

# Lösemi ve Lenfomaların İrdelenmesi ve Teşhisinde Flow Sitometrik İmmün Tip Tayini

Dr. Abdullah Aydın<sup>1</sup>, Dr. İ.Halil Özerol<sup>2</sup>

*Yüzey membran antijen analizi (immünfenotiplendirme) ve DNA içerik analizi, onkoloji alanında flow sitometrinin en yaygın iki kullanım şeklidir. Yüzey membran antijen analizi lösemi ve lenfomaların teşhisinde ve sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Flow sitometrik immünfenotiplendirme hastaların takibinde faydalıdır ve prognostik değere sahiptir. Flow sitometri ve monoklonal antikor teknolojisi lösemi ve lenfomaların değerlendirilmesinde yeni boyutlar kazandırmıştır. Bu çalışmada hematolojik malignitelerin immünfenotip özellikleri gözden geçirilmiştir. [Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1996;3(2):130-136]*

**Anahtar Kelimeler:** Flow sitometri, immünfenotiplendirme, lösemi, lenfoma.

## Flow cytometric immunophenotyping in the evaluation and diagnosis of leukemias and lymphomas

*Surface membran antigen analysis (immunophenotyping) and DNA content analysis are the two most common applications of flow cytometry in oncology field. Surface membrane antigen analysis is used in the diagnosis and classification of leukemias and lymphomas. Flow cytometric immunophenotyping is helpful for monitoring of patients and also has prognostic value. The technology of flow cytometry and monoclonal antibody have added new dimensions in the evaluation of leukemias and lymphomas. In this study immunophenotypic features of hematologic malignancies are reviewed. [Journal of Turgut Özal Medical Center 1996;3(2):130-136]*

**Key Words:** Flow cytometry, immunophenotyping, leukemia, lymphoma.

Flow sitometri (FSM), bir akışkan içinde tek sıra halinde geçen hücrelerin farklı fiziksel özelliklerini yüksek hızda ölçmeye yarayan bir tekniktir (1). Batıda son 10-15 yıldır rutinde kullanılmaya başlanan FSM, özellikle onkoloji alanında vazgeçilmez teknikler arasına girmiştir. Daha çok prognozu ve proliferasyon indeksini ölçmeye yarayan DNA analizi yanısıra, floresan veren maddelerle işaretlenmiş, uygun monoklonal antikorlar yardımıyla özellikle hematolojik malignitelerde diagnostik olarak kullanılmaktadır

(1,2). Ayrıca immün yetmezlik hastalıkları, otoimmün hastalıklar, solid organ ve kemik iliği transplantasyonu vakalarında klinisyene faydalı bilgiler vermektedir (3,4). Bu makalede lösemiler ve lenfomalarla ilgili flow sitometrik klinik uygulama konusunda bilgiler verilecektir.

Bilindiği gibi şekilli kan elemanları, kemik iliğindeki prekürsör hücre olan Stem Cell (ana hücre)'den köken alırlar (5). Her hücre matür hale gelinceye kadar diferansiyasyon basamaklarından

<sup>1</sup> İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Malatya

<sup>2</sup> İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya

geçerler. Her diferansiyasyon basamağında hücrenin sitoplazması, nükleusu ve membranında farklı antijenler oluşur (6). Bu antijenlere (CD olarak farklı numaralarla tasnif edilmişlerdir) karşı geliştirilmiş olan çok sayıdaki monoklonal antikolar (Tablo 1) yardımıyla lösemi ve lenfomaların fenotiplendirilmesi mümkündür (7). Örneğin; akut lösemilerde morfolojik klasifikasyonun tanı doğruluğu %60-70'lerde iken, mortoloji + sitokimyasal klasifikasyonda bu oran %89'a, bunlara FSM eklendiğinde ise %99'a ulaşmaktadır (8). Hastanın tedavi şemasının hazırlanması ve prognozu konusunda bilgi sahibi olmak, hematolojik malignitenin doğru immünofenotiplendirilmesine bağlıdır. Nadir lösemi tiplerinin (örneğin: prolenfositik lösemi, T-gamma lenfoproliferatif hastalık) teşhisinde yardımcı olur. Ayrıca lösemilerde relapsı değerlendirmede ışık tutar (9).

