

Akut Myeloid Lösemili Hastalarımızda t(8;21) ve inv (16)'nın Kantitatif RT-PCR ile Araştırılması

Orhan AYYILDIZ*, Sevgi KALKANLI**, Sabri BATUN*, Abdurrahman İŞIKDOĞAN*,
Murat SÖKER*, Murat YURT*, Ekrem MÜFTÜOĞLU*

* Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Erişkin Hematoloji ve Pediatri Bilim Dalı

** Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji-Genetik Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

ÖZET

Akut myeloid lösemilerde (AML) kromozomal anomaliteler ile prognosis arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Çok sayıda farklı kromozomal anomaliteler arasında t(8;21) ve inv(16)'nın varlığının iyi prognosis göstergesi olduğu kabul edilmektedir. Diğer kromozomal anomaliteler ise kötü prognostik değer olarak kabul edilmekte ve tedavi planı bunlara göre düzenlenmektedir. Biz de bu amaçla kliniğimizde tanı konulan 19 AML hastasında kantitatif reverz transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) metoduyla t(8;21) ve inv(16) anormalliklerini inceledik. Ayrıca tüm hastalara klasik sitogenetik inceleme yapıldı. Hastaların 9'u erkek, 10'u bayandı. Yaş aralığı 19-58' idi. Morfolojik olarak 5'i AML-M1, 8'i AML-M2, 5'i AML-M4, 1'i AML-M5 tipinde idi. Hastaların biri 2. indüksiyonda olmak üzere tüm hastalar ilk indüksiyon tedavisiyle remisyona girdi. Sitogenetik incelemede bir hastada t(8;21) saptandı ve RT-PCR metoduyla t(8;21) teyid edildi. Diğer hastalarda yapısal ve sayısal olarak herhangi bir kromozomal düzensizliğe rastlanmadı.

Bu çalışmayı sunmamızdaki amaç; AML'li olgularımızda t(8;21) ve inv(16) anomalitelerini göstermektir.

Anahtar Kelimeler: Akut myeloid lösemi, t(8;21), inv(16), Kantitatif reverz transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu

ABSTRACT

Quantitative Analysis of t(8,21) and inv(16) via RT-PCR in Patients with Acute Myeloid Leukemia

It has been showed that there is a relation between chromosomal abnormality and prognosis in acute myeloid leukemia (AML). There are many chromosomal abnormalities in AML patients and it is known that t(8;21) and inv(16) are good prognostic abnormalities. Recently the treatment has been planned according to these abnormalities. We investigated t(8,21) and inv(16) abnormalities by quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) in 19 patients with AML. Moreover conventional cytogenetic method was applied for all patients. Of whom 9 were men and 10 women. Age of average was 19 to 58 years. FAB morphologic classification follows as; 5 AML-M1, 8 AML-M2, 5 AML-M4, 1 AML-M5. Complete remission was obtained in eighteen patients with first induction regimen, whereas in one patient after second induction. t(8;21) has been found in 1 patient with cytogenetic method and confirmed with RT-PCR. In this study, we aim to search t(8;21) and inv (16) abnormalities in AML cases.

Key Words: Acute myeloid leukemia, t(8;21), inv(16), Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction

GİRİŞ

Lösemilerin hemen hepsinde çok sayıda farklı kromozomal anomaliteler bildirilmiştir. Bunların bir kısmının hastalık patobiyolojisinde önemi açıklanmışken bir kısmının da prognostik önemi olduğu anlaşılmıştır. Akut myeloid lösemilerde de(AML) bir takım kromozomal anomaliteler bildirilmiş ve bunların prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Kromozomal anomaliteler arasında t(8;21), t(15;17), inv(16) ve trizomi 21 'in varlığının iyi prognoz göstergesi olduğu kabul edilmektedir (1,2). Diğer kromozomal anomaliteler ise, örneğin 5-, 7-, 5q-, 7q-, trizomi 8, belirgin hiperdiploidi ve t(6;9) gibiler kötü prognostik değer olarak kabul edilmekte ve tedavi planının bunlara göre düzenlenmesi önerilmektedir (3). Kromozomal anomaliteler klasik sitogenetik, floresan in situ hibridizasyon (FISH), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi yöntemler ile araştırılmaktadır (4). Son yıllarda kantitatif reverz transkriptaz (RT)-PCR yöntemlerinin kolay uygulanabilir olması, radyoaktivite kullanılmaması ve elektroforeze gereksinim göstermemesi gibi nedenlerle moleküler analiz ve araştırma amaçlı kullanılmaya başlanmıştır (5).

Bizde bu amaçla kliniğimizde yeni tanı konulan AML'li hastalarda klasik sitogenetik yöntem yanında yeni bir yöntem olan kantitatif RT-PCR yöntemi ile t(8;21) ve inv(16)'nın varlığını ön rapor olarak sunmak istedik. Çalışma daha fazla sayıda hastayı kapsamakta olup halen devam etmektedir.

HASTALAR VE YÖNTEM

Hematoloji Kliniğimizde yeni tanı konmuş ve daha önce herhangi bir hematolojik hastalığı olmayan 19 hasta çalışmaya alındı. Hastalardan periferik kan ve kemikiliği örneklerinden klasik sitogenetik inceleme ve periferik kan örneklerinden kantitatif RT-PCR metodu ile t(8;21) ve inv(16) incelemesi yapıldı. RT-PCR için Roche Moleculer Diagnostics'in LightCycler cihazı kullanıldı.

