

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ TANISI ALMIŞ
HASTALARDA RETİKÜLER LİF DERECESESİ İLE
LABORATUAR VE PROGNOZİK FAKTÖRLERİN
İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Ömer Şahin DEDEBAĞI

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Demircan ÖZBALCI

ISPARTA – 2021

TEŞEKKÜR

Bu tezin ortaya çıkmasında her daim yanımda olan, bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, çalışkanlığı, disiplini, hasta özverisi ve yardımseverliği ile bizlere örnek olan değerli tez hocam Dr. Öğr. Üyesi Demircan Özbalcı'ya,

Hekimlik sanatını öğrendiğimiz bu zorlu süreçte bizlere yol gösteren, yanımızda olduğunu her zaman hissettiren, usta çırak ilişkisi ile bilgilerini, deneyimlerini bizlere aktaran Anabilim Dalı Başkanımız sayın hocam Prof. Dr. Muhammet Cem Koçkar'a,

Asistanlığım boyunca yardımlarını esirgemeyen, bilime ışık tutan, İç hastalıkları eğitim ve disiplinini almamız için ellerinden geleni yapan saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Altuğ Şenol'a, Prof. Dr. Mehmet Şahin'e, Prof. Dr. Barış Afşar'a, Prof. Dr. Rengin Elsürer Afşar'a, Prof. Dr. Bülent Çetin'e, Doç. Dr. Hakan Korkmaz'a, Doç. Dr. Seyfullah Kan'a, Doç. Dr. Atalay Doğru'ya, Dr. Öğr. Üyesi Emine Güçhan Alanoğlu'na, Dr. Öğr. Üyesi Atila Altuntaş'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca varlıklarını her daim yanımda hissettiğim, beraber öğrendiğimiz, yanyana yürüdüğümüz arkadaşlarım; Dr. Sevinç Şengün'e, Dr. Huzeyfe Karaosman'a, Dr. Burcu Bacak'a, Dr. Ece Özkan Acar'a, Dr. Nuriye Özcan'a, özellikle tez sürecimde yol gösterici olan, Dr. Sultan Tokgöz İnce'ye, Dr. Nurullah Volkan Olgun'a ve dahiliye gibi büyük bir ailenin fertleri, birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma,

En büyük şansım, en büyük destekçim, emekleri, hakları baki olan canım ailem; yolumu aydınlatan, her zaman güç aldığım, örnek aldığım canım babam, dularını her zaman yanımda hissettiğim canım annem, uzak yakın farketmeksizin bir an olsun bizi yalnız bırakmayan canım kardeşim,

Her anımda yanımda olan, hayatın anlamını ve renklerini birlikte keşfettiğimiz, birlikte büyüdüğümüz en zorlu zamanların kahramanı, hayatımın anlamı ve heyecanla beklediğimiz Canımız Ela'mızın annesi eşim Dr. Zeliha Dedebağı'na

Sonsuz teşekkürler...

Isparta/2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. B Lenfositlerin Gelişimi	2
2.2. Kronik Lenfositik Lösemi	2
2.2.1. Tanımı ve Epidemiyolojisi	2
2.2.2. Etyolojisi	3
2.2.3. Klinik ve Laboratuvar Bulguları	3
2.2.4. Tanı Kriterleri	4
2.2.5. Evreleme ve Prognostik Faktörler	5
2.2.5.1. Rai Evreleme Sistemi	5
2.2.5.2. Binet Evreleme Sistemi	6
2.2.5.3. Prognostik Faktörler ve Kromozomal Bozukluklar	7
2.2.6. Tedavi	9
2.3. Normal Kemik İliği	12
2.3.1. Kemik İliği Biyopsisi	13
2.4. Kemik İliği ve Retiküler Lif	14
3. MATERYAL VE METOD	22
3.1. Araştırmanın Tipi	22
3.2. Etik Kurul Onayı	22
3.3. Araştırmanın Örneklemi ve Hastaların Seçimi	22
3.3.1. Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri	23
3.4. İstatistiksel Analiz	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	43
ÖZET	54
ABSTRACT	55
KAYNAKLAR	56

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. KLL tanı kriterleri	5
Tablo 2. Rai ve modifiye Rai evreleme sistemi	6
Tablo 3. Binet evreleme sistemi	7
Tablo 4. KLL tedavi endikasyonları.....	9
Tablo 5. Kemik iliği biyopsisi endikasyonları	13
Tablo 6. Modifiye Bauermeister evrelemesi	17
Tablo 7. Kemik iliği fibrozunun derecelendirilmesine yönelik Avrupa konsensüsü. 17	
Tablo 8. Kemik iliği fibrozisi ile ilişkili malign etyolojiler.	19
Tablo 9. Kemik iliği fibrozisi ile ilişkili malign olmayan etyolojiler.	19
Tablo 10. Hastaların retiküler lif derecelerine göre cinsiyet, yaş ve evre dağılımları ve fark analizi sonuçları.....	25
Tablo 11. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre WBC değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları	26
Tablo 12. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre hemoglobin değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları	27
Tablo 13. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre PLT değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları	27
Tablo 14. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre B12 değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları	28
Tablo 15. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre sedimentasyon değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları	29
Tablo 16. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre CRP değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları	29
Tablo 17. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre ldh değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları	30
Tablo 18. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre yıllık ortalama enfeksiyon sıklığının dağılımı ve fark analizi sonuçları	31
Tablo 19. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre kemoterapi başlama zamanının dağılımı ve fark analizi sonuçları	31
Tablo 20. B12 seviyesinin doubling time, retiküler lif derecesi ve evre ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları	32
Tablo 21. Retiküler lif derecesi ile KT başlama zamanı arasındaki ilişki için yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları	32
Tablo 22. Evre ile KT başlama zamanı arasındaki ilişki için yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları	33

Tablo 23. B12 ile KT başlama zamanı arasındaki ilişki için yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları	33
Tablo 24. Hastaların retiküler lif gruplarına göre mutasyon ve mutasyon tipi dağılımının fark analizi sonuçları	34
Tablo 25. Doubling time parametresinin retiküler lif gruplarına göre fark analizi sonuçları	35
Tablo 26. Retiküler lif gruplarındaki mortalite oranları ve fark analizi sonuçları	35
Tablo 27. Retiküler lif derecesi gruplarının araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları	36
Tablo 28. Mutasyon olma durumunun araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları	39
Tablo 29. Mortalitenin araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kemik iliği trefin biyopsilerinde retikülin boyama dereceleri	16
Şekil 2. Retiküler lif derecesine göre grupların cinsiyet dağılımları	37
Şekil 3. Retiküler lif derecesine göre grupların mortalite dağılımları	38
Şekil 4. Hemogloblin değerinin mutasyon gruplarına göre dağılımı.....	40
Şekil 5. Doubling time'in mutasyon varlığı ile ilişkisi	40
Şekil 6. Retiküler lif derecesi gruplarına göre mortalite oranları	42



KISALTMALAR

ADA	: Adenozin deaminaz
AF	: Atriyal fibrilasyon
ALL	: Akut Lenfositik Lösemi
AML	: Akut Miyeloid Lösemi
ARC	: Adventisyel retiküler hücreler
BTK	: Bruton tirozin kinaz
CRP	: C-reaktif protein
ESR	: Eritrosit sedimentasyon hızı
FCR	: Fludarabin, Siklofosamid, Rituksimab
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FISH	: Fluorescence In Situ Hybridisation
GM-CSF	: Granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör
HSC	: Hemapoiyetik kök hücre
IGHV	: İmmünglobulin ağır zinciri
ITP	: İdiyopatik Trombositopeni
IWCLL	: Uluslararası KLL çalışma Grubu
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi
KML	: Kronik Miyeloid Lösemi
KT	: Kemoterapi
LAP	: Lenfadenopati
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LDT	: Lenfosit Doubling Time
MDS	: Miyelodisplastik Sendrom
NCI	: National Cancer Institute
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
Plt	: Platelet
PMF	: Primer myelofibrozis
PS	: Performans Statusu
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SLL	: Küçük Lenfositik Lenfoma

- TGF- β** : Transforme edici büyüme faktörü beta
VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü
ZAP-70 : Zeta zinciri ilişkili protein



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kronik lenfositik lösemi (KLL) batı ülkelerinde en sık görülen lösemi türüdür. Hastalık tipik olarak ileri yaşlarda görülür ve oldukça değişken bir klinik seyir gösterir. Lösemik dönüşümün başlangıcında, klonal B- hücrelerinin apoptozunu bozan spesifik genomik değişikliklerin rol aldığı düşünülmektedir (1).

KLL'nin etyolojisi henüz aydınlatılamamıştır. Radyasyon, viral enfeksiyonlar, kimyasal ajanlar ve otoimmün hastalıkların KLL ile olan ilişkisi kanıtlanmamıştır. Diğer lösemilerin ve diğer B hücreli neoplazmların aksine, Kronik Lenfositik Lösemi Asyalılar'da, Avrupa kökenli insanlara kıyasla oldukça nadirdir. Nedeni tam olarak belirlenemese de genetik farklılıklar ile ilişkili görünmektedir (2).

KLL seyrinin kişiden kişiye farklılık göstermesi nedeni; hastaların risk gruplarının belirlenmesi ve tedavi planlarının yapılması amacıyla prognostik belirteçlere ihtiyaç vardır. Kişiler arasında hastalık seyrini tahmin etmek için yaş, cinsiyet, Rai ve Binet sınıflama sistemleri, lenfosit katlanma zamanı, mutlak lenfosit sayısı, serum B2-mikroglobulin gibi klinik ve temel laboratuvar tetkiklerine dayalı belirteçler kullanılabilir (3).

Vücudun her bölgesinde olduğu gibi kemik iliğinin yapısında da kollajen bulunmaktadır. Kemik iliği fibrozisi, retikülin liflerinin ve bazı durumlarda kolajen liflerinin artan birikimi ile karakterizedir. Kemik iliği fibrozisinde değerlendirme öncelikle hematopatolog tarafından fibrozisin yoğunluğuna ve tipine göre manuel derecelendirme ile yapılır (4).

Retiküler lif derecesinin hematolojik maligniteli hastalarda prognoz ile ilişkisi çeşitli çalışmalara konu olmuş bir durumdur. Miyeloid ve lenfoproliferatif hastalıklar, hairy cell lösemi gibi diğer hematolojik malignitelere eşlik ettiği ve önemli bir belirteç olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (5).

Çalışmamızdaki amaç, kronik lenfositik lösemi hastalarında retiküler lif derecesinin araştırılması ve bunun klinik, laboratuvar, belirlenen prognostik faktörlerle olan ilişkisinin incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. B Lenfositlerin Gelişimi

Tüm beyaz kan hücreleri hemopoietik kök hücrelerden (HSC) kaynaklanır ve insanlarda yaşam boyunca kemik iliğinde üretilir (6). Multipotent kök hücre grubunun; lenfoid, miyeloid/megakaryosit/eritroid ayrımından sonraki lenfoid seri gelişimde ilk basamak; İnterlökin 7 reseptörüne sahip olmalarıdır. Lenfoid öncüller daha sonra T veya B lenfositlere dönüşürler. Lenfoid öncüllerin oluşmasından sonra B hücrelerin özelleşmesi için işlev gören transkripsiyon faktörleri EBF (erken B hücre faktörü), E2A ve PAX 5'dir (7).

B hücre olgunlaşması erken (antijen bağımsız) ve geç (antijen bağımlı) evrelerden oluşur. Kemik iliğinden çıktıktan sonra olgunlaşmamış B hücreleri olgun B hücresi evresine geçişi tamamlamak için dalağa göç eder. Bu ara gelişim evresindeki hücelere "geçiş B hücreleri" denir. Periferik kandaki bu hücelere, hücre yüzeyinde CD24 ve CD38 ekspresyonu ile ayırt edilebilir. Dalakta olgunlaşmanın tamamlanmasından sonra, olgun B hücreleri IgM'ye ek olarak IgD'nin yüzey ekspresyonuna sahip olur (8). Bu aşamadan sonra yüzeyinde tam bir Ig molekülü bulunan matür B hücresi oluşur ve erken-antijen bağımsız evre tamamlanmış olur. Geç (antijen bağımlı) evrede, B hücrelerinin antijenle karşılaşmaları sonucu bu hücelere lenf nodlarının germinal merkezlerinde toplanır ve genetik değişikliklerle antikor sentezleyebilen B hücreleri veya bellek hücrelerine dönüşüm gerçekleştirirler (9).

2.2. Kronik Lenfositik Lösemi

2.2.1. Tanımı ve Epidemiyolojisi

2008 Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırması, KLL'yi; periferik kanda $\geq 5 \times 10^9 /L$ CD5, CD19, dimCD20 ve CD23 eksprese eden klonal B hücresinin bulunması ile karakterize düşük dereceli lenfoproliferatif neoplazm olarak tanımlar (10).

KLL, batı dünyasındaki en yaygın yetişkin lösemisidir ve yetişkin lösemilerinin ~% 25'ini oluşturur. ABD'de yaşa göre düzeltilmiş KLL insidansı

100.000 kişi için 4,5 vaka ve tanıdaki ortanca yaş 71'dir. SEER veritabanı, 5 yıllık sağkalımın (2005-2011) % 81,7 olduğunu ortaya koymaktadır (11). Beş yıllık göreceli sağkalım 1975'te % 67,5 iken 2007'de % 87,9'a yükselmiştir (12). Ortalama tanı yaşı ileri olmasına rağmen, son yıllarda KLL genç bireylerde de daha sık teşhis edilir hale gelmiştir. 55 yaş ve altındaki bireyler hastaların yaklaşık % 15'ini oluşturmaktadır. KLL'de cinsiyet bazlı yatkınlık vardır, erkeklerin kadınlara göre daha sık etkilendiği gösterilmiştir (erkek: kadın oranı 1,5-2: 1) (13).

2.2.2. Etyolojisi

KLL etiyojisi büyük ölçüde bilinmemektedir, ancak diğer malignite biçimleriyle birlikte, bu lösemi formunun gelişiminde kalıtsal faktörlerin rolü için artan kanıtlar vardır. Örneğin KLL hastalarının akrabalarında, genel popülasyona kıyasla KLL gelişme riski ve 2-8 kat NHL riski 2 kat artış gösterir (14). 268 hasta ile yapılan bir çalışmada hastaların birinci derece akrabalarının 33 ünde (%12) lenfoproliferatif hastalık saptanmıştır ve bu kişilerden KLL gelişen hasta sayısı 15'tir (%6) (15). Çevresel faktörler, radyasyon, infeksiyon etkenleri, immün bozukluklar, toksik ilaç veya kimyasallarla ilişkiye işaret eden bazı araştırmalar olsa da net bir ilişki saptanamamıştır (16, 17).

2.2.3. Klinik ve Laboratuvar Bulguları

KLL'nin belirti ve semptomları akut lösemilerden farklı olarak yavaş gelişir. Hastaların %25 inde asemptomatik hastalık görülür ve başka bir nedenle yapılan hemogram incelemesinde lenfosit hakimiyetinde lökositoz tablosu olması ile tanı konulur (18). Bu lökositoz tablosu, periferik kanda $5 \times 10^3/\text{ml}$ den fazla, tipik immünofenotip özellikler gösteren lenfosit popülasyonunun varlığı ile ifade edilir (19).

Bazı vakalarda ise kemik iliğinde ve periferik kanda biriken malign hücre gruplarından kaynaklanan semptomlar görülür. Kemik iliği infiltrasyonunun neden olduğu progresif anemiye bağlı; yorgunluk, halsizlik ve egzersiz intoleransı gibi. Hastalar lenfoma benzeri semptomlar ile de başvurabilirler (ateş, kilo kaybı, gece terlemesi) (20). Hastaların büyük bir kısmında mutlak ve açıklanamayan lenfositoz, servikal, supraklavikular ve/veya aksillar nodlarda hafif lenfadenopati ve

splenomegali KLL'nin erken belirtileri olarak karşımıza çıkar. Hastalığın erken evrelerinde hafif anemi, trombositopeni yaygındır ve hastalığın ilerleyen dönemleri, kemik iliğinin ilerleyici infiltrasyonu progresif anemi, trombositopeni ve nötropeni ile sonuçlanır (18).

Hastaların %5'inde kutanöz invazyona bağlı; eritrodermi, ekfoliyatif dermatit ve sekonder cilt enfeksiyonları görülür (18).

KLL hastalarında immünolojik aktivitede önemli bozulmalar görülür. KLL hastalarının yaklaşık %50'sinde hipogamaglobulinemi meydana gelir. İmmüoglobulin eksikliği, artan enfeksiyon oranlarına neden olur. Bakteriyel enfeksiyonlar, herpes zoster ve herpes simpleks gibi viral enfeksiyonlar yaygındır ve hastalığın morbidite ve mortalitesinde önemli yeri vardır (18, 21).

KLL'nin ayırt edici özelliği olan immün disregülasyon, üç otoimmün hastalıkla kendini gösterir. Bunlar; otoimmün hemolitik anemi, idiyopatik trombositopeni (ITP) ve saf eritroid aplazidir. (22). Hastalığın seyri boyunca Coombs pozitif otoimmün hemolitik anemi gelişme oranı %25'dir (18). Otoimmün olaylar, enfeksiyonlar dışında kronik lenfositik lösemi hastalarında ikincil malignite görülme sıklığında da artış mevcuttur (23).

2.2.4. Tanı Kriterleri

KLL tanı ve tedavi kriterlerini gösteren National Cancer Institute (NCI) destekli uluslararası KLL çalışma grubu (IWCLL) tarafından 2008 yılında hazırlanan bir kılavuz bulunmaktadır (12).

KLL tanı ve tedavisi için NCI'in güncellediği 2008 IWCLL kriterleri şöyledir;

1-Periferik kandaki mutlak lenfosit sayısının $\geq 5000/\text{mcL}$ [$5 \times 10^9 /\text{L}$] olması ve çoğunluğun morfolojik olarak dar bir sitoplazmalı, fark edilebilir bir çekirdekçiğin olmadığı, yoğun bir çekirdeğe sahip, karakteristik olarak küçük, olgun lenfositlerden oluşması gereklidir.

2-İmmüfenotipik olarak CLL hücreleri T hücresi antijeni CD5 ve B hücresi yüzey antijenleri CD19, CD20 ve CD23'ü eksprese eder, çok düşük miktarlarda

yalnızca kappa veya yalnızca lambda hafif zincir immunglobulin varlığı gereklidir. Yüzey immünoglobulin, CD20 ve CD79b seviyeleri, normal B hücrelerinde bulunanlara kıyasla karakteristik olarak düşüktür (12).

Tablo 1. KLL tanı kriterleri (NCI-IWCLL)(12).

1-	“B” Lenfositoz: $\geq 5 \times 10^9 /L$ (en az 3 aydan beri)
2-	Lenfositlerin klonal B-lenfositler olduğunun akış sitometri ile gösterilmesi: En az 1 adet “B” hücre işareti (ör:CD19, CD20, CD23) + CD5 ve yüzey Ig hafif zincir klonalitesi (kappa veya lambda).
3-	Atipik hücre oranı (ör: prolenfosit): $< \%55$

Kandaki mutlak lenfosit sayısı $5 \times 10^9 /L$ 'den daha az bulunup lenfadenopati veya organomegali eşlik eden hastalarda KLL ile aynı patolojik ve immünfenotik özelliklere sahip olan ve özdeş bir hastalık kabul edilen Küçük Lenfositik Lenfoma (SLL) tanısı akla getirilmelidir. SLL tanısı mümkün olduğunca lenf nodu biyopsisi ve histopatolojik değerlendirme ile doğrulanmalıdır (12).

Kanda mutlak lenfosit sayısı $5 \times 10^9 /L$ 'den daha az bulunan, hastalık ilişkili belirti, lenfadenopati, organomegali ya da sitopenisi olmayan hastalar monoklonal B lenfositoz olarak tanımlanır. Monoklonal B-lenfositoz, yılda % 1 ila % 2 oranında KLL'ye ilerleyebilir (24).

2.2.5. Evreleme ve Prognostik Faktörler

KLL'de Rai ve Binet olmak üzere 2 temel evreleme sistemi bulunmuştur. Rai evreleme sistemi 1975, Binnet Evreleme sistemi 1977'de kurulmuştur (25). Bu evreleme sistemleri; sadece fizik muayene ve laboratuvar testlerine dayanan, görüntüleme yöntemleri olmaksızın uygulanabilecek pratik ve düşük maliyetli uygulamalardır. Binet Avrupa'da, Rai ise Amerika Birleşik Devletleri'nde daha yaygın olarak kullanılan evreleme sistemleridir (26).

2.2.5.1. Rai Evreleme Sistemi

Orijinal Rai sistemi 5 evreden oluşur ve bu evreleme yapılırken hastanın laboratuvar bulguları (lenfositoz olup olmaması) lenf nodu tutulumu, organ tutulumu

(hepatosplenomegali varlığı) ve kemik iliği tutulumu (anemi-trombositopeni gelişimi) değerlendirilir (27). Daha sonraki yıllarda modifiye Rai sistemi oluşturulmuş ve hastalar bulgulara göre 3 ayrı prognostik gruba ayrılmışlardır. Düşük risk; Rai Evre 0, orta risk; Rai Evre I ve II, yüksek risk ise Rai Evre III ve IV hastalardan oluşmaktadır (26).

Hastada sadece lenfositöz olması Rai Evre 0, lenfositöz ve beraberinde palpe edilebilen veya edilemeyen lenfadenopati(LAP) olması Rai Evre 1, lenfositözla beraber splenomegali veya hepatomegali olması Rai Evre 2, hastalıkla ilişkili anemi (hb<11 g/dl) olması Rai Evre 3, hastalıkla ilişkili trombositopeni (<100000/mm³) olması da Rai Evre 4 olarak sınıflandırılır.

Tablo 2. Rai ve modifiye Rai evreleme sistemi(27).

Modifiye Rai	Rai	Klinik Özellikler
Düşük Risk	0	Lenfositöz (>5000 lenfosit/ μ L) ya da kemik iliğinde>%30 lenfoid hücre
Orta Risk	1	Lenfositöz+ lenfadenomegali
	2	Lenfositöz + splenomegali veya hepatomegali, +/- LAP
Yüksek Risk	3	Lenfositöz + anemi (Hb < 11 g/dL)
	4	Lenfositöz +trombositopeni (< 100 x 10 ⁹ /L) +/- anemi

2.2.5.2. Binet Evreleme Sistemi

Binet evreleme sistemi; >1 cm LAP bulunduran alanların sayısına, hepatosplenomegali ve anemi veya trombositopeni olup olmadığına dayanır. Evrelemede dikkate alınan alanlar; baş-boyun (waldayer halkası dâhil), axilla, yüzeysel femoral lenf nodları ve fizik muayene ile palpe edilebilen dalak ve karaciğer büyüklüğüdür (1, 28).

Binet evreleme sisteminde; Evre A; hemoglobulinin 10 g / dL den fazla, trombositin $\geq 100 \times 10^9 / L$ den fazla ve maksimum 2 lenf nodu bölgesinde tutulum olması olarak tanımlanır. Evre B; Hemoglobulinin 10 g / dL den fazla, trombositin $\geq 100 \times 10^9 / L$ den fazla olması yanında organomegali veya üç ve üçten fazla sayıda tutulum gösteren lenf nodu bölgesi varlığı ile tanımlanır. Evre C ise Hemoglobulinin

10 g / dL nin altında ve / veya trombosit sayısının $100 \times 10^9 / L$ 'nin altında olması ile tanımlanır (28, 29).

Tablo 3. Binet evreleme sistemi (28).

