

## LÖSEMİLİ ERİŞKİN HASTALARDA LENFOSİT YÜZEY İŞARETLERİNİN İNCELENMESİ\*

Dr.Nadir Kaya\*\*, Dr.Emin Kansu\*\*\*

### ÖZET

Çalışmamızda 10 ALL, 9 KLL olgusunda periferel kan ve lenf bezinde lenfosit yüzey işaretleri ve bunların histopatolojik tiplendirme, klinik seyir, tedaviye yanıt, prognoz ile olan ilişkileri incelenmiştir. T-lenfositleri için E-rozet testi B-lenfositleri için yüzey immünoglobulin testi uygulanmıştır.

T-ALL özelliği gösteren iki olgu menengial tutulma, sepsis ve sarılık ile seyretmiş, 3>null" tipi ALL'si olan olgular uzun remisyon süresi göstermiş ve B-tipi ALL'si olan bir olgunun ise remisyona giremediği izlenmiştir. Sınıflandırmayan bir olgu kısa sürede menengial ve kemik iliği relapsı göstermiştir.

KLL olgularımızın hepsinin B-tipi KLL oldukları ve remisyon sürelerinin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

### SUMMARY

#### DETERMINATION OF LYMPHOCYTE SURFACE MARKERS IN ADULT LEUKEMIAS

In this study, the lymphocyte surface markers in lymph nodes and peripheral blood and its relation with

\* Hacettepe Üni. Tıp Fak. Onkoloji Bölümü çalışmalarından.

\*\* Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yardımcı Doçenti.

\*\*\* Hacettepe Üni. Tıp Fak. Onkoloji Bölümü Profesörü.

histopathologic classification, clinical observation, responding to the treatment prognose in 10 ALL, 9 KLL cases are investigated.

For T-lymphocyte E-rosette test and for B-lymphocyte surface immunoglobuline tests are applied.

In two of the cases having T-ALL characteristic showed menengial relapse and they were lost by sepsis and hepatitis.

The case, having 3<sup>rd</sup> "null" type ALL showed a long period of remission and in a case having B type ALL is observed this particular case didn't enter a remission period.

The last unclassified case showed menengial and bone marrow relapse in a short time.

All the KLL cases proved to be B type KLL and their remission period was in accordance with the findings in the literature.

Key words : Acute lymphoblastic leukemia, chronic lymphocytic leukemia, immunoglobulin.

Anahtar kelimeler : Akut lenfoblastik lösemi, kronik lenfositik lösemi, immünoglobulin.

Lenfosit yüzey işaretleri konusundaki çalışmalar, hücre sel immü nitenin en önemli konularından biri olup kompleks ve hızlı gelişme gösteren bir alandır. Günümüzde lenfositik neoplazmların ancak bazılarında kür sağlayıcı tedavilerin bulunduğu ve bu hastalık grubunun sınıflandırılmasındaki güçlük bilinmektedir. Sadece ışık mikroskopisi ile sınıflandırılması çok zor olan, histolojik özellikleri belirsiz lenfoid hücrelerin varlığı da lenfosit hücresi türlerinin tanınması için yeni tanısal kriterler getirilmesini zorunlu kılmaktadır<sup>1</sup>.

Heteroantiserumlarla yapılan floresans mikroskopisi E-rozet tekniği ve monoklonal antikorların yardımıyla lenfosit yüzey özelliklerinin belirlenmesine çalışılmaktadır<sup>2,3,4</sup>. Bu özelliklerin belirlenmesinin tiplendirme yanında klinik seyir, prognoz ve tedaviye yanıt açısından da önemli olduğu gözden uzak tutulmamalıdır.

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi erişkin Onkoloji-Hematoloji Ünitesinde görülen akut ve kronik lenfositik lösemili hastalarda

lenfosit yüzey işaretlerinin incelenmesi ve bu özelliklerin klinik seyir, tedaviye yanıt ve prognoz ile olan ilişkilerini saptamak amacıyla planlanmıştır.

## MATERYAL VE METOD

Çalışmamıza 10 akut lenfoblastik lösemili (ALL) ve 9 kronik lenfositik lösemili (KLL) olmak üzere toplam 19 hasta, kontrol grubu için ise 21 sağlıklı hastane personeli alındı.

Total kan sayımı, idrar tetkiki, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri rutin yöntemler kullanılarak değerlendirilmiş, kemik iliği aspirasyonu ve periferik kan yaymaları, wright boyası ile boyanmıştır. Gerekli durumlarda radyolojik ve sintigrafik tetkikler uygulanmıştır.