FSM'de elde edilecek immünofenotipe ait sonuçların; ışık ve elektron mikroskopunda elde edilen bulgular, kemik iliği özel boyaları, sitogenetik ve moleküler patoloji sonuçları gibi diğer laboratuvar testleri ile mutlaka korelasyonu

**Tablo 1.** Hematolojik malignitelere kullanılabilecek monoklonal antikolar.

CD Grup	Pozitif boyanma
CD1	Timositler
CD2	T lenfositler, NK hücrelerin bir kısmı
CD3	T lenfositler, NK hücrelerin bir kısmı
CD4	T helper hücreler
CD5	T lenfositler, B lenfositlerin bir kısmı
CD7	T lenfositler, NK hücrelerin bir kısmı
CD8	T sitotoksik hücreler, NK hücrelerin bir kısmı
CD10	İmmatür B hücreler, granülositler
CD19	B lenfositler
CD20	B lenfositler
CD21	B lenfositler
CD22	B lenfositler
CD23	B lenfositler
CD13	İmmatür ve matür granülositler, monositler
CD14	Monositler
CD15	Promyelositler ve matür granülositler arasındaki hücreler
CD33	Promyelosit basamağına kadar ki immatür hücreler ve monositler
CD16	NK hücreler
CD56	NK hücreler
CD25	Aktif T lenfositler, B lenfositlerin küçük bir grubu
CD34	Progenitör hücreler
CD45	Tüm lökositler

CD: Cluster of differentiation, NK: Natural killer hücreler.

yapılmalıdır.

### Temel prensipler:

**Tek hücre süspansiyonunun hazırlanması:** Periferik kan ve kemik iliği aspirasyon materyallerinde hücreler tek tek ayrılmış halde oldukları için FSM çalışmaları için idealdir. Yine lenf düğümü aspirasyonu, omurilik sıvısı ve vücudun doğal boşluklarında toplanan sıvılardaki hücreler kolaylıkla FSM'de çalışılabilir. Lenf düğümü biopsileri ise işlemlerle hücrelerin antijen yapıları bozulmadan, tek hücre süspansiyonu haline getirilebilir. Eritrositleri ortamdaki uzaklaştırmak için ya  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ile eritrositler parçalanıp eritilir, ya da dansite gradient işlemi (genellikle Ficoll-Hypaque kullanılır) ile eritrositler ayrılır.

**Hücrelerin boyanması:** Membran antijen boyanması direkt olarak taze hücrelere uygulanır. Normal bir boyama işleminde; monoklonal antikolarla boyanma, inkübasyon, eritrositlerin uzaklaştırılması ve paraformaldehid ile materyalin fiksasyonu basamakları vardır. Monoklonal antikolar panel şeklinde hazırlanmış olup florokrom içerirler. Spektral özellikleri birbirinden farklı bir çok florokrom vardır. Bu gün en çok kullanılanları fluorescein isothiocyanate (FITC) ve phycoerythrin (PE)'dir. Mavi renkli lazer ışınıyla (485 nm) FITC yeşil renkli (530 nm.) PE ise kırmızı renkli floresan (575 nm.) verir. Bu iki spektrumu farklı ışın iki ayrı fotodedektörde toplanır. FSM'de yüksek hızda lazer ışını önünden geçen floresanla boyanmamış hücrelerin nükleusu ve sitoplazmadaki organelleri üzerinde düşen ışınları çevreye yansıtırlar. Bu ışınlar iki ayrı fotodedektörde saplanır. Bu fiziksel özelliklerden faydalanarak hücrenin çapı ve sitoplazmasındaki granülleri değerlendirilerek hücreler; blast, lenfosit, monosit, granülosit gibi subgruplara ayrılabilir.

Fotodedektörlere gelen ışınlar burada elektrik sinyali oluşturur. Elektrik konvertörler bunları amplifiye ederler ve bilgisayarda bunlar yorumlanabilecek hale getirilir.

