

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
PEDIATRİK HEMATOLOJİ BİLİM DALI

**ÇOCUKLUK ÇAĞI AKUT LÖSEMİLERİNDE
AKIŞ HÜCREMETRESİ İLE DNA MİKTARI
TAYİNİ VE SENTEZ FAZ FRAKSİYONUNUN (SPF)
PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Yurdanur KILINÇ

99322

PEDIATRİK HEMATOLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. Türkan PATIROĞLU
KAYSERİ-2000

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
Morfolojik ve sitokimyasal sınıflama	3
İmmünofenotipik sınıflama	8
ALL ve AML klinik bulgular, tanı ve tedavi	13
Akut lösemilerde prognostik risk faktörleri	20
Hücre siklusu	26
MATERYEL VE METOD	32
BULGULAR	37
TARTIŞMA	48
SONUÇLAR	56
ÖZET	58
SUMMARY	60
KAYNAKLAR	62
EK TABLO	71

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo I. ALL ve AML ayırımında morfolojik, sitokimyasal ve biyokimyasal özellikler	5
Tablo II. FAB'a göre ALL sınıflaması	5
Tablo III. FAB'a göre AML sınıflaması	7
Tablo IV. AML'de immünofenotipik analiz	12
Tablo V. Çocukluk çağı ALL'de ayırıcı tanı	15
Tablo VI. Düşük riskli ALL için etkili tedavi	16
Tablo VII. AML'de kromozom anomalileri	19
Tablo VIII. ALL'de risk grubu çalışması (Çocuk Kanser Çalışma Grubu)	21
Tablo IX. ALL'de risk grubu çalışması (Pediatrik Onkoloji Grubu)	22
Tablo X. ALL'li çocuklarda risk faktörleri	23
Tablo XI. AML'de kötü prognoz kriterleri	26
Tablo XII. Lösemili olguların sınıflandırılması	37
Tablo XIII. Lösemili olguların ortalama yaş ve cinsiyet durumları	38
Tablo XIV. ALL'li olguların Dİ ve SPF değerleri	39
Tablo XV. AML'li olguların Dİ ve SPF değerleri	39
Tablo XVI. ALL'li olgularda anöploid	40
Tablo XVII. AML'li olgularda anöploid	42
Tablo XVIII. ALL'li olgularda sentez fazı fraksiyonu	43
Tablo XIX. AML'li olgularda sentez fazı fraksiyonu	44
Tablo XX. ALL'li olgularda yaş, lökosit sayısı ve anöploid	45
Tablo XXI. AML'li olgularda yaş, lökosit sayısı ve anöploid	45
Tablo XXII. Ölen olguların ploidi durumu	46
Tablo XXIII. Ölen olguların SPF değerleri	47
Ek Tablo Olguların klinik ve hematolojik bulguları	71

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. B hücre dizininde antijen ekspresyonu ve gen düzenlenmesinin şeması	9
Şekil 2. T hücre dizininde antijen ekspresyonu ve gen düzenlenmesinin şeması	11
Şekil 3. Lösemili olguların sınıflaması	37
Şekil 4. Lösemili olguların yaş dağılımı	38
Şekil 5. Lösemili olguların cinsiyet dağılımı	38
Şekil 6. ALL'li olgularda anöploidi	40
Şekil 7. Diploid DNA histogram örneği	40
Şekil 8. Hiperdiploid DNA histogram örneği	41
Şekil 9. Hipodiploid DNA histogram örneği	41
Şekil 10. AML'li olgularda anöploidi	42
Şekil 11. ALL'li olgularda SPF değerleri	43
Şekil 12. AML'li olgularda SPF değerleri	44
Şekil 13. Ölen olguların ALL ve AML'ye göre dağılımı	45
Şekil 14. Ölen AML ve ALL'li olguların ploidi durumları	46
Şekil 15. Ölen ALL'li ve AML'li olguların SPF değerleri	47

RESİM LİSTESİ

	Sayfa No
Resim 1. ALL; L1, L2 ve L3	6
Resim 2. AML; M1, M2, M3, M4, M5, M6 ve M7	6

KISALTMALAR

AH	Akış hücremetresi
ALL	Akut lenfoblastik lösemi
AML	Akut myeloblastik lösemi
AMML	Akut promyelositik lösemi
APL	Akut promyelositik lösemi
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CALLA	Common ALL antijen
CD	Cluster of differentiation
CV	Coefficient variation
Dİ	DNA indeksi
DNA	Deoksinükleik asit
FAB	French-American-British
HLA	Human lökosit antijen
HYS	Hastaliksız yaşam süresi
Ig	İmmünoglobulin
Kİ	Kemik iliği
KİT	Kemik iliği transplantasyonu
KML	Kronik myeloid lösemi
MDS	Myelodisplastik sendrom
MoAb	Monoklonal antikor
MPO	Myeloperoksidaz
mRNA	Messenger-RNA
My+	Myeloid+
PAS	Periodik asit-Schiff
Ph+	Philadelphia kromozomu
Pİ	Propidium iodid
SB	Sudan black
SPF	Sentez fazı fraksiyonu
SSS	Santral sinir sistemi
T-dT	Terminal deoksinükleotidil transferaz
ÜSYE	Üst solunum yolu enfeksiyonu

GİRİŞ VE AMAÇ

Çocukluk çağı kanserleri arasında en sık karşılaşılan hastalık akut lösemidir. Bu çağda görülen lösemilerin % 80'i ALL, % 15'i AML ve % 3-5'i de KML karakterindedir. Akut lösemiler immatür hematopoetik veya lenfoid öncül hücrelerin baskınlığı ile, kronik lösemiler ise matür kemik iliği elemanlarının artması ile karakterizedir. Doğumu takiben ilk dört haftalık sürede ortaya çıkan lösemi ise konjenital lösemi olarak bilinir.

Son yıllarda çocukluk çağı lösemileri tedavi edilebilir hastalıklar arasında yer almaktadır. ALL'li olgularda hastalıksız yaşam süresi (HYS) % 80'lere ulaşmıştır. Kemik iliği transplantasyonu (KİT) yapılan AML'li olgularda şans % 70 dolayında iken, KİT yapılamayan ve sadece kemoterapi ile tedavi edilen olgularda oran % 50'dir. Tedavinin başarılı olmasında en önemli etkenler, tanı konulduğu dönemde prognostik risk faktörlerinin iyi değerlendirilmesi ve tedavinin buna göre planlanmasıdır. Hastalığın prognozunu etkileyen faktörler ALL ve AML'de farklılık göstermekle beraber, başlangıç lökosit sayısı ve yaş her iki tip lösemide de önemlidir. Ayrıca,

ALL'de immünofenotipleme, sitogenetik bulgular, başlangıçta santral sinir sistemi tutulumunun olup olmaması ve ilk 1-2 haftalık dönemde tedaviye verilen cevap prognozu önemli ölçüde etkilemektedir. Son yıllarda lösemik blastların içerdiği DNA miktarının (ploidi) da prognozu etkileyen en önemli faktörlerden biri olduğu vurgulanmaktadır. Özellikle ALL'de hiperdiploidinin ($D1 > 1.16$) varlığı, prognozun iyi olacağına önemli göstergelerinden biri olarak kabul edilmektedir. AML'de ise ploidi çalışmaları daha az olmakla birlikte, hipodiploidinin ($D1 < 1.16$) varlığı prognozun daha kötü olacağına göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Sitogenetik çalışmaların teknik yönden zor ve pahalı olmasına karşın, akış hücremetresi (AH) ile ploidi çalışmaları hızlı, hassas ve kolaylıkla yapılabilmektedir. Buna dayanarak, biz de bu çalışmada akut lösemili 30 olguda AH ile DNA miktarı ve SPF'ni değerlendirerek prognozla ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Çocukluk çağı kanserlerinin % 35'ini lösemiler oluşturmakta olup akut, kronik ve konjenital olmak üzere üç farklı gruba ayrılmaktadır. Akut lösemilerde immatür, hematopoetik veya lenfoid öncül hücreler hakimiyet gösterirken kronik lösemilerde matür kemik iliği hücrelerinin hakimiyeti dikkati çekmektedir. Hayatın ilk dört haftası içerisinde görülen lösemiler ise konjenital olarak bilinir. Akut lösemilerin % 80'i lenfoblastik, % 15'i de myeloblastik formdadır. Geriye kalan % 3-5'i ise kesin olarak sınıflandırılmaz. Blastik hücrelerin karakterini belirlemek için morfoloji, sitokimyasal boyalar, immünolojik yüzey belirleyicileri, biyokimyasal sitoplazmik belirleyiciler ve kromozomal çalışmayı kapsayan çeşitli yöntemlerden yararlanılır (1-3) .

MORFOLOJİK VE SİTOKİMYASAL SINIFLAMA

Granülom, fibrozis veya tümör hücresi ile kemik iliğinin kaplanması veya enfeksiyon ve kanamaya cevap dışında normal periferik kanda blastik hücrelere rastlanmaz. Kemik iliğinde ise normal olarak çekirdekli hücrelerin ancak % 5'ten daha az bir kısmı blast karakterindedir (2).

Blastik hücreler primitif öncül hücrelerdir. Lenfoblastlar düz, homojen, çekirdek materyaline sahip, çekirdekcikleri belirsiz, açık mavi boyanan granülsüz sitoplazmaya sahip hücrelerdir. Lenfoblastların sitoplazmasında granül son derece nadirdir. Myeloblastlarda ise çekirdeğin sitoplazmaya oranı azalmış, daha ince çekirdek kromatin ağı ve daha belirgin çekirdekcikler bulunur. Myeloblastların sitoplazmasında granüller vardır ve eozinofilik boyanan Auer çubukcukları tanı koydurucudur. Fakat bazan küçük myeloblastlar ile lenfoblastlar karışabilir. Böyle bir durumda ayırım için sitokimyasal boyalar faydalıdır. ALL olgularının % 80'i sitoplazmik glikojeni boyayan PAS ile reaksiyon gösterir. Sitoplazmik granül enzimleri myeloperoksidaz ile, sitoplazmik lipidler ise Sudan black (SB) ile boyanırlar. Lenfoblastlar, bu boyalarla negatif boyanma gösterirken myeloblastik lösemide olguların % 75'inde hücreler myeloperoksidaz ile pozitif boyanırlar. Spesifik veya nonspesifik esteraz boyaları da, granüllerini ve Auer çubukcuklarını boyar. PAS, MPO, SB, nonspesifik esteraz ile boyanmayan ve morfolojik olarak lenfoid ya da myeloid ayırımı yapılamayan immatür hücreler indifferansiye kabul edilir (1-3) (Tablo I).

FAB'a göre ALL; L1 , L2, L3 olmak üzere üç tipe ayrılır. L1, en alışılmış tiptir ve bu tip ALL'de lenfoblastlar küçük olup, çekirdeğin sitoplazmaya oranı artmıştır. Hücreler soluk mavi sitoplazmalı ve çentiklidir. L2 lenfoblastlar, daha büyük ve daha heterojendir, çekirdeğin sitoplazmaya oranı azalmıştır. Bu hücrelerde sitoplazma, hücre yüzey alanının %20 veya daha fazlasını kaplar. Çekirdekcik belirgin ve membranı düzensizdir. L2 lenfoblastlar morfolojik olarak M1 miyeloblastlarla karışır ve ancak MPO boyası ile ayrılabilir. Bazı klinik çalışmalarda L2 morfolojinin L1'den daha kötü prognoz gösterdiği bilinmektedir. L3 lenfoblastlar, homojen bir hücre grubu olup, koyu bazofilik sitoplazmalı ve belirgin vakuolizasyona sahiptirler. L1 ve L2 morfolojisi ile pre-B hücresi farklılaşması ve immunofenotip arasında korelasyon olmadığı

halde, L3 lenfoblastlar immunofenotipik olarak matür B-hücrelerini yansıtır (4) (Tablo II) (Resim 1).

Morfolojik olarak "hand mirror" hücreler de ALL ve AML'de görülebilir, fakat prognostik önemi yoktur (1-3).

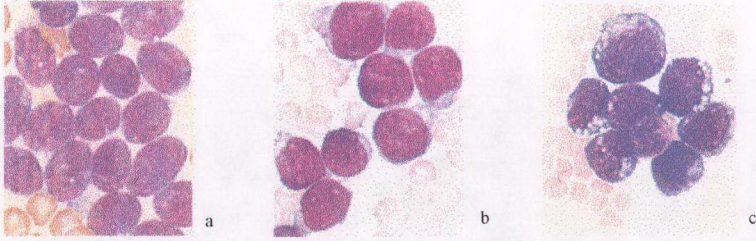
Tablo I. ALL ve AML ayırımında morfolojik, sitokimyasal ve biyokimyasal özellikler (1)

	ALL	AML
KARAKTERİSTİK		
Çekirdek/sitoplazma oranı	Yüksek	Düşük
Çekirdek kromatini	Kümelidir	Süngerimsi
Çekirdekcik	0 - 2	2 - 5
Granül	-	+
Auer çubukları	-	+/-
Sitoplazma	Mavi	Mavi-gri
SİTOKİMYASAL REAKSİYON		
Peroksidaz	-	+
Sudan Black B	-	+
Periodik-asid-Schiff	+/-	-
Nafitil ASD kloroasetat esteraz	-	+/-
a Nafitil asetat esteraz	-	+/-
a Nafitil bütirat esteraz	-	-
Terminal deoksiniükleotidil transferaz (TdT)	+	-

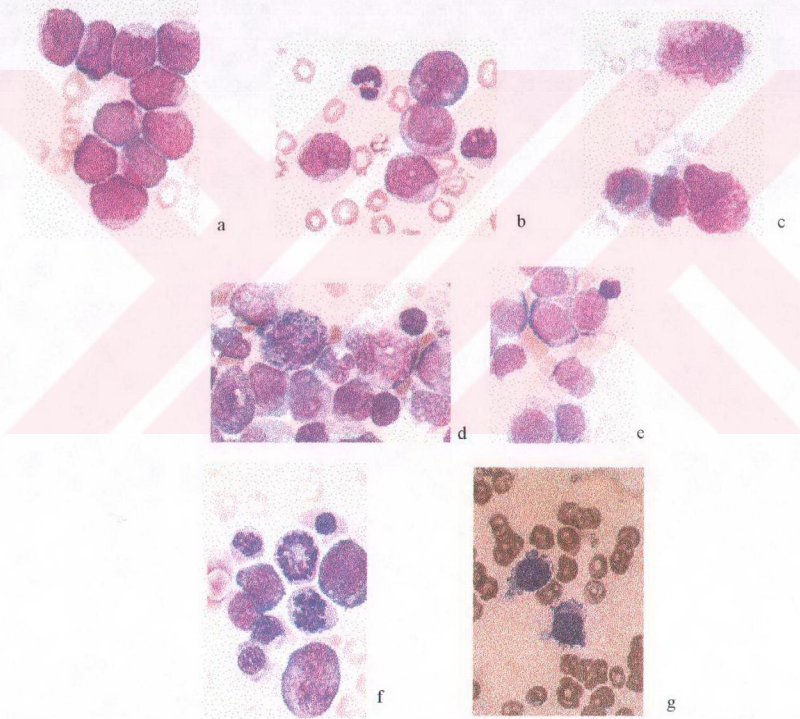
Tablo II. FAB' a göre ALL sınıflaması (1)

SİTOLOJİK BULGULAR	I1	I2	I3
Hücre büyüklüğü	Küçük hücreler hakimdir	Büyük, heterojen büyüklükte	Büyük ve homojen
Çekirdek kromatini	Homojen görünümde	Değişik ve heterojen	Küçük noktacıklı ve homojen
Çekirdek şekli	Düzenli, nadiren yankılı veya çentikli	İregüler, yankılı ve çentikli	Düzenli -oval veya yuvarlak
Çekirdekcik	Görülmez veya küçük ve belirsiz, daha veziküller	Bir veya daha çok sayıda, sıklıkla büyük	Belirgin, bir veya daha fazla
Sitoplazma miktarı	Dar	Değişik, sıklıkla orta genişlikte	Orta genişlikte
Sitoplazma bazofilisi	Hafif veya orta, nadiren şiddetli	Değişik, bazen koyu	Çok koyu
Sitoplazmik vaküol	Değişik	Değişik	Sıklıkla belirgin

FAB'a göre AML morfolojik olarak M1, M2, M3, M4, M5, M6 ve M7 olmak üzere 7 tipe ayrılır (Resim 2). Bu tiplerin özellikleri Tablo III'te gösterilmiştir (5,6).



Resim 1. ALL a) L1: küçük, çentikli sitoplazmalı yuvarlak hücreler. b) L2: Sitoplazma hacmi değişik hücreler. c) L3: Sitoplazmada küçük vakuoller ile birlikte koyu mavi boyanan hücreler (4).



Resim 2. AML a) M1: Büyük, irregüler, bir veya daha fazla çekirdek içeren hücreler, b) M2: M1'e benzeyen hücreler ama ara sıra Auer çubukçuğu içerir ve promiyelositler de olabilir, c) M3: Azurofilik granüller içeren promiyelositler, d) M4: Anormal myelomonostik hücreler ve bazofilik granüllü bir eozinofil, e) M5: Soluk sitoplazmalı hücreler veya sitoplazmik vakuol ve çekirdek çevresinde halo görünüm, f) M6: Eritroit hücrelerin gelişim evrelerindeki görünüm, g) M7: Megakaryoblastlar bazofilik sitoplazmalı büyük primitif hücrelerdir (4).

