

Akut Myeloid Lösemi Hastalarımızın Retrospektif Değerlendirilmesi

RETROSPECTIVE EVALUATION OF PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Şerife Solmaz MEDENİ¹, Ömür Gökmen SEVİNDİK², Celal ACAR², Doğuş TÜRKYILMAZ², Süreyya Yiğit KAYA², Sunay TUNALI², İnci ALACACIOĞLU², Özden PİŞKİN², Fatih DEMİRKAN², Güner Hayri ÖZSAN², Mehmet Ali ÖZCAN², Bülent ÜNDAR²

¹ Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hematoloji BD, İzmir

² Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji BD, İzmir

ÖZ

Amaç: Akut Myeloid Lösemide (AML) konvansiyonel sitogenetik, FISH analizi ve moleküler genetik testler (Flt-3,NPM 1, inv 16 gibi) tedavi stratejisinde önem taşımaktadır. Çalışmamızda AML tanılı hastalarımızın sitogenetik ve moleküler sonuçları ile tedavi yanıtlarını değerlendirdik.

Yöntemler: Çalışmamıza Temmuz 2006-Haziran 2014 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi hematoloji kliniğinde AML tanısı konan 140 hasta alınmıştır.

Bulgular: Ortanca izlem süresi 14,4 ay olan olguların 68'i kadın(%48,6), 72'si erkek (%51,4) olup ortanca yaş 53 idi. Sitogenetik sonuçları değerlendirildiğinde olgulardan 85'i (%60,7'si) normal sitogenetikli,15 olguda bakılmamış (%10,7), 18 olguda yetersiz sitogenetik (%12,9) 14 olguda (%9,8) kompleks karyotip, 2 olguda trizomi 8, 2 olguda 11q, 1 olguda t(8;21), 1 olguda t(15;17), 1 olguda 5q, 1 olguda t(1;18) saptandı. Olgularımızdan 65 tanesine moleküler test (Flt-3, NPM1,inv16) yapılmış olduğu görüldü. Kırk yedi olgu moleküler yönden negatif, 8 olgu NPM1 pozitif,10 olgu ise Flt-3 pozitif olarak saptandı. Ortanca 14,4 aylık izlem süresi sonunda %70 olgunun ex olduğu ve nedenleri incelendiğinde ise %40,7 sinin hastalık nedeni ile, %30,6 sinin enfeksiyon nedeni ve %28,7 sinin de diğer nedenlerden dolayı olduğu tespit edildi. Ortanca sağkalım 11±1,4 aydı. 3 yıllık sağkalım %22, 5 yıllık sağkalım %19'du. Hastalısız sağkalım 10±1,2 ay saptandı.

Tartışma: Hastalarımızın moleküler ve sitogenetik verileri tam olmamakla beraber, NPM 1 pozitif olan hasta grubumuzun en iyi prognoza sahip olduğu görülmüştür. Bununla beraber 65 yaş ve altı hasta grubumuzun tedavi yanıtlarının daha iyi olduğu gözlenmiştir. Literatür incelendiğinde de sonuçlarımızın benzer olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Akut Myeloid Lösemi, Flt-3, NPM1, inv16

ABSTRACT

Objective: Conventional cytogenetics, FISH analysis and molecular genetic testing (Flt-3, NPM 1,as inv 16) are important at treatment strategies for Acute Myeloid Leukemia (AML). In our study, we evaluated the cytogenetic and molecular results of the patients with AML together with their treatment response.

Methods: One hundred forty patients diagnosed as AML in the hematology clinic of Dokuz Eylul University Faculty of Medicine between July 2006-June 2014 were included in this study.

Results: Median follow-up period was 14.4 months, 68 patients were female (48,6%), 72 were male (51,4%) and the median age was 53. When cytogenetic results were evaluated: cytogenetics was normal in 85 cases (60,7%), not checked in 15 cases (10.7%),

Şerife Solmaz MEDENİ
Bozyaka Eğitim ve Araştırma
Hastanesi
Hematoloji BD
İZMİR

inadequate in 18 cases (12.9%). Fourteen patients (9.8%) had complex karyotype, trisomy, 2 had trisomy 8, 2 had 11 q, 1 had t(8;21), 1 had t(15;17), 1 had 5q, 1 had t(1;18). Molecular tests (Flt-3, NPM1, inv16) were performed in 65 patients. Forty seven patients were negative while 8 patients were NPM1 positive and 10 patients were Flt-3 positive. At the end of 14,4 months (the median follow-up period) 70% of cases were ex. The cause of deaths was the disease itself for 40,7%, infection for 30,6% and other factors for 28,7%. The median survival was 11±1.4 months. Three year survival rate was 22%, five year survival was rate 19%. Disease-free survival time was found to be 10±1.2 months.