**Akut lösemiler:** Akut lösemiler blast olarak nitelendirilen immatür prekürsör hematopoietik elemanların kontrolsüz çoğalmalarıdır. Tedavi edilmemeleri halinde hızla ilerlemeleri ve ölüme sebebiyet vermeleri nedeniyle çabuk ve doğru şekilde tanınmaları ve klasifiye edilmeleri gerekmektedir. Klasik olarak FAB (French-American-British) sistemine göre; akut lenfoblastik

**Tablo 2.** Membran yüzey antijenlerine ve FAB sınıflamasına göre AML (14 nolu referansdan adapte edilmiştir).

Antikor	FAB Klasifikasyonu				
	M1	M2	M3	M4	M5
HLA-DR	85	81	6	87	83
CD 13	76	67	89	46	71
CD 14	--	6	5	45	44
CD 15	54	50	42	75	63
CD 33	83	78	84	92	83
CD 34	61	64	63	73	62

lösemiler: L1, L2 ve L3 olarak, myeloblastik lösemiler ise yedi grup halinde tasnif edilmektedir: M1 (matürasyon göstermeyen myeloblastlar), M2 (matürasyon gösteren myeloblastlar), M3 (promyelositik veya progranüositik), M4 (myelomonositik), M5 (monositik), M6 (eritrolösemi) ve M7 (megakaryoblastik) (6,10). Blastik hücrelerin birbirlerinden ayrılmasında kullanılan bazı sitokimyasal boyalar mevcuttur: Örneğin; myeloperoksidaz ve spesifik esteraz (klorasetat esteraz) myeloid seri hücrelerini boyar. Nonspesifik esteraz monositik hücrelerde Tdt (terminal deoksiniükleotidil transferaz) ise lenfoid hücrelerde boyanma gösterir.

Flow sitometri ve monoklonal antikorların rutinde kullanılmasıyla birlikte akut lösemilerin objektif olarak tanınmaları konusunda önemli adımlar atılmıştır. İmmüfenotiplendirme ile tip tayini (B tip, T tip lenfoid, AML, NK), akut lenfoblastik lösemilerin diferansiyasyon basamaklarının tesbiti, akut myeloblastik lösemilerin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi, mikst veya bifenotipik lösemilerin hematopoietik veya diğer tümörlerden ayırt edilmesi mümkündür.

**Akut myeloblastik lösemiler:** FAB klasifikasyonuna göre 7 grupta incelenen AML'de, FAB klasifikasyonunun prognostik önemi yoktur. sadece M3 tipinde remisyon zamanı diğerlerine göre daha uzundur (12). AML hücreleriyle

reaksiyon veren çok sayıda monoklonal antikor mevcuttur. Bunlar arasında en çok kullanılanları; CD13, CD14, CD15, CD33, CD34 ve HLA-DR'dir (Tablo 2). İmmüfenotiplendirme AML'yi ALL'den ayırt etmede son derecede faydalıdır. Çünkü tedavi protokolları farklıdır (12). Fakat FAB klasifikasyonu ile, yukarıda belirtilen monoklonal antikorların pozitif boyanması arasında kesin bir korelasyon yoktur. CD33 ve CD13 AML hücrelerinin büyük bir kısmıyla reaksiyon verir. HLA-DR M3 (promyelositik) tip AML'de çok nadir reaksiyon verir. Mamafih M1 ve M2 tip AML hücrelerinde %20, M4 ve M5 tip AML olgularında ise %10 reaksiyon vermeyebilir (15). CD14, M4 ve M5'de yüksek oranda pozitif iken M1 ve M2 olgularında % 20 veya daha az oranda boyanma gösterebilir (15).

Bir proto-onkojen olan C-kit'e karşı geliştirilmiş olan monoklonal antikorlar (17F11, 95C3, YB5.B8) AML için spesifik gözükmemektedir. Bir çalışmada 30 AML olgusunun 26'sında ve blastik kriz gösteren 9 kronik myelositer lösemilerin 7'sinde blastlar reaksiyon verirken, B ve T tip ALL olgularında hiç boyanma görülmemiştir (17). Antiglycophorin-A M6, CD41 ise M7 için spesifiktir (2,11,15). Monoklonal antikorun reaksiyon verme yüzdesi ile prognoz arasındaki ilişki net olarak belli değildir. CD13 ve CD14 ekspresyonunda tedaviye cevap oldukça düşük görülmektedir (15,18). CD15 ekspresyonunda tam remisyon hızının daha yüksek bulunduğu belirtilmektedir (15). CD33'ün CD13'e oranı 1'den yüksek olan olgularda sürvi daha iyi bulunmuştur (15).