Evre	Kan Sayımları	Tutulan lenf bezi bölgesi
A	Hb > 10g/dL, Plt > 100 x 10 ⁹ /L	< 3
B	Hb > 10g/dL, Plt > 100 x 10 ⁹ /L	≥3
C	Hb < 10g/dL veya Plt < 100 x 10 ⁹ /L	Önemsiz

2.2.5.3. Prognostik Faktörler ve Kromozomal Bozukluklar

KLL hastalarında prognostik bilgiler sağlamak ve hasta takibi için oluşturulan Binet ve Rai evreleme sistemleri dışında evreden bağımsız prognostik faktörler de oluşturulmuştur. Bunun nedeni aynı evre olgularda prognoz ve sağkalım farklılıkları olması, bazı erken evre hastaların hızlı ilerleme göstermesidir. Bu prognostik parametreler; performans statusu (PS), lenfosit sayısı, kemik iliği infiltrasyon tipi, perifer kandaki atipik lenfosit oranı ve lökosit sayısının iki katına çıkma zamanı (LDT), immünglobulin ağır zincirinin (IGHV) değişken geninde mutasyon durumu, KLL hücrelerinde sitoplazmik ZAP-70 ve CD38 ekspresyonları, serum β2-mikroglobulin düzeyi, çözünebilir CD23 düzeyi, Fluorescence In Situ Hybridisation (FISH) ile belirlenebilen 13q, 17p ya da 11q delesyonlarının varlığı, P53 mutasyonu olması, laktat dehidrogenaz (LDH), beta-2 mikroglobulin, serum timidin kinaz aktivitesidir (30-32).

KLL'li hastalarda; kötü performans durumu, ileri yaş ve erkek cinsiyet ile kötü prognoz arasında ilişki saptanmıştır (33).

Mutlak lenfosit sayısının iki katına çıktığı ay sayısının belirlenmesiyle hesaplanan değer, LDT (lenfosit doubling time)'dir (34). Yapılan çalışmalar LDT'in hastalık seyri ve progresyonunu tahmin etmede yararlı olduğunu göstermektedir (35). LDT'nin 12 ay ve 12 aydan daha az olması, hastaların prognozunun kötü olabileceğini anlatırken, LDT'nin 12 aydan daha uzun olması, iyi prognoz göstergesidir (36).

Serum β -2 mikroglobulin, tümör yükü ve hastalık evresi ile ilişkili bir belirteçtir. (37, 38). Serum beta-2 mikroglobulin düzeyinin yüksek olması hastaliksız sağ kalımın daha kısa olması ile ilişkilendirilmiştir (39).

Klinik evreleme sistemlerine ek olarak kullanılan diğer bir prognostik faktör de kemik iliği infiltrasyon derecesidir. Kemik iliği biyopsisi yararlı bir prognostik belirteçdir (40). KLL olgularında kemik iliği biyopsisi sonucunda dört farklı histolojik patern gözlenir; interstisyel, nodüler, karışık ve diffüz. Difüz tip kötü prognoz ile ilişkili iken nodüler tutulum veya interstisyel tutulum daha uzun surveye ile ilişkilendirilebilir (41, 42).

Dna sentezinde anahtar bir role sahip olan timidin kinaz, pirimidin metabolik yol enzimidir (43). KLL hastalarında serum timidin kinaz aktivitesi, KLL hücrelerinin proliferatif aktivitesi ile orantılıdır (44). Artmış serum timidin kinaz seviyeleri KLL hastalarında kötü progresyonla ilişkilidir (45).

KLL seyriindeki heterojenitenin nedenlerinden biri de genetik lezyonlar ve immünoglobulin ağır zincir değişken genlerinin (IGHV) mutasyon durumudur (46). IGHV mutasyon durumu, farklı biyolojik ve klinik özelliklere sahip 2 farklı KLL alt kümesi oluşturur (47, 48). KLL hastalarından, mutasyona uğramamış IGHV'ye sahip olanların seyri, hızlı progresyon ve artmış mortalite ile birlikteyken, mutasyona uğramış IGHV'ye sahip hastalar daha yavaş progresyon ve uzun sağkalım ile ilişkilendirilmişlerdir (49, 50). Aynı zamanda IGHV mutasyonu geçirmemiş KLL hastaları kök hücre transplantasyonu sonrası nüks açısından daha risklidir (51).

Zeta zinciri ile ilişkili protein 70 (ZAP-70) NK ve T hücreleri tarafından eksprese edilen T hücre sinyalizasyonunda görevli bir tirozin kinazdır. Normalde B lenfositlerinde eksprese edilmeyen, ancak KLL hastalarının bir alt grubunda bulunan ZAP-70 kısa sağkalım ile ilişkilidir (52). ZAP-70 proteinin artan seviyeleri kötü prognoz ile ilişkilidir (34, 53, 54). CD38 varlığı, bağımsız bir kötü prognoz göstergesi olarak değerlendirilmektedir (55, 56).

KLL'li hastalarda başlıca görülen genetik mutasyonlar 13q, 11q ve 17p 11 delesyonları ve trizomi 12'dir (19, 57). Bunlar arasında 13q14 delesyonu KLL'de en sık görülen genetik anormalliktir (58). 13q14 delesyonu tek başına iyi prognoz ile ilişkilidir (59). Delesyon 11q, KLL hastalarının ~% 18'inde tanımlanır ve tedaviye

zayıf yanıt ile daha kısa progresyonsuz sağkalım gibi çeşitli olumsuz prognostik faktörlerle ilişkilidir (58, 60). KLL hastalarının yaklaşık % 15'ini oluşturan Trizomi 12'li hastalar normal FISH paneline sahip olanlardan daha kısa sağkalım gösterir (57). 17p delesyonu olan KLL hastalarında (hastalarının yaklaşık % 7'si) daha agresif bir klinik seyir vardır ve bu büyük olasılıkla TP53 kaybı nedeniyledir (58).

2.2.6. Tedavi

KLL tedavi yaklaşımı; asemptomatik, erken evrelerde (Rai 0, Binet A) tanı alan hastalar, progresyon kanıtı yoksa kanıt yoksa tedavisiz izlem ve düzenli aralıklarla kontrolden yanadır (12). KLL'nin erken evrelerinde olan ve asemptomatik hastalarda tedavinin sağkalımı uzatmadığı gösterilmiştir (61). Öyle ki erken evre hastalığı olupta tedavi alan hastalar, tedavi almayan hastalarla karşılaştırıldığında ölümcül epitel kanseri sıklığında artış görülmüştür (62).

Tablo 4. KLL tedavi endikasyonları (NCI-IWCLL, 2008)(12).

– Anemi ve / veya trombositopeni gelişmesi veya derinleşmesi ile karakterize kemik iliği yetersizliği	
– Masif (kosta altında en az 6 cm) veya progresif veya semptomatik splenomegali	
– Uzun çapı en az 10 cm olan masif veya progresif veya semptomatik lenfadenopati	
– 2 ay süresince % 50'den fazla artış gösteren lenfositoz veya LDT'nin <6 ay olması	
– Kortikosteroidlere veya diğer standart tedavilere yanıtız otoimmün anemi ve / veya trombositopeni	
– Yanda tanımlanan hastalık semptomlarından en az birinin varlığı	Son altı ay içerisinde %10 ve daha fazla kilo kaybı
	Ciddi, günlük aktiviteyi engelleyecek halsizlik
	Enfeksiyon ile ilişkisi tespit edilemeyen iki haftadan uzun süren ateş
	Enfeksiyon ile ilişkisi tespit edilemeyen 1 aydan uzun süren gece terlemesi

KLL'de Tedavi Seçenekleri

KLL hastalarında tedavi için, gün geçtikçe bireyselleşen, tek ajan ya da kombinasyon halinde uygulanan ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onaylı seçenekler mevcuttur (63). Bunlar sırasıyla:

Alkilleyici Ajanlar

Bendamustin, tekli kullanımda etkinliği gösterilmiş, ancak rituksimab (bendamustin ve rituksimab [BR]) veya obinutuzumab (bendamustin ve obinutuzumab) ile birlikte kullanıldığında daha etkiliği olduğu bilinen bir ajandır (63, 64).

Klorambusil, tek ajan olarak ya da anti-CD20 antikoları (rituksimab, obinutuzumab veya ofatumumab) ve prednizon ile kombinasyon halinde kullanılabilen alkilleyici bir ajandır.

Pürin analogları ve / veya anti - CD20 antikoları (örn: fludarabin, siklofosfamid ve rituksimab [FCR]) ile kombinasyon halinde kullanılabilen siklofosfamid de KLL tedavisinde kullanımı olan diğer bir alkilleyici ajandır (63).

Pürin Analogları

Fludarabin, DNA polimeraz ve ribonükleotit redüktazı inhibe ederek etkisini gösteren, siklofosfamid ve rituksimab (FCR) ile veya tek başına rituksimab ya da siklofosfamid ile kullanılabilen bir ajandır (63).

KLL tedavisinde adenosin deaminazın (ADA) spesifik bir inhibitörü olan pentostatin, siklofosfamid ve rituksimab ile kombinasyon halinde kullanılır (63, 65).

Anti - CD20 Monoklonal Antikolar

Monoklonal antikolar, CD20 hücre yüzey antijeni eksprese eden B lenfositlere bağlanır. Bu bağlanmadan sonra monoklonal antikolar, kompleman bağımlı sitotoksisiteyi ve antikor bağımlı toksisiteyi aktifleştirerek etki gösterirler. KLL tedavisinde; obinutuzumab, ofatumumab ve rituksimab olmak üzere üç monoklonal antikor kullanılmaktadır (63, 66).

Yeni moleküler hedefli ajanlar

KLL'ye karşı çok çeşitli etki mekanizmalarına sahip çok sayıda yeni ajan geliştirilmektedir. Bunlardan öne çıkanlar: Bruton tirozin kinaz inhibitörü olan İbrutinib, Fosfatidilinositol - 3 - kinaz inhibitörleri Idelalisib, Duvelisib, BCL - 2 proteinini doğrudan inhibe eden Venetoklaks'tır (63, 67, 68).

KLL'nin biyolojik mekanizmalarının gün geçtikçe anlaşılması, etkili hedefe yönelik tedavilerinin geliştirilebilmesinin önünü açmıştır(69).

İbrutinib, KLL ile ilişkili hücre sinyalizasyonunu, adezyonunu ve proliferasyonunu engelleyen irreversible bir bruton tirozin kinaz (BTK) inhibitörüdür (70-72). İbrutinib FDA onayı ile birlikte 2016 yılından beri KLL birinci basamak tedavisinde kullanılmaktadır ve refrakter veya erken relaps gösteren KLL hastalarının çoğu için ilk tedavi seçeneklerimizdendir (73). ABD ve Kanada'da yapılan bir çalışmada; tedavi edilmemiş KLL'li yaşlı hastalarda ibrutinib tedavisi, bendamustin artı rituksimab tedavisine kıyasla progresyonsuz sağkalım açısından daha üstün bulunmuş, ibrutinib ve ibrutinib artı rituksimab arasında progresyonsuz sağkalım açısından anlamlı bir farklılık ortaya çıkmamıştır (74).

KLL hastalarında ibrutinib kullanımında başlıca kısıtlayıcı etkenler; tedavi sırasında gelişebilen atriyal fibrilasyon (AF), enfeksiyonlar, pnömonit, kanama ve artraljidir (75). İbrutinib tedavisi alan hastaların yaklaşık yarısında düşük dereceli ekimozlar ve peteşiler meydana gelebilmektedir (76). Klinik çalışmalarda %1-9 arasında değişen majör kanama oranları bildirilmiştir (77, 78). Bir diğer yan etki olarak, yapılan çalışmalarda ibrutinib tedavisinin kardiyak olarak atriyal fibrilasyon gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (73, 79, 80). İbrutinib için yapılan çalışmalarda enfeksiyonlar özellikle pnömoni ön planda izlenen yan etkiler arasındadır (81). İbrutinib kullanımında ishal, artralji ve cilt toksisitesi de olabilir ve hastalarda zaman içerisinde hipertansiyon gelişimi gözlenebilir (82, 83).

Bcl-2, KLL dâhil olmak üzere belli başlı B hücre kanserlerinde aşırı ekspresyonu olan bir antiapoptotik proteindir (84). Venetoklaks, Bcl-2 aracılığıyla antiapoptotik sinyalleri bozan ve böylece KLL hücrelerinin programlanmış hücre ölümünü artıran oral yoldan uygulanan bir Bcl-2 inhibitörüdür (85). Venetoklaks yanında bir Anti-CD20 monoklonal antikoru ile birlikte (rituksimab veya obinituzumab) ya da tek başına, ibrutinib sonrası relaps gelişen KLL hastalarında tercih edilmektedir. Venetoklaks-rituksimab kombinasyonu olumlu sonuçlar doğurmuştur. Bu protokol relaps veya refrakter KLL tedavisinde, fludarabin refrakterliği ve 17 p delesyonu gibi olumsuz prognostik belirteçler varlığında dahi uygun bir alternatif olarak gözükmektedir (86).

2.3. Normal Kemik İliği

Çevresel etkenlerden etkilenme potansiyeli yüksek olan kan ve kemik iliği vücuttaki en büyük organlardandır (87). Kemik iliği, aksiyel ve uzun kemiklerin kavitel boşluklarında yer alır. Normal bir kemik iliğini hematopoietik doku adaları ve trabeküler kemik ağının içine serpiştirilmiş yağ hücreleri oluşturur (88). İnsan vücut ağırlığının yaklaşık %5'i oranındadır (89). Ana hematopoietik organ olan kemik iliği; eritrosit, granülosit, monosit, lenfosit ve trombositlerin primer üretimini gerçekleştirir (89, 90).

Kemik iliği dolaşımında; besleyici arterler, kemiğin diafizini delerek foramen nutrisyumlardan girerler. Kemik iliği kavitesine girince birçok küçük dallara ayrılırlar ve merkeze yönelen dallar, getirdikleri kanı kemik iliğindeki geniş sinüzoidlere dökerler. Bu venöz sinüsler sonrasında kemik iliğindeki santral longitudinal vane, o da besleyici venlere drene olur. Kemik iliğinin yapısında, kemik iliği boşluğunun merkezinden çevresine ve daha sonra tekrar merkeze doğru dairesel bir yapı bulunur (88). Kemik iliğinde lenfatik drenaj bulunmamaktadır (91).

Kemik iliği innervasyonunu sağlayan yapı, besin kanallarından geçen miyelinli ve miyelinsiz sinirlerden oluşmaktadır. Bu nöron demetleri, arter-arteriyolleri takip eder ve hematopoietik dokuda sonlanırlar (88).

Adventisiyal hücreler, bariyer hücreleri, adipositler, makrofajlar, kan hücreleri ve öncüleri gibi çeşitli hücre tipleri hematopoietik dokuyu oluşturur (88). Hematopoietik hücreler, doku içerisinde belirli bir organizasyon içinde mevcudiyet gösterirler (92). Hematopoietik progenitör hücrelerin gelişmesi ve farklılaşması için hem hücreSEL hem de çözünür büyüme faktörü desteği gerekir. HücreSEL elemanlar, çevredeki kemik, kemik iliği stroma ve hematopoietik mikroçevre tarafından sağlanır. Adventisiyal retiküler hücreler (örn: Bariyer hücreler), endotelial hücreler, makrofajlar, adipositler, kemiğin primer hücreleri (örn; Osteoblastlar) ve hücre dışı matrisin elemanları hematopoietik mikroçevreyi oluşturur (88, 93, 94).

Aktif kemik iliği ergenlik döneminde aksiyel kemiklerin boşluklarında bulunur (sternum, kostalar, vertebralar, klavikulalar, skapulalar, pelvis ve femur-humerus proximal uçları) (95, 96).

Kemik iliği sellülaritesi doğumdan sonra yüzde 100'e yakınken yaş ilerledikçe azalır. Bundan dolayıdır ki erişkinlikte kemik iliği selülaritesi yüzde 50'ye düşer, geri kalan kısım yağ dokudan ibarettir. Buna paralel olarak hematopoietik aktivitede de yaşa bağlı bir azalma mevcuttur.

2.3.1. Kemik İliği Biyopsisi

Hematopoietik sistemin değerlendirilmesinde çok yönlü bir yaklaşım mevcuttur. (tam kan sayımı, periferik yayma-parmak ucu yayma ile değerlendirme, kemik iliği örneği alınması ve histopatolojik değerlendirme yapılması). Kemik iliği histopatolojisi; kemik iliği mimarisi, hücreliliği, myeloid ve eritrositer serinin değerlendirilmesi, neoplaziler, inflamatuvar ve enfektif süreçler hakkında subjektif bir değerlendirme sunar (88).

Kemik iliği biyopsisi, kemik iliği (aspirat), kemik çekirdeği (biyopsi) veya her ikisinden de örnek almak için kemik iliği alanına erişim gerektiren invaziv bir işlemdir. Bu işlem; lösemi, lenfoma, miyelom, miyelodisplastik sendromlar ve miyeloproliferatif bozukluklar ve amiloidoz gibi hematolojik hastalıkların tanı, evrelendirme ve takibi yanı sıra açıklanamayan ateş veya yaygın enfeksiyon gibi hematolojik olmayan endikasyonlar için de uygulanabilir (97). Başlıca kemik iliği biyopsi endikasyonları tablo 5'de gösterilmiştir (98).

Tablo 5. Kemik iliği biyopsisi endikasyonları

Kemik İliği Endikasyonları(98).
Hodgkin-Non hodgkin lenfoma şüphesi
Hodgkin-Non hodgkin lenfoma evrelemesi
Hairy cell lösemi tanı-takibi
Aplastik anemi tanı-takibi
MDS tanı-takibi
KML tanı-takibi
KLL tanı-takibi
Kemik iliği infiltrasyonu şüphesi
Myeloproliferatif hastalık şüphesi
Multipl Myeloma şüphesi
Akut Lösemi şüphesi-takibi
Primer Amiloidoz şüphesi
Nedeni bilinmeyen ateş etyolojisi

Kemik iliği biyopsisini uygulayacak kişi; anatomi, fizyoloji konusunda yetkin ve enfeksiyon, kanama, sinir-doku hasarı gibi potansiyel olumsuz olayları tam olarak anlayan eğitimli bir sağlık hizmeti sağlayıcısı olmalıdır (97). Kemik iliği biyopsisi yapılırken tercih edilen bölge posterior iliak kresttir ve hasta yüzüstü ya da yan yatar pozisyonda olur. Anterior iliak krest veya sternum gibi başka bölgelerden de kemik iliği biyopsisi yapılabilir de bu bölgelerden yapılan kemik iliği biyopsilerinde artmış travma riski mevcuttur.

Kemik iliği biyopsisini yapan hekim, lokal anestezi sağlandıktan sonra, girişi kolaylaştırmak ve bölgenin organize iyileşmesine yardımcı olmak için aspirasyon iğnesinin yerleştirildiği yerde küçük (3 mm) bir deri insizyonu açar bu bölgeden, kemik iliği iğnesi ile dik ve hassas bir şekilde periosteum ve kortekse ulaşılır. İğne kemik iliği boşluğuna girdiğinde, uygulayıcı stileyi kemik iliği biyopsi iğnesinin içi boş merkezinden çıkarır ve uygun bir enjektör ile aspirat çekilir. Sonraki uygulamada ise uygulayıcı, iğneyi biraz daha ilerletmeli ve 1,5 ila 2 cm'lik bir biyopsi materyali elde etmek için içi boş biyopsi iğnesini her iki yönde 360 derece döndürmelidir. Bu adımı takiben, iğne çıkarılmadan önce çok kısa bir mesafe ilerletilmelidir. Bu adım, numunenin biyopsi alanındaki iğneden çekilmesini önler (95, 97, 99). Daha sonrasında aspirat ve biyopsi materyali sırayla ve uygun prosedürlere uyularak hazırlanır ve uzman hematolog ve patoloğlar tarafından değerlendirilip yorumlanır.

2.4. Kemik İliği ve Retiküler Lif

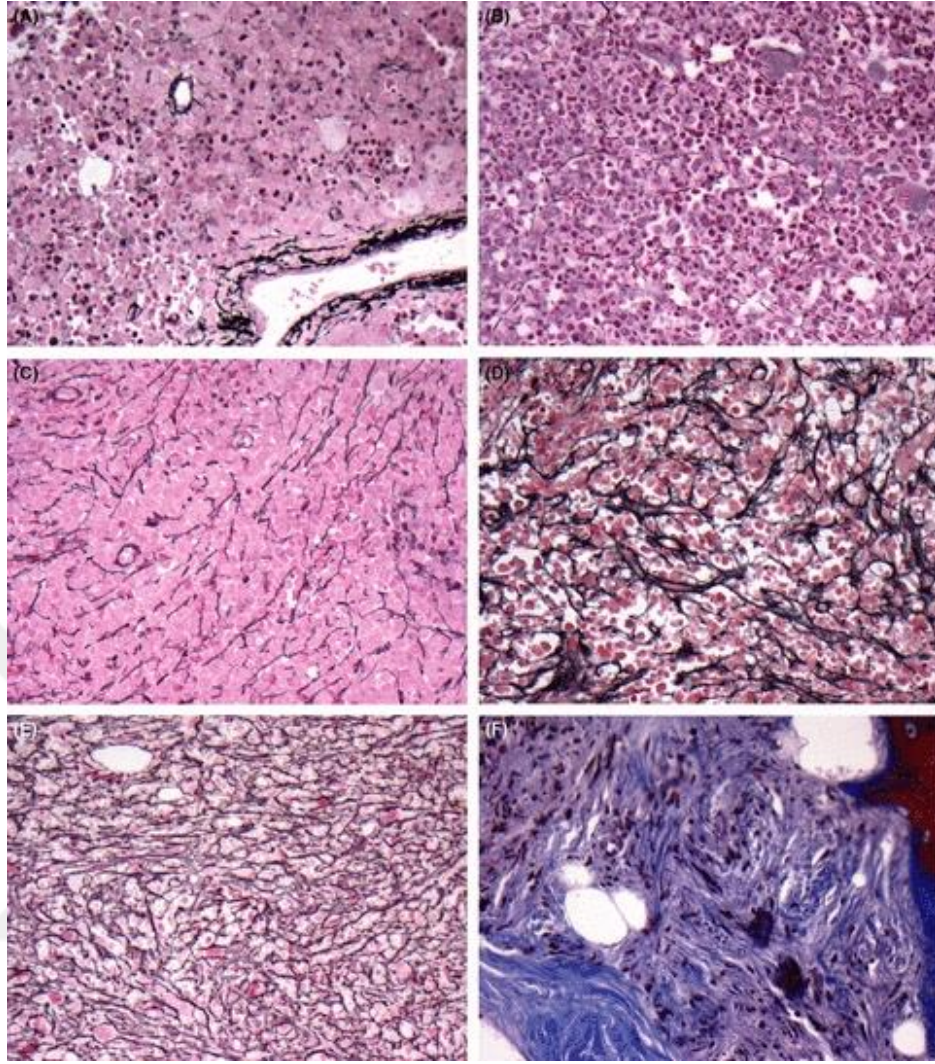
Kemik iliği mikroçevresini çeşitli hücreler, yapısal fibriller ve hücre dışı matrix oluşturmaktadır. Hücresel bileşenler ise makrofajları, fibroblastik hücreleri, adipositleri ve endotel hücrelerini içerir (100, 101). Kollajen, retikulin, laminin ve fibronektin kemik iliğindeki en yaygın yapısal fibrillerdir (102). İnsan vücudundaki kollojenlerin %80-90'ını tip 1, tip 2 ve tip 3 kollojen oluşturmakta olup, kemik iliği temel olarak tip 1 ve tip 3 kollojenden oluşmaktadır (103). Retikülin terimi ilk kez 1892 yılında Siegfried tarafından kullanılmıştır (104). Retikülin; glikoprotein ve glikozaminoglikan matrisine gömülü fibrillerden veya tip 1 kollojen fibrillerinin çekirdeğini saran küçük tip 3 kollojen dallarından meydana gelir (105). Retiküler

lifler genellikle gümüş boyama yöntemiyle siyahla boyanmış ince fibrillerin hassas bir ağ yapısı şeklinde izlenir (106). Tip 1 kollojen %1 oranında karbonhidrat içermesine rağmen retikülünde bu oran yaklaşık %10'lardadır (107).

