

# Akut Lösemilerin Sınıflandırılması

Doç. Dr. Osman İLHAN\*

Akut lösemilerde esas olay, blast olarak tanımlanan hematopoetik hücre prekürsörlerinin klonal bir şekilde çoğalmasdır. immatür blastlardaki morfolojik benzerliklere rağmen, son 10 yılda, farklı hücre serilerinde çoğalma olduğu anlaşılmıştır. Blastlardaki farklılaşmanın özellikleri, monoklonal antikolar yardımı ile hücreye spesifik antijenlerin ortaya konması ile gösterilebilir. Akut lösemilerin sınıflandırılmasında standart metodlar olan morfoloji, sitokimyasal boyama ve membran belirleyicileri kullanılmaktadır, immünolojideki büyük ilerlemeler, özellikle monoklonal antikordaki gelişmeler, akut lenfoblastik lösemnin (ALL) tanısı için objektif kriterler sağlamıştır. Akut megakaryoblastik lösemi-M7 gibi, AML'nin sınıflandırılmasında bazı monoklonal antikoların önemi, FAB (French-American-British) tarafından kabul edilmiştir. Çok yakın zamanda myeloid sitokimyası ve lenfoid belirleyicileri negatif olup myeloid antijenlerin belirlenmesi ile tanı konulan ve minimal diferansiyasyon gösteren AML-MO tanımlanmıştır.

## Morfoloji

Morfoloji, başlangıçta yapılması gereken bir araştırmadır ve sık olarak daha sonraki çalışmalara öncülük eder. Tecrübeli klinisyen, ALL ve AML arasındaki önemli farkları ve AML'nin yaygın formları olan M2, M3, M4, M5 ve M6'yı tanımlayabilmektedir. FAB'ın başlangıçtaki tanımlamaları ve daha sonraki gelişmeleri özellikle AML sınıflandırmasına geniş bir boyut getirmiş olup, bütün dünyada yaygın olarak kabul görmüştür (1-3) (Tablo 1).

## Sitokimya

Son 30 yıl içinde, granülosit ve monosit farklılaşmasını da gösterebilen, birçok sitokimyasal reaksiyon, ALL'den AML'yi ayırtetmede kullanılmaktadır (4). Myeloblastların (M1, M2) primer granülleri, myeloperoksidaz (MPO) ve aynı boyama özelliği gösteren Sudan

Black B reaksiyonu ile gösterilebilmektedir. Monositik seri hücreler M4, M5 ise non spesifik esteraz substratları olan alfa-naftil asetat veya butirat ve bu reaksiyonların sodyum florid ile inhibisyonu yöntemi ile tanımlanır. Non spesifik esteraz reaksiyonu M6 ve M7 de de gösterilmektedir (5). immünolojik sınıflandırmadaki ilerlemeye rağmen, klasik sitokimyasal testler, tanıda hala önemli rol alırlar.

## Hücre Belirleyicileri

Bunlar farklı hücre klonları için selektiviteye sahip monoklonal antikolar (McAb) ile tanımlanırlar (Tablo 2).

Bazı antijenlerin diferansiyasyonun erken aşamasında ilk olarak sitoplazmada görüldükleri bilinmektedir. Bu erken antijenler, T seri hücrelerinde CD3, B serisinde CD22 ve myeloid seride CD13 olup immünokim-

Tablo 1 AML sınıflandırılması (FAB'e göre)

Myeloblastik lösemi
M0— minimal diferansiye
M1— az diferansiye
M2— diferansiye
*M2 Bazo: Bazofilik farklılaşma gösteren
Promyelositik lösemi
M3— hipergranüler
M3v— hipogranüler varyant
Myelomonositik lösemi
MA— granülositik-monositik
M4eo—K1'de eozinofili ile beraber
Monositik lösemi
M5a— monoblastik
*M5a eritrofagositoz: t (8; 16) ve fibrinolizis ile beraber
M5b— monositik
M6— eritrolösemi
M7— megakaryoblastik
•Nadir görülen subtipler

\* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbni Sina Hastanesi  
Hematoloji BD, ANKARA