**Akut Lenfoblastik Lösemiler:** B lenfositler ve bunların prekürsörlerine karşı geliştirilmiş monoklonal antikorların yardımıyla heterojen bir grup olan B-ALL'ler hakkında daha detaylı bilgiler elde edilebilmiştir. HLA-DR, CD19, CD10, CD20, sitoplazmik immüoglobulinler ve yüzey immüoglobulinleri bu amaçla kullanılmaktadır (Tablo 3). Bu antikorlar yardımıyla diferansiyasyon

**Tablo 3.** B tip akut lenfoblastik lösemilerin immüfenotip özelliklerine göre sınıflandırılması.

B tip ALL'nin klasifikasyonu	DHLA DR	CD19	CD10	CD20	Sitoplazmik $\mu$	Yüzey immüoglobulin
Grup I indifferan	+	-	-	-	-	-
Grup II erken B-prekürsör	+	+	-	-	-	-
Grup III erken B-prekürsör	+	+	+	-	-	-
Grup IV erken B-prekürsör	+	+	+	+	-	-
Grup V B-prekürsör	+	+	+	+	+	-
Grup VI matür B-ALL	+	+	+/-	+	+/-	+

basamaklarına göre B-ALL 6 grupta sınıflandırılmaktadır (2,7,9,15). Grup I en az diferansiye, grup 6 ise en diferansiye blastları göstermektedir. Diğer gruplara oranla grup 6 daha kötü prognoza sahiptir (2,15). En erken tesbit edilebilen B hücrelerine ait yüzey markırı CD19'dur. Hücre matürasyon gösterdikçe CD10, CD20 antijenleri yanısıra, sitoplazmada IgM'nin prekürsörü olan (mü) ağır zinciri ortaya çıkar. Son basamakta ise hücre membranında immünoglobülinler tesbit edilebilir. Hücre ilk önce IgM, daha sonra IgD ve diğer immünoglobülinleri kazanır.

FAB klasifikasyonunda L2 grubunda yer alan T-ALL timustaki matürasyonlarına göre üç grupta incelenmektedir (7,9). Bu amaçla CD71, CD7, CD5, CD2, CD1, CD3, CD4 ve CD8 monoklonal antikorları kullanılmaktadır (Tablo 4). Birinci grupta CD71 (transterin reseptör), CD7, CD5 ve CD2 yüzey membranında gösterilebilir. İkinci basamakta CD71 kaybolur, hücre membranında CD1 ortaya çıkar. Ayrıca hücre CD4 ve CD8'i kazanır. Son basamakta CD1 de kaybolur. Hücre CD4 veya CD8'den birini ortaya koyar. Diferansiyasyon basamaklarına göre yapılan bu sınıflamanın prognostik önemi henüz tam ortaya konmamış olmakla birlikte grup I hücrelerle karakterize T-ALL'de tedaviye cevabın daha kötü olduğu belirtilmektedir. T-ALL ve lenfomalar HLA-DR(-)'tir (15).

**Akut mikst tip lösemiler:** Hibrid, mikst, bifenotipik, biklonal, simültane, vs. gibi adlarla da tanımlanan mikst tip lösemilerde terminolojide tam bir konsensüs yoktur. Flow sitometri ve monoklonal

antikorların kullanılmasıyla mikst tip lösemiler daha iyi tanımlanmaya başlamıştır. Akut lösemilerde fenotip'i tam olarak açıklığa kavuşturmak için T ve B lenfositlerinde ve myeloid seri hücrelerinde reaksiyon veren monoklonal antikorları panel olarak hazırlamak gerekmektedir. Şunu da unutmamak gerekir ki; bazı monoklonal antikorlar tipe spesifik değildir. Örneğin: CD4 T helper hücreler yanısıra, monosit, makrofaj gibi normal hücreleri ve AML blastlarında boyayabilir (15,19). ALL olgularında %30'lara varan oranlarda myeloid antijen ekspresyonu bulunmakta ve bunun prognozu kötü yönde etkilediği belirtilmektedir (15). AML blastlarında T ve B lenfosit antijenleri ekspresyonu da %60'lara kadar varabilmektedir (15). CD2, CD4, CD5, CD7, CD8 en sık olarak görülürken CD10, CD19, CD24 daha az orandadır (20,21). CD56 gibi NK hücre antijenleri de gösterilebilir (15). Yüzey antijenleri yanısıra lenfosit marker'i olan Tdt de AML'de %20'ye varan oranda gösterilmiştir. Daha az oranda olsa da B ve T lenfosit markırılarının aynı anda ALL hücrelerinde gösterilmesi mümkün olmuştur. Bir çalışmada CD2 M3 tip AML olgularının üçte birinde gösterilirken, diğer tiplerde bulunmamıştır (14). CD7 daha immatür (MO, M1 tip) AML'lerde yüksek orandadır. CD19 ise M2 tip AML'de bulunmamaktadır. Myeloperoksidaz+ ALL de literatürde geçmektedir (22). Yüzey antijenlerinden başka, myeloperoksidaz (MPO-7), CD3 ve CD22 antikorları sitoplazmik uygulama ile bu tip akut lösemilerde kullanılmaya başlanmıştır (23).

Mikst tip akut lösemi diyebilmek için, iki veya daha fazla farklı tipte antijenin gösterilmesi

**Tablo 4.** T tip akut lenfoblastik lösemilerin membran yüzey antijenlerine göre sınıflandırılması.

T tip ALL'nin klasifikasyonu	CD71	CD7	CD3	CD5	CD2	CD1	CD3	CD4	CD8
Grup I erken timosit	+	+	+/-	+	+	-	-	-	-
Grup II common timosit	-	+	+	+	+	+	+/-	+	+
Grup III matür timosit	+	+	+	+	+	-	+	+/-**	+/-

\*cCD3: Sitoplazmik CD3 \*\*CD4 veya CD8

**Tablo 5.** Kronik B- tip lösemi ve lenfomaların yüzey membran antijen özellikleri.

Tip	CD19	CD20	CD10	CD5	CD11c	CD25	FMC7	yIg
KLL	+	+	-	+	-	+/-	-	+
PLL	+	+	-	+/-	-	-	+	+++
HCL	+	+	-	-	+	+	+	+++
MZL	+	+	-	+	-	-	+	+++
FKÇHL	+	+	+	-	-	-	+/-	+++

KLL: Kronik lenfositik lösemi, PLL: Prolenfositik lösemi, HCL: Hairy cell lösemi, MZL: Mantle zone lenfoma, FKÇHL: Folliküller küçük çentikli hücreli lenfoma, yIg: yüzey immünglobülin.

gerekmektedir (22,24.)

**Kronik lösemi ve lenfomalar:** Lenfoid hücrelerde bir proliferasyon varsa; a) bu olay reaktif mi, yoksa neoplastik mi? b) eğer neoplastik ise B kökenli mi yoksa T kökenli mi? c) tip tayini yapılmışsa subgrupları nedir? gibi sorulara açıklık getirecek şekilde değişik monoklonal antikorları içeren paneller hazırlanması gerekir (25). Neoplastik B tip lenfoid hastalığı reaktif bir lenfositozdan ayıracak en kuvvetli delil monoklonalitenin belirlenmesidir. Bunun için kappa ve lambda'ya karşı geliştirilmiş antikorlar mevcuttur. Normal şartlarda kappanın lambdaya oranı, periferik kan ve kemik iliğinde 2'dir. Diğer B'ye özgü antikorlarla birlikte kappanın ya da lambdanın normal değerinin çok üzerinde artışı B tip klonal hastalığı belirler (11). B tip büyük hücreli lenfomada immünoglobulinler bulunmayabilir. Bu bulgu da önemlidir (12,26). Ayrıca B tip malignitelerde atipik immünfenotip tanı da yardımcı olur. Örneğin, B-KLL'de bir T lenfosit markırı olan CD5, hairy cell lösemide CD11c'nin gösterilmektedir (26-28).

Eğer T tip bir lösemi veya lenfoma varsa, monoklonalitenin gösterilmesi zordur. Kappa/lambda oranı gibi güvenilir bir gösterge yoktur. CD4/CD8 oranındaki anormallikler T hücre monoklonal proliferasyonu göstermez (15). T hücreli neoplastik proliferasyonu şu bulgular indirekt olarak destekler: T hücrelere özgü CD7, CD5, CD2, CD3 gibi antijenlerin bir veya birkaçının kaybolması, T gamma lenfoproliferatif hastalıkta NK hücrelere özgü antijenlerin gösterilmesi, T lenfoblastik lösemi/lenfoma'da CD4 ve CD8'in beraberce gösterilmesi veya CD1 ekspresyonu gibi (12).

Tedavi protokolleri ve prognozlarının farklı olması nedeniyle FSM bu tür hastalıklarda önem kazanmaya başlamıştır. T tip lösemiler oran olarak az olmakla birlikte B tip partnerlerine göre daha agresiftirler.

**B tip kronik lösemiler:** Tablo 5'de gösterildiği

gibi kronik lenfositik lösemi (KLL)'de B lenfositlere özgü CD19, CD20, T lenfositlere özgü CD5 yanısıra, zayıf yüzey immünoglobülin boyanması vardır. Bazı farklı tablolar ortaya çıkmakla beraber genel özellikleri bunlardır (2,3,7,9,13,29,30). % 30'a varan oranda CD25 (IL-2R) pozitifliği gösterilmiştir. IL-2R(+) ve IL2R(-) KLL'li hastalarda yapılan karşılaştırmalı çalışmada Ki-67 seviyesi IL-2R(+) grupta anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (31). Prolenfositik lösemi (PLL); CD19, CD20, FMC7 ile ve yüzey immünoglobulinleriyle çok kuvvetli boyanma gösterir (2,7,9,12,15). Hairy cell lösemi (HCL) tipik olarak CD11c, CD25, FMC7 ile ve kuvvetli olarak yIg'leriyle reaksiyon verir (2,7,12,15). Özellikle CD22/CD11c'nin iki renkli teknikte, boyanmanın mikst şekilde gösterilmesi HCL'nin tanısında çok yardımcıdır (28,32). MZL'da B antijenleri pozitifliği yanısıra CD5, FMC7 ve ylg pozitifliği vardır (15,32). Follüküler küçük çentikli hücreli lenfoma'da CD10 pozitifliği önemli bir bulgudur (2,15,32,33).

Bu makalede tek tek bütün lenfoma gruplarının immünfenotip özelliklerinden bahsedilmeyecektir. Lenfomaların çoğunluğu B tipindedir. Bunların da %30'a yakını yüzey immünoglobülini taşımaz. B tipe özgü antijenleri taşımaları (%50'den fazla) ve T hücrelerinin azalması tip tayinine yardımcı olur (31,35). Lenfositlerin diferansiyasyon basamağının son ürünü olan plazma hücresi; yüzeyindeki B antijenleri ve immünoglobülinleri kaybeder (3). PCA-1, PCA-2 ve PC-1 gibi plazma hücresine özgü antijenleri ve CD38'i kazanır (12,25). HLA-DR membranda izlenmezken CD10 antijeni izlenebilir (12,15). Waldenström makroglobülinemisi KLL ve multipl myelom fenotipleri arasında antijenik özellik sergiler (7,12,15). B tip kronik lösemi, lenfoma ve multipl myelomalarda sitoplazmik immünoglobulinlerin, immünoperoksidaz veya FCM ile gösterilmesi yararlıdır (15,25).

**T tip kronik lösemi ve lenfomaları:** T tip lösemi ve lenfomaların Tablo 6'da genel

**Tablo 6.** Kronik T-tip lösemi ve lenfomaların yüzey membran antijen özellikleri.

Tip	CD2	CD3	CD7	CD4	CD8	CD25	CD16	CD56
T-KLL	+	+	+	+	-	-	-	-
MF/SS	+	+	+/-	+	-	+/-	-	-
ETL	+	+	-	+	-	+	-	-
BGL(T-tip)	+	+	+	-	+	-	+/-	-
BGL(NK tip)	+	-	-	-	+/-	-	+/-	+

immünofenotipik özellikleri özetlenmektedir. T tip KLL, KLL'nin %5'inden daha azını oluşturur. Daha çok CD4 karakterindedir (13,15). Mikozis funoides T hücre antijenleri yanısıra CD4 antijeni taşır (3,13,35,36). Erişkin T Hücreli lösemi/lenfoma CD2, CD3, CD4 ve IL-2R (CD25) ile karakteristik olarak boyanır (3,7,13). Büyük granüler hücreli lösemi NK veya T tip antijenlere göre iki grupta incelenmektedir (15). Lenfoblastik lenfoma'da; CD4 ve CD8'in birlikte ekspresyonu, CD1, CD2, CD5 ve CD7 antijenleri yanısıra HLA-DR ve CD3'ün kaybolması önemlidir (2,15,32). Ayrıca Tdt hücrelerde gösterilmiştir (11). Burkitt lenfomada CD10 genellikle pozitif boyanma gösterir (2,15,32).

Hodgkin'de FSM çalışmaları; çok sayıda non-neoplastik hücrelerin olaya karışması (bunların çoğu T hücresidir) nedeniyle başarısız olmaktadır (34,35).

## SONUÇ

Monoklonal antikor ve FSM teknolojisinin hematolojik malignitelerde uygulanmaya başlaması ile tek hücre düzeyinde, tümör fenotipi konusunda son 10-15 yılda oldukça fazla bilgi elde edilmiştir. Bu bilgiler hematolojik malignitelerde; teşhis, prognoz, evreleme, rölapsı belirleme, hasta takibi, tedaviye ışık tutmada kullanılmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Shapiro HM. Practical Flow cytometry; 2<sup>nd</sup> ed. Alan R. Liss, Inc. New York: 1988.
- Huh OY, Huck L. Oncology application of flow cytometry. Clin lab Sci 1992;5:25-7.
- Coon JS, Landay AL, Weintin RS. Biology of disease: Advances in flow cytometry for diagnostic pathology. Laboratory Investigation 1987;57:473-9.
- Nicholson JKA. Use of flow cytometry in the evaluation and diagnosis of primary and secondary immunodeficiency diseases. Arch Pathol Lab Med 1989;113:598-605.
- Huang S, Terstappen LWMM. Formation of haematopoietic microenvironment and haematopoietic stem cells from single human bone marrow stem cells. Nature 1992;360:745-9.
- Cotran Rs, Kumar V, Robbins SL: Robbins pathologic basis of disease. 4<sup>th</sup>.ed. W.B.Saunders Company 1989.
- Deegan MJ. Membrane antijen analysis in the diagnosis of lymphoid leukemias and lymphomas. Arch Pathol Lab Med 1989; 113:606-18.
- Dugue RE, Everett ET, Hurraspe J. Flow Cytometric analysis of acute leukemias. Clinical Immunology Newsletter 1990;10:43-62.
- Andreef M. Flow cytometry of leukemia. In: Melamed MR. editor. Flow Cytometry and Sorting. 2<sup>nd</sup> ed. New York Wiley. Liss, Inc. 1990: 697-724.
- Chandrasoma P, Taylor CR. Concise Pathology. 1<sup>st</sup> ed. Prentice-Hall Int. Inc.1991.
- Ryan DH, Fallon MA, Horan PK. Flow cytometry in the clinical laboratory. Clinica Chimica Acta 1988;171: 125-74.
- Carey JL. Flow cytometric immunophenotyping of leukemias and lymphomas. ASCP 1992 teleconference series.
- Lovett EJ, Schnitzer B, Keren DF, Flint A, Hudson J, McClathey KD. Application of flow cytometry to diagnostic pathology. Laboratory Investigation 1984 ; 50:115-39.
- Traweek ST. Immunophenotypic analysis of acute leukemia. Am J Clin Pathol 1993;4: 504-12.
- Huh OY. Surface markers in acute and chronic leukemia and nonHodgkin's lymphoma. The Cancer Bulletin 1993; 45:78-85.
- Lerner NB, Nocka KH, Cole SR, Qiu F, Strife A, Ashman LK, Besmer P. Monoclonal antibody YB5.B8 identifies the human c-kit protein product. Blood 1991;77:1876-83.
- Bütrring HJ, Villrich A, Schaudt K, Müller CA, Busch FW. The product of the proto-oncogene c-kit(P145 c kit) is a human bone marrow surface antigen of hemopoietic precursor cells which is expressed on a subset of acute non-lymphoblastic leukemic cells. Leukemia 1991;5:854-60.
- Griffin JD, Davis R, Nelson DA, Davey FR, Mayer RJ, Schiffer C, McIntyre R, Bloomfield CD. Use of surface marker analysis to predict outcome of adult acute myeloblastic leukemia. Blood 1986; 68: 1232-41.
- Lombard EH, Manswelt EPG. CD4+, CD33-, CD13-, CD14- acute monoblastic leukemia. Acta Haematol 1992;87:151-2.
- Kondo S, Okamura S, Harada N, Ikematsu W, Kawasaki C, Fukuda T, et al. CD7 positive acute myeloid leukemia: Further evidence of cellular immaturity. J Cancer Res Clin Oncol 1992; 118: 386-88.
- Drexler HG, Thiel E, Ludwig WF. Acute myeloid leukemias expressing lymphoid-associated antigens: diagnostic incidence and prognostic significance. Leukemia 1993;7:489-98.
- Kantarjian HM, Ginsberg CH, Yee G, Huh Y, Freireich EJ, Stass S. Mixed lineage leukemia revisited: acute lymphoblastic leukemia with myeloperoxidase-positive blasts by electron microscopy. Blood 1990;76: 808-13.
- Drach D, Drach J, Glassl H, Gattringer C, Huber H. Flow cytometric detection of cytoplasmic antigens in acute leukemias: implications for lineage assignment. Leukemia Research 1993;17: 455-61.
- Ginsberg CH, Kagan J, Liang JC, Stass SA. Recent advances in the diagnosis of acute leukemia. The Cancer Bulletin 1993;45:64-77.

25. Fovcar K, Chen IM, Crago S. Organization and operation of a flow cytometric immunophenotyping laboratory. *Seminars in Diagnostic Pathology* 1989;6: 13-36.
26. Braylan RC, Benson NA. Flow cytometric analysis of lymphomas. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:627-33.
27. Bray RA, Landay AL. Identification and functional characterization of mononuclear cells by flow cytometry. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:579-90.
28. Miller MI, Fischleder AJ, Tubbs RR. The expression of CD22 (leu14) and CD11c (leuM5) in chronic lymphoproliferative disorders using two-color flow cytometric analysis. *Am J Clin Pathol* 1991; 96: 100-8.
29. Batata A, Shen B. Chronic lymphocytic leukemia with low lymphocyte count. *Cancer* 1993;71:2732-8.
30. Dighiero G. An attempt to explain disordered immunity and hypogammaglobulinemia in B-CLL. *Nouv Rev Fr Hematol* 1988; 30:283-8.
31. Aydın A. B tipi kronik lenfositik lösemide Ki-67 monoklonal antikoru, hücre RNA içeriği, S+G2M fraksiyonunun flow sitometri ile ölçümleri ve interlökin-2 reseptör (CD25) pozitifliğiyle korelasyonları. *Uzmanlık Tezi İzmir* 1993.
32. Harris NL. The pathology of lymphoma. *Surg Oncol Clin North Am* 1993;2:167-206.
33. Weisenburger DD, Chan WC. Lymphomas of follicles; mantle cell and follicle center cell lymphomas. *Am J Clin Pathol* 1993;99:409-20.
34. Little JV, Foucar K, Horvath A, Crago S. Flow cytometric analysis of lymphoma and lymphoma-like disorders. *Sem Diagn Pathol* 1989;6:37-54.
35. Andreef M. Flow cytometry of lymphoma. In: Melamed MR ed. *Flow cytometry and Sorting*. 2<sup>nd</sup> ed. New York Wiley-Liss, Inc. 1990:725-43.
36. Barcos M. Mycosis fungoides; diagnosis and pathogenesis *Am J Clin Pathol* 1993;99:452-8.

**Yazışma adresi:**

Yrd.Doç.Dr. Abdullah AYDIN  
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Patoloji Anabilim Dalı  
44100 MALATYA  
Tlf: 090-422-341 06 60