Tablo III. FAB' a göre AML sınıflaması (5)

FAB				2 Yaştan	2 Yaştan
Tipi	Adı	Tanı Kriterleri	Histokimya	Küçük Hastalar	Büyük Hastalar
M1	Akut myeloblastik lösemi, Matürasyonsuz	Noneritroid hücrelerin % 90'dan fazlası blast, hücrelerin % 10'u matür granülosit veya monosit	MP+	4 (% 17)	32 (% 25)
M2	Akut myeloblastik lösemi, Matürasyonlu	Noneritroid hücrelerin % 30-89'u blast, >% 10 matür granülositik hücre, < % 20 monositik hücre	MP+		34 (% 27)
M3	Akut promyelositik lösemi (hipergranüler tip)	> % 20 anormal hipergranüler Promyelosit, Auer çubukları bol	MP+		6 (% 5)
M3V	Akut promyelositik lösemi (mikrogranüler tip)	Promyelositte ince granüler sitoplazma, çekirdek reniform, Elektron mikroskopta multipl koyu primer granül	MP+		
M4	Akut myelomonositik lösemi	Noneritroid hücrelerde > % 30 blast, hücrelerin % 20-80'i monositik, kan monositleri litrede 5x10 milyardan çok, serum lizozim düzeyi yüksek veya desteklenen histokimya (NSE)	MP+ NSE+	7 (% 30)	33 (% 26)
M4Eo	Akut myelomonositik lösemi, eozinofili ile	Spesifik eozinofilik granül ve büyük bazofilik granüllü anormal eozinofiller	MP+ NSE+ Eos-PAS+		
M5	Akut monositik Lösemi	Noneritroid hücrelerin % 80'den fazlası monoblast, promonosit veya monosit M5a->% 80 monositik hücre, monoblast M5b-Monositik hücrelerin % 80'den azı monoblast	NSE+	12 (% 52)	20 (% 16)
M6	Eritrolösemi	Noneritroid hücrelerin % 30'dan Noneritroid hücrelerin % 30'dan	Eritroblast Platelet		3 (% 2)
M7	Akut megakaryositik lösemi	fazlası megakaryoblast, stoplazmik bleb, myelofibrozis	peroksidaz (+) (EM)	(%5-7)	

MP, myeloperoksidaz; NSE, nonspesifik esteraz; PAS, periyodik asit Schiff

İMMÜNOFENOTİPİK SINIFLAMA

Lösemilerin immünofenotipik olarak sınıflaması belirli bir dizinin antijenlerinin ekspresyonuna dayanır. Tek bir antijen, gerçekte dizine özgü değildir. B-hücreli ALL, CD 19 ve CD 20 eksprese eder, CD 22 ise önce sitoplazmada sonra membranda eksprese edilir. T-ALL'de ise sitoplazmik veya membranöz CD 3 ekspresyonu vardır (1-3,7).

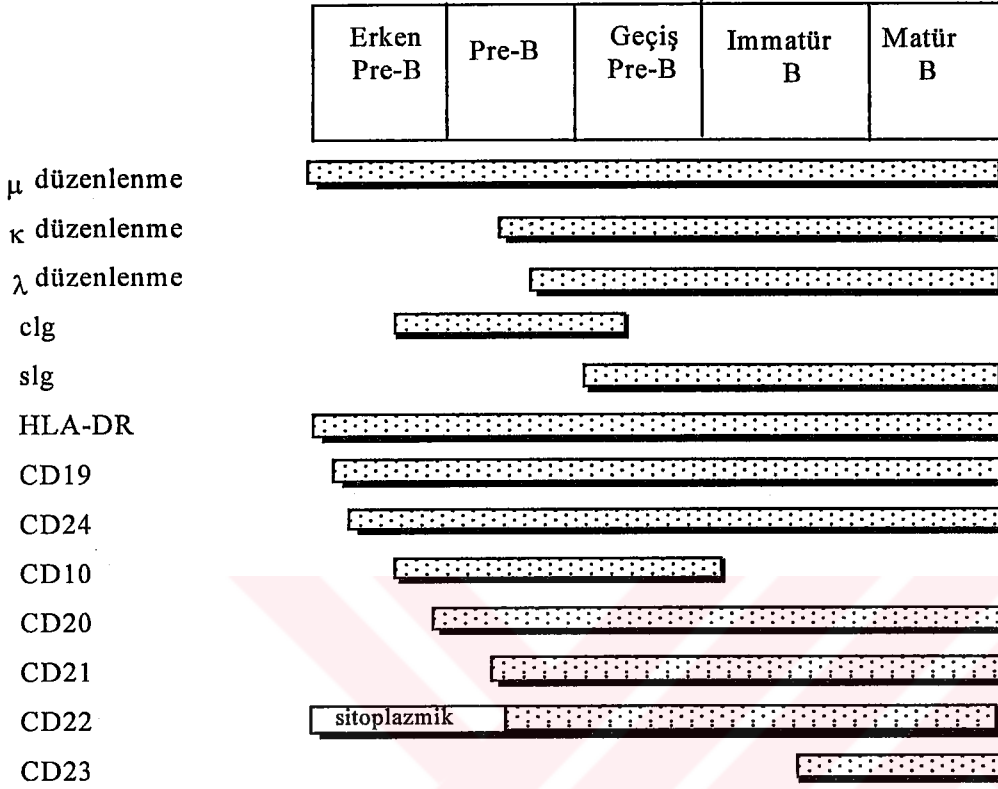
B-hücreli ALL

Matür B-hücreli ALL, çocukluk çağındaki olguların % 3-4'ünü oluşturur. B-hücreli blastlar yüzey immüoglobulinlerinin varlığı (özellikle olguların % 30 ve % 60'ında κ ve λ için monoklonal olan Ig M) ile karakterizedir. Hücreler genellikle CD 20, CD 19 ve HLA-DR gibi diğer B-hücre antijenlerini de eksprese eder (Şekil 1). Morfolojik olarak L3 tipi blastlarla karakterizedir. Nadiren L2 morfolojili blastlar da rapor edilmektedir. Bu olgular t (8:14), daha az olarak da t(2;8) ve t(8;22) gibi translokasyonlar gösterir. B-ALL klinik olarak kemik iliği tutulumu olan Burkitt lenfomadan ayrılamayabilir. B-hücreli blastlar yüksek proliferatif aktiviteye sahiptir ve tedaviye iyi cevap vermezler (1-3,7,8).

Pre-B-hücreli ALL

Lenfoblastlar, yüzeylerinde immüoglobulin eksprese eden B-hücrelerinden daha az matürdür ve olguların % 15'inde gözlenir. Bu olguların yaklaşık % 90'ı CD 10 eksprese eder ve L1 morfolojisine sahiptir. Pre-B-hücreli ALL olgularının % 25'inde t (1:19) görülür (1-3,8,9).

B - Hücre Dizini



Şekil 1. Normal B-hücre dizininde antijen ekspresyonu ve gen düzenlenmesinin şeması (8)

Erken pre-B-hücreli ALL

Çocukluk çağı ALL olgularının çoğunluğu sitoplazmik immünoglobulin sentezlemek için oldukça immatür olan B hücrelerinden oluşur. Bu hücreler CD 19, CD 10 ve CD 20 yüzey antijenlerini eksprese ederler. CD 10 (common ALL antijen) çoğu immatür B- hücreli lösemide bulunur. CD 10 bazen hematopoetik olmayan hücre yüzeylerinde de eksprese edilir. Bu antijen bir "membrana bağlı nötral endopeptidaz" olarak bilinir ve blastlarda normal enzimatik fonksiyona sahiptir. Hücre çoğalması ve farklılaşmasında CD 10'un rolü açık değildir. Sitoplazmik immünoglobulin olmadan CD 10 (CALLA) pozitif lösemi c-ALL olarak bilinir.

Tüm çocukluk çağı ALL olgularının yaklaşık % 60'ı bu tiptedir. Klinik ve biyolojik olarak bulguları heterojenite gösterdiği halde en iyi prognoza sahiptir (1-3,7-9).

Pre-pre B-hücreli ALL veya pre-B-hücreli ALL

ALL olgularının % 5'ini oluşturmaktadır. İnfant lösemisinin bir bulgusu olarak CD 10 ekspresiz fakat CD 19 veya CD 22 ekspresyonu vardır. Tedaviye kötü cevap verirler.

Çocukluk çağı B-hücre öncül ALL ve T-hücreli ALL'lerinin büyük bir kısmında CD 34 antijeni ekspresiz edilir ve bu durum iyi prognoza işaret eder (1-3,7-10).

T-hücreli ALL

Daha büyük yaşta erkek çocuklarda mediastinal kitle, yüksek lökosit sayısı, normal hemoglobin düzeyi ile karakterize bir lösemi tipidir. Bu olguların yaklaşık % 45'inde translokasyonlar vardır ve olgular daha kötü prognoza sahiptir. Lenfoblastlar CD7, CD5, CD2 veya CD3 ekspresiz ederler (Şekil 2).

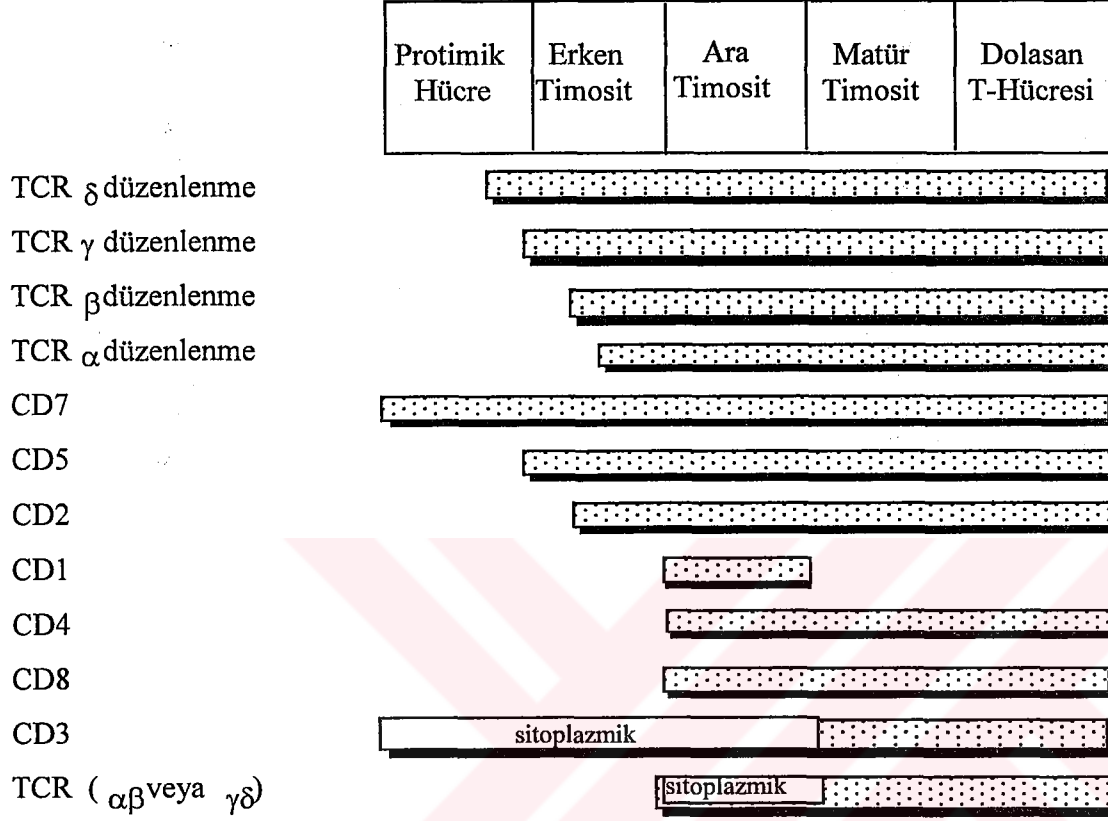
Bifenotipik lösemi

Bazan lösemik hücreler aynı anda hem lenfoid hem de myeloid antijenleri ekspresiz edebilirler.

Bu durum "mixed lineage" , bifenotipik veya hibrid lösemi olarak adlandırılır. B-hücreli ALL, bir veya daha fazla myeloid öncül antijen (% 4-20) ekspresiz edebilir.

My+ antijen ekspresiz eden blastlar, L2 morfolojili olarak sınıflandırılır. Bazı araştırmacılar My+ ALL'nin, CD 10 (-) erken pre-B-hücreli ALL'li çocuk ve bebekler arasında sık olduğunu vurgulamaktadır. Bu durum kötü prognozla birlikte. Morfolojik ve sitokimyasal olarak sınıflandırılmayan gerçek bifenotipik lösemiler iki ayrı blast topluluğuna ait antijenleri ekspresiz eder. Bifenotipik akut lösemilerin t (9:22) ile birlikteliği sık olup prognozu kötüdür (2).

T - Hücre Dizini



Şekil 2. T hücre dizininde antijen ekspresyonu ve gen düzenlenmesinin şeması (8).

Akut sınıflandırılmayan lösemi

Ne T, ne matür B-hücrelerini, ne de CD 10'u eksprese etmeyen myeloid olmayan lösemilere 1980'lerin başında "null cell ALL" denilirdi. Daha yoğun immünofenotipleme çalışmaları, bu hücrelerin bazılarında gösterilen sitoplazmik immünoglobulin ekspresyonu erken pre-B-hücreli veya pre-B-hücreli lösemi olarak değerlendirilmesine neden oldu. Yine de çocukluk çağı ALL'lerinin % 2'sinde blastların dizini belirlenemez. Bu lösemiler CD 34, CD 38, HLA-DR ve

Yazın...
T.C. Sağlık Bakanlığı
Genel Tıp Uzmanı
Dr. Mustafa Kemal
1988

CD 7 eksprese ederler. Bu hücreler çok immatür, dizin negatif hematopoetik progenitör hücrelerden oluşur (2,3).

AML'de hücre membran antijenleri

Mo Ab'lar, dizine ve evreye özgü lökosit farklılaşma antijenlerine karşı yönelir. ALL'ye karşı AML tanısını doğrulamada morfolojik ve sitokimyasal kriterlerle birlikte Mo Ab'lar faydalıdır.

AML olgularının % 90'ından fazlasında CD 33, CD 13, CD 15, CD 11b, CD 14 ve/veya CD 36 gibi antijenlerden en az birisi eksprese edilir. ALL olgularının % 5-15'inden daha azında da bu antijenlerin ekspresyonuna rastlanır. Fakat B ve T dizin ALL'yi kesinleştirmek için diğer monoklonal antikolar kullanılır. Önceleri sınıflandırılmayan lösemiler, lenfoid antijen negatifliği, monomyeloid antijen pozitifliği ile FAB'a göre M0 alt tipi olarak kabul edilir (3,5,6).

FAB M7 AML (megakaryositik), CD 61 gibi platelet glikoproteinlerini eksprese eder. FAB M6 eritrolösemi ise glikoforin membran antijenini eksprese eder (Tablo IV).

AML'de ALL'den daha fazla heterojenite vardır. İmmünofenotipleme ve FAB morfolojisi arasındaki korelasyon belirgin olmadığı halde monositik (FAB M4 ve M5), promyelositik FAB M3, sınıflandırılmayan (M0), eritroid (M6) ve megakaryositik (M7) alt tipleri ile özel immünofenotiplerin korelasyonu fazladır (3-6,11).

Tablo IV. AML'de immünofenotipik analiz (5)

CD	ANTİKOR	M1/M2	M3	M4/M5	M6	M7
CD 11b	anti-MO1		+	++		
CD 13	anti-MY7		+	++	+	+
CD 14	anti-MO2,MY4			++		
CD 15	anti-MY1, LeuM1	+	++	++		
CD 33	anti-MY9	++	+	++	++	++
CD 34	anti-MY10	++	+	++	+	+
	anti-glikoforin A				++	
CD 41	anti-gp11b/IIIa					++
CD 42	anti-gp1b					++

++, vakaların % 50'den fazlasında blastlarda % 20'den fazla sahm
+, vakaların % 20-50'sinde blastlarda % 20'den az sahm

ALL

Lösemilerin yıllık insidansı, 0-14 yaş arası çocuklarda, beyaz ırkta milyonda 43.7 iken, siyah ırkta milyonda 24.3'tür.

ALL kızlara oranla erkeklerde daha sıktır. Beş ay ve iki yaş arasındaki lösemilerin in utero orijinli olduğunu savunan çalışmalar vardır. Araştırmalar, hastalığın nedenini ortaya koymakta yetersizdir. B-hücreli lösemi olgularının bazısında patogeneizde EBV gösterilmiştir (2-3).

Çocukluk çağı ALL olgularının en az % 80'inde kromozomal anomaliler bulunur. Lösemik hücrelerin karyotipi tanı, prognoz ve tedavi açısından önemlidir. Ayrıca çocukluk çağı lösemileri, lösemik hücrenin kromozom sayısı (ploidi) ve translokasyon gibi yapısal kromozom düzenlenmesiyle de sınıflandırılır.

Diğer bir faydalı biyolojik belirteç B-progenitör hücre ve T-ALL'de var olan T-dT'dir. Çünkü bu enzim normal lenfositlerde bulunmaz. Bu nedenle tanıda lösemik hücreleri kimliklemek için faydalıdır. SSS relapsını aseptik menenjitten ayırmak için BOS'taki hücrelerde T-dT aktivitesi araştırılabilir (2,3).

Klinik bulgular

Çoğu olguda tanıdan 4 haftadan daha kısa sürede belirtiler kendini gösterir. İlk belirtiler iştahsızlık, huzursuzluk ve halsizliktir. Çoğu olguda ÜSYE öyküsü vardır. Kİ'nin ilerleyici tutulumu solukluk, kanama, peteşi ve ateşe yol açar. Başlangıçta çoğu olgu soluktur ve % 50'sinde peteşi ve mukozal kanamalar vardır. LAP genellikle belirgindir ve % 60 olguda splenomegali olduğu halde, hepatomegali daha az görülür. Olguların % 25'inde, Kİ kavitesinin lösemik genişlemesi veya perikondral kemik ve eklemin lösemik infiltrasyonuna bağlı olarak

kemik ağrısı ve artralji vardır. Nadiren meninkslerin lösemik infiltrasyonuna bağlı kafa içi basıncı artar, baş ağrısı ve kusma olur.

T-ALL'li çocuklar daha büyük yaşta ve genellikle erkektir. Ön mediastende kitle, bu tip lösemilerin belirlenen bulgularından biridir (2,3,12).

Tanı

Başlangıç muayenesinde çoğu olgu anemik olduğu halde, sadece % 25'inde Hb düzeyi 6 gr/dl'nin altındadır. Olguların çoğunda trombositopeni vardır, ancak % 25'inde platelet sayısı 100000/mm³'ün üzerindedir. Olguların yarısında lökosit sayısı 10000/mm³'ün altındadır, fakat % 20'sinde 50000/mm³'ün üzerindedir. Tanı periferik kan yaymasında blastların varlığı ile konur ve Kİ incelemesi ile doğrulanır. Bazan başlangıçta Kİ hiposellüler olabilir. Böyle durumlarda prelösemik sendromlarla birlikte spesifik anormalliklerin tesbiti için sitogenetik çalışmalar faydalıdır. Kİ yetersiz veya hiposellüler ise, Kİ biyopsisi yapılmalıdır.

Mediastinal kitle araştırması göğüs grafisi ile yapılır. Kemik grafisinde medüller trabekül, kortikal defektler, subepifizeal kemik rezorpsiyonu görülebilir.

SSS'nin erken tutulumunu göstermek için BOS incelemesi gerekir. Ürik asit düzeyi ve böbrek fonksiyon testleri ise tedavi öncesi yapılmalıdır (2,3).

Ayırıcı tanı

Aplastik anemi ve myelofibroze bağlı Kİ yetmezliği ile ayrılmalıdır. Enfeksiyöz mononükeozisten ayrılması önemlidir, çünkü klinik bulgular da benzer, periferik kan yayması atipik lenfositler yönünden iyi incelenmelidir. Şüpheli durumlarda Kİ incelemeleri normal hücre topluluğunu gösterir. Bazı olgularda ateş ve eklem ağrısı, romatoid artrit ile karışabilir. Matür lenfositöz, boğmaca sonrası veya belirgin lenfositöz ile de olabilir. Nöroblastom,

rabdomyosarkom, Ewing sarkomu ve retinoblastom gibi diğer malign hastalıklar ile KI infiltrasyonu olabilir ve bazan pansitopeni oluşturur (1,3) (Tablo V).

Tablo V. Çocukluk çağı ALL’de ayırıcı tanı (1)

Malign olmayan olaylar

- Jüvenil romatoid artrit
- İnfeksiyöz mononükleoz
- İdiopatik trombositopenik purpur
- Boğmaca
- Aplastik anemi
- Akut infeksiyöz lenfositoz

Maligniteler

- Nöroblastom
- Lenfoma
- Retinoblastom
- Rabdomyosarkom

Genel dışı görünüm

- Hipereozinofilik sendrom

Tedavi

Lökosit sayısı $100000/\text{mm}^3$ altında olan 1-10 yaş arasındaki ALL’li olgular başlangıç döneminde mediastinal kitle ve SSS tutulumu yoksa, B-hücreli değilse ve translokasyon taşııyorsa, düşük riskli olarak kabul edilir ve tedavi buna göre planlanır (3) (Tablo VI).

SSS profilaksisi almayan olguların % 50’sinden fazlasında relapsın başlangıç yeri SSS’dir. BOS’ta lösemik hücreler bulunmasa bile, tanıda meninkslerde bu hücreler vardır ve kan-beyin bariyerinin kötü ilaç penetrasyonundan dolayı, sistemik kemoterapi sonrası da yaşamaya devam ederler. SSS lösemisini önlemek için çoğu olguda kranial ışınlama yapılır, ama özellikle küçük çocuklarda nörofizyolojik etkilere yol açar. Bundan dolayı standart risk taşıyan çocuklarda SSS tutulumunu önlemek için intratekal tedaviler verilir.

Tablo VI . Düşük riskli ALL için etkili tedavi rejimi (3)

Remisyon indüksiyonu (4-6 hafta)

Vinkristin 1.5 mg/m² (maksimum 2 mg) iv/haftada

Prednizon 40 mg/m² (maksimum 60 mg) po/günde

Asparaginaz 10000/m²/gün iki haftalık im

İntratekal tedavi

Üçlü tedavi: Metotreksat

Hidrokortison

Siterabin

İndüksiyon sırasında hafta x 6 ve daha sonra 2 yıl için her sekiz haftada

Sistemik idame tedavisi

6-merkaptopurin 50 mg/m²/gün po

Metotreksat 20 mg/m²/hafta po, iv, im

Metotreksat pulse +/- 6-MP yüksek dozda verilir

Güçlendirme tedavisi

Vinkristin 1.5 mg/m² (maksimum 2 mg) iv/her dört haftada

Prednizon 40 mg/m²/gün po x her dört haftada 7 gün

T-ALL'li olgular standart risk rejimleri ile tedavi edilirse, 3-4 yıl içinde relaps gelişir. Daha yoğun, çoklu ilaç tedavisi ile uzun süreli remisyon sağlanabilir. T-hücre yüzey antijenlerine karşı geliştirilmiş Mo Ab'lar immünotoksinlerle konjuge edilebilir ve antikor-immünotoksin kompleksi T-lenfoblastları atake eder ve hücreyi öldürür.

L3 morfolojili B-hücreli olgular, kötü prognoza sahiptir. Bu olgular B-hücreli lenfoma için geliştirilmiş çok yoğun rejimlerle 3-6 ay gibi kısa sürede tedavi edilir. Bu yaklaşımla tam iyileşme oranı % 20'den % 70'e yükselmiştir (1-3).

Relaps

En alışılmış relaps yeri Kİ'dir. Tedavi sırasında Kİ relapsı gelişen olgularda yoğun kemoterapiyi takiben uygun kardeş veya akrabadan KİT gerekir. Otolog, haploidentikal veya uygun akraba olmayan verici transplantasyonları da diğer seçeneklerdir.

Ekstramedüller olarak relapsın en sık görüldüğü yerler SSS ve testislerdir. SSS lösemisinin erken bulguları kafa içi basınç artımına bağlıdır ve kusma, baş ağrısı, papil ödemi, letarji görülür. İntratekal tedaviye bağlı kimyasal menenjit de aynı bulguları verir. SSS lösemisi ile konvülsiyon ve izole kafa çiftlerinin felci olabilir ve metotreksat ve vinkristine bağlıdır. Hipotalamik tutulum nadirdir ama aşırı kilo alımı ve davranış bozukluğu olabilir. BOS basıncı artmıştır ve lösemik hücrelere bağlı pleositoz görülür. Hücre sayısı normale, BOS örnekleri santrifüj edilerek incelenmelidir.

SSS relapsı varsa, lenfoblastlar BOS'tan kayboluncaya kadar, haftada bir olmak üzere, 4-6 hafta intratekal tedavi yapılmalıdır. Sistemik tedavi de yoğunlaştırılmalıdır, çünkü daha sonra klinik relaps riski de vardır. Sonuç olarak, Kİ veya herhangi bir ekstramedüller yerde relaps varsa, profilaktik SSS tedavisi tekrarlanmalıdır.

Testiküler relaps, bir veya iki testisin genellikle ağrılı şişliği şeklindedir. Tanıda ve takipte testis hacmi dikkatli ölçülmelidir. Tanı, biyopsi veya aspirasyon sitolojisi ile doğrulanır. Tedavi gonadların ışınlamasını kapsar. Genellikle testis relapsı, Kİ relapsının habercisi olduğundan, sistemik tedavi de yapılmalıdır ve SSS tedavisi de tekrarlanmalıdır (1-3).

Prognoz

ALL'li çocuklarda tam iyileşme % 80'dir. Prognozu en çok etkileyen faktör, uygun riske yönelik tedavidir. Başlangıç lökosit sayısı ve tanıdaki yaş önemlidir. 10 yaş üzeri ve 12 ay altındaki çocuklarda prognoz daha kötüdür. Hiperdiploidi (> 50 kromozom) olması, prognozu iyi etkiler ve antimetabolit tedaviye iyi cevap verir. Philadelphia kromozomu ve t(4;11) varlığı prognozu kötü etkiler. Bu translokasyonların varlığında, ilk remisyonda KİT yapılması tavsiye edilir. t(1;19) translokasyonlu B-progenitör hücreli ALL'de prognoz iyi değildir (3,13).

AML

Pediatric lösemili olguların yaklaşık % 15-20'si AML'dir. Trizomi 21, Diamond-Blackfan sendromu, Fanconi aplastik anemisi, Bloom sendromu, Kostmann sendromu, paroksizmal noktürnal hemoglobinüri, Li-Fraumeni sendromu ve nörofibromatozis gibi genetik hastalıklar AML gelişimine zemin hazırlar. Alkilleyici ajanlar, epipodofilotoksinler ve nitrozurea gibi ilaçların kullanımı, iyonize radyasyona maruz kalma da AML gelişim riskini artırır (3-6).

Klinik bulgular

Bulgular anemi, trombositopeni ve nötropeni ile ilişkilidir. Solukluk ve anemiye bağlı kalp yetmezliği olabilir. Trombositopeniye bağlı olarak peteşi, burun kanamaları, diş eti kanaması görülür. Nötropeniye bağlı olarak enfeksiyonlara sekonder ateş yükselmeleri olur. Bazı olgularda karaciğer ve dalak büyümesi gözlenir, LAP ve diş eti hipertrofisi olabilir. Orbital veya epidural yerleşimli kloromaya da rastlanabilir. Kloroma lösemik hücrelerin oluşturduğu kitledir. Tanıda anemi ve trombositopeni genellikle ileri derecededir. Lökosit sayısı normal, yüksek veya düşüktür. Lökosit sayısı 100000/mm³ üzerinde ise, lökositler damar içinde tıkaçlar oluşturabilir ve serebrovasküler belirtilere yol açar (3-6).

Tanı

Kİ'de % 25'in üzerinde blastların gösterilmesi ile tanı konur. FAB, morfolojik ve sitokimyasal boyamalara göre, AML'yi 7 alt tipe ayırmıştır. Belirli karyotipik anomaliler belirli alt tiplerle beraberdir; t (15:17) akut promyelositik lösemili olguların çoğunda bulunur. APL sıklıkla hayatı tehdit eden ve lösemik hücrelerden prokoagulan maddelerin salınması ile ortaya çıkan yaygın damar içi pıhtılaşması ile birlikte.

Kromozom 16'nın inversiyonu eozinofili ile beraberdir ve FAB M4 alt tipinde görülür. Sekonder lösemi ise; 11q23'ü tutar veya monozomi 7 gibi kromozomal anomalilerle birlikte. Trizomi 8 veya kromozom 5 veya 7'nin delesyonu gibi kromozom anomalileri ile birlikte olan MDS sıklıkla AML'ye dönüşüm gösterir (3,5,6)(Tablo VII).

Tablo VII. AML'de kromozom anomalileri (5)

KROMOZOM DEĞİŞİKLİĞİ	FAB ALT TİPİ	DİĞER İLİŞKİLER
t(8;21)(q22,q22)	M2	Auer çubukları sık, myeloblastom
t(15;17)(q22,q21.1)	M3	Dissemine intravasküler koagülasyon, rar alfa füzyon geni
t(9;11)(q22;q23)	M4, M5	İnfant, SSS lösemisi, bifenotipik lösemi, epipodofilotoksinden sonra sekonder lösemi
inv/del(16)(q22)	M4eo	SSS lösemisi, displastik ilik eozinofili
trizomi 8	All	Myelodisplastik sendrom
t(1;21)(p13;q13)	All	İnfant < 1 yaş
-7/del(7)(q22-36)	All	Myelodisplastik sendrom, sekonder lösemi, daha büyük erişkin, toksik alım
inv(3)(q21,q23) veya t(3;3)(q21,q26)	M4, M7	Yüksek platelet sayısı, anormal platelet
-5/del(5)(q11-35)	All	Myelodisplastik sendrom, daha büyük erişkin, sekonder lösemi

Tedavi

Başlangıçta antrasiklin ve sitozin arabinozid içeren tedaviler verilir ve olguların % 80'inde remisyon sağlanır. Olguların % 10'unda kanama ve enfeksiyon gibi nedenlerle erkenden ölümler olabilir.

Geniş etkili antibiyotikler, antifungal ilaçlar, kan ürünleri ile ciddi destek tedavisi yapılmalıdır ve beslenmeye önem verilmelidir. Remisyon indüksiyonu için 6 haftalık bir süre gerekir. SSS relapsını önlemek için SSS proflaksisi de gerekir. Remisyon sağlandıktan sonra, HLA-uygun akrabadan alınan stem hücrelerin nakli gerçekleştirilmelidir. Bunun için ya Kİ, ya da periferik

stem hücreler kullanılmaktadır. Uygun kardeşi olan olguların % 70'i iyileşir. Uygun verici yoksa, optimal tedavi henüz belli değildir. Kemoterapinin tamamlanmasından sonraki remisyon sırasında, antilösemik etki ile immün modülasyon için IL-2 kullanılması gerekir.

APL'li olgularda antrasiklin tedavisine ek olarak, retinoik asit kullanımı faydalıdır. Böyle olgular ilk remisyonunda KİT'e ihtiyaç duyarlar. Down sendromu ve AML olan çocuklarda sadece kemoterapi ile tedavi şansı % 80'in üzerindedir (3,5,6).

Prognoz

HLA-uygun vericisi olan olgularda, kemoterapiyi takiben yapılan KİT ile tam iyileşme oranı % 70'tir. Uygun verici yoksa, sadece kemoterapi ile tam iyileşme % 50'dir. Relaps geçiren AML'li çocuklarda prognoz kötüdür. HLA uyumu tam olan verici yoksa, HLA-uygun akraba olmayan vericiden veya kordon kanı ile ya da haploidentikal vericiden transplantasyon düşünülmelidir. Bu durumda graft versus host hastalığı ve enfeksiyon gibi komplikasyonlarla daha sık karşılaşılır (3,5).

AKUT LÖSEMİLERDE PROGNOSTİK RİSK FAKTÖRLERİ

Lökosit sayısı, cinsiyet, ırk, sitogenetik, organomegali ve lenfadenopatinin derecesi, mediastinal kitle varlığı, başlangıç hemoglobin düzeyi, platelet sayısı, FAB sınıfı, immunofenotip, lösemik hücrelerin miyeloid antijen ekspresyonu, serum immünooglobulin düzeyleri, başlangıç SSS tutulumu, remisyon giriş süresi, glukokortikoid reseptör düzeyi ve HLA tipi prognozu etkiler (1-3) (Tablo VIII, IX, X).

Lökosit sayısı ve yaş

En önemli prognostik faktör başlangıçtaki lökosit sayısıdır. Bu sayı ne kadar yüksek ise prognosis o kadar kötüdür. ALL'li olguların yaklaşık %20'sinde lökosit sayısı $>50000/\text{mm}^3$ 'tür. T-ALL'li olgular genellikle yüksek lökosit sayısına sahiptir. İki yaşın altındaki ve 10 yaşın üzerindeki olgularda prognosis kötüdür. Olgu bir yaşın altında ise prognosis çok kötüdür. ALL'li adölesanlarda da prognosis kötü olup, HYS azalmıştır (1-3,12).

Tablo VIII. ALL'de risk grubu sınıflaması (Çocuk Kanser Çalışma Grubu) (1)

İYİ

Lökosit < 10000

2-9 yaş arası

Bütün kız ve erkeklerde Platelet > 100000

ORTA

2-9 yaş ve lökosit 10000-49000; veya

2-9 yaş, lökosit < 10000 ve erkek

(Platelet < 100000)

12-23 ay ve lökosit < 50000

KÖTÜ

Yaş > 10 veya

Lökosit > 50000 (ve > 1 ve < 20 yaş)

Lenfoma sendrom kriterleri olmamalı

LENFOMA SENDROMU

1-20 yaş ve her kolondan bir karakterle birlikte

Lökosit > 50000 veya Massif lenfadenopati, veya

Hb > 10 gm/dl veya Massif splenomegali, veya

T-hücreli ALL Büyük mediastinal kitle

İNFAANT

Tanı anında 1 yaşından küçük

B-HÜCRELİ ALL

İleri evre SNCC lenfoma gibi tedavi

Tablo IX. ALL'de risk grubu sınıflaması (Pediatrik Onkoloji Grubu) (1)

ALINC-15 PROTOKOLU İÇİN KULLANILAN SINIFLAMA

SSS	Lökosit/ml	Yaş (Yıl)			
		1.00-2.99	3.00-5.99	6.00-10.99	> 11.00
Negatif < 10000	A	A	B		
Negatif 1000-99000	B	A	B	B	
Negatif > 100000	B	B	B	B	
Pozitif Herhangi biri	B	B	B	B	

STANDART

Prognostik Grup A veya Prognostik Grup B

(SSS hastalığı yok) ve DNA indeksi > 1.16

YÜKSEK RİSK

SSS hastalığı veya Grup B ve DNA indeksi < 1.16 veya

Standart risk hastasında blast hücre pozitif bulunmuş

Philadelphia kromozomu veya t(1;19) translokasyonu

İNFAANT

1 yaşından küçük

T-HÜCRELİ ALL / LENFOBLASTİK LENFOMA

Her ileri evre lenfoma veya lösemi

B-HÜCRELİ ALL

İleri evre SNCC gibi tedavi edilir

ALINC-16 PROTOKOLU İÇİN İLERİ SÜRÜLEN SINIFLAMA

Düşük Risk

Prognostik A Grubu

Standart

Grup A ve DNA indeksi < 1.16, veya

Grup B ve DNA indeksi > 1.16

Yüksek Risk

Grup B ve DNA indeksi < 1.16

İNFAANT

1 yaşından küçük

T-HÜCRELİ ALL / LENFOBLASTİK LENFOMA

Her ileri evre lenfoma veya lösemi

B-HÜCRELİ ALL

İleri evre SNCC gibi tedavi edilir

Sitogenetik

Hem kromozomal anomali hem de yapıdaki sitogenetik anomalinin prognostik önemi vardır. Hiperdiploidili olgularda relatif olarak iyi prognoz, hipodiploidili olgularda da kötü prognoz gözlenir. Near-haploid ALL'de prognoz en kötüdür. t(8;14), t(9;22), t(4;11) ve t(1;19) gibi translokasyonlarda remisyon şansı azdır veya erken relaps olur (,7,9,14,15).

Tablo X. ALL'li çocuklarda risk faktörleri (9)

Yaş

BK Sayısı

DNA İndeksi (DI:ploidi)

Sitogenetik

İmmunofenotip(B,T)

SSS durumu

SSS 1 (blast yok)

SSS 2 (blast var; <5/μL)

SSS 3 (blast var; >5/μL)

Tedaviye Cevap

7 veya 14. Günde Kİ

7. günde periferik kan

Cinsiyet

Kızlarda prognoz daha iyidir (1,16).