**Tablo 2.** immünolojik sınıflandırma

Monoklonal antikor*	B-ALL	T-ALL	AML
CD10	+	-	-
CD19	+	-	-
CD22"	4-_____		-
CD3"	_____+		-
CD5	_____+		-
CD7	_____+		-/+
CD13			+
CD33	-	-	+
aMPO"	-	-	+

\* CD: Clusters of differentiation

\*\* Sitoplazmik

**Tablo 3.** AML subtiplerinde myeloid belirleyiciler

MO	CD13.CD33, Anti-MPO
M1-M2 :	CD13.CD33, Anti-MPO
M5 :	CD14.CD68
M6 :	anti-glycophorin-A
M7	CD41, CD42, CD61

yasal metodlarla (immünperoksidaz veya alkalin fosfat-anti alkalin fosfat) tesbit edilmiş hücrelerde saptanabilir (6,7). Sıklıkla immatür blast hücreleri kapsayan sınıflandırma problemi nedeni ile doğru yaklaşım, tesbit edilmiş preparatlarda bir ya da daha fazla McAb'ların çalışılmasıdır.

Tablo 2'de gösterildiği gibi, B, T ve myeloid ana serilerin herbiri için spesifik 2 veya 3 belirleyicinin kullanımı akut lösemilerin sınıflandırılmasında önemli bir yardım sağlamaktadır. Morfolojisi ve negatif myeloid belirleyiciler ile tanısı şüpheli olan ALL olgularında lenfoid belirleyicinin varlığının gösterilmesi gerekmektedir. Yine bu durumda bütün ALL (hem B, hem T) ve AML'lerin küçük bir kısmında (%20) pozitif bulunan terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT), tanıda faydalı bir role sahip olabilmektedir.

Son bir kaç yıl içerisinde diğer bir büyük gelişmede myeloid seriye spesifik McAb'ların ortaya konması olmuştur. CD13, CD33 ve MPO'nun inaktif proenzim formu olan a zincirini belirleyen anti-MPO McAb'un kombine kullanımı AML olgularının %99'unun tanımlanmasını sağlamaktadır (8,9). Daha ilerisi için ise AML'nin spesifik subtiplerine ait (megakaryoblast ve eritroid seri hücreleri gibi) belirleyiciler, spektrumu geliştirmek sureti ile AML olgularının %100'ünde, McAb ile tanı konulabilmektedir (3), (Tablo 3).

Başta CD13 ve CD33 olmak üzere myeloid belirleyicilerin esas faydası AML MO'ın tanımlanmasındadır (10). AML'nin bu subtipinin tanısı için kriterler Tablo 4'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.** AML MO'ın tanı kriterleri

**L2'ye benzer morfoloji**  
**MPO ve Sudan Black B'nin negatif olması**  
**Lenfoid belirleyicilerin negatif olması**  
**CD13 ve/veya CD33'ün pozitif olması**  
**(Ayrıca CD11 b, CD15 ve anti-MPO+)**

AML olgularının %3'ünü oluşturan minimal diferansiyasyon gösteren MO'ın tanısı için gerekli kriterlerden olan CD13 ve CD33 negatif olabilmekte fakat elektron mikroskopi yardımı ile bu hücrelerde anti-MPO'nun pozitif olduğu tesbit edilebilmektedir (9).

### Bifenotipik Akut Lösemi

Monoklonal antikorların kullanımı, akut lösemilerin bazılarında, hücre serisine uygun olan belirleyicilere ilaveten beklenmeyen ve kendine özgü olmayan başka hücre serilerine ait antijenlerin bulunduğunu ortaya çıkarmıştır (11). Bu lösemi tipine akut "mixed-lineage" lösemi denmiştir (12-14). Fakat Catovsky ve arkadaşları bu akut lösemi tipi için bifenotipik lösemi ismini tercih etmektedirler. Buna sebep olarak da olguların çoğunda lenfoblastların ve myeloblastların beraber bulunmasından ziyade lenfoid ve myeloid belirleyicilerin aynı zamanda ve aynı hücrenin üstünde bulunmasını göstermektedirler (11).