Conclusion: Although the molecular and cytogenetic data do not exist for all patients, the group of patients with positive NPM has been shown to have the best prognosis. Therapeutic responses of patients younger than 65 years have been observed to be better. The literature was also found to show similar results.

Keywords: Acute Myeloid Leukemia, Flt-3, NPM1, inv16

Akut Myeloid Lösemide (AML) klasik konvansiyonel sitogenetik ve FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon) analizi; lösemi tanısı, prognozu ve tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde klinik tanıya büyük destek sağlamaktadır. Ayrıca prognozu belirlemede yol gösterici olan moleküler genetik testler de (Flt-3, NPM 1, inv 16 gibi) oldukça güncel olup tedavi stratejisinde önem taşımaktadır. Biz de bu çalışmamızda AML tanısı alan hastalarımızı sitogenetik ve moleküler sonuçları ile tedavi yanıtlarını değerlendirdik.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Temmuz 2006 ve haziran 2014 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi tıp fakültesi hematoloji kliniğinde akut myeloid lösemi (AML) tanısı olarak tedavi edilen 140 hasta alındı. AML tanısı alan hastaların demografik, klinik, sitogenetik ve moleküler özellikleri, AML indüksiyon, konsolidasyon tedavilerinin tüm sağkalım (OS) ve progresyonsuz sağkalım (PFS) üzerine etkileri retrospektif olarak incelendi. İstatistik analizde SPSS 15 programı kullanıldı.

BULGULAR

Ortanca izlem süresi 14.4 ay (min 1 ay, max 96 ay) olan olguların 68'i kadın (%48,6), 72 si erkek (%51,4) olup ortanca yaş 53 ±15,3 (17-83) idi. Hastaların tanı anındaki laboratuvar sonuçları incelendiğinde tanı anında Hb ortanca değeri 8,5± 1,8 g/dL (4,1-16 g/dL), WBC ortanca değeri 37,910³/μL (0,510³/μL - 28010³/μL), PLT ortanca değeri 72 10³/μL (10 10³/μL-439 10³/μL), LDH ortanca değeri 637 U/L (128-3892 U/L) olarak gözlendi.

Tanıdaki sitogenetik sonuçları değerlendirildiğinde olgulardan 85'i (%60,7'si) normal sitogenetikli, 15 olguda bakılmamış olduğu (%10,7), 18 olguda yetersiz sitogenetik (%12,9), 14 olgunun (%9,8) kompleks karyotipli, 2 olguda trizomi 8, 2 olguda 11 q, 1 olguda t(8;21), 1 olguda t(15;17), 1 olguda 5q, 1 olguda t(1;18) saptandı (Tablo I).

Olgularımızdan 65 tanesine moleküler test (Flt-3, NPM1, inv16) yapılmış olduğu görüldü. 47 olgu moleküler yönden normaldi, 8 olgu NPM1 pozitif, 10 olgu ise Flt-3 pozitif olarak saptandı. Flt-3 pozitif hastalara bakıldığında 9 tanesinin Flt-3 ITD pozitif, 1 tanesinin ise Flt-3 D835 pozitif olduğu görüldü. 4 hastada ise Flt-3 pozitifliği dışında aynı zamanda Npm 1 pozitif olduğu saptandı. (Tablo II)

Tablo I. Sitogenetik sonuçlar

Sitogenetik sonuç	Hasta sayısı	%
Normal	85	60.7
Yetersiz	18	12.9
Bakılmamış	15	10.7
Kompleks karyotip	14	9.8
Trizomi 8	2	1.4
11q	2	1.4
t(8;21)	1	0.7
t(15;17)	1	0.7
5q	1	0.7
t(1;18)	1	0.7

Tablo II. Moleküler tetkik sonuçları

Moleküler sonuç	Hasta sayısı	%
Negatif	47	72,3
Flt-3	10	15,3
Npm 1	8	12,3

Tablo III. FISH sonuçları

FISH sonuçları	Hasta sayısı	%
Negatif	97	69,2
Bakılmamış	28	20
t(15;17)	7	5
t(8;21)	4	2,85
5q	4	2,85

Tanıdaki FISH (t(15;17), t(8;21), 5q, inv 16) sonuçları incelendiğinde ise 97 olguda FISH negatif, 28 olgunun FISH bakılmamış, 7 olguda t(15;17), 4 olguda t(8;21), 4 olguda ise 5q pozitif olduğu görüldü (Tablo III).

