ortaya çıkan minör piyojenik enfeksiyonlar ve püstüller oldukça sıktır. Başlangıç bulguları olarak sinüzit, pnömoni, menenjit ve pyelonefrit gibi majör enfeksiyonlar daha az görülmekte ve kemoterapi sonrası sıklıkla mutlak nötrofil sayısı <500/µl olduğunda ortaya çıkmaktadır. Majör bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar kemoterapi sonrası nötropenin uzamasına bağlı olarak daha sık izlenir. Sık görülen bulgular; iştahsızlık ve kilo kaybıdır. Ateş, tanı sırasında genellikle bulunmakta, yaklaşık olarak olguların 1/3'ünde splenomegali ve hepatomegali görülmektedir. Lenfadenopati AML'nin monositik tipleri dışında oldukça nadir görülür (27).

2.2.6. Laboratuvar Bulguları

Periferik kan bulguları: En belirgin laboratuvar özelliği; üretim azlığı ve eritrositlerin yaşam ömrünün azalmasına bağlı olarak ortaya çıkan anemidir. Eritrosit morfolojisi genel olarak anormaldir. Periferik yaymada; değişik şekilde ve büyüklükte eritrositlerin

yanı sıra çekirdekli eritrositler de görülebilir. Trombositopeni tanı sırasında bulunur. Fonksiyon bozuklukları; trombositlerdeki şekil, sayı ve granulasyon bozukluklarına ek olabilir (28,29).

Blastlar kanın periferik yaymasında kolayca saptanabilirler. Nadiren periferik kana geçmeyebilirler. Dolaşımdaki blastların görülebilmesi için yaymanın dikkatle incelenmesi gerekir. AML'yi kesinlikle düşündüren tek morfolojik özellik olan Auer cisimleri; blast stoplazmasında izlenen azurofilik granüllerin oluşturduğu, genellikle 0.5 µm uzunluğunda ve 1.5 µm genişlikte saptanır (30).

Kemik iliği bulguları: Kemik iliğindeki blast oranının AML olarak değerlendirilebilmesi için %20'den fazla olması gerekir. Sudan Black B, Peroksidaz ve naftil ASD-kloroastetat esteraz ile pozitif histokimyasal reaksiyon verirler. Kemik iliği biyopsisinde; küçük veya tek loblu megakaryositler veya hipogranüle, çekirdek fragmentasyonları gösteren bilobule nötrofiller, eritroblastlar gibi hematopoietik hücrelerde dismorfik değişiklikler izlenebilir (30).

Sitogenetik bulgular: Olguların %75'inde anormal sayı ve/veya yapıda kromozomal anomaliler bulunur. En sık izlenen anomaliler; X veya Y kromozomu yokluğu, monozomi 7, trizomi 8, monozomi 21 ve trizomi 21'dir (29). Tablo 2.4'de AML FAB alttiplerine göre en sık görülen translokasyonlar ve anomaliler ile bunlara karşılık gelen moleküler değişiklikler görülmektedir.

Biyokimyasal bulgular: Tedavi öncesi laktat dehidrogenaz (LDH) ve serum ürik asid düzeylerinde hafif veya orta şiddette artış oldukça sık görülür. Özellikle myelomonositik ve monositik lösemilerde her iki düzeydeki artış daha belirgindir. Elektrolit dengesizlikleri daha az görülür ve genel olarak daha hafiftir (31).

Tablo 2.4. AML’de morfolojik alttipler ve genetik değişimler arasındaki ilişkiler (31)

FAB alt tipi	Sitogenetik değişim	Moleküler değişim
M0, M1	t(10;11)	CALM-AF10
M1	Trizomi 21	MLL duplikasyonu
M2	t(8;21)	AML 1-ETO
M3	t(15;17), t(11;17), t(5;17)	PML-RARA, PLZF-RARA, NPM-RARA
M4Eo	inv(16)	CBFB-MYH11
M4 ve eritrofagositoz	t(8;16)	MOZ-CBP
M5	11q23 translokasyonları	MLL diğer partner genleri ile karşılıklı füzyon geni oluşturur.
M6	t(3;5)	NPM-MLP1
M1, M2, M4	t(6;9)	DEK-CAN
M2, M4	t(7;11)	NUP98-HOXA9

2.2.7. Prognostik Faktörler

Yüksek verimli dizileme teknolojileri, yeni genetik mutasyonların tanımlanmasında hızlı bir artışa yol açtı. Bugüne kadar, büyük ölçüde derin dizileme ile yaklaşık 30 tekrarlayan gen mutasyonu tanımlanmıştır (32). Bunların çoğu için prognostik etki belirsizdir veya yalnızca CN-AML’li hastalarda değerlendirilmiştir. Ek olarak, tekrarlayan genetik lezyonların çoğunun prognostik etkisi, yalnızca yoğun tedavi alan genç AML hastalarında incelenmiştir.

DNMT3A. DNA metiltransferaz 3A geninin (DNMT3A) mutasyonları, çoğu çalışma grubu tarafından negatif bir prognostik faktör olarak kabul edilir (33,34). Bununla birlikte, en büyük çalışma prognostik bir etki bulmamıştır. Renneville ve diğerleri (35) CN-AML hastalarında, olumsuz moleküler riski olan hastalarda olumsuz prognostik etki bulmuştur (CEBPAwt ve NPM1wt ve /veya FLT3-ITD), Renneville ve diğerleri olumlu moleküler riski olan hastalarda (CEBPA mutasyonlu veya NPM1 mutasyonlu artı FLT3 yok ITD) olumsuz bir prognostik etki bulmuşlardır. Bu tutarsızlık için olası bir açıklama, DNMT3A mutasyonlarının prognostik etkisinin indüksiyon tedavisi sırasında uygulanan antrasiklin dozuna bağlı olduğu gözlemdir.

Özellikle lökositöz kötü prognostik faktör 100.000/mm³ üstü olarak bilinmekle birlikte bu değer bazı çalışmalarda 30.000/mm³ düzeyine kadar çekilmiştir (36). Özellikle lökosit sayısının 100.000/mm³ üstünde olması mikrodolaşımda tıkanmalara

neden olarak nörolojik ve pulmoner komplikasyonlara ve erken hasta kaybına yol açtığı gösterilmiştir (37).

LDH düzeyi yaşlılarda >400 IU/L üzerinde ise hastalısız yaşam süresi ve tüm yaşam süresinin kısa olduğu gösterilmiş, lökosit sayısı, lösemi hücre yükü ile paralel olduğu gösterilmiştir. Normal düzeyin üstü ve altı olarak incelendiğinde fark olmamakla birlikte sınır 700 IU/L'ye çekildiğinde özellikle genç hastalarda tüm yaşam ve hastalısız yaşam süresinin düştüğü saptanmıştır (38).

2.2.8. Akut Myeloid Lösemide Standart Tedavi

AML'de lösemik öncül hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalmaları, olgunlaşmaları ve farklılaşma özelliklerini kaybetmeleri söz konusudur. Habis karakterli bu hücreler çoğunlukla blastlar ya da ona yakın düzeyde (promyelosit, promonosit gibi) hücrelerdir (36). Bu hücreler hematopoiezinin yetersizliğine kemik iliğini tamamen infiltre ederek yol açarlar. Diğer taraftan çoğalan lösemi hücreleri kanda da artma gösterirler, seyrek de olsa ekstramedüller dokuları ve merkezi sinir sistemini infiltre edebilirler. Vücuttaki toplam sayısı artan bu lösemi hücre kitlesi ayrıca metabolik yönden olumsuz etkilere de sebep olabilir (36). Akut lösemili hastalarda kemik iliğindeki monoklonal lösemik hücre kitlesinin yanı sıra azalmış sayıda normal hematopoietik kök hücre kitlesi de vardır. Lösemik hücre kitlesini kemik iliği biyopsi ve aspirasyonunun görülemeyecek derecede şiddetle baskılamak ve normal hematopoiezinin yenilenmesini sağlamak sitotoksik ilaç tedavisinin ana ilkesidir. Şifaya kavuşmanın ya da hastalısız sağkalımın ilk ve en önemli basamağı bu tedavidir (5).

Hastanın tedaviye uyumunu kolaylaştırmak için; hastanın ve yakınlarının hastalık, hastalığın tedavisi, yan etkileri, ortaya çıkabilecek komplikasyonları hakkında bilgilendirilmesi mutlaka gereklidir. Ayrıca hem hukuksal yönden hem de etik yönden imzalanmış onayının alınarak saklanması önemli olduğu unutulmamalıdır. Standart sitotoksik ilaç tedavisi çok ileri yaşta ve diğer bazı hastalıkları olan hastalar ve kan almayı reddeden AML tanısı konmuş hastalarda yapılması olası görülmeyebilir. Destekleyici tedavi bu hastalarda uygulanabilir. Tedavi kararını sadece ileri yaş olumsuz olarak etkilemez (5).

Tablo 2.5. AML’li hastalarda risk değerlendirilmesi (39)

Yaş (>60 olumsuz etki)
Kötü performans durumu (tedaviden önce)
Başlangıç lökosit sayısı (>20.000/mm ³ 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 infeksiyonu kuşkusunda: toraks ve karın BT incelemeleri
Hematolojik ve biyokimyasal testler yanı sıra pıhtılaşma testleri de yapılmalı (santral kateter takmadan önce yapılmalıdır)
Kalp hastalığı öyküsü varsa ekokardiyografi

Aşağıda belirtilen basamakların AML’nin tedavisine karar verilmeden önce bilinmesi gereklidir:

1. Çevre kanı ve kemik iliğinin mikroskopik değerlendirilmesi ile AML tanısı konulmalıdır. Daha sonra moleküler biyoloji, immunofenotipleme veya sitogenetik incelemeleri için örnek alınmalıdır. Tanıyı ve prognozu belirlemeye bu ikinci incelemeler de yardımcı incelemelerdir. En başta hastaların; performans durumu ve risk değerlendirmeleri yapılmalı ve tedavi buna göre düzenlenmelidir. Tablo 2.5’de risk değerlendirilmesi özetlenmiştir.

2. AML tedavisi klinik çalışmalar kapsamında ve multidisipliner yaklaşıma sahip merkezlerde yapılmalıdır. Bu merkezlerde yeterli alt yapı bulunmalı, enfeksiyon hastalıkları bölümleri ve kemik iliği transplantasyon ünitesi ile sıkı işbirliği yapabilmelidir. Tedavi planı tablo 2.6’da özetlenmiştir.

3. AML’nin de sekonder ya da novo olup olmadığı araştırılmalıdır. Genellikle yaşlı hastalarda sekonder AML daha yaygın görülür, novo AML’den farklılıklar göstermesi prognozunun daha kötü olması ve tedaviye kötü yanıt vermesidir (39).

AML’de uygulanması gereken tedavi planı Tablo 2.6’da gösterilmiştir.

Tablo 2.6. AML’de tedavi planı (5).

Tedavi küratif amaçla yapılmalı
İndüksiyon ve konsolidasyon olmalı
Allojenik aday olan hastalar induksiyonun erken döneminde saptanmalı
Küratif tedaviye uygun olmayan hastalara destek tedavisi uygulamalı
-kötü performans
-ek morbiditesi olan hastalık varlığı
-ileri yaş

AML’li hastaların tedavisi çok yönlü olup başlıca dört grupta sıralanabilir:

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

2.3. Akut Myeloid Lösemide Genetik Değişiklikler

Hematopoetik öncü hücrelerin mutasyona uğrayarak, klonal olarak çoğalması sonucunda AML oluşur (40). Hematopoezde rol oynayan transkripsiyon faktörlerini sıklıkla AML’deki genetik değişikliklerden etkilemektedir. AML’de bozulan transkripsiyon faktörleri 3 gruba ayrılabilir (41):

Lösemi ile ilgili kromozomal translokasyonlar genellikle CBF, retinoik asid reseptör alfa (RARA) ve ETS ailesine ait transkripsiyon faktörlerini veya Homeobox gen (HOX) ailesini etkiler (Tablo 2.7) (42).

Tablo 2.7. Lösemide Transkripsiyon Faktörlerinin Kromozomal Translokasyonları (42)

Transkripsiyon faktörü	Translokasyon	Oluşan füzyon gen
CBF	t(8;21)(q22;q22)	AML1-ETO
	t(3;21)(q26;q22)	AML1-EVI1
	İnv(16)(p11;q22)	CBFβ-MYH11
	t(12;21)(p13;q22)	TEL-AML1
RARA	t(15;17)(q22;q11)	PML-RARA
	t(5;17)(q31;q11)	NPM-RARA
	t(11;17)(p13;q11)	PLZF-RARA
HOX	t(7;11)(p15;p15)	NUP98-HOXA9
	t(2;11)(q31;p15)	NUP98-HOXD13
	t(12;13)(p13;q12)	TEL-CDX2
ETS	t(12;22)(p13;q11)	MN1-TEL
	t(16;21)(p11;q22)	TLS-ERG

2.3.1. CBF

CBF, CBFa (RUNX1) ve CBFb alt ünitelerinden oluşur. CBFb, CBFa'nın DNA'ya ilgisini arttırır ve proteolitik parçalanmaya karşı korur (43). AML'lerin %25'nini CBF ile ilişkili lösemiler oluşturur. Lenfoid ve myeloid farklılaşma ile ilgili bazı transkripsiyon faktörlerinin anlatımını CBF düzenler. CBF'nin regüle ettiği genlerden bazıları interlökin 3 (IL-3), M-CSF, GM-CSF, immunoglobulin ağır zincir enhanser'ı, T-hücre reseptör beta (TCR-β) enhanser'ıdır (Eμ) (44). AML'de CBF'nin değişik mutasyonları görülür (Tablo 2.7). Ayrıca CBFb-MYH11 "knock-in" kimerik hayvanlarda hemetopoetik farklılaşmada bozukluk görülür. Bu farelerde AML kimyasal veya retroviral ajanlarla ek mutasyonlar oluşturulduğunda gelişir (45).

2.3.2. Retinoik Asid Reseptör alfa (RAR α)

17. kromozomda bulunan RAR α geninin çeşitli genlerle translokasyonu APL'de görülür (Tablo 2.7). APL'nin %95'inde t(15;17) sonucu oluşan PML-RAR α füzyon geni görülür. RAR α , geni geriye kalan APL olgularında NuMA, STAT5, NPM ve PLZF gibi genlerle füzyon oluşturur (46).

2.3.3. HOX Genleri

61 aa'lık korunmuş DNA bağlanma bölgesi içeren proteinler Homeobox genleridir. Hematopoetik hücrelerde HOX genlerinin anlatımı gösterilmiştir. AML gelişimine bazı HOX genlerinin aşırı anlatımı veya mutasyonla aktivasyonu sebep olmaktadır. HOXA9'u AML'de görülen t(7;11) translokasyonu etkilemektedir. Ayrıca HOXA9 aşırı anlatımı da AML'de gösterilmiştir. Lösemi gelişimine, kromatin yeniden modellenmesinde ("*chromatin remodelling*") rol oynayan HOX genlerinin düzenleyicisi olan MLL genindeki mutasyonlarda neden olmaktadır (41).

2.4. Flow Sitometri

Flow sitometri (FCM), küçük bir tünelden tek tek geçen, ışık kaynağı ile uyanmış ve floresan boyalarla boyanmış hücrelerin DNA içeriklerini ölçme metodudur. Bu ölçüm metodu ile saniyede 5-10 bin hücre incelenebilir.

FCM DNA analizi ile hücre siklusları G₀/G₁, S-fazı ve G₂+M fazı gibi bölümlere ayrılır ve DNA histogramları şeklinde istatistiksel olarak verilir. DNA dağılımının kaliteli olması için debris miktarının minimal olması ve hücre popülasyonlarındaki simetrik G₁ piklerinin ve piklerin coefficient varyasyonunun (CV) düşük olması ile gerekir (47,48).

FCM analiziyle tümörler DNA içeriklerine göre diploid veya anöplid olarak ayrılırlar. Buradaki anöplid terimi karyotip ile belirlenen anöplididen farklı olup normal diploid DNA değerinin dışındaki tüm hücreleri içermektedir. Anöplid tanısı için histogramlarda en az iki G₀/G₁ pik dağılımı gerekir. DNA indeksi (Dİ), anöplid piki DNA içeriğinin, diploid pik DNA içeriğine oranı olarak hesaplanır. Dİ = 1 ise diploidi, Dİ - 1.5 ise triploidi (3N), Dİ = 2 ise tetraploidi (4N) olarak tanımlanır (49).

Günümüzde flow sitometrik DNA analizi ile solid tümörler için şu değerlendirmeler yapılabilmektedir;

- Morfolojik değişiklikler şüpheli bulunduğu malignite tanısının desteklenmesi,

- Borderline malignitelerde lezyonların sınıflandırılması,
- Grade ve evreden bağımsız prognoz hakkında bilgi edinilmesi,
- Tedaviye cevabın izlenmesi,
- Tümör rekürrenslerinin belirlenmesi (50).

2.4.1. Kondiloma Akuminata ve DNA Ploidi Analizi

Human papilloma virüsü, aktif viral hastalık sırasında erken bölgeden salgılanan mitojenik proteinlerle devamlı DNA sentezine yol açar. Bu yüzden epiteliyal hücrelerin nükleuslarında 8N, 16N, 32N gibi poliploidizasyon ortaya çıkar. Şiddetli servikal displazilerde ise virüs genomunun bir kısmı hücre kromozomlarıyla birleşir ve bozulan viral genom nedeniyle onkoproteinler aktive olur. Virüs hücre etkileşimi ile hücre immortalizasyon ve nükleer anöploidi ortaya çıkar (51).

2.4.2. Flow Sitometrik İmmunofenotiplendirme

İmmunofenotipleme, flow sitometride en çok kullanılan uygulamadır. Çok sayıda parametre için karışık hücre popülasyonlarını aynı anda analiz etmek için flow sitometrinin imkanlarını kullanır. En basit haliyle; bir immünofenotipleme deneyi, hücre yüzeyinde antijenlere karşı hedeflenmiş florokromla konjüge edilmiş antikörlerle boyanmış hücrelerden oluşur. Bu antijenlerin çoğuna İnsan Lökosit Diferansiyasyon Workshop tarafından “diferansiyasyon kümesi” sayıları veya CD numaraları verilir. Böylece spesifik hücre antijenlerine yönelik monoklonal antikörleri tanımlamak için ortak bir adlandırma kullanılır. Örneğin, CD3 “diferansiyasyon sayısı 3 kümesidir” ve tüm T hücrelerinde bulunan T hücresi koreseptörünü tanımlamak için kullanılır (49).

2.5. Cluster of Differentiation (CD)

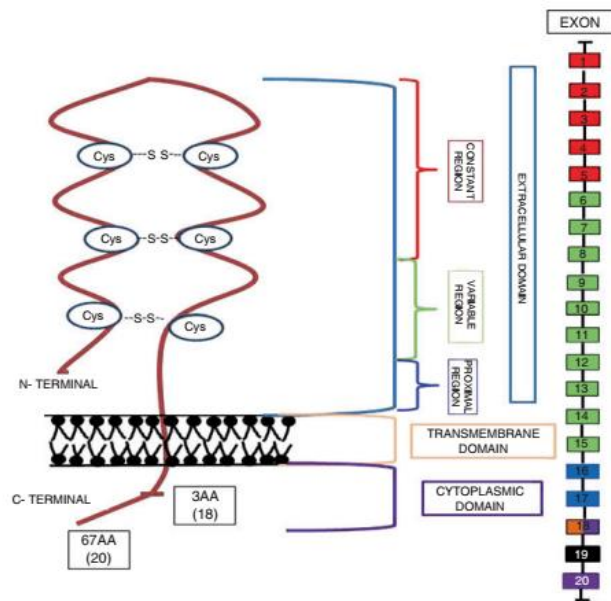
CD, bir transmembran glikoproteini ve ayrıca hücre dışı mikro-ortama hücre tepkilerine aracılık eden majör hyaluronan reseptörüdür. 1980'lerde ilk olarak lenfositler, timositler ve granülositler gibi birkaç bağışıklık hücresiyle sınırlı bir yüzey molekülü olarak tanımlandı (52), ancak daha sonra yeni bir insan eritrosit hücre yüzey antijeni, lenfosit hedef alıcı reseptörü ve lökosit yüzey glikoproteini (53). Bugün CD, hem epitel hücrelerini (keratinositlerde bile) hem de bağ dokusu hücrelerini (endotel hücreleri, fibroblastlar ve lökositler) içeren çeşitli hücre tiplerinde ifade edilen bir yapışma molekülü olarak tanımlanmaktadır. Proliferasyon, migrasyon, hematopoez,

lenfosit aktivasyonu ve lenf nodlarının hedeflenmesine aracılık eden bir dizi sinyal yolunda yer alır (54).

2.5.1 Gen Yapısı ve Transkripsiyonu

CD'nin kodlayıcı geni, 20 eksona sahip olan ve kapsamlı alternatif birleştirme yoluyla bir dizi izoform üreten 11p13 lokusunda bulunur. Bunlar arasında en bol bulunan form, hücre dışı alan, transmembran alanı ve hücre içi/sitoplazmik alan gibi çeşitli bölge ve alanlardan oluşan standart CD44'tür (CD'ler). Hücre dışı alan ayrıca sabit bölge (ekson 1–5 tarafından kodlanır), değişken bölge (ekson 6–15 tarafından kodlanır) ve proksimal bölge (ekson 16 ve 17 tarafından kodlanır) gibi üç bölgeye ayrılmıştır. Transmembran alanı (268-289 aa) ekson 18 tarafından kodlanır. Ek olarak, ekson 18 ayrıca sitoplazmik kuyruğun ilk üç amino asidini kodlarken, sonraki 67 amino asit ekson 20 tarafından kodlanır. Neredeyse her zaman ekson 19 ek yeri CD cDNA'lardan dır (55,56).

Bununla birlikte, CD44'ün izoformlarının oluşumu, alternatif ekleme işlemi yoluyla farklı kodlama ekzon kombinasyonlarının değişken eklenmesi yoluyla gerçekleşir. Bununla birlikte, son hücre hattı çalışmaları, ekson 20 yerine sonlandırma ekson olarak ekson 19'u kullanarak, CD'nin alternatif olarak eklenmiş başka bir "kısa kuyruk" izoformunun ekspresyonunu bulmuştur. üç amino asitten oluşan bir sitoplazmik kuyruk alanıdır ve bu nedenle sitoplazmik alan aracılı hücrel tepkilerden/sito-iskelet bileşenleri ile etkileşim gibi işlevlerden yoksundur (56) (Şekil 1).



Şekil 2.1. Üç alanlı CD'nin yapısal detayları ve kodlama ekzonları (56)

Yukarıda Şekil 2.1'de sabit bölge/bağ modülü ekson 1–5 (kırmızı kutular), değişken bölge ekson 6–15 (yeşil kutular) ve proksimal/kök bölge ekson 16–17 (mavi kutular) tarafından kodlanır. Ekson 18 (turuncu ve mor dolgulu kutu), transmembran alanının ve sitoplazmik alanın ilk üç amino asidinin kodlanmasına katkıda bulunur. Ekson 19 (kara kutu) normal olarak eklenir, oysa ekson 20 kalan sitoplazmik alanı kodlardır.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Araştırmanın Modeli

Bu çalışma tarama modeli kullanılarak Malatya Turgut Özal Tıp Merkezi Araştırma Hastanesinde, AML tanısı alan hastaların, AML markırlarının pozitiflik oranlarını yüzdeler olarak saptanıp bu veriler ile AML'nin tanı yönteminde, Akış Sitometrik İmmüfenotip uygulamasının sonuçları, etkinlik ve faydaları açısından kendi hasta serimizde de değerlendirilmiştir.

3.2. Çalışma Gurubu

Çalışmanın evrenini Malatya Turgut Özal Tıp Merkezi Araştırma Hastanesi'nin Hematoloji Bölümünün poliklinik ve servisine gelen hastalar oluşturmuştur, örneklemini ise, Akut Myeloid Lösemi tanısı alan bu hastalar içerisinde 46 hasta esas alınarak yapılmıştır.

3.3. Verilerin Toplanması

Veriler, çalışmalar sırasında Turgut Özal Tıp Merkezi Araştırma Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı bünyesindeki, Flow Laboratuvarına rutin olarak gelen perifer kan ve kemik iliği örneklerinin on renkli multiparametrelili Flow cytometry cihazı tarafından taranmış ve ortaya çıkan veri histogramları değerlendirme için kaydedilmiştir. Çalışmamızda AML (Akut Myeloid Lösemi) tanısında kullanılan çeşitli markırların (CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO) sonuçları incelenerek, olgularda tespit edilen pozitif yüzdeler verilerin oranları saptanmaya çalışılmıştır.

3.4. Verilerin Analizi

Verilerin analizi için SPSS 22.0 paket programı kullanılmıştır. Normal dağılım ile değişken dağılımları arasında anlamlı fark olup olmadığı kolmogorov-smirnov ve shapiro-wilk testleriyle incelenmiştir. Sürekli değişkenlerin bağımsız grup kıyaslamasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. $p < .05$ anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmanın bu bölümünde AML tanısında kullanılan çeşitli markırların (CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO) sonuçları analiz edilerek, olgularda tespit edilen pozitif yüzdelik verilerin oranları araştırmanın bulguları olarak aşağıda verilmiştir.

Tablo 4.1. Örneklem frekansları

		Frekans	Oran	Kümülatif oran
Geçerli	Kemik İliği	32	71.1	71.1
	Periferik Kan	13	28.9	100.0
	Total	45	100.0	

Tablo 4.1’de örnek frekansları gösterilmiştir. Buna göre 45 örneğin %71.1’, kemik iliği olurken, %28.9’u periferik kandır.

Tablo 4.2. Değişkenlerin normallik analizi

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		İstatistik	SD	p	İstatistik	SD	p
CD13	Kİ	0.168	32	0.022	0.862	32	0.001
	PK	0.283	13	0.005	0.725	13	0.001
CD14	Kİ	0.240	32	0.000	0.675	32	0.000
	PK	0.257	13	0.019	0.670	13	0.000
CD15	Kİ	0.226	32	0.000	0.768	32	0.000
	PK	0.215	13	0.101	0.862	13	0.041
CD33	Kİ	0.196	32	0.003	0.867	32	0.001
	PK	0.265	13	0.013	0.817	13	0.011
CD34	Kİ	0.250	32	0.000	0.783	32	0.000
	PK	0.280	13	0.006	0.750	13	0.002
CD38	Kİ	0.121	32	.200*	0.920	32	0.021
	PK	0.173	13	.200*	0.893	13	0.106
CD11B	Kİ	0.212	32	0.001	0.791	32	0.000
	PK	0.228	13	0.063	0.826	13	0.014
CD11C	Kİ	0.118	32	.200*	0.934	32	0.050
	PK	0.228	13	0.064	0.877	13	0.066

CD64	Kİ	0.159	32	0.038	0.867	32	0.001
	PK	0.231	13	0.056	0.756	13	0.002
CD68	Kİ	0.191	31	0.005	0.918	31	0.020
	PK	0.126	13	.200*	0.961	13	0.763
CD117	Kİ	0.231	32	0,000	0.839	32	0.000
	PK	0.186	13	.200*	0.896	13	0.119
HLADR	Kİ	0.223	32	0.000	0.830	32	0.000
	PK	0.291	13	0.004	0.790	13	0.005
MPO	Kİ	0.234	32	0.000	0.821	32	0.000
	PK	0.427	13	0.000	0.407	13	0.000

Yüzey antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan alt gruplarındaki dağılımı gösterilmiştir. Buna göre, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenleri kemik iliği ve periferik kan alt grup dağılımları ile normal dağılım arasında fark bulunmuştur, $p < .05$. Hipotez kıyaslamalarında parametrik olmayan yöntemler tercih edilmiştir.

Tablo 4.3. Hücre yüzey antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan örneklerinde kıyaslanması

		N	Ortalama Sıra	Sıra Toplamı	Z	p
CD13	Kİ	32	20.83	666.50	-1.741	0.082
	PK	13	28.35	368.50		
	Total	45				
CD14	Kİ	32	23.81	762.00	-0.651	0.051
	PK	13	21.00	273.00		
	Total	45				
CD15	Kİ	32	23.98	767.50	-0.789	0.430
	PK	13	20.58	267.50		
	Total	45				
CD33	Kİ	32	21.78	697.00	-0.977	0.329
	PK	13	26.00	338.00		
	Total	45				
CD34	Kİ	32	21.48	687.50	-1.215	0.225
	PK	13	26.73	347.50		
	Total	45				

CD38	Kİ	32	22.72	727.00		
	PK	13	23.69	308.00	-0.225	0.822
	Total	45				
CD11B	Kİ	32	23.52	752.50		
	PK	13	21.73	282.50	-0.413	0.679
	Total	45				
CD11C	Kİ	32	21.19	678.00		
	PK	13	27.46	357.00	-1.452	0.146
	Total	45				
CD64	Kİ	32	22.38	716.00		
	PK	13	24.54	319.00	-0.501	0.616
	Total	45				
CD68	Kİ	31	23.87	740.00		
	PK	13	19.23	250.00	-1.093	0.274
	Total	44				
CD117	Kİ	32	21.84	699.00		
	PK	13	25.85	336.00	-0.927	0.354
	Total	45				
HLADR	Kİ	32	21.28	681.00		
	PK	13	27.23	354.00	-1.377	0.168
	Total	45				
MPO	Kİ	32	20.72	663.00		
	PK	13	28.62	372.00	-1.828	0.067
	Total	45				

Yüzey antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan alt gruplarındaki kıyaslamaları gösterilmiştir. Buna göre, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan alt gruplarında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği bulunmuştur, $p > .05$.

Tablo 4.4. Myeloblast ve myeloid örnek frekanslarının kıyaslanması

	Frekans	Oran	Kümülatif oran
Myeloblast	22	48.9	48.9
Myeloid	23	51.1	100.0
Total	45	100.0	

Tablo 4.4’de örnek frekanları gösterilmiştir. Buna göre 45 örneğin %48.9’u myeloblast iken, %51.1’i myeloid’dir.

Tablo 4.5. Yüzey antijenlerinin myeloblast ve myeloid örneklerinde normallik analizi

KAPI		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		İstatistik	SD	P	İstatistik	SD	P
CD13	Myeloblast	0.208	22	0.014	0.800	22	0.000
	Myeloid	0.176	23	0.063	0.849	23	0.003
CD14	Myeloblast	0.205	22	0.017	0.820	22	0.001
	Myeloid	0.208	23	0.011	0.800	23	0.000
CD15	Myeloblast	0.173	22	0.085	0.866	22	0.007
	Myeloid	0.251	23	0.001	0.644	23	0.000
CD33	Myeloblast	0.232	22	0.003	0.795	22	0.000
	Myeloid	0.223	23	0.004	0.880	23	0.010
CD34	Myeloblast	0.262	22	0.000	0.800	22	0.001
	Myeloid	0.269	23	0.000	0.793	23	0.000
CD38	Myeloblast	0.157	22	0.166	0.902	22	0.032
	Myeloid	0.125	23	.200*	0.913	23	0.046
CD11B	Myeloblast	0.303	22	0.000	0.767	22	0.000
	Myeloid	0.261	23	0.000	0.650	23	0.000
CD11C	Myeloblast	0.173	22	0.087	0.901	22	0.031
	Myeloid	0.172	23	0.077	0.913	23	0.048
CD64	Myeloblast	0.155	22	0.181	0.903	22	0.035
	Myeloid	0.278	23	0.000	0.780	23	0.000
CD68	Myeloblast	0.096	21	.200*	0.951	21	0.353
	Myeloid	0.163	23	0.116	0.931	23	0.116
CD117	Myeloblast	0.233	22	0.003	0.860	22	0.005
	Myeloid	0.231	23	0.003	0.757	23	0.000
HLADR	Myeloblast	0.302	22	0.000	0.750	22	0.000
	Myeloid	0.289	23	0.000	0.795	23	0.000
MPO	Myeloblast	0.219	22	0.008	0.845	22	0.003
	Myeloid	0.304	23	0.000	0.575	23	0.000

Yüzey antijenlerinin myeloblast ve myeloid alt gruplarındaki dağılımı gösterilmiştir. Buna göre, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenleri kemik iliği ve periferik kan alt grup dağılımları ile normal dağılım arasında fark bulunmuştur, $p < .05$. Hipotez kıyaslamalarında parametrik olmayan yöntemler tercih edilmiştir.

Tablo 4.6. Hücre yüzey antijenlerinin myeloblast ve myeloid örneklerinde kıyaslaması

KAPI		N	Ortalama sıra	Sıra toplamı	Z	p
CD13	Myeloblast	22	23.64	520.00		
	Myeloid	23	22.39	515.00	-0.318	0.751
	Total	45				
CD14	Myeloblast	22	14.11	310.50		
	Myeloid	23	31.50	724.50	-4.441	0.000
	Total	45				
CD15	Myeloblast	22	13.18	290.00		
	Myeloid	23	32.39	745.00	-4.905	0.000
	Total	45				
CD33	Myeloblast	22	21.82	480.00		
	Myeloid	23	24.13	555.00	-0.590	0.555
	Total	45				
CD34	Myeloblast	22	32.36	712.00		
	Myeloid	23	14.04	323.00	-4.678	0.000
	Total	45				
CD38	Myeloblast	22	25.27	556.00		
	Myeloid	23	20.83	479.00	-1.135	0.256
	Total	45				
CD11B	Myeloblast	22	13.45	296.00		
	Myeloid	23	32.13	739.00	-4.769	0000
	Total	45				
CD11C	Myeloblast	22	17.45	384.00		
	Myeloid	23	28.30	651.00	-2.770	0.006
	Total	45				
CD64	Myeloblast	22	14.14	311.00		
	Myeloid	23	31.48	724.00	-4.428	0.000
	Total	45				

CD68	Myeloblast	21	18.69	392.50		
	Myeloid	23	25.98	597.50	-1.880	0.060
	Total	44				
CD117	Myeloblast	22	33.23	731.00		
	Myeloid	23	13.22	304.00	-5.109	0.000
	Total	45				
HLADR	Myeloblast	22	30.41	669.00		
	Myeloid	23	15.91	366.00	-3.701	0.000
	Total	45				
MPO	Myeloblast	22	17.27	380.00		
	Myeloid	23	28.48	655.00	-2.862	0.004
	Total	45				

Yüzey antijenlerinin myeloid ve myeloblast alt gruplarındaki kıyaslamaları gösterilmiştir. Buna göre, CD14, CD15, CD34, CD11B, CD11C, CD64, CD117, HLADR ve MPO antijenlerinin myeloid ve myeloblast örneklerinde anlamlı bir biçimde farklılık gösterirken, $p < .05$, CD13, CD33, CD38 ve CD68 myeloblast ve myeloid grupları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir, $p > .05$.

5. TARTIŞMA

Yapılan araştırmada 45 örneğın %71.1', kemik iliğı olurken, %28.9'u periferik kan olduğı tespit edilmiştir.

Yüzey antijenlerinin kemik iliğı ve periferik kan alt gruplarındaki dağılımı gösterilmiştir. Buna göre; CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenleri kemik iliğı ve periferik kan alt grup dağılımları ile normal dağılım arasında fark bulunmuştur. Hipotez kıyaslamalarında parametrik olmayan yöntemler tercih edilmiştir (Tablo 4.2). Baer ve diğeri (57) çalışmalarında 40 hastanın 34'ü (%85) en az bir belirteçte (n=10) değışiklik (antijen kazanımı ve/veya kaybı) göstermiş, diğeri hastalarda 2 (n=7), 3 (n=6), 4 (n=6), 5 (n=4) veya 6 (n=1) antijende antijen değışiklikleri gözlenmiş, toplam 18 antijenin 16'sında (%88.9) antijen değışikliğı saptanmış, AML'de nükste CD34, CD33, CD2 ve CD7 ekspresyonunda artış ve CD13, CD14 ve CD15 ekspresyonunda azalma gözlenmiştir. Bununla birlikte, Langebrake ve diğeri (58) çalışmasında 48 AML hastası arasında CD7, CD10, CD13, CD15, CD19, CD33, CD34, CD56, CD117 ve HLADR gibi tek antijen ekspresyonunun sıklığında, tanı anında ve nüks sırasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır. Bu çalışmalar bizim araştırmamızı destekler niteliktedir.

Yüzey antijenlerinin kemik iliğı ve periferik kan alt gruplarındaki kıyaslamaları gösterilmiştir. Buna göre, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenlerinin kemik iliğı ve periferik kan alt gruplarında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediğı bulunmuştur (Tablo 4.3). Loken ve diğeri (59) çalışmasından da bizim çalışmamıza benzer bulgular elde edilmiştir. Bu çalışmaya göre, AML hastaları arasında CD7, CD10, CD13, CD14, CD15, CD19, CD33, CD34, CD56, CD117 ve HLADR ve MPO antijenlerinin ekspresyonunun sıklığında, tanı anında ve nüks sırasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Örnek frekanslara göre 45 örneğın %48.9'u myeloblast iken, %51.1'i myeloid olduğı tespit edilmiştir (Tablo 4.4). Yüzey antijenlerinin myeloblast ve myeloid alt gruplarındaki dağılımı gösterilmiştir. Buna göre, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenleri kemik iliğı ve periferik kan alt grup dağılımları ile normal dağılım arasında fark bulunmuştur (Tablo 4.5). Campana (60) araştırmasında Myeloid farklılaşmanın daha matür

dönemlerine ait antijenleri (CD15, CD11b ve CD16) eksprese etmediklerini, blastların en az %3'ünün MPO eksprese ettiğini açıklamıştır.

Yüzey antijenlerinin myeloid ve myeloblast alt gruplarındaki kıyaslamaları gösterilmiştir. Buna göre, CD14, CD15, CD34, CD11B, CD11C, CD64, CD117, HLADR ve MPO antijenlerinin myeloid ve myeloblast örneklerinde anlamlı bir biçimde farklılık gösterirken, $p<0.05$, CD13, CD33, CD38 ve CD68 myeloblast ve myeloid grupları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir (Tablo 4.6). Bu bilgiler ışığında çalışma dizaynı gereği yapılan AML alt grupları literatürdeki epidemiyolojik verilerle karşılaştırma yapmayı mümkün kılmamaktadır. İçerdiği çok sayıda morfolojik ve sitogenetik alt tipler gereği AML olmayan lösemilerde, diğer gruplara nazaran belirgin ölçüde fazla sayıda hasta bulunmaktadır. Çalışma kısıtlılıklarından biri olarak bu durum istatistiksel olarak anlamlı olabilecek değerlendirmelerin ortaya konamamasına ve farklı AML alt tiplerinin özelliklerini karşılaştırmayı zorlaştırmaya neden olabilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

Yapılan araştırma sonucunda 45 örneğin %71.1', kemik iliği olurken, %28.9'u periferik kan olduğu tespit edilmiştir.

Yüzey antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan alt gruplarındaki dağılıma göre, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenleri kemik iliği ve periferik kan alt grup dağılımları ile normal dağılım arasında fark bulunmuştur.

Yüzey antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan alt gruplarındaki kıyaslamalara göre, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenlerinin kemik iliği ve periferik kan alt gruplarında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir.

Örnek frekanslara göre 45 örneğin %48.9'u myeloblast iken, %51.1'i myeloid olduğu tespit edilmiştir. Buna göre, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD38, CD11B, CD11C, CD64, CD68, CD117, HLADR ve MPO antijenleri kemik iliği ve periferik kan alt grup dağılımları ile normal dağılım arasında fark bulunmuştur.

Yüzey antijenlerinin myeloid ve myeloblast alt gruplarındaki kıyaslamalarına göre, CD14, CD15, CD34, CD11B, CD11C, CD64, CD117, HLADR ve MPO antijenlerinin myeloid ve myeloblast örneklerinde anlamlı bir biçimde farklılık gösterirken, CD13, CD33, CD38 ve CD68 myeloblast ve myeloid grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

6.2. Öneriler

- Tedavi başında AML vakalarının risk grubu moleküler ve sitogenetik tetkiklerle iyi belirlemeli, bu doğrultuda hastalara uygun yoğun konsolidasyon, indüksiyon tedavileri verilmelidir.
- Tüm bu bilgiler ışığında tedaviye yön verirken hastaların yaşı ve performans durumları dikkate alınmalı tüm kararlarımız hasta odaklı olmalıdır.
- Bu çalışmanın bulgularını doğrulamak için prospektif randomize çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics. *CA Cancer J. Clin* 2020, 70 (1): 7–30.
2. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. The 2016 revision to the world health organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016, 127 (20): 2391–405.
3. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Dombret H, Ebert BL, Fenau P, Larson RA, Levine RL, Lo-Coco F, Naoe T, Niederwieser D, Ossenkoppele GJ, Sanz M, Sierra J, Tallman MS, Tien HF, Wei AH, Bloomfield CD. Diagnosis and management of AML in adults: ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017, 129(4): 424–47.
4. Byrd JC, Mrózek 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. 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 (13): 4325–36.
5. 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 (5): 1312–20.
6. Jabbour EJ, Faderl S, Kantarjian HM. Adult acute lymphoblastic leukemia. *Mayo Clin Proc* 2005, 80(11): 1517-27.
7. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976, 33(4): 451-8.

8. Uyanık MŞ, Baysal M, Asoğlu V, Maden M, Ümit EG, Gülsüm Emel PAMUK, Burhan TURGUT, Ceyhun VARIM, Ahmet Muzaffer DEMİR. Akış Sitometrisi Verilerinin Geriye Dönük Taranması: Tek merkez deneyimi *Ortadoğu Medical Journal* 2015, 7 (3): 136- 9.
9. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, Marcos-Gragera R, Maynadié M, Simonetti A, Lutz JM, Berrino F, HAEMACARE Working Group. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010, 116(19): 3724–34.
10. Gordon-Dseagu VL, Devesa SS, Goggins M, Stolzenberg-Solomon R. Pancreatic cancer incidence trends: evidence from the Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) population-based data. *Int J Epidemiol* 2018, 47(2): 427-39
11. Cassaday RD. Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) in Adults, New treatments may have been approved since this book was printed. Check (2020) www.LLS.org/DrugUpdates or call,(800): 955-72. Son Erişim Tarihi:18.05.2022
12. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2015, 373(12): 1136–52.
13. DingL, Ley TJ, Larson DE, Miller CA, Koboldt DC, Welch JS, Ritchey JK, Young MA, Lamprech T, McLellan MD, McMichael JF, Wallis JW, Lu C, Shen D, Harris CC, Dooling DJ, Fulton RS, Fulton LL, Chen K, Schmidt H, DiPersio JF. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. *Nature* 2012, 481(7382): 506–10.
14. Liesveld JL, Lichtman MA, Beutler E, Kaushansky K, Kipps TJ, Seligsohn U, Prchal J, editor. *Williams Hematolog*, 7th ed. USA: Mac Graw Hill; 2006: 1183-210.
15. Aquino VM, Acute myelogenous leukemia. *Curr. ProblPediatr Adolesc Health Care* 2002, 32: 50–8.
16. Pogoda JM, Preston-Martin S, Nichols PW, Ross RK. Smoking and risk of acute myeloid leukemia: results from a Los Angeles County case-control study. *Am J Epidemiol* 2002, 155(6): 546–53.

17. Crane MM, Strom SS, Halabi S, Berman EL, Fueger JJ, Spitz MR, Keating MJ. Correlation between selected environmental exposures and karyotype in acute myelocytic leukemia. *Cancer. Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996, 5: 639–44.
18. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M. SEER Cancer Statistics Review, 2015–2020. Bethesda, MD: *National Cancer Institute*, 2021.
19. Matasar MJ, Ritchie EK, Considine N, Magai C, Neugut AI. Incidence rates of acute promyelocytic leukemia among Hispanics, blacks, Asians, and non-Hispanic whites in the United States. *Eur J Cancer Prev* 2006, 15(4): 367–70.
20. Linabery AM, Ross JA. Trends in childhood cancer incidence in the U.S. (1992–2004). *Cancer* 2008, 112(2): 416–32.
21. National Cancer Institute. *Adult acute myeloid Leukemia*. MedNews (Internet) Erisim 7.9.2006, <http://www.meb.uni-bonn.de/cancer.gov/> Son Erişim Tarihi: 15.05.2022
22. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, Harris NL, Le Beau MM, Hellström-Lindberg E, Tefferi A, Bloomfield CD. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009, 114(5): 937-51.
23. Salkar AB, Patrikar A, Bothale K, Malore S, Salkar A, Modani S. Clinicohematological evaluation of leukemias in a tertiary care hospital. *IOSR-JDMS* 2014, 13(12): 126-34.
24. Sanz MA, Montesinos P, Rayón C, Holowiecka A, De La Serna J, Milone G, Lowenberg B. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia based on all-trans retinoic acid and anthracycline with addition of cytarabine in consolidation therapy for high-risk patients: further improvements in treatment outcome. *Blood, Journal of Hematology & Oncology* 2010, 115(25): 5137-46.
25. Sultan S, Zaheer HA, Irfan SM, Ashar S. Acute Myeloid Leukemia: Clinical Spectrum of 125 Patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016, 17(1): 369-72.

26. Wakui M, Kuriyama K, Miyazaki Y, Hata T, Taniwaki M, Ohtake S, Sakamaki H, Miyawaki S, Naoe T, Ohno R, Tomonaga M. Diagnosis of acute myeloid leukemia according to the WHO classification in the Japan Adult Leukemia Study Group AML-97 protocol. *Int J Hematol* 2008, 87(2): 144-51.
27. Boggs DR, Wintrobe MM, Cartwright GE. The acute leukemias. Analysis of 322 cases and review of the literature. *Medicine* 1962, 41: 163-79.
28. Woodcock BE, Cooper PC, Brown PR, Pickering C, Winfield DA, Preston FE. The platelet defect in acute myeloid leukaemia. *J Clin Pathol* 1984, 37(12): 1339-42.
29. Suda T, Onai T, Maekawa T. Studies on abnormal polymorphonuclear neutrophils in acute myelogenous leukemia: clinical significance and changes after chemotherapy. *Am J Hematol* 1983, 15(1): 45-56
30. Glick AD, Paniker K, Flexner JM, Graber SE, Collins RD. Acute leukemia of adults. Ultrastructural, cytochemical and histologic observations in 100 cases. *Am J Pathol* 1980, 73(4): 459-65.
31. Alcalai R, Ben-Yehuda D, Ronen I, Paltiel O. Ethnicity and prognosis in acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* 2003, 72(2): 127-34.
32. Naoe T, Kiyoi H. Gene mutations of acute myeloid leukemia in the genome era. *Int J Hematol* 2013, 97(2): 165-74.
33. Green CL, Evans CM, Zhao L, Hills RK, Burnett AK, Linch DC, Gale RE. The prognostic significance of IDH2 mutations in AML depends on the location of the mutation. *Blood* 2011, 118(2): 409-12.
34. Shen Y, Zhu YM, Fan X, Shi JY, Wang QR, Yan XJ, Gu ZH, Wang YY, Chen B, Jiang CL, Yan H, Chen FF, Chen HM, Chen Z, Jin J, Chen SJ. Gene mutation patterns and their prognostic impact in a cohort of 1185 patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2011, 118(20): 5593-603.

35. Renneville A, Boissel N, Nibourel O, Berthon C, Helevaut N, Gardin C, Cayuela JM, Hay-ette S, Reman O, Contentin N, Bordessoule D, Pautas C, Botton S, Revel T, Terre C, Fenaux P, Thomas X, Castaigne S, Dombret H, Preudhomme C. Prognostic significance of DNA methyltransferase 3A mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association. *Leukemia* 2012, 26(6): 1247–54.
36. Giles F, O'Brien S, Cortes J, Verstovsek S, NBueso-Ramos C, Shan J, Pierce S, Garcia-Manero G, Keating M, Kantarjian H. Outcome of patients with acute myelogenous leukemia after second salvage therapy. *Cancer* 2005, 104(3): 547–54.
37. Dutcher JP, Schiffer CA, Wiernik PH. Hyperleukocytosis in adult acute nonlymphocytic leukemia: impact on remission rate and duration, and survival. *J Clin Oncol* 1987, 5(9): 1364-72.
38. Haferlach T, Schoch C, Löffler H, Gassmann W, Kern W, Schnittger S, Fonatsch C, Ludwig WD, Wuchter C, Schlegelberger B, Staib P, Reichle A, Kubica U, Eimermacher H, Balleisen L, Grüneisen A, Haase D, Aul C, Karow J, Lengfelder E, Hiddemann W. Morphologic dysplasia in de novo acute myeloid leukemia (AML) is related to unfavorable cytogenetics but has no independent prognostic relevance under the conditions of intensive induction therapy: results of a multiparameter analysis from the German AML Cooperative Group studies. *J Clin Oncol* 2003, 21(2): 256-65.
39. Stevens RF, Hann IM, Wheatley K, Gray RG. Marked improvement in outcome with chemotherapy alone in pediatric acute myeloid leukemia: results of MRC AML10 trial. *B J Haematol* 1998, 101(1): 130-40.
40. Cammenga J. Gatekeeper pathways and cellular background in the pathogenesis and therapy of AML. *Leukemia* 2005, 19(10): 1719-28.
41. Dash A, Gilliland DG. Molecular genetics of acute myeloid leukemia. *Best pract Res. Clin Hematol* 2001, 14(1): 49-64.
42. Otto F, Lubbert M, Stock M. Upstream and downstream targets of RUNX proteins. *J Cell Biochem* 2003, 89(1): 9-18.

43. Huang G, Shigesada K, Ito K, Wee HJ, Yokomizo T, Ito Y. Dimerization with PEBP2 beta protects RUNX1/AML1 from ubiquitin-proteasome-mediated degradation. *EMBO J*. 2001, 20(4): 723-33.
44. Shigesada K, van de Sluis B, Liu PP. Mechanism of leukemogenesis by the inv(16) chimeric gene CBFβ/PEBP2B-MYH11. *Oncogene* 2004, 23(24): 4297-307.
45. Castilla LH, Perrat P, Martinez NJ, Landrette SF, Keys R, Oikemus S, Flanagan, J, Heilman S, Garrett L, Dutra A, Anderson S, Pihan GA, Wolff L, Liu PP. Identification of genes that synergize with Cbfb-MYH11 in the pathogenesis of acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, 101(14): 4924-9.
46. He LZ, Bhaumik M, Tribioli C, Rego EM, Ivins S, Zelent A, Pandolfi PP. Two critical hits for promyelositik leukemia. *Mol Cell* 2000, 6(5): 1131-41.
47. Quirke P, Dyson JE. Flow cytometry: Methodology and applications in pathology. *J Pathol* 1986, 149(2): 79-87.
48. Vindelov LL, Christensen IJ. Some methods and applications of flow cytometric DNA analysis in clinical and experimental oncology. *Eur J Haematol* 1989, 42: 69-76.
49. McKinnon KM. Flow Cytometry: An Overview. *Curr Protoc Immunol* 2018, 120: 511–21.
50. Rosai J. Special techniques in surgical pathology. In: Rosai J (ed). *Ackerman's Surgical Pathology*. Missouri Mosby 2006: 42-59.
51. Franco EL. Epidemiology of anogenital warts and cancer. *Obstet gynecol clin North Am* 1996, 23(3): 597–623.
52. Dalchau R, Kirkley J, Fabre JW. Monoclonal antibody to a human leukocyte-specific membrane glycoprotein probably homologous to the leukocyte-common (L-C) antigen of the rat. *Eur J Immunol* 1980, 10(10): 737–44.
53. Stefanová I, Hilgert I, Bazil V, Kristofová H, Horejsí V. Human leucocyte surface glycoprotein CDw44 and lymphocyte homing receptor are identical molecules. *Immunogenetics* 1989, 29(6): 402–4.
54. Jordan AR, Racine RR, Hennig MJ, Lokeshwar VB. The role of CD44 in disease pathophysiology and targeted treatment. *Front Immunol* 2015, 6: 1–14.

55. Thorne RF, Legg JW, Isacke CM. The role of the CD44 transmembrane and cytoplasmic domains in co-ordinating adhesive and signalling events. *J Cell Sci* 2004, 26(117): 373–80.
56. Dzwonek J, Wilczynski GM. CD44: molecular interactions, signaling and functions in the nervous system. *Front Cell Neurosci* 2015, 9: 175-84.
57. Baer MR, Stewart CC, Dodge RK, Leget G, Sulé N, Mrózek K, Schiffer CA, Powell BL, Kolitz JE, Moore JO, Stone RM, Davey FR, Carroll AJ, Larson R A, 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(11), 3574–80.
58. Langebrake C, Brinkmann I, Teigler-Schlegel A, Creutzig U, Griesinger F, Puhlmann U, Reinhardt D. Immunophenotypic differences between diagnosis and relapse in childhood AML: Implications for MRD monitoring. *Cytometry B Clin Cytom* 2005, 63(1): 1-9.
59. Loken MR, Alonzo TA, Pardo L, Gerbing RB, Raimondi SC, Hirsch BA, Ho PA, Franklin J, Cooper TM, Gamis AS, Meshinchi S. Residual disease detected by multidimensional flow cytometry signifies high relapse risk in patients with de novo acute myeloid leukemia: a report from Children's Oncology Group. *Blood* 2012, 120(8): 1581-8.
60. Campana D. Determination of minimal residual disease in leukaemia patients. *Br J Haematol* 2003, 121(6): 823–38.

EKLER

EK 1. Özgeçmiş



EK 2. Çalışma İzin Belgesi



EK 3. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Karar Formu