Literatürde bifenotipik akut lösemi tanısında oldukça büyük karışıklık vardır. Buna sebep olanların başında belirleyicilerin her zaman tam bir belirleyici özellik gösterememesi ve McAb'nın Fc reseptörleri aracılığı ile spesifik olmayan bağlanmalarının bazen olmamasıdır. Bununla beraber özellikle yetişkin olgularda ve daha ziyade AML'de, atipik veya beklenmeyen belirleyiciler, ALL veya AML olarak sınıflandırılan vakalarda tesbit edilmektedir. Catovsky ve ark. McAb ile membran ve sitoplazmik antijenleri tesbit ettikleri 180 akut lösemi serisinde, beklenmeyen belirleyicileri, olguların 1/3'ün de göstermişlerdir (11). Daha detaylı incelendiğinde, büyük bir bölümünde bazen bir bazen de iki kendine özgü olmayan belirleyicileri tespit etmişlerdir. Ayrıca olguların %10'unu oluşturan grupta, beklenmeyen belirleyiciler daha fazla görülmektedir. Gerçek bifenotipik lösemi tanımlamak için bir skorlama sistemi önerilmektedir (Tablo 5) Buna göre;

**Tablo 5.** Akut bifenotipik lösemide skorlama sistemi;

Skor puanı	Hücre tipi		
	B	T	Myeloid
2	CD22*	CD3*	MPO
1	CD10	CD2	CD13
	CD19	CD5	CD33
0.5	TdT	TdT	CD 11 b/c
		CD7	CD14/5

\*: Sitoplazmik

Her bir hücre tipi için skor >2 olursa gerçek bifenotipik lösemiden bahsedilebilir. Yine aynı araştırmacılar, kendi serilerinde, doğru bifenotipik lösemilerde skoru ortalama 2.5 ve 5 arasında bulmuşlardır (11). CD2, AML'de en sık görülen T hücre belirleyicisi olup, tek belirleyici olarak (veya TdT ile) gösterildiğinde, hiç bir zaman TCR genlerinin fonksiyonel rearranmanı bir bağlantı göstermez (15,16). Son zamanlarda AML olgularında IgH ve TCR gen rearranmanı ile beklenmeyen belirleyici ilişkisi araştırılmaktadır. Elde edilen bilgilere göre skoru 2'den fazla olan bifenotip lösemi olgularında IgH ve/veya TCR gen rearranmanı daha fazladır. Ayrıca yine aynı araştırmacılar bu olgularda kromozomal translokasyonlarının daha fazla görüldüğünü ifade etmektedirler (11). Bifenotipik vakaların tanısı için kriterlerin sınırlandırılması, stem celi lösemilerinde birden fazla (multilineage) gen ekspresyonu ve kendine özgü klinik ve biyolojik özelliklere sahip, özel akut lösemili bir grubun ortaya çıkabilmesine yardımcı olabilecektir.

### Kromozom Translokasyonları

Akut löseminin objektif olarak sınıflandırılması için önemli bir gelişme de akut löseminin bazı tiplerinde [örneğin FAB subgruplarından L3, M2, M3 ve M5 veya immünofenotipik olarak erken B (null), preB ve B-ALL] random olmayan bazı kromozomal translokasyonların görülmesidir. Bu durum akut löseminin tanısı için MIC kombinasyonunun ortaya çıkmasına neden olmuştur (17,18). Burada M: Morfoloji, I: İmmünoloji, C: Sitogenetiği ifade etmektedir. Bu 3 parametrenin etkileşmesine gelince; gerçi hepsi bazı hastalık tanımı için katkıda bulunuyorlarsa da, bazen bazıları diğerlerine göre (akut löseminin hangi tipten olduğuna bağlı olarak) daha önem kazanmaktadır. Bazı AML tiplerinde tanım sadece karyotip ile yapılabilmektedir. Akut lösemilerin tanımında anahtar rolü oynayan kromozom translokasyonları Tablo 6'da gösterilmiştir.

Yukarıda verilen örneklerde yer alan ALL tipleri kromozom analizi yapılmadan sınıflandırılmazlar. Yine yukarıda bahsedilen iki AML subtipine tanı tahminen konabilir, fakat karyotipik analiz yapılmadan kesin tanı konamaz. Mevcut bilgiler, kromozom translokasyonu varlığı ile tanımlanmış olan bu ALL'lerin kendine özgü klinik ve prognostik özellikler olduğunu destek-

**Tablo 6.** Akut lösemilerde spesifik kromozom translokasyonları\*

Translokasyon	Lösemi tipi
t(1;19)	Pre B-ALL
t(4;11)	Null-ALL
t (9;22)	Ph+ALL
t (6;9)	Bazofilik AML
t (8; 16)	Eritrofagositoz ile seyreden AML-M5

\*Burada gösterilen karyotipler, lösemi tanımında esas olanlardır. Örneğin t (8;14) ile L3, T (8;21) ile M2; t (15;17) ile M3-M3v; t (9;11) ile M5a diğer bilinen translokasyonlar olup, bu lösemi subtipleri diğer teknik yöntemlerle çok iyi şekilde tanımlanmıştır.

temektedir. Her ne kadar pre-B ALL'nin teşhisi esas olarak immünolojik yöntemle konulabilirse de, t (1;19)'u olan vakaların daha kötü prognoza sahip oldukları görülmektedir.

Buna benzer olarak t (4;11) ve t (9;22)'li ALL'li hastalarda kötü prognoz mevcut olup, bu durum sadece yetişkinler için değil, çocuk hastalar için de geçerlidir. Bu nedenle bu hastalar kemik iliği transplantasyonu gibi daha radikal tedavi yöntemlerine göre tedavi edilirler (19,20).

Az sıklıkla görülen t(8;16); düşük oranda remisyona giren, kısa süreli yaşam ile seyreden, eritrofagositoz ve fibrinolitik ile karakterize AML M5 subtipinde görülmektedir (21).

Kromozom translokasyonunun önemi; sadece hastalık sınıflandırılmasında değil, bazı lösemilerin patogenezinde rolü olan genin kırılma bölgesinin belirlenmesindeki anahtar rolüdür. Retinoik asit reseptör (RAR-) alfa geninin tanımlanması ve all-trans retinoik asit alan hastalarda diferansiyasyon ve tedavi edici etkisi ile ilgisinin gösterilmesi ve t(15;17) ile karakterize M3 bu konuda verilebilecek en iyi örnektir (Tablo 7).

### SONUÇ

Klinik araştırmacılar, akut lösemi sınıflandırılmasında objektif bir takım kriterler kullanmalıdır. Bu kriterler hem üretken hem de klinik olarak anlamlı olmalıdır. Bazı açılardan sınıflandırma daha da komplike görülebilir (Tablo 8). Fakat bu durum, lösemi-

**Tablo 7.** AML M3 ve M3v özellikleri

Morfoloji
Kuvvetli SB-B ve MPO (+),
HLA DR (-) blastlar,
Hemorajik sendrom,
Düşük iökosit, genç yaş
t(15;17)(q22,q11-12)
RAR-alfa gen rearranmanı
All-trans retinoik aside yüksek oranda cevap/tam remisyon

**Tablo 8.** Akut löseminin sınıflandırılması

- Morfoloji ve sitokimya (FAB)
  - ALL; L1-L3
  - AML; Mo-M7
- Immün fenotip ile
  - B-ALL
  - T-ALL
  - AML
  - Bifenotik AL
- Kromozom translokasyonu
  - Ph (+) ALL
  - ALLt(4;11)
  - Pre B-ALL t(1; 19)
  - AMLt(6;9)
  - AMLt(8;16)

nin prognozu ve tedavi stratejisinin planlanmasında rol alan immünolojik, sitogenetik heterojeniteyi yansıtmaktadır. Tanıma göre sınıflandırma, değişim ve gelişmeye açık olmalıdır. DNA analizi için Southern blotting ve PCR gibi yeni tekniklerin gen problemleri ile kromozom kı-

rılma noktası araştırmalarına büyük bir faydası olacaktır.

Çalışmalarda, kimerik bcr-abl genlerinin ortaya çıkarılmasında çok duyarlı olan PCR tekniğinin yeni B-ALL'li hastalarda uygulanması önerilmektedir (22).

## KAYNAKLAR

- Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT et al. Proposals for the classification of acute leukemias. *Br J Haematol* 1977; 33:451-8.
- Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Criteria for the diagnosis of acute leukaemia of megakaryocyte lineage (M7). *Ann Intern Med* 1985; 103: 460-2.
- Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. *Ann Intern Med* 1985; 103:620-5.
- Flandrin G, Daniel MT, Crockard A. Cytochemistry in the classification of leukemias. In: Catovsky D, ed. *The leukemic cell*, Edinburg: Churchill Livingstone, 1991; 23-8.
- Pombo de Oliveira MS, Gregory C, Mutates E, et al. Cytochemical profile of megakaryoblastic leukemia. A study with cytochemical methods, monoclonal antibodies and ultrastructural cytochemistry. *J Clin Path* 1987; 40:663-9.
- Janossy G, Campana D. Monoclonal antibodies in the diagnosis of acute leukemia. In: Catovsky D, ed. *The leukemic cell*. Edinburg: Churchill Livingstone 1991; 168-95.
- Mason DY, Erber WN. Immunocytochemical labelling of leukemia samples with monoclonal antibodies by the APAAP procedure. In: Catovsky D, ed. *The leukemic cell*. Edinburg: Churchill Livingstone 1991; 196-214.
- Vander Schoot CE, Dimons GM, Pinkster J, et al. Monoclonal antibodies against myeloperoxidase are valuable immunological reagents for the diagnosis of acute myeloid leukemia. *Br J Haematol* 1990; 74:173-8.
- Buccheri V, Shetty V, Yoshida N, et al. The role of an anti-myeloperoxidase antibody in the diagnosis and classification of acute leukemia. A comparison with light and electron microscopy cytochemistry. *Br J Haematol* 1992; 80:62-9.
- Bennet JM, Catovsky D, Daniell MT. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukemia (AML-MO). *Br J Haematol* 1991; 78:325-9.
- Catovsky D, Matutes E, Buccheri V, et al. A classification of acute leukemia for the 1990's. *Ann Haematol* 1991; 62:16-21.
- Greves MF, Chan LC, Furley AJW, et al. Lineage promiscuity in hemopoietic differentiation and leukemia. *Blood* 1986; 67:1-11.
- Smith CT, Curtis YE, Messner HA, et al. Lineage infidelity in acute leukemia. *Blood*, 1983; 61:1138-43.
- Mirro J, Zipt TF, Pui CH, et al. Acute mixed lineage leukemia clinico pathologic correlations and prognostic significance. *Blood* 1985; 66:1113-8.
- Ball ED, Davis RB, Criffin JD, et al. Prognostic value of lymphocyte surface markers in acute myeloid leukemia. *Blood* 1991; 77:2242-51.
- Kantarjian HM, Hirsch-Ginsberg C, Yee G, et al. Mixed lineage leukemia revisited: acute lymphocyte leukemia with myeloperoxidase positive blast by electron microscopy. *Blood* 1990; 76:808-13.
- First MIC, Cooperative study group. Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIV) working classification of acute lymphoblastic leukemias. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 23:189-97.
- Second MIC. Cooperative study group. Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of acute leukemias. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 30:1 -15.
- Pui CH, Frankel LS, Carol AJ, et al. Clinical characteristic and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with the t(4;11) (q21;q23) a collaborative study of 40 cases. *Blood* 1991; 77:440-8.
- Fletcher JA, Lynch EA, Kimbal VW, et al. Translocation (9;22) is associated with extremely poor prognosis in intensively treated children with ALL. *Blood* 1991; 77:435-9.
- Catovsky D, and Matutes E. The classification of acute leukemia. *Leukemias European School of Oncology, Milano: Proceeding book*, 30:March 1992; 1-16.
- Maurer J, Janssen JWG, Theil E, et al. Detection of chimeric BCR-ABL gamma in acute lymphoblastic leukemia by polymerase chain membran. *Lancet* 1991; 337:1055-8.