Hastaların ilk kür ile tam yanıt (CR) durumuna bakıldığında 101 hastanın (%72,1) CR, 34 hastanın (%24,3) yanıtı, 5 hastanın (%3,6) ise indüksiyon tedavisi sırasında kaybedildiğinden yanıt durumunun değerlendirilemediği saptandı. Hastalardan 38 olgunun relaps (%27,1), 13 olgunun refrakter (%9,3) olduğu görüldü.

Ortanca 14,4 aylık izlem süresi sonunda %70 olgunun ex olduğu ve nedenleri incelendiğinde ise %40,7 sinin hastalık nedeni ile, %30,6 enfeksiyon nedeni ve %28,7 sinin de diğer nedenlerden dolayı olduğu tespit edildi. Moleküler tetkiklerin sonuçlarına göre Flt-3 pozitif tespit edilen 10 hastadan 6 tanesinin hastalık relapsı nedeni ile ex olduğu görüldü. Aynı zamanda NPM1 pozitif olan 4 hasta ise yaşıyor. NPM1 pozitif olan 8 olgudan ise 1'inin ex olduğu görülmüştür.

Tüm hastalar değerlendirildiğinde ortanca sağkalım 11±1,4 aydı. 3 yıllık sağkalım %22, 5 yıllık sağkalım %19 idi.

Moleküler testi yapılan 65 hastanın sağkalım açısından alt grup analizi yapıldığında NPM-1 pozitif olan grupta ortanca sağkalım ulaşılamamış olup, Flt-3 pozitif olan grupta ortanca sağkalım 11±3,4 ay, her ikisi de negatif olan grupta ise ortanca sağkalım 18±8 ay olarak saptanmakla

beraber istatistiksel anlamlılık taşıyordu ($p=0,35$). Tüm hastalarda bakılan hastaliksız sağkalım 10±1,2 ay saptandı.

Olgularımız yaşlarına göre 65 yaş ve altı, 65 yaş üstü olarak alt gruplara ayrılarak değerlendirildiğinde 110 hastanın(%78,6) 65 yaş ve altı, 30 hastanın 65 yaş üstü olduğu görüldü. Bu gruplar arasında yapılan sağkalım analizinde 65 yaş altı hastaların sağkalımı 11±1,7 ay, 65 yaş üstü hastalarda ise 5±4,5 ay olup $p<0,04$ ile istatistiksel olarak anlamlıydı. Hastaliksız sağkalım ise 65 yaş ve altı grupta 10±1,3 ay, 65 yaş üstü grupta 5±2,6 ay olup istatistiksel anlamlılık yoktu ($p= 0,07$).

Hastalarda 65 yaş üstü grupta indüksiyon tedavisi olarak 5+2, 65 yaş altı grupta ise 7+3 tedavi protokolu kullanılmıştı. Konsolidasyon tedavisinde ise 65 yaş üstü grupta orta doz ARA-C, 65 yaş altı grupta high doz ARA-C tedavisi kullanılmıştı.

TARTIŞMA

Akut miyeloid lösemi (AML), sito ve moleküler genetik olarak tanımlanmış alt gruplardan oluşur. Kromozomal bantlama tekniği kullanılarak yapılan analizlerde AML'li vakaların yaklaşık %55'inde sitogenetik anormallikler tespit edilmiştir. Bu anormallikler sayısal değişiklikler olabilecekleri gibi, dengeli veya dengesiz translokasyonlar da olabilir. Normal karyotipe sahip %85'in üzerinde vakada ise, moleküler analizlerle tekrarlanan genetik anormallikler bulunmuştur (1,2,3).

Sitogenetik ve gen mutasyon anormalliklerine (Flt-3, MLL, NPM1 ve CBF) göre risk grupları açısından AML iyi, orta ve kötü prognostik gruplar olarak tanımlanır ve hangi hastaların allojenik kemik iliği naklinden fayda göreceği buna göre belirlenir (4).