Kollojen ve/veya retikülin üretiminde adventisyel retiküler hücreler (ARC'ler), perisinusoidal adventisyel hücreler, adipositler ve endosteal hücreleri içeren fibroblastik kemik iliği hücreleri rol alır (100, 102).

Kemik iliği biyopsi materyallerinin rutin hematoksil-eozin boyaması ile değerlendirilmesi kemik iliği bağ dokusu yapısı hakkında net fikirler vermez ve özel boyamalara ihtiyaç duyulur. Mallory trikrom boyama, van Gieson boyama veya Masson trikrom boyama gibi histolojik değerlendirmeler ile kollajenler tanımlanabilir (96, 108). Retikülin ve kollojeni değerlendiren boyamaların yapılması, kemik iliği stromal liflerinin yapısı ve düzeni hakkında net bilgiler sunabilir. Kemik iliği biyopsilerinde stromal yapısal lifleri tespit edebilmek için; tanı laboratuvarlarında retikülin ve trikrom boyama gibi yöntemler kullanılır (109). Kemik iliği biyopsisi incelemesinde, retikülin lifler için Gomori boyası gibi gümüş empenye tekniği de kullanılabilir (96, 110, 111). Retikülin boyama, retikülin içeriğindeki yüksek heksoz şekeri içeriğini temel alır (112).

Kesitler tipik olarak eozine karşı kırmızı boyanır ve tanımlanan retikülin lifler kırmızı doku arkasında siyah olarak belirir (Şekil 1)



Şekil 1. Kemik iliği trefin biyopsilerinde retikülin boyama dereceleri (modifiye Bauermeister ölçeği)

- (A) Derece 0. Küçük damar duvarlarının boyanması, boyamanın başarılı olduğunu gösterir. Çevredeki kemik iliği boyanmamıştır.
- (B) Derece 1. Kısa, ince retikülin lifleri kemik iliğinde gösteren boyama
- (C) Derece 2. Çok sayıda lif kesişimine sahip ince retikülin lif ağını gösteren boyama.
- (D) Derece 3. Kalın ve yeniden çoğaltılmış lifleri içeren bir retikülin lif ağı mevcuttur.
- (E) Derece 4. Kemik iliği boyunca yoğun bir retikülin lif ağı vardır.
- (F) Kollajen fibrozunu gösteren trikrom boyama örneği

İdeal olan, hem bir trikrom kolajen boyaması, hem de bir retikülin boyamasının yapılması ve fibrozisin tipi ve miktarının açıkça tanımlanıp bir derecelendirme skalası kullanılarak gösterilmesidir. Bu amaçla ufak farklılıklar içeren 2 farklı ölçek oluşturulmuştur. Orijinal Bauermeister şeması altı farklı

dereceden oluşurken, zamanla beş dereceli bir sisteme dönüşmüştür. (Tablo 6, Şekil 1) (96, 109, 113). Daha yeni olan Thiele ölçeğinde ise dört derece mevcuttur. (Tablo 7) (114).

Tablo 6. Modifiye Bauermeister evrelemesi (109).

0	Retiküler lif artışı yok
1	Aralıklı ince lifler ve ince lif ağı odakları
2	Kesitlerin büyük kısmında ince fiber ağı; kaba lif yok
3	Dağınık ve yaygın kalın kaba liflere sahip ancak kollajen bulundurmeyen lif ağı
4	Yaygın kaba lif ağları ve kollajen alanları bulunur

Tablo 7. Kemik iliği fibrozunun derecelendirilmesine yönelik Avrupa konsensüsü (114).

0	Normal kemik iliği
1	Özellikle perivasküler alanlarda bulunan gevşek retikülin ağları
2	Yaygın ve yoğun artmış retikülin nadiren osteoskleroz ve kollajen birlikteliği
3	Kalın kollajen demetleri ile birlikte yaygın ve yoğun artmış retikülin ve yaygın ilişkili osteoskleroz

Kemik iliği stromal liflerindeki artış ile eşlik ettiği hastalıkların patogenezi arasındaki ilişki net olarak açıklanamamıştır.

Birçok benign ve malign hastalık ile kemik iliği stromal liflerindeki artış arasında ilişki bulunmaktadır. Artan bu lifler çoğunlukla retikülin liflerinden ve görece az kollajen liflerinden oluşurlar (96). Stromal liflerdeki bir artışın altında yatan etiyoloji ve klinik önemi henüz tam olarak anlaşılammıştır, ancak kanıtlar artan retikülinin (retikülin fibrozu) klinik etkilerinin artmış kollajen (kollajen fibrozu) klinik etkilerinden oldukça farklı olabileceğini düşündürmektedir (103). Kemik iliği retikülin derecesinin kan tablosu veya hastalığın şiddeti ile korelasyonunun düşük olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (115-117).

Kemik iliği kollojen lif derecesi ile altta yatan hastalığın şiddeti arasında daha güçlü bir ilişki vardır (114, 118).

Daha önceleri, kemik iliği stromal liflerindeki artış ile kimi hastalıklarda görülen hematopoetik anormallikler arasında ilişki bulunduğu düşünülüyordu, ancak

son zamanlarda bu artışların bir nedenden ziyade altta yatan hücrel anormalliklere bağlı bir sonuç olduğu düşünülmektedir (103). Artan kemik iliği stromal lifleri ile birlikte olan çoğu hastalık megakaryositlerin ve trombositlerin sayı ve fonksiyon bozukluğu ile ilişkilidir. Megakaryosit ve trombosit kaynaklı sitokinler, fibrozisin meydana gelmesinde rol oynarlar (103). Fibroblast gelişiminde önemli indükleyicilerden olan trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) , kemik iliği fibrozunun potansiyel nedenlerinde biri olarak düşünülür (119, 120). Farklı çalışmalarda PDGF'nin fibroblast büyümesini uyarsa bile retikülin veya kollajen üretimi üzerinde kısıtlı etkisi olduğu belirtilmiştir (121, 122). Günümüzde transforme edici büyüme faktörü betanın (TGF- β), megakaryositler ve trombositler üzerine etki ederek, retiküler lif derecesini arttırdığı düşünülmektedir (123-127). Megakaryositlerde ve trombositlerde bulunan TGF- β , latent aktiviteye sahip bir proteindir ve asidik ortamlarda veya proteazlar tarafından aktive edilir ve aktive olması durumunda fibroblast kollajen sentezinin potent uyarıcısı konumundadır (122, 128). Kronik idiyopatik myelofibrozisli hastaların trombosit, megakaryosit ve monositlerinde artmış TGF- β vardır (124, 129). Yapılan bir çalışmada, kemik iliği fibrozisi olan hairy cell lösemili hastaların kemik iliği aspirasyonu ile periferik kan ve serumlarında artmış latent ve aktif TGF- β bulunmuştur (127). Polisitemia vera hastalarının büyük kısmında ve esansiyel trombositopeni ile kronik idiyopatik myelofibrozis hastalarının yarısına yakınında JAK2V617F mutasyonu bulunur (130). JAK2, hücre içinde yer alan, çeşitli hormon ve sitokinlerle ilişkide bulunarak hücre içi ve dışı etkilerini meydana getiren bir tirozin kinazdır (131). Myeloid, eritroid ve megakaryositik serilerin gelişiminde önemli rolü olan JAK2, lenfoid gelişimde ise etkili değildir (132). Farelerde retroviral transdüksiyon ve transplantasyon yöntemiyle JAK2 mutasyon ekspresyonu sağlandığında, hayvalarda hemoglobin artışı, splenomegali osteoskleroz ve kemik iliği retikülin/kollojen fibrozisi geliştiği ancak trombositoz gelişmediği görülmüş (133-135).

Kemik iliği fibrozisi ile ilişkili durumları Tablo 8 ve Tablo 9'da görüldüğü üzere malign ve malign olmayan etyolojiler olarak sınıflandırabiliriz (4, 136).

Tablo 8. Kemik iliği fibrozisi ile ilişkili malign etyolojiler (136).

PMF
Diğer kronik miyeloproliferatif hastalıklar (örn. PV, KML, ET)
Akut megakaryoblastik lösemi (akut miyelofibrozis)
MDS AML ALL
Tüylü hücreli lösemi
Hodgkin lenfoma
Multipl myelom
Sistemik mastositoz
Metastatik karsinom (örneğin meme, prostat, mide)

Tablo 9. Kemik iliği fibrozisi ile ilişkili malign olmayan etyolojiler (136).

Enfeksiyonlar (örneğin tüberküloz, viseral leishmaniasis)
Renal osteodistrofi
Vitamin D eksikliği
Hipotiroidi Hipertiroidi
Gri trombosit sendromu
Sistemik lupus eritematozus (SLE)
Skleroderma
Radyasyon maruziyeti
Benzen maruziyeti
Gaucher hastalığı
Osteopetrozis

Kemik iliğinde meydana gelen fibrozis ile ilişkili olduğu miyeloproliferatif neoplazmlar ve hematolojik malignitelerin prognozu arasında ilişkiye bakacak olursak; kemik iliği fibrozisi primer myelofibrozis ve diğer hematolojik neoplazmalar için belirlenen risk sınıflandırma şemalarında yoktur (4).

Kemik iliği fibrozisi derecesi ile myelofibrozis prognozu arasında korelasyon olduğunu düşündürecek çalışmalar mevcuttur (137). Birçok çalışmada, ileri derecedeki kemik iliği fibrozisi kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (138, 139). 131

myelofibrozis hastasını içeren retrospektif bir çalışmada kemik iliği fibrozis derecesi >1 olanların ortalama 51 ay ile kemik iliği fibrozis derecesi 1 veya daha küçük olanlara göre (medyan 147 ay) daha kısa genel sağkalım gösterdiği belirlenmiştir (138). Yine 196 myelofibrozis hastasını içeren başka bir çalışmada yüksek derecelerdeki kemik iliği fibrozis derecesinin kötü sağkalım ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (139). Bu çalışmalara karşıt olarak farklı kemik iliği fibrozis dereceleri olan miyelofibrozis hastalarında benzer genel sağkalım oranları gösteren çalışmalar da mevcuttur (140).

Esansiyel trombositozlu hastaların yaklaşık %20'sinde çeşitli derecelerde artmış kemik iliği retikülin fibrozisi görülmüştür (141, 142). Esansiyel trombositoz hastalarında kemik iliği fibrozisi myelofibrozis ve akut lösemi dönüşüm riskinde artış ile ilişkilendirilmesine rağmen, kemik iliği fibrozisi ve bunun derecesi kötü genel sağkalım ile ilişkili bulunmamıştır (143).

Kronik myeloid lösemi hastalarında da artmış oranlarda kemik iliği fibrozisi izlenmekte olup, tedavi alan hastalarda kemik iliği fibrozis derecesinin kötü prognostik faktör olduğu gösterilmemiştir (144, 145). Ama imatinib tedavisi alan kronik myeloid lösemi hastalarında tam sitogenetik yanıt veya majör moleküler yanıt oranının düşük olması ile artmış kemik iliği retiküler fibrozisi ilişkilendirilmiştir (4).

Miyelodisplastik sendrom (MDS) hastalarında %10-20 oranında belirgin kemik iliği fibrozisi olduğu gösterilmiştir (4). MDS hastalarında artmış kemik iliği fibrozisi sitopenilerde derinleşme ve artan transfüzyon ile sonuçlanabilmektedir (146, 147). 301 MDS hastasıyla yapılan bir çalışmada; derece 2-3 kemik iliği fibrozisi olan hastalar, derece 0-1 kemik iliği fibrozisi olan hastalara göre daha düşük genel sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir (148).

KLL hastalarında kemik iliği retikülin fibrozisinin, modern prognostik faktörlerden bağımsız olarak önemi olup olmadığı net değildir. İsrail çalışma grubu tarafından yapılan bir çalışmada KLL hastalarında tanı sırasında kemik iliği retiküler fibrozisi ve bunun prognostik önemi araştırılmış. 9 merkezden 195 hasta ile yapılan bu çalışmada, derece 2-3 kemik iliği fibrozisi olan hastalar da derece 0-1 kemik iliği fibrozisi olanlara kıyasla 5 yıllık sağkalım oranı daha düşük çıkmıştır. Kemik iliği retiküler fibrozis derecesi 0-1 olanlarda bu oran %86,9 iken fibrozis derecesi 2-3

olanlarda %51,9 bulunmuştur. Bu da kemik iliği retiküler fibrozis derecesi ile kötü sağkalım arasında kaydadeğer bir korelasyon olduğunu dűşündürműştür (5). İstanbul Eđitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniđinde KLL tanılı 65 hasta ile yapılan bir çalışmada; kemik iliği retiküler fibrozisi ile hastalık seyri ve tedavi ihtiyaının araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, erken-orta kemik iliği retiküler lif derecesine sahip hastalarda tedavi gereksinimi %23,9, ileri kemik iliği retiküler lif derecesine sahip hastalarda ise %52,9 saptanmıştır. Bunun sonucunda kemik iliği retiküler fibrozisi derecesinin hastalık seyri ve tedavi gereksinimi üzerinde etkili olduğu dűřünűlműştür (149).



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Araştırmanın Tipi

Çalışmamız tek merkezli, retrospektif bir çalışmadır.

3.2. Etik Kurul Onayı

Kronik Lenfositik Lösemi Tanısı Almış Hastalarda Kemik İliği Retiküler Lif Derecesi ile Laboratuvar ve Prognostik Faktörlerin İlişkisinin Değerlendirilmesi isimli tez konusunun T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından 23.07.2020 tarihli, 185 sayılı kararı ile etik kurallara uygun olduğu görülmüştür.

3.3. Araştırmanın Örnekleme ve Hastaların Seçimi

Kronik lenfositik lösemili hastalarda retiküler lif derecesinin bir prognostik faktör olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceği ile retiküler lif derecesinin diğer prognostik faktörler, demografik özellikler, evre, klinik ve laboratuvar bulguları, genetik mutasyon özellikleri, sağ kalım ve kemoterapi başlama zamanları arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladığımız çalışmamız; Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'na 2006– 2019 yılları arası başvuru yapan kronik lenfositik lösemi tanısı alan hastalar ile gerçekleştirilmiştir. KLL hastalığı için geçerli prognostik faktörler belirlenerek, tanı anındaki değerleri kaydedilmiş; tanı anında değerlendirilen retiküler lif dereceleri ile arasındaki ilişki incelenmiştir. Hastaların kemik iliği biyopsi retiküler lif dereceleri işlenmiş ve hasta bilgileri arşiv taraması ile dosyalarından kaydedilmiştir. KLL tanısı almış 295 hasta incelemeye başlandı. Bu hastaların 64'ünde kemik iliğinde Retiküler lif derecesine bakıldığı tespit edildi ve bu 64 hasta çalışmaya alındı.

Kemik iliği biyopsisi ile alınan örneklerde retiküler lif bauermeister sistemi kullanılarak katagorize edilmiştir. Retiküler lif artışı olan ve olmayan hastaların retiküler lif dereceleri sayısal olarak kaydedilmiştir.

Retiküler lif derecesi ile prognostik faktörler, demografik özellikler, evre, klinik ve laboratuvar bulguları, genetik mutasyon özellikleri, sağ kalım ve kemoterapi başlama zamanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olup olmadığı incelenmiştir.

Tanı anında bakılmış olan hemogram ve biyokimyasal testler ve bu testlerden özellikle wbc, hemoglobin, plt, B12, CRP, ldh, doubling time ve sedimentasyon sonuçları değerlendirildi. Hastalarda yapılmışsa sitogenetik inceleme ve kromozom analizi sonuçları da kaydedildi.

64 hastanın dosyaları ve hasta kayıt sisteminde mevcut bilgileri geriye dönük olarak taranarak eşlik eden otoimmün hastalık varlığı ve 1 yıl içerisindeki ortalama enfeksiyon sıklığı incelendi.

Hastaların evrelendirilmesinde rai evrelendirme sistemi kullanıldı. Fizik muayene, laboratuvar ve görüntüleme sonuçları incelenerek evreleme yapıldı ve hastalar beş evrede incelendi.

Tedavisiz izleme başlanan hastaların ne kadar süre sonrası tedaviye ihtiyaçları olduğu, hangi hastaların eksitus olduğu ve hangi hastaların hala yaşadığı, sağ kalımı belirlendi.

3.3.1. Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri

Araştırmamız için 2016-2019 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Biriminde Kronik Lenfositik Lösemi tanısı ile takip edilen 295 hasta retrospektif olarak değerlendirildi. Dışlanma kriterleri taşıyan 231 hasta çalışma dışı bırakıldı. Hastane otomasyon sisteminde ve dosyalarında bilgilerinin tamamına ulaşılabilen 64 hasta ile çalışma grubunu oluşturdu.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- Hastanın KLL tanısı almış olması
- 18 yaşından büyük olması
- Tanı esnasında kemik iliği biyopsisi yapılması ve retiküler lif derecesi bakılmış olması

Çalışmadan dışlanma kriterleri;

- Hastanın 18 yaşından küçük olması
- Kemik iliği incelemesi olmayan veya olduğu halde retiküler lif derecesi bulunmayan hastalar.

3.4. İstatistiksel Analiz

Araştırmada nominal ve ordinal değerler frekans analiziyle, ölçüm değerleri ortalama ve standart sapma değerleri ile gösterildi. Ölçüm parametrelerinin normallik analizi için Kolmogorov Smirnov Testi yapıldı. Normal dağılmayan parametrelerin ikili farklarında Mann Whitney U, ikiden fazla grup kıyaslamalarında Kruskal Wallis-H Testi kullanıldı. Normal dağılıma uyum gösteren parametrelerin ikili grup kıyaslamalarında Bağımsız Örneklem T-Testi, ikiden fazla grup kıyaslamalarında One Way ANOVA testleri kullanıldı. İlişkisel tarama analizinde Spearman's rho korelasyonu kullanıldı. Nominal ve ordinal değerlerin fark analizlerinde Ki-Kare testi kullanıldı. Tüm analizler SPSS 17.0 for Windows programında, %95 güven aralığında gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza 2006-2019 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Hastanesi'nde Kronik Lenfositik Lösemi tanısı ile takip edilmiş 64 hasta alınmıştır.

Hastaların retiküler lif derecelerine göre cinsiyet, yaş ve evre dağılımları ve fark analizi sonuçları Tablo 10'da verildi.

Tablo 10. Hastaların retiküler lif derecelerine göre cinsiyet, yaş ve evre dağılımları ve fark analizi sonuçları

	RL0 (n=12)		RL1 (n=9)		RL2 (n=20)		RL3 (n=23)		Toplam (n=64)		p
	Ort.	SS	Ort.	SS	Ort.	SS	Ort.	SS	Ort.	SS	
Yaş	71.00	8.83	78.22	8.81	66.40	12.95	72.90	11.84	71.25	11.77	0.068 ^a
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Cinsiyet											
Kadın	7	58.3	6	66.7	8	40.0	6	26.1	27	42.2	0.108 ^b
Erkek	5	41.7	3	33.3	12	60.0	17	73.9	37	57.8	
Evre											
0	3	25.0	5	55.6	11	55.0	6	26.1	25	39.1	
1	5	41.7	3	33.3	4	20.0	6	26.1	18	28.1	0.187 ^b
2	1	8.3	-	-	4	20.0	6	26.1	11	17.2	
3	2	16.7	-	-	-	-	3	13.0	5	7.8	
4	1	8.3	1	11.1	1	5.0	2	8.7	5	7.8	

a. One Way ANOVA Testi, b. Ki-Kare Benzerlik Oranı, RL: Retiküler Lif, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, n: Kişi sayısı.

Çalışmamıza dâhil edilen 64 hastanın 37'si (%57,8) erkek, 27'si (%42,2) kadın idi. Retiküler lif derecelerine göre en çok hastanın retiküler lif derecesi 3 olan grupta olduğu (6 kadın ve 17 erkek) görüldü. Retiküler lif derecesi 0 olan 12 hastanın 7'si (%58,3) kadın ve 5'i (%41,7) erkek; retiküler lif derecesi 1 olan 9 hastanın 6'sı (%66,7) kadın ve 3'ü (%33,3) erkek; retiküler lif derecesi 2 olan 20 hastanın 8'i (%40,0) kadın ve 12'si (%60) erkek; retiküler lif derecesi 3 olan 23 hastanın 6'sı (%26,1) kadın ve 17'si (%73,9) erkek olarak tespit edildi. Retiküler lif derecelerine göre cinsiyet dağılımları arasında anlamlı fark bulunmadı (p=0.108).

Hastaların, retiküler lif derecelerine göre; yaş ortalamaları ve standart sapma değerleri hesaplandı. Tüm hastaların ortalama yaşı 71.25 ± 11.77 olup, retiküler lif derecesi 0 olan hastaların yaş ortalamaları 71.00 ± 8.83 , retiküler lif derecesi 1 olan hastaların yaş ortalamaları 78.22 ± 8.81 , retiküler lif derecesi 2 olan hastaların yaş ortalamaları 66.40 ± 12.95 ve retiküler derecesi 3 olan hastaların yaş ortalamaları 72.90 ± 11.84 bulundu. Retiküler lif dereceleri ile yaş ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0.068$).

Retiküler lif derecesi 0 olan hastaların 3'ü (%25,0) evre 0, 5'i (%41,7) evre 1, 1'i (%8,3) evre 2, 2'si (%16,7) evre 3 ve 1'i (%8,3) evre 4 olarak saptandı. Retiküler lif derecesi 1 olan hastaların 5'i (%55,6) evre 0, 3'ü (%33,3) evre 1 ve 1'i (%11,1) evre 4 idi. Retiküler lif derecesi 2 olan hastaların 11'i (%55,0) evre 0, 4'ü (%20,0) evre 1, 4'ü (%20,0) evre 2 ve 1'i (%5,0) evre 4 idi. Retiküler derecesi 3 olan hastaların ise 6'sı (%26,1) evre 0, 6'sı (%26,1) evre 1, 6'sı (%26,1) evre 2, 3'ü (%13,0) evre 3 ve 2'si (%8,7) evre 4 olarak saptandı. Retiküler lif derecesi ile hastalık evreleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.187$).

Retiküler lif derecelerine göre wbc değerlerinin dağılımı ve fark analizi sonuçları Tablo 11'de gösterildi.

Tablo 11. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre WBC değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları

	Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p
WBC	RL0	12	62765.83	50325.33	20300.00	202000.00	0.654*
	RL1	9	52366.67	36275.58	24100.00	128000.00	
	RL2	20	45486.50	31172.08	16800.00	121500.00	
	RL3	23	75317.39	96140.92	14000.00	387200.00	
	Total	64	60414.38	65515.14	14000.00	387200.00	

* Kruskal Wallis-H Testi

Retiküler lif derecesi 0 olan grupta wbc parametresinin ortalama değeri 62765,83 minimum değeri 20300 ve maksimum değeri 202000; retiküler lif derecesi 1 olan grupta ortalama wbc değeri 52366,67 minimum değeri 24100 ve maksimum değeri 128000; retiküler lif derecesi 2 olan grupta ortalama wbc değeri 45486,50

minimum değeri 16800 ve maksimum değeri 121500; retiküler lif derecesi 3 olan grupta ortalama wbc değeri 75317,39 minimum değeri 14000 ve maksimum değeri 387200 olarak bulundu. Wbc parametresinin dağılımı normal dağılıma uymamaktaydı. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 12. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre hemoglobin değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları

	RL	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p
HB	RL0	12	11.69	2.42	6.90	16.10	0.069*
	RL1	9	12.52	1.51	10.50	15.30	
	RL2	20	13.78	1.38	10.40	15.80	
	RL3	23	12.57	2.77	5.30	16.10	
	Total	64	12.78	2.27	5.30	16.10	

* One Way ANOVA Testi

Retiküler lif derecesi 0 olan grupta hemoglobin parametresinin ortalama değeri 11,69 minimum değeri 6,90 ve maksimum değeri 16,10; retiküler lif derecesi 1 olan grupta ortalama değeri 12,52 minimum değeri 10,50 ve maksimum değeri 15,30; retiküler derecesi 2 olan grupta ortalama değeri 13,78 minimum değeri 10,40 ve maksimum değeri 15,80; retiküler derecesi 3 olan grupta ortalama değeri 12,57 minimum değeri 5,30 ve maksimum değeri 16,10 olarak bulundu. Hemoglobin parametresinin dağılımı normal dağılıma uymamaktaydı. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 13. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre PLT değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları

	RL	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p
PLT	RL0	12	187833.33	86970.04	15000.00	300000.00	0.446*
	RL1	9	223111.11	111358.03	55000.00	427000.00	
	RL2	20	177700.00	76005.61	84000.00	311000.00	
	RL3	23	172956.52	66501.86	79000.00	360000.00	
	Total	64	184281.25	80376.00	15000.00	427000.00	

* One Way ANOVA Testi

Retiküler lif derecesi 0 olan grupta trombosit sayısının ortalama değeri 187833,33 minimum değeri 15000,00 ve maksimum değeri 300000,00; retiküler lif derecesi 1 olan grupta ortalama trombosit sayısı 223111,11 minimum değeri 55000,00 ve maksimum değeri 427000,00; retiküler lif derecesi 2 olan grupta ortalama trombosit sayısı 177700,00 minimum değeri 84000,00 ve maksimum değeri 311000,00; retiküler lif derecesi 3 olan grupta ortalama trombosit sayısı 172956,52 minimum değeri 79000,00 ve maksimum değeri 360000,00 olarak bulundu. Trombosit sayısının dağılımı normal dağılıma uymaktaydı. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 14. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre B12 değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları

	RL	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p
B12	RL0	9	385.11	501.21	30.00	1681.00	0.650*
	RL1	8	362.13	312.49	83.00	1048.00	
	RL2	15	470.13	406.79	107.00	1367.00	
	RL3	20	487.75	545.18	155.00	2200.00	
	Total	52	445.58	459.97	30.00	2200.00	

* Kruskal Wallis-H Testi

Retiküler lif derecesi 0 olan grupta B12 parametresinin ortalama değeri 385,11 minimum değeri 30,00 ve maksimum değeri 1681,00; retiküler lif derecesi 1 olan grupta ortalama değeri 362,13 minimum değeri 83,00 ve maksimum değeri 1048,00; retiküler lif derecesi 2 olan grupta ortalama değeri 470,13 minimum değeri 107,00 ve maksimum değeri 1367,00; retiküler lif derecesi 3 olan grupta ortalama değeri 487,75 minimum değeri 155,00 ve maksimum değeri 2200,00 olarak bulundu. B12 parametresinin dağılımı normal dağılıma uymamaktaydı. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 215. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre sedimentasyon değerlerinin dağılımı ve fark analizi sonuçları

	RL	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p
Sedimentasyon	RL0	11	26.73	22.51	1.00	66.00	0.656*
	RL1	8	17.63	19.15	2.00	53.00	
	RL2	17	18.35	12.24	3.00	42.00	
	RL3	21	23.48	24.23	2.00	79.00	
	Total	57	21.75	20.02	1.00	79.00	

* One Way ANOVA Testi

Retiküler lif derecesi 0 olan grupta sedimentasyon parametresinin ortalama değeri 26,73 minimum değeri 1,00 ve maksimum değeri 66,00; retiküler lif derecesi 1 olan grupta ortalama değeri 17,63 minimum değeri 2,00 ve maksimum değeri 53,00; retiküler lif derecesi 2 olan grupta ortalama değeri 18,35 minimum değeri 3,00 ve maksimum değeri 42,00; retiküler lif derecesi 3 olan grupta ortalama değeri 23,48 minimum değeri 2,00 ve maksimum değeri 79,00 olarak bulundu. Sedimentasyon değerinin dağılımı normal dağılıma uymaktaydı. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 16. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre CRP değerlerinin dağılımı ve fark analizi sonuçları

	RL	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p
CRP	RL0	5	41.60	33.65	3.20	90.00	0.017*
	RL1	4	4.35	2.44	3.00	8.00	
	RL2	9	4.84	6.26	0.80	21.40	
	RL3	14	12.07	16.27	3.00	64.00	
	Total	32	13.69	20.70	0.80	90.00	

* Kruskal Wallis-H Testi

Retiküler lif derecesi 0 olan grupta CRP parametresinin ortalama değeri 41,60 minimum değeri 3,20 ve maksimum değeri 90,00; retiküler lif derecesi 1 olan grupta ortalama değeri 4,35 minimum değeri 3,00 ve maksimum değeri 8,00; retiküler lif

derecesi 2 olan grupta ortalama değeri 4,84 minimum değeri 0,80 ve maksimum değeri 21,40; retiküler lif derecesi 3 olan grupta ortalama değeri 12,07 minimum değeri 3,00 ve maksimum değeri 64,00 olarak bulundu. CRP değerinin dağılımı normal dağılıma uymamaktaydı. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$).

Tablo 17. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre ldh değerlerin dağılımı ve fark analizi sonuçları

	RL	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p
LDH	RL0	12	286.42	109.04	155.00	431.00	0.546*
	RL1	9	298.11	243.34	134.00	917.00	
	RL2	18	246.61	56.62	164.00	385.00	
	RL3	22	284.55	304.68	128.00	1618.00	
	Total	61	275.72	209.42	128.00	1618.00	

* Kruskal Wallis-H Testi

Retiküler lif derecesi 0 olan grupta ldh parametresinin ortalama değeri 286,42 minimum değeri 155,00 ve maksimum değeri 431,00; retiküler lif derecesi 1 olan grupta ortalama değeri 298,11 minimum değeri 134,00 ve maksimum değeri 917,00; retiküler lif derecesi 2 olan grupta ortalama değeri 246,61 minimum değeri 164,00 ve maksimum değeri 385,00; retiküler lif derecesi 3 olan grupta ortalama değeri 284,55 minimum değeri 128,00 ve maksimum değeri 1618,00 olarak bulundu. Ldh parametresinin dağılımı normal dağılıma uymaktaydı. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).

Tablo 18. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre yıllık ortalama enfeksiyon sıklığının dağılımı ve fark analizi sonuçları

	RL	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p
ENFEKSİYON SIKLIĞI (12 AY)	RL0	9	1.33	1.00	0.00	3.00	0.412*
	RL1	7	0.57	0.79	0.00	2.00	
	RL2	16	0.88	0.96	0.00	3.00	
	RL3	20	1.35	1.46	0.00	5.00	
	Total	52	1.10	1.18	0.00	5.00	

* Kruskal Wallis-H Testi

Retiküler lif derecesi 0 olan grupta 12 ayda geçirilen ortalama enfeksiyon sıklığı 1,33 olup, bazı hasta gruplarında bu süreçte hastane başvurusu gerektiren ve kayıt altına alınan herhangi bir enfeksiyon bulunmamaktaydı. Buna karşılık bazı hastalarda ise yıllık enfeksiyon sıklığı 3 kez ile maksimum değeri oluşturdu; retiküler lif derecesi 1 olan grupta 12 ayda geçirilen ortalama enfeksiyon sıklığı 0,5 iken 7 minimum değeri 0 ve maksimum değeri 2; retiküler lif derecesi 2 olan grupta 12 ayda geçirilen ortalama enfeksiyon sıklığı 0,88 iken minimum değeri 0 ve maksimum değeri 3; retiküler lif derecesi 3 olan grupta 12 ayda geçirilen ortalama enfeksiyon sıklığı 1,35 minimum değeri 0 ve maksimum değeri 5 olarak bulundu. 12 ayda geçirilen ortalama enfeksiyon sıklığı normal dağılıma uymamaktaydı. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 19. Hastaların Retiküler lif derecelerine göre kemoterapi başlama zamanının dağılımı ve fark analizi sonuçları

	RL	N	Ortalama	Std. Sapma	Minimum	Maksimum	p
KT BAŞLAMA ZAMANI (AY)	RL0	6	8.50	13.53	0.00	33.00	0.438*
	RL1	2	10.00	14.14	0.00	20.00	
	RL2	8	24.88	21.46	4.00	72.00	
	RL3	10	13.00	22.08	0.00	64.00	
	Total	26	15.38	19.84	0.00	72.00	

* One Way ANOVA Testi

Retiküler lif derecesi 0 olan grupta kemoterapi başlama zamanının ortalama değeri 8,50 ay iken minimum değeri 0 ve maksimum değeri 33 aydır; retiküler lif derecesi 1 olan grupta kemoterapi başlama zamanının ortalama değeri 10,00 ay iken minimum değeri 0 ve maksimum değeri 20; retiküler lif derecesi 2 olan grupta kemoterapi başlama zamanının ortalama değeri 24,88 ay, minimum değeri 4 ve maksimum değeri 72; retiküler lif derecesi 3 olan grupta kemoterapi başlama zamanının ortalama değeri 13,00 ay, minimum değeri 0 ve maksimum değeri 64 olarak bulundu. Kemoterapi başlama zamanının dağılımı normal dağılıma uymaktaydı. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

B12 seviyesinin doubling time, retiküler lif derecesi ve evre ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları Tablo 20'de verildi.

Tablo 20. B12 seviyesinin doubling time, retiküler lif derecesi ve evre ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları

B12 Seviyesi	r	p
Doubling Time	0,192	0,236
Retiküler Lif Derecesi	0,069	0,627
Evre	0,014	0,921

Analiz sonuçlarına göre KLL hastalarında tanı anında bakılan B12 seviyesi ile doubling time, retiküler lif derecesi ve evre arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Retiküler lif derecesi ile KT başlama zamanı arasındaki ilişki için yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları Tablo 21'de verildi.

Tablo 21. Retiküler lif derecesi ile KT başlama zamanı arasındaki ilişki için yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları

Retiküler lif derecesi	r	p
KT	0,008	0,969

Korelasyon analizi sonuçlarına göre retiküler lif derecesi ile KT başlama zamanı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Evre ile KT başlama zamanı arasındaki ilişki için yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları Tablo 22'de verildi.

Tablo 22. Evre ile KT başlama zamanı arasındaki ilişki için yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları

Evre	r	p
KT	-0,622	0,001

Korelasyon analizi sonuçlarına göre KT başlama zamanı ile hastalık evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönde bir ilişki vardı ($p < 0.01$). Evre arttıkça, KT başlama (tedavi gereksinimi için gereken ay) zamanı için gereken ay azalmaktaydı.

Hastalarda tanı anında bakılan B12 seviyesi ile kemoterapi başlama zamanı arasındaki ilişki için yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları Tablo 23'de verildi.

Tablo 23. B12 ile KT başlama zamanı arasındaki ilişki için yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları

B12	r	p
KT	0,010	0,967

Korelasyon analizi sonuçlarına göre B12 ile KT başlama zamanı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p > 0.05$).

Hastaların retiküler lif derecesi gruplarına göre mutasyon durumu ve ilişkili parametrelerin dağılımı ve fark analizi sonuçları Tablo 24'de verildi.

Tablo 24. Hastaların retiküler lif gruplarına göre mutasyon ve mutasyon tipi dağılımının fark analizi sonuçları

	RL0 (n=12)		RL1 (n=9)		RL2 (n=20)		RL3 (n=23)		Toplam (n=64)		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Mutasyon											
Var	5	45.5	4	57.1	7	46.7	3	30.0	19	44.2	0.714 ^a
Yok	6	54.5	3	42.9	8	53.3	7	70.0	24	55.8	
Mutasyon tipi											
17p del	2	40.0	1	25.0	3	42.9	1	33.3	7	36.8	
13q del	2	40.0	3	75.0	3	42.9	2	66.7	10	52.6	0.822 ^a
Diğer	1	20.0	-	-	1	14.3	-	-	2	10.5	

a. Ki-Kare Benzerlik Oranı, RL: Retiküler Lif, n: Kişi sayısı.

Retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunun %45,5'inde, retiküler lif derecesi 1 olan hasta grubunun %57,1'inde, retiküler lif derecesi 2 olan hasta grubunun %30'unda ve retiküler lif derecesi 3 olan hasta grubunun %44,2'sinde genetik mutasyon saptandı. Fark analizi sonuçlarına göre mutasyon görülme oranı, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemekteydi. Retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunun %40'ında 17p del, %40'ında 13q del ve %20'sinde bunların dışında saptanan herhangi bir mutasyon vardı. Retiküler lif derecesi 1 olan hasta grubunun %25'inde 17p del ve %75'inde 13q del mutasyonu vardı. Retiküler lif derecesi 2 olan hasta grubunun %42,9'unda 17p del, %42,9'unda 13q del ve %14,3'ünde bunların dışında saptanan herhangi bir mutasyon vardı. Retiküler lif derecesi 3 olan hasta grubunun %33,3'ünde 17p del ve %66,7'sinde 13q del mutasyonu vardı. Mutasyon tipi retiküler lif gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($p>0.05$).

Doubling time zamanının hastalardaki retiküler lif derecelerine göre fark analizi sonuçları Tablo 25'de verildi.

Tablo 25. Doubling time parametresinin retiküler lif gruplarına göre fark analizi sonuçları

	RL0 (n=12)		RL1 (n=9)		RL2 (n=20)		RL3 (n=23)		Toplam (n=64)		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
<i>Doubling</i>											
0-12 ay	3	30.0	2	25.0	5	33.3	4	22.2	14	27.5	0.904 ^a
12 ay üzeri	7	70.0	6	75.0	10	66.7	14	77.8	37	72.5	

a. Ki-Kare Benzerlik Oranı, RL: Retiküler Lif, n: Kişi sayısı.

Tüm retiküler lif derecesi gruplarında doubling time zamanı çoğunlukla 12 ay ve üzerindedir. Retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunun %30'unda, retiküler lif derecesi 1 olan hasta grubunun %25'inde, retiküler lif derecesi 2 olan hasta grubunun %33,3'ünde ve retiküler lif derecesi 3 olan hasta grubunun %22,2'sinde doubling time zamanı 0-12 ay arasındaydı. Retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunun %70'inde, retiküler lif derecesi 1 olan hasta grubunun %75'inde, retiküler lif derecesi 2 olan hasta grubunun %66,7'sinde ve retiküler lif derecesi 3 olan hasta grubunun %77,8'inde doubling time zamanı 12 ay ve üzerindedir. Fark analizi sonuçlarına göre doubling time zamanı ile retiküler lif derecesine göre hasta grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Retiküler lif derecesine göre hasta gruplarındaki mortalite oranları ve fark analizi sonuçları Tablo 26'da verildi.

Tablo 26. Retiküler lif gruplarındaki mortalite oranları ve fark analizi sonuçları

	RL0 (n=12)		RL1 (n=9)		RL2 (n=20)		RL3 (n=23)		Toplam (n=64)		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
<i>Mortalite</i>											
Yok	8	66.7	9	100.0	18	90.0	23	100.0	58	90.6	0.009 ^a
Var	4	33.3	-	-	2	10.0	-	-	6	9.4	

a. Ki-Kare Benzerlik Oranı, RL: Retiküler Lif, n: Kişi sayısı.

Mortalite oranı en yüksek retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunda olup, bunu retiküler lif derecesi 2 olan hasta grubu izlemekteydi. Retiküler lif derecesi 1 ve

3 olan hasta gruplarında mortalite daha azdı. Retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunda hastaların %33,3'ünde, retiküler lif derecesi 2 olan hasta grubundaki hastaların %10'unda mortalite görüldü. Mortalite düzeylerinin ise gruplar arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$).

Hasta gruplarının retiküler lif derecesine göre araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları Tablo 27'de verildi.

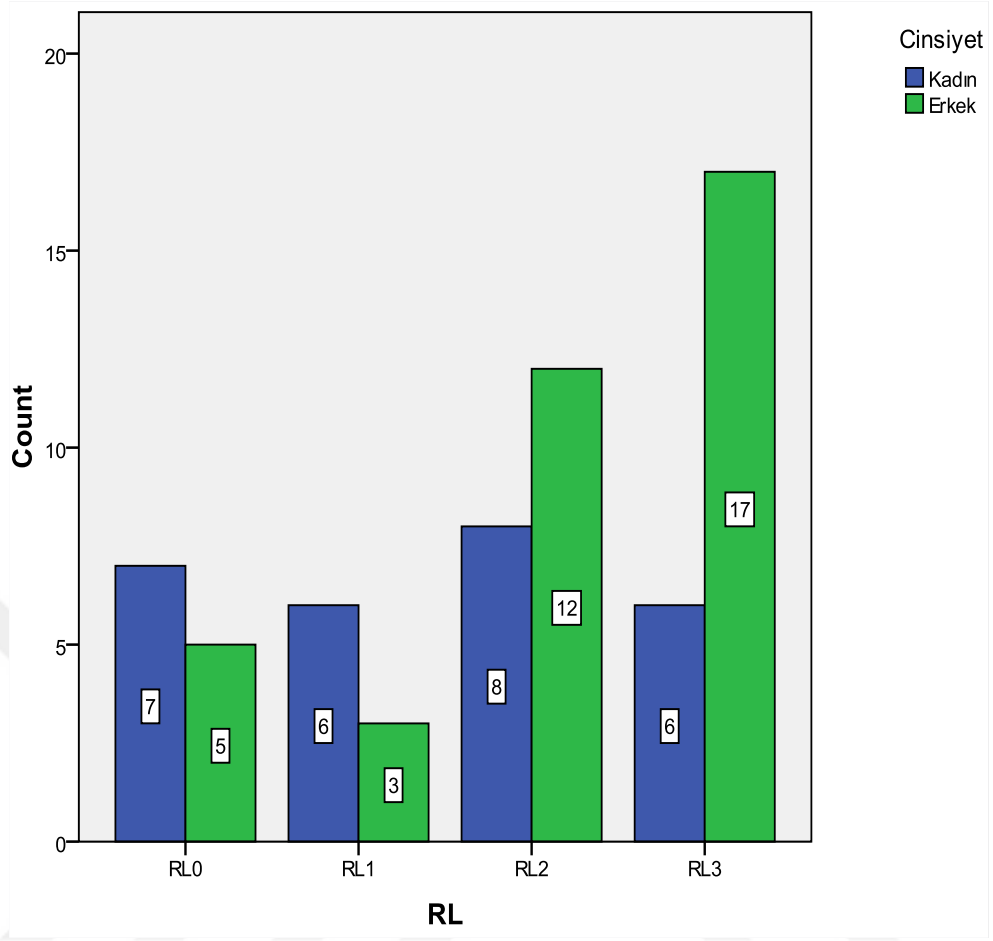
Tablo 27. Retiküler lif derecesi gruplarının araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları

Retikül Grupları	r	p
Yaş	0.005	0.967
Cinsiyet	0.287*	0.022
Evre	0.123	0.332
WBC	-0.082	0.522
HB	0.150	0.238
PLT	-0.149	0.240
B12	0.069	0.627
Sedim	-0.031	0.816
CRP	-0.119	0.515
Mutasyon	0.120	0.445
Mutasyon tipi	-0.058	0.815
LDH	-0.146	0.261
Doubling	0.058	0.688
ENF	0.043	0.762
KT	0.008	0.969

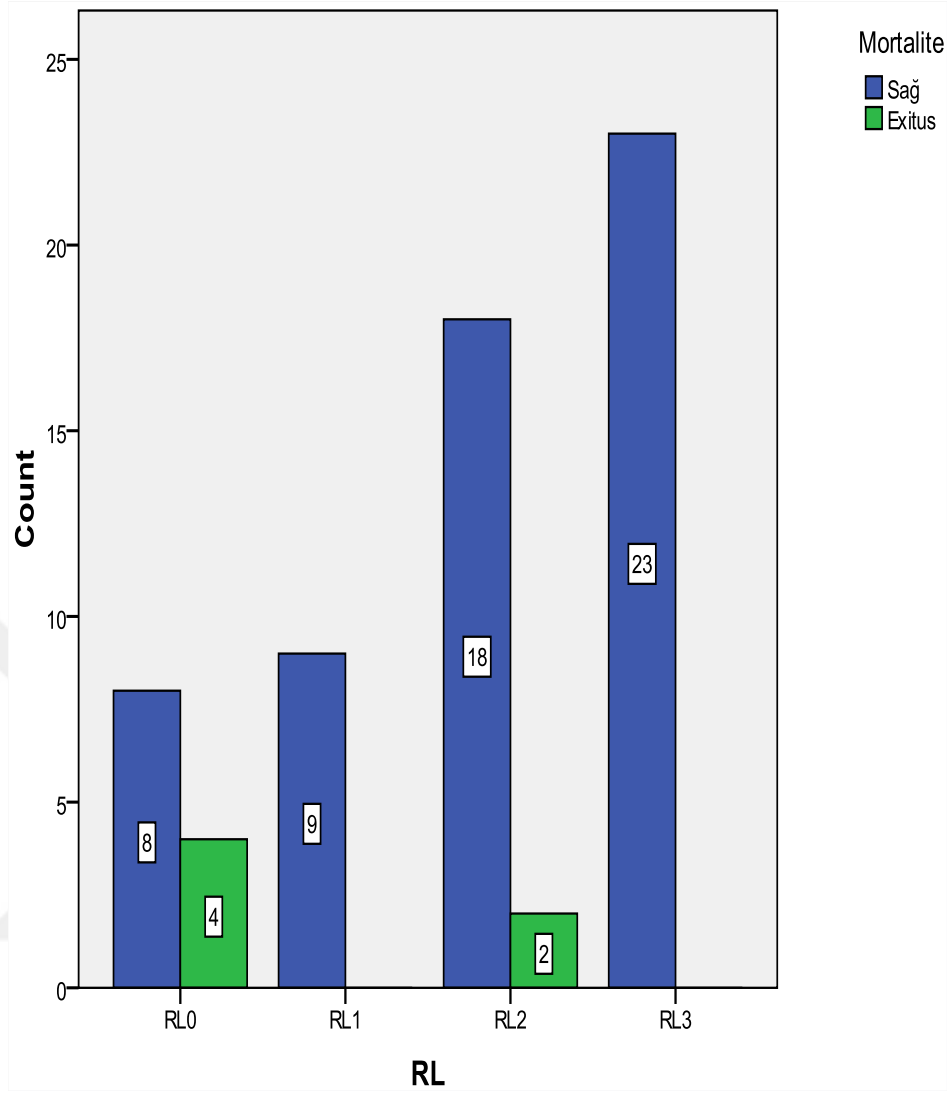
* $p<0.05$

Korelasyon analizi sonuçlarına göre Retiküler lif derecesi ile yaş arasında ($r=0.287$; $p<0.05$), pozitif yönde ilişki vardı. Buna göre yaş arttıkça retiküler lif derecesi artmaktaydı.

Retiküler lif derecesine göre grupların cinsiyet dağılımları Şekil 2'de gösterildi.



Şekil 2. Retiküler lif derecesine göre grupların cinsiyet dağılımları



Şekil 3. Retiküler lif derecesine göre grupların mortalite dağılımları

Mutasyon olma durumunun araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları Tablo 28'de verildi.

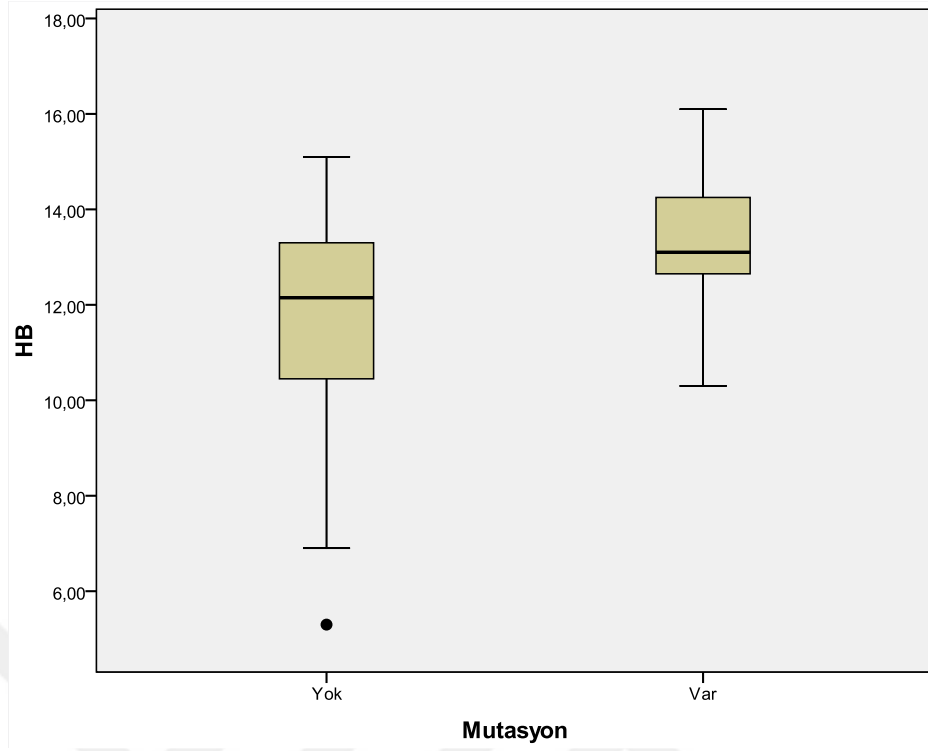
Tablo 28. Mutasyon olma durumunun araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları

Mutasyon yok/var-	r	p
Yaş	-0.113	0.469
Cinsiyet	-0.068	0.667
Evre	-0.283	0.066
WBC	-0.234	0.131
HB	0.321*	0.036
PLT	0.175	0.260
B12	-0.250	0.141
Sedim	-0.140	0.402
CRP	-0.082	0.718
RL	-0.120	0.445
Mutasyon tipi	-	-
LDH	0.004	0.980
Doubling	-0.356*	0.033
ENF	-0.298	0.078
KT	0.399	0.090
Mortalite	-0.031	0.846

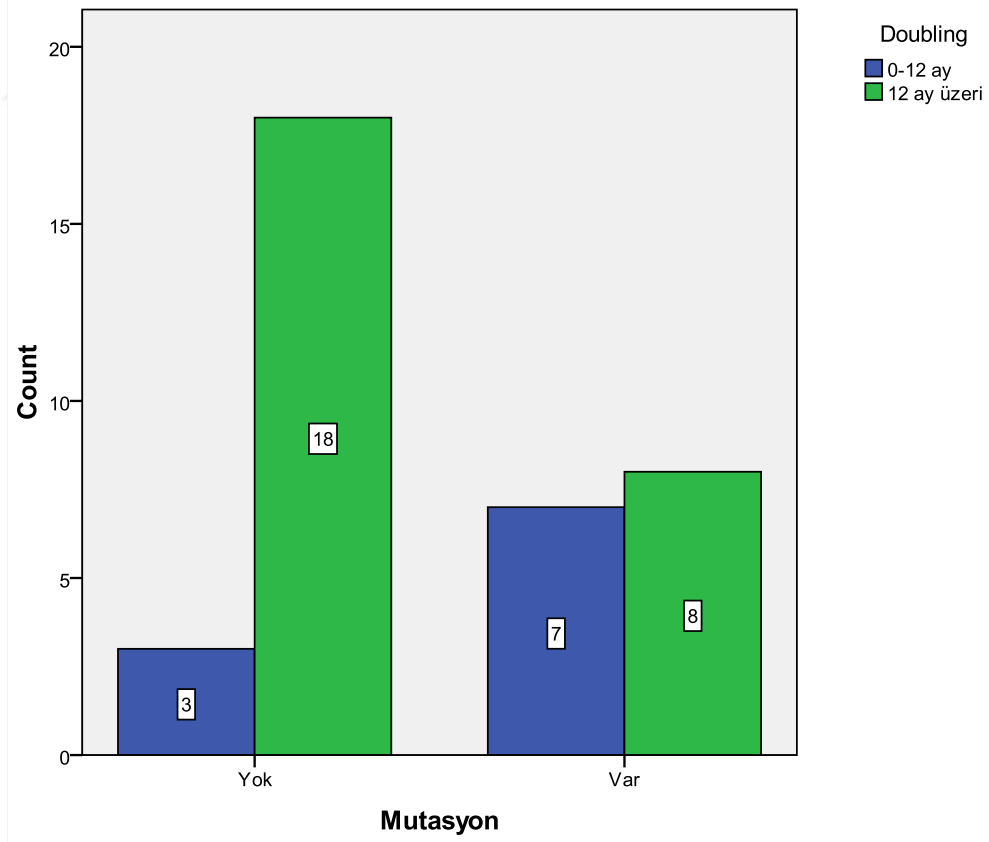
*p<0.05

Korelasyon analizi sonuçlarına göre hastaların mutasyon pozitiflik durumuyla hemoglobulin değeri arasında pozitif yönde ve anlamlı ($r=0.321$; $p<0.05$) bir ilişki vardı. Doubling time zamanı ve mutasyon pozitifliği arasında negatif yönde ($r=-0.356$; $p<0.05$) ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı ($p<0.05$). Hemoglobulin değeri yükseldikçe mutasyon oranı artmaktaydı. Doubling time zamanı arttıkça ise, herhangi bir mutasyona sahip olma oranı düşmekteydi.

Hemoglobin değeri ve doubling time parametrelerinin mutasyon gruplarına göre dağılımları Şekil 4 ve 5'de gösterildi.



Şekil 4. Hemoglobin değerinin mutasyon gruplarına göre dağılımı



Şekil 5. Doubling time'in mutasyon varlığı ile ilişkisi

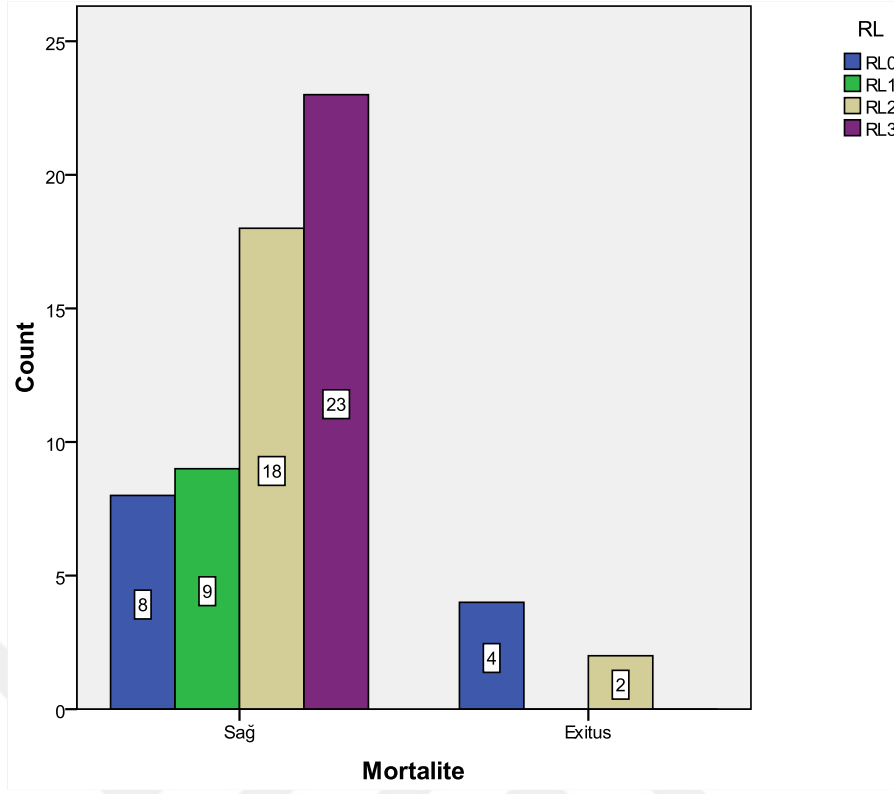
Mortalitenin araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları Tablo 29'da verildi.

Tablo 29. Mortalitenin araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçları

Mortalite yok/var-	r	p
Yaş	-0.064	0.616
Cinsiyet	0.166	0.189
Evre	0.033	0.793
WBC	0.180	0.155
HB	0.010	0.936
PLT	0.010	0.937
B12	0.203	0.148
Sedim	0.071	0.598
CRP	-0.099	0.588
RL	-0.322**	0.010
Mutasyon tipi	0.087	0.723
LDH	0.202	0.119
Doubling	-0.185	0.195
ENF	0.210	0.135
KT Baş	0.326	0.105
Mutasyon	-0.031	0.846

**p<0.01

Korelasyon analizi sonuçları, mortalite ile sadece retiküler lif grupları arasındaki ilişkinin anlamlı ve negatif yönde olduğunu gösterdi ($r=-0.322$; $p<0.01$). Retiküler lif derecesi arttıkça, mortalite oranları azalmaktaydı. Retiküler lif derecesi gruplarına göre mortalite oranları Şekil 6'da gösterildi.



Şekil 6. Retiküler lif derecesi gruplarına göre mortalite oranları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

KLL batı ülkelerinde en sık görülen lösemi türüdür. Hastalık tipik olarak ileri yaşlarda görülür ve oldukça değişken bir klinik seyir gösterir. KLL hastalarında prognostik bilgiler sağlamak ve hasta takibi için oluşturulan Binet ve Rai evreleme sistemleri dışında evreden bağımsız prognostik faktörler de saptanmıştır; zira aynı evre olgularda prognoz ve sağkalım farklılıkları bulunmaktadır, bazı erken evre hastalar, hızlı ilerleme göstermektedir. Bu prognostik parametreler; hastaların performans durumu, lenfosit sayısı, kemik iliği infiltrasyon tipi, perifer kandaki atipik lenfosit oranı ve LDT, IGHV değişken geninde mutasyon durumu, KLL hücrelerinde sitoplazmik ZAP-70 ve CD38 ekspresyonları, serum β 2-mikroglobulin düzeyi, çözünebilir CD23 düzeyi, FISH ile belirlenebilen 13q, 17p ya da 11q delesyonlarının varlığı, P53 mutasyonu olması, LDH, beta-2 mikroglobulin, serum timidin kinaz aktivitesidir (30, 32). Klinik evreleme sistemlerine ek olarak kullanılan diğer bir prognostik faktör de kemik iliği infiltrasyon derecesidir. Kemik iliği biyopsisi yararlı bir prognostik belirteçdir (41, 42).

KLL'de kemik iliği tutulumu nodüler, intertisiyel, karışık ve difüz paternde olabilir. İlk 3 paternde kısmen kemik iliği mimarisi ve hematopoietik hücrelerin mevcut durumu korunurken, diffüz paternde KLL hücrelerinin infiltrasyonu ön plandadır (150, 151). Diffüz kemik iliği tutulumu olan hastaların sağkalımları, yaygın olmayan paternlere göre daha kısa bulunmuştur ve bunun prognostik olduğu belirtilmektedir (42). Schade ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada kemik iliği biyopsisi ve kemik iliği infiltrasyon paterninin ZAP 70 ekspresyonu ve IGHV mutasyonu gibi prognostik faktörlerle ilişkili olduğu saptandı. Bu çalışmanın sonucunda kemik iliği biyopsilerinden elde edilen bulguların diğer prognostik parametrelerle birleştirilmesinin; KLL hastalarında daha iyi bir klinik ve prognostik sınıflandırma ve ayırtırmaya yardımcı olabileceği sonucuna ulaşıldı (152).

Kemik iliği fibrozisi bir takım iyi huylu ve kötü huylu hastalığa eşlik etmektedir. Çoğu durumda, fibrozis retikülin liflerinden oluşur, ancak kemik iliği mikroçevresi yapısında kolajen, laminin ve fibronektin içerir. Retiküler fibrozis genellikle reversibldır ve klinik önemi hastalıklara göre değişir. Retiküler lif

derecesinin hematolojik maligniteli hastalarda prognoz ile ilişkisi çeşitli çalışmalara konu olmuş bir durumdur. Miyeloid ve lenfoproliferatif hastalıklar, hairy cell lösemi gibi diğer hematolojik malignitelere eşlik ettiği ve önemli bir belirteç olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (5). KLL'de ortalama sağ kalım, prognoz ve tedavi gereksinimi için; FISH analizi, mutasyon durumu, ZAP70 ve CD38 pozitifliği veya serum beta2-mikroglobulin düzeyleri gibi güvenilir prognostik ve prediktif faktörler belirlenmiştir. Fakat bu değerlendirmeler için çoğu zaman daha ileri merkez ve laboratuvarlara ihtiyaç duyulabilmektedir. Kemik iliği retiküler lif derecesi ise kemik iliği biyopsi örneklerinde basit bir boyama yöntemi ile tespit edilebilir.

Biz bu çalışmada, kronik lenfositik lösemi hastalarında retiküler lif derecesinin araştırılması ve bunun klinik, laboratuvar, belirlenen prognostik faktörlerle olan ilişkisinin incelenmesini hedefledik.

Çalışmamıza dâhil edilen 64 hastanın 37'si (%57,8) erkek, 27'si (%42,2) kadın idi. Erkek/Kadın oranı 1,3/1 olarak saptandı. KLL erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülür. Graça ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da erkek kadın oranı 1,9 çıkmıştır (153). Hernandez ve arkadaşlarının SEER(The Surveillance, Epidemiology and End Results) verileri temel alınarak yaptığı bir çalışmanın sonuçları da bizim çalışmamızla benzer olarak KLL'de erkek/kadın oranı 1.7/1 olarak saptamıştır (154). Tadmor ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da hastaların 122'si (% 70,5) erkek ve 51'i (% 29,5) kadın olarak saptanmıştır ve Retiküler lif dereceleri ile cinsiyet arasında ilişki saptanmamıştır (5). Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak hastaların retiküler lif dereceleri ile cinsiyet dağılımları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0.108$).

Çalışmamızdaki tüm hastaların ortalama yaşı 71.25 idi. 2011 yılında Smith ve arkadaşları tarafından yayınlanan ve Hematolojik malignite araştırma ağının verilerinin kullanıldığı bir çalışmada da KLL hastalarının ortanca yaşı bizim çalışmamızla benzer şekilde 71,6 saptanmıştır (155). Tadmor ve arkadaşları tarafından KLL ve retiküler lif açısından yapılan başka bir çalışmada hastaların ortanca yaş 63 (32-86 yaş) tespit edilmiş olup yaş ile bir ilişki tespit edilmemiştir (5). Yapılan diğer çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda retiküler lif dereceleri ile yaş ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0.068$).

Tanı anında hastaların %39,1'i evre 0, %28,1'i evre 1, %17,2'si evre 2, %7,8'i evre 3 ve %7,8'si evre 3 olarak saptandı. Eren ve arkadaşları tarafından yapılan ve İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniğinde Temmuz 2007 ile Haziran 2016 tarihleri arasında KLL tanısı ile takip edilen 65 hastanın verilerini retrospektif olarak değerlendiren bir çalışmada evresi yüksek olan hastalarda kemik iliği tutulumu, retiküler lif derecesinde artış saptanmış olup evre ile retiküler lif derecesi arasında korelasyon izlenmiştir (149). Tadmor ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada da ileri evre hastalık ile retiküler fibrozis derecesi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmıştır (5). Bizim çalışmamızda ise; retiküler lif derecesi 0 olan hastaların 3'ü (%25,0) evre 0, 5'i (%41,7) evre 1, 1'i (%8,3) evre 2, 2'si (%16,7) evre 3 ve 1'i (%8,3) evre 4 olarak saptandı. Retiküler lif derecesi 1 olan hastaların 5'i (%55,6) evre 0, 3'ü (%33,3) evre 1 ve 1'i (%11,1) evre 4 idi. Retiküler lif derecesi 2 olan hastaların 11'i (%55,0) evre 0, 4'ü (%20,0) evre 1, 4'ü (%20,0) evre 2 ve 1'i (%5,0) evre 4 idi. Retiküler derecesi 3 olan hastaların ise 6'sı (%26,1) evre 0, 6'sı (%26,1) evre 1, 6'sı (%26,1) evre 2, 3'ü (%13,0) evre 3 ve 2'si (%8,7) evre 4 olarak saptandı. Retiküler lif derecesi ile hastalık evreleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p=0.187$). Daha fazla sayıda hasta ile yapılacak bir çalışmada evre ile retiküler lif derecesi arasındaki pozitif korelasyonun tespit edilebileceği düşünülmektedir.

Tadmor ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; ileri retiküler lif derecesi olan hastalarda daha sık trombositopeni $<100,000 / \text{mm}^3$ ($P < .0039$) izlenmiş ve hemoglobin düzeylerinde düşme ile ileri fibrozis arasında korelasyon saptanmıştır. Retiküler lif derecesi 2-3 olan hastalarda ortalama hemoglobin $11,7 \text{ g} / \text{dL}$ iken, Retiküler lif derecesi 0-1 olanlarda ortalama hemoglobin $12,7 \text{ g} / \text{dL}$ ($P < .0183$) olarak bulunmuş. Lökosit sayısı ile retiküler lif derecesi arasında ilişki saptanmamıştır (5). Eren ve arkadaşları tarafından 65 KLL hastası ile yapılan bir çalışmada; ortalama beyaz küre, hemoglobin ve platalet sayıları şöyledir; wbc $28.260 / \text{mm}^3$ ($8620-262.900 / \text{mm}^3$), hb $12,8 \text{ g} / \text{dl}$ ($6,4-16,4 \text{ g} / \text{dl}$) ve plt $204.000 / \text{mm}^3$ ($80.000-361.000 \text{ mm}^3$) idi. Bu çalışmada literatür ile uyumlu olarak, difüz kemik iliği infiltrasyon paterninin KLL hastalarının plt sayısı ve hemoglobin seviyesini düşürdüğünü gösterilmiştir (149). Bizim çalışmamızda hastaların ortalama lökosit $60.414 / \text{mm}^3$, hemoglobin $12,7 \text{ g/dl}$ ve plt $184281 / \text{mm}^3$ idi. Trombosit değerleri

retiküler lif derecesi 1 olan hasta grubunda; hemoglobin değerleri retiküler lif derecesi 2 olan hasta grubunda ve lökosit değerleri ise retiküler lif derecesi 3 olan hasta grubunda daha yüksekti. Fark analizi sonuçlarına göre hastaların tam kan sayımı parametreleri ile retiküler lif derecesi grupları arasındaki farkları istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Fakat çalışmamızda; literatür ile uyumlu olarak; retiküler lif derecesi düşük olan gruptaki platelet sayıları, ileri retiküler lif derecesine sahip hasta grubuna göre daha yüksekti. Fibrozisin artmasıyla platelet sayıları düşmekte ve bununla uyumlu olarak en düşük trombosit ortalamasına sahip olan grubu retiküler lif derecesi 3 olan hastalar oluşturmaktaydı.

Anemi ve trombositopeni, miyelofibrozun en sık klinik belirtileri olması yanında önemli prognostik faktörlerden biridir. Anemi etyolojisinde, demir eksikliği, folik asit eksikliği ve B12 vitamin eksikliği gibi nutrisyonel ve tedavi edilebilir faktörler daha ön plandadır (156). B12 vitamin düzeyleri birçok patolojik durumda (solid tümörler, hematolojik malign hastalıklar, akut veya kronik karaciğer hastalıkları gibi) prognostik belirteç olarak gösterilmiştir (157-159). Zülfikar ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma; yaşlı ve B12 hipervitaminözü olan hastalarda normale göre 5.7 kat daha fazla hematolojik bozukluk saptanmıştır (159). Matejeic ve arkadaşları tarafından yapılan, Avrupa Kanseri ve Beslenme Üzerine Prospektif Araştırma (EPIC) kohortunda folat ve B12 vitamini biyobelirteçleri ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada; plazma folat ve B12 vitamini seviyeleri, meme kanseri riski veya hormon reseptör durumu ile ilişkili bulunmamıştır (160). Çalışmamızda; hastaların tanı anında bakılan B12 vitamin düzeyleri ile kemik iliği retiküler lif dereceleri, hastalık evreleri ve doubling time arasındaki ilişkiyi inceledik. Tanı anında 52 hastanın B12 vitamin seviyelerine bakılmış olup ortalama değer 445 idi. (30-2200) Spearman's rho korelasyon analizi sonuçlarına göre, KLL hastalarında tanı anında bakılan B12 seviyesi ile doubling time, retiküler lif derecesi, evre ve tedavisiz sağ kalım arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olan tanı anında her hastaya B12 vitamin düzeyi bakılmaması, anlamlı bir ilişki tespit edilememesine sebep olarak gösterilebilir. Yeterli sayıda hasta ile yapılacak bir çalışmada B12 seviyesi ile retiküler lif derecesi, doubling time ve tedavisiz sağ kalım süresi arasında anlamlı ve literatüre katkı sağlayacak bilgiler tespit edileceği düşünülmektedir.

Dekker ve arkadaşları tarafından myeloid ve lenfoid malignitesi olan hastalarda hiperkobalaminemi prevalansını incelemek için 404 hastadan oluşan retrospektif bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, miyeloid malignitesi olan hasta grubunun % 42'sinde, lenfoid malignitesi olan hasta grubunun % 22'sinde yüksek kobalamin düzeyleri bulunmuş ve B 12 vitamin düzeylerinde yükselme olmasının hem miyeloid hem de lenfoid malignitelerin ortak bir özelliği olduğu sonucuna varılmıştır.

Hannisdal ve arkadaşları tarafından Kuzey Norveç'te 62 hastanın sağ kalım verilerinin incelendiği bir çalışmada; yüksek eritrosit sedimentasyon hızı yüksek riskli hastaları belirten önemli bir prognostik faktör olarak belirlenmiştir (161). Çalışmamızda 57 hastaya tanı anında eritrosit sedimentasyon hızı bakılmıştı. Hastaların ortalama eritrosit sedimentasyon hızı; 21.75 olarak bulundu. KLL hastalarında tanı anındaki retiküler lif derecesi ile sedimentasyon değeri arasında anlamlı ilişki olup olmadığını değerlendirdik ve gruplar arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna ulaştık. ($p>0.05$).

Kronik inflamasyon; artmış kemokin, sitokin düzeyleri, ROS birikimi, bunun sonucundaki genetik dengesizlik ve ardından neoplazmların gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkilendirilebilir (162). Kronik inflamasyon malign hücre topluluğu gelişmeden önce olsa da, sonrasında kanser hücre biyolojisi ile ilişkili olarak devam eder. Myelofibrozis; hematolojik malignitenin klonal gelişimi ile kronik inflamasyon arasındaki ilişkinin bariz örneklerindedir. Myelofibrozis hastalarının retrospektif kohortlarından elde edilen sonuçlara göre; IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF α ve interferon (IFN) γ gibi birçok inflamatuvar sitokin ve granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), PDGF, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) dahil büyüme faktörlerinin düzeylerinde artış olmaktadır (163-165). Myelofibrozis ve kemik iliği retiküler fibrozisinin patogenezi ile inflamatuvar süreçlerin iç içe olması CRP gibi inflamatuvar proteinlerin araştırma konusu olmasına zemin hazırlamıştır (166). Herishanu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek başlangıç CRP düzeyleri, KLL hastalarında daha kısa sağkalım ve ikinci kanser gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (167). Pavlidis ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, önceden tedavi edilmemiş 50 Non-hodgkin lenfoma ve KLL hastasında solubl interlökin-2 reseptörleri, beta-2 mikroglobulin, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve CRP seviyeleri araştırılmış ve normal kontrollerle

karşılaştırıldığında, hem NHL hem de KLL hastalarında ESR ve CRP düzeylerinde artış saptanmıştır (168). Barosi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, primer myelofibrozisli 526 kişi incelenmiş ve yüksek plazma hs-CRP seviyeleri hastalık progresyonu ve kötü sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir. Plazma hs-CRP düzeyleri artmış grupta; anemi, lökosit sayısında artma, düşük trombosit sayısı, artmış splenomegali, artmış blast sayısı, artmış CD34 pozitif kan hücreleri gibi hastalık progresyonu ile ilişkili klinik ve biyolojik değişkenler raporlanmıştır (169). KLL hastalarında tanı anında bakılan CRP değeri ile retiküler lif derecesi karşılaştırıldığında post hoc testi sonuçlarına göre retiküler lif derecesi 0 olan grupta CRP ortalaması en yüksek olup, RL0-RL1, RL0-RL2 ve RL0-RL3 olan hasta grupları arasındaki farklar ayrı ayrı istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). KLL hastalarında, enfektif süreçler morbidite ve mortalitenin önemli nedenlerindedir (170, 171). KLL hastaları, hasta, hastalık ve tedaviyle ilişkili faktörlere bağlı olarak artan enfeksiyon riski altındadır. Hastalardaki artmış enfeksiyon riski bireysel özellikler, hastalık süreci ve alınan tedavi modalitelerine göre değişiklikler göstermektedir (170, 172). Artan enfeksiyon oranları bağışıklık sistemindeki birçok mekanizmadaki aksaklıklara bağlıdır. Hipogammaglobulinemi, hücre aracılı immünite ve antikor bağımlı hücresel sitotoksistide eksiklikler ve T hücre fonksiyonlarında bozulma önde gelen nedenlerdendir (173, 174). Biz de çalışmamızda erken evre hasta gruplarında bile yüksek CRP değerleri olduğunu ve hastaların CRP yüksekliğinin altında yatan enfektif patolojilere bağlı interne edilerek ya da ayaktan tedavi aldığını gördük. Fakat KLL hastalarında tanı anında bakılan kemik iliği retiküler lif derecesi ve fibrozisi ile CRP düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi için daha fazla sayıda hastanın dâhil edildiği, kontrol grubunun da olduğu prospektif çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Weinberg ve arkadaşları tarafından yapılan ve 190 hastayı içeren bir çalışmada, hastaların 107'sinde ldh düzeyi çalışılmış. Bu 107 hastanın 35'inde (%33) ldh düzeyi yüksek saptanmış. Çalışmada ldh yüksekliğiyle KLL'de ortalama yaşam süresi arasında ters orantılı olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (175). Çağlayan ve arkadaşları tarafından İzmir Bozyaka Eğitim Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniğinde izlenen 56 KLL hastasının verilerinin incelendiği bir çalışmada; hastaların 17'sinde (%30) ldh değerinin yüksek olduğu görüldü. Ldh değeri yüksekliği kötü

gidişle ilişkilendirildi (176). Lee ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, yüksek ldh düzeyleri artmış tümör yükü ve kötü prognozla bağdaştırıldı (177). Teke ve arkadaşları tarafından 2010-2018 yılları arasında Romatoloji Kliniğinde yapılan 140 kemik iliği aspirasyon biyopsisi endikasyonu konulan hastanın geriye dönük incelemesinde; patolojik sonuçları olan hastaların ldh değerleri normal kemik iliği aspirasyon biyopsi sonucuna sahip olan hastalara göre daha yüksek bulunmuş (178). Bu sonuç da tanı anında yüksek ldh değeri olan hastalarda kemik iliği fibrozis oranı ve tutulumunun yüksek mi olabileceği sorusunu akla getirmektedir. Bizim çalışmamızda da literatür ile benzer şekilde, hastaların 25'inde (%40) LDH değerinin yüksek olduğu bulundu. Retiküler lif derecesi ile ldh değeri arasında anlamlı ilişki açısından değerlendirme yapıldığında, fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Prognostik bir belirteç olarak kullanılan ldh'ın kemik iliği retiküler lif derecesi ile ilişkisinin netleşebilmesi için geniş sayıda hasta grubunu içeren ve hastaların survey analizlerinin de değerlendirildiği ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

KLL hastaları %80 oranında hastalık sürecinin bir noktasında enfeksiyonla karşılaşmakta ve enfeksiyon bağlı ölümler KLL'deki mortalitenin %60'ını oluşturmaktadır (179). Biz de çalışmamızda hastaların geriye dönük yıllık ortalama enfeksiyon sıklığını değerlendirdiğimizde 12 ayda ortalama 1,1 kez (minimum 0 maksimum 5) hastaneye başvurup ayaktan-yatarak, anti enfektif veya semptomatik tedavi gerektiren enfeksiyon geçirme oranı olduğunu gördük. Retiküler lif derecesi 3 olan grupta 12 ayda geçirilen ortalama enfeksiyon sıklığı 1,35 minimum değeri 0 ve maksimum değeri 5 olarak en sık enfeksiyon geçiren grup olarak karşımıza çıktı. Hastaların kemik iliği retiküler lif derecesi ile yıllık ortalama enfeksiyon geçirme sıklığı arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tadmor ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; incelenen KLL hastalarında 5 yıllık ortalama sağ kalım tüm kohort için %77,1 iken, Binet evre A olan hastalarda %85,7, Binet evre B olan hastalarda %74,15 ve Binet evre C olan hastalarda %46,1 bulunmuştur. Retiküler lif derecesi 0-1 olan hastalarda 5 yıllık sağ kalım %86,92 iken Retiküler lif derecesi 2-3 olan hastalarda %51,9 bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (5). Eren ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; KLL'de ileri derecedeki kemik iliği retiküler fibrozisi ve yaygın kemik

iliği infiltrasyon paterni olması tedavi gereksinimi oluşmasında yani tedavisiz sağ kalımın sonlanmasında istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmuştur. Kemik iliği infiltrasyon paterni de KLL'de iyi bilinen bir prognostik faktör olmasına karşın hastaların tedavi kararında henüz dikkate alınmamaktadır (149). Pangalis ve arkadaşların yaptığı çalışmada, kemik iliği infiltrasyon paterninin difüz olması KLL hastalarında ileri hastalık ile ilişkili bulunmuş ve difüz kemik iliği infiltrasyon paterni olan tüm hastaların takip sırasında tedavi ihtiyacı doğmuştur (180). Yine literatürde primer miyelofibrozis hastalarında daha yüksek derecelerde kemik iliği retiküler fibrozisinin kötü sağkalım ve hastalık seyri ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (114, 139). Dekmezyan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, KML hastaları retiküler fibrozis derecelerine göre gruplandırılmış ve analiz edilmiş, sonuç olarak kemik iliği retiküler fibrozisi yararlı bir biyolojik ve prognostik endeks olarak görülmüş (181). Khan ve arkadaşları tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada Kronik miyelomonositik lösemi tanısı almış 82 hasta değerlendirilmiş ve prognostik faktörler ile retiküler lif dereceleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışma sonucunda fibrozis derecesi ile prognoz arasında ilişki saptanmış ve yüksek dereceli kemik iliği retiküler fibrozisine sahip hastalarda düşük sağ kalım tespit edilmiştir (182). Kronik lenfositik lösemi hastalarında kemik iliği retiküler fibrozisi ve retiküler fibrozis derecelerinin prognostik önemi, kemik iliği infiltrasyon paterni kadar iyi tanımlanmamıştır. Biz de önceki çalışmalar ışığında KLL hastalarında tedavisiz sağ kalım ile retiküler lif derecesi ve evre arasındaki ilişkiyi aynı zamanda ortalama sağ kalım ile retiküler lif dereceleri arasındaki ilişkiyi araştırdık. Çalışmamızda; başlangıçta tedavi endikasyonu olmayan 26 hastanın ortalama tedavisiz sağ kalımı 15,38 ay idi. Retiküler lif derecelerine göre ayrı ayrı tedavisiz sağ kalım zamanlarına baktığımızda ise; retiküler lif derecesi 0 olan grupta tedavisiz sağ kalım ortalama 8,50 ay, derece 1 olan grupta tedavisiz sağ kalım ortalama 10,00 ay, retiküler lif derecesi 2 olan grupta tedavisiz sağ kalım ortalama 24,88 ay, retiküler lif derecesi 3 olan grupta tedavisiz sağ kalım ortalama 13,00 ay olarak bulundu. Fark analizi sonuçlarına göre gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Aynı zamanda, korelasyon analizi sonuçlarına göre hastaların tanı anından sonraki ilk kemoterapi ihtiyacı ile hastalık evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönde bir ilişki vardı ($p<0.01$). Evre arttıkça,

kemoterapi başlama zamanı için gereken ay azalmaktaydı. Önceki çalışmalarla benzer şekilde hastalık evresi arttıkça tedavisiz sağ kalım azalmaktaydı. Hastaların kemik iliği retiküler lif fibrozisi ile ortalama sağ kalım arasındaki ilişkiye baktığımız zaman; mortalite oranı en yüksek retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunda olup bunu retiküler lif derecesi 2 olan hasta grubu izlemekteydi. Retiküler lif derecesi 1 ve 3 olan hasta gruplarında mortalite saptanmadı. Retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunda hastaların %33,3'ünde, retiküler lif derecesi 2 olan hasta grubundaki hastaların %10,0'unda mortalite görüldü. Mortalite düzeylerinin ise gruplar arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Retiküler lif derecesi arttıkça, mortalite oranları düşmekteydi. Retiküler lif derecesi ile mortalite arasında negatif yönde ($r=-0.322$; $p<0.01$) ilişki vardı. Önceki verilerimiz ile birlikte değerlendirildiğinde; retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunda CRP ortalamasının diğer hasta gruplarına göre daha yüksek olması, yine bu grupta tedavisiz sağ kalım ortalamasının 8,50 ay ile diğer hasta gruplarına nazaran daha kısa bulunması dikkati çekmektedir. En önemlisi de kemik iliği retiküler fibrozis derecesi ile ortalama sağ kalım arasındaki ilişkiye baktığımız zaman, mortalite oranı retiküler lif derecesi 0 olan hasta grubunda en yüksek saptanmıştır ve retiküler lif derecesi arttıkça mortalite oranlarının düştüğü bulunmuştur. Bu sonuçlardan yola çıkarak KLL de retiküler lif derecesi ile prognoz ters ilişki olabileceğini ve kemik iliği retiküler lif derecesinin negatif bir prognostik faktör olarak kullanılabilirliğini düşünmekteyiz. Fakat çalışmamızın retrospektif olması, mortalite ve retiküler lif derecesi arasındaki ilişki için önceki çalışmalarla farklı sonuç bulunmasına sebep olarak gösterilebilir. Yeterli sayıda hasta ile yapılacak prospektif bir çalışmada mortalite ile retiküler lif derecesi arasındaki korelasyonun daha net tespit edileceği düşünülmektedir.

Glassman ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada KLL hastalarında FISH yöntemi ile konvansiyonel sitogenetik anomali yöntemi kıyaslanmıştır. FISH yöntemi ile hastaların %64'ünde kromozomal anomali saptanırken, konvansiyonel sitogenetik yöntemde bu oran %28'de kalmıştır (183). Çalışmamızda, hastalarımızın %67'sine genetik çalışma yapıldı. Genetik inceleme yapılan hastaların %44,2'sinde genetik mutasyon saptandı. Genetik mutasyon saptanan hastalardan %36,8'inde 17p delesyonu, %52,6'sında 13q delesyonu mevcuttu. Almanya'da Döhner ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 325 KLL'li hastanın sitogenetik tarama sonuçlarında

hastaların % 82'sinde sitogenetik anomali bulunmuş olup, sırasıyla 13q14 % 55; 11q % 18; trizomi12 % 16; 17p delesyonu % 7 sıklıkta çıkmıştır (58). Durak ve arkadaşlarının Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapmış olduğu 79 KLL hastasını içeren bir çalışmada, 26 (%32,9) vakada 13q14 delesyonu, 12 (%15,2) vakada trizomi 12, 6 (%7,6) vakada 17p13 delesyonu, 4 (%5,1) vakada 11q22.3 delesyonu ve 31 (%39) vakada ise normal karyotip tespit edilmiştir (184). Eren ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, hastaların %28,6'sında Del 13q14, %10'unda Del 11q22, %4,2'sinde ise Del 17 p saptanmıştır (149). Çalışma verilerimizin literatür verileri ile yakın olduğu izlenmektedir. 17 p delesyonunun bizim çalışmamızda diğer verilere kıyasla yüksek saptanması, hasta sayısının azlığına ve diğer mutasyonların az sayıda hastada bakılmış olması nedeniyle bu ilişkinin gösterilemediği düşünüldü. Tadmor ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada kemik iliği fibrozisi derecesinin artması ile 11 q delesyonu arasında anlamlı bir korelasyon saptanmış. Yine aynı çalışmada ileri fibrozis ve 17p delesyonu arasında korelasyon saptanmış, ancak kesin sonuçlar elde etmek için örnek boyutunun küçük olduğu vurgulanmış (5). Bizim çalışmamızda mutasyon pozitifliği ve mutasyon alt grupları ile retiküler lif dereceleri anlamlı farklılık göstermedi ($p>0.05$). Bu çalışma grubumuzun küçüklüğüne ve mutasyon analizlerinin az sayıda hastada yapılmış olmasına bağlandı. Gelecekte daha büyük hasta kohortları ile yapılacak çalışmaların, genetik imkânların da artması ile bu ilişki hakkında daha kesin sonuçlar doğuracağını düşünmekteyiz. Çalışmamızdaki mutasyon pozitifliğinin diğer araştırma parametreleri ile ilişkisine yönelik yapılan Spearman's rho korelasyon analizi sonuçlarında; hastaların mutasyon pozitiflik oranlarıyla, hemoglobin değeri arasında pozitif yönde ve anlamlı ($r=0.321$; $p<0.05$) bir ilişki olduğu sonucuna ulaştık. Tanı anında bakılan hemoglobin değeri yükseldikçe hastaların mutasyon pozitifliği oranı da artmaktaydı.

Doubling time zamanı ve mutasyon pozitifliği arasında ise negatif yönde ($r=-0.356$; $p<0.05$) ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı ($p<0.05$). Doubling time zamanı kısa olan hastalarda, herhangi bir mutasyona sahip olma oranı yüksek idi; bu durum da literatür ile uyumludur. Doubling time uzun süredir kullanılan geleneksel bir prognostik belirteçdir ve bireysel hastalık fizyopatolojisi ile ilişkilidir (36). Her geçen gün KLL için yeni prognostik belirteçlerin tanımlandığı bir dönemde bile

doubling time'in ortalama sağ kalım ile ilişkili bağımsız bir prognostik belirteç olarak uygulanabilir olduğu düşünülmüştür. LDT; IgHV mutasyonu ile de iyi korelasyon gösteren bir prognostik biyobelirteçdir (185). KLL hücrelerinde IgHV mutasyon durumu hücre proliferasyon hızı ile ilgilidir. LDT'ı kısa olan hücreler hızlı bir bölünme hızına sahip yani mutasyona uğramamış hücrelerdir (186). Ayer ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, hastaların %12,1'inde lenfosit doubling time'in <6 ay, %74,2'sinde >6 ay olduğu gösterilmiş (187). Bizim çalışmamızda da hastalarımızın %27,5'inde LDT 0-12 ay arası, %72,5'inde 12 ay ve üzeri olarak izlendi. Doubling time zamanı ile retiküler lif derecesine göre hasta grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Sonuç olarak; KLL ciddi morbidite ve mortalitesi olan, oldukça değişken klinik seyir gösteren bir hematolojik malignitedir. Bu hastalık grubunda tanının ardından prognoz ve klinik gidişatın önceden belirlenmesi hastalık yönetimi, takibi ve tedavisinde büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle ucuz ve kolay ulaşılabilir faktörlerin kullanılması KLL hastalarının yönetiminde büyük faydalar sağlayabilir. Birçok hematolojik hastalıkta kemik iliği retiküler lif derecesinin prognoz ve mortalite ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Hasta gruplarının retiküler lif dereceleri ile tanı anında bakılan CRP değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıydı. Yine çalışmamızda; hastalık evresi ile KT başlama zamanı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulduk. Evre arttıkça tedavisiz sağ kalım azalmaktaydı. Çalışmamızdaki korelasyon analizi sonuçlarına göre; retiküler lif derecesi ile yaş ve mortalite arasında pozitif ve anlamlı bir ilişki vardı. Yaş arttıkça retiküler lif derecesi artmakta ve retiküler lif derecesi arttıkça da mortalite oranları düşmekteydi. Fakat hastaların tanı anında bakılan kemik iliği retiküler lif dereceleri ile hemogram parametreleri, sedimentasyon, LDH değerleri ve yıllık enfeksiyon geçirme sıklığı, sitogenetik mutasyon durumu, doubling time arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi. Kemik iliği retiküler lif derecesinin diğer prognostik faktörler ve hastalık özellikleri ile ilişkisini inceleyen çalışmalar hala yetersiz olup, bu konu ile ilgili çok merkezli ve daha geniş vaka sayısına sahip prospektif çalışmalar yapmanın yararlı olacağını düşünüyoruz.

ÖZET

Kronik Lenfositik Lösemi Tanısı Almış Hastalarda Retiküler Lif Derecesi ile Laboratuvar ve Prognositik Faktörlerin İlişkisinin Değerlendirilmesi

Amaç: KLL, batı ülkelerinde en sık görülen lösemi türüdür. Tipik olarak ileri yaşlarda görülen KLL'nin klinik seyri ve spektrumu çok değişkendir. KLL seyrinin kişiden kişiye farklılık göstermesi nedeniyle, sağ kalımı etkileyen prognostik faktörlerin belirlenmesi, prognostik faktörlere göre yüksek riskli hastaların saptanması KLL yönetiminde önemlidir. Retiküler lif derecesinin hematolojik malignitelerde prognostik değeri birçok çalışmaya konu olmuştur. Bu çalışma, KLL hastalarında retiküler lif derecesinin araştırılması ve bunun klinik, laboratuvar, prognostik faktörlerle olan ilişkisini ortaya koymak amacıyla planlanmıştır.

Materyal ve Metod: Araştırmamızda; Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'na 2006-2019 yılları arasında başvuru yapan ve KLL tanısı alan hastalar, retrospektif olarak incelendi. Çalışmamıza kriterlere uyan 64 hasta alındı. Hastaların demografik, klinik, laboratuvar, sitogenetik verileri, evre, kemoterapi başlama zamanı, yıllık ortalama enfeksiyon sıklığı ve sağ kalıma ait veriler değerlendirildi. Bu verilerin tanı anında bakılan Retiküler lif derecesi ile arasındaki ilişki incelendi. Kemik iliği biyopsisi ile alınan örneklerde, Retiküler lif derecesi, Baurmeister sistemi kullanılarak kategorize edildi. Verilerin analizi SPSS 17.0 for Windows programı ile yapıldı.

Bulgular: Çalışmamıza dahil edilen 64 hastanın 37'si (%57,8) erkek, 27'si (%42,2) kadın idi. Genel yaş ortalaması 71.25 ± 11.77 olarak hesaplandı. Hasta gruplarının retiküler lif dereceleri ile, tanı anında bakılan CRP değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$). Hastalık evresi ile kemoterapi başlama zamanı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönde bir ilişki vardı ($p < 0,01$). Çalışmamızdaki korelasyon analizi sonuçlarına göre retiküler lif derecesi ile yaş arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki vardı ($p < 0,05$). Retiküler lif derecesi ile mortalite arasında negatif yönde anlamlı bir ilişki vardı. ($p < 0,01$)

Sonuç: KLL hastalarında, kemik iliği biyopsi örneklerindeki retiküler lif derecesinin hastalığın seyri ve mortalite açısından dikkate alınması gerektiği sonucuna varılmıştır. Ancak retiküler lif derecesinin diğer prognostik faktörler ve hastalık özellikleri ile ilişkisini inceleyen daha fazla hasta sayısının olduğu prospektif çalışmalar yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: Kronik lenfositik lösemi, retiküler lif, kemik iliği, prognostik faktörler

ABSTRACT

Evaluation of The Relationship of Reticular Fiber Degree and Laboratory and Prognocytic Factors in Patients with a Diagnosis of Chronic Lymphocytic Leukemia

Aim: CLL is the most common type of leukemia in western countries. CLL typically seen in older ages and the clinical course and spectrum of CLL is very variable. Determination of prognostic factors affecting survival and determination of high risk patients according to prognostic factors are important in the management of CLL, as the course of CLL differs from person to person. The prognostic value of reticular fiber grade in hematological malignancies has been the subject of many studies. This study was planned to investigate the degree of reticular fiber in patients with CLL and to reveal its relationship with clinical, laboratory and prognostic factors.

Materials and Methods: In our research; patients who applied to Süleyman Demirel University Faculty of Medicine Hematology Department between 2006 and 2019 and were diagnosed with CLL were retrospectively analyzed. 64 patients who met the criteria were included in our study. Demographic, clinical, laboratory, cytogenetic data, stage, start time of chemotherapy, average annual infection frequency and survival data were evaluated. The relationship between these data and the degree of reticular fiber at the time of diagnosis was examined. Reticular fiber grade of samples taken by bone marrow biopsy was categorized using Baurmeister system. Data analysis was done with SPSS 17.0 for Windows program.

Results: Of the 64 patients included in our study, 37 (57.8%) were male and 27 (42.2%) were female. Average age was calculated as 71.25 ± 11.77 . The differences between the reticular fiber grades of the patient groups and the CRP values at the time of diagnosis were statistically significant ($p < 0.05$). There was a statistically significant and negative correlation between the disease stage and the time of chemotherapy initiation ($p < 0.01$). According to the results of correlation analysis in our study, there was a positive significant relationship between reticular fiber grade and age ($p < 0.05$). There was a significant negative correlation between reticular fiber grade and mortality. ($p < 0.01$)

Conclusion: It was concluded that the degree of reticular fiber in bone marrow biopsy samples should be considered in terms of the course of the disease and mortality in patients with CLL. However, we think that prospective studies with more patients examining the relationship of reticular fiber grade with other prognostic factors and disease characteristics should be conducted.

Keywords: Chronic lymphocytic leukemia, reticular fiber, bone marrow, prognostic factors

KAYNAKLAR

1. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol.* 2019 Nov;94(11):1266-1287. doi: 10.1002/ajh.25595. Epub 2019 Oct 4. PMID: 31364186.
2. Yang SM, Li JY, Gale RP, Huang XJ. The mystery of chronic lymphocytic leukemia (CLL): Why is it absent in Asians and what does this tell us about etiology, pathogenesis and biology? *Blood Rev.* 2015 May;29(3):205-13. doi: 10.1016/j.blre.2014.12.001. Epub 2014 Dec 13. PMID: 25541495.
3. Furman RRJH, the American Society of Hematology Education Program Book. Prognostic markers and stratification of chronic lymphocytic leukemia. 2010;2010(1):77-81.
4. Zahr AA, Salama ME, Carreau N, Tremblay D, Verstovsek S, Mesa R, Hoffman R, Mascarenhas J. Bone marrow fibrosis in myelofibrosis: pathogenesis, prognosis and targeted strategies. *Haematologica.* 2016 Jun;101(6):660-71. doi: 10.3324/haematol.2015.141283. PMID: 27252511; PMCID: PMC5013940.
5. Tadmor T, Shvidel L, Aviv A, Ruchlemer R, Bairey O, Yuklea M, Herishanu Y, Braester A, Rahimi-Levene N, Vernea F, Ben-Ezra J, Bejar J, Polliack A; Israeli CLL Study Group. Significance of bone marrow reticulin fibrosis in chronic lymphocytic leukemia at diagnosis: a study of 176 patients with prognostic implications. *Cancer.* 2013 May 15;119(10):1853-9. doi: 10.1002/cncr.27930. Epub 2013 Feb 19. Erratum in: *Cancer.* 2013 Sep 1;119(17):3256. Levene, Naomi [corrected to Rahimi-Levene, Naomi]. PMID: 23423815.
6. Nuñez C, Nishimoto N, Gartland GL, Billips LG, Burrows PD, Kubagawa H, Cooper MD. B cells are generated throughout life in humans. *J Immunol.* 1996 Jan 15;156(2):866-72. PMID: 8543844.
7. Medina KL, Singh H. Genetic networks that regulate B lymphopoiesis. *Curr Opin Hematol.* 2005 May;12(3):203-9. doi: 10.1097/01.moh.0000160735.67596.a0. PMID: 15867576.
8. Tussiwand R, Bosco N, Ceredig R, Rolink AG. Tolerance checkpoints in B-cell development: Johnny B good. *Eur J Immunol.* 2009 Sep;39(9):2317-24. doi: 10.1002/eji.200939633. PMID: 19714572.
9. Chappell CP, Jacob J. Germinal center-derived B cell memory. *Crossroads between Innate and Adaptive Immunity: Springer; 2007.* p. 139-48.
10. Swerdlow SH Scot. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 2008;22008:439.
11. Rai KR, Jain P. Chronic lymphocytic leukemia (CLL)-Then and now. *Am J Hematol.* 2016 Mar;91(3):330-40. doi: 10.1002/ajh.24282. PMID: 26690614.

12. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, Hillmen P, Keating MJ, Montserrat E, Rai KR, Kipps TJ; International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008 Jun 15;111(12):5446-56. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906. Epub 2008 Jan 23. Erratum in: *Blood*. 2008 Dec 15;112(13):5259. PMID: 18216293; PMCID: PMC2972576.
13. Ries Lag, Eisner M, Kosary C, Hankey B, Miller B, Clegg L, et al. SEER cancer statistics review. 1975;2004.
14. Scarfò L, Ferreri AJ, Ghia P. Chronic lymphocytic leukaemia. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016 Aug;104:169-82. doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.06.003. Epub 2016 Jun 16. PMID: 27370174.
15. Yuille MR, Matutes E, Marossy A, Hilditch B, Catovsky D, Houlston RS. Familial chronic lymphocytic leukaemia: a survey and review of published studies. *Br J Haematol*. 2000 Jun;109(4):794-9. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.02111.x. PMID: 10929032.
16. Schubauer-Berigan MK, Daniels RD, Fleming DA, Markey AM, Couch JR, Ahrenholz SH, Burphy JS, Anderson JL, Tseng CY. Chronic lymphocytic leukaemia and radiation: findings among workers at five US nuclear facilities and a review of the recent literature. *Br J Haematol*. 2007 Dec;139(5):799-808. doi: 10.1111/j.1365-2141.2007.06843.x. Epub 2007 Oct 6. PMID: 17922878.
17. Linet MS, Schubauer-Berigan MK, Weisenburger DD, Richardson DB, Landgren O, Blair A, Silver S, Field RW, Caldwell G, Hatch M, Dores GM. Chronic lymphocytic leukaemia: an overview of aetiology in light of recent developments in classification and pathogenesis. *Br J Haematol*. 2007 Dec;139(5):672-86. doi: 10.1111/j.1365-2141.2007.06847.x. PMID: 18021081.
18. Inamdar KV, Bueso-Ramos CE. Pathology of chronic lymphocytic leukemia: an update. *Ann Diagn Pathol*. 2007 Oct;11(5):363-89. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2007.08.002. PMID: 17870025.
19. Parker TL, Strout MP. Chronic lymphocytic leukemia: prognostic factors and impact on treatment. *Discov Med*. 2011 Feb;11(57):115-23. PMID: 21356166.
20. Ghia P, Ferreri AM, Caligaris-Cappio F. Chronic lymphocytic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2007 Dec;64(3):234-46. doi: 10.1016/j.critrevonc.2007.04.008. Epub 2007 Jun 1. PMID: 17544290.
21. Wadhwa PD, Morrison VA. Infectious complications of chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol*. 2006 Apr;33(2):240-9. doi: 10.1053/j.seminoncol.2005.12.013. PMID: 16616071.
22. Diehl LF, Ketchum LH, editors. Autoimmune disease and chronic lymphocytic leukemia: autoimmune hemolytic anemia, pure red cell aplasia, and autoimmune thrombocytopenia. *Seminars in oncology*; 1998.

23. Langerbeins P, Maurer C, Cramer P, Eichhorst B, Hallek MJL, lymphoma. Second cancers in chronic lymphocytic leukemia: growing importance in the era of improved treatment outcomes. 2015;56(6):1575-6.
24. Molica S, Mauro FR, Molica M, Del Giudice I, Foà R. Monoclonal B-cell lymphocytosis: a reappraisal of its clinical implications. *Leuk Lymphoma*. 2012 Sep;53(9):1660-5. doi: 10.3109/10428194.2012.666542. Epub 2012 Mar 16. PMID: 22335530.
25. Nabhan C, Rosen ST. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical review. *JAMA*. 2014 Dec 3;312(21):2265-76. doi: 10.1001/jama.2014.14553. PMID: 25461996.
26. Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, Ghia P, Hillmen P, Hallek M, Buske C; ESMO Guidelines Committee. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015 Sep;26 Suppl 5:v78-84. doi: 10.1093/annonc/mdv303. PMID: 26314781.
27. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975 Aug;46(2):219-34. PMID: 1139039.
28. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguet H, Goasguen J, Vaugier G, Potron G, Colona P, Oberling F, Thomas M, Tchernia G, Jacquillat C, Boivin P, Lesty C, Duault MT, Monconduit M, Belabbes S, Gremy F. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981 Jul 1;48(1):198-206. doi: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cncr2820480131>3.0.co;2-v. PMID: 7237385.
29. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol*. 2017 Sep;92(9):946-965. doi: 10.1002/ajh.24826. PMID: 28782884.
30. Montserrat E. Classical and new prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia: where to now? *Hematol J*. 2002;3(1):7-9. doi: 10.1038/sj.thj.6200139. PMID: 11960388.
31. Zenz T, Mertens D, Küppers R, Döhner H, Stilgenbauer S. From pathogenesis to treatment of chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2010 Jan;10(1):37-50. doi: 10.1038/nrc2764. Epub 2009 Dec 3. PMID: 19956173.
32. Molica S. Prognostic value of biological variables in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Can we improve upon clinical parameters? *Haematologica*. 1997 Nov-Dec;82(6):705-9. PMID: 9499672.
33. Wierda WG, O'Brien S, Wang X, Faderl S, Ferrajoli A, Do KA, Cortes J, Thomas D, Garcia-Manero G, Koller C, Beran M, Giles F, Ravandi F, Lerner S, Kantarjian H, Keating M. Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2007 Jun 1;109(11):4679-85. doi: 10.1182/blood-2005-12-051458. Epub 2007 Feb 13. PMID: 17299097.

34. Shanafelt TD, Geyer SM, Kay NE. Prognosis at diagnosis: integrating molecular biologic insights into clinical practice for patients with CLL. *Blood*. 2004 Feb 15;103(4):1202-10. doi: 10.1182/blood-2003-07-2281. Epub 2003 Oct 23. PMID: 14576043.
35. Molica S, Alberti A. Prognostic value of the lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*. 1987 Dec 1;60(11):2712-6. doi: 10.1002/1097-0142(19871201)60:11<2712::aid-cnrc2820601122>3.0.co;2-1. PMID: 3677006.
36. Montserrat E, Sanchez-Bisono J, Viñolas N, Rozman C. Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: analysis of its prognostic significance. *Br J Haematol*. 1986 Mar;62(3):567-75. doi: 10.1111/j.1365-2141.1986.tb02969.x. PMID: 3954968.
37. Späti B, Child JA, Kerruish SM, Cooper EH. Behaviour of serum beta 2-microglobulin and acute phase reactant proteins in chronic lymphocytic leukaemia. A multicentre study. *Acta Haematol*. 1980;64(2):79-86. doi: 10.1159/000207215. PMID: 6159766.
38. Simonsson B, Wibell L, Nilsson K. Beta 2-microglobulin in chronic lymphocytic leukaemia. *Scand J Haematol*. 1980 Feb;24(2):174-80. doi: 10.1111/j.1600-0609.1980.tb02364.x. PMID: 6154964.
39. Molica S, Levato D, Cascavilla N, Levato L, Musto P. Clinico-prognostic implications of simultaneous increased serum levels of soluble CD23 and beta2-microglobulin in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol*. 1999 Feb;62(2):117-22. doi: 10.1111/j.1600-0609.1999.tb01731.x. PMID: 10052715.
40. Montserrat E, Rozman C. Bone marrow biopsy in chronic lymphocytic leukemia: a review of its prognostic importance. *Blood Cells*. 1987;12(2):315-26. PMID: 3304470.
41. Rozman C, Hernandez-Nieto L, Montserrat E, Bruges R. Prognostic significance of bone-marrow patterns in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 1981 Apr;47(4):529-37. doi: 10.1111/j.1365-2141.1981.tb02681.x. PMID: 7213576.
42. Rozman C, Montserrat E, Rodríguez-Fernández JM, Ayats R, Vallespi T, Parody R, Ríos A, Prados D, Morey M, Gomis F, et al. Bone marrow histologic pattern--the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 329 cases. *Blood*. 1984 Sep;64(3):642-8. PMID: 6466871.
43. Matthews C, Catherwood MA, Morris T, Kettle PJ, Drake MB, Gilmore WS, et al. Serum TK levels in CLL identify Binet stage A patients within biologically defined prognostic subgroups most likely to undergo disease progression. 2006;77(4):309-17.
44. Magnac C, Porcher R, Davi F, Nataf J, Payelle-Brogard B, Tang RP, Opezzo P, Lévy V, Dighiero G, Ajchenbaum-Cymbalista F. Predictive value of serum thymidine kinase level for Ig-V mutational status in B-CLL. *Leukemia*. 2003 Jan;17(1):133-7. doi: 10.1038/sj.leu.2402780. PMID: 12529670.

45. Hallek M, Langenmayer I, Nerl C, Knauf W, Dietzfelbinger H, Adorf D, Ostwald M, Busch R, Kuhn-Hallek I, Thiel E, Emmerich B. Elevated serum thymidine kinase levels identify a subgroup at high risk of disease progression in early, nonsmoldering chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999 Mar 1;93(5):1732-7. PMID: 10029603.
46. Stilgenbauer S, Schnaiter A, Paschka P, Zenz T, Rossi M, Döhner K, Bühler A, Böttcher S, Ritgen M, Kneba M, Winkler D, Tausch E, Hoth P, Edelmann J, Mertens D, Bullinger L, Bergmann M, Kless S, Mack S, Jäger U, Patten N, Wu L, Wenger MK, Fingerle-Rowson G, Lichter P, Cazzola M, Wendtner CM, Fink AM, Fischer K, Busch R, Hallek M, Döhner H. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood*. 2014 May 22;123(21):3247-54. doi: 10.1182/blood-2014-01-546150. Epub 2014 Mar 20. PMID: 24652989.
47. Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, Buchbinder A, Budman D, Dittmar K, Kolitz J, Lichtman SM, Schulman P, Vinciguerra VP, Rai KR, Ferrarini M, Chiorazzi N. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999 Sep 15;94(6):1840-7. PMID: 10477712.
48. Kröber A, Seiler T, Benner A, Bullinger L, Brückle E, Lichter P, Döhner H, Stilgenbauer S. V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002 Aug 15;100(4):1410-6. PMID: 12149225.
49. Zenz T, Fröhling S, Mertens D, Döhner H, Stilgenbauer S. Moving from prognostic to predictive factors in chronic lymphocytic leukaemia (CLL). *Best Pract Res Clin Haematol*. 2010 Mar;23(1):71-84. doi: 10.1016/j.beha.2009.12.003. PMID: 20620972.
50. Pflug N, Bahlo J, Shanafelt TD, Eichhorst BF, Bergmann MA, Elter T, Bauer K, Malchau G, Rabe KG, Stilgenbauer S, Döhner H, Jäger U, Eckart MJ, Hopfinger G, Busch R, Fink AM, Wendtner CM, Fischer K, Kay NE, Hallek M. Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014 Jul 3;124(1):49-62. doi: 10.1182/blood-2014-02-556399. Epub 2014 May 5. PMID: 24797299; PMCID: PMC4260976.
51. Ritgen M, Lange A, Stilgenbauer S, Döhner H, Bretscher C, Bosse H, Stuhr A, Kneba M, Dreger P. Unmutated immunoglobulin variable heavy-chain gene status remains an adverse prognostic factor after autologous stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2003 Mar 1;101(5):2049-53. doi: 10.1182/blood-2002-06-1744. Epub 2002 Oct 31. PMID: 12411304.
52. Dürig J, Nüchel H, Cremer M, Führer A, Halfmeyer K, Fandrey J, Möröy T, Klein-Hitpass L, Dührsen U. ZAP-70 expression is a prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2003 Dec;17(12):2426-34. doi: 10.1038/sj.leu.2403147. PMID: 14523469.

53. Rassenti LZ, Jain S, Keating MJ, Wierda WG, Grever MR, Byrd JC, Kay NE, Brown JR, Gribben JG, Neuberg DS, He F, Greaves AW, Rai KR, Kipps TJ. Relative value of ZAP-70, CD38, and immunoglobulin mutation status in predicting aggressive disease in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2008 Sep 1;112(5):1923-30. doi: 10.1182/blood-2007-05-092882. Epub 2008 Jun 24. PMID: 18577710; PMCID: PMC2518894.
54. Rosenwald A, Alizadeh AA, Widhopf G, Simon R, Davis RE, Yu X, Yang L, Pickeral OK, Rassenti LZ, Powell J, Botstein D, Byrd JC, Grever MR, Cheson BD, Chiorazzi N, Wilson WH, Kipps TJ, Brown PO, Staudt LM. Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med*. 2001 Dec 3;194(11):1639-47. doi: 10.1084/jem.194.11.1639. PMID: 11733578; PMCID: PMC2193523.
55. Joshi AD, Hegde GV, Dickinson JD, Mittal AK, Lynch JC, Eudy JD, Armitage JO, Bierman PJ, Bociek RG, Devetten MP, Vose JM, Joshi SS. ATM, CTLA4, MND1, and HEM1 in high versus low CD38 expressing B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res*. 2007 Sep 15;13(18 Pt 1):5295-304. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0283. PMID: 17875758.
56. Chevallier P, Penther D, Avet-Loiseau H, Robillard N, Ifrah N, Mahé B, Hamidou M, Maisonneuve H, Moreau P, Jardel H, Harousseau JL, Bataille R, Garand R. CD38 expression and secondary 17p deletion are important prognostic factors in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2002 Jan;116(1):142-50. doi: 10.1046/j.0007-1048.2001.3205.x. PMID: 11841407.
57. Chiorazzi NJH, the American Society of Hematology Education Program Book. Implications of new prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. 2012;2012(1):76-87.
58. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, Döhner K, Bentz M, Lichter P. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2000 Dec 28;343(26):1910-6. doi: 10.1056/NEJM200012283432602. PMID: 11136261.
59. Zenz T, Mertens D, Döhner H, Stilgenbauer SJL, lymphoma. Molecular diagnostics in chronic lymphocytic leukemia—pathogenetic and clinical implications. 2008;49(5):864-73.
60. Döhner H, Stilgenbauer S, James MR, Benner A, Weilguni T, Bentz M, Fischer K, Hunstein W, Lichter P. 11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis. *Blood*. 1997 Apr 1;89(7):2516-22. PMID: 9116297.
61. Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials. CLL Trialists' Collaborative Group. *J Natl Cancer Inst*. 1999 May 19;91(10):861-8. doi: 10.1093/jnci/91.10.861. PMID: 10340906.
62. Dighiero G, Maloum K, Desablens B, Cazin B, Navarro M, Leblay R, Leporrier M, Jaubert J, Lepeu G, Dreyfus B, Binet JL, Travade P. Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 1998 May 21;338(21):1506-14. doi: 10.1056/NEJM199805213382104. PMID: 9593789.

63. Sharma S, Rai KR. Chronic lymphocytic leukemia (CLL) treatment: So many choices, such great options. *Cancer*. 2019 May 1;125(9):1432-1440. doi: 10.1002/cncr.31931. Epub 2019 Feb 26. PMID: 30807655.
64. Fischer K, Cramer P, Busch R, Böttcher S, Bahlo J, Schubert J, et al. Bendamustine in combination with rituximab for previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. 2012;30(26):3209-16.
65. Sauter C, Lamanna N, Weiss MA. Pentostatin in chronic lymphocytic leukemia. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2008 Sep;4(9):1217-22. doi: 10.1517/17425255.4.9.1217. PMID: 18721115.
66. Nightingale G. Ofatumumab: a novel anti-CD20 monoclonal antibody for treatment of refractory chronic lymphocytic leukemia. *Ann Pharmacother*. 2011 Oct;45(10):1248-55. doi: 10.1345/aph.1P780. Epub 2011 Sep 6. PMID: 21896924.
67. Burger JA, O'Brien S. Evolution of CLL treatment - from chemoimmunotherapy to targeted and individualized therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018 Aug;15(8):510-527. doi: 10.1038/s41571-018-0037-8. PMID: 29777163.
68. O'Brien S. New agents in the treatment of CLL. 2008;2008(1):457-64.
69. Hallek M, Shanafelt TD, Eichhorst B. Chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet*. 2018 Apr 14;391(10129):1524-1537. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30422-7. Epub 2018 Feb 21. PMID: 29477250.
70. Herman SE, Gordon AL, Hertlein E, Ramanunni A, Zhang X, Jaglowski S, Flynn J, Jones J, Blum KA, Buggy JJ, Hamdy A, Johnson AJ, Byrd JC. Bruton tyrosine kinase represents a promising therapeutic target for treatment of chronic lymphocytic leukemia and is effectively targeted by PCI-32765. *Blood*. 2011 Jun 9;117(23):6287-96. doi: 10.1182/blood-2011-01-328484. Epub 2011 Mar 21. PMID: 21422473; PMCID: PMC3122947.
71. Herman SE, Mustafa RZ, Gyamfi JA, Pittaluga S, Chang S, Chang B, Farooqui M, Wiestner A. Ibrutinib inhibits BCR and NF- κ B signaling and reduces tumor proliferation in tissue-resident cells of patients with CLL. *Blood*. 2014 May 22;123(21):3286-95. doi: 10.1182/blood-2014-02-548610. Epub 2014 Mar 21. PMID: 24659631; PMCID: PMC4046423.
72. Ponader S, Chen SS, Buggy JJ, Balakrishnan K, Gandhi V, Wierda WG, Keating MJ, O'Brien S, Chiorazzi N, Burger JA. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 thwarts chronic lymphocytic leukemia cell survival and tissue homing in vitro and in vivo. *Blood*. 2012 Feb 2;119(5):1182-9. doi: 10.1182/blood-2011-10-386417. Epub 2011 Dec 16. PMID: 22180443; PMCID: PMC4916557.

73. Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, Robak T, Owen C, Ghia P, Bairey O, Hillmen P, Bartlett NL, Li J, Simpson D, Grosicki S, Devereux S, McCarthy H, Coutre S, Quach H, Gaidano G, Maslyak Z, Stevens DA, Janssens A, Offner F, Mayer J, O'Dwyer M, Hellmann A, Schuh A, Siddiqi T, Polliack A, Tam CS, Suri D, Cheng M, Clow F, Styles L, James DF, Kipps TJ; RESONATE-2 Investigators. Ibrutinib as Initial Therapy for Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2015 Dec 17;373(25):2425-37. doi: 10.1056/NEJMoa1509388. Epub 2015 Dec 6. PMID: 26639149; PMCID: PMC4722809.
74. Woyach JA, Ruppert AS, Heerema NA, Zhao W, Booth AM, Ding W, Bartlett NL, Brander DM, Barr PM, Rogers KA, Parikh SA, Coutre S, Hurria A, Brown JR, Lozanski G, Blachly JS, Ozer HG, Major-Elechi B, Fruth B, Nattam S, Larson RA, Erba H, Litzow M, Owen C, Kuzma C, Abramson JS, Little RF, Smith SE, Stone RM, Mandrekar SJ, Byrd JC. Ibrutinib Regimens versus Chemoimmunotherapy in Older Patients with Untreated CLL. *N Engl J Med.* 2018 Dec 27;379(26):2517-2528. doi: 10.1056/NEJMoa1812836. Epub 2018 Dec 1. PMID: 30501481; PMCID: PMC6325637.
75. Mato AR, Hill BT, Lamanna N, Barr PM, Ujjani CS, Brander DM, Howlett C, Skarbnik AP, Cheson BD, Zent CS, Pu JJ, Kiselev P, Foon K, Lenhart J, Henick Bachow S, Winter AM, Cruz AL, Claxton DF, Goy A, Daniel C, Isaac K, Kennard KH, Timlin C, Fanning M, Gashonia L, Yacur M, Svoboda J, Schuster SJ, Nabhan C. Optimal sequencing of ibrutinib, idelalisib, and venetoclax in chronic lymphocytic leukemia: results from a multicenter study of 683 patients. *Ann Oncol.* 2017 May 1;28(5):1050-1056. doi: 10.1093/annonc/mdx031. PMID: 28453705.
76. Jaglowski SM, Jones JA, Flynn JM, Andritsos LA, Maddocks KJ, Blum KA, et al. A phase Ib/II study evaluating activity and tolerability of BTK inhibitor PCI-32765 and ofatumumab in patients with chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL) and related diseases. *American Society of Clinical Oncology*; 2012.
77. Jones JA, Hillmen P, Coutre S, Tam C, Furman RR, Barr PM, Schuster SJ, Kipps TJ, Flinn IW, Jaeger U, Burger JA, Cheng M, Ninomoto J, James DF, Byrd JC, O'Brien SM. Use of anticoagulants and antiplatelet in patients with chronic lymphocytic leukaemia treated with single-agent ibrutinib. *Br J Haematol.* 2017 Jul;178(2):286-291. doi: 10.1111/bjh.14660. Epub 2017 Apr 10. PMID: 28397242; PMCID: PMC6084297.
78. O'Brien S, Jones JA, Coutre SE, Mato AR, Hillmen P, Tam C, Österborg A, Siddiqi T, Thirman MJ, Furman RR, Ilhan O, Keating MJ, Call TG, Brown JR, Stevens-Brogan M, Li Y, Clow F, James DF, Chu AD, Hallek M, Stilgenbauer S. Ibrutinib for patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion (RESONATE-17): a phase 2, open-label, multicentre study. *Lancet Oncol.* 2016 Oct;17(10):1409-1418. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30212-1. Epub 2016 Sep 13. PMID: 27637985.

79. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Kay NE, Reddy NM, Coutre S, Tam CS, Mulligan SP, Jaeger U, Devereux S, Barr PM, Furman RR, Kipps TJ, Cymbalista F, Pocock C, Thornton P, Caligaris-Cappio F, Robak T, Delgado J, Schuster SJ, Montillo M, Schuh A, de Vos S, Gill D, Bloor A, Dearden C, Moreno C, Jones JJ, Chu AD, Fardis M, McGreivy J, Clow F, James DF, Hillmen P; RESONATE Investigators. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2014 Jul 17;371(3):213-23. doi: 10.1056/NEJMoa1400376. Epub 2014 May 31. PMID: 24881631; PMCID: PMC4134521.
80. Leong DP, Caron F, Hillis C, Duan A, Healey JS, Fraser G, et al. The risk of atrial fibrillation with ibrutinib use: a systematic review and meta-analysis. 2016;128(1):138-40.
81. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Flinn IW, Burger JA, Blum KA, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. 2013;369(1):32-42.
82. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Burger JA, Blum KA, Coleman M, et al. Three-year follow-up of treatment-naive and previously treated patients with CLL and SLL receiving single-agent ibrutinib. 2015;125(16):2497-506.
83. O'Brien SM, Furman RR, Coutre SE, Flinn IW, Burger J, Blum K, et al. Five-year experience with single-agent ibrutinib in patients with previously untreated and relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic leukemia. American Society of Hematology Washington, DC; 2016.
84. Cory S, Roberts AW, Colman PM, Adams JM. Targeting BCL-2-like Proteins to Kill Cancer Cells. *Trends Cancer*. 2016 Aug;2(8):443-460. doi: 10.1016/j.trecan.2016.07.001. Epub 2016 Jul 30. PMID: 28741496.
85. Souers AJ, Levenson JD, Boghaert ER, Ackler SL, Catron ND, Chen J, et al. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. 2013;19(2):202-8.
86. D'Rozario J, Bennett SK. Update on the role of venetoclax and rituximab in the treatment of relapsed or refractory CLL. *Ther Adv Hematol*. 2019 May 10;10:2040620719844697. doi: 10.1177/2040620719844697. PMID: 31205643; PMCID: PMC6535706.
87. Lund J, Feldman B, Zinkl J, Jain NJPL, Williams, Wilkins. Toxicologic effects on blood and bone marrow Schalm's Veterinary Hematology 2000 5 Philadelphia.44:50.
88. Travlos GS. Normal structure, function, and histology of the bone marrow. *Toxicol Pathol*. 2006;34(5):548-65. doi: 10.1080/01926230600939856. PMID: 17067943.
89. Picker LJ. Lymphoid tissues and organs. 1999:479-532.
90. Hoffman R, Benz Jr EJ, Silberstein LE, Heslop H, Anastasi J, Weitz J. Hematology: basic principles and practice: Elsevier Health Sciences; 2013.
91. Munka V, Gregor A. Lymphatics and bone marrow. *Folia Morphol (Praha)*. 1965;13(4):404-12. PMID: 5842805.

92. Weiss L, Geduldig U. Barrier cells: stromal regulation of hematopoiesis and blood cell release in normal and stressed murine bone marrow. 1991.
93. Taichman RS. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood*. 2005 Apr 1;105(7):2631-9. doi: 10.1182/blood-2004-06-2480. Epub 2004 Dec 7. PMID: 15585658.
94. Ding L, Saunders TL, Enikolopov G, Morrison SJ. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature*. 2012 Jan 25;481(7382):457-62. doi: 10.1038/nature10783. PMID: 22281595; PMCID: PMC3270376.
95. Ryan D, Cohen H, Practice. 3rd ed. London UKCL. Bone marrow aspiration and morphology. 2000:2460-8.
96. Bain BJ, Clark DM, Wilkins BS. Bone marrow pathology: John Wiley & Sons; 2019.
97. Draganski E, Deason T, Craig FE. Bone Marrow Aspiration and Biopsy Performed by RNs: A Review of Clinical Practice. *Am J Nurs*. 2019 Sep;119(9):47-53. doi: 10.1097/01.NAJ.0000580260.18537.ca. PMID: 31449123.
98. Bain BJ. Bone marrow trephine biopsy. *J Clin Pathol*. 2001 Oct;54(10):737-42. doi: 10.1136/jcp.54.10.737. PMID: 11577117; PMCID: PMC1731298.
99. Zehnder JL, Schrier S, Rosmarin A. Bone marrow aspiration and biopsy: Indications and technique. 2011.
100. Weiss I, chen I-tjbc. Bone-marrow ultrastructure-organization of hematopoietic cords and vascular sinuses in bone-marrow. 1975;1(3):617-38.
101. Watanabe Y. Fine structure of bone marrow stroma. *Nihon Ketsueki Gakkai Zasshi*. 1985 Dec;48(8):1688-700. PMID: 3836546.
102. Cattoretti G, Schiró R, Orazi A, Soligo D, Colombo MP. Bone marrow stroma in humans: anti-nerve growth factor receptor antibodies selectively stain reticular cells in vivo and in vitro. *Blood*. 1993 Apr 1;81(7):1726-38. PMID: 7681701.
103. Kuter DJ, Bain B, Mufti G, Bagg A, Hasserjian RP. Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres. *Br J Haematol*. 2007 Nov;139(3):351-62. doi: 10.1111/j.1365-2141.2007.06807.x. PMID: 17910625.
104. Puchtler h. On the original definition of the term "reticulin". *J histochem cytochem*. 1964 jul;12:552. Doi: 10.1177/12.7.552. Pmid: 14209992.
105. Fakoya FA. Reticulin fibres in the tunica albuginea and peritubular tissue of seminiferous tubules of adult male Wistar rats. *Acta Histochem*. 2002;104(3):279-83. doi: 10.1078/0065-1281-00646. PMID: 12389742.
106. Ushiki T. Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. *Arch Histol Cytol*. 2002 Jun;65(2):109-26. doi: 10.1679/aohc.65.109. PMID: 12164335.
107. Kiernan J. 1999. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. Butterworth Heinemann Publication, Oxford, Pages: ll.

108. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques: Elsevier health sciences; 2008.
109. Bauermeister DE. Quantitation of bone marrow reticulin--a normal range. *Am J Clin Pathol.* 1971 Jul;56(1):24-31. doi: 10.1093/ajcp/56.1.24. PMID: 5556211.
110. Gömöri G. Silver Impregnation of Reticulum in Paraffin Sections. *Am J Pathol.* 1937 Nov;13(6):993-1002.5. PMID: 19970363; PMCID: PMC1911151.
111. Puchtler H, Waldrop FW. Silver impregnation methods for reticulum fibers and reticulin: a re-investigation of their origins and specificity. *Histochemistry.* 1978 Sep 15;57(3):177-87. doi: 10.1007/BF00492078. PMID: 711512.
112. Kiernan JAJS. *Histological and histochemical methods: theory and practice.* 1999;12(6):479.
113. Manoharan A, Horsley R, Pitney WR. The reticulin content of bone marrow in acute leukaemia in adults. *Br J Haematol.* 1979 Oct;43(2):185-90. doi: 10.1111/j.1365-2141.1979.tb03740.x. PMID: 508627.
114. Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, van der Walt J, Orazi AJh. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. 2005;90(8):1128-32.
115. Hann IM, Evans DI, Marsden HB, Jones PM, Palmer MK. Bone marrow fibrosis in acute lymphoblastic leukaemia of childhood. *J Clin Pathol.* 1978 Apr;31(4):313-5. doi: 10.1136/jcp.31.4.313. PMID: 273620; PMCID: PMC1145268.
116. Thiele J, Grashof K, Fisher R. Follow-up study on bone marrow reticulin fibrosis in AML. *Anal Cell Pathol.* 1991 Jul;3(4):225-31. PMID: 1883746.
117. O'Malley DP, Sen J, Juliar BE, Orazi A, medicine I. Evaluation of stroma in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome-affected bone marrows and correlation with CD4 counts. 2005;129(9):1137-40.
118. FOCAL JohnN. *Bone marrow pathology.* 1994;86(23):1795.
119. GROOPMAN JE. *The pathogenesis of myelofibrosis in myeloproliferative disorders.* American College of Physicians; 1980.
120. McCarthy DM. Annotation. Fibrosis of the bone marrow: content and causes. *Br J Haematol.* 1985 Jan;59(1):1-7. doi: 10.1111/j.1365-2141.1985.tb02956.x. PMID: 3882129.
121. Kimura A, Katoh O, Hyodo H, Kuramoto A. Transforming growth factor-beta regulates growth as well as collagen and fibronectin synthesis of human marrow fibroblasts. *Br J Haematol.* 1989 Aug;72(4):486-91. doi: 10.1111/j.1365-2141.1989.tb04310.x. PMID: 2789074.
122. Terui T, Niitsu Y, Mahara K, Fujisaki Y, Urushizaki Y, Mogi Y, et al. The production of transforming growth factor-beta in acute megakaryoblastic leukemia and its possible implications in myelofibrosis. 1990.

123. Martyre M, Romquin N, Le Bousse-Kerdiles M, Chevillard S, Benyahia B, Dupriez B, et al. Transforming growth factor- β and megakaryocytes in the pathogenesis of idiopathic myelofibrosis. 1994;88(1):9-16.
124. Rameshwar P, Denny TN, Stein D, Gascón P. Monocyte adhesion in patients with bone marrow fibrosis is required for the production of fibrogenic cytokines. Potential role for interleukin-1 and TGF-beta. *J Immunol.* 1994 Sep 15;153(6):2819-30. PMID: 7521370.
125. Johnston JB, Dalal BI, Israels SJ, Oh S, McMillan E, Begleiter A, Michaud G, Israels LG, Greenberg AH. Deposition of transforming growth factor-beta in the marrow in myelofibrosis, and the intracellular localization and secretion of TGF-beta by leukemic cells. *Am J Clin Pathol.* 1995 May;103(5):574-82. doi: 10.1093/ajcp/103.5.574. PMID: 7741102.
126. Chagraoui Hd, Komura E, Tulliez M, Giraudier Sp, Vainchenker W, Wendling FoJB, The Journal of the American Society of Hematology. Prominent role of TGF- β 1 in thrombopoietin-induced myelofibrosis in mice. 2002;100(10):3495-503.
127. Shehata M, Schwarzmeier JD, Hilgarth M, Hubmann R, Duechler M, Gisslinger H. TGF-beta1 induces bone marrow reticulin fibrosis in hairy cell leukemia. *J Clin Invest.* 2004 Mar;113(5):676-85. doi: 10.1172/JCI19540. PMID: 14991065; PMCID: PMC351317.
128. Roberts AB, McCune BK, Sporn MB. TGF-beta: regulation of extracellular matrix. *Kidney Int.* 1992 Mar;41(3):557-9. doi: 10.1038/ki.1992.81. PMID: 1573828.
129. Martyré MC, Magdelenat H, Bryckaert MC, Laine-Bidron C, Calvo F. Increased intraplatelet levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta in patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol.* 1991 Jan;77(1):80-6. doi: 10.1111/j.1365-2141.1991.tb07952.x. PMID: 1998600.
130. Tefferi A. Classification, diagnosis and management of myeloproliferative disorders in the JAK2V617F era. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006:240-5. doi: 10.1182/asheducation-2006.1.240. PMID: 17124067.
131. Wilks AF. Two putative protein-tyrosine kinases identified by application of the polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 Mar;86(5):1603-7. doi: 10.1073/pnas.86.5.1603. PMID: 2466296; PMCID: PMC286746.
132. Ihle JN, Gilliland DG. Jak2: normal function and role in hematopoietic disorders. *Curr Opin Genet Dev.* 2007 Feb;17(1):8-14. doi: 10.1016/j.gde.2006.12.009. Epub 2007 Jan 8. PMID: 17208428.
133. Lacout C, Pisani DF, Tulliez M, Gachelin FM, Vainchenker W, Villeval JL. JAK2V617F expression in murine hematopoietic cells leads to MPD mimicking human PV with secondary myelofibrosis. *Blood.* 2006 Sep 1;108(5):1652-60. doi: 10.1182/blood-2006-02-002030. Epub 2006 May 2. PMID: 16670266.

134. Wernig G, Mercher T, Okabe R, Levine RL, Lee BH, Gilliland DG. Expression of Jak2V617F causes a polycythemia vera-like disease with associated myelofibrosis in a murine bone marrow transplant model. *Blood*. 2006 Jun 1;107(11):4274-81. doi: 10.1182/blood-2005-12-4824. Epub 2006 Feb 14. PMID: 16478879; PMCID: PMC1895786.
135. Zaleskas VM, Krause DS, Lazarides K, Patel N, Hu Y, Li S, Van Etten RA. Molecular pathogenesis and therapy of polycythemia induced in mice by JAK2 V617F. *PLoS One*. 2006 Dec 20;1(1):e18. doi: 10.1371/journal.pone.0000018. PMID: 17183644; PMCID: PMC1762384.
136. Yönel i, sargin fd. Primer miyelofibrozis: patogenez, teşhis ve tedavide güncel bilgiler. 2015;77(4):67-77.
137. Kröger N, Zabelina T, Alchalby H, Stübiger T, Wolschke C, Ayuk F, et al. Dynamic of bone marrow fibrosis regression predicts survival after allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis. 2014;20(6):812-5.
138. Lekovic D, Gotic M, Perunicic-Jovanovic M, Vidovic A, Bogdanovic A, Jankovic G, et al. Contribution of comorbidities and grade of bone marrow fibrosis to the prognosis of survival in patients with primary myelofibrosis. 2014;31(3):869.
139. Gianelli U, Vener C, Bossi A, Cortinovis I, Iurlo A, Fracchiolla NS, et al. The European Consensus on grading of bone marrow fibrosis allows a better prognostication of patients with primary myelofibrosis. 2012;25(9):1193-202.
140. Nazha A, Estrov Z, Cortes J, Bueso-Ramos CE, Kantarjian H, Verstovsek S, et al. Prognostic implications and clinical characteristics associated with bone marrow fibrosis in patients with myelofibrosis. 2013;54(11):2537-9.
141. Campbell PJ, Bareford D, Erber WN, Wilkins BS, Wright P, Buck G, et al. Reticulin accumulation in essential thrombocythemia: prognostic significance and relationship to therapy. 2009;27(18):2991.
142. Barbui T, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Boveri E, Randi ML, et al. Initial bone marrow reticulin fibrosis in polycythemia vera exerts an impact on clinical outcome. 2012;119(10):2239-41.
143. Abdulkarim K, Ridell B, Johansson P, Kutti J, Safai-Kutti S, Andréasson B. The impact of peripheral blood values and bone marrow findings on prognosis for patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Eur J Haematol*. 2011 Feb;86(2):148-55. doi: 10.1111/j.1600-0609.2010.01548.x. Epub 2010 Dec 22. PMID: 21059102.
144. Buesche G, Ganser A, Schlegelberger B, Von Neuhoff N, Gadzicki D, Hecker H, et al. Marrow fibrosis and its relevance during imatinib treatment of chronic myeloid leukemia. 2007;21(12):2420-7.
145. Kantarjian HM, Bueso-Ramos CE, Talpaz M, O'Brien S, Giles F, Rios MB, et al. The degree of bone marrow fibrosis in chronic myelogenous leukemia is not a prognostic factor with imatinib mesylate therapy. 2005;46(7):993-7.

146. Fu B, Ok CY, Goswami M, Xei W, Jaso JM, Muzzafar T, et al. The clinical importance of moderate/severe bone marrow fibrosis in patients with therapy-related myelodysplastic syndromes. 2013;92(10):1335-43.
147. Fu B, Jaso JM, Sargent RL, Goswami M, Verstovsek S, Medeiros LJ, et al. Bone marrow fibrosis in patients with primary myelodysplastic syndromes has prognostic value using current therapies and new risk stratification systems. 2014;27(5):681-9.
148. Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, Travaglino E, Pietra D, Pascutto C, et al. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. 2009;27(5):754-62.
149. Eren R, Doğu MH, Emir S, Huq GE, Okçu O, Altındal Ş, et al. Rethinking the usefulness of bone marrow biopsy on treatment decision in CLL patients at diagnosis. 2017;96(8):1315-21.
150. Han T, Barcos M, Emrich L, Ozer H, Gajera R, Gomez G, et al. Bone marrow infiltration patterns and their prognostic significance in chronic lymphocytic leukemia: correlations with clinical, immunologic, phenotypic, and cytogenetic data. 1984;2(6):562-70.
151. El-Sewefy DA, Khattab DA, Sallam MT, Elsalakawy WAJTEJoH. Flow cytometric evaluation of CD200 as a tool for differentiation between chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma. 2014;39(2):42.
152. Schade U, Bock O, Vornhusen S, Jäger A, Büsche G, Lehmann U, et al. Bone marrow infiltration pattern in B-cell chronic lymphocytic leukemia is related to immunoglobulin heavy-chain variable region mutation status and expression of 70-kd ζ -associated protein (ZAP-70). 2006;37(9):1153-61.
153. Dores GM, Anderson WF, Curtis RE, Landgren O, Ostroumova E, Bluhm EC, et al. Chronic lymphocytic leukaemia and small lymphocytic lymphoma: overview of the descriptive epidemiology. 2007;139(5):809-19.
154. Hernández JA, Land KJ, McKenna RW. Leukemias, myeloma, and other lymphoreticular neoplasms. *Cancer*. 1995 Jan 1;75(1 Suppl):381-94. doi: 10.1002/1097-0142(19950101)75:1+<381::aid-cnrcr2820751320>3.0.co;2-b. PMID: 8001009.
155. Smith A, Howell D, Patmore R, Jack A, Roman E. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *Br J Cancer*. 2011 Nov 22;105(11):1684-92. doi: 10.1038/bjc.2011.450. Epub 2011 Nov 1. PMID: 22045184; PMCID: PMC3242607.
156. Cervantes F, Correa J-G, Hernandez-Boluda JCJEroh. Alleviating anemia and thrombocytopenia in myelofibrosis patients. 2016;9(5):489-96.
157. Andrès E, Serraj K, Zhu J, Vermorken AJ. The pathophysiology of elevated vitamin B12 in clinical practice. *QJM*. 2013 Jun;106(6):505-15. doi: 10.1093/qjmed/hct051. Epub 2013 Feb 27. PMID: 23447660.

158. Deneuville T, Mario N, Tiev K, Tolédano C, Josselin-Mahr L, Gain M, et al. Concentration plasmatique élevée de la vitamine B12: un indicateur des maladies hépatiques ou tumorales 2009;30(2):S73.
159. Zulfiqar A-A, Sebaux A, Drame M, Andres E, editors. Hypervitaminemia B12 and malignant diseases: report of a cross-sectional study in an acute geriatric unit. *Annales de Biologie Clinique*; 2017.
160. Matejcic M, De Batlle J, Ricci C, Biessy C, Perrier F, Huybrechts I, et al. Biomarkers of folate and vitamin B12 and breast cancer risk: report from the EPIC cohort. 2017;140(6):1246-59.
161. Hannisdal E, Grøttum KA, Langmark F. Erythrocyte sedimentation rate as a prognostic factor in chronic lymphocytic leukaemia. *Scand J Haematol.* 1986 Mar;36(3):253-7. doi: 10.1111/j.1600-0609.1986.tb01730.x. PMID: 3704549.
162. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008 Jul 24;454(7203):436-44. doi: 10.1038/nature07205. PMID: 18650914.
163. Pourcelot E, Trocme C, Mondet J, Bailly S, Toussaint B, Mossuz P. Cytokine profiles in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients: clinical implications. *Exp Hematol.* 2014 May;42(5):360-8. doi: 10.1016/j.exphem.2014.01.006. Epub 2014 Jan 23. PMID: 24463275.
164. Tefferi A, Vaidya R, Caramazza D, Finke C, Lasho T, Pardanani A. Circulating interleukin (IL)-8, IL-2R, IL-12, and IL-15 levels are independently prognostic in primary myelofibrosis: a comprehensive cytokine profiling study. *J Clin Oncol.* 2011 Apr 1;29(10):1356-63. doi: 10.1200/JCO.2010.32.9490. Epub 2011 Feb 7. PMID: 21300928.
165. Vaidya R, Gangat N, Jimma T, Finke CM, Lasho TL, Pardanani A, et al. Plasma cytokines in polycythemia vera: phenotypic correlates, prognostic relevance, and comparison with myelofibrosis. 2012;87(11):1003-5.
166. Lussana F, Rambaldi A. Inflammation and myeloproliferative neoplasms. *J Autoimmun.* 2017 Dec;85:58-63. doi: 10.1016/j.jaut.2017.06.010. Epub 2017 Jun 30. PMID: 28669446.
167. Herishanu Y, Polliack A, Shenhar-Tsarfaty S, Weinberger R, Gelman R, Ziv-Baran T, et al. Increased serum C-reactive protein levels are associated with shorter survival and development of second cancers in chronic lymphocytic leukemia. 2017;49(1):75-82.
168. Pavlidis AN, Kalef-Ezra J, Bourantas LC, Lambrou A, Mavridis A. Serum tumor markers in non-Hodgkin's lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. *Int J Biol Markers.* 1993 Jan-Mar;8(1):14-20. PMID: 8496627.
169. Barosi G, Massa M, Campanelli R, Fois G, Catarsi P, Viarengo G, et al. Primary myelofibrosis: Older age and high JAK2V617F allele burden are associated with elevated plasma high-sensitivity C-reactive protein levels and a phenotype of progressive disease. 2017;60:18-23.

170. Morrison VA. Management of infectious complications in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007;332-8. doi: 10.1182/asheducation-2007.1.332. PMID: 18024648.
171. Morrison VA. Infectious complications of chronic lymphocytic leukaemia: pathogenesis, spectrum of infection, preventive approaches. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2010 Mar;23(1):145-53. doi: 10.1016/j.beha.2009.12.004. PMID: 20620978.
172. Hensel M, Kornacker M, Yammeni S, Egerer G, Ho AD. Disease activity and pretreatment, rather than hypogammaglobulinaemia, are major risk factors for infectious complications in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2003 Aug;122(4):600-6. doi: 10.1046/j.1365-2141.2003.04497.x. PMID: 12899715.
173. Zelenetz AD, Gordon LI, Wierda WG, Abramson JS, Advani RH, Andreadis CB, et al. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma, version 1.2015. *J Clin Oncol*. 2015;33(3):326-62.
174. Forconi F, Moss P. Perturbation of the normal immune system in patients with CLL. *Blood*. 2015 Jul 30;126(5):573-81. doi:10.1182/blood-2015-03-567388. Epub 2015 Jun 17. PMID: 26084672.
175. Weinberg JB, Volkheimer AD, Chen Y, Beasley BE, Jiang N, Lanasa MC, et al. Clinical and molecular predictors of disease severity and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2007;21(12):1063-70.
176. Çağlıyan GA, Aslankarasoy N, Bilgir OJTJoTE, Hospital R. Evaluation Of The Chronic Lymphocytic Leukemia Patients: Single Center Experience. *Leukemia*. 24(1):43-8.
177. Lee JS, Dixon DO, Kantarjian HM, Keating MJ, Talpaz M. Prognosis of chronic lymphocytic leukemia: a multivariate regression analysis of 325 untreated patients. *Leukemia*. 1987.
178. Teke HÜ, Cansu DÜ, Korkmaz C. Indications for bone marrow examinations in rheumatology. *Rheumatol Int*. 2019 Jul;39(7):1221-1228. doi: 10.1007/s00296-019-04312-w. Epub 2019 Apr 30. PMID: 31041504.
179. Tadmor T, Welslau M, Hus IJEroh. A review of the infection pathogenesis and prophylaxis recommendations in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2018;32(1):57-70.
180. Pangalis GA, Roussou PA, Kittas C, Mitsoulis-Mentzikoff C, Matsouka-Alexandridis P, Anagnostopoulos N, et al. Patterns of bone marrow involvement in chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic (well differentiated) non-hodgkin's lymphoma. Its clinical significance in relation to their differential diagnosis and prognosis. *Leukemia*. 1984;54(4):702-8.
181. Dekmezian R, Kantarjian HM, Keating MJ, Talpaz M, McCredie KB, Freireich EJJC. The relevance of reticulin stain-measured fibrosis at diagnosis in chronic myelogenous leukemia. *Leukemia*. 1987;59(10):1739-43.
182. Khan M, Muzzafar T, Kantarjian H, Badar I, Short N, Wang X, et al. Association of bone marrow fibrosis with inferior survival outcomes in chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia*. 2018;32(7):1183-91.

183. Glassman AB, Hayes KJ. The value of fluorescence in situ hybridization in the diagnosis and prognosis of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2005 Apr 1;158(1):88-91. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2004.08.012. PMID: 15771912.
184. Durak B, Akay OM, Aslan V, Ozdemir M, Sahin F, Artan S, et al. