



**T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

AKUT MİYELOİD LÖSEMİ'Lİ HASTALARDA PD1/PDL1 İFADESİ VE KLİNİK ÖNEMİ

Dr. Gizem VARKAL EROL

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Emel GÜRKAN**

ADANA-2019



**T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

AKUT MİYELOİD LÖSEMİ'Lİ HASTALARDA PD1/PDL1 İFADESİ VE KLİNİK ÖNEMİ

Dr. Gizem VARKAL EROL

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Emel GÜRKAN**

**Bu tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri fonu
tarafından TTU-2017-9754 no'lu proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA-2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	I
TABLO LİSTESİ.....	III
ŞEKİL LİSTESİ.....	IV
KISALTMALAR LİSTESİ	V
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Akut Miyeloid Lösemi	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Sınıflandırma.....	3
2.1.3. Epidemiyoloji	6
2.1.4. Etiyoloji.....	6
2.1.5. AML’de Prognostik Belirleyiciler	7
2.1.6. Akut Miyeloid Lösemi’de Tedavi Yaklaşımları	9
2.1.6.1. Remisyon İndüksiyon Tedavisi	9
2.1.6.2. Konsolidasyon Tedavisi.....	9
2.1.6.3. İleri Yaştaki Hastalarda Tedavi	10
2.1.6.4. Aml De Kök Hücre Nakli	10
2.1.6.5. AML’de Epigenetik Tedaviler.....	10
2.1.6.6. Hedefe Yönelik Tedaviler ve İmmünoterapi	11
2.1.7. AML’de Remisyon Kriterleri.....	11
2.1.8. Akut Promyelositik Lösemi	12
2.2. Mikroçevre ve Kanser İmmunolojisi	14
2.2.1. Programlanmış Hücre Ölümü1 (PD1) ve Programlanmış Hücre Ölüm Ligandı (PDL1).....	17
2.3. AML ve Programlanmış Hücre Ölümü 1 (Pd 1)	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM	21
3.1. Hastalar	21
3.2. Yöntem.....	23

4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	57



TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Akut Myeloid Lösemi’de FAB sınıflandırması	4
Tablo 2.	Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2016 Akut Myeloid Lösemi sınıflaması	5
Tablo 3.	Akut Myeloid Lösemi’de risk grupları (2017).....	8
Tablo 4.	Hastalara ait demografik veriler.....	22
Tablo 5.	2017 ELN Genetik Risk Sınıflaması.....	22
Tablo 6.	Hastaların alt tipleri ve demografik veriler	26
Tablo 7.	AML’li hastaların tanı anında klinik ve laboratuvar parametreleri.....	27
Tablo 8.	Hastaların Akım Sitometri, FISH, PD1/PDL1 verileri	29
Tablo 9.	Primer ve sekonder AML tanılı hastaların demografik verileri	43



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. AML olan bir hastaya ait kemik iliği aspirasyonu	5
Şekil 2. Periferik kanda miyeloblast	6
Şekil 3. Akut promyelositik lösemi kemik iliği aspirasyonu	13
Şekil 4. Akut promyelositik lösemi, hipergranüler tip	13
Şekil 5. Hipogranüler tip APL	14
Şekil 6. Kanser immün düzenlenmesi (eliminasyon, denge, kaçış)	15
Şekil 7. PD1-PDL1 ile T hücre tükenme fenomeni	17
Şekil 8. Kontrol noktası inhibitörleri ve stimülatörleri.	18
Şekil 9. Akut Myeloid Lösemi olgusuna ait H&E kesit.....	23
Şekil 10. Akut Myeloid Lösemi olgusuna ait H&E kesit.....	23
Şekil 11. AML hastalarının dağılım grafiği	25
Şekil 12. AML hastalarında indüksiyon yanıtına göre yaş ortalaması.....	32
Şekil 13. AML hastalarında genel sağkalım	33
Şekil 14. AML hastalarında indüksiyon yanıtına göre sağkalım analizi.....	34
Şekil 15. Relaps ve remisyon olan hastalarda sağkalım analizi	35
Şekil 16. AML tanılı hastalarda prognostik risk sınıflamasına göre yaşam analizi	36
Şekil 17. PDL1 pozitif olgu	37
Şekil 18. PDL1 pozitif olgu	37
Şekil 19. PD1 pozitif olgu.....	38
Şekil 20. PDL1 negatif olgu.....	38
Şekil 21. AML hastalarında PD1 durumuna göre sağkalım.....	40
Şekil 22. AML hastalarında PDL1 durumuna göre sağkalım	41
Şekil 23. Orta riskli AML hastalarında PDL-1 durumuna göre sağkalım.....	42

KISALTMALAR LİSTESİ

AML	: Akut myeloid lösemi
ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
APL	: Akut promyelositik lösem
ARA-C	: Sitozin Arabinozid
ATRA	: All-trans retinoik asit
APC	: Antijen sunan hücre
BK	: Beyaz küre
C KIT	: CD117
cMPO	: Sitoplazmik myeloperoksidaz
CRP	: C-reaktif protein
CTLA4	: T lenfosit antijen-4
DIC	: Dissemine intravasküler koagülasyon
DSÖ	: Dünya sağlık örgütü
ECOG	: Doğu kooperatif onkoloji grubu
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
ELN	: Avrupa Lösemi Ağı
FAB	: Fransız Amerikan İngiliz
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
GVHD	: Graft versus host hastalığı
HB	: Hemoglobin
HLA	: İnsan lökosit antijeni
HM	: Hepatomegali
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
İHK	: İmmünohistokimya
İNV	: İnversiyon
KML	: Kronik miyeloid lösemi
KMPH	: Kronik myeloproliferatif hastalık
LDH	: Laktat dehidrogenaz
MDS	: Miyelodisplastik sendrom

MHC	: Major doku uyum kompleks
MPN	: Miyeloproliferatif neoplazi
NK	: Doğal öldürücü
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PD1	: Programlanmış hücre ölümü 1
PDL1	: Programlanmış hücre ölüm ligandı 1
PLT	: Platelet
PML-RARA	: Promyelositik lösemi-retinoik asit reseptör alfa
PV	: Polisitemi vera
SM	: Splenomegali
STAT	: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
T-MN	: Tedavi ilişkili myeloid neoplazi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
µL	: Mikrolitre

ÖZET

Akut Miyeloid Lösemili Hastalarda PD1/PDL1 İfadesi ve Klinik önemi

Giriş ve Amaç: AML; kemik iliğindeki miyeloid öncü hücrelerin proliferasyonu ve birikimi ile karakterize klonal bir hastalıktır. Akut myeloid lösemili hastalarda PD1/PDL1'in yüksek oranda ifadesinin kötü prognostik olduğu bazı çalışmalarda bildirilmiştir. PD1/PDL1 mekanizmasının blokajı, inhibe edilmiş T hücrelerini yeniden aktive ederek antitümör immün yanıtını arttırmaktadır. Bu çalışmada AML tanılı hastaların kemik iliği örneklerinde PD1 ve PDL1 ifadesini belirleyerek bu verilerin prognostik önemini değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmamızda PD1/PDL1 ifadesinin klinik ve laboratuvar parametreleri ile ilişkisi analiz edildi.

Gereç ve yöntem: Çalışmamıza Mart 2009-Eylül 2018 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalına başvuran 99 AML hastası dahil edildi. Hastaların rutin tetkiklerinin yanı sıra akım sitometri ve genetik testleri kaydedildi. İmmünohistokimyasal boyama için polilislinli lamlara alınan kemik iliği biyopsi örneklerine PD1 ve PD L1 uygulandı. Bu uygulamada Ventana marka BenchMark XT model otomatik immünohistokimya boyama cihazı kullanıldı.

Bulgular: Hastalarımızın 89'unda de-novo AML, % 11'inde ise sekonder AML saptanmıştır. Hastaların 49'u kadın 50'si erkektir. Hastalarının yaş ortalaması $51 \pm 1,67$ 'dir. İndüksiyon tedavisi ile remisyona girmeyen hastalar remisyonda olan hastalara göre ileri yaşta idi ($p < 0,05$). Hastaların 9'unda PDL1, 4 hastada ise PD1 boyanması görüldü. PD1 pozitifliği olan hastalarda CD117 ve CD34 antijen düzeyi yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). PD1/PDL1 düzeyi ile sağkalım süresi arasında ilişki bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Sonuç: İstatiksel olarak anlamlı sayıda olmamakla beraber PD1/PDL1 boyanması görülmüştür. AML hastalarında kontrol noktası inhibitörleri için prospektif akım sitometrisi ve immünohistokimya ile yapılan daha fazla sayıda hastayı içeren ileri çalışmalar gerekmektedir.

Anahtar kelimeler; AML, PD1, PDL1, prognoz

ABSTRACT

PD/PDL1 Expression and Its Clinical Relevance In Patients with Acute Myeloid Leukemia

Objective: AML; is a clonal disease characterized by the proliferation and accumulation of myeloid precursor cells in the bone marrow. Some studies have reported that high rate of PD1/PDL1 expression is poor prognostic in patients with acute myeloid leukemia. Blocking of the PD1/PDL1 mechanism increases the antitumor immune response by reactivating T cells. In this study, we aimed to evaluate the prognostic significance of PD1 and PDL1 expression in bone marrow samples of patients with AML. In our study, the relation of PD1/PDL1 expression with clinical and laboratory parameters was analyzed.

Materials and Methods: In this study, 99 patients with AML referred to our Hematology Department of Çukurova University Hospital between March 2009 and September 2018 were included. Bone marrow aspiration and biopsies were examined and the diagnosis was made according to WHO criteria. Bone marrow biopsy material and peripheral blood samples taken during diagnosis were examined. For immunohistochemical staining, polysilicate slides were treated with PD-1 and PD-L1. In this application, Ventana brand BenchMark XT model automatic immunohistochemistry staining device was used.

Results: In our study, % 89 of randomly selected AML patients had de novo AML and %11 had secondary AML. Of the patients, 49 were women and 50 were men. The mean age of all patients was 51 ± 1.67 . Patients who were not in remission with induction therapy were older than patients in remission ($p < 0.05$). PDL1 was seen in 9 patients and PD1 staining was seen in 4 patients. CD117 and CD34 antigen levels were found to be high in patients with PD1 positivity ($p < 0.05$). There was no relationship between PD1 / PDL1 level and survival ($p > 0.05$).

Conclusion: Our data did not demonstrate a clinically relevant correlation with regard to PD1 / PDL1 expression in patients with AML. Further studies involving more patients with acute myeloid leukemia patients with prospective flow cytometry and immunohistochemistry for control point inhibitors are required.

Keywords: AML, PD1, PDL1, prognosis

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Akut miyeloid lösemi (AML); kemik iliğindeki miyeloid öncü hücrelerin proliferasyonu ve birikimi ile karakterize, sıklıkla hematopoetik yetmezliğin geliştiği klonal bir hastalıktır.¹ Akut lösemilerin tanısı kemik iliği örneğinin morfolojik, genetik ve immünofenotipik incelemeleri bütünü doğrultusunda gerçekleşir. DSÖ; kemik iliğinde % 20 veya üzeri immatür (blastik) hücre mevcudiyetini akut lösemi olarak tanımlamaktadır.²

Yaş, performans durumu, komorbiditelerin varlığı AML hastalarında hasta ilişkili en güçlü prognoz faktörleri iken, sitogenetik ve moleküler genetik bulgular lösemi ilişkili en güçlü risk faktörleridir.⁵

AML heterojen klinik tablosu ve farklı tedavi modaliteleri olan bir hastalık grubudur. AML sınıflaması, yaş, performans durumu gibi prognostik faktörler tedavi protokolü belirlenirken dikkate alınmalıdır. ABD verilerine göre optimal tedavi ile 5 yıllık sağkalım oranı % 27 olarak bildirilmiştir. Özellikle relaps, refrakter genç hastalar ve yoğun kemoterapi rejimlerini tolere edemeyen yaşlı hastalar için yeni tedavi arayışları devam etmektedir.³

Son zamanlarda “programlanmış hücre ölüm 1 (PD1) yolağının ve inhibitörlerinin keşfedilmesi immünoterapi için ümit vaad etmektedir. PD1, T lenfositler de dahil olmak üzere çeşitli immün sistem hücreleri tarafından ifade edilen yüzey membran antijenidir. PD1’in 2 adet ligandı vardır ; “programlanmış hücre ölümü ligandı 1 ve 2” (PDL1, PDL2). Her iki ligandın da tümöral hücrelerde ve immün sistem hücrelerinde ifade edildiği bildirilmektedir.⁴

Son yıllarda, özellikle immün kontrol noktaları inhibitörlerinin geliştirilmesiyle birlikte kanser immünoterapisi alanında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. PD1/(PDL1/PDL2) mekanizmasının blokajı inhibe T hücrelerini yeniden aktive ederek antitümör immün yanıtını artırabilir. PD1-PDL1 yolağı öncelikle solid tümörlerde araştırılmış ve PD1 inhibitörlerinin yaşam süresini uzatan olumlu etkisi görüldükçe diğer tümörlerde ve hematolojik malignitelerde araştırılmaya başlanmıştır. Öncelikle fareler üzerinde yapılan çalışmalarda AML olan gruplarda PDL1 ifadesinin prognozu

olumsuz etkilediği gösterilmiştir.^{91,92}T akip eden çalışmalarda AML hastalarında PDL1 ekspresyonu gösterilmiştir.^{90,93}

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hematoloji Ana Bilim Dalında AML tanısı alan ve takip edilmiş olan hastalarda kemik iliği örneklerinde immünohistokimyasal yöntemle PD1/PDL1 ekspresyonunun prognostik öneminin belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Miyeloid Lösemi

2.1.1. Tanım

Akut lösemi hematopoetik kök hücrenin malign transformasyonu sonucu gelişen, kemik iliği, periferik kan veya ilik dışı dokuların, immatür hücreler (blastlar) tarafından işgal edildiği klonal, neoplastik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Akut lösemilerde olgunlaşma özellikle miyeloid veya lenfoblastik hücre serilerinde kesintiye uğramıştır. Olgunlaşma bloğu miyeloid gelişim ağacı elemanlarında ise AML (Akut myeloid lösemi) lenfosit gelişim ağacı elemanlarında ise ALL (Akut lenfoblastik lösemi) olarak adlandırılmaktadır.⁶

Akut lösemilerin tanısı kemik iliği örneğinin morfolojik, genetik ve immünofenotipik incelemeleri ile gerçekleşir. Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Akut Lösemi sınıflandırma sistemi kullanılmaktadır. DSÖ kriterlerine göre kemik iliğinde %20 veya üzeri immatür (blastik) hücre mevcudiyeti akut lösemi olarak tanımlanmaktadır. Ancak inv (16), t (8;21), t (16;16) ve t (15;17) gibi sitogenetik anormallikler varlığında AML tanısı için myeloblastların sayısı önem taşımaz.²

2.1.2. Sınıflandırma

AML'nin moleküler düzeyde heterojen yapıda olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.⁷ Hastalığın tedavi başarısı ve prognozu açısından doğru sınıflandırılması önemlidir. Sınıflandırma hastalık gelişimin temelinde yatan genetik değişiklikler ile sitolojik ve morfolojik değişiklikler göz önünde bulundurularak yapılır. Bu amaçla, 1970'lerden 2008 yılına kadar FAB sınıflandırması kullanılmakta idi. (Tablo 1) . Sekiz ana gruptan oluşan bu sınıflama yalnızca sitolojik ve morfolojik değişikliklere göre yapıldığından tedavi rejiminin belirlenmesi ve klinik seyir açısından yetersiz kalmaktaydı.

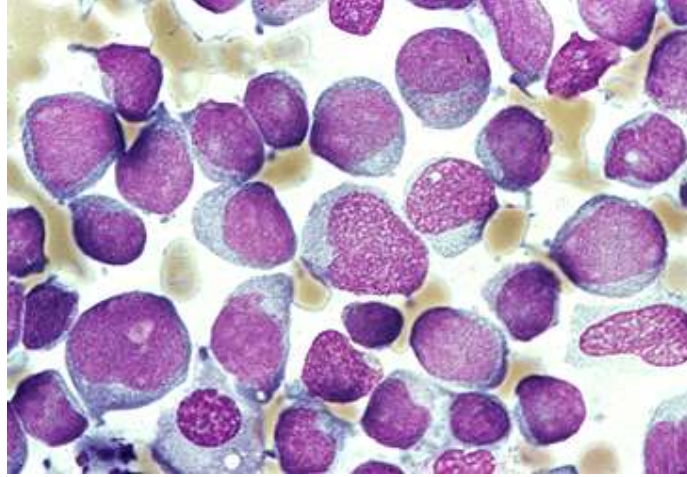
Tablo 1. Akut Myeloid Lösemi'de FAB sınıflandırması

Alt tip	Tanımlama
M0	Minimal farklılaşma gösteren akut miyeloblastik lösemi
M1	Olgunlaşma göstermeyen akut miyeloblastik lösemi
M2	Granülositik olgunlaşma gösteren akut miyeloblastik lösemi
M3	Akut promyelositer lösemi
M3v	Akut varyant promyelositer lösemi
M4	Akut myelomonositer lösemi
M4E0	Akut eozinofilik myelomonositer lösemi
M5a	Akut monoblastik lösemi
M5b	Akut monositik lösemi
M6	Akut eritrolösemi
M7	Akut megakaryoblastik lösemi

2008 yılından itibaren WHO, daha çok genetik özelliklere dayanan bir sınıflandırma kullanmaya başlamıştır. Bunun sebebi akut lösemi hastalarında klinik seyri belirleyen temel faktörün morfolojik bulgulardan ziyade eşlik eden genetik anormallikler olmasından kaynaklanmaktadır. Buna göre; tekrarlayan genetik anormalliklerle ilişkili AML, miyelodisplastik sendrom sonrası gelişen AML, tedavi sonrası gelişen AML ve diğer AML'ler olarak sınıflandırma yapılmıştır. Özellikle hematolojik malignitelerde moleküler genetik gelişmeler nedeniyle DSÖ 2016 yılı içerisinde sınıflama sistemini güncellemiştir⁸ (Tablo 2).

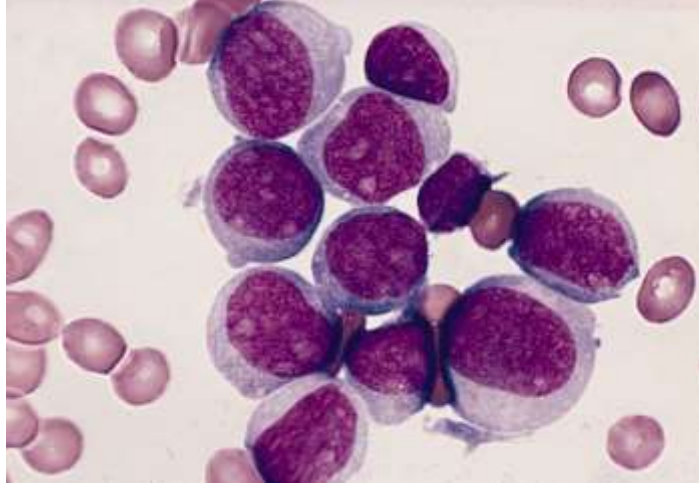
Tablo 2. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2016 Akut Myeloid Lösemi sınıflaması⁸

Tekrarlayan genetik anomalilerle seyreden AML *t (8 21) (q22; q22.1); RUNX1-RUNX1T1 ile birlikte olan AML *İnv (16) (p13.1q22) veya t (16;16) (p13.1; q22), (CBFβ/MYH11) ile birlikte olan AML *PML-RARA ile birlikte olan AML *t (9,11); MLLT3-KMT2A ile birlikte olan AML *t (6;9); DEK-NUP214 ile birlikte olan AML *İnv (3); GATA2, MECOM ile birlikte olan AML *t (1;22); RMP15-MKL1 ile birlikte olan AML (megakaryoblastik) *Provizyonel antite: BCR-ABL1 ile birlikte olan AML *NPM1 mutasyonu ile birlikte olan AML *Biallelik CEBPA mutasyonları ile birlikte olan AML *Provizyonel antite: RUNX1 mutasyonu ile birlikte olan AML
Myelodisplazi ilişkili değişiklikler ile birlikte olan AML
Tedavi ilişkili myeloid neoplaziler
Başka şekilde sınıflandırılmayan AML; AML-NOS * Minimal farklılaşma ile birlikte olan AML * Maturasyonsuz AML * Maturasyonlu AML * Akut myelomonositik lösemi * Akut monoblastik lösemi * Saf (pür) eritroid lösemi * Akut megakaryoblastik lösemi * Akut bazofilik lösemi * Miyelofibrozis ile birlikte olan akut pan myelozis
Myeloid sarkom
Down Sendromu ile ilişkili myeloid proliferasyonlar *Geçici anormal myelopoez (TAM) *Down sendromu ilişkili myeloid lösemi



Şekil 1. AML olan bir hastaya ait kemik iliği aspirasyonu

Blastik hücreler gri mavi sitoplazma, farklı nükleolus, sitoplazmik granül yoktur.
(Wright-giems)



Şekil 2. Periferik kanda miyeloblast

2.1.3. Epidemiyoloji

AML yetişkinlerde en sık görülen akut lösemi tipidir.⁹ ALL ye kıyasla 3-4 kat daha fazla görülür. En sık 65-74 yaşlarında görülen hastalıkta medyan yaş 68'dir. Erkeklerde kadınlara göre daha sıktır. Her 5 erkeğe karşın 3 kadında AML görülür. 2009-2013 yıllarında Avrupa'da insidans 5-8/100000'dir. Amerika'da benzer oranlardadır.¹⁰ AML'nin insidansı ve etnik dağılımı değişkenlik gösterir. Beyaz ırkta diğerlerine göre daha fazla görülür. Altmış yaş altındaki hastalarda tedavi başarı oranı % 35-40 civarındadır, ileri yaşta bu oran % 5-10'dur. Bu durumun nedenlerinden biri yoğun kemoterapi rejimlerinin yaşlı hastalar tarafından tolere edilememesidir.⁷ İleri yaştaki hastalarda AML tanı ve tedavi modalitelerindeki ilerlemelere rağmen kötü seyretmektedir.¹¹ AML'li hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı % 27 olarak bildirilmiştir.³ Ancak ölüm oranlarının yaş, cinsiyet ve etnik kökene göre değiştiği gözardı edilmemelidir.

2.1.4. Etiyoloji

AML tanısı alan hastaların büyük bir çoğunluğunda predispozan bir faktör belirlenemez. AML veya MDS gelişme riski, benzen, sigara dumanı, radyasyon (genellikle terapötik radyoterapiye ikincil) ve sitotoksik kemoterapi gibi DNA'ya zarar veren maddelerin maruz kalmasıyla artmaktadır.¹² Alkilleyici ajanlar (klorombusil, siklofosfamid, melfalan) ve topoizomeraz-2 inhibitörleri (örneğin etoposid,

mitoksantron) tedavi ilişkili MDS ve AML riskini arttırmıştır.¹³ AML'li hastaların yakınlarında hematolojik maligniteler ve solid tümör riski artmaktadır.¹⁴ Bazı kalıtsal bozukluklar yüksek oranda AML'ye dönüşüm riski taşır. Lösemi predispozan durumları arasında Down sendromu, Fanconi anemi, Bloom sendromu, ataksi-telanjiyektazi, Diamond-Blackfan anemi, Schwachman-Diamond sendromu ve ağır konjenital nötropeni (Kostmann sendromu) vardır.¹⁵

Myeloproliferatif hastalıkların (KML, PV, esansiyel trombositoz, myelofibrozis) takibinde AML transformasyonu görülebilmektedir.^{16,17,18}

2.1.5. AML'de Prognostik Belirleyiciler

Prognostik belirteçler hasta ya da lösemi ilişkili prognostik belirteçler olarak ayrılabilir. Yaş, performans durumu, komorbiditelerin varlığı yetişkin AML'li hastalarda, hastalıkla ilişkili en güçlü risk faktörleridir. Sitogenetik ve moleküler genetik ise lösemi ilişkili en güçlü prognoz faktörleridir.⁵

AML'li hastalarda yaşın prognoza etkisi 50 yaşından sonra belirginleşir. Yaşlı AML hastalarında kötü prognoza birçok faktör katkıda bulunabilir. Artan komorbidite, yoğun sitotoksik tedaviye kontrendikasyonlar, düşük performans durumu, olumsuz sitogenetik anormallikler bunlar arasında sayılabilir. Ancak tüm bu faktörler dışlandığında bile hasta yaşı bağımsız risk faktörü gibi durmaktadır. Altmışbeş yaş ve üzeri yaştaki hastalar sitogenetik riskleri ne olursa olsun, yoğun kemoterapiden sonra bile kötü prognoza sahiptir.¹⁹

Düşük ECOG (Eastern Cooperative Oncology Grup) performans statüsüne sahip hastalar yaştan bağımsız olarak daha kötü bir prognoza sahiptir. Diabetes mellitus, kalp hastalıkları, akciğer hastalıkları (KOA), karaciğer hastalıkları, böbrek yetmezliği gibi eşlik eden ek hastalıklar lösemide kötü prognoz ile ilişkilidir.²⁰

AML'li hastalarda prognoz ile ilişkili en önemli parametre sitogenetiktir. Translokasyon (8;21), inv (16), t (16;16), t (15;17), normal sitogenetikli olgularda FLT3 yokluğunda NPM1 mutasyonu veya CEBPA mutasyonu olan olgular iyi risk grubudur. En kapsamlı sitogenetik bulgular ve prognozla ilgili korelasyon çalışması 5876 AML hastası içermektedir.²¹ Bu çalışmada -5, 5q del, -7, 7q del, t (11q23), t (11;19), inv

(3)(q21q26), t (3;3) (q21q26.2), t(9;22), -17, abn (17p) sitogenetik anormallikler yüksek risk olarak tanımlanmıştır.²¹

Tedaviyle ilişkili miyeloid neoplazmlar (t-MN) tüm AML, MDS ve MDS / MPN vakalarının yaklaşık % 10-20'sini oluşturur.²² Sitotoksik ajanlarla tedavi edilen hastalar arasındaki insidans, altta yatan hastalığa, spesifik ajanlara maruz kalma zamanına ve doza göre değişir.²³

Tedavi ilişkili AML'li hastalar de-novo AML hastaları ile karşılaştırıldığında, kötü prognozlu sitogenetik anormallikler daha sık görülmektedir. Tedavi ilişkili MN'li hastaların prognozu genellikle daha yüksek ilaç direnci oranları nedeniyle de novo AML olanlara göre daha kötüdür. Tedavi ilişkili AML olan hastaların sağkalımı, aynı sitogenetik risk grubu içinde de novo AML olanlardan genellikle daha kısadır.²⁴

Bazı genlerdeki anormallikler (örn. FLT3, NPM1, KİT'deki mutasyonlar) ve gen ekspresyon profilleri, AML'li yetişkin hastalarda prognostik önem taşır. FLT3, NPM1, KIT, CEBPA, TP53, RUNX1 ve ASXL1'deki anormallikler en çok çalışılanlardır. WT1 Wilm's tümör 1, meningioma 1 (MN1), TET2, IDH1, IDH2, DNMT3A, SRSF2 veya RAS gibi diğer gen mutasyonları da prognostik öneme sahip olabilir, ancak prospektif çalışmalarda daha fazla doğrulamaya ihtiyaç vardır.^{25,26,27}

Tablo 3. Akut Myeloid Lösemide risk grupları (2017) ²⁸

Düşük Risk <ul style="list-style-type: none">• t (8;21) (q22;q22.1) ; <i>RUNX1-RUNX1T1</i>• inv (16) (p13.1;q22) or t (16;16) (p13.1; q22); <i>CBFB-MYH11</i>• Mutant <i>NPM1 FLT3</i>-ITD yok veya <i>FLT3</i>-ITD düşük allelik oranı<0,5• Biallel mutant <i>CEBPA</i>
Orta risk <ul style="list-style-type: none">• Mutant <i>NPM1</i> ve <i>FLT3</i>-ITD yüksek allelik oranı>0,5• Wild tip <i>NPM1</i>, <i>FLT3</i>-ITD yok veya düşük allelik oranı<0,5 olan <i>FLT3</i>-ITD (yüksek riskli genetik mutasyonlar olmaksızın)• t (9;11) (p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i>• Düşük risk yüksek risk olarak sınıflandırılmamış sitogenetik anormallikler
Yüksek risk <ul style="list-style-type: none">• t (6;9) (p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i>• t (v;11q23.3) ; <i>KMT2A</i> rearanjmanı• t (9;22) (q34.1; nmp1q11.2) ; <i>BCR-ABL1</i>• İnv (3) (q21.3;q26.2) or t (3;3) (q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM (EVII)</i>• Monozomi 5 veya del (5q) ; monozomi 7; monozomi 17/abn (17p)• Kompleks karyotip, monozomal karyotip• Wild-tip <i>NPM1</i> ve yüksek allelik oranı>0,5 olan <i>FLT3</i>-ITD• Mutant <i>RUNX1</i>, <i>ASXL1</i> veya <i>P53</i>

Laboratuvar parametreleri de prognozu gösterecek ipuçları vermektedir. Tanıda yüksek lökosit sayısı veya yüksek LDH kötü prognoz ile ilişkilidir. Tanıda hemoglobin, trombosit sayısı ve fibrinojen plazma seviyesinin prognostik etkisi olabilir. Yüksek beta2 mikroglobulin seviyeleri yaşlı AML tanılı hastalarda olumsuz bir prognoz faktörü olarak tanımlanmıştır.²⁹ Ancak bu faktörlerin prognoz etkisi yaş ve sitogenetik risk ile karşılaştırıldığında düşüktür.

Çeşitli miRNA'ların farklı ekspresyonu farklı sitogenetik veya moleküler olarak tanımlanmış AML alt grupları ile ilişkilidir, ancak prognoz açısından doğrulanmış önemleri bulunmamaktadır.³⁰

2.1.6. Akut Miyeloid Lösemide Tedavi

AML tanısı konulur konulmaz normal kemik iliği fonksiyonunu hızlıca düzeltmek amacı ile indüksiyon kemoterapisi verilir. AML'li hastalarda kombinasyon tedavisi primer tedavi modalitesidir. AML hastaları içinde genç ve yaşlılar arasında tedavi rejimi yönünden farklılıklar olabilir.

2.1.6.1. Remisyon İndüksiyon Tedavisi

Altmış yaş altındaki hastalarda en sık kullanılan indüksiyon tedavisi 3+7 rejimidir. Bu rejim sitarabin ve antrasiklin kombinasyonudur. Antrasiklin olarak idarubisin içeren rejimler daunorubisinli rejimlere göre daha yüksek tam remisyon oranlarına sahiptir.³¹ Yüksek doz sitarabin (HIDAC) ile antrasiklin kombinasyonu standart doz sitarabine üstün bulunmamıştır ve HIDAC artmış toksisite ile ilişkilidir.³² Bu nedenle indüksiyon tedavisi olarak HIDAC rejimi 50 yaş altı ya da antrasiklin kullanamayacak hastalara önerilir.

2.1.6.2. Konsolidasyon Tedavisi

İyi risk grubu için tedavi; yüksek doz sitarabin (HIDAC) 3-4 siklus uygulanır.³³ Bu grup hastalarda otolog ve allojeneik kök hücre naklinin HIDAC tedavisine üstünlüğü yoktur.³⁴

Orta risk grubu için tedavi; HLA tam uyumlu vericisi olan hastalarda allojeneik kök hücre nakli, verici yoksa HIDAC sonrası otolog kök hücre nakli veya 3-4 siklus HIDAC uygulanır.³⁵ Otolog kök hücre nakli ile relaps oranı yüksektir.³⁶ Allojeneik kök hücre naklinde graft versus host hastalığı riskinin yanı sıra graft versus lösemi etkisi vardır. Otolog kök hücre nakline kıyasla relaps riski daha düşüktür. Hastalısız sağkalım ve genel sağkalım kemoterapi ile tedavi edilenlere göre daha iyidir.³⁴

Kötü risk grubu için tedavi; allojeneik kök hücre nakli önerilir. Nakil şansı olmayan hastalarda HIDAC sonrası otolog kemik iliği nakli uygulanır. Ancak allojeneik kök hücre nakli yapılan grupta tedavi ilişkili mortalite oranı yüksektir.^{34,37}

2.1.6.3. İleri Yaştaki Hastalarda Tedavi

Altmış yaş üstü hastalarda performans durumu, klinik özellikleri, eşlik eden hastalıkları, sitogenetik risk grubu göz önüne alınarak tedavi edilmelidir. Kötü performans durumu ve eşlik eden ciddi hastalıklar varlığında sadece destek tedavisi önerilir. İyi orta risk grubunda olan performans durumu (ECOG 1-2) olan 60 yaş üstü hastalara yoğun kemoterapi uygulanabilir.³⁸

2.1.6.4. AML'de Kök Hücre Nakli

Allogenic kök hücre nakli otolog kök hücre nakline göre daha etkili ve nüks oranı daha düşük olan bir tedavidir. Kötü sitogenetik risk grubunda HLA uyumlu allojeneik kök hücre naklinin sağkalım sürelerine olumlu etkisi vardır.

2.1.6.5. AML'de Epigenetik Tedaviler

DNA diziliminde değişiklikler olmaksızın hücre bölünmesi ile kalıtsal olarak aktarılabilen gen ifadesindeki değişiklikler epigenetik değişiklikler olarak adlandırılır. AML hastalarında epigenetik regülasyonu düzenleyen proteinlerin kodlandığı genlerde rekürren mutasyonlar saptanmıştır. Hedefe yönelik epigenetik tedaviler araştırılmaktadır.³⁹

DNMT inhibisyonu: azasitidin ve desitabin sitozin analogları ile uygulanmaktadır. DNA metil transferazı inhibe ederek etki göstermektedir. MDS tedavisinde, düşük blast sayılı AML tedavilerinde, yoğun kemoterapi tedavisini tolere edemeyecek yaşlı AML hastalarında ruhsatlı ilaçlardır. Ayrıca indüksiyon tedavisi sonrası ve kök hücre nakli sonrasında relaps oranını azaltmak amaçlı azasitidin tedavisi uygulanmaktadır.⁴⁰

2.1.6.6. Hedefe Yönelik Tedaviler ve İmmünoterapi

AML tanılı 60 yaş altı hastalarda indüksiyon amaçlı 7+3, 60 yaş üstü düşük blast hastalarda ise hipometile edici ajanlar, düşük doz sitarabin ya da destek tedavisi uygulanmaktadır. Bu tedaviler ile elde edilen başarı sınırlıdır. Tedavilerin toksisitesi ve başarının sınırlı olması yeni tedavi seçeneklerinin araştırılmasına zemin hazırlamıştır.

AML'de hedefe yönelik tedavi olarak uygulanan ATRA'nın başarısı diğer AML alt tipleri için hedefe yönelik tedavi arayışına yol açmıştır.

AML'de hastalık patogenezi ile ilgili C-KIT, IDH1 VE IDH2, FLT3 mutasyonları tespit edilmiştir.^{26,41}

FLT-3; AML'de en sık mutasyona uğrayan gen dir.FLT3 mutasyonu olan hastalarda erken nüks daha sık ve sağkalım daha kısadır.⁴² AML olgularının % 30'unda görülmektedir.⁴² Erken nüks ve kötü tedavi sonuçları ile ilişkili olması nedeniyle FLT3 inhibitörleri tedaviye eklenerek çalışmalar yapılmıştır. Standart 3+7 kemoterapisi ile kombine edilerek uygulanmış ve tedaviye yanıt oranlarında artış gözlenmiştir.⁴²

AML'de CD33 antijeni pozitif olan hastalarda bu antijene karşı bir monoklonal antikor olan gemtuzumab ozogamisin tedavi rejimlerine girmiştir. De novo ve relaps refrakter AML'de antrasiklin ile kombine ya da tek ajan olarak kullanılabilir. Altmış yaş üstü hastalarda sağkalımı arttırmış ancak genç hastalarda sağkalım üzerine olumlu etkisi olmamıştır.⁴⁴

2.1.7. AML'de Remisyon Kriterleri

Hastalara indüksiyon tedavisinden sonra 14. Gün kemik iliği değerlendirilmesi yapılmalıdır. Bu süre 1 aydan uzun olmamalıdır.

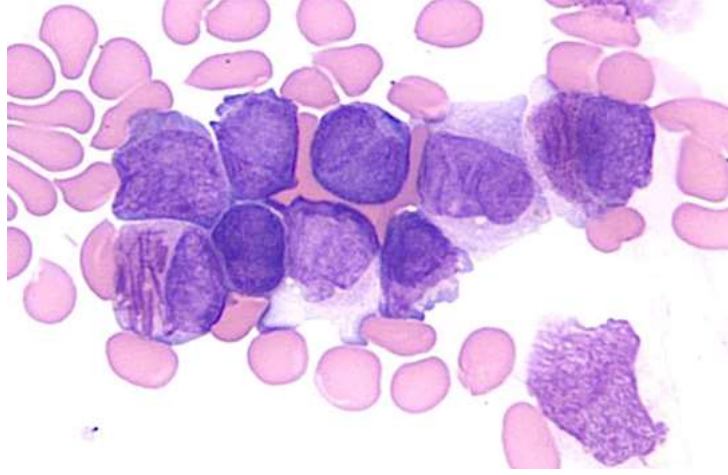
Tam Remisyon Kriterleri

Mutlak nötrofil sayısı>1000/ μ L, platelet sayısı>100000/ μ L, hemoglobin düzeyi normal, eritrosit süspansiyon ihtiyacı bulunmamalıdır. Kemik iliği normosellüler olmalıdır. (hücresele bileşenlerin normal olgunlaşmasının tamamlanmış olması) Kemik iliğinde % 5'ten az blast hücresi olması, lösemik fenotipin olmaması (auer rod gibi) gerekmektedir. SSS veya başka bir ekstramedüller tutulumuna ait semptom ve bulgular olmamalıdır.⁴⁵

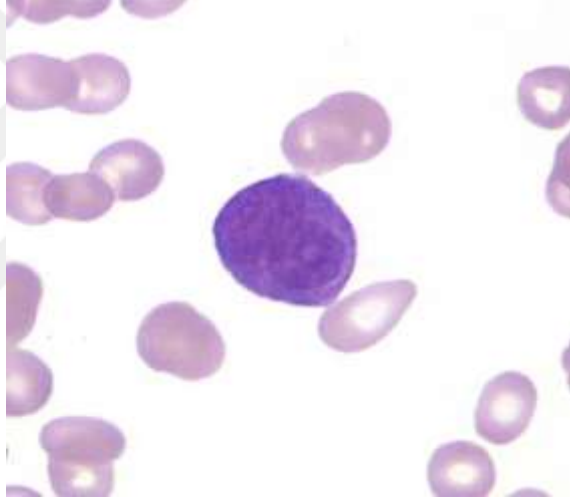
Bazı hastalar yukarıdaki kriterleri periferik kan sayımları dışında karşılar. Trombosit ve/veya nötrofil değerleri beklenilenin altındadır. Bu hastalarda sağkalım ve relaps oranları tam remisyonadaki hastalara göre daha kötüdür.⁴⁴

2.1.8. Akut Promeositik Lösemi

Akut myeloid lösemnin FAB sınıflamasına göre M3 alt tipidir. APL klinik, morfolojik ve moleküler özellikler açısından farklıdır. En iyi prognozlu AML alt tipidir. Sitogenetik olarak t(15;17) translokasyonu vardır. On beşinci kromozomda PML'nin 17. kromozomdaki RARA genine translokasyonu ile oluşmaktadır. (PML-RARA) PML-RARA füzyon geni sitogenetik analiz, FISH, PCR ile gösterilmektedir. APL morfolojik olarak hipergranüler ve hipogranüler olmak üzere 2 gruba ayrılır. Hipergranüler APL sitopeniler ile başvurur. Anormal promeositlerde yoğun sitoplazmik granüller ve blastlarda auer rod bulunur. Hipogranüler APL ise tanı anında daha lökositoz ve daha az auer rod bulunur.⁴⁶

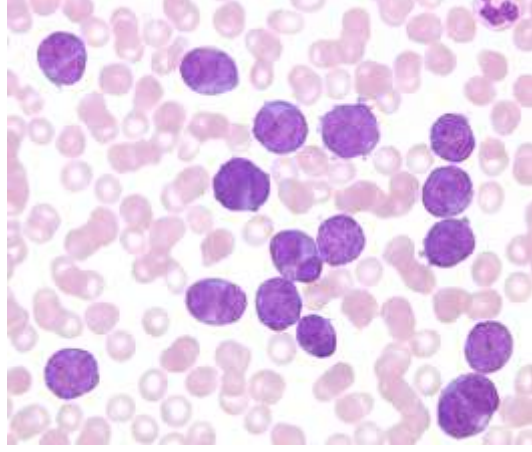


Şekil 3. Akut promyelositik lösemi kemik iliği aspirasyonu
* Promyelosit stoplazmalarında auer rod bulunmaktadır.



Şekil 4. Akut promyelositik lösemi, hipergranüler tip

Anormal promyelositler granüler sitoplazmalı, bilobule dambıl şeklinde çekirdeklere sahiptir.



Şekil 5. Hipogranüler tip APL

Hipogranüler tip APL’de beyaz küre sayısı genellikle yüksektir. Hücreler iki loblu dambıl şeklinde çekirdeklere sahiptir. Sitoplazmada granüller azalmıştır.

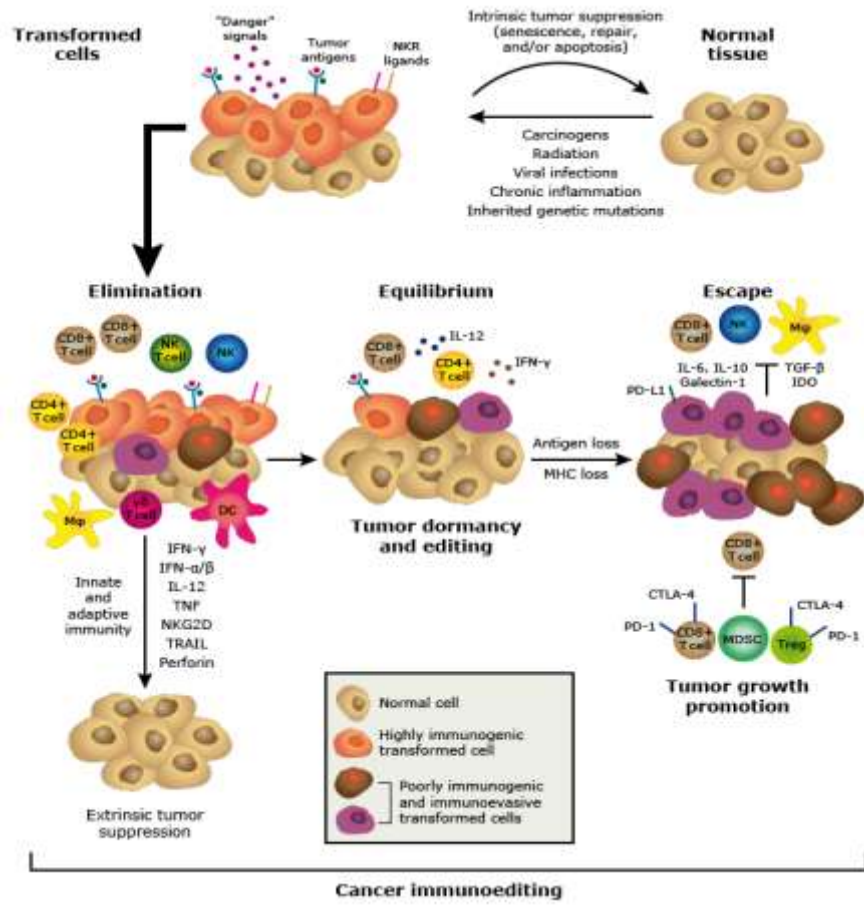
APL’de DİK komplikasyonu diğer AML tiplerine göre daha sık görülür. APL’de erken mortalitede DİK önemli yer tutmaktadır. Tedavi edilmeyen APL kontrolsüz kanamadan kaynaklanan 1 aydan kısa süreli sağkalıma sahiptir.⁴⁷ Bu sebeple klinik ve morfolojik olarak APL şüphesi varsa ATRA tedavisine gecikmesizin başlanması önerilir. Erken tedavi ile erken ölümler önlenebilir.⁴⁸ Ancak uzun dönemde prognozu en iyi olan alt tip APL’dir.

APL’de tedavi hedefe yönelik tedavi ve kemoterapi kombinasyonu şeklindedir. ATRA, akut lösemide hedefe yönelik ilk tedavi ajanıdır. ATRA PML-RARA’ya bağlanarak transkripsiyonel supresyonun ortadan kalkmasına yol açar. Böylece APL blastlarda diferansiyasyon, apoptoz ve hemostaz sağlanır. İndüksiyon tedavisi olarak ATRA+antrasiklin+ARA-C kombinasyonu uygulanır. Lökosit sayısı yüksek, yüksek riskli hastalara yoğun indüksiyon rejimleri uygulanır.⁴⁹

2.2. Mikroçevre ve Kanser İmmunolojisi

Kanser immün düzenlenmesi üç farklı sürecin sonucunda ortaya çıkmaktadır. Eliminasyon (elimination), denge (equilibrium), kaçış (escape) . Eliminasyon süreci başarılı olması durumunda tümör hücreleri yok edilmiş olur. Doğal ve adaptif immünite ile gerçekleşir. IFN alfa, IFN gama ve IL-12 gibi sitokinlerin aracılık ettiği T, B, NK hücre efektör fonksiyonları ile karakterizedir. Denge sürecinde konağın immün sistemi

ve eliminasyon işleminden kurtulan herhangi bir tümör varyantı dinamik bir dengeye ulaşır. Escape (kaçış) sürecinde, genetik veya epigenetik değişimler sonucu immünolojik tespite ve ortadan kaldırılmaya duyarsız hale gelen tümör varyantları kontrolsüz bir şekilde çoğalmaya başlar. Bu durum klinik olarak gözlenebilen malign hastalığın ortaya çıkışına ve tedavi edilmezse konağın ölümüne neden olur.⁵⁰



Şekil 6. Kanser immün düzenlenmesi (eliminasyon, denge, kaçış)⁵⁰

Tümörler herhangi bir çekirdekli hücreden köken alabilir. Tüm çekirdekli hücreler MHC sınıf I moleküllerini ifade eder, dolayısıyla tümör antijenlerini sunabilir.

Ancak T hücresinde özgün yanıt oluşabilmesi için mutlak ikinci bir sinyale yani ko stimülasyona ihtiyaç vardır. Oysa tümör hücreleri yüzeylerinde bu ko-stimülatör molekülleri bulundurmaz. Bunun yanı sıra, tümör hücreleri, T hücre aktivasyonunda yardımcı etki oluşmasında aracılık edecek MHC sınıf II moleküllerini de yüzeylerinde

bulundurmaz. Bu nedenle genellikle, konağın antijen sunan hücreleri (APC) tümör hücrelerini veya antijenlerini aldıktan sonra yüzeylerinde ifade eder ve sitotoksik T lenfosit cevabı bunların APC üzerinde tanınmasıyla meydana gelir. Ancak bu cevap genellikle zayıf ve yetersizdir. Çünkü tümör antijenleri zayıf immünojenik antijenlerdir. Konağın kendi antijenlerinden çok az farklılık gösterir. Makrofajların tümör immünitesinde önemli bir rolü vardır. Antijen Sunucu Hücreler olarak görev yaparak tümör hücrelerinin lizisinde rol alan efektör mekanizmaları uyarırlar. Makrofajlar MHC Sınıf II molekülleri ile tümör antijenlerini Th1 hücelere sunar. NK hücreleri tümör hücrelerini sitolitik olarak yok eder. NK hücreleri tümör hücrelerinin MHC moleküllerine bağlanmazlar. NK hücreleri MHC sınıf I molekülleri olmayan veya bu molekülü çok az miktarda bulunduran tümör hücrelerini tanır. Dendritik hücreler hem CD8 hem CD4 T lenfositlere antijen sunan hücreler olarak görev yaparlar.

Tümör immünolojisinde en önemli rol T lenfositlerdedir. APC'ler tarafından fagosit edilen tümör hücrelerine ait antijenler MHC sınıf I molekülleri ile CD8+ T lenfositlere sunulursa tümör spesifik CD8 pozitif T Sitotoksik T lenfositler (CTL) proliferer olur ve tümör hücrelerini direkt olarak apoptoz ve lizis ile yok eder. Tümör antijenlerinin MHC II molekülleri ile CD4 pozitif T helper (Th) hücelerine sunulmasıyla Th hüceleri aktive olur. Aktive Th hüceler Th1 veya Th2 cevabını sağlar, B hücelerini aktive eder. B lenfositler tümör lizisinin antikor bağımlı yoldan gerçekleştirilmesinde görev yapar.

Tümör hücelerinin immün sistemden kaçışı ile ilgili birçok mekanizma tanımlanmıştır. Bazı tümörler bağışıklık sisteminin hedefi olan antijenleri eksprese etmeyi durdurur, bu tip tümörlere "antijeni kaybolmuş varyant" adı verilir. Eğer kaybolan antijen tümörün malign özelliklerini devam ettirmesi için gerekli değilse tümör T hüceler tarafından tanınmaz ve hızla büyümesini ve yayılımını sürdürür.⁵¹ Bazı tümörler MHC sınıf I moleküllerini MHC genlerinde veya antijen sunumu ile ilişkili genlerde meydana gelen mutasyonlar sonucu MHC sınıf I moleküllerini eksprese etmeyi durdurur. Bu durumda tümörler yüzeylerindeki tümör antijenlerini CD8 pozitif T hücelerine sunamaz hale gelirler.⁵² Bazı tümörler ise TNF- α gibi moleküller üreterek bağışıklık sistemini baskılayan antijenler üretirler. Bu antijenler T hücre aktivasyonu önlediği için tümör hüceleri çoğalmaya devam ederler. Bazı tümör hüceleri immün kontrol moleküllerini arttırabilir.⁵³

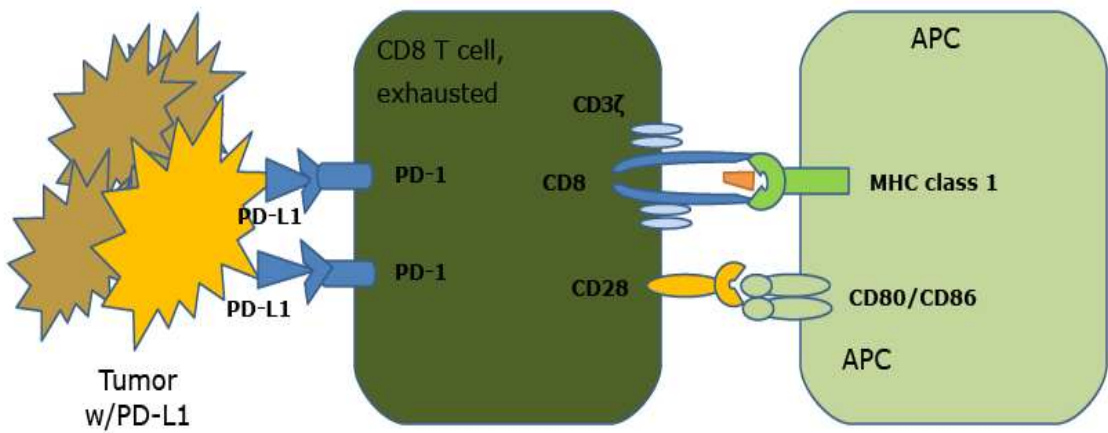
2.2.1. Programlanmış Hücre Ölüm1 (PD1) ve Programlanmış Hücre Ölüm Ligandı (PDL1)

PD1 (programlanmış hücre ölüm 1) reseptörü (CD279), T, B ve NK hücreler üzerinde eksprese edilen bir transmembran proteindir. PD1 ligandına PDL1 (B7-H1) ve PDL2 (B7-H2) ye bağlanan inhibitör moleküldür. PD-L1, hematopoietik hücrelerin yanı sıra birçok tümör hücresi de dahil olmak üzere birçok doku tipinin yüzeyi üzerinde ifade edilir; PDL2 hematopoietik hücrelerde daha sınırlıdır. PD1-PDL1/2 etkileşimi, doğrudan tümör hücresinin apoptozunu inhibe eder, periferal T efektör hücre tükenmesini destekler ve T efektör hücrelerinin Treg hücrelerine dönüşmesini teşvik eder. PD1'in ana rolü periferal dokularda T hücresinin aktivitesini sınırlamaktır. Bu tümör mikroçevresinde büyük bir bağışıklık direnci mekanizmasına dönüşmektedir.⁵⁴

T yardımcı tip 1 (Th1) hücreleri tarafından immün sürveyans, yalnızca tümörlere ve enfeksiyona karşı konak yanıtı için kritik değildir, aynı zamanda nakil sonrası otoimmünite ve greft-versus-host hastalığına (GVHD) katkıda bulunur.

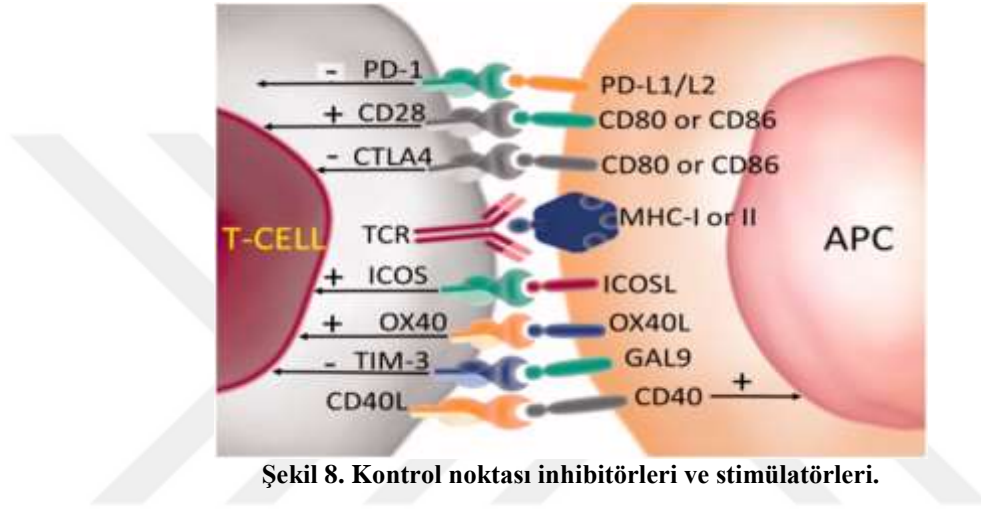
PD1 aktivasyonu T hücresinde SHP1-2 sinyalleri ile STAT moleküllerini etkisiz hale getirmektedir. PDL1 varlığında T hücreleri IFN- γ aracılı STAT1 fosforilasyonunu azaltmaktadır. Bu mekanizma ile PD1-PDL1 etkileşimi T efektör hücrelerin Treg hücrelere dönüşmesini sağlayarak tümöre karşı gerekli immün cevabı engellemektedir.

SHP2 eksikliği STAT fosforilasyonunu artırarak T hücre aktivasyonu sağlamakta enflamatuvar hastalık ortaya çıkmaktadır.⁵⁵



Şekil 7. PD1-PDL1 ile T hücre tükenme fenomeni⁵⁶

PD1-PDL1 bağlanması CD8 T hücresi tükenme fenomenine yol açar. İmmün kontrol noktaları immün homeostazının düzenlenmesinde T hücre immün yanıtına aracılık eden uyarıcı ve inhibitör sinyalleri optimal bir şekilde dengeleyerek önemli bir rol oynar. T hücre aktivasyonunu düzenleyen uyarıcı reseptörler CD28, CD27, ICOS T hücrelerinde ifade edilir. CD80 ve CD86 antijen sunan hücrelerde eksprese edilir. CTLA4 ve PD1 T hücrelerinde bulunan inhibitör reseptörlerdir.⁵⁷



Şekil 8. Kontrol noktası inhibitörleri ve stimülatörleri.

MHC üzerinden antijen sunumu, MHC-TCR bağlantısı ile T hücre aktivasyonuna yol açar. T hücre aktivasyonu ko stimülatör ve ko inhibitör sinyalleri ile düzenlenir. İnhibe edici sinyaller CTLA-4, PD1-PDL1, TIM3 ü içerir. Uyarıcı (ko stimülatör) sinyaller CD28, ICOS ve OX40'ı içerir. APC: antijen sunan hücre, TCR: T hücre reseptörü, MHC: Major doku uyum kompleks.⁷⁰

T hücre aktivasyonunu inhibe ederek bağışıklık yanıtını bloke eden T hücre yüzeyinde bulunan CTLA 4'ün keşfi anti CTLA 4'ü ortaya çıkarmıştır.⁵⁸

Sitotoksik T Lenfosit antijeni (CTLA) 4 ve programlanmış hücre ölüm proteini (PD) 1 en yaygın olarak hedeflenen iki bağışıklık kontrol noktası molekülüdür. CTLA 4 ve PD1'i hedefleyen antikorlar melanom ve küçük hücreli dışı akciğer kanser hastalarının tedavisi için ruhsat almıştır. CTLA 4 inhibitörü kullanan bazı metastatik melanomu olan hastalarda anlamlı yanıtlar elde edilmiştir.^{59,60} Solid tümörlerde elde

edilen başarıyı takiben bu tedaviler AML MDS dahil olmak üzere hematolojik malignitelerde değerlendirilmektedir.⁶¹

2.3. AML ve Programlanmış Hücre Ölüm 1 (PD1)

İnsanlarda monoklonal antikorlar kullanılarak PD1 ve CTLA-4'ü bloke eden klinik çalışmaların çoğu solid tümörlerde ve lenfomalarda gerçekleştirilmiş olsa da, PD1 ve CTLA-4 blokajının anti-lösemik etki yarattığı gösterilmiştir.⁶² AML, MDS ve KMML tanılı 124 hastayı içeren bir çalışmada kemik iliği ve periferik kanda PDL1 düzeyleri ölçülmüş bu hematolojik malignitelerde artmış PDL1 ekspresyonunun agresif hastalık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁶³ Ayrıca, relaps gösteren AML'li hastaların kemik iliğinde sağlıklı erişkin kemik iliği ile karşılaştırıldığında PD1 pozitif T hücrelerinin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir.⁶⁴ Relaps ve allojenik kök hücre transplantasyonu sonrası nüks eden hastalarda T hücreleri üzerindeki PD1'in anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada periferik kan ve kemik iliği T hücreleri akım sitometri yöntemi ile çalışılmıştır.⁶⁵

Zhou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada anti-PDL1 antikorunu kullanılarak PD1/PDL1 yolunun bloke edilmesi, fare modellerinde graft ve lösemi yanıtını arttırmıştır.⁶⁶

AML hastalarının çoğunluğu standart indüksiyon kemoterapisi ile tam remisyona ulaşmakla birlikte hastaların yarısından fazlasında relaps görülmektedir.⁶⁷ AML'li hastaların bazılarında allojeneik kök hücre nakli kür sağlar.⁶⁸ Hastaların küçük bir kısmı kök hücre nakil adayı olmaktadır. Allojeneik kök hücre naklindeki başarı immünolojik farklı seçenekler arayışına neden olmuştur. AML'nin uzun ve etkili tedavisi için tek immünolojik yolun hedeflenmesi yeterli olmayacaktır.⁶⁹ Minimal rezidüel hastalık tedavisi ve hastaliksız sağkalımı artırmak için kemoterapi ve immünoterapi kombinasyonları üzerine çalışmalar gerekmektedir. Fareler ile yapılan bir çalışmada tedavinin etkinliğinin korunmasında kontrol noktası inhibitörlerinin katkısı olacağı belirtilmiştir.⁷⁰ Hematolojik malignitelerde monoterapi ile elde edilemese de kombine tedaviler ile başarı elde edilmesi mümkün görünmektedir. AML/MDS hastalarında azasitidin tedavisi sonrası immün kontrol noktalarından PD1/PDL1 düzeyinin arttığı

gösterilmiştir.⁶³ Hematolojik malignitelerde azasitidin ile PD1/PDL1 temelli tedaviler ile ilgili bir dizi çalışma sürmektedir.^{71,72}



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hastalar

Çalışmamıza Mart 2009-Eylül 2018 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalına başvuran 99 AML hastası dahil edildi. Hastaların % 89'u (88 olgu) de novo AML, % 11'i (11 olgu) ise sekonder AML idi. De novo AML hastaların FAB sınıflamasına göre % 19,2'si (19) ise akut promyelositik lösemi tanısı aldı. İkincil AML hastalarının % 6'sı (6 olgu) MDS'den transforme AML, % 4'ü (4 olgu) KML blastik faz, % 1'i (1 olgu) ise KMPH'tan transforme (polisitemia vera) olan AML idi. Hastaların % 50,5'i (50) erkek % 49,5'i (49) kadındı. Yaş ortalaması $51\pm 1,67$ dir. De novo AML tanılı hastalarda ortalama yaş $50\pm 1,7$ sekonder AML olgularında $65\pm 4,2$ APL'li olgularda ise $41\pm 3,3$ idi.

Hastalarda tam kan sayımı, periferik kan incelemesi, kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi, periferik kan veya kemik iliği örneğinden akım sitometrik inceleme ile FISH ve/veya karyotip analizi çalışıldı. 2017 tarihinden sonra dahil edilen hastalardan FLT3, NPM1 mutasyonlarının varlığı araştırıldı. Philadelphia kromozom ve BCR-ABL proteini varlığı tüm hastalarda rutin olarak çalışıldı. Kemik iliği incelemelerinde ilik selüleritesi, blast yüzdesi, morfolojik anormallikler, fibrozis mevcudiyeti değerlendirildi. Tüm hastaların tanı sırasındaki fizik muayene bulguları (organomegali, lenfadenomegali varlığı), eşlik eden hastalıklar, ilaç alışkanlıkları kaydedildi. Hastalarımıza ait demografik veriler Tablo 4'te verilmiştir. Hastaların tanı sırasında tespit edilen klinik ve genetik prognostik bulguları kaydedildi. Kemik iliği aspirasyonu ile tanı alıp kemik iliği biyopsisi yetersiz olan hastalar çalışmadan çıkarılmıştır. Toplam 12 hastada (% 13,3) ekstramedüller tutulum mevcuttu: Cilt, orbita ve santral sinir sistemi tutulumu gözlemlendi. Hastaların indüksiyon tedavisi sonrası 14-28. gün arasında tedavi yanıtı değerlendirilmiştir. Kemik iliğinde % 5 ten az blast hücresi olması, lösemik fenotipin olmaması ve hemogramda mutlak nötrofil $>1000/\mu\text{L}$, platelet $>100000/\mu\text{L}$, eritrosit süspansiyonu ihtiyacı olmaması tam remisyon olarak değerlendirilmiştir. Kemik iliğinde % 5 ten az blast olan ancak yeterli hematolojik iyileşme göstermeyen hastalar (nötrofil $<1000/\mu\text{L}$ ve/veya platelet $<100000/\mu\text{L}$ olması)

inkomplet tam remisyon (TRi) grubunda değerlendirmiştir. Relaps hastalık, remisyona giren hastalarda hastalık tekrarlamasıdır. Refrakter hastalık en az iki indüksiyon tedavisi sonrası tam remisyon sağlanamaması durumudur. Bu kriterlere göre hastalar remisyonda, refrakter, relaps açısından değerlendirilmiştir.

Takip edilen 99 hastanın 97'sinde kök hücre transplantasyonu sorgulanmıştır. Yüzde 19,6'sında (19 olgu) kök hücre transplantasyonu yapılmıştır.

Tablo 4. Hastalara ait demografik veriler

AML olgu sayısı	99
Cins (E/K)	50/49
Yaş (Yıl)	51±1,67
Beyaz küre (x10 ³ /µl)	7,29±5,42
Hemoglobin (g/dl)	8,70±0,22
Platelet (x10 ³ /µl)	40,50±8,50
Toplam sağkalm (ay)	14±2,30

2017 ELN (European Leukemia Network) genetik risk sınıflaması modeline göre hastalar iyi, orta veya kötü riskli olarak tanımlandı (Tablo 5). İndüksiyon tedavisine yanıt alınamayan hastalar kötü risk grubuna dahil edildi.

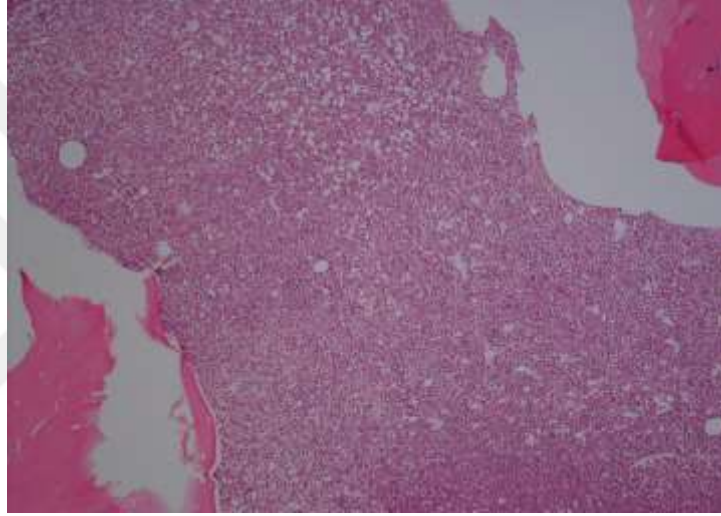
Tablo 5. 2017 ELN genetik risk sınıflaması²⁸

Risk kategorisi	Genetik anormallikler
Düşük risk	t (8;21) (q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1 •inv (16) (p13.1;q22) veya t (16;16) (p13.1;q22); CBFβ-MYH11 •Mutant NPM1 FLT3-ITD yok veya FLT3-ITD düşük allelik oranı<0,5 •Biallel mutant CEBPA
Orta risk	•Mutant NPM1 ve FLT3-ITD yüksek allelik oranı>0.5 •Wild tip NPM1, FLT3-ITD yok veya düşük allelik oranı<0,5 olan FLT3-ITD (yüksek riskli genetik mutasyonlar olmaksızın) •t (9;11) (p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A •Düşük risk yüksek risk olarak sınıflandırılmamış sitogenetik anormallikler
Kötü risk	•t (6;9) (p23;q34.1) ; DEK-NUP214 •t (v; 11q23.3) ; KMT2A reanjmanı •t (9;22) (q34.1; nmp1q11.2); BCR-ABL1 •İnv (3) (q21.3;q26.2) or t (3; 3) (q21.3;q26.2); GATA2, MECOM (EVI1) •Monozomi 5 veya del (5q) ; monozomi 7; monozomi 17/abn (17p) •Kompleks karyotip, monozomal karyotip •Wild-tip NPM1 ve yüksek allelik oranı>0,5 olan FLT3-ITD •Mutant RUNX1, ASXL1, veya P53

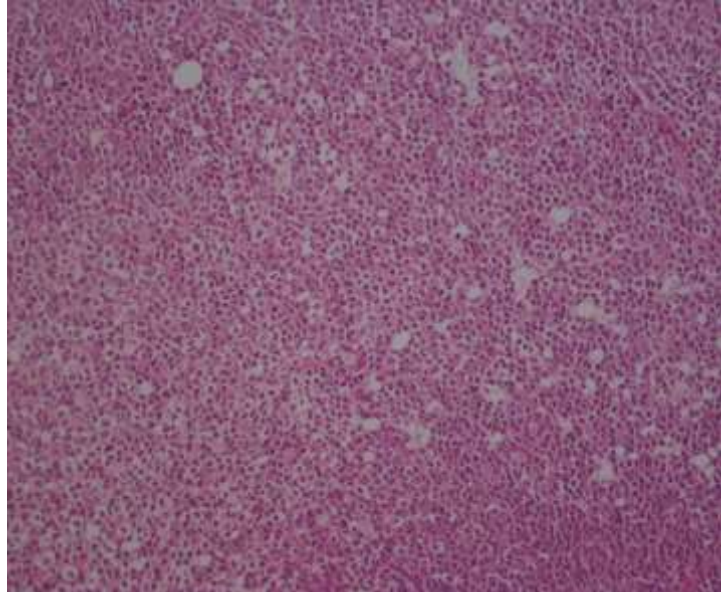
Çalışma için Çukurova Üniversitesi Girişimsel Olmayan İşlemler Etik Kurulundan onay alındı.

3.2. Yöntem

Histopatolojik olarak akut myeloid lösemi tanısı almış olguların kemik iliği biyopsi örneklerinden immünohistokimya için 5 mikron kalınlığında kesitler elde edildi.



Şekil 9. Akut Myeloid Lösemi olgusuna ait H&E kesit (H&Ex40)



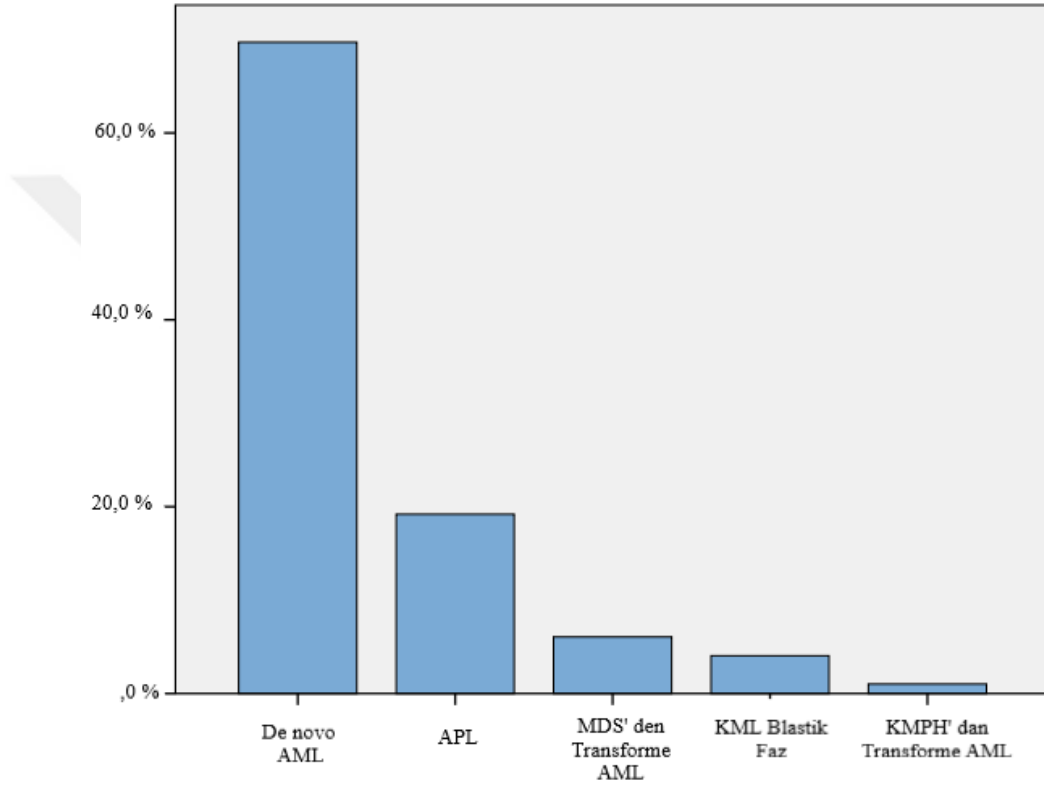
Şekil 10. Akut Myeloid Lösemi olgusuna ait H&E kesit (H&Ex100)

İmmünohistokimyasal boyama için polylysinli lamlara alınan dokulara Ventana marka BenchMark XT model otomatik immünohistokimya boyama cihazında PD-1 (EPR4877 (2), Abcam, USA) ve PD-L1 (E1L3N, Cell Signaling, USA) uygulandı. H&E ve immünohistokimyasal örnekler iki patolog tarafından Nikkon eclips E200 marka ışık mikroskobunda değerlendirildi. Tümör hücrelerinde % 5'in üstünde sitoplazmik ve/veya membranöz boyanma pozitif kabul edildi.

Tüm veriler ortanca±SEM olarak verilmiştir. Hastalara ait en düşük ve en yüksek değerler ortanca±SEM (en düşük-en yüksek) olarak verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırma için non-parametrik testlerden Mann-Whitney U testi uygulandı. Faktörler arası bağıntı analizi için Pearson ve Spearman bağıntı analizinden yararlanıldı. Kategorik veriler ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Sağkalım analizleri için Kaplan-Meier metodu kullanıldı. İstatiksel olarak $p<0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. İstatiksel analizler IBM Statistics SPSS v.21 ile yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamıza Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hematoloji Ana Bilim Dalında Mart 2009-Eylül 2018 yılları arasında takip edilen 99 AML hastası dahil edildi. Hastalarımızın tanılarına göre dağılım grafiği şekil 11’de verilmiştir.



Şekil 11. AML hastalarının dağılım grafiği

Hastalarımızın ortalama toplam sağkalım süresi $14 \pm 2,2$ aydı. APL tanılı hastaların ortalama sağkalım süresi $44 \pm 7,6$ ay olup en uzun sağ kalım süresine sahip gruptu (Tablo 6).

Tablo 6. Hastaların alt tipleri ve demografik veriler

Tanı	De novo AML	APL	MDS den Transforme AML	KMPH tan Transforme AML	KML Blastik faz	Toplam
N	69	19	6	1	4	99
Cinsiyet (K/E)	32/37	13/6	2/4	1/	3/1	49/50
Yaş	52±2	41±3,3	64±6,9	54	66,5±6,3	51±1,67
Sağkalım (Ay)	13±2	44±7,6	14±4,9	12	4,5±2,6	14±2,23

Hastaların başvuru sırasında bakılan beyaz küre sayı ortalaması 7295±5424 (0,28-296,66x10³)/µL, hemoglobin ortalaması 8,7±0,22 (3-14) g/dL, trombosit sayı ortalaması 40500±8501 (3-728x10³)/µL'dir. Başvuru sırasında 8 hastanın beyaz küresi 100.000 üzerindeydi. Hastaların % 50'sinde (49 olgu) tanı sırasında nötropeni görüldü. Hastaların LDH ortalaması 295±60 (104-4866) u/L olup referans aralığı 115-248 u/L'dir. CRP ortalaması 2,98±0,7 (0,1-28) mg/dL olup referans aralığı 0-0,8 mg/dL'dir. Hastaların % 50'sinde (35 olgu) hepatomegali, % 23,6'sinde (16 olgu) splenomegali görülmüştür. Tablo 7'de hastaların laboratuvar parametreleri ve klinik verilmiştir. De novo AML tanılı hastaların beyaz küre sayı ortalaması 6200±6060 (0,28-296,66x10³)/µL, hemoglobin ortalaması 8,70±0,22 (3-14) g/dL, platelet sayı ortalaması 49000±5470 (6-245 x10³) /µL, CRP ortalaması 3,30±0,79 (0-28) mg/dL, LDH ortalaması 294±64 (104-4866) u/L'dir. Sekonder AML tanılı hastaların ise beyaz küre sayı ortalaması 15200±6468 (4,39-68,49 x10³)/µL, hemoglobin ortalaması 7,70±0,85 (4-13) g/dL, platelet sayı ortalaması 17000±64586 (3-728x10³) /µL, CRP ortalaması 1,79±1,3 (1-14) mg/dL, LDH ortalaması 318±192 (137-2378) u/L'dir.

Tablo 7. AML'li hastaların tam anında klinik ve laboratuvar parametreleri

Hasta adı	Cins	Yaş	BK	Hb	Plt	CRP	LDH	Organomegali
Ş.M.A	K	54	3980	9	114000	18	301	HM
S.C	K	68	23270	8	20000	1	254	-
G.G	K	54	520	13	201000	26	104	-
Z.S	K	18	139480	12	52000	4	1379	HSM
A.A	E	87	2330	10	34000	2	216	-
A.A	E	32	660	7	6000	2	137	HM
S.Ö	K	59	3320	8	77000	9	120	-
C.B	E	31	2860	11	46000	7	274	HM
A.Ç	E	68	12200	10	39000	4	285	-
A.C	E	56	220930	8	139000	10	443	-
F.İ	K	51	23000	9	21000	24	979	-
N.H	K	74	4190	7	40000	12	317	HSM
T.A	K	25	219210	11	34000	1	537	-
Z.A	K	48	4500	9	8000	27	436	-
S.D	K	37	33230	11	17000	2	295	-
M.S	E	69	9440	4	25000	3	146	HSM
D.G	E	63	33230	11	17000	2	295	HM
İ.S	E	43	57900	6	34000	6	2378	-
N.Y	K	34	21700	12	110000	2	419	-
H.Ç	E	40	47930	8	31000	8	293	HM
A.B	K	18	70450	6	16000	10	210	-
M.Y	E	74	74970	9	33000	14	1794	-
M.K	E	44	4470	6	27000	1	276	HSM
F.S	K	61	12700	7	22000	11	427	HM
E.K	K	51	1910	10	94000	7	212	HM
M.S	E	39	2230	10	35000	8	384	-
S.Ç	E	40	58700	9	11000	1	698	SM
D.K	K	60	9810	9	13000	4	445	-
H.M	E	59	370	10	99000	16	166	-
S.A	E	59	142460	12	113000	3	640	-
G.Ü	K	39	6390	13	45000	0	205	-
M.Ö	K	51	650	7	29000	14	133	-
G.T	K	39	3520	8	30000	1	1061	-
İ.B	E	63	2790	12	54000	1	1143	-
A.F	E	31	33220	9	19000	21	1180	HSM
M.A	E	45	680	7	65000	1	142	HM
İ.F	K	19	32340	13	15000	0	618	-
A.C	E	62	1880	9	148000	1	157	-
G.G	K	69	2240	12	165000	0	145	-
F.Y	K	35	7570	8	58000	1	224	-
A.E	K	60	67810	8	56000	19	344	HM
M.B	E	66	16500	7	153000	3	205	-
S.A	K	43	15800	10	96000	1	464	-
M.A.Y	E	30	1270	10	72000	1	133	HM
A.K	K	58	3540	14	54000	2	258	-
S.K	K	59	10000	5	12000	7	207	HM
Y.Ö	K	25	151500	8	34000	1	786	-
S.K	E	62	35950	10	11000	1	391	-
Y.N	K	22	1700	11	94000	0	105	-
Z.A	K	28	1200	10	158000	1	182	-
Ö.A	K	24	68470	9	14000	1	574	-
M.G	E	17	280	4	9000	9	185	HM

Tablo 7. (devam)

Hasta adı	Cins	Yaş	BK	Hb	Plt	CRP	LDH	Organomegali
M.A	E	44	3090	10	12000	7	361	-
E.Ç	K	32	6230	7	6000	9	565	-
İ.G	K	33	2000	9	110000	3	216	HSM
M.A	K	43	2130	10	6000	1	189	-
M.K	E	55	1920	8	21000	1	301	HSM
M.K	K	64	900	9	129000		179	-
D.A	K	42	-	-	-	-	-	-
Y.E.K	E	24	9220	6	11000	2	318	HM
Z.Ö	K	68	36070	9	11000	1	248	HM
H.C.B	E	23	32070	11	16000	1	349	-
Z.Ö	K	18	4780	10	49000	5	207	-
F.N.Ş	K	52	7090	9	118000	2	266	-
K.G	E	61	6200	6	157000	1	221	HSM
A.Y	E	58	1460	9	30000	28	530	HSM
B.İ.G	E	34	16510	12	63000	3	4866	-
O.A	E	51	720	6	61000	18	317	HM
Ö.A	E	28	201090	7	41000	1	1874	HSM
H.K	E	69	2860	11	67000	12	225	-
H.G	E	44	24420	13	98000	2	730	-
Ş.Ç	E	64	3160	6	163000	1	190	-
N.M	K	45	58590	9	56000	3	537	HM
A.S	K	53	6620	8	245000	8	189	-
M.B	E	32	20250	9	9000	1	428	-
Y.Ü	E	69	1700	9	96000	1	169	HM
M.Y	K	49	70760	8	14000	2	454	-
C.S	K	53	2570	9	43000	5	124	HM
B.D	E	69	1610	9	101000	14	187	-
S.M	E	54	4620	8	55000	5	247	HM
S.F	K	67	2960	11	126000		209	-
H.Ç	E	48	1460	9	13000	2	121	-
N.A	K	23	4710	6	27000	6	799	-
Y.D	K	63	2230	8	71000	1	190	-
H.E	K	45	7500	7	93000	0	180	HSM
İ.S	E	70	5410	8	116000	13	250	-
K.Ü	E	69	31100	8	37000	5	899	-
Y.A	E	64	128000	9	52000	10	324	-
O.G	E	68	12800	7	101000	-	-	HM
Ş.İ	E	73	52640	8	37000	26	400	-
Z.E	K	23	1190	3	82000	-	602	HSM
N.S	E	36	296660	8	129000	17	1160	HM
E.A	E	41	87650	12	31000	13	540	-
A.D	E	67	13730	10	7000	1	137	SM
Z.Y	K	54	15200	12	30000	1	558	-
K.D	E	65	68490	8	10000	14	921	-
C.T	E	65	4390	6	38000	1	508	HSM
M.Ş	E	71	27590	7	3000	3	293	-
H.K	K	54	7700	13	728000	-	527	HSM

K: Kadın, E: Erkek, BK: Beyaz küre ,Hb:Hemoglobin, Plt:Platelet, CRP:C-reaktif protein LDH: Laktat dehidrojenaz, HM: Hepatomegali , SM: Splenomegali, HSM: Hepatosplenomegali

Akım sitometri ile hastaların periferik kan/kemik iliği örnekleri incelenmiştir. Hücrelerin sitoplazmik, yüzey antijenleri ve atipik hücre oranı değerlendirilmiştir. Tablo 8'de hücre yüzey antijenleri, atipik hücre oranı, PD1/PDL1 durumu ve sitogenetik anomaliler gösterilmiştir.

Hastaların atipik hücre oranı % 42±3,2 (0,34-92,28) 'dir. Yine akım sitometri ile bakılan antijenlerden cMPO ortalaması % 94±3,6 (0-100), CD13 ortalaması % 17,5±4,1 (0-94), CD 33 ortalaması % 92±2,9 (0-100), CD34 ortalaması % 39,9±4,5 (0-99), CD117 ortalaması ise % 74±3,9 (0-100)'dur.

De novo AML tanılı hastaların akım sitometrisi ile bakılan atipik hücre oranı ortalama % 45,2±3,1 (0,34-92,28), iken sekonder AML hastalarının atipik hücre ortalaması % 12±17 (9,29-79,15)'dir

Çalışmaya alınan hastalardan 59'u (% 59 olgu) tanı sırasında sitogenetik anomali açısından araştırılmıştır. Bir hastada t (16;16) pozitif, 4 hastada t (9;22) (Philadelphia kromozom) pozitif, 17 hastada t (15;17) pozitif, bir hastada FLT3 mutasyonu, bir hastada kompleks pozitiflik (t (15;17) ve t (9;22) pozitif) saptanmıştır.

Tablo 8. Hastaların akım sitometri, FISH, PD1/PDL1 verileri

Hasta adı	MPO (%)	CD13 (%)	CD14 (%)	CD33 (%)	CD34 (%)	HLADR (%)	CD117 (%)	PD1/PDL1	Sitogenetik Anomali	Atipik Hücre (%)
S.M.A	88	82	0	2	85	0	90			84.60
S.C	92	39	26	97	6	8	8			51.03
G.G	17	50		21	6	21	11			.34
Z.S	7	2	2	99	64	80	48	-/+		56.26
A.A	94	76	5	83	84	92	29	-/+		46.63
S.Ö	57	73	1	86	57	65	56			
C.B	99	51	0	98	4	82	83			31.46
A.Ç	97	1	0	55	98	43	78			23.18
A.C	96	48		94	0	100	0			60.97
F.İ	87	8	0	93	1	1	13			75.76
N.H	43	1	2	55	30	32		-/+		
Z.A	97	92	0	93	3	1	59		t (15;17)	68.45
S.D	88	73	0	98	44	13	77		t (15;17)	80.51
H.C	85	43		99	2	31	8			82.49
A.B	99	0		99	70	91	95			92.28
M.Y	99	89		94	36	55	49			42.09
M.A.K	99	86	0	74	92	95	80			25.62
F.S	58	2	0	0	99	91	100			64.20
E.K	95	23	0	97	2	75	61			29.85

Tablo.8 (devam)

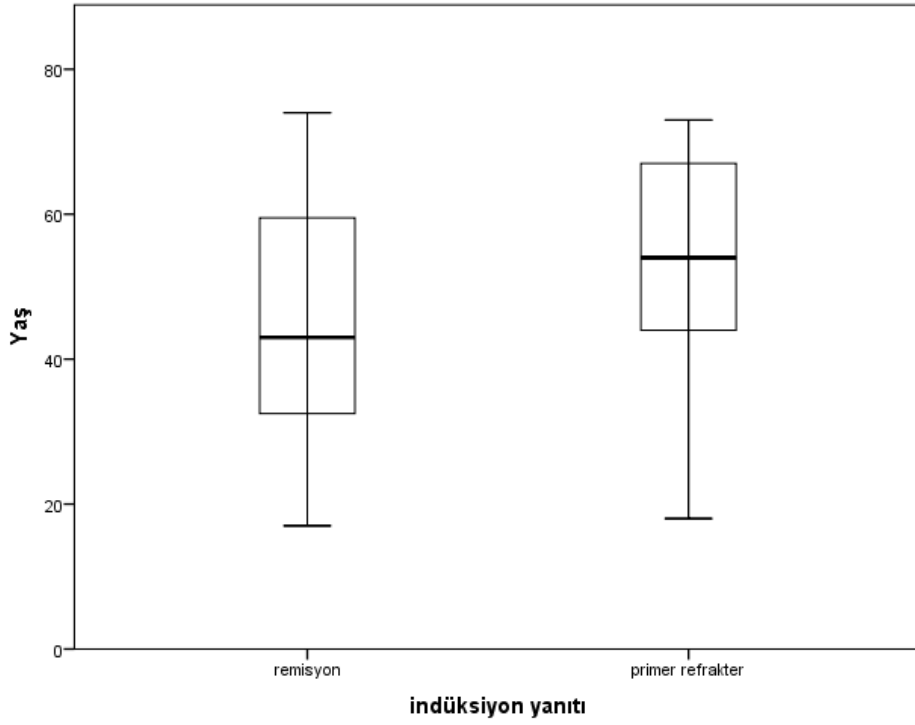
Hasta adı	MPO (%)	CD13 (%)	CD14 (%)	CD33 (%)	CD34 (%)	HLADR (%)	CD117 (%)	PD1/PDL1	Sitogenetik Anomali	Atipik Hücre (%)
M.S	12	13		83	65	76	69			4.75
D.K	92	1		92	90	88	99			62.87
G.Ü	92	47	0	98	85	70	62			39.78
M.Ö	98	1	0	98	0	23	89			76.60
G.T	69	1		76	6	37	57			20.17
İ.B	98	0		93	44	79	91			69.96
A.F	14	3		99	1	96	88			56.54
M.A	98	86	0	94	99	94	95	+/+		79.39
İ.F	83	1		89	90	72	94			36.70
A.C	96	1		93	67	96	31			37.50
G.G	96	5	0	88	72	2	86			23.81
F.Y	70	36	4	54	40	32				
S.A		76	1	91	0	21	89			
M.A.Y	93	48	0	96	5	0			t (15;17)	38.94
Ö.A	98	0	0	99	0	2	95		t (15;17)	70.59
M.G	99	62	0	97	1	5		-/+		76.74
E.Ç	99	94		100	2	2	33		t (15;17)	75.66
M.K	93	87	16	66	12	19	43		t (15;17)	
Y.E.K	96	5	0	88	1	30	60			13.39
Z.Ö	56	2	0	91	99	24	96		t (9;22)	79.15
H.C.B	13	1		91	89	77	98			75.60
Z.Ö	98	14	0	85	3	9	63			23.50
F.N.Ş	43	6	53	78	29	53	24			23.77
K.G	100	64	9	98	5	11				
A.Y	93	0		79	90	97	91			48.76
B.İ.G	99	87	29	99	0	77	0			30.71
O.A	90	88	2	95	64	74	80			17.25
Ö.A	96	19	5	87	35	10				28.26
H.K	51	1		92	42	53	62			6.89
H.G		23	85	92	79	95	80			37.89
Ş.Ç	94	60		98	72	96	89			32.32
M.B	96	93	0	96	71	78	94	+/+		35.29
Y.Ü	94	91	2	95	92	88	88			16.15
M.Y	99	18	1	89	82	76	79			25.92
B.D	94	1		87	95	93	92			41.61
S.M	99	1		97	94	80	96	+/+		76.84
S.F	98	2	0	98	0	48	82			64.76
H.Ç	7	0	0	3	87	95	77			53.04
N.A	96	1	1	86	4	61	68			34.05
Y.D	51	0		65	40	35	45			40.14
H.E		53	24	73	36	67	29			
İ.S	0	0		6	0	22	2		t (9;22)	38.18
K.Ü	99	1	1	97	60	61	66			46.36
O.G	99	15		97	99	95	92			74.81

Tablo.8 (devam)

Hasta adı	MPO (%)	CD13 (%)	CD14 (%)	CD33 (%)	CD34 (%)	HLADR (%)	CD117 (%)	PD1/PDL1	Sitogenetik Anomali	Atipik Hücre (%)
Z.E	95	78	1	98	0	90	4	-/+		45.27
N.S	99	18		100	1	72	92			91.57
E.A	100	18	0	99	0	3	48		t (15;17)	84.10
Z.Y	4	6		73	40	87	5			
C.T	78	11	1	63	17	25	35		t (9;22)	9.29
H.K	95	41	3	97	0	57				10.67
D.A								+/+		

Retrospektif olarak incelenen hastaların 19'u (% 25,3) iyi, 40 hasta (% 53,3) orta, 16 hasta (% 21,3) kötü risk grubunda idi. Kadın hastalarda erkek hastalara göre iyi-orta risk grubu daha sık görülmüştür (p=0,037).

Hastaların % 53,1 (43 olgu) indüksiyonla remisyona girmiş, % 46,9'u (38 olgu) primer refrakter AML olarak değerlendirildi. Birinci indüksiyonla remisyona giren 43 hastanın ortalama yaşı $43 \pm 2,4$ (17-74) yıldır. Primer refrakter olan 38 hastanın ortalama yaşı $54 \pm 2,5$ (18-73) yıldır. Şekil 12'de görüldüğü gibi indüksiyon tedavisi sonrası remisyona girmeyen hastalarımız remisyon sağlanan hastalarımıza göre daha ileri yaşta idi (p=0,024).



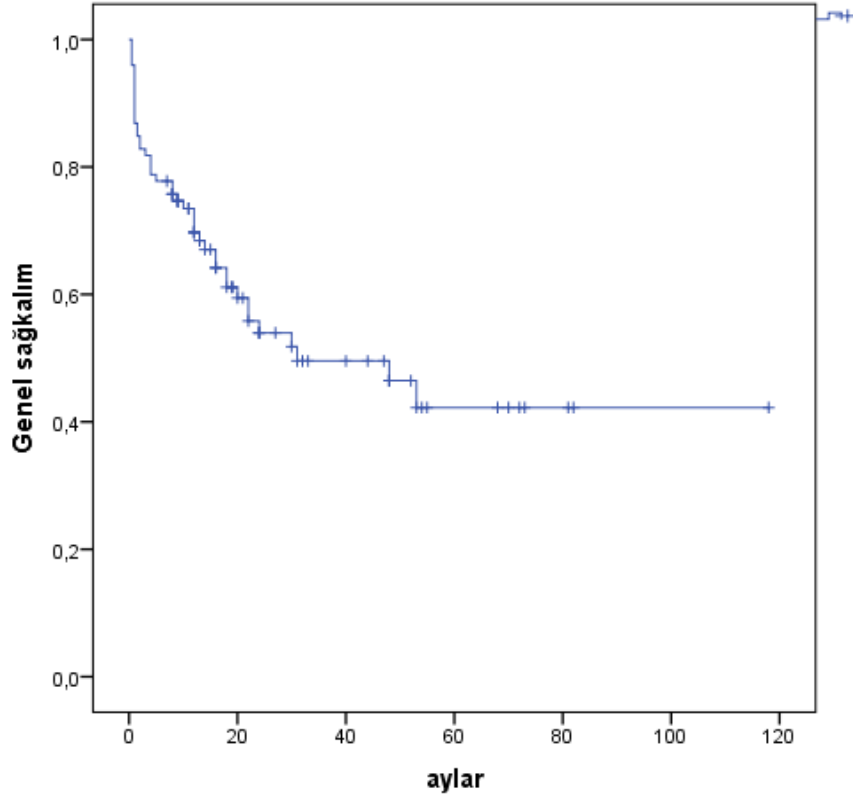
Şekil 12. AML hastalarında indüksiyon yanıtına göre yaş ortalaması

Cinsiyet ile indüksiyon yanıtında farklılık açısından bakıldığında kadın hastalar erkek hastalara göre remisyona girme oranı daha yüksek bulunmuştur. Primer refrakter hastaların 25'i erkek, 13'ü kadındır. İndüksiyon tedavisi ile remisyona giren hastaların 25'i kadın, 18'i erkektir ($p=0,031$).

Hastaların 17'si (% 17,3) indüksiyon tedavisi sırasında erken ölüm nedeniyle kaybedilmiştir. Bir hasta septik şok tablosu ile AML tanısı almış, indüksiyon kemoterapisini alamadan kaybedilmiştir.

İndüksiyon sırasında ölen hastaların LDH ortalaması 295 ± 141 (104-2378) u/L olanlar ile genel LDH ortalaması 295 ± 60 (104-4866) u/L olanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). İndüksiyon sırasında ölen hastaların CRP ortalaması $5,90\pm2,29$ (1-27) mg/dL olanlar ile diğer AML hastalarının CRP ortalaması $2,38\pm0,73$ (0-28) mg/dL olanlar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$).

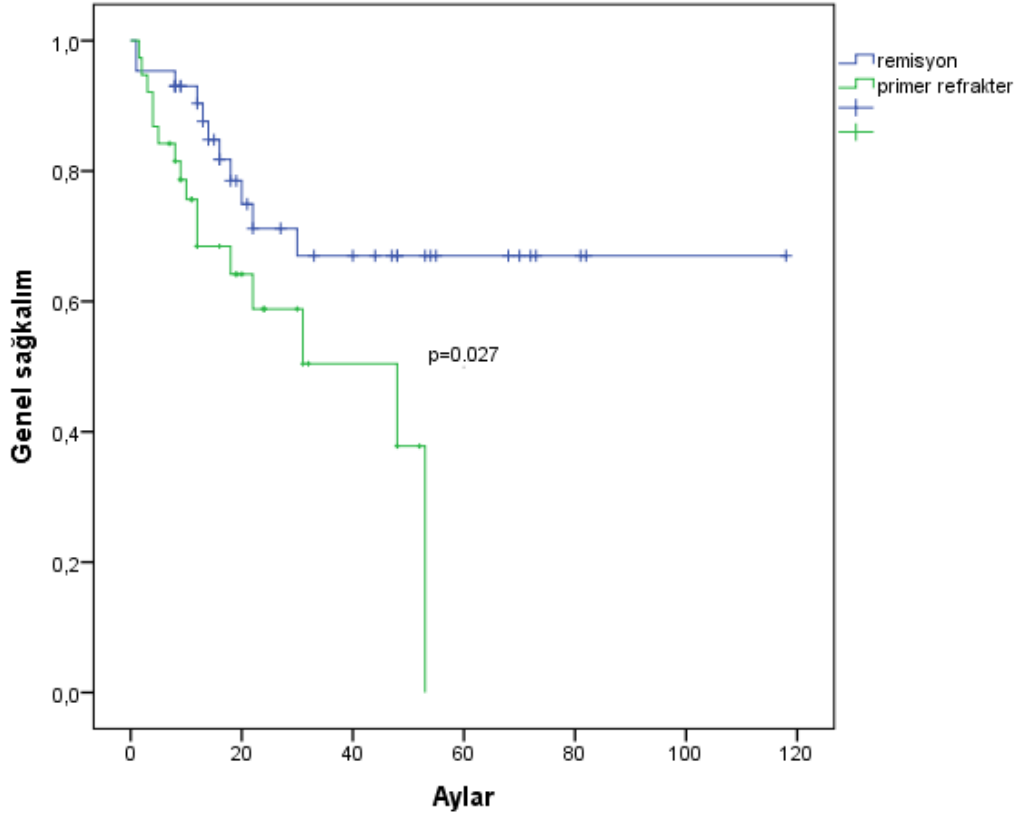
Tüm hasta grubunda 37 hasta kaybedilmiştir. Tüm hasta grubunda ortalama sağkalım $14\pm2,2$ (10 gün-118 ay) ay olarak bulundu (şekil 13).



Şekil 13. AML hastalarında genel sağkalım

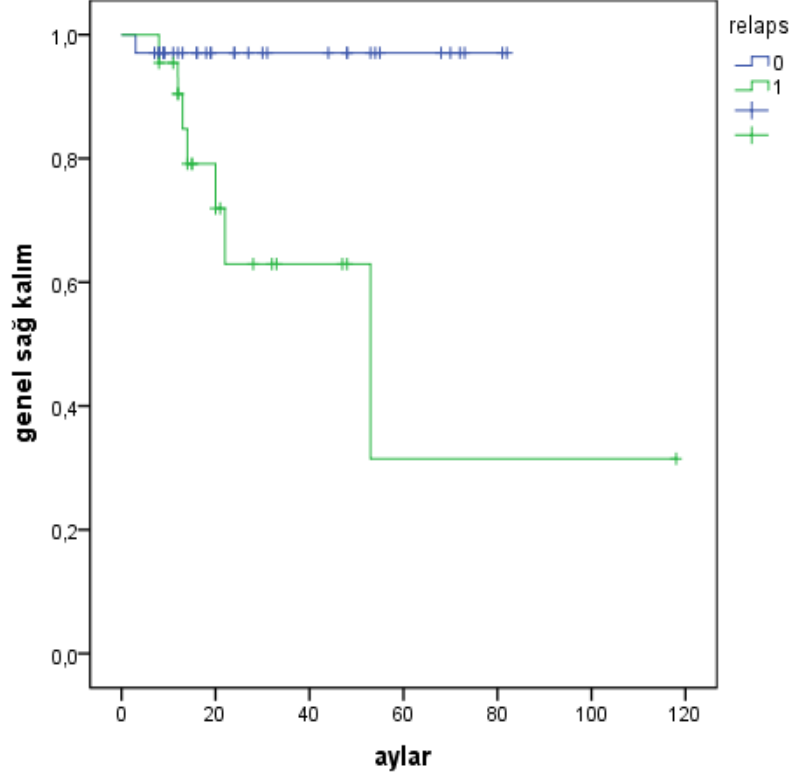
Kadın ve erkek hastalar arasında sağkalım süreleri açısından farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Remisyona giren hastaların ortalama toplam sağ kalımı $19\pm 4,1$ (1-118) aydır. Primer refrakter hastaların ortalama toplam sağkalım süresi $12\pm 2,1$ (2-53) aydır. İndüksiyon tedavisi yanıtına göre değerlendirildiğinde ilk tedavide remisyona giren hastaların ortalama $14\pm 2,2$ ay takip süresinde % $84,8\pm 0,06$ 'sı sağ iken primer refrakter hastalığı olan grupta hastaların % $75,7\pm 0,07$ 'si yaşıyordu. Yaşam süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,027$) (şekil 14).