Flt-3, fms-benzer tirozin kinaz, bir transmembran tirozin kinaz reseptörü olup, normalde hematopoetik progenitorlerde ifade edilir, Flt-3 mutasyonu ile sürekli aktivasyonu hücre proliferasyonuna yol açar. Flt-3 anormallikleri, internal tandem duplikasyonlar (Flt3-ITD), tirozin kinaz domain nokta mutasyonları (Flt3- TKD) ve nadir jugstamembran domain mutasyonları şeklindedir (5,6). Prognostik olarak kötü Flt-3 ITD mutasyonu tüm hastaların %25-35'inde gözlenir. Oysa daha nadir

rastlanan Flt3-TKD mutasyonunun prognostik önemi halen tartışmalıdır. Bizim olgularımızdaki Flt-3 pozitif olgular incelendiğinde 10 olgu (%15) pozitif olarak saptandı. Flt-3 pozitif hastalara bakıldığında 9 tanesinin Flt-3ITD pozitif, 1 tanesinin ise Flt-3 D835 pozitif olduğu görüldü.

5q35 kromozomunda N P M1 nucleosposmin genindeki mutasyonlar, normal karyotipi olan AML'li vakalarda en sık rastlanan moleküler anormalliktir (7). NPM1 mutasyonlu AML, normal karyotipe sahip erişkin AML'li vakaların yaklaşık %50'sinde rastlanır (8). NPM1 tek başına tespit edilmesi iyi prognostik özellik taşır (9). Vakaların %40'ında ilave olarak Flt3-ITD pozitifliği de tespit edilmiştir ve bunlarda prognoz daha kötüdür (10). Bu yüzden de tüm vakalarda her ikisi de bakılmalıdır. Bizim vakalarımızda da NPM1 pozitifliği 8 hastada (%12,3) olup, bunlardan 4 tanesinde aynı zamanda FLT-3 pozitifliği de tespit edilmiştir.

CBF, granülositik farklılaşmadan sorumlu bir transkripsiyon faktörüdür. CBF mutasyonlarının iki tipi vardır: İlki DNA bağlanmasını ve diğer CBF proteinlerin dimerizasyonunu etkiler, diğeri ise CEBPA fonksiyonunun tamamen kaybına yol açacak CBF proteininin erken sonlanmasına yol açar (11). Diğer risk faktörleri olmaksızın CBF mutasyonlu AML'li vakalarda prognoz iyidir (12). Bizim vakalarımızda CBF pozitif vaka saptanmamıştır.

Moleküler testi yapılan 65 hastanın sağkalım açısından alt grup analizi yapıldığında NPM-1 poz olan grupta ortanca sağkalıma ulaşılabilmiş olup, Flt-3 poz olan grupta ortanca sağkalım 11±3,4 ay, her ikisi de negatif olan grupta ise ortanca sağkalım 18±8 ay olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar literatür verilerini destekler şekilde olup NPM 1 pozitif olgular daha iyi prognozludur.

Mosna ve arkadaşları, CBF pozitif 15-79 yaş arasındaki 192 AML vakasını incelediklerinde 10 yıllık sağkalımları %63,4, 10 yıllık hastaliksiz sağkalım ise %54,8 olarak saptamışlardır. Kompleks karyotip anomali sağkalımı etkilerken, K1T D816 mutasyonu taşıyan hastaların sadece t(8:21) olanlara göre prognozu daha kötü olarak bulunmuş. Yoğun konsolidasyon tedavisi alan yaşlı

hastaların az bir kısmında uzun süreli sağkalım görülmüştür (13).

Ostronoff ve arkadaşları NPM1 pozitif/Flt3-ITD negatif erişkin AML hastalarında yaşın önemine dikkat çekmişlerdir. SWOG çalışmasında 55-65 yaş arasındaki NPM1 pozitif/Flt3 ITD negatif olan grupta 2 yıllık sağkalım %70 iken, bu genotipi taşımayanlarda %32'dir. (istatistiksel olarak anlamlı $p<0,01$). 65 yaş üstü grupta NPM1 pozitif/Flt3 ITD negatif olanlarda 2 yıllık sağkalım %27, bu genotipi taşımayanlarda ise 2 yıllık sağkalım %16'dır (istatistiksel anlamlılık yok). Bu çalışmaya göre NPM1 pozitif/Flt3 ITD negatif genotip 55-65 yaş arasında favorabl prognostik faktörken, 65 yaş üstünde bu gösterilememiştir (14).

19 çalışmanın incelendiği bir metaanalizde toplam sağkalım ve hastaliksiz sağkalım verileri incelendiğinde Flt3-ITD mutasyonu taşıyan grup unfavorabl olup, NPM1 ve CBF mutasyonu olan grup ise aksine favorabl olarak gösterilmiştir (15). Bizim olgularımızda da NPM1 mutasyonu taşıyan vakaların uzun sağkalım süresi taşıdığı gösterilmiş olup literatürü desteklemektedir.

AML teşhis ve tedavisinde gereken sitogenetik ve moleküler tetkiklerle olgular stratifiye edilmeli ve bu doğrultuda tedavi yönü belirlenmelidir (16).

Sonuç olarak tüm hastalarımızda moleküler ve sitogenetik verileri tam olmamakla beraber ulaşılmış olan veriler ışığında NPM 1 pozitif olan hasta grubumuzun en iyi prognoza sahip olduğu görülmüştür. Bununla beraber 65 yaş ve altı hasta grubumuzun tedavi yanıtlarının daha iyi olduğu gözlenmiştir. Literatür incelendiğinde de sonuçlarımızın benzer olduğu görülmüştür. AML vakalarının risk grubu tedavi başında sitogenetik ve moleküler tetkiklerle iyi belirlemeli, hastalara bu doğrultuda uygun yoğun indüksiyon, konsolidasyon tedavileri verilmelidir. Kötü risk grubuna giren vakalarda da allogenik nakil açısından donör taramaları yapılmalı uygun donörden allogenik kök hücre nakli ile sağkalıma katkı sağlanmalıdır. Tüm bu bilgiler doğrultusunda tedaviye yön verirken hastaların yaşı ve performans durumları dikkate alınmalı tüm kararlarımız hasta bazlı olmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Marcucci G, Mrozek K, Bloomfield CD. Molecular heterogeneity and prognostic biomarkers in adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics. *Curr Opin Hematol* 2005;12: 68-75.
2. Falini B, Nicoletti I, Martelli MF, Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/ mutated nucleophosmin (NPMc + AML): biologic and clinical features. *Blood* 2007;109: 874-85.
3. Bacher U, Schnittger S, Haferlach C, Haferlach T. Molecular diagnostics in acute leukemias. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:1333-41.
4. Lowenberg B. Acute myeloid leukemia: the challenge of capturing disease variety. *Hematology AmSoc Hematol Educ Program* 2008;1-11.
5. Schiffer CA. Molecular characterization of AML: a significant advance or just another prognostic factor? *Best Prac Res Clin Haematol* 2008;21:621-8.
6. Mills KI. Gene expression profiling for the diagnosis and prognosis of acute myeloid leukaemia. *Front Biosci* 2008;13:4605-16.
7. Falini B, Mecucci C, Tiacci E. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *N Engl J Med* 2005;352:254-66.
8. Falini B, Mecucci C, Saglio G. NPM1 mutations and cytoplasmic nucleophosmin are mutually exclusive of recurrent genetic abnormalities: a comparative analysis of 2562 patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2008;93:439-42.
9. Dohner K, Schlenk RK, Habdank M, Scholl C, et al. Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations. *Blood* 2005; 106:3740-6.
10. Verhaak RG, Goudwaard CS, van PW, Bijl MA, et al. Mutations in nucleophosmin (NPM1) in acute myeloid leukemia: association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance. *Blood* 2005;106:3747-54.
11. Haferlach T. Molecular genetic pathways as therapeutic targets in acute myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008;400-11.
12. Frohling S, Schlenk RF, Stolze I. CEBPA mutations in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: prognostic relevance and analysis of cooperating mutations. *J Clin Oncol* 2004;22:624-33.
13. Mosna F, Papayannidis C, Martinelli G. Complex karyotype, older age, and reduced first-line dose intensity determine poor survival in core binding factor acute myeloid leukemia patients with long-term follow-up. *Am J Hematol.* 2015; 10:1002.
14. Ostronoff F, Othus M, Lazenby M, Estey E. Prognostic Significance of NPM1 Mutations in the Absence of FLT3-Internal Tandem Duplication in Older Patients With Acute Myeloid Leukemia: A SWOG and UK National Cancer Research Institute/Medical Research Council Report. *J Clin Oncol.* 2015;10:1200.
15. Port M, Böttcher M, Thol F, Ganser A. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication, nucleophosmin 1, and CEBPA gene mutations for acute myeloid leukemia patients with normal karyotype and younger than 60 years: a systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol.* 2014;10:1279-86.
16. Lin TL, Williams T, He J, Aljaitawi OS. Rates of complete diagnostic testing for patients with acute myeloid leukemia. *Cancer Med.* 2015 ;10:1002-1006.