Lenf bezi ve kemik iliklerinin incelenmesi hematoksilen eosin, giemsa, metilgreen-pyronin (MGP), gümüşleme tartarata rezistan asitfosfataz boya ile yapılmıştır.

Hasta ve kontrollerde lenfosit ayırımı Ficoll-Hypague tekniği ile yapılmıştır<sup>5</sup>. T-lenfositleri için E-rozet testi<sup>6</sup>, B-lenfositleri için yüzey immunoglobulin testi uygulanmıştır<sup>6</sup>.

Ortalama ve standart değerler istatistiksel yöntemler kullanılarak hesaplanmıştır<sup>7</sup>.

## BULGULAR

1- ALL olguları : İncelemeye 7'si kadın, 3'ü erkek 10 olgu alındı. Yaşları 16-38 yaş arasında değişmekteydi. Beyaz küreleri bir olgu dışında tümünde yüksekti ( $6.8 \times 10^3 / \text{mm}^3$  -  $180 \times 10^3 / \text{mm}^3$ ).

Periferik kan incelemelerinde L-2,3,5,9 olgularında E<sup>+</sup>-rozet yapan hücreler sırasıyla % 37, % 85, % 72, % 95 gibi yüksek oranlarda bulundu. Bu olgularda lenfoblastların T-hücre özellikleri taşıdığı saptandı.

L-1,4,8,10 olgularında Smlg<sup>+</sup> ve E<sup>+</sup> rozet yapan hücre oranları düşük bulundu. Bu olgularda ne T, ne B-lenfosit özelliği taşımayan "null" tipi lenfoblastların varlığı düşünüldü.

L-6 olgusunda Smlg<sup>+</sup> hücreler yüksek (% 45), E<sup>+</sup>-rozet yapan hücreler ise düşük (% 1) oranda idi. Bu olguda lenfoblastlar B-hücre özellikleri göstermekteydi.

L-7 olgusunda Smlg<sup>+</sup> hücreler % 40 oranında iken E<sup>+</sup>-rozet yapan hücreler % 12 bulundu. Bu olguda lenfoblast hücre özellikleri belirgin olmadığından (unclassified) sınıflandırılmayan tip olarak kabul edildi.

Klinik özellik ve prognostik açıdan değerlendirildiğinde; T tipi lenfoblast özelliği belirgin olgulardan ikisinde (L-2,3) meningeal tutulma, sepsis, sarılık vardı, 5 ve 14 aylarda kaybedildiler. L-5 olgusu tanı konulduğunda 3 aylık hamile idi, 8 aydır remis-yondaydı. L-9 olgusu kontrole gelmedi.

"Null" tipi lenfoblast özelliği gösteren olgulardan L-1'de menin-geal tutulum saptandı, 3 yıllık remisyonu takiben 2. kez relaps gösterdi. Sepsisi olan 1 olgu (L-4) 4 aydır remisyondaydı. L-8 olgusunda yaygın lenfadenopati ve hepatosplenomegali vardı, 24 aylık sürede 2 kez relaps gösterdi, kaybedildi. Lenfadenopati ve mediastinal kitlesi olan L-10 olgusu ise kısa sürede kaybedil-di. B-tipi lenfoblast özelliği gösteren L-6 olgusunda yaygın len-fadenopati ve testis infiltrasyonu vardı, hastanın 6 aylık bir sürede remisyona giremediği izlendi.

Sınıflandırılmayan L-7 olgusunda yaygın lenfadenopati, hepato-splenomegali vardı, takibinin 3. ayında meningeal ve kemik iliği relapsı gösterdi.

Bulgular Tablo I'de özetlenmiştir.

2- KLL olguları : İncelemeye 4'ü erkek, 5'i kadın olmak üzere 9 KLL'li hasta alındı. Yaşları 44-75 arasında değişmekteydi. Beyaz küre sayısı tüm hastalarda yüksekti ( $20 \times 10^3 / \text{mm}^3$  -  $180 \times 10^3 / \text{mm}^3$ ). Periferik kanda değerlendirilen lenfosit yüzey işaretlerinde tüm hastalarda B-lenfosit hakimiyeti göze çarp-maktaydı. "Smig<sup>+</sup>" hücreler % 30 ile % 96 arasında ortalama %  $63 \pm 21.63$  olarak saptandı.

T-lenfosit popülasyonunu belirleyen E<sup>+</sup>-rozet (4<sup>0</sup>C'de) pozitif-liği oranı ise tüm olgularda düşük bulundu (% 1 ile % 10 ara-sında, ortalama %  $4 \pm 2.73$ ).