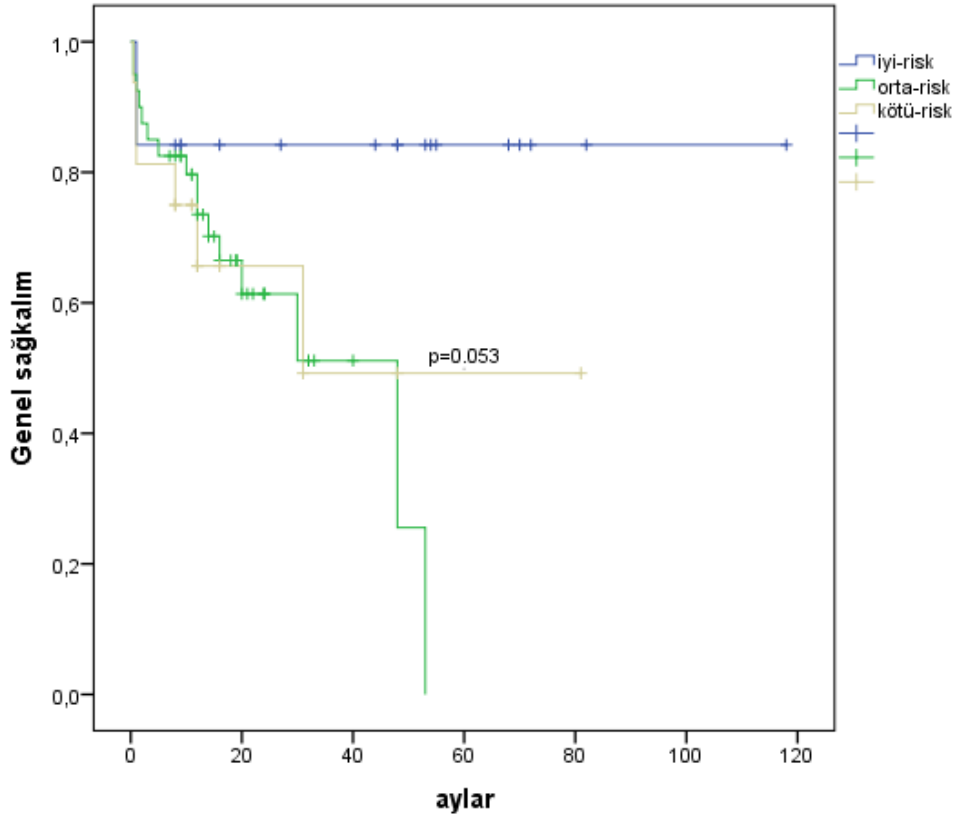
Şekil 14. AML hastalarında indüksiyon yanıtına göre sağkalım analizi

Relaps olan hastalar ile remisyonunda takip edilen hastaların sağkalım süreleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,003$). On dördüncü ayda remisyonunda takip edilen hastaların $97\pm 0,2$ 'si, relaps olan hastaların ise $79\pm 0,9$ 'u yaşamaktadır (şekil 15).



Şekil 15. Relaps ve remisyon olan hastalarda sağkalım analizi

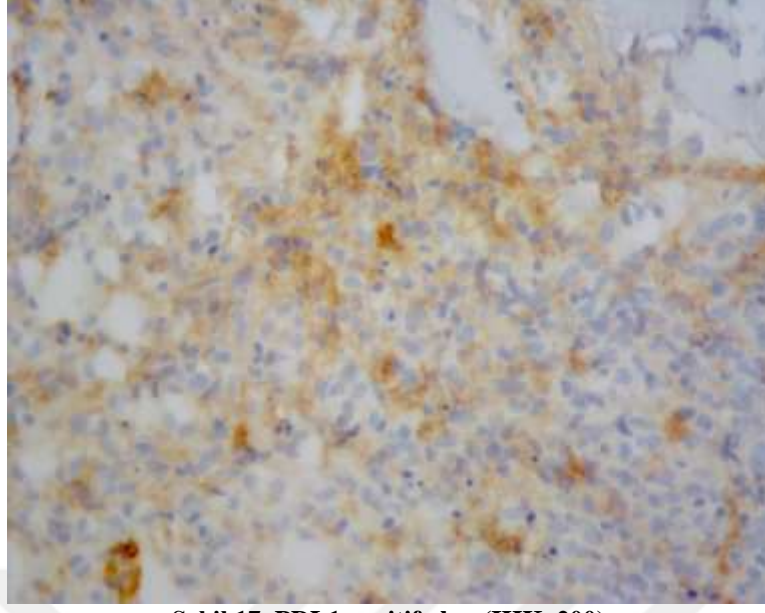
AML hastalarında prognostik risk faktörlerine göre değerlendirildiğinde iyi risk grubundaki hastaların ortalama 14 ay takip süresinde genel sağkalım oranları % $84 \pm 0,08$ iken orta riskli hastalarda bu oran % $79,7 \pm 0,06$ iken kötü riskli hastalarda ise % $49,2 \pm 0,17$ olarak bulundu. İyi risk grubundaki hastaların ortalama sağkalım süresi $41,2 \pm 7,5$ ay iken kötü risk grubundaki hastaların ortalama sağkalım süresi $18,2 \pm 5,2$ aydır. Kötü riskli hastaların yaşam süresinde orta ve iyi risk grubundaki hastalara göre gözlenen azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,053$) (şekil 16) .



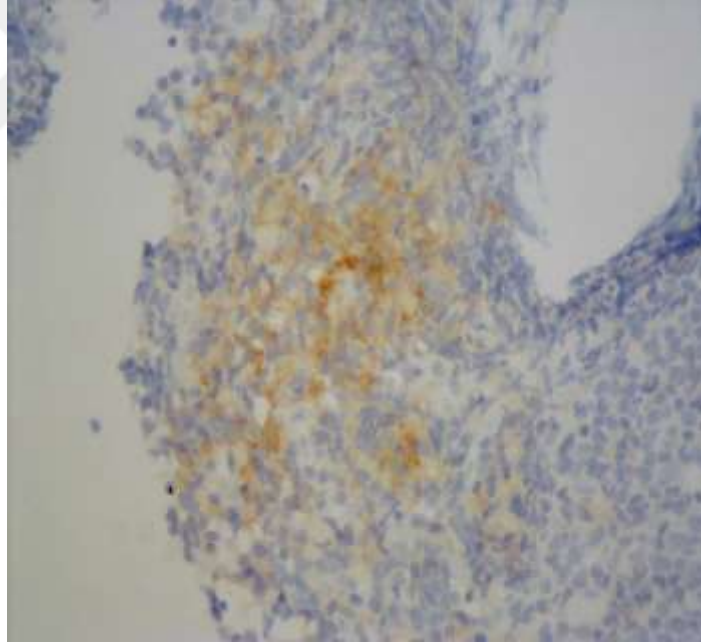
Şekil 16. AML tanılı hastalarda prognostik risk sınıflamasına göre yaşam analizi

Hastaların komorbiditeleri, performans durumu (ECOG), yaşı ve AML alt tipi göz önünde bulundurularak tedavileri düzenlenmiştir. Birinci indüksiyonda çoğunlukla 7+3 protokolü verilmiş olup yaşlı, performans durumu daha kötü olan hastalara 5+2 protokolü verilmiştir. APL tanılı hastalarda ATRA+idarubisin indüksiyon tedavisi sonrası ATRA+mtx+merkaptopürin tedavisi verilmiştir. Konsolidasyon tedavisinde HIDAC verilmiştir. Takip edilen hastaların % 19'una (19 olgu) tedavi süresinde kök hücre tranplantasyonu yapılmıştır.

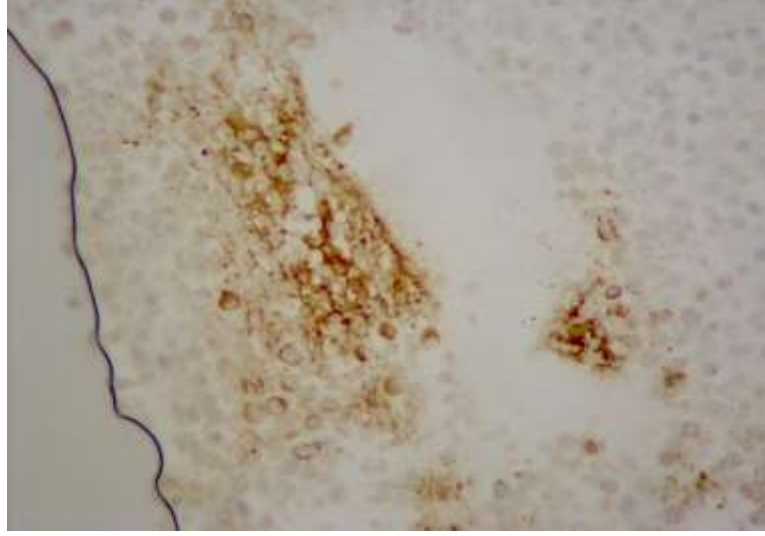
Hastalarımızın kemik iliğinde 9 hastada PDL1, 4 hastada PD1 pozitif boyanma görülmüştür (şekil 17,18,19).



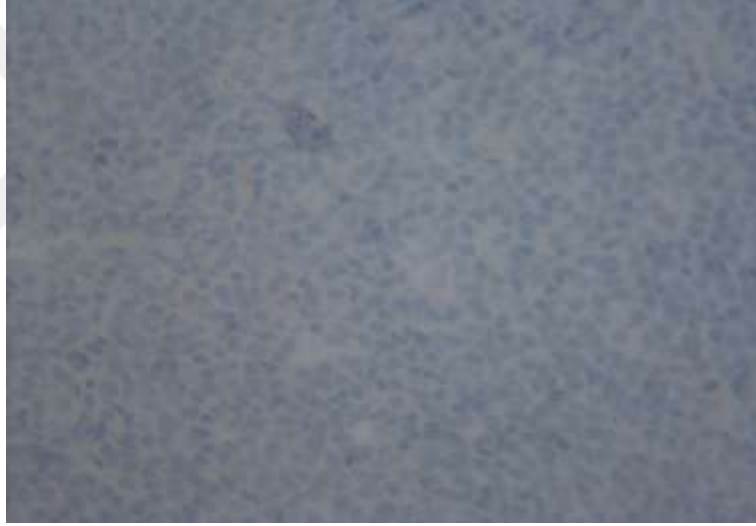
Şekil 17. PDL1 pozitif olgu (IHKx200)



Şekil 18. PDL1 pozitif olgu (IHKx200)



Şekil 19. PD1 pozitif olgu (IHKx200)



Şekil 20. PDL1 negatif olgu (IHKx200)

Kemik iliği örnekleme PDL1 ve/veya PD1 pozitif bulunan hastaların klinik özellikleri incelenmiştir.

OLGU 1; A.B, 18 yaşında kadın hasta. De novo AML. Başvurusunda lökositöz ve yaygın lenfadenomegaliler, splenomegali mevcut olup BK: 139480 (referans aralığı:4,8-10,8x10³) μ L, HB: 12 g/dL, PLT: 52000/ μ L, CRP: 4 (referans aralığı:0-0,8) mg/dL, LDH: 1379 (referans aralığı:115-248) u/L idi. Toplam sağ kalım süresi 2 haftadır. Trombositopeniye bağlı intrakranial kanama ile hasta kaybedilmiştir.

OLGU 2; A.A, 32 yaşında erkek hasta. De novo AML. Başvuru sırasında BK: 660

/ μ L, HB: 7(referans aralığı:12-16) g/dL, PLT: 6000 (referans aralığı:150-450x10³) / μ L, CRP: 2 mg/dL, LDH: 137 u/L ve hastanın hepatomegalisi var. Septik şok nedeniyle erken ölüm.Tanıdan itibaren sağ kalım süresi 10 gündür.

OLGU 3; M.B, 32 yaşında erkek hasta. De novo AML. Başvuru sırasında laboratuvar parametreleri; BK: 20250/ μ L, HB: 9 g/dl, PLT: 9000/ μ L, CRP: 1 mg/dL, LDH: 428 u/L idi. Organomegali saptanmamış. Sağ kalım süresi 11 ay olup, allojenik KİT uygulanmış. Remisyonda takip edilmekte ve yaşıyor.

OLGU 4; S.M, 54 yaşında erkek hasta. De novo AML. Başvuru sırasında BK: 4620/ μ L, HB: 8 g/dL, PLT: 55000/ μ L, CRP: 5 mg/dL, LDH: 247 u/L ve hepatomegali var. Sağ kalım süresi 21 ay olup allojeneik KİT uygulanmış. Remisyonda takip edilmekte ve yaşıyor.

OLGU 5; M.G, 17 yaşında erkek hasta. De novo AML M3.Başvuru sırasında BK: 280/ μ L, HB: 4 g/dL, PLT: 9000/ μ L, CRP: 9 mg/dL, LDH: 185 u/L ve hepatomegali var. Sağkalım süresi 6 ay olup remisyonda takip edilmekte ve yaşıyor.

OLGU 6; M.A, 45 yaşında erkek hasta. De novo AML. Başvuru sırasında BK: 680/ μ L, HB: 7 g/dL, PLT: 65000/ μ L CRP: 1 mg/dL, LDH: 142 u/L ve hepatomegali var. Sağ kalım süresi 12 ay olup allojeneik KİT uygulanmış. Remisyonda takip edilmekte ve yaşıyor.

OLGU 7; N.H, 74 yaşında kadın hasta. De novo AML. Başvuru sırasında BK: 4190/ μ L, HB: 7 g/dL, PLT: 40000/ μ L, CRP: 12 mg/dL, LDH: 317 u/L ve hepatosplenomegali var. Toplam sağkalım süresi 9 ay olup hasta kaybedilmiştir.

OLGU 8; Z.E, 23 yaşında kadın hasta. De novo AML. Başvuru sırasında BK: 1190/ μ L, HB: 3 g/dL, PLT: 82000/ μ L, LDH: 602 u/L ve hepatosplenomegali var. Toplam sağkalım süresi 5 ay olup hasta kaybedilmiştir.

OLGU 9; D.A, 42 yaşında kadın hasta. De novo APL tanılıdır. 2009 yılında tanı alan hastanın başvuru laboratuvar tetkiklerine ulaşamadı. Sağ kalım süresi 114 ay olup, 2016 yılında nüks etmiştir. Hasta tedavi altında ve yaşıyor.

PDL1 pozitif olan 9 hastanın 7'si de novo AML, 2 si APL tanılıdır. Kemik iliği PD1/PDL1 düzeyi ile AML alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır (p>0,05).

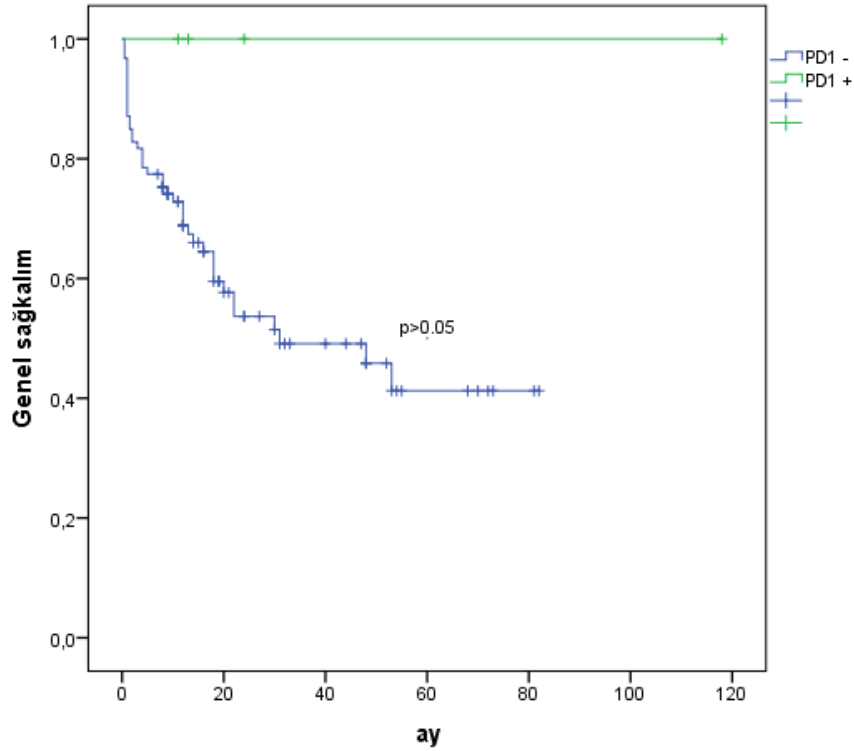
PD1 pozitif olan hastalarda CD34 antijen düzeyi yüksek saptanmıştır (p=0.024). Benzer şekilde CD117 düzeyi de yüksek saptanmıştır (p=0,009).

PDL1 pozitif hastaların hemoglobin düzeylerine bakıldığında PDL1 negatif hastalara göre hemoglobin düzeyi daha düşük olduğu görülmüş hatta hemoglobin değeri 3 gr/dL ve 4 gr/dL olan iki hasta görülmüştür (p=0,032).

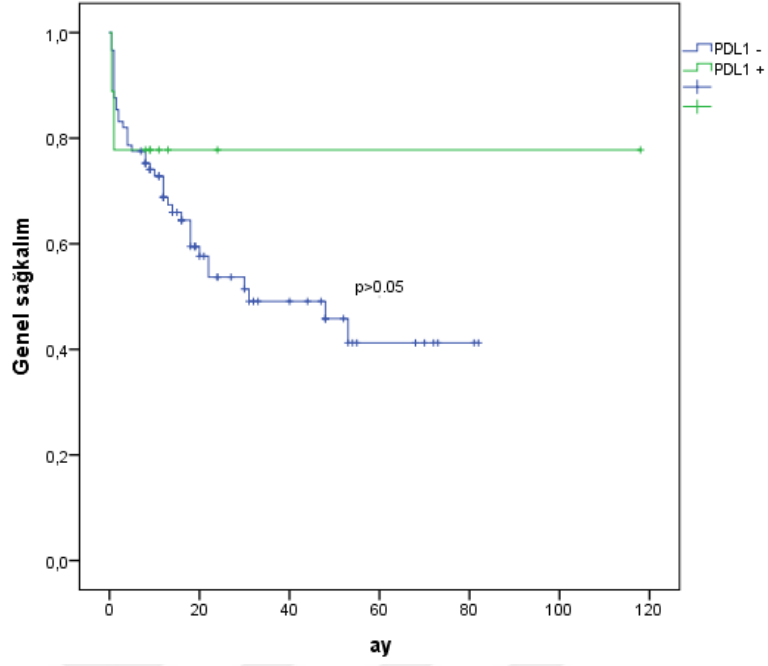
PDL1 düzeyi pozitif olan beş hastada sitogenetik anomali bulunmamıştır. İki hastada t (15;17) pozitif idi. Sitogenetik bozukluk ile PDL1 düzeyleri arasında bir korelasyon saptanmamıştır (p>0,05).

PD1/PDL1 düzeyi ile sağkalım süresi arasında ilişki saptanmamıştır. Ortalama 14 ayda kemik iliği PDL1 negatif olan hastaların % 66±0,05'i, PDL1 pozitif olan hastaların % 77,8±0,13'ü yaşamaktadır (p>0,05).

PD1 pozitif olan hastalarda PDL1 de pozitif boyanma göstermiştir (4 olgu).

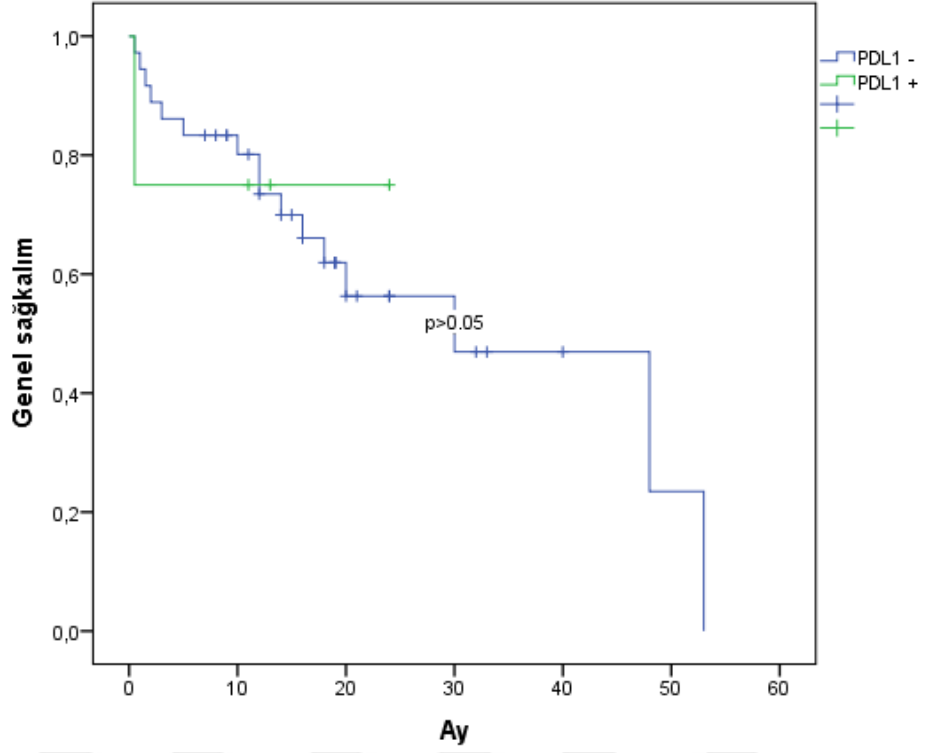


Şekil 21. AML hastalarında PD1 durumuna göre sağkalım



Şekil 22. AML hastalarında PDL1 durumuna göre sağkalım

Risk grubu belirlenmiş hastalardan PDL1 düzeyi pozitif olanlar incelendiğinde PDL1 pozitif 2 hasta iyi, 4 hasta orta, 1 hasta kötü risk grubunda idi. AML hastalarımızda PD1 ve/veya PDL1 varlığı hastaların risk durumuna göre ortalama sağkalımı değiştirmedeği gözlemlendi. İyi, orta ve kötü risk faktörlerine sahip hastalarda ortalama sağkalım PD1 ve/veya PDL1 durumundan bağımsızdı ($p>0,05$). Şekil 23'te orta riskli hastalarda PDL1 durumuna göre sağkalım verisi sunulmuştur.



Şekil 23. Orta riskli AML hastalarında PDL-1 durumuna göre sağkalım

PDL1 pozitif 9 hastanın 7'si değerlendirilmiş, 5 hastada fibrozis görülmemiştir. PD1 pozitif 4 hastanın 2'si değerlendirilmiş ve fibrozis görülmemiştir. PD1 ve PDL1 düzeyi ile kemik iliği fibrozisi arasında ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 9. Primer ve sekonder AML tanılı hastaların demografik verileri

	De Novo	Sekonder AML
Yaş	50±1,7	65±4,2
Cins (K/E)	45/43	6/5
Hb	8,7±0,22	7,70±0,85
Plt	49000±5477	17000±64568
BK		
<30x10 ⁹ /L	63 olgu	7 olgu
≥ 30x10 ⁹ /L	24 olgu	4 olgu
LDH	294±64	318±192
Blast %*	45,2±3,1	12±17
Sitogenetik anomali		
İyi risk	19 olgu	0 olgu
Orta risk	40 olgu	0 olgu
Kötü risk	7 olgu	9 olgu
PD1	4 olgu	0
PDL1	9 olgu	0
Tedavi sonu değerlendirme (28.gün)		
Tam yanıt (CR+CRi)	41	2
Refrakter hastalık	32	6
Erken ölüm	14 (2 olgu PDL1+ boyanma)	3
Son Durum		
Ölüm	31 (PDL1+ 2 olgu) **	6
Yaşayan	54	5
Relaps yaşayan	4 (1 olgu PDL1+)	1
Refrakter yaşayan	5	1
Remisyon	45 (4 olgu PDL1pozitif boyanma)	3

* Blast yüzdesi akım sitometrik belirlenmiştir. Veriler medyan±SEM olarak sunulmuştur.

** Bir olgu 5 ay, bir olgu 9 ay yaşamıştır.

5. TARTIŞMA

AML klinik ve genetik olarak heterojen bir hastalık grubudur. Prognostik belirteçler hasta ve lösemi ilişkili risk faktörleri olarak kategorize edilmektedir. Hasta ilişkili risk faktörleri; yaş, performans durumu, lösemi ilişkili risk faktörleri; sitogenetik anomaliler, gen mutasyonları olarak sayılabilir.

2017 ELN genetik risk sınıflamasına göre hastalar iyi, orta, kötü risk grubu olarak kategorize edilmektedir. Naveen Pemmaraju ve arkadaşları 3922 AML hastasını değerlendirmiştir. Bu hastaların yaş ve sitogenetik anormallikler ile sağkalım ilişkisine bakmışlardır. Bu çalışmaya göre APL ve CBP AML tanılı hastalar en iyi sağkalım gösteren gruplar olmuştur. Yine bu çalışmada yaş arttıkça tam remisyon oranları ve ortalama sağkalım süresi azalmaktadır.⁷³ Nada Assaf ve arkadaşlarının Lübnan'da yaptıkları çalışmada 580 AML tanılı hastanın kemik iliği örnekleri akım sitometri, immünohistokimya ve moleküler testler ile genetik mutasyonlar değerlendirilmiştir. Bu hastalarda en sık translokasyon t (15;17) görülmüştür.⁷⁴ Bizim hastalarımızda da en sık translokasyon t (15;17) görülmüştür. Akut promyelositik lösemi uygun tedavi edilirse prognozu iyi olan AML alt tipidir. Bizim çalışmamızda da takip edilen hastalar arasında toplam sağkalım süresi en iyi olan grup APL dir. Tüm AML hastalarımızda toplam sağkalım ortalama 14±2,2 ay iken APL hastalarımızda toplam sağkalım 44±7,6 aydır. Beklenildiği gibi çalışmamızda iyi risk grubunda olan hastalar kötü risk grubunda olanlara göre daha uzun sağkalım süresine sahipti.

Prognozu etkileyen hasta ilgili faktörlerden en önemlilerinden biri yaştır.^{97,98} Yaş arttıkça tedavi ilişkili morbidite ve mortalitesinin arttığı gözlenmektedir. Dou XL ve arkadaşlarının 1097 hasta ile yaptıkları çalışmada artan yaş ile sağkalım süresinde ve remisyon elde etme oranlarında azalma görülmüştür.⁷⁵ Çalışmamızda kaybedilen hastalar yaşayan hastalara göre daha ileri yaşta idi. İleri yaş hastaların sağ kalım süreleri daha kısaydı.

2009 yılında yayınlanan ABD Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) veri tabanından elde edilen sonuçlara göre AML hastalarında 5 yıllık sağkalım oranları % 21,4 tür. Yetmişbeş yaş üzeri hastalar için 5 yıllık sağkalım % 1'in altındadır. Altmış yaş altı hastalarda standart indüksiyon rejimleri ile remisyon oranları % 60-70'tir. AML

hastalarının % 30-40'ının primer refrakter olduğu ortalama sağkalım 3,8 ay olduğu ve bunların sadece % 12'sinin ikinci kurtarma tedavisine cevap vereceği tahmin edilmektedir.^{76,77} Genç hastalarda AML tedavisinde bazı ilerlemelere rağmen yaşlı hastalarda tedavi seçenekleri sınırlıdır.⁷⁸

AML tanılı hastalarla yapılan çalışmalarda vakaların çoğunda akım sitometri ile CD117, CD38, CD33, HLA DR, CD13 antijenleri gösterilmiştir. Bir çalışmada yüksek cMPO ekspresyonu olan hastaların düşük cMPO ekspresyonu olan hastalara göre daha çok iyi risk grubunda olduğu gösterilmiş, bir başka çalışmada CD56 ve CD11b ekspresyonunu kemoterapiye dirençte rol aldığı gösterilmiştir. Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak AML hastalarında bu antijenler akım sitometri ile gösterilmiştir. CMPO düzeyi hastalarımızın çoğunda yüksek saptanmış olup risk grubu ile cMPO düzeyi arasında ilişki bulunmamıştır. Ancak yapılan çalışmalar akım sitometri ile bakılan antijenlerin prognostik belirteç olabileceğini göstermiştir.^{79,80,81}

AML tedavisinde hedef; genel sağkalım süresini arttırmak, iyileşmeyi hızlandırmak ve tedavi ilişkili yan etkileri azaltmaktır. Bu nedenle hastalarda yeni tedaviler için farklı arayışların doğması ve yeni ilaçların geliştirilmesi için çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle orta ve kötü risk grubuna sahip olan hastalarda hematopoetik kök hücre transplantasyonu tedavi potensiyaline sahiptir.⁸² Ancak kök hücre trasnplantasyonu tüm hastalara uygulanamamakta ve sonuçlar her zaman yüz güldürücü olmamaktadır. Tüm ilerlemelere rağmen AML'de konvansiyonel kemoterapi rejimleri ile morbidite ve mortalite yüksektir. Bizim çalışmamızda indüksiyon kemoterapisi sırasında veya sonrası bir aylık dönemde 17 hasta kaybedilmiştir. Bu hastalarda çoğunlukla derin nötropeni ile enfeksiyona eğilim gözlenmiş ve çoğunlukla septik şok tablosu ile kaybedilmiştir. Bazı hastalar kemoterapinin de derinleştirdiği trombositopeni nedeniyle intrakranial kanama ile kaybedilmiştir.

Tümör mikroçevresini anlamak malign hastalıklarda tedavi başarısını arttırmak için bilim insanlarının ilgi odağı haline gelmiştir. Tümör mikroçevresi ve tümör immünolojisi ile ilgili yapılan çok sayıda çalışma vardır.^{83,84}

PD1, T lenfositler de dahil olmak üzere çeşitli immün sistem hücreleri tarafından eksprese edilen yüzey membran antijenidir. PDL1 ise hematopoetik hücreler ve birçok tümör hücresi yüzeyinde bulunan inhibitör moleküldür. PD1 ve ligandları olan PDL1, PDL2 arasında gelişen aktivasyon T hücre aktivitesini, sitokin salınımını azaltırken, T

hücre lizisini ve antijenlere olan toleransı artırır. Bu sebeple PD1-PDL1 sinyal yolu immün kaçışta kilit rol oynar.⁸⁵

PD1-PDL1 yolağı öncelikle solid tümörlerde araştırılmış ve PD1 inhibitörlerinin prognoza olumlu etkisi görüldükçe diğer tümörlerde ve hematolojik malignitelere de araştırılmaya başlanmıştır.

Wu ve arkadaşları 2015 yılında yayınladıkları solid tümörü olan 3107 hastayı içeren metaanalizde PD1 ekspresyonu incelenmiştir ve yüksek PDL1 kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur.⁸⁶

2015 yılında NEJM'de yayınlanan bir çalışma; relaps refrakter hodgkin lenfoma tanısı olan 23 hastada pdl1 inhibitörü (nivolumab) ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir.⁸⁷ Metastatik küçük hücre dışı akciğer kanserinde PDL1 inhibitörlerinin prognoza olumlu etkisi gözlenmiş olup klinik pratikte kullanılmaktadır.⁸⁸

Zhang ve arkadaşlarının AML fareler ile yaptığı çalışmada PD1-PDL1 yolağının immün kaçışı kolaylaştırarak hastalık kontrolünü zorlaştırdığı gösterilmiştir. PDL1 düzeyi akım sitometri ile ölçülmüştür.⁸⁹

Yang ve arkadaşlarının 2013 yılında yayınlanan çalışmasında AML'de PDL1 ekspresyonunu lösemik hücreler ve myeloid öncüllerde göstermiştir.⁶³

Solid tümörler ile karşılaştırıldığında, lösemide kontrol noktası inhibisyonu hakkındaki veriler sınırlıdır, prelinik veriler, genellikle immünoterapilere olumlu yanıt veren AML dahil hematolojik malignitelerin de kontrol noktası inhibisyonundan faydalanabileceğini gösterir. AML'de anti PD1 Ab kontrol noktası blokajı ile yapılan klinik denemeler ile akut lösemiler için onaylanmış bir tedaviye hızla geçileceği öngörülmektedir.⁹⁰

Zhang ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları fareler üzerinde yapılan bir çalışmada PDL1 ekspresyonu gözlenmiştir. C1498 AML hücre dizisi enjekte edildiğinde T hücreleri üzerinde PDL1 düzeyinin arttığı gözlenmiştir.⁹¹ Bu farelerde PD1 bloke edici antikor kullanıldığında AML yükünde azalma ve daha uzun sağkalım gözlenmiştir.⁸⁹ Yine Zhang ve arkadaşları 2018 yılında yayınlanan Chicago üniversitesinde yaptıkları bir çalışmada C1498 hücreleri sıçanlara enjekte edildi. Bu hücreler ile AML oluşturulmuştur. Periferik kan akım sitometri ile incelenerek AML varlığı saptanmıştır. Daha sonra PDL1 bloke edici antikor uygulanmıştır ve görülmüştür ki PDL1 blokajı kullanılan sıçanlar daha uzun süre yaşamıştır. Bu çalışmada C1498GFP

ile PD1 negatif AML oluşturulan sıçanlara IFN GAMA enjeksiyonundan 48 saat sonra PDL1 ekspresyonu gözlenmiştir.⁹²

154 AML hastasını içeren bir çalışmada kemik iliği ve periferik kanda PDL1 ekspresyonu değerlendirilmiştir. AML hastalarında yapılan çalışmada IFN gama ile PDL1 ekspresyonu attığı akım sitometri ile gözlenmiştir.⁹⁰

AML tanısı olan 44 hasta üzerinde yapılan bir başka çalışmada Mir34a ile PDL1 arasında negatif korelasyon saptanmıştır. AML olgularının hepsinde PDL1 ekspresyonu gözlenmiştir. Kemik iliği örneklerinde PCR yöntemi ile ölçüm yapılmış $9,0 \times 10^{-1}$ ile $3,9 \times 10^{-1}$ arasında ekspresyon saptanmıştır.⁹³

Yang ve arkadaşları 120 AML hastasını prospektif olarak değerlendirmiş olup PDL1 düzeyi orta ve kötü risk grubunda olanlarda daha yüksek bulunmuştur ($p=0,008$).⁸⁴

Daver ve arkadaşları kötü risk faktörü olan, relaps 51 AML hastasında nivolumab+azasitidin tedavisini uygulamıştır. Bu çalışmada % 34 oranında progresyon % 18 hastada tam yanıt diğer hastalarda hematolojik iyileşme veya stabil hastalık saptanmıştır. Faz 1b/2 olan bu çalışma kötü risk faktörü olan relaps AML hastalarında tolere edilebilir güvenlik profili ve başarılı yanıt oranları nedeniyle daha kapsamlı araştırma yapmayı gerektirmektedir.⁹⁴

AML tedavisinde zorluk sadece yaşla sınırlı değildir. Kök hücre transplantasyonu sonrası nüks eden hastalar, kök hücre transplantasyonu yapılamayan hastalar, standart kemoterapi rejimleri ile tedavi edilmesine rağmen refrakter olan hastalar tedavide zorluk oluşturmaktadır. Bu sebeple bilim insanları immünoterapi gibi yeni tedavi arayışları içerisinde. Biz de bu çalışmamızda AML tanılı hastaların kemik iliği örneklerinde PD1 ve PDL1 ifadesini belirleyerek bu verileri prognostik açıdan değerlendirmeyi hedefledik. Daha önce yapılan çalışmalarda akım sitometri ile PDL1 düzeyi ölçülmüştür. Bizim çalışmamızda kemik iliği biyopsisinden immünohistokimyasal yöntemle PD1 ve PDL1 çalışılmıştır. PDL1 düzeyi ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. PDL1 düzeyi ile risk grupları arasında anlamlı ilişki saptanmadı. PDL1 pozitif olan 9 hasta incelendiğinde iki hasta indüksiyon tedavisi aldığı dönemde kaybedilmiştir. İki hasta çalışmada hesaplanan ortalama sağ kalımdan daha kısa sürede kaybedilmiştir. Yaşayan hastalardan 2'si APL olup diğer 3 hastaya allojeneik kök hücre transplantasyonu yapılmıştır. Bu 9 hastanın 4'ü kaybedilmiş olup

ortalama sağkalım süresi 3,7 aydır. Remisyonda takip edilen hastaların 2'si çalışmamızda en iyi alt tip olan APL dir. Üç hasta da kök hücre transplantasyonu ile tedavileri desteklenmiştir. Olgu sayısının kısıtlı olması nedeniyle risk grubu, yaş, sağkalım ile PDL1 düzeyi arasında ilişki gözlenememesine neden olmuş olabilir. Ancak bu hastaların % 44'ü ortalama yaşam süresinin altında yaşamıştır.

Çalışmamızda PD1 pozitif olan hastalarda CD117 ve CD34 yüksek düzeyde saptanmıştır. Literatürde PD1 ve CD117, CD34 ile ilişkili çalışma bulunmamaktadır. Ancak cMPO, CD56 gibi antijenlerin prognostik belirteç olabileceği gösterilmiştir.

Yapılmış olan çalışmalarda kötü risk grubunda olan hastalarda PDL1 ekspresyonunu daha yüksek bulunduğu gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda böyle bir sonuca ulaşamadı. PDL1 boyanma olan hastalar PDL1 boyanma görülmeyen hastalara kıyasla sayıca anlamlı oranda azdı. Çalışmamız retrospektif yapılmış olup tanı anında alınan kemik iliği biyopsisinde boyama yapılmıştır. İmmünohistokimyasal boyama ile çalışılmıştır. Bu yöntem antijenlerin kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirmek için özellikle dokulardaki antijenlere bağlanan antikolar ilkesine dayanmaktadır. Bu sebeple doku bütünlüğü, yapısı bozulmadan yapılan değerlendirme en iyi değerlendirmedir. Haixia Lue ve arkadaşlarının sıçan femuru üzerinde yaptıkları çalışmada en iyi dekalsifikasyon yöntemi araştırılmıştır. Doku numunelerinin antijenitesinin korunması için, % 10'luk EDTA'nın (pH=7,4) en uygun çözelti olduğu, ardından % 5'lik nitrik asit, % 3'lük nitrik asit ve % 8'lik hidroklorik asit/formik asit olduğu bulunmuştur.⁹⁵ Dekalsifikasyon işlemi merkezimizde formik asit ile yapılmıştır. Yapılan çalışmalar da göstermiştir ki immunohistokimyasal boyama kalitesini dekalsifikasyon işlemi etkileyebilmektedir. Formik asit ile dekalsifikasyon sonucu doku ve hücre düzeyinde histomorfolojik ve immünohistokimyasal mikroskobik veri kaybının daha fazla olduğunu gösterilmiştir.⁹⁶ Retrospektif çalışma olması nedeniyle kemik iliği dekalsifikasyonu tercih edilen EDTA kullanılamamıştır. Ancak bundan sonra immunohistokimyasal yöntemle yapılacak çalışmalarda dekalsifikasyon tekniği gözönünde bulundurulması önem arz etmektedir. Olgularımızda kemik iliği biyopsilerinde uygulanan dekalsifikasyon işlemi antijen kaybına yol açmış olabilir. Şimdiye kadar fareler ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kemik iliği ya da periferik kan akım sitometri yöntemi kullanılmıştır. İmmünohistokimyasal boyanma solid tümörlerde çalışılmış olup kemik iliğinde çalışılmamıştır. Literatür taradığımızda

bu konuda yapılmış benzer bir çalışma bulunamamıştır. Bulgularımız sonucunda AML hastalarında programlı hücre ölümü çalışmalarının hastaların taze kemik iliği örneklerinde ve akım sitometri gibi diğer tekniklerle desteklenmesi ve daha fazla sayıda hastayı içerecek şekilde tasarlanmasının yol gösterici olacağı görülmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaş arttıkça tedavi kısıtlılığı, komorbiditeler nedeniyle prognoz daha kötü seyretmektedir.

İndüksiyona ile remisyona giren hastaların sağkalım süreleri birinci indüksiyona refrakter olan hastalara kıyasla daha uzundur.

Remisyonda takip edilen hastalar ile relaps olan hastalara göre sağkalım süresi uzun bulunmuştur.

İyi risk grubu ile kötü risk grubu arasında sağkalım süreleri açısından anlamlı farklılık saptanmıştır.

PD1 boyanma gösteren hastalarda CD117, CD34 yüksek bulunmuştur. PD1/PDL1 çalışmaların AML'li hastalarda akım sitometri gibi diğer tekniklerle desteklenmesi gereklidir.

İmmünohistokimyasal yöntemle kemik iliği biyopsisinde PDL1 boyanabilirliği gözlenmiştir. Ancak dekalsifikasyon yöntemi nedeniyle hedeflenen sonuçlar elde edilememiştir. Prospektif çalışmalar ile dekalsifikasyonda EDTA yöntemi kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Robak T, Wierzboeska A.** Current and Emerging Therapies for Acute Myeloid Leukemia. *Clinical Therapeutics*, **2009**. 31 (Theme Issue): p. 2349-70.
2. **Hasserjian, R. P.** Acute myeloid leukemia: advances in diagnosis and classification. *Int J Lab Hematol*, **2013**. 35 (3): p. 358-66
3. **National Cancer Institute SEER Stat Fact Sheets: Acute Myeloid Leukemia (AML)** [(accessed on **19 April 2016**)]; Available online: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html>.
4. **Reiss K, Forde P, Brahmer J.** Harnessing the power of the immune system via blockade of PD-1 and PD-L1: a promising new anticancer strategy. *Immunotherapy*, **2014**. 6 (4): 459-475.
5. Akut lösemiler özel sayısı. Türkiye klinikleri journal of hematology, **2017**.
6. **Swerdlow SH CE, Harris NL, et al.** WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon; **2008**
7. **Dohner, H., D. J. Weisdorf, and C. D. Bloomfield,** Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*, **2015**. 373 (12): p. 1136-52.
8. **Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al.** The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* **2016**; 127: 2391.
9. **Siegel RL, Miller KD, Jemal A.** Cancer statics 2016. *CA Cancer J Clin* **2016**; 66: 7
10. **M. F. Fey** Acute myeloblastic leukaemias in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up *Ann Oncol*. **2013 Oct**; **24 Suppl 6**: vi138-43
11. **Shah A¹, Andersson TM, Rachet B, Björkholm M, Lambert PC.** Survival and cure of acute myeloid leukaemia in England, 1971-2006: a population-based study. *Br J Haematol*. **2013 Aug**; 162 (4): 509-16.
12. **Shimizu, Y., Schull, W. J. & Kato, H.** *Cancer risk among atomic bomb survivors. The RERF Life Span study. Radiation Effects Research Foundation.* *JAMA* 264, 601–604 (**1990**) .
13. **Bueso-Ramos, C. E., Kanagal-Shamanna, R., Routbort, M. J. & Hanson, C. A.** *Therapy-related myeloid neoplasms.* *Am. J. Clin. Pathol.* 144, 207–218 (**2015**) .
14. **Goldin LR¹, Kristinsson SY, Liang XS, Derolf AR, Landgren O, Björkholm M** Familial aggregation of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. **2012 Jan 10**; 30 (2): 179-83
15. **Seif, A. E.** *Pediatric leukemia predisposition syndromes: clues to understanding leukemogenesis.* *Cancer Genet.* 204, 227–244 (**2011**) .
16. **Noor SJ, Tan W, Wilding GE, et al.** Myeloid blastic transformation of myeloproliferative neoplasms-- a review of 112 cases. *Leuk Res* **2011**; 35: 608.
17. **Najean Y, Rain JD.** The very long-term evolution of polycythemia vera: an analysis of 318 patients initially treated by phlebotomy or 32P between 1969 and 1981. *Semin Hematol* **1997**; 34: 6.
18. **Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, et al.** Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia* **2013**; 27: 1861.

19. **Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, et al.** Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood* **2009**; 113 (18): 4179-4187.
20. **Bernard Tavfik et al.** Comorbidity, age, and mortality among adults treated intensively for acute myeloid leukemia (AML). *Journal of geriatric oncology*. **2016** Jan;7(1):24-31.
21. **Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, et al.** Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood* **2010**; 116: 354.
22. **GranfeldtØstgård LS, Medeiros BC, Sengeløv H, Nørgaard M, Andersen MK, Dufva IH, Friis LS, Kjeldsen E, Marcher CW, Preiss B, Severinsen M, Nørgaard JM.** Epidemiology and Clinical Significance of Secondary and Therapy-Related Acute Myeloid Leukemia: A National Population-Based Cohort Study. *J Clin Oncol*. **2015** Nov; 33 (31): 3641-9. Epub **2015** Aug **24**.
23. **Morton LM, Dores GM, Tucker MA, Kim CJ, Onel K, Gilbert ES, Fraumeni JF Jr, Curtis RE.** Evolving risk of therapy-related acute myeloid leukemia following cancer chemotherapy among adults in the United States, 1975-2008. *Blood*. **2013** Apr; 121 (15): 2996-3004. Epub **2013** Feb **14**.
24. **Kern W, Haferlach T, Schnittger S, Hiddemann W, Schoch C.** Prognosis in therapy-related acute myeloid leukemia and impact of karyotype. *J Clin Oncol*. 2004; 22 (12): 2510.
25. **Sang Hyuk Park, M. D., ^{1,*} Hyun Ji Lee, M. D., ^{2,*}** Incidences and Prognostic Impact of c-KIT, WT1, CEBPA, and CBL Mutations, and Mutations Associated With Epigenetic Modification in Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: A Multicenter Study in a Korean Population. *Ann Lab Med*. **2015** May; 35 (3): 288–297.
26. **Santamaría CM, Chillón MC, García-Sanz R, et al.** Molecular stratification model for prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Blood* **2009**; 114: 148.
27. **Metzeler KH, Herold T, Rothenberg-Thurley M, et al.** Spectrum and prognostic relevance of driver gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* **2016**; 128: 686.
28. **Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Dombret H, Ebert BL, Fenaux P, Larson RA, Levine RL, Lo-Coco F, Naoe T, Niederwieser D, Ossenkoppele GJ, Sanz M, Sierra J, Tallman MS, Tien HF, Wei AH, Löwenberg B, Bloomfield CD.** Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. **2017** Jan **26**; 129 (4): 424. -447
29. **Tsimberidou AM, Kantarjian HM, Wen S, O'brien S, Cortes J, Wierda WG, et al.** The prognostic significance of beta 2 mikroglobulin levels in acute myeloid leukemia and prognostic scores predicting survival: analysis of 1, 180 patients. *Clin Cancer Res* **2008**; 14 (3): 721-30.
30. **Gordon JE, Wong JJ, Rasko JE.** MicroRNAs in myeloid malignancies. *Br J Haematol* **2013**; 162 (2): 162-76
31. **Mandelli F, Vignetti M, Suci S, et al.** Daunorubicin versus mitoxantrone versus idarubicin as induction and consolidation chemotherapy for adults with acute myeloid leukemia: the EORTC and GIMEMA Groups Study AML-10. *J Clin Oncol* **2009**; 27: 5397.
32. **Bishop JF, Matthews JP, Young GA et al.** A randomized study of high dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. *Blood* **1996**; 87 (5): 1710.
33. **Mayer RJ, Davis RB, Schiffer CA, et al.** Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. Cancer and Leukemia Group B. *N Engl J Med* **1994**; 331: 896.

34. **Yanada M, Matsuo K.** Efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation depends on cytogenetic risk for acute myeloid leukemia in first disease remission: a metaanalysis. *Cancer* **2005**; 103 (8): 1652.
35. **Weick JK, Kopecky KJ et al.** A randomized investigation of high-dose versus standard-dose cytosine arabinoside with daunorubicin in patients with previously untreated acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study. *Blood* **1996**; 88 (8): 2841
36. **Lazarus HM.** Autotransplantation versus HLA-matched unrelated donor transplantation for acute myeloid leukaemia: a retrospective analysis from the Center for International Blood and Marrow Transplantation. *Br. J H aematol* **2006**; 132 (6): 755.
37. **Koreth J.** Allogeneic stem cell transplantation for akute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinical trials. *JAMA* **2009**; 301 (22): 2349
38. **Schiffer CA.** I am older, not elderly' said the patient with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* **2010**; 28 (4): 521.
39. **Roboz GJ.** Epigenetic targeting and personalized approaches for AML. *Hematology* **2014**: 44-517
40. **Huls G.** Azacitidine in AML: a treatment option? *Blood* **2015**; 126 (3): 283-4
41. **Ikeada H, Kanakura Y et al.** Expression and functional role of the proto-oncogene c-kit in acute myeloblastic leukemia cells. *Blood* **1991**; 78 (11): 2962-8.
42. **Ravandi F, Kantarjian H.** Outcome of patients with FLT3-mutated acute myeloid leukemia in first relapse. *Leuk res* **2010**; 34 (6): 752-6
43. **Petersdorf SH, Kopecky KJ et al.** A phase 3 study of gemtuzumab ozogamisin during induction and postconsolidation therapy in younger patients with acute myeloid leukemia *blood* **2013**; 121 (24): 4854-60
44. **Walter RB, Kantarjian HM, Huang X, Pierce SA, Sun Z, Gundacker HM, Ravandi F, Faderl SH, Tallman MS, Appelbaum FR, Estey EH** Effect of complete remission and responses less than complete remission on survival in acute myeloid leukemia: a combined Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and M. D. Anderson Cancer Center Study. *J Clin Oncol.* **2010**; 28 (10): 1766. Epub **2010 Feb**
45. **de Greef G, van Putten WL et al.** Criteria for defining a complete remission in acute myeloid leukemia revisited. An analysis of patients treated in HOVAN-SAKK CO-OPERATIVE group studies. *Br J Haematol* 2005; 128: 184.
46. **Sainty D, Liso V** A new morphologic classification system for acute promyelocytic leukemia distinguishes cases with underlying PLZF/RARA gene rearrangements. *BLOOD* **2000 aug 15**; 96 (4): 1287-96
47. **Warrell RP Jr.** Acute promyelocytic leukemia. *N Engl. J Med.* **1993**; 329 (3): 177
48. **Park JH, Qiao B et al.** Early death rate in acute promyelocytic leukemia remains high despite all-trans retinoic acid. *Blood* **2011**; 118 (5): 1248-54
49. **Ades L, Guerci A et al.** very long term out come of acute promyelocyticleukemia after treatment all-trans retinoic acid and chemotherapy: the European APL Group experience. *Blood* **2010**; 115 (9): 3751-57
50. **Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ.** Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* **2011**; 331: 1565.

51. **Johnsen AK, Templeton DJ, Sy M, Harding CV.** Deficiency of transporter for antigen presentation (TAP) in tumor cells allows evasion of immune surveillance and increases tumorigenesis. *J Immunol* **1999**
52. **Rooney MS, Shukla SA et al.** Molecular and genetic properties of tumors associated with local immune cytolytic activity. *Cell* **2015**; 160: 48
53. **Tumeh PC, Harview CL et al.** PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature* **2014**; 515: 568
54. **Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, Vanguri VK, Freeman GJ, Kuchroo VK, Sharpe AH.** PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med.* **2009 Dec**; 206 (13): 3015-29. Epub **2009 Dec 14**.
55. **Amarnath S, Mangus CW, Wang JC, Wei F, He A, Kapoor V, Foley JE, Massey PR, Felizardo TC, Riley JL, Levine BL, June CH, Medin JA, Fowler DH.** The PDL1-PD1 axis converts human TH1 cells into regulatory T cells. *Sci Transl Med.* **2011 Nov**; 3 (111): 111ra120.
56. Alexander N Shoushtari, Jedd Wolchok, MD, Matthew Hellman, MD. **Principles of cancer immunotherapy.** Dec10, 2018. Erişim: <https://www.uptodate.com/contents/principles-of-cancer-immunotherapy>
57. **Chen L, Flies DB.** Molecular mechanisms of T cell costimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol.* **2013**; 13: 227–242.
58. **Leach DR, Krummel MF, Allison JP.** Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science.* **1996**; 271: 1734–1736.
59. **Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al.** Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med.* **2010**; 363: 711–723.
60. **O'Day SJ, Maio M, Chiarion-Sileni V, et al.** Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a multicenter singlearm phase II study. *Ann Oncol.* **2010**; 21: 1712–1717
61. **Alatrash G, Daver N, Mittendorf EA.** Targeting immune checkpoints in hematologic malignancies. *Pharmacol Rev.* **2016**; 68: 1014–1025.
62. **Fevry S.** CTLA-4 blockade in murine bone marrow chimeras induces a host-derived antileukemic effect without graft-versus-host disease. *leukemia* **2007 Jul**; 21 (7): 1451-9. Epub **2007 May 17**
63. **Yang H.** Expression of PD-L1, PD-L2, PD-1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents. *Leukemia.* **2014 Jun**; 28 (6): 1280-8. Epub **2013 Nov 25**
64. **Daver N, Basu S. et al.** Defining the immune checkpoint landscape in patients with acute myeloid leukemia (AML) . *Blood*, 128 (22), 2900-2900 (**2016**) .
65. **Schnorfeil FM, Lichtenegger FS, Emmerig K, et al.** T cells are functionally not impaired in AML: increased PD-1 expression is only seen at time of relapse and correlates with a shift towards the memory T cell compartment. *J Hematol Oncol* **2015**; 8: 93.
66. **Zhou Q, et al.** Program death-1 signaling and regulatory T cells collaborate to resist the function of adoptively transferred cytotoxic T lymphocytes in advanced acute myeloid leukemia. **2010** *Blood* 116: 2484–2493.
67. **Mrozek K, Marcucci G, Nicolet D, Maharry KS, Becker H, Whitman SP, et al.** Prognostic significance of the European LeukemiaNet standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* (**2012**) 30: 4515–23. doi: 10.1200/JCO. **2012**. 43. 4738

68. **Gupta V, Tallman MS, Weisdorf DJ.** Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with acute myeloid leukemia: myths, controversies, and unknowns. *Blood* (2011) 117: 2307–18. doi: 10.1182/blood-2010-10-265603
69. **Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al.** Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* (2012) 366: 2443–54. doi: 10.1056/NEJMoa1200690
70. **Saudemont A, Quesnel B.** In a model of tumor dormancy, long-term persistent leukemic cells have increased B7-H1 and B7. 1 expression and resist CTLmediated lysis. *Blood*. 2004; 104: 2124–2133.
71. **Garcia-Manero G, Daver NG, Montalban-Bravo G, et al.** A phase II study evaluating the combination of nivolumab or ipilimumab with azacitidine in patients with previously treated or untreated myelodysplastic syndromes. *American Society of Hematology, Dec 2016*
72. **Prajwal Boddu, Hagop Kantarjian, Guillermo Garcia-Manero, James Allison, Padmanee Sharma & Naval Daver.** The emerging role of immune checkpoint based approaches in AML and MDS, *Leukemia & Lymphoma* 2017, *Leuk Lymphoma*. . Published online 2017 Jul 6.
73. **Naveen Pemmaraju et al. Patient Characteristics and Outcomes in Adolescents and Young Adults (AYA) with Acute Myeloid Leukemia (AML)** . Published online 2016 Jan 5.
74. **Nada Assaf.** Molecular profiling of adult acute myeloid and lymphoid leukemia in a major referral center in Lebanon: a 10-year experience report and review of the literature. *Molecular biology reports*. 30, 01, 2019
75. **Dou XL.** Age-related clinical characteristics and prognosis in non-senile adults with acute myeloid leukemia. Article in Chinese. 2018 Dec 14; 39 (12): 969-976.
76. **Pulte D, Gondos A, Brenner H.** Expected long-term survival of patients diagnosed with acute myeloblastic leukemia during 2006-2010. *Ann Oncol*, 21 (2), 335-341 (2010) .
77. **Ravandi F, Cortes J, Faderl S et al.** Characteristics and outcome of patients with acute myeloid leukemia refractory to 1 cycle of high-dose cytarabine-based induction chemotherapy. *Blood*, 116 (26), 5818-5823; quiz 6153 (2010) .
78. **Menzin J, Lang K, Earle CC, Kerney D, Mallick R.** The outcomes and costs of acute myeloid leukemia among the elderly. *Arch Intern Med*, 162 (14), 1597-1603 (2002) .
79. **Ibrahim A.** CD56 and CD11b Positivity with Low Smac/DIABLO Expression as Predictors of Chemoresistance in Acute Myeloid Leukaemia: Flow Cytometric Analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018 Nov 29; 19 (11): 3187-3192
80. **Zhonghua Xue.** Analysis of immunophenotype and leukemia associated immunophenotype in 610 patients with acute myeloid leukemia. 2007 Nov; 28 (11): 731-6.
81. **Dong XY.** Correlation between myeloperoxidase expression and gene alterations and prognosis in acute myeloid leukemia. 2019 Jan 14; 40 (1): 40-45.
82. **Burnett AK, Wheatley K et al.** The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukemia at differing risk of relapse: results of the UK MRC AML 10 trial. *Br J Haematol* 2002; 118: 385-400
83. **Brunner weinzierl.** CTLA-4 and PD-1 Control of T-Cell Motility and Migration: Implications for Tumor Immunotherapy. *Front Immunol*. 2018 Nov 27; 9: 2737.
84. **Mansour Alfayez & Gautam Borthakur** Checkpoint inhibitors and acute myelogenous leukemia: promises and challenges. *Expert Review of Hematology* 2018

85. **Rodig N, Ryan T, Allen JA, Pang H, Grabie N, Chernova T, Greenfield EA, Liang SC, Sharpe AH, Lichtman AH.** Endothelial expression of PD-L1 and PD-L2 down-regulates CD8+ T cell activation and cytotoxicity. *European journal of immunology*, **2003**. 33 (11): 3117-3126.
86. **WU P.** PD-L1 and Survival in Solid Tumors: A Meta-Analysis. *Plus one* **2015**
87. **Ansell SM¹, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC, Gutierrez M, Schuster SJ, Millenson MM, Cattray D, Freeman GJ, Rodig SJ, Chapuy B, Ligon AH, Zhu L, Grosso JF, Kim SY, Timmerman JM, Shipp MA, Armand P.** PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. **2015 Jan 22**; 372 (4): 311-9.
88. Guiseppe Luigi Banna Immune-checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer: A tool to improve patients' selection. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **2018**
89. **Long zhang.** PD-1/PD-L1 interactions inhibit antitumor immune responses in a murine acute myeloid leukemia model. *Blood*. **2009 Aug 20**; 114 (8): 1545–1552
90. **Alison Sehgal, MD [Assistant Professor of Medicine], Theresa L. Whiteside, PhD, MDHC [Professor of Pathology, Immunology and Otolaryngology], Michael Boyiadzis, MD, MHS [Associate Professor of Medicine]** PD-1 Checkpoint Blockade in Acute Myeloid Leukemia. *Expert Opin Biol Ther*. **2015** ; 15 (8): 1191–1203.
91. **Zhang L, Gajewski TF, Kline J.** PD-1/PD-L1 interactions inhibit antitumor immune responses in a murine acute myeloid leukemia model. *Blood*. Aug 20; **2009** 114 (8): 1545–52. [PubMed: 19417208] [This study demonstrates that PD-1 knockout mice have superior anti-tumor T-cell responses, improved leukemia control, and better overall survival than wild-type mice.]
92. **Long Zhang, 1 Thomas F. Gajewski, 1, 2 and Justin Kline1** PD-1/PD-L1 interactions inhibit antitumor immune responses in a murine acute myeloid leukemia model. Departments of 1Medicine and 2Pathology, University of Chicago, IL
93. **Xi Wang.** Tumor suppressor miR-34a targets PD-L1 and functions as a potential immunotherapeutic target in acute myeloid leukemia *Cellular Signalling* **2015**
94. **Daver N, Basu S, Garcia-Manero G, Cortes JE, Ravandi F, Jabbour EJ, et al.** Phase IB/II study of nivolumab in combination with azacytidine (AZA) in patients (pts) with relapsed acute myeloid leukemia (AML) . *Blood* [Internet]. **2016 Dec**
95. **Haixia Liu** Evaluation of Decalcification Techniques for Rat Femurs Using HE and Immunohistochemical Staining. *Biomed Res Int*. **2017**: 9050754.
96. **Semir Gül, Mehmet Gül, Birgül Yiğitcan, Salih Yahya Aksanyar.** Comparison of Three Different Decalcification Methods in Terms of Preservation of Tissue and Cell Integrity. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye
97. **Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, Lehmann S, Mollgard L, Stockelberg D, et al.** Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood*. **2009**; 113 (18): 4179-87.
98. **Liersch R, Muller-Tidow C, Berdel WE, Krug U.** Prognostic factors for acute myeloid leukaemia in adults--biological significance and clinical use. *British journal of haematology*. **2014**; 165 (1): 17-38.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gizem VARKAL EROL
Doğum tarihi ve yeri : 23.04.1989, Adana
Medeni Durumu : Evli
Adres : Yamaçlı Mahallesi 609 Sokak No: 4
Yüreğir/ADANA
Telefon : 0538 814 50 25
E-posta : dr.gizem.varkal@gmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev Yerleri : Düziçi Devlet Hastanesi
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı
Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Sarıçam/ADANA
Yabancı Dil : İngilizce