İmmunofenotipleme

İmmunofenotip, prognoz ile korelasyon gösterir. B-ALL'de prognoz en kötüdür. T-ALL'de de genellikle prognoz kötüdür. T-ALL'li olgularda CD3 gibi matür evre antijenin varlığı, olmayanlara göre prognozu daha kötü etkiler. B-ALL'li olgular arasında erken pre-B-hücre fenotipi en iyi prognoza sahiptir. CALLA (+) ise daha iyi bir gidiş beklenir. Pre-B veya erken pre-B-hücreli ALL olgularının %10'unda CALLA (-)'tir. Remisyon elde edildikten sonra erken

pre-B hücreli ALL'de CALLA negatifliği, kötü prognoz belirtisi değildir. T-ALL'li olguların küçük bir grubunda da CALLA pozitif olabilir. CALLA negatifliği, HYS'nde kısalma ile birlikte.

ALL'li olgularda miyeloid antijen ekspresyonu varsa prognoz kötüdür. Bazı çalışmalar bu bulgunun başlangıç lökosit sayısından bile önemli olduğunu göstermiştir ve relapsların öncüsü kabul edilir.

IgG, A ve M'nin düzeyleri düşükse, prognoz kötüdür. HLA ve prognoz arasında ciddi bir ilişki gösterilememiştir (1-3).

FAB sınıflamasına göre de en kötü prognoz L3 tipinde görülür. L2 subtipinin L1'e göre daha kötü prognozu olduğu bilinmektedir. L2 lenfoblastların oranı %10'dan fazla ise prognoz kötüdür (1-4).

İrk

Siyah ırkta remisyon şansı daha az ve relaps oranı daha yüksektir. ALL'li siyah olgularda lökosit sayısı daha yüksektir, mediastinal kitle vardır ve L2 morfolojisi biraz daha belirgindir. C-ALL tipi ve hiperdiploidi siyahlarda daha azdır (1,2).

Lösemik hücre kitlesi

Hepatosplenomegali ve lenfadenopatinin derecesi de önemlidir (1,3).

Tedaviye cevap

Tanıdan itibaren 18-24 ay sonraki tam remisyon, cinsiyet, yaş ve başlangıçtaki lökosit sayısı ile eşdeğer öneme sahiptir. Alışılmış 4-6 haftalık indüksiyon süresi içinde tam remisyon sağlanamamış ise, relaps oranı sık ve hayat süresi kısadır. Ondördüncü günde kemik iliğinde

rezidüel lösemnin varlığı, prognozu olumsuz yönde etkiler. Bu olgularda, erken relaps daha sıktır (1).

Bebeklik çağı

Oniki aydan daha küçük bebeklerde prognoz oldukça kötüdür. Bu durum, erken kemik iliğı ve ekstramedüller relapsın sonucudur. SSS relaps oranı daha yüksektir. Hipogamaglobulinemi ve 14. günde remisyonun sağlanamamış olması bunun göstergesidir. Genellikle infant ALL'sinde HLA-DR antijeni eksprese edilir ama CALLA ve matür B-hücre antijenleri eksprese edilmez. Kromozomal anomalilerin varlığı prognozu kötü yönde etkiler. 11q23 ve t(4;11) sık gözlenir. Lösemik hücreler miyeloid antijenleri de eksprese edebilirler (1-3).

AML'de prognostik faktörler

Monozomi 7 gibi belirli kromozomal anomaliler, lökosit sayısının yüksekliğı (>100000/mm³), MDS'den sonra gelişen AML'de remisyon oranı daha düşüktür. Auer çubuğı yoksa (M1) remisyon şansı daha düşüktür. T(8;21), inv. 16 ve t(9;11) ise prognoz iyidir. İki yaş altındaki M4 ve M5 subtipinin prognozunun kötü olduğı, bazı çalışmalarda belirtilmektedir. Yüksek lökosit sayısı, Auer çubuğı yokluğu ve monozomi 7 gibi kromozomal anomaliler remisyon süresini kısaltır (Tablo XI). T(15;17), t(9;11) eozinofilili M4 veya inv.(16) ve tek kür kemoterapi ile remisyon sağlanması iyi prognoz belirtisidir. BFM grubu, Auer çubuklu M1, <20000/mm³ lökosit sayısına sahip M2, eozinofilili M3 veya M4'ü düşük riskli kabul eder. Altı yıllık hayat süresi düşük riskli olanlarda % 91, yüksek riskli olanlarda % 42'dir.

Lösemik hücrelerin kinetiğı de prognozla ilişkilidir. Tanıda yüksek labeling index > %10 ise prognoz kötüdür. Çocuklarda yüzey antijenleri ile prognoz ilişkisi araştırılmamıştır (3,5,6).

Tablo XI. AML'de kötü prognoz kriterleri (5)

BK sayısı $>100000 /\text{mm}^3$

FAB M1

Monozomi 7

MDS sonrası oluşan AML

HÜCRE SIKLUSU

Vücut hücreleri arasında bölünme yeteneği farklıdır. KI ve GİS epitel hücreleri normal fonksiyonun bir parçası olarak devamlı bölünürler. Hepatositler gibi bazı hücreler ise belli bir uyarı ile (diğer hücrelerin kaybı gibi) bölünürler. Nöronlar gibi az sayıda hücre grubu ise son olarak organogenezde bölünür, sonra asla bölünmezler. Hücrelerin bölünmeleri ile yapılan çalışmalarda bölünmenin bazı aşamalardan meydana geldiği gösterilmiştir. Bu olaya hücre siklusu adı verilir. Ökaryotik organizmalarda somatik istirahatteki hücreler çift kromozom yapısına ve sabit DNA içeriğine sahiptirler. Bu dönemde hücreler G0 dinlenme fazında bulunurlar. Hücre bölünmesi için uyarının gelmesi ile birlikte mRNA sentezi başlar ve hücreler G1 (proliferasyon) fazına girerler. mRNA sentezinin daha da artması ile DNA sentezi başlar. DNA sentez fazında bütün kromozomlar replike olur ve DNA içeriği iki katına çıkar. S fazını kısa bir G2 fazı izler ve bunu takiben mitoz (M) gerçekleşir. Devamlı bölünen hücreler mitotik siklusa tekrar girerler, sabit hücreler ise hücre bölünmesi için yeni bir uyarıya kadar G0 fazında kalırlar. DNA içeriğini ölçerek hücrenin G0/G1, S veya G2/M fazında olup olmadığı anlaşılır. Bu parametrelerdeki her hangi bir değişiklik, DNA histogramının görüntüsüne yansır. Bu teknikle anormal DNA içeriğine sahip olan kanser hücreleri normal DNA'ya sahip hücrelerle kıyaslanabilir. DNA içeriği açısından %4'lük (1 veya 2 kromozom) farklılığa sahip hücre dizinleri akış hücremetresi ile saptanabilmektedir (17-19).

Anöploid , neoplastik hücrelerdeki sayısal veya yapısal aberasyonları göstermektedir. AH, küçük cv ile çok sayıda hücrenin hızla analizini yapabilmektedir. Bu şekilde az sayıdaki anöploid hücre bile saptanabilir. DNA analizinin doğruluğu dokunun canlılığının korunması, AH'nin performansı, boyama işlemleri gibi çok sayıda faktöre bağlıdır. DNA analizinin rezolüsyonu basit olarak malign olmayan hücre topluluğunda G0/G1 pikinin ölçülmesi ile incelenmektedir. İnsan kan lenfositleri veya benzer hücre popülasyonlarında cv'nin % 2'den küçük olması istenir. Near-diploid hücre popülasyonları büyük cv'li geniş G0/G1 pikleri ile gözden kaçabilir. Pratikte proliferatif kapasite DNA içeriği ile aynı anda ölçülür ve tümörün proliferasyon kapasitesi ile yaşam süresi arasında doğrudan ilişki vardır (17).

AH ile hücre siklus analizi

DNA analizi şu dokulardan yapılabilir.

- a. Taze doku
- b. Fikse edilmiş doku
- c. Parafin blok
- d. Periferik kan ve Kİ örnekleri
- e. İğne biopsi materyali
- f. Vücut sıvıları
- g. Sitolojik materyaller

Analiz için dokunun tek hücre süspansiyonu haline getirilmiş olması gereklidir. Bu da üç aşamada yapılır.

- a. Hücre membranı ve sitoplazmasının ortadan kaldırılması
- b. RNAaz ile işlem
- c. DNA'ya özel boya ile boyama

Tek hücre süspansiyonu, dokunun parçalanması ve liflerine ayrılması yöntemi ile elde edilir.

Daha sonra artefaktları uzaklaştırmak için filtrelerden geçirilir. Bazen fibrotik dokularda iyi bir süspansiyon elde etmek için tripsin, pepsin, kollagenaz gibi maddeler de kullanılmaktadır.

Parafin bloklardan DNA çalışması yapılması, retrospektif değerlendirmeye de imkan tanımaktadır. Ancak, fiksatif maddenin DNA sonuçlarını da etkileyebildiği gösterilmiştir. Bununla beraber, %10 tamponlanmış formalin içindeki fikse doku, düşük cv değerine ve yüksek floresan yoğunluğuna sahiptir.

Parafin blokta ise, dokunun önce deparafinize edilmesi, rehidratasyonu ve parçalandıktan sonra belli işlemlerden geçirilmesi gerekir. Fakat yine de gözlemler, parafinize dokularda cv değerlerinin daha yüksek olduğu şeklindedir. Tümördeki DNA farklılıklarını ortaya koyabilmek için örnekler, tümör içi, tümör sınır bölgesi ve çevre sağlam dokudan alınmalıdır (17-19).

AH ile DNA tayini hücrelerin floresan boya ile boyanması esasına dayanır. Bu boyalar propidyum iyodid (PI), etidyum bromid, mitramisin, DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole) kromomisin'dir. Klinikte en sık kullanılan ise PI'dir. PI ile yapılan işlemlerde birçok faktörün gözden geçirilmesi gereklidir:

a. Boya konsantrasyonu önemlidir.

b. Sinyal yoğunluğu ve boyanın floresan emisyonu arasında doğrudan ilişki olmalıdır.

c. Hücre permeabilitesi. Boyanın çekirdeğin penetrasyonuna izin vermesi için hücre membranına geçirgenliği gereklidir.

d. RNA bağlanması, çift zincir RNA'ya PI'in bağlanması ile pikler artefakt olarak genişleyebilir.

Bu gibi faktörler, iyi bir denetim, kesin yöntem ve iyi bir kalite kontrolü ile önlenir (17-19).

DNA analizi

AH ile hücrenin total DNA miktarı ve hücre siklusundaki dönemine göre, her dönemdeki hücre sayısı saptanabilir. Elli bin veya daha fazla tümör hücresi birkaç dakika içinde çalışılmalıdır. Floresan pikleri, normal popülasyonun gerçek biyolojik durumuna yakın olması için, dar olmalıdır. Bu değer piklerin cv değerleri ile ölçülebilmektedir.

$$CV = \frac{\text{Yarı yükseklikteki genişlik}}{\text{Pik kanal sayısı} \times 2.35} \times 100$$

Bu nedenle kontrollerin cv değeri düşük , mümkünse % 2'den az olmalıdır.

Floresan yoğunluğunun DNA içeriğini tam gösterebilmesi için lineer olması gerekir. Bu linearite sabit DNA içerikli hücreler ile monitorize edilir. Diploid insan lenfositleri bu amaca uygundur. Ayrıca tavuk veya balık eritrositleri kullanılarak da kalite kontrolü yapılabilir.

Örnekler anormal bir DNA içeriyorsa DNA anöploidisinden bahsedilir. Malign bir tümör diploid DNA'ya sahip olacağı gibi anöploidi de gösterebilir. Ayrıca malign bir tümörde hücreler daha yüksek oranda S fazında bulunurlar. Nadiren tümör olmayan dokularda da anöploidi olabilir. Anöploidik yapılar, ekstra pikler şeklinde görülür. DNA histogramında diploid popülasyondan daha fazla DNA içeriğine sahip olan anöploidiler hiperdiploid, daha az DNA içeriğine sahip olanlar ise hipodiploid anöploidi olarak sınıflandırılır.

Araştırılan popülasyonun DNA içeriğinin saptanmasında DNA indeksi (DI) kullanılır. DNA indeksi, spesifik popülasyonun DNA içeriğinin (ortalama kanal sayısı) bilinen standart diploid popülasyondaki DNA içeriğine bölünmesiyle hesaplanır.

Spesifik kanal sayısı

$$\text{DNA indeksi} = \frac{\text{Spesifik kanal sayısı}}{\text{Diploid popülasyon kanal sayısı}}$$

DNA içerik bozukluğu ile birlikte, yüksek S fazı fraksiyonuna sahip tümörlerle olgu yaşam süresi arasında doğrudan bir ilişki vardır. Bu nedenle DNA analiz sonuçları değerlendirilirken S fazı fraksiyonu ve proliferatif indeks'in de değerlendirilmesi gerekir.

S+G2+M

$$\text{Proliferatif indeks} = \frac{\text{S+G2+M}}{\text{G0G1+S+G2+M}} \times 100$$

G0G1+S+G2+M

S

$$\text{SPF} = \frac{\text{S}}{\text{G0G1+S+G2+M}} \times 100$$

G0G1+S+G2+M

Normal diploid popülasyonun DNA indeksi kesinlikle 1'dir. Malign hücre genellikle normal (diploid) DNA'dan uzaklaşır. DNA içeriği artmış ise hiperdiploidi, azalmış ise hipodiploidi olarak bilinir. Anöploid hücre popülasyonları DNA histogramlarında ekstra pik yapar ki, bu durum malign neoplazmın varlığını gösterir.

S fazı fraksiyonu, S fazındaki total hücrelerin fraksiyonudur. Proliferatif indeks, siklusun S ve G2 M fazının aktivitesinin toplamıdır. Erişkin ve çocukluk çağında görülen kanserlerin bir çoğunda, malign hücre anöploidisi ve prognoz arasındaki ilişki iyi bilinir. Bazı durumlarda, anöploid dizinin gösterilmesi ile malign hücreler belirlenmiş olur. Anöploidi benign hastalıklarda nadirdir (17-19)

Neoplazmaların klinik özellikleri , tümör hücrelerinin bölünme kapasitesine bağlıdır. Bir çok tümörün proliferatif aktivitesi ile olgunun yaşam süresi arasında doğrudan bir ilişki vardır. Histolojik grade ve mitotik sayımlar proliferatif kapasite hakkında kaba bir fikir verir ancak kesin ölçümler AH ile yapılabilmektedir. Eğer DNA anöploidisi ve yüksek S fazı fraksiyonu varsa prognoz kötü olacak demektir. Bu tümörler arasında meme karsinomu, kolon ve over karsinomu sayılabilir. Fakat nöroblastom gibi tümörlerde anöploidinin varlığı tedaviye daha iyi cevap alındığını göstermektedir (17,20,21)

Lösemi ve anöploidi

Solid tümörlerin aksine, lösemilerin sadece % 20-30'unda anöploidi bulunur. Dolayısı ile tanı için güvenli bir bulgu değildir ama önemli bir prognostik belirleyicidir. Hiperdiploidinin varlığı iyi prognoza işaret eder. ALL'li çocukların % 1-2'sinde triploid / tetraploid kromozom içeriği bulunur. Near-tetraploidi genellikle L2 morfolojili, T-ALL'li ve My+ Ag pozitifliği olan çocuklarda görülür. Hipodiploidi ise, ALL'li çocukların % 1-7'sinde bulunur. Tanıda klinik, morfolojik veya fenotipik farklılıklar yoktur. Yoğun tedaviye rağmen, HYS bu olgularda kötüdür. C-ALL'li çocuklarda hiperdiploid DNA varlığı ile birlikte, merkaptopurin ve l-asparaginaz gibi antimetabolitlere hassasiyet artmakta ve bu nedenle prognoz daha iyi olmaktadır. Sonuç olarak, hiperdiploidik hücreler, apoptoz gelişimi için, artmış kapasiteye sahiptirler (17,19,22-25).

MATERYAL VE METOD

Bu alışmada , Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı'nda tanı konulan ve tedaviye alınan 30 akut lösemili olguda ploidi durumu araştırıldı. Öncelikle olgulara klinik ve hematolojik bulgulara dayanarak akut lösemi tanısı konuldu ve lösemi alt tiplerini belirlemek için, histokimyasal boyamalar ve daha sonra da immunofenotipleme yapıldı. Lösemi alt tipi belirlendikten sonra, tüm olgularda ploidi durumunu araştırmak için, AH ile DNA miktarı ölçüldü ve SPF belirlendi.

Morfolojik Değerlendirme

Periferik kan ve kemik iliği yaymaları morfolojik olarak FAB sınıflamasına göre değerlendirildi. Küçük hacimli koyu bazofilik boyanmış dar sitoplazmalı sıkı kromatin ağına sahip ve nükleol içermeyen hücreler lenfoblast; büyük hacimli, daha pembemsi geniş sitoplazmalı kromatin ağı

gevşek ve birkaç adet çekirdekçik içeren çekirdeğe sahip, sitoplazmada granül veya Auer çubuğu bulunan hücreler ise miyeloblast olarak kabul edildi.

Kenarında çentik içeren homojen dağılımlı küçük lenfoblastlar L1, büyük ve küçük hacimli lenfoblastların oluşturduğu heterojen görünüm L2; büyük hacimli vakuol içeren lenfoblastların oluşturduğu homojen görünüm ise, L3 ALL olarak kabul edildi. İmmatür, Auer çubuğu içermeyen miyeloblastların oluşturduğu görünüm M1; daha matür ve Auer çubuğu içeren miyeloblastların oluşturduğu görünüm M2; miyeloblastlarla birlikte % 30'dan fazla promiyelosit varlığı M3; miyeloblastlarla birlikte monosit hakimiyeti M4; immatür monosit ve monoblastlarla birlikte ortaya çıkan tablo M5; miyeloblastlarla beraber % 30 'un üzerinde eritroblast varlığı M6; miyeloblastlarla birlikte % 30 ve üzerinde megakaryoblast varlığı ise, M7 AML olarak kabul edildi (1-6).

Histokimyasal değerlendirme

Tüm periferik kan ve Kİ yaymaları PAS ve SB gibi nonenzimatik boyalarla boyandı. PAS ile boyama sonunda sitoplazmada kırmızı granüllerin varlığı bu hücrelerin lenfoblast olduğunu, SB ile boyama sonucunda sitoplazmada siyah granüllerin varlığı ise, bu hücrelerin miyeloblast olduğunu düşündürdü (1-4).

PAS ile boyama

Periferik kan veya Kİ yaymaları havada kurutulduktan sonra oda ısısında 1 dakika süre ile formalin –etanol solüsyonunda bekletildi. Takiben lamlar 1 dakika musluk suyu ile yıkanıp oda ısısında 5 dakika Periodik asit solüsyonunda (Sigma no.395-1) bekletildikten sonra tekrar musluk suyu ile yıkandı. Daha sonra Schiff reajeni (Sigma no.395-2) ile oda ısısında 15 dakika bekletilip 5 dakika musluk suyu ile yıkandı. Bu işlemi takiben lamlar, taze ve filtre edilmiş hematoksilen

(Gill no.3, cat. no .GHS-3) solüsyonunda 90 saniye süre ile bekletildi. Musluk suyu ile 15-30 saniye yıkamayı takiben havada kurutulan lamalar, mikroskop altında incelendi.

SB ile boyama

Periferik kan ve Kİ yaymaları, 2-6 C'de 1 dakika boyunca hafifçe sallanarak fikse edildi ve deiyonize su ile yıkandı. SB boyası (Sigma cat.no.380-1) ile 5 dakika boyamayı takiben boya tamamen uzaklaştırılıncaya dek 3 dakika veya daha uzun bir süre ile lamalar % 70'lik etanolde bekletildi ve distile su ile yıkandı. Daha sonra hematoksilen solüsyonu ile 5 dakika muamele edildi ve musluk suyu ile yıkandı. Havada kurutulan yaymalar, ksilende bekletildi.

İmmunofenotipleme

Periferik kan yaymasında % 50'den daha fazla blast olması durumunda 1 cc periferik kan örneği EDTA içeren endorf tüplere alındı ve daha sonra AH (Coulter, Epics XL) cihazı kullanılarak immunofenotipleme yapıldı.

Periferik kan yaymasında % 50'den daha az blast olan olguların kemik iliği örnekleri prezervatif içermeyen heparinle yıkanmış enjektörlere alındı ve en kısa sürede laboratuara gönderildi. Labortuarda bu örnekler önce 45 mikron çaplı filtrelerden geçirildi ve daha sonra aynen periferik kan örneklerinde olduğu gibi çalışıldı. Kemik iliği örnekleri en geç 2 saat, periferik kan örnekleri ise en geç 6 saat içinde çalışıldı. Tüm örneklere CD45, CD2, CD5, CD7, CD10, CD19, CD22, CD13, CD33, CD14 ve HLA-DR Mo Ab'larından oluşan panel uygulandı. Her bir Ab için ayrı tüpler hazırlandı ve EDTA'lı hücre süspansiyonundan her bir tüpe 100 µl ve ilgili Mo Ab'dan 20 µl eklendi. Daha sonra 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta bekletilen tüpler sırası ile Q-prep hazırlama istasyonundan geçirildi. Hazırlama istasyonunda A, B ve C olmak üzere üç

ayrı solüsyonla işlenen örnekler, eritrositleri parçalanıp lökositleri stabilize edilip, hücre membranı fikse edildikten sonra, AH ile analiz edildi. Öncelikle Fc reseptörlerine bağlanma ile ortaya çıkan yanıtıcı ışınmayı gidermek amacı ile izotipik kontroller geçirildi ve % 2'lik tolerans sağlanarak histogramlarda belirteçlerin yeri belirlendi. Daha sonra incelenecek hücre grubunu içine alan bir kapı alındı ve parametreler ayarlandı. Tüm örnekler tek tek "flow cell"den geçirilerek % pozitif değer olarak sonuçlandırıldı. CD2, CD5, CD7 Mo Ab'ları ile % 20'nin üzerinde floresans alınması blastların T karakterli; CD10, CD19, CD 22 ve HLA-DR ile % 20 ve üzerinde işaretlenen hücreler erken-pre-B (c-ALL); CD19, CD22 ve HLA-DR ile işaretlenen hücreler ise, B-ALL; CD13 ve CD33 Mo Ab'ları ile % 20'nin üzerinde floresans alınması AML; bu Mo Ab'lara ek olarak CD 14'ün pozitifliğinin olması ise, AMML oabileceğini düşündürdü (17,26-30).

DNA Analizi

İmmunofenotipleme için gönderilen tüm kan veya kemik iliği örneklerinden DNA analizi yapıldı ve SPF araştırıldı. Hücre süspansiyonları DNA-prep'te RNAaz ile işlenip, "propidium iodide" ile boyandı ve AH (Coulter, Epics XL) ile incelendi. Cihazın doğrusallık (linearity) kontrolü standart "DNA check" ile yapıldı. Standart diploid hücre topluluğu olarak insan lenfositleri kullanıldı. Her bir örnek için 50000 hücre sayıldı. Histogramlar "Multicycle Software" (Phoenix Flow systems, San Diego, CA) programı ile değerlendirildi. Histogram analizlerinde örneklerin içerdikleri DNA miktarına göre Dİ, diploidi, hiperdiploidi veya hipodiploidi olarak belirlendi. Dİ incelenen hücre süspansiyonlarının G0/G1 pikinin bulunduğu kanal sayısının, standart hücre topluluğunun (insan lenfositleri) G0/G1 pikinin ortalama kanal sayısına oranını gösterir. Analizlerde Dİ= 1.0 olan ve histogramda tek bir pik izlenen örnekler diploid, Dİ>1.16 ve daha yukarıda olan örnekler hiperdiploidi, Dİ<1.0 olan örnekler ise hipodiploidi kabul edildi. DNA miktarı analizi için

varyasyon katsayısı (cv) %2-3 olan örnekler değerlendirilmeye alındı. Sentez fazındaki hücrelerin yüzde oranı (SPF) Multicycle programında Gaussian yöntemi ile hesaplandı (18,19,31).

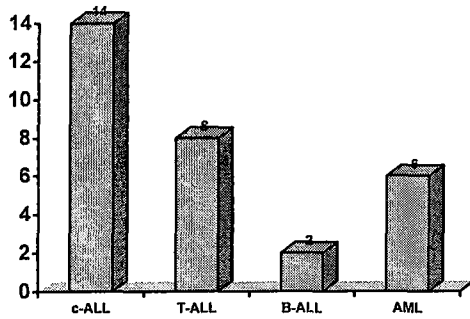


BULGULAR

Araştırma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı'nda tanı alan 24'ü (% 80) ALL, altısı (% 20) AML olan toplam 30 akut lösemili olgu üzerinde yapıldı. ALL'li 24 olgunun 14'ü (% 58) c-ALL, sekizi (% 33.33) T-ALL, ikisi (% 8.33) ise B-ALL idi. AML'li olguların ikisi (% 33.33) M2, ikisi (% 33.33) M3, ikisi (% 33.33) de M4 fenotipine sahipti (Tablo XII, Şekil 3).

Tablo XII. Lösemili olguların sınıflandırılması

	n	%
ALL	24	80
c-ALL	14	58
T	8	33.33
B	2	8.33
AML	6	20

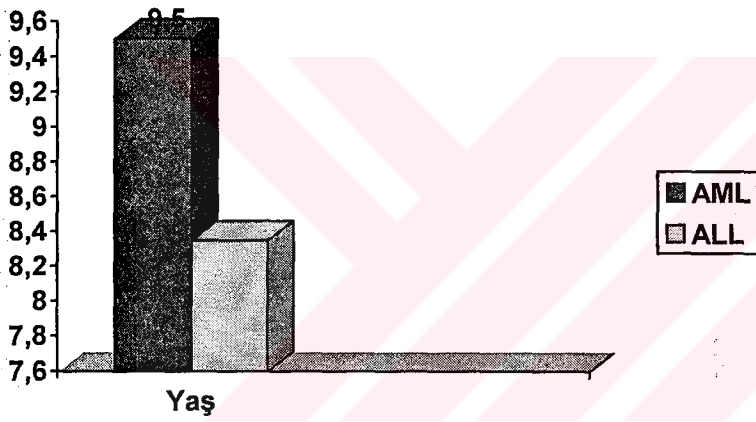


Şekil 3. Lösemili olguların sınıflaması.

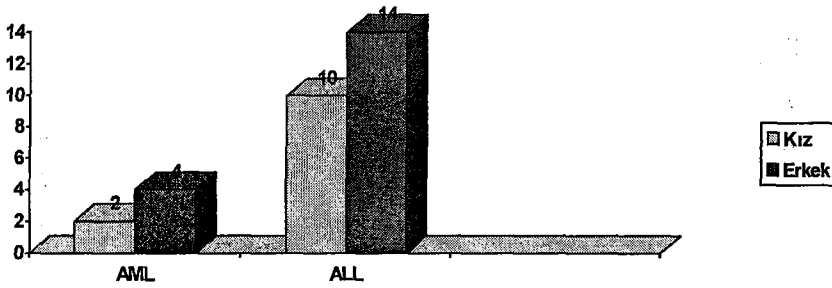
Çalışmaya alınan olguların yaş ortalaması 8.63 yıl idi ve 18'i (% 60) erkek, 12'si (% 40) kız idi. ALL'li olguların yaş ortalaması 8.35 yıl olup olguların 14'ü (% 58.33) erkek, 10'u (% 41.66) kız idi. AML'li olguların yaş ortalaması 9.50 yıl olup, dördü (% 66.66) erkek ikisi (% 33.33) de kız idi (Tablo XIII, Şekil 4, 5).

Tablo XIII. Lösemili olguların ortalama yaş ve cinsiyet durumları

	Yıl	Cinsiyet	
		E	K
ALL	8.35	14 (% 58.33)	10 (% 41.66)
AML	9.50	4 (% 66.66)	2 (% 33.33)
	8.63	18 (% 60)	12 (% 40)



Şekil 4. Lösemili olguların yaş dağılımı



Şekil 5. Lösemili olguların cinsiyet dağılımı

Tablo XIV ve XV'de ALL ve AML'li olguların Dİ ve SPF değerleri görülmektedir.

Tablo XIV. ALL'li olguların Dİ ve SPF değerleri

	Dİ	SPF	Ploidi
OT	1.16	13.6	Hiperdiploidi
MY	1.00	1.00	Diploidi
IÖ	1.00	0.20	Diploidi
ZÜ	1.00	0.20	Diploidi
CA	1.00	8.50	Diploidi
EÇ	1.00	1.00	Diploidi
ÖE	1.00	7.30	Diploidi
BG	1.00	17.90	Diploidi
DB	1.00	22.30	Diploidi
SND	1.00	2.00	Diploidi
NNY	0.84	6.90	Hipodiploidi
AK	1.16	6.00	Hiperdiploidi
MS	1.00	6.60	Diploidi
YY	1.00	16.90	Diploidi
SI	1.00	3.80	Diploidi
FT	0.91	7.10	Hipodiploidi
NY	1.00	0.30	Diploidi
SO	0.21	6.70	Hipodiploidi
AÇ	1.00	2.00	Diploidi
MÇ	1.00	0.90	Diploidi
SB	1.17	0.50	Diploidi
FE	1.17	7.10	Hiperdiploidi
EÖ	1.45	0.80	Hiperdiploidi
AD	0.45	1.20	Hiperdiploidi

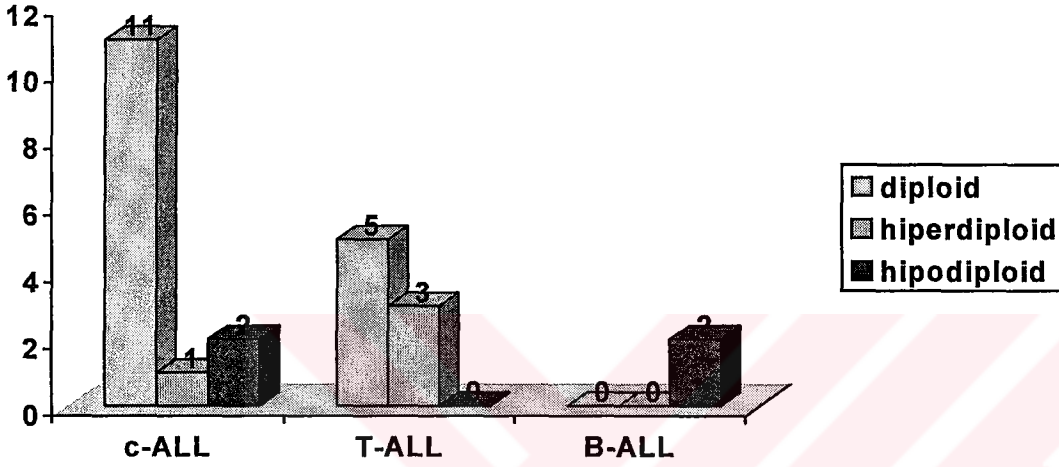
Tablo XV. AML'li olguların Dİ ve SPF değerleri

	Dİ	SPF	Ploidi
SB	1.16	8.00	Hiperdiploidi
BB	1.19	1.80	Hiperdiploidi
YEL	1.00	3.30	Diploidi
SE	1.00	0.80	Diploidi
HD	0.43	0.50	Hipodiploidi
YB	0.42	9.80	Hipodiploidi

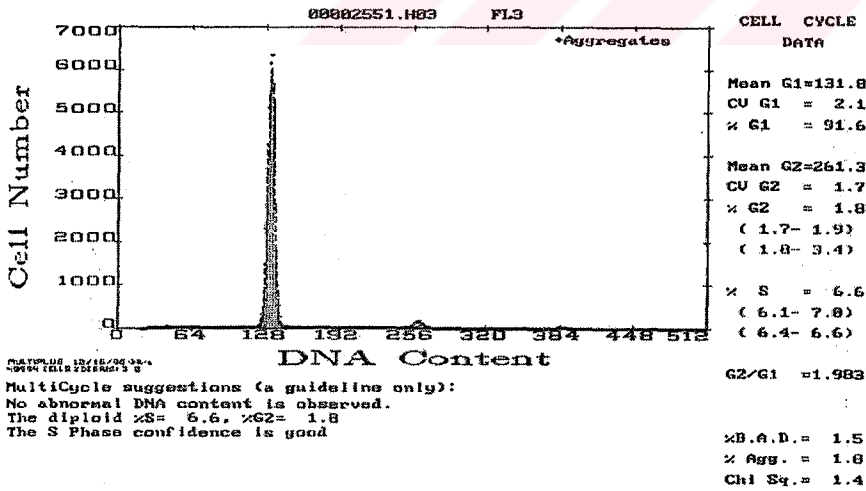
ALL'li 24 olgunun sekizinde (% 33.33) ve AML'li altı olgunun dördünde (% 66.66) toplam olguların ise 12'sinde (% 40) anöploidi saptandı. ALL'li 24 olguda immunofenotiplere göre anöploidi durumu Tablo XVI'da görülmektedir.

Tablo XVI. ALL'li olgularda anöploidi

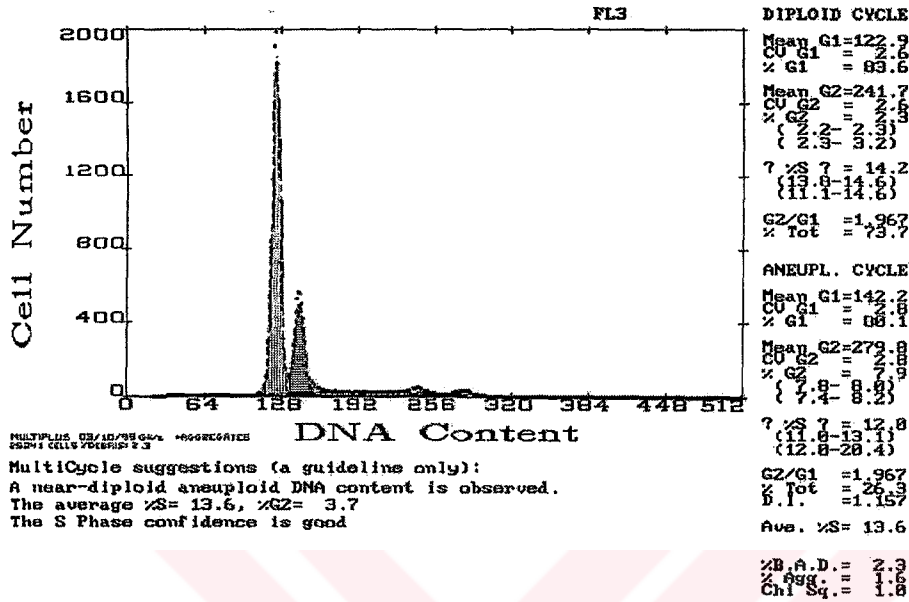
	Dİ	Diploidi	Hiperdiploidi	Hipodiploidi
c-ALL	(14)	11 (% 78.57)	1 (% 7.14)	2 (% 14.28)
T	(8)	5 (% 62.50)	3 (% 37.50)	-
B	(2)	-	-	2 (% 100)
	(24)	16 (% 66.66)	4 (% 16.66)	4 (% 16.66)



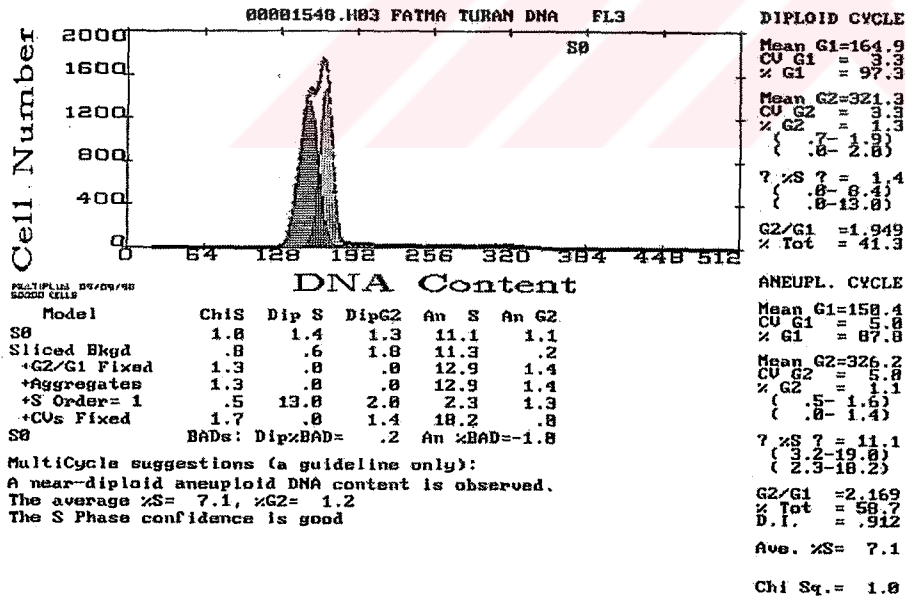
Şekil 6. ALL'li olgularda anöploidi.



Şekil 7. Diploid DNA histogram örneği.



Şekil 8. Hiperdiploid DNA histogram örneği

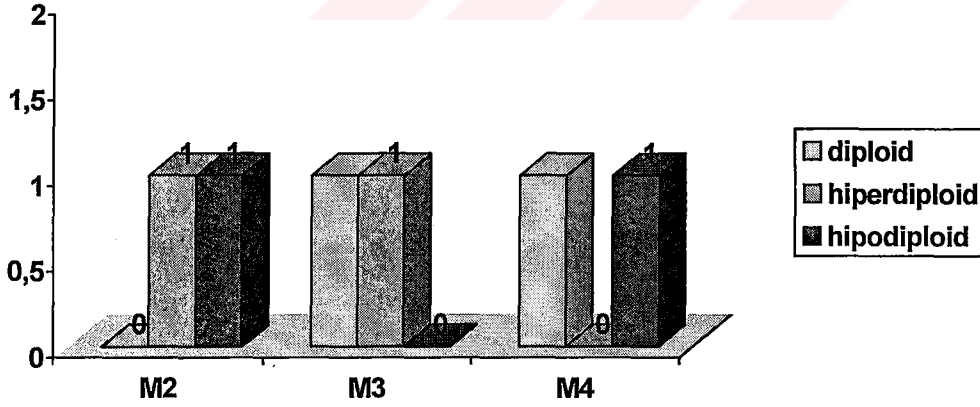


Şekil 9. Hipodiploid DNA histogram örneği

c-ALL'li olguların birinde (% 7.14) hiperdiploidi, ikisinde (% 14.28) ise hipodiploidi saptandı. T-ALL'li olguların hiç birinde hipodiploidi görülmezken, üçünde (% 37.50) hiperdiploidi gözlemlendi. B-ALL'li iki olguda (% 100) ise hipodiploidi saptandı. Geriye kalan tüm olgular diploid DNA içeriğine sahipti (Şekil 6, 7, 8, 9). AML'li altı olgunun ikisinde (% 33.33) hiperdiploidi, ikisinde (% 33.33) de hipodiploidi gözlemlendi. Hiperdiploidili olgulardan biri AML-M2, biri de AML-M3 idi. Hipodiploidili olguların ise biri AML-M2, diğeri de M4 idi (Tablo XVII , Şekil 10).

Tablo XVII. AML'li olgularda anöploidi

	Diploidi	Hiperdiploidi	Hipodiploidi
M2 (2)	-	1 (% 50)	1 (% 50)
M3 (2)	1 (% 50)	1 (% 50)	-
M4 (2)	1 (% 50)	-	1 (% 50)
(6)	2 (% 33.33)	2 (% 33.33)	2 (% 33.33)

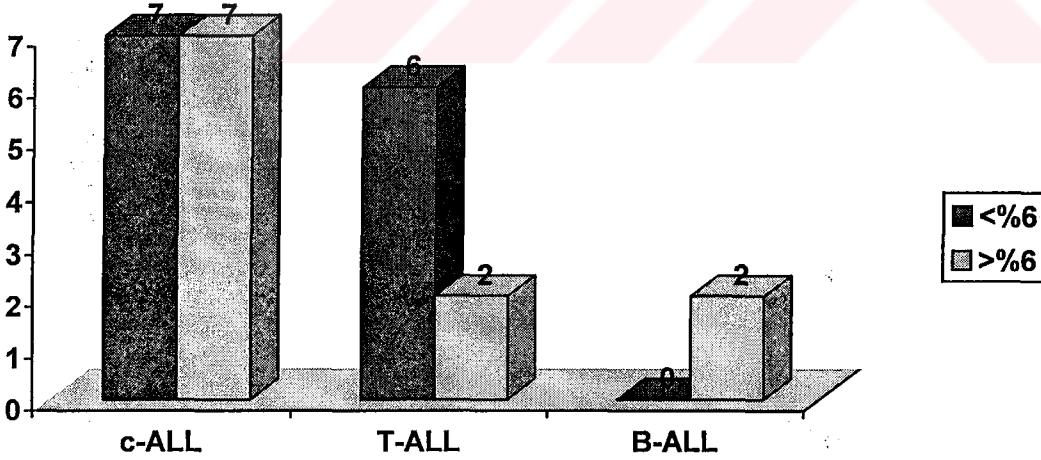


Şekil 10. AML'li olgularda anöploidi.

ALL'li olguların 13'ünde (% 54.16) SPF % 6'nın altında, 11'inde (% 45.83) ise % 6'nın üzerinde idi. c-ALL'li yedi (% 50) olgunun SPF % 6'nın üzerinde idi. T-ALL'li iki (% 25) olguda ve B-ALL'li iki (% 100) olguda SPF % 6'nın üzerinde bulundu (Tablo XVIII, Şekil 11).

Tablo XVIII. ALL'li olgularda sentez fazı fraksiyonu

		<% 6	>% 6
c-ALL	(14)	7	7
T	(8)	6	2
B	(2)	-	2
	(24)	13	11

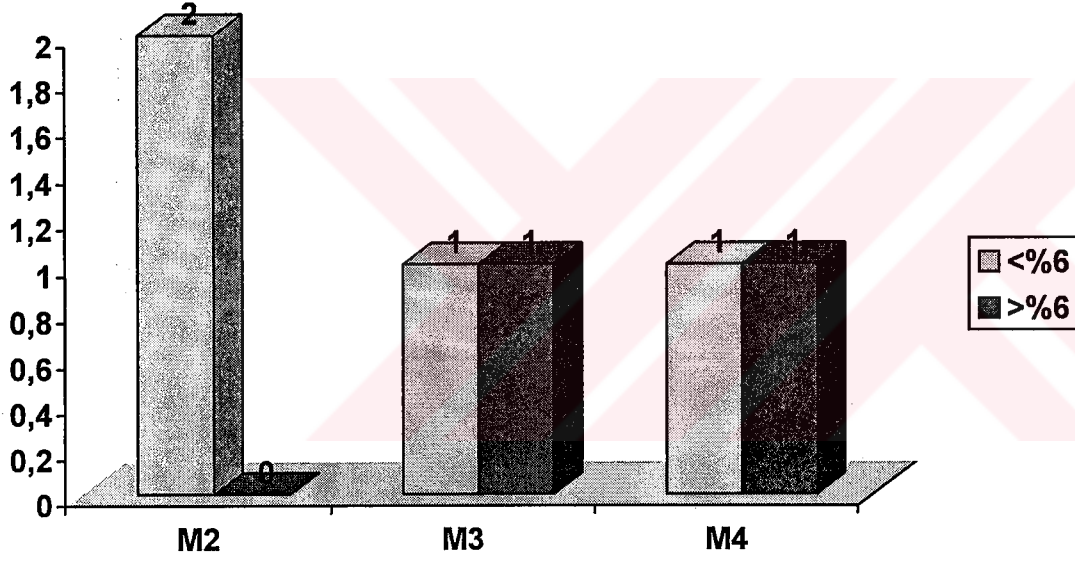


Şekil 11. ALL'li olgularda SPF değerleri.

AML'li iki (% 33.33) hastada SPF % 6'nın üzerinde, dördünde (% 66.66) ise % 6'nın altında idi (Tablo XIX, Şekil 12).

Tablo XIX. AML'li olgularda sentez fazı fraksiyonu

	< % 6	> % 6
M2 (2)	2	-
M3 (2)	1	1
M4 (2)	1	1
(6)	4	2



Şekil 12. AML'li olgularda SPF değerleri.

Akut lösemilerde prognozu belirleyen önemli faktörlerden ikisi olan yaş ve lökosit sayısı ile anöploidli ilişkisine bakıldığı zaman, hipodiploidi saptanan dört ALL'li olgunun lökosit sayılarının yüksek olduğu gözlemlendi. Fakat bu dört olgunun hepsinin yaşı 10'un altında idi. Hiperdiploidili olguların ikisi adölesan dönemde idi (Tablo XX).

Tablo XX. ALL'li olgularda yaş, lökosit sayısı ve anöploidi

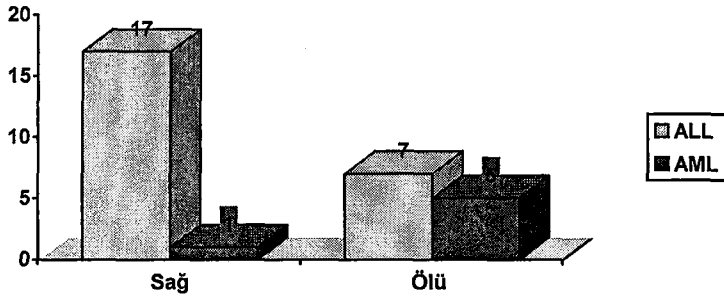
İsim	Yıl	BK/mm ³	Anöploidi
OT	14	1660	Hiperdiploidi
AK	6	5200	Hiperdiploidi
FE	14	11000	Hiperdiploidi
EÖ	8	3400	Hiperdiploidi
NNY	6	33210	Hipodiploidi
FT	9	110000	Hipodiploidi
SO	5	360000	Hipodiploidi
AD	9	88000	Hipodiploidi

AML'li olgularda ise gerek hiperdiploidi gerekse hipodiploidi gözlenen olguların lökosit sayıları çok düşük veya yüksekti ve yaşları da 10 ve daha altında idi (Tablo XXI).

Tablo XXI. AML'li olgularda yaş, lökosit sayısı ve anöploidi

İsim	Yıl	BK/mm ³	Anöploidi
BB	1	48300	Hiperdiploidi
SB	10	79800	Hiperdiploidi
HD	9	35000	Hipodiploidi
YB	10	1500	Hipodiploidi

ALL'li yedi (% 20.83) ve AML'li beş (% 83.33) olmak üzere toplam 12 (% 40) olgu öldü.

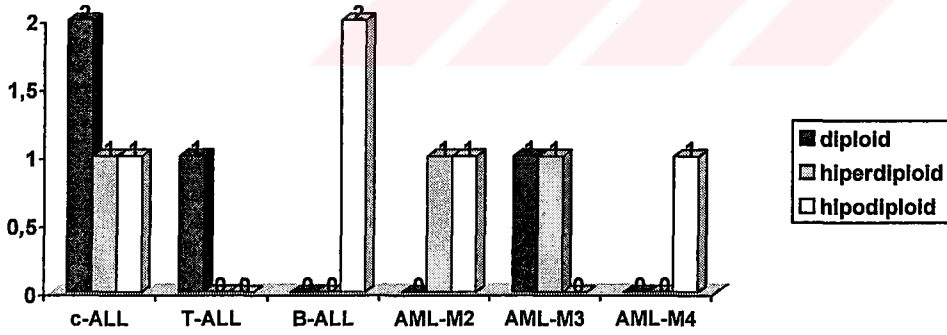


Şekil 13. Ölen olguların ALL ve AML'ye göre dağılımı

Ölen ALL'li olguların dördü c-ALL, biri T-ALL, ikisi de B-ALL idi. C-ALL olup da ölen olgulardan birinde hiperdiploidi, birinde hipodiploidi gözlenirken, T-ALL olup da ölen olgu diploid DNA'ya sahipti. B-ALL'li ölen her iki olguda ise hipodiploidinin varlığı saptandı (Tablo XXII, Şekil 14).

Tablo XXII. Ölen ALL ve AML'li olguların ploidi durumu

	Diploidi	Hipodiploidi	Hiperdiploidi
ALL			
c-ALL	2/11	1/2	1/1
T	1/5	-	0/3
B	-	2/2	-
AML			
M2	-	1/1	1/1
M3	1/1	-	1/1
M4	0/1	1/1	-

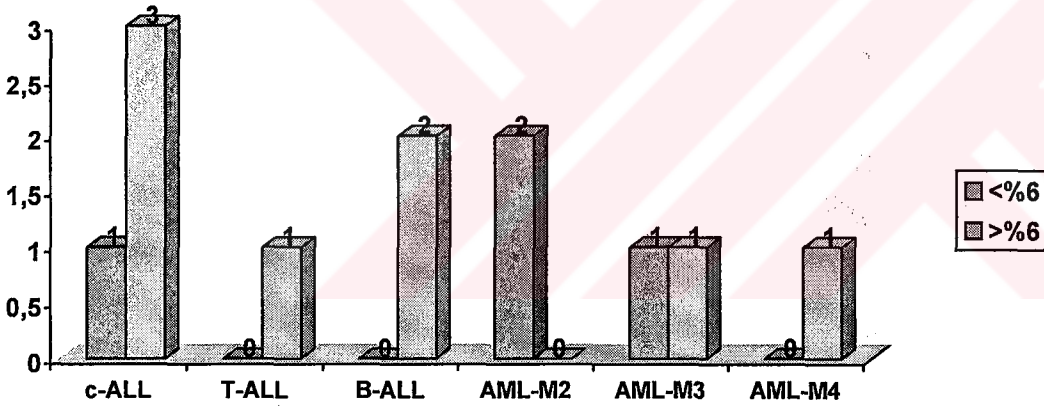


Şekil 14. Ölen ALL ve AML'li olguların ploidi durumları

c-ALL'li ölen dört olgunun üçünde SPF artmıştı. T-ALL'li olup da ölen olguda da SPF % 6'nın üzerinde idi. Ölen B-ALL'li her iki olgunun ise, SPF % 6'nın altında idi (Tablo XXIII , Şekil 15).

Tablo XXIII. Ölen ALL ve AML'li olguların SPF değerleri

	< % 6	> % 6
ALL		
c-ALL	1/7	3/7
T	10/6	1/2
B	-	2/2
AML		
M2	2/2	-
M3	1/1	1/1
M4	0/1	1/1



Şekil 15. Ölen ALL'li ve AML'li olguların SPF değerleri.

AML'li altı olgunun beşi öldü. Hayatta kalan tek AML'li olgu M4 fenotipine sahipti. AML'li olgularda ölüm ile anöploidi arasında paralellik gözlenmedi (Tablo XXIII, Şekil 14). AML'li ölen olguların SPF da % 6'nın üzerinde veya altında idi, ölüm ve SPF arasında paralellik saptanamadı (Tablo XXIII, Şekil 15).

TARTIŞMA

Çocukluk çağı lösemilerinde hastalıksız yaşam süresinin uzatılması hatta hastalığın tamamen iyileştirilmesi için başlangıç döneminde prognostik risk faktörlerinin iyi belirlenmesi ve riske göre tedavi yoğunluğunun düzenlenmesi gereklidir (1-3). Yoğun epipodofilotoksin kullanımı ile ikincil malignite ve nörofizyolojik yan etkilerin ortaya çıktığı bilinmektedir. Bu nedenle tedavide yaklaşım, etkili ama daha az toksik ilaçların kullanılması olmalıdır (32).

ALL ve AML 'de prognostik faktörler farklılıklar göstermekle birlikte ALL'nin AML'ye göre daha iyi prognoza sahip olduğu bilinir. HYS, 1965 yılından önce ALL'de % 5 iken, günümüzde % 70'lere ulaşmıştır. Bu düzelmeye lösemik hücrelerin biyolojisi konusunda bilgilerin artması ile gerçekleşmiştir (9). Camitta ve ark (9) dört yıllık HYS oranlarını düşük riskli ALL olgularında % 80.30, yüksek riskli grupta ise % 63.90 olarak vermektedir.

ALL ve AML'de olgunun yaşı prognozu etkileyen en önemli faktörlerin başında gelmektedir. Üç ile yedi yaşlar arasında ALL, bir yaşın altında ve 10 yaşın üzerinde olmak üzere de iki dönemde AML daha sık olarak gözlenmektedir. Bir yaşın altındaki infantlarda

ve 10 yaşın üzerindeki adölesan çocuklarda HYS'nin daha kısa olduğu bildirilmektedir. Özellikle 10 yaşın üzerindeki çocuklar arasında kız cinsiyete sahip olmak, prognozu iyi yönde etkilemekte ve erkeklere göre kızlarda HYS'nin % 20 daha uzun olduğu bildirilmektedir (1-3,12,16). Bizim ALL'li olgularımızın yaş ortalaması 8.35 yıl olup, bir olgumuz infant ve dört olgumuz da adölesan dönemde idi.

Smets ve ark.(33) yaş ve cinsiyetten sonra prognozu etkileyen en önemli faktörlerin lökosit sayısı , FAB'a göre morfolojik sınıf ve immunofenotip olduğunu belirtmektedirler. ALL'li olgularda lökosit sayısının <10000/mm³ olmasının iyi, 10000-50000/mm³ olmasının orta, >50000/mm³ üzerinde olmasının yüksek risk kabul edilmesi gerektiği tavsiye edilir. AML'de ise lökosit sayısının >100000/mm³ olmasının kötü prognoza işaret ettiği çeşitli araştırmalarda rapor edilmektedir. Lökosit sayısının yüksekliği daha çok 10 yaşın üzerindeki ALL olgularında görölmekte ve HYS'nin kısalması ile paralellik göstermektedir (1-6,12). Bizim AML'li olgularımızın hiç birinin lökosit sayısı >100000/mm³ değildi. Oysa ALL'li beş olgunun lökosit sayısı >100000/mm³'ün üzerinde ve üç olgunun da >50000/mm³'ün üzerinde idi. Bu olgulardan sadece biri 13 yaşından büyüktü, biri de infant idi. Onda ve ark.(23) 3-7 yaşlar arasında olan >10000/mm³ lökosit sayısına ve FAB'a göre L1 morfolojisine sahip ALL olgularının, CALLA (+) (erken-pre-B hücreli) ALL olduğunu, bu olgularda % 23-42 oranında hiperdiploidi saptandığını ve prognozun iyi olduğunu belirtmektedir. Çocukluk çağı ALL'lerinin % 60'ı erken-pre-B, % 15 kadarı da pre-B hücreli olup L1 morfolojisine sahiptir ve en iyi prognoz bu olgularda göröölür.T-ALL ise, tüm ALL olgularının % 13-15'ini oluşturur ve CD7, CD5, CD2 ve CD3 eksprese eder. L3 morfolojili ALL olgularının matür B fenotipi ile uygunluk gösterdiği tüm ALL olgularının ancak % 3-4'ünü oluşturduğu ve tedaviye iyi cevap vermedikleri bilinmektedir (1-3,33) . Bizim olgularımızdan ikisi L3 morfolojisine sahipti ve CD10 eksprese etmediği halde HLA-

DR, CD19 ve CD22 eksprese etmekte idi. Her iki olgu da ilk yıl içinde erken relaps gösterdi ve kaybedildi.

Stary ve ark.(30). ALL olgularının % 80.5'inin B hücrelerinin farklı evrelerinden geliştiğini, % 12.5'inin ise T kökenli olduğunu, % 7'sinin ise kökeninin belirlenemediğini ve B kökenli ALL'nin, T kökenli olanlara ve sınıflandırılmayanlara göre daha iyi bir gidişe sahip olduğunu belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise, B kökenli ALL'lerde % 94, T-ALL'lerde ise % 40 oranında CD10 ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Özellikle bir yaşın üzerinde ve düşük lökosit sayısına sahip olan B kökenli ALL olgularında CD10 ekspresyonunun prognozu iyi yönde etkilediği, ancak T-ALL'li olguların prognozunun kötü oluşu ile CD10 ekspresyonunun doğrudan ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (1-3,34).

Bizim olgularımızın % 58.5'i c-ALL ve % 33.33'ü T-ALL'ye sahipti. Literatür bilgilerine göre bizim olgularımız arasında T immünofenotipi biraz daha yüksek olarak saptanmıştır. Daha az sayıda Mo Ab içeren bir panel ile değerlendirmeye gidilmiş olması ayrıntılı bir immünofenotipleme yapılamamasında etken olabilir.

ALL olgularının % 6-22'sinde myeloid antijen pozitifdir ve bu olgularda prognozun daha kötü olduğu bilinir. Bir veya daha fazla My+ antijen pozitifliği near-tetraploidi ile birlikte olup, genellikle bu olgular L2 morfolojili ve T immünofenotipine sahiptirler (25).

ALL'de blastların % 70'inde CD34 antijeni de eksprese edilmektedir ve bu bulgunun prognozu iyi yönde etkilediği bilinmektedir. Fakat T-ALL olgularındaki CD34 ekspresyonu genellikle SSS lösemisi ve CD10 negatifliği ile birlikte olup, kötü prognostik faktör olarak kabul edilir (34) . Bizim çalışmamız kapsamında uygulanan lösemi panelinde CD34 yer almıyordu.

Çocukluk çağı ALL'lerinin % 87'sinde lösemik blastların yüzeyinde CD45 ekspresyonu vardır. Behm ve ark.(35) T-ALL'li olguların hepsinde ve B dizininden gelişen ALL

olgularının % 78'inde CD45 ekspresyonu olduğunu gösterdiler. CD45 negatifliği, düşük lökosit sayısı ve serum laktik dehidrogenaz seviyesi ile birlikte olup, daha iyi bir gidiş göstermektedir. Biz çalışmamızda CD45 eksprese etmeyen olguya rastlamadık.

İki yaşından büyük AML'li çocuklarda M2, M4 ve M1 morfolojik tipleri sık görülürken, 2 yaşından küçüklerde M4 ve M5 tiplerinin daha sık olduğu bilinir. Lökosit sayısının < 20000/mm³ olduğu M2, M3 ve eozinofilili M4 alt tiplerinin düşük riskli olduğu belirtilmektedir (5,6). Bizim AML'li olgularımızın ikisi M2, ikisi M3, ikisi de M4 alt tipinde idi ve olguların beşi öldü. Hayatta kalan tek olgu M4 morfolojili, büyük yaştaki bir kız olgu idi.

Lösemilerde prognozu etkileyen önemli faktörlerin başında sitogenetik anomaliler gelmektedir ve akut lösemilerde % 50-80 oranında kromozom anomalisine rastlanmaktadır. Translokasyon saptanan olgularda, tedaviye cevap altı kez daha azalmıştır (15) . t(15;17), t(8;21) ve inversion 16 gibi translokasyonların varlığı iyi prognozla birlikte (5,6,36,37) . ALL olgularında Ph⁺ pozitifliği, t(8;14), t(4;11) ve t(11;14) translokasyonlarının varlığı remisyon şansını azaltmakta, t(1;19) gibi translokasyonlarda tedaviye iyi cevap olmadığı bilinmesine rağmen, prognostik öneminin belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (38-40) . Bizim çalışma grubumuzu oluşturan olgularda teknik nedenlerle kromozomal translokasyon olup olmadığı gösterilemedi. Ancak, kuvvetli ve bağımsız bir prognostik faktör olan DNA ploidi durumu araştırılarak, olguların prognozu hakkında bilgi edinilmeye çalışıldı. Malign tümörlerin davranışını belirlemede oldukça önemli bir bulgu olan DNA ploidi incelemesi ve SPF oranının saptanması son yıllarda gittikçe artan bir önem kazanmaktadır (31).

Anöploidinin varlığı kolay, hızlı ve hassas yöntemler olan floresan in situ hibridizasyon veya AH yöntemi ile araştırılabilir (41-44) . Kromozomların sayısal veya yapısal aberasyonu diye

tanımlanan anöploidiye benign durumlarda rastlanmaz. Çocukluk çağı nöroblastom ve ALL'leri dışında malign neoplazmlarda anöploidinin varlığı ve SPF'nun artması, erken relapslarla birlikte olup, HYS oranını azaltır. Diğer neoplazmlardan farklı olarak çocukluk çağı lösemilerinin ancak % 25-30'unda anöploididen bahsedilmesine rağmen, % 70 oranında anöploidi gözleendiğini bildiren çalışmalar da vardır (30, 45). Bizim çalışmamızda ise, % 26.66'sı hiperdiploidi ve % 13.34'ü hipodiploidi olmak üzere, toplam % 40 oranında anöploidi saptandı.

Çocukluk çağı ALL'lerinde hiperdiploidinin varlığı iyi prognoza işaret eden bir göstergedir (46). Kromozom sayısının >50 olması veya DNA indeksinin >1.16'nın üzerinde olması diye tanımlanabilen hiperdiploidide blastik hücrelerin, diploid hücrelere veya diğer anöploidi şekillerini gösteren hücrelere göre daha yüksek oranda metotreksat poliglutamalarını topladığı, dolayısıyla bu hücrelerin metotreksat, merkaptopürin ve L-asparaginaz gibi ilaçlara karşı daha hassas olduğu gösterilmiştir (47-49).

Dastugue ve ark. (50). ALL'li olguların % 16.3'ünde kromozom sayısını 50'nin üzerinde, % 22.4'ünde ise 47-50 arasında bulmuş ve olguların % 6.1'inde ise hipodiploidi gözlemiştir. Bizim ALL'li olgularımızın % 21.42'sinde hiperdiploidi, % 21.42'sinde ise hipodiploidi gözleendi. Hiperdiploidi saptanan ALL'li olgulardan biri sepsis nedeniyle kaybedildi. Hiperdiploidinin B kökenli ALL olgularında daha sık olduğu vurgulanırken (47,49,51), Conde ve ark. (52) L2 morfolojili ALL'de L1'den daha fazla hiperdiploidi gözleendiğini ve olgularının hiçbirinde hipodiploidi saptamadıklarını belirtmektedir. Conde ve ark.'nın bulgularına uygun olarak, bizim hiperdiploidi saptadığımız olgularımızın üçü T-ALL idi ve T-ALL'li olgulardan hiçbirinde hipodiploidi gözlenmedi.

Hiperdiploidi sıklıkla lökosit sayısının düşüklüğü ile birlikte 10 yaş altındaki olgularda gözlenmektedir. Hiperdiploidili relaps olan olgularda hastalığın gidişi iyi değildir (9,22,53,54).

Birkaç araştırmacı da, normal karyotipe sahip olguların prognozunun, hiperdiploidili ve düşük lökosit sayılı olgulara göre daha iyi olduğunu belirtmişlerdir (55,56).

Near-haploidi, triploidi ve hipodiploidi çocukluk çağı ALL olgularında prognozun kötü olacağını göstergesidir (39,57-59). Bizim çalışma grubumuzda hipodiploidili dört olgudan üçünün ölmesi de bu bilgilere uygunluk gösteriyordu. Pui ve ark. (60) near-tetraploidinin My+ Ag pozitifliği, L2 morfolojisi ve T-immünofenotipi ile birlikte olduğunu vurgulamaktadır.

Hiperdiploid ALL'de S fazı hücrelerinin yüzdesi hiperdiploid olmayanlardan daha yüksek bulunmuş olmasına rağmen, ilaç direnci ve hassasiyeti ile S fazındaki hücrelerin yüzdesi arasında önemli bir ilişki bulunamamıştır (22). SPF T-ALL'de en yüksek, null-ALL'de ise en düşük bulunmuştur. SPF ile lökosit sayısı arasında korelasyon olmadığı belirtilmektedir (61). Bizim de hiperdiploidi gözlenen dört ALL olgumuzun üçünde SPF > % 6 idi ve bu olguların üçünün lökosit sayısı < 10000/mm³ idi.

Erişkin ALL olgularında ise DNA anöploidisi HYS'nin kısalığı ile birlikte dir. Oysa erişkin AML olgularında iyi prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir (62).

AML'li olgularda anöploidi özellikle de hiperdiploidi nadir bir bulgudur (63-65). Bir çalışmada % 9.1 oranında anöploidiye rastlandığı belirtilmesine rağmen, Lin ve ark. (64) 30 AML'li olgunun 12'sinde (% 40) anöploidi saptadıklarını ve bu olgularda erken relaps geliştiğini belirtmişlerdir. Neoplazmlarda hiperdiploidinin daha alışılmış olmasına rağmen, hipodiploidi ve near-haploidiye rastlanması daha nadirdir. Bir çalışmada lösemilerde hiperdiploidi % 16 bulunurken, hipodiploidi % 8 oranında gözlenmiştir (59). Bizim AML'li

olgularımızın % 66.66'sında anöploidi saptandı ve bu olgular kısa süre içinde kaybedildi.

Hipodiploidi veya hiperdiploidi olması ile ölüm arasında bir paralellik bulunamadı.

MDS'li olgularda diğerlerine göre hipodiploidinin varlığı HYS'nin kısalığı ile birlikte ve bu olgularda hipodiploidinin kemik iliği blast hücre sayısından bile daha iyi bir gösterge olduğu belirtilmektedir (66) . AML'li olgularda tetraploidi ($Dİ > 2.0$) veya near-tetraploidi olabileceği ve bu olgularda klinik gidişin ALL'deki gibi olacağı vurgulanmaktadır (67) . Myeloid lösemili olgularda ilaç direnci veya duyarlılığını ayırmak için de çalışmalar yapılmış ve rezistan hastalığı olanlarda anöploidi % 92 bulunurken, p-glikoprotein ekspresyonu % 28.5 bulunmuştur (68).

SPF'nin $> \% 6$ olması, blastların proliferatif kapasitesinin arttığına göstergesi olarak kabul edilir. AML'de ise, SPF ALL'den daha düşüktür (69) . ALL'li olup da ölen yedi olgumuzun SPF $> \% 6$ idi. AML'li olup da ölen beş olgumuzun sadece ikisinde SPF $> \% 6$ idi ve bu iki olgunun aynı zamanda $Dİ > 1.16$ idi.

Çalışmamızda ölen olguların anöploidi durumu ile yaş ve lökosit sayıları arasında paralellik olup olmadığı araştırıldığında; hiperdiploidiye sahip ALL'li olguların lökosit sayıları $< 20000/mm^3$ idi ve bu olgulardan ikisinin 10 yaşından büyük olduğu dikkati çekmekte idi. Hipodiploidili dört olgu da 10 yaşından küçük ve iki yaşından büyüktü. AML'li olup da ölen bir olgu bir yaşında idi ve iki olgunun lökosit sayısı yüksek olmasına karşılık, $< 100000/mm^3$ idi.

Sonuç olarak AML'de ister hiperdiploidi, ister hipodiploidi şeklinde olsun, anöploidi prognozu kötü yönde etkilemekte, bu durum yaş, lökosit sayısı ve AML morfolojisi ile paralellik göstermemekte idi. ALL'de ise hiperdiploidinin varlığının prognozu iyi yönde etkilediği ve bu durumun özellikle lökosit sayısı ile uyumluluk gösterdiği saptandı. Lökosit

sayısının yüksekliği, B fenotipine sahip olunması ile hipodiploidinin varlığı ve ölüm arasında paralellik olduğu gözlendi.

Ülkemiz şartlarında kolay, hızlı ve hassas bir yöntem olan AH ile DNA miktarı tayini ve SPF limnn lösemi prognozunu belirlemede daha yaygın kullanılmasının uygun olacağı sonucuna varıldı.



SONUÇLAR

Araştırma kapsamına alınan 30 akut lösemili olgunun 24'ü (% 80) ALL, altısı (% 20) AML idi.

ALL'li 24 olgunun 14'ü (% 58) c-ALL, sekizi (% 33.33) T-ALL, ikisi (% 8.33) ise B fenotipine sahipti.

AML'li 6 olgunun ikisi (% 33.33) M2, ikisi (% 33.33) M3 ve ikisi (% 33.33) de M4 fenotipinde idi.

Olguların yaş ortalaması 8.63 yıl olup, 18'i (% 60) erkek, 12'si (% 40) kız idi. ALL'li hastaların yaş ortalaması 8.35 yıl olup, 14'ü (% 58.33) erkek ve 10'u (% 41.66) kız idi.

AML'li olguların yaş ortalaması 9.50 yıl olup, dördü (% 66.66) erkek, ikisi (% 33.33) de kız idi.

Araştırmaya alınan 30 akut lösemili olgunun 12'sinde (% 40) anöploidi saptandı. ALL'li olguların dördünde hiperdiploidi, dördünde ise hipodiploidi olmak üzere sekizinde (% 33.33) ve AML'li olguların ise ikisinde hiperdiploidi ve ikisinde hipodiploidi olmak üzere dördünde (% 66.66) anöploidi gözlemlendi.

SPF, ALL'li olguların 13'ünde (% 54.16) % 6'nın altında, 11'inde (% 45.83) ise % 6'nın üzerinde bulundu.

SPF, AML'li iki (% 33.33) olguda % 6'nın üzerinde, dördünde (% 66.66) ise % 6'nın altında idi.

ALL'li olup da hiperdiploidi gözlenen olguların lökosit sayıları normal veya hafif yüksek iken, hipodiploidi saptanan olguların lökosit sayıları yüksek bulundu.

ALL'li olup da hiperdiploidi saptanan iki olgu, 10 yaşın üzerinde idi.

AML'li olgularda anöploidi ve lökosit sayısı arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi.

Araştırma kapsamına alınan 30 akut lösemili olgunun 12'si (% 40) öldü. Ölen olguların yedisi ALL, beşi ise AML'li idi.

Ölen ALL'li olguların dördü c-ALL, biri T-ALL, ikisi de B-ALL idi. c-ALL'li olup da ölen olgulardan birinde hiperdiploidi, birinde hipodiploidi gözlemlendi. T-ALL'li olup da ölen olgu diploid DNA içeriğine sahipti. B-ALL olup da ölen her iki olguda ise hipodiploidi vardı.

Ölen AML'li beş olgunun dördünde hiperdiploidi veya hipodiploidi şeklinde anöploidi vardı. c-ALL'li olup da ölen dört olgunun üçünde ve ölen T-ALL'li olguda SPF % 6'nın üzerinde idi. B-ALL'li olup da ölen her iki olguda ise SPF % 6'nın altında idi.

AML'li olup da ölen beş olguda SPF > % 6 veya < % 6 idi.

ÖZET

Son yıllarda çocukluk çağı akut lösemilerinin tedavisinde büyük ilerlemeler kaydedilmiş ve ALL tamamen iyileşebilir bir hastalık halini almıştır. Lösemiden tam iyileşmenin sağlanması için tanı aşamasında prognostik risk faktörlerinin iyi belirlenmesi önem kazanır. Bu faktörlerin en önemlilerinden biri de hücre içi DNA miktarının tayini ve sentez fazı fraksiyonunun ölçülmesidir. Özellikle ALL'de hiperdiploidinin varlığı, prognozun iyi olacağına göstergesi kabul edilir.

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı'nda tanı alan 24'ü ALL, 6'sı AML olan 30 akut lösemili olguda AH ile DNA miktarı ve SPF ölçümü yapılarak prognoza etkisi araştırıldı. ALL'li 24 olgunun 8'inde ve AML'li 6 olgunun dördünde olmak üzere, toplam 12 olguda (% 40) anöploidisi saptandı. C-ALL'li bir ve T-ALL'li üç olguda hiperdiploidi gözlenirken, c-ALL'li iki ve B-ALL'li iki olguda hipodiploidi saptandı. Bir AML M2, bir de AML M3 olan olguda hiperdiploidi, AML M2 ve M4 olan diğer iki olguda ise hipodiploidi saptandı. ALL'li olguların 13'ünde SPF < % 6,

11'inde ise SPF > % 6 bulundu. AML M3 ve M4 olan iki olguda SPF > % 6 iken, diğer AML'li olgularda SPF < % 6 idi. Takip sırasında ALL'li yedi ve AML'li beş olgu öldü. Ölen ALL'li olguların dördü c-ALL, biri T-ALL ve ikisi de B-ALL idi. B-ALL'li iki olguda ve c-ALL'li olup da ölen olgulardan birinde hipodiploidi vardı. Hiperdiploidi saptandığı halde, T-ALL'li bir olgu sepsis nedeni ile kaybedildi. AML'li olgularda ölüm ve anöploidi arasında paralellik gözlenmedi. Hipodiploidi saptanan ALL'li dört olgunun lökosit sayıları > 50000/mm³ idi ve bu olgular 10 yaşın altında idi. AML'li olgularda ise anöploidi ile yaş ve lökosit sayıları arasında ilişki kurulamadı.

ALL'li olgularda lökosit sayısının yüksekliği, B fenotipi, hipodiploidi ve ölüm arasında paralellik olduğu halde, AML'li olgularda hipodiploidi veya hiperdiploidi olsun, anöploidi ile yaş ve lökosit sayıları arasında paralellik olmasa da prognozun kötü olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, çocukluk çağı lösemilerinde DNA miktarı tayini ve SPF ölçülmesinin iyi bir prognostik faktör olduğu vurgulandı.

SUMMARY

Acute leukemia in childhood is a curable disease because of recent advances in the treatment of acute leukemia. Therefore, it is important that trials prospectively collect data on potential prognostic factors in all patients.

Measurement of DNA content and SPF has strong and independent prognostic significance. DNA hyperdiploidy is especially associated with a favorable prognosis in ALL.

In this study, DNA content and S-phase fraction (SPF) were analyzed by flow cytometry in 30 cases diagnosed with ALL (24) and AML (6) in Pediatric Department of Hematology of Erciyes University Medical Faculty by flow cytometry and were determined the relationship between DNA ploidy and prognosis. Eight of 24 cases with ALL and four of six cases with AML had aneuploidy.

One case with c-ALL and three cases with T-ALL had hyperdiploidy but two cases with B-ALL had hypodiploidy. Two cases with AML M2 and M3 had hyperdiploidy but two other cases with AML M2 and M4 had hyperdiploidy. 13 cases with ALL had SPF < % 6 but 11

cases with ALL had SPF > % 6. Two cases with AML M3 and M4 had SPF > % 6 but other cases with AML had SPF < % 6.

Seven cases with ALL and 5 cases with AML died in follow up period. 4 of 7 cases with ALL who had c-ALL, one case had T-ALL and also two cases had B-ALL. Hypodiploidy was observed in two dead cases with B-ALL and one dead case with c-ALL. One case with T-ALL had hyperdiploidy died because of septicemia. No correlation was observed between aneuploidy and death in cases with AML.

Leucocytes counts of four cases who had hyperdiploidy were above > 50000/mm³ and they were younger than 10 years. No relationship between aneuploidy, age and leucocyte counts of cases with AML was founded. Although the parallelism was observed between death, hypodiploidy, B-immunophenotyping and leucocyte counts in cases with ALL, no correlation was founded among death, aneuploidy and leucocyte counts in cases with AML. Finally, it was emphasized that analysis of DNA content and SPF had a prognostic significance.

KAYNAKLAR

1. Poplack DG. Acute lymphoblastic leukemia. In: Pizzo PA, Poplack DG (eds), Pediatric Oncology (2nd ed). JB Lippincott, Philadelphia 1993, pp 431-482.
2. Niemeyer CM, Sallan SE. Acute lymphoblastic leukemia. In: Nathan DG and Orkin SH (eds), Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood . WB Saunders, Philadelphia 1998, pp 1245-1285.
3. Crist WM, Smithson WA. The leukemias. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds), Nelson's Textbook of Pediatrics (16th ed). WB Saunders, Philadelphia 2000, pp 1543-1547.
4. Hoffbrand A, Pettit JE. Clinical Haematology (2nd ed). Mosby-Wolfe, London 1994, pp 149-178.
5. Grier HE, Weinstein HJ. Acute myelogenous leukemia. In: Pizzo PA, Poplack DG (eds), Pediatric Oncology (2nd ed). JB Lippincott, Philadelphia 1993, pp 483-500.

6. Grier HE, Civin CI. Myeloid leukemias, myelodysplasia, and myeloproliferative disease in children. In: Nathan DG and Orkin SH (eds), Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood . WB Saunders, Philadelphia 1998, pp 1286-1322.
7. Uckun FM, Gajl-Peczalska K, Provisor AJ, Heerema NA. Immunophenotype-karyotype associations in human acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1989; 73:271-280.
8. Pui CH, Behm FG, Christ MG. Clinical and biologic relevance of immunologic marker studies in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1993; 82:343-362.
9. Camitta BM, Pullen J, Murphy S. Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia in children. *Semin Oncol* 1997; 24:83-91.
10. Cacciola E, Guglielma P, Cacciola E, Stagno F, Cacciola RR, Impera S. CD34 expression in adult acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1995; 18 suppl 1:31-36.
11. Patiroğlu T, Ünal A, Özdemir MA. Immunophenotyping in acute leukemias. *Türk J Med Sci* 1996; 26:33-36.
12. Santana VM, Dodge RK, Crist WM, et al. Presenting features and treatment outcome of adolescents with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1990; 4:87-90.
13. Michael PM, Garson OM, Ekert H, Tauro G, Rennie GL, Pilkington GR. Prospective study of childhood acute lymphocytic leukemia: hematologic, immunologic and cytogenetic correlations. *Med Pediatr Oncol* 1988; 16:153-161.
14. Pui CH, Raimondi SC, Hancock ML, et al. Immunologic cytogenetic and clinical characterization of childhood acute lymphoblastic leukemia with the t (1;19) (q23;p13) or its derivative. *J Clin Oncol* 1994; 12:2601-2606.
15. Williams DL, Harber J, Murphy S, et al. Chromosomal translocations play a unique role in influencing prognosis in childhood ALL. *Blood* 1986; 68:205-212.

16. Shuster JJ, Wacker P, Pullen J, et al. Prognostic significance of sex in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1998; 16:2854-2863.
17. Riley RS, Mahin EJ. Clinical applications of flow cytometry. ASCP National Meeting Fall, 1989, Washington DC, p 105.
18. Ormerod MG. Analysis of DNA. Flow Cytometry. Bios Scientific Publishers, Oxford 1994, pp 29-39.
19. Yillar G. Flow cytometry'de DNA analizi. In: Yılmaz MT, Deniz G (eds), Flow Cytometry ve Tıpta Kullanımı. Bilmedya Grup, Istanbul 1999, ss 47-56.
20. Eckschlagen T, Pilot D, Kodet R, Stary J, Jasinska J, Hrusak O. DNA cytometry analysis in childhood tumors. *Cas Lek Cesk* 1995; 134:302-305.
21. Banerjee D. Flow cytometry related to hematopoietic malignancy. *Transfus Sci* 1995; 16:315-320.
22. Kaspers GJ, Smets LA, Pieters R, von Zantwijk CA, von Wering ER, Veerman AJ. Favorable prognosis of hyperdiploid common acute lymphoblastic leukemia may be explained by sensitivity to antimetabolites and other drugs: results of an in vitro study. *Blood* 1995; 85:751-756.
23. Onodera N, McCabe NR, Rubin CM. Formation of hyperdiploid karyotype in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1992; 80:203-208.
24. Peregud-Pogonzelski J, Fydryk J, Knygien-Stojalowska A, Urasinski T, Kamienska E. DNA index and proliferative activity of blastic cells in childhood ALL. *Acta Haematol Pol* 1995; 26:73-79.
25. Pui CH, Crist WM, Look AT. Biology and clinical significance of cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1990; 76:1449-1463.

26. Demirel GY. Akut lösemi ve lenfomada immünofenotipleme. In: Yılmaz MT, Deniz G (eds), Flow Cytometry ve Tıpta Kullanımı. Bilmedya Grup, İstanbul 1999, ss 33-46.
27. Ural AU, Avcı F, Kuzhan O, ve ark. Akut nonlenfoblastik lösemide lenfoid antijen ekspresyonu (ön rapor). THOD 1999; 9:147-150.
28. Orfao A, Ruiz-Arguelles A, Lacombe F, Ault K, Basso G, Donova M. Flow cytometry: its applications in hematology. Haematologica 1995; 80:69-81.
29. Bilgiç S. Flow cytometry'nin çalışma mekanizması ve prensipleri. In: Yılmaz MT, Deniz G (eds), Flow Cytometry ve Tıpta Kullanımı. Bilmedya Grup, İstanbul 1999, ss 1-10.
30. Stary J, Sokol L, Hausner P, et al. Use of flow cytometry in the diagnosis of acute leukemias in childhood. Cas Lek Cesk 1992; 131:364-367.
31. Özbilim G, Peştereli E, Elpek Ö, Paker S, Saka O, Karpuzoğlu G. Hodgkin dışı lenfomalarda akım sitometrisi ile DNA miktarı ve sentez fazı fraksiyonu (SPF) saptanması: SPF ile "proliferating nuclear antigen" (PCNA) indeksi ilişkisi. THOD 1999; 2:76-81.
32. Cassano WF, Eskenazi AE, Frenz CN. Therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. Curr Op in Oncol 1993; 5:42-52.
33. Smets LA, Slater R, van Wering ER, et al. Prognostic implication of hyperdiploidy as based on DNA flow cytometric measurement in childhood acute lymphoblastic leukemia - a multicenter study. Leukemia 1987; 3:163-166.
34. Pui CH, Rivera GK, Hancock ML, et al. Clinical significance of CD10 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. Leukemia 1993; 1:35-40.
35. 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.
36. Ye J, Cao Q, Su X, et al. Biological and clinical significance of cytogenetic study on 100 acute lymphoblastic leukemia and 219 acute non-lymphoblastic leukemia. *Chin Med (Eng)* 1997; 110:90-95.
37. Shikano T, Naito H, Kobayashi R, et al. Cytogenetic studies on 53 childhood acute nonlymphocytic leukemia. *Rinsho Ketsueki* 1991; 32:766-772.
38. Shikoshi K. Correlation between karyotype and prognosis in adult lymphocytic leukemia. *Nippon Rinsho* 1992; 50:1281-1285.
39. Anonymous. Cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia; correlations with hematologic findings outcome. A Collaborative Study of the Group Francais de Cytogenetique Hematologique. *Blood* 1996; 87:3135-3142.
40. Jackson JF, Boyett J, Pullen J, et al. Favorable prognosis associated with hyperdiploidy in children with acute lymphocytic leukemia correlates with extra chromosome 6. A Pediatric Oncology Group Study. *Cancer* 1990; 66:1183-1189.
41. Ritterbach J, Hiddemann W, Beek JD, et al. Detection of hyperdiploid karyotypes (>50 chromosomes) in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Leukemia* 1998; 12:427-433.
42. Ma SK, Chan GC, Wan TS, et al. Near-haploid common acute lymphoblastic leukemia of childhood with ascend hyperdiploid line: a DNA ploidy and fluorescence in-situ hybridization study. *Br J Haematol* 1998; 103:750-755.
43. Haas O, Henn T, Romanakis K, du Manoir S, Lengauen C. Comparative genomic hybridization as part of a new diagnostic strategy in childhood hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1998; 12:474-481.

44. Lowery MC, Bull RM, Scotto CG. Identification of hyperdiploidy in fixed cells from pediatric acute lymphoblastic leukemia cases using flow cytometry and cytogenetic analysis. *Cancer Genet Cytogenet* 1993; 67:136-140.
45. Czader M, Porwitt A, Söderhall S, et al. DNA image analysis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1993; 9:229-235.
46. Teo SH, Ng I, Tan CL, Lou CL, Knight L. Cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Ann Acad Med Singapore* 1994; 23:814-818.
47. Whithead VM, Vuchich MJ, Cooley LD, et al. Accumulation of methotrexate polyglutamates, ploidy and trisomies of both chromosomes 4 and 10 in lymphoblast from children with B-progenitor cell acute lymphoblastic leukemia; a Pediatric Oncology Group Study. *Leuk Lymphoma* 1998; 31:507-519.
48. Roumanti SG, Robenson PK, Pui CH, Behm FG, Rivera GK. Hyperdiploid (47-50) acute lymphoblastic leukemia in children. *Blood* 1992; 79:3245-3252.
49. Smets LA, Slater RM, Behrendt H, Van't Veen MB, Homan-Blok J. Phenotypic and karyotypic properties of hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Br J Haematol* 1985; 61:113-123.
50. Dastugue N, Robert A, Payer C, et al. Prognostic significance of karyotype in a twelve-year follow-up in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 64:49-55.
51. Donmen P, Ucci G, Lau B, Haas RJ, Janka GE. In vivo production of childhood acute lymphoblastic leukemia cells in relation to ploidy and immunological subtype. *Leuk Res* 1984; 8:587-595.

52. Conde E, Cuadrado MA, Carretero F, et al. Prognostic value of the changes in the DNA of blast cells from patients with acute lymphoblastic leukemia. *Sangre (Barc)* 1989; 34:99-106.
53. Stary J, Hrodek O, Hausner P, Petrakova A, Goetz P, Kreugen A. The importance of blast cell DNA content for prognosis of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Neoplasma* 1990; 37:293-299.
54. Shikaro T, Ishikawa Y, Kobayashi R, et al. Hyperdiploidy (greater than 50 chromosomes) has the most favorable prognosis among the major karyotypic subgroups of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Rinsho Ketsueki* 1990; 3:308-314.
55. Wanghray M, Rowley JD, Reddy PP, Reddy SV. A cytogenetic study of children in India with acute lymphocytic leukemia: correlation with clinical data. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 23:225-237.
56. Panikh PM, Ashokkuman MS, Pai SK, et al. Prognostic significance of DNA index by flow cytometry in acute lymphoblastic leukemia. *Indian J Med Res* 1995; 102:24-27.
57. Verma RS, Macera MJ, Silver RT, Coleman M. Origin of near-haploidy in malignant hematopoietic cells. *Leuk Res* 1988; 12:941-950.
58. Brodeur GM, Williams DL, Look AT, Bowman WP, Kalwinsky DK. Near-haploid acute lymphoblastic leukemia: a unique subgroup with a poor prognosis? *Blood* 1981; 58:14-19.
59. Pituch-Nowarolska A, Gawlicka M. Evaluation of cell cycle in acute leukemias and non-Hodgkins' lymphomas in children. *Acta Haematol Pol* 1993; 24:365-371.
60. Pui CH, Carol AJ, Head D, et al. Near-triploid and near-tetraploid acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Blood* 1990; 76:590-596.

61. Exadaktylos P, Schette O, Rumber W, et al. Impulse cytophotometry studies of bone marrow and blood cells in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL)-2-lymphatic cells in blood. *Folia Haematol Int Mag morphol Blut Forsch* 1987; 114:617-623.
62. Barlogie B, Stass S, Dixon D, et al. DNA aneuploidy in acute leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 28:213-228.
63. Kwong YL, Wong KF. Hyperdiploid acute myeloid leukemia. Relationship between blast size and karyotype demonstrated by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 1995; 83:1-4.
64. Lin FR, Yao EG, Zuo LF, et al. Correlative study on the expression of p53 and DNA ploidy in acute nonlymphoblastic leukemia. *J Tangji Univ* 1995; 15:143-146.
65. Olah E, Balogh E, Szollar J, et al. Cytogenetic investigations on children with acute non-lymphocytic leukemia. *Blut* 1988; 56:249-255.
66. Clark R, Peters S, Hoy T, Smith S, Whittaker K, Jacobs A. Prognostic importance of hypodiploid hemopoietic precursors in myelodysplastic syndromes. *N Eng J Med* 1986; 314:1472-1475.
67. Clarke MR, Lynch EF, Contis LC, Sherer ME, Shekhter-Levin S. Near-tetraploidy in adult acute myelogenous leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1996; 86:107-115.
68. Emura I, Naito M, Kakiyama T, Wakabayashi M, Hayashi N, Chou T. Identification of drug-resistant myeloid leukemic cells by measurement of DNA content, nuclear area and detection of P-glycoprotein. *Cancer* 1996; 77:878-887.

69. Smets LA, Slater R, van Wering ER, et al. DNA index and % S-phase cells determined in acute lymphoblastic leukemia of children: a report from studies ALL V, ALL VI, and ALL VII (1979-1991) of the Dutch Childhood Leukemia Study Group and The Nederlands Workgroup on Cancer Genetics and Cytogenetics. *Med Pediatr Oncol* 1995; 25:437-444.



Ek Tablo. Olguların klinik ve hematolojik bulguları

İsim	Yaş	Cins	LAP	HSM	SSS tutulumu	Mediasten genişliği	Hb g/dl	Lökosit /mm ³	Plt /mm ³
AÇ	9	K	+	++++	+	+	7.4	150000	24000
NY	8	K	+	+++	-	-	10.1	14000	30000
YY	5	E	+++	+	-	-	5.1	146780	25000
MÇ	13	E	+	+++	-	-	13.4	41000	31000
EÖ	8	E	++++	++++	-	+	9.9	3400	13900
AK	6	E	+	+++	+	-	6.9	5200	99000
DB	6	E	+	+	-	-	6.4	16500	38000
CA	6	E	+	+	+	-	4.5	1700	9400
SE	15	K	+	-	-	-	8.8	3820	43000
EÇ	11	E	+	+	-	+	10.3	75000	36700
SD	6	K	+	+	-	-	6.5	50730	10700
SO	5	E	+	+++	-	-	8.9	360000	7900
MS	4	E	+	++	-	-	8.3	27000	18900
FE	14	E	+	++	+	-	6.5	11000	81000
HD	9	E	+	++	-	-	4.7	35000	95000
ÖE	8	K	+	+++	-	-	5.5	23700	13300
SI	1.5	K	+	++	-	+	8.5	117000	7800
SB	10	E	+	-	-	-	10	79800	35000
AD	9	E	+	+	-	-	11.3	88400	16000
FT	9	K	+++	+++	-	-	7.6	110000	33000
MY	8	E	-	-	-	-	10	107000	64900
OT	14	E	+	-	-	-	9.3	1660	204000
YB	10	E	+	++	-	-	7.4	1500	58000
NNY	5	K	+	++	-	-	7.5	33210	14000
ŞB	6	K	+	++	-	-	7.6	4300	22000
BB	1.5	E	+	++	-	-	6.3	48300	103000
İO	8	E	+	++	-	-	7.5	28000	78000
YEL	12	K	+	++	-	-	8.5	26000	61000
BG	10	K	+	++	-	-	6.4	18000	46000
ZÜ	14	K	+	++	+	-	10.3	5200	33000