Olguların ikisi (KL-2, KL-4) tanıyı takiben 1 ve 6 ay gibi kısa sürelerde kaybedilmişlerdir. Ölüm nedenleri sepsis ve kalp yetmezliği idi. 5 olgu (KL-3,5,6,9) remisyondaydı.

1 olgunun (KL-8) kontrolünde lenfosarkom hücresi saptandı, bir olgu (KL-7) ise kontrole gelmedi.

Tablo II'de KLL'li olgular görülmektedir.

Tablo I. Akut Lenfoblastik Lösemi Tiplendirilmesi.

Hasta	Klinik Özellikler	BK( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	Periferik Kan (%) SmIg <sup>+</sup> E <sup>+</sup> -(4°C)**	Hücre Tipi	Prognoz
L-1,FA,27/E	Meningeal tutulma, sarılık, Au (+)	70.0	15 37	T	3 ay remisyon, relaps 5. ay exitus
L-2,ŞÜ,16/K	Meningeal tutulma, sepsis	145.6	3 85	"	1 ay, exitus, 14 ay +
L-3,ŞÜ,20/K	Hamile (3 ay)	72.0	5 72	"	8 ay +, remisyon
L-4,AA,24/K	LAP	160.0	3 95	"	-
L-5,NK,26/K	Meningeal tutulma	6.9	2 3	"null"	3 yıl tam remisyon, 2. relaps, (+)
L-6,SE,25/K	Sepsis	26.0	1 7	"	14 ay +, remisyon
L-7,FY,17/E	Yaygın LAP	300.0	5 3	"	2 relaps, 24 ay, exitus
L-8,AK,21/K	LAP, Mediasten kitlesi	110.0	0 2	"	Exitus
L-9,MP,17/E	Yaygın LAP	136.8	45 1	B	Remisyon yok, 6 ay (+)
L-10,FÜ,38/K	HS Megali, yaygın LAP	180.0	40 12	Unclass-	3. ay meningeal relaps ve sified kemik iliği relapsı, 7 ay+

Normal kontroller (21 hasta) (ort.  $\pm 1$  sd) 20.1 $\pm$ 6.0 70.0 $\pm$ 6.3

\*SmIg<sup>+</sup> : Yüzeysel immüoglobulin pozitif olan hücreler

\*\*E<sup>+</sup>-rozet(4°C): Koyun eritrositleri ile rozet yapan hücreler

Tablo II. Kronik lenfositik lösemi tiplendirilmesi.

Hasta	BK( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	Periferik Kan (%)		Prognoz
		SmIg <sup>+</sup>	E <sup>+</sup> (4°C)**	
KL-1, MA, 50/E	26.6	55	5	Remisyon - Kontrol (14 ay +)
KL-2, SE, 63/K	112.6	46	2	6 ay (+), Exitus (sepsis)
KL-3, AA, 75/K	36.6	43	6	Remisyon - Kontrol
KL-4, FB, 75/K	104.6	30	10	Exitus, 1 ay (KY)
KL-5, ŞY, 58/E	84.0	72	1	Remisyon - Kontrol (11 ay +)
KL-6, MD, 55/K	20.0	70	4	Kontrol (12 ay +) Remisyon
KL-7, RG, 44/E	43.8	89	3	-
KL-8, ŞT, 58/E	180.0	66	3	Kontrol, Lenfosarkoma hücr. (+)
KL-9, FK, 70/K	138.0	96	2	Kontrol, remisyon

Normal kontroller (21 hasta) 20.1±6.0 70.0±5.3 (Ort. ± 1 sd)

\* SmIg: Yüzey immünoglobulin pozitif olan hücreler

\*\* E<sup>+</sup>-rozet (4°C): Koyun eritrositleri ile rozet yapan hücreler

## TARTIŞMA

Son yıllarda lenfosit farklılaşmasının değişik evrelerinden köken alan hücrelerin tanımlanması birçok immunolojik parameterler ve teknikler kullanılarak daha kolaylaşmış bulunmaktadır<sup>8-10</sup>. Normal ve malign lenfoid hücrelerin bu immunolojik ve fenotipik özelliklerinin bilinmeye başlanması lenfoid stem hücresinden itibaren farklılaşma hakkında ve lösemilerin kaynağı konusunda aydınlatıcı olmaktadır. Lenfositik lösemilerin yüzey immünfloresans ve E-rozet testleri gibi immunolojik teknikler ile fenotipik analizleri hastalığın takibinde, tedavi planlarının çizilmesinde ve prognostik yönden büyük yararlar sağlamaktadır. Bu yöntemleri kullanarak akut lenfoblastik lösemi, "null" (non-T, non-B), T-ALL ve B-ALL ve pre-B-ALL olmak üzere dört major subgruba ayrılmaktadır<sup>11-13</sup>.