SONUÇLAR

Hastaların 9'u erkek, 10'u bayandı. Yaş aralığı 19-58 idi. Morfolojik olarak 5'i AML-M1, 8'i AML-M2, 5'i AML-M4, 1'i AML-M5 tipindeydi (Tablo

Tablo 1. Hastaların Özellikleri

Hasta Sayısı	19
Cinsiyet	
Erkek	9
Kadın	10
Yaş aralığı (yıl)	19-58
Lösemi Morfolojisi	
AML-M1	5
AML-M2	8
AML-M4	5
AML-M5	1
t(8;21)	1

1). Hastaların sadece birinde RT-PCR metoduyla t(8;21) gösterildi. Bu hasta 28 yaşında, morfolojik olarak AML-M2 tipindeydi. Sudan Black ve peroxidaz boyaları pozitif. CD13 ve CD33 pozitif. Bu hasta indüksiyon kemoterapisiyle komplet remisyona girdi. Yüksek doz kemoterapi uygulanan bu hasta halen yaşamakta olup remisyondadır. Bir hastada ise 2. indüksiyon kemoterapisi sonrasında remiyon elde edildi. Diğer tüm hastalarda ilk indüksiyonda remiyon elde edildi. Dört hasta 8 ay içinde relaps gösterdi. Bunlardan 3'ü tekrar tam remisyona girdi, ancak 1 hastada kısmi remiyon elde edildi. Tüm hastaların takipleri devam etmektedir.

TARTIŞMA

AML'de çok sayıda farklı faktörlerin kötü prognoza sebep olduğu ileri sürülmektedir. Kromozomal anomaliteler bunların başında gelmektedir. Çok sayıda farklı kromozomal anomaliteler arasında t(8;21) ve inv(16)'nın varlığının iyi prognoz göstergesi olduğu kabul edilmektedir. Diğer kromozomal anomaliteler ise, örneğin 5-, 7-, 5q-, 7q-, trizomi 8, belirgin hiperdiploidi, t(6;9) vb., kötü prognostik faktör olarak kabul edilmekte ve tedavi planının bunlara göre düzenlenmesi önerilmektedir (3,6). Bu kromozomal bozuklukların tespiti ile minimal rezidüel hastalık hakkında da bilgi edinilebilir (7). AML'de görülen en sık kro-

mozomal defektlerden biri t(8;21) olup erişkin AML'de %12-15, pediatrik AML'de ise %30 oranında görülür. Burada 8 numaralı kromozom üzerindeki ETO geninin yanına 21 numaralı kromozomdan AML 1 geni gelip füzyon oluşturmaktadır. Bu füzyon geni klinik remisyonda olan hastaların büyük bir kısmında tespit edilmiştir ve bu füzyon geninin kantitasyonunun relaps habercisi olarak daha önemli olabileceği ileri sürülmüştür (8). AML M4Eo tipinde minimal rezidüel hastalığı tespit etmek amacıyla nested-PCR ile (CBFB-16q ve MYH11-16p)'ye bakılmıştır (9). Inv(16) için RT-PCR ve FISH gibi yöntemlerde kullanılabilir. German Multicenter AML HD93 çalışmasında, genç erişkin hastaları sitogenetik durumlarına göre değerlendirdiklerinde hastalısız survi ve 5 yıllık survileri karşılaştırıldığında t(8;21) ve inv(16) grubunda 2-3 kat daha uzun surviler elde edilmiştir (10). Bu konuda çok sayıda çalışma literatürde bildirilmiştir. Bizde bu ön rapor ile hastalarımızda t(8;21) ve inv(16) ile ilgili sonuçlarımızı sunmak istedik.

KAYNAKLAR

1. Berger R, Bernheim A, Ochva-Noguera ME, et al. Prognostic significance of chromosomal abnormalities in acute nonlymphocytic leukemia. A study of 343 patients. *Cancer Genet Cytogenet* 28:293-299, 1987.
2. Cortes JE, Kantarjian H, O'Brien S, et al. Clinical and prognostic significance of trisomy 21 in adult patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 9:115-117, 1995.
3. Arthur DC, Berger R, Golomb HM, et al. The clinical significance of karyotype in acute myelogenous leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 40:203-216, 1989.
4. Poirel H, Radford-Weiss I, Rack K, et al. Detection of chromosome 16 CBF beta-MYH11 fusion transcript in myelomonocytic leukemias. *Blood* 85: 1313-1322, 1995.
5. Marcucci G, Livak KJ, Bi W, et al. Detection of minimal residual disease in patients with AML1/ETO-associated acute myeloid leukemia using novel quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assay. *Leukemia* 12:1482-1489, 1998.
6. Pedersen-Bjergaard J, Philip P, Larsen SO, et al. Chromosome aberrations and prognostic factors in therapy-related myelodysplasia and acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 76:1083-1091, 1990.
7. Sievers EL, Loken MR. Detection of minimal residual disease in acute myelogenous leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 17:123-133, 1995.
8. Miyamoto T, Nagafuji K, Harada M, et al. Quantitative analysis of AML1/ETO transcripts in peripheral blood stem cell harvest from patients with t(8;21) acute myelogenous leukemia. *Br J Haematol* 91:132-138, 1995.
9. Laczika K, Novak M, Hilgarth B, et al. Competitive CBFbeta/MYH11 reverse-transcriptase polymerase chain reaction for quantitative assessment of minimal residual disease during postremission therapy in acute myeloid leukemia with inversion(16): a pilot study. *J Clin Oncol* 16:1519-1525, 1998.
10. Schlenk RF, Benner A, Hartmann F, et al. Risk-adapted postremission therapy in acute myeloid leukemia: results of the German multicenter AML HD93 treatment trial. *Leukemia* 17(8):1521-1528, 2003.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Orhan AYYILDIZ
Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Erişkin Hematoloji ve Pediatri Bilim Dalı
21280 DİYARBAKIR

Tel:(0.412) 248 82 33
Fax:(0.412) 248 84 40
e-mail:oayyldz@yahoo.com