Çalışmamızda, 10 ALL tanısı alan vakanın periferik kan lenfoid mononükleer hücrelerinin immunolojik olarak değerlendirilmesi yapılmış ve L-5, L-6, L-7 ve L-8 vakalarında T ve B hücre özellikleri taşımayan "null" tipi lenfoblastların varlığı gösterilmiştir. Buna karşılık L-1, L-2, L-3 ve L-4 vakalarında lenfoblastlar T hücre özellikleri taşımaktadır. L-9 vakasında ise B-hücre yüzey özellikleri saptanmıştır.

L-10 vakası tam bir sınıflandırmaya alınamamıştır (Unclassified tip). 10 vakada % 40 oranında "null", % 40 oranında "T" tipi ve % 20 gibi bir oranda "B" hücre tipinde ALL saptanmış olması vaka sayısının azlığı nedeniyle yanıltıcı olabilir.

Birçok geniş serilerde "E-rozet pozitif T-hücreli" ALL'in oranı % 15 ile % 20'yi geçmemektedir. İzlediğimiz dört "T-tipi ALL olgusunun ikisinde özellikle meningeal tutulma klinik tabloya eklenmiştir ve bu gruptaki 3 olgunun remisyon süreleri çok kısa olmuştur (Tablo I). Bu özellikler T-tipi ALL olgularında daha önce belirtilen niteliklere benzerlik göstermektedir. Ancak, 10 olgunun yer aldığı bir grupta, 4 olgunun T-tipi ALL nitelikleri taşıması özellikle dikkatimizi çekmiştir. Bu bulgular takibe alınan grubun nispeten az sayıda olması nedeniyle tesadüfe bağlı olabileceği gibi ülkenin coğrafi özellikleri ile de ilgili olabilir. Nitekim T- lenfoma ve T- tipi lösemi türlerine Japonya'da diğer ülkelere kıyasla daha sık rastlandığı rapor edilmektedir<sup>14,15</sup>.

Aynı görüş altında, 10 olgu arasında 1 B-tipi ALL olgusuna da rastlanmış olması, genelde % 1 ile % 2 oranında rastlanan B-ALL'in tesadüfleme ile çalışma grubumuz arasına girdiğini

düşündürmektedir. Klasik yöntemler kullanılarak değerlendirildiğimiz 10 ALL olgusunun en sık görülen "null" tipleri arasında 3'ünün remisyon süreleri uzun ve relaps sonrası tedavi cevapları daha tatminkar bulunmuştur. L-8 olgusu çok hızlı bir seyir takip ederek exitus olmuştur.

Olgu sayılarının ilerdeki çalışmalarımız ile artırılması izlediğimiz bu ALL oranlarının geçerliliğini daha kuvvetle kanıtlayacaktır.

Son yıllarda ilerleyen monoklonal antikor teknolojisinin yardımı ile incelenen "null" ALL-lenfoblastlarının yüzeylerinde "HLA-DR-antijeni" ve "common-ALL:CALL" antijeni pozitif bulunmuştur. "Helper" ve "süpresör" T- hücrelerine ait hücre yüzey işaretleri saptanamamıştır. "T-tipi ALL" olgularında ise "CALL" antijeni negatif bulunmuş, "helper" ve "süpresör" hücre yüzey işaretleri belirgin bir özellik göstermemiştir<sup>16</sup>. Ayrıca bu araştırmalarda çalışmamızda kullandığımız gibi klasik yöntemlerinde monoklonal antikor teknikleri kadar sınıflandırmada geçerli olabileceği gösterilmiştir.

Kronik lenfositik lösemi E-rozet, yüzey (SmIg) ve stoplazmik (cIg) çalışmaları ile B-KLL ve T-KLL olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Tipik ve en sıklıkla rastlanan KLL olgularında, kan yaymalarında morfolojik olarak normal veya hafif büyük, monoton görünümde lenfositler dikkat çekerler. B-tipi KLL'ye T-KLL'ye göre çok daha sık rastlanmaktadır. Yaklaşık olguların % 1-2'si T-tipi KLL olarak sınıflandırılmaktadır<sup>17-21</sup>.

İncelemeye almış olduğumuz 10 KLL olgusunun tamamında, periferik kan lenfositlerinden yaptığımız immunolojik tiplendirilmede, E-rozet yapan hücrelerin çok düşük sayıda olduğu ve (SmIg<sup>+</sup> B-hücrelerinin % 30'un üzerinde olduğu izlenmiştir. Bu B-KLL hücrelerindeki yüzey immunoglobulinleri soluk "speckled-noktalı" bir (pattern) görüntü vermiştir ve fluorescent-antiimmunoglobulin antiserumu ile yapmış olduğumuz "capping-takkeleşme" deneylerinde immunofloresans "capping" tespit edilememiştir. Normal kan lenfositlerinin bir özelliği olan "capping" fenomeni daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi KLL'deki neoplastik B-lenfositlerinin hücre yüzey özelliklerinden birini teşkil etmektedir<sup>19</sup>.

Çalışmaya aldığımız KLL olgularından ikisi sepsis ile kaybedilmiştir. Diğerleri kemoterapi ile kontrol altında olup takip edilmektedirler. Bir olgumuzda (KL-8) periferik kan hücrelerinin büyük çekirdekçik taşıyan ve çentikli çekirdekli olan lenfosarkom



hücreleri olduğu dikkat çekmiştir ve bu hücrelerin de % 66 oranında SmIg<sup>+</sup> B-hücreleri olduğu görülmüştür (lenfosarkom hücreli lösemi tipinde).

#### KAYNAKLAR

1. Aisenberg AC, Wilkes BM, Logn JC, et al. Cell surface phenotype in lymphoproliferative disease. **Am J Med** 68: 206, 1980.
2. Aisenberg AC. Cell surface markers in lymphoproliferative disease. **N Engl J Med** 304: 331, 1981.
3. Milstein C. Monoclonal antibodies. **Cancer** 40: 1953, 1982.
4. Küçüksu MN. **Lenfoproliferatif Hastalıklar**. Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları, Ankara, 1982, 19-47.
5. Boyum A. Isolation of mononuclear cells an granulocytes from human blood. **Scand J Clin Lab Invest** 21 Suppl 97: 77, 1968.
6. Jondal M, Holm G, Wigzell H. Surface markers on human T and B lymphocytes. A large population of lymphocytes forming non-immune rosettes with sheep red blood. **J Exp Med** 136: 207, 1972.
7. Kutsal A, Muluk Z. **Uygulamalı Temel İstatistik**. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 1972.
8. Poppema S, Bhan AK, et al. In situ immunologic characterization of celluler disease. **Blood** 59: 226, 1982.
9. Foon KA, Billing RJ, Terasaki PL, et al. Immunologic classification of acute lymphoblastic leukemia: Implications for normal lymphoid differentiation. **Blood** 56: 1120, 1980.
10. Foon KA, Herzog P, Billing RJ, et al. Immunologic classification of childhood acute lymphocytic leukemia. **Cancer** 47: 280, 1981.
11. Tsakkimoto L, Wong KY, Lanpkin BC. Surface markers and prognostic factors in childhood acute leukemia. **N Eng J Med** 294: 245, 1976.

12. Brouet JC, Preud-Homme JL, Penit C, et al. Acute lymphoblastic leukemia with pre-B-cell characteristics. *Blood* 54: 269, 1976.
13. Sen L, Borelle L. Clinical importance of lymphoblasts with T markers in childhood acute leukemia. *N Engl J Med* 292: 828, 1975.
14. Lindemaln C, Mellsted H, Biberfeld P, et al. Blood and lymphnode T-lymphocyte subsets in non-Hodgkin lymphomas. *Scand J Haematol* 30: 68, 1983.
15. Uchiyama T, Yodoi J, Sagafa K, et al. Adulth T-cell leukemia: Clinical and hematologic features of 16 cases *Blood* 50: 481, 1977.
16. Schroff WR, Foon KA, Billing RJ, et al. Immunologic classification of lymphocytic leukemias based on monoclonal antibody-defined cell surface antigens. *Blood* 59: 207, 1982.
17. Davis S. The variable pattern of lymphocyte subpopulations in CLL. *N Engl J Med* 294: 1150, 1976.
18. Yodor J, Takatsuki K, Masuda T. Two cases of T-cell chronic lymphocytic leukemia in Japan. *N Engl J Med* 290: 572, 1974.
19. Rowlands DT, Daniele RP, Nowell PC, et al. Characterization of lymphocyte subpopulations in CLL. *Cancer* 34: 1962, 1974.
20. Gale RP, Foon KA. Chronic lymphocytic leukemia: Recent advances in biology and treatment. *Ann Intern Med* 103: 101, 1985.
21. Tagawa S, Taniguchi N, et al. OKM 1-Positive T-cell leukemias: Relationships among morphologic features, phenotype and functional activities. *Cancer* 57: 1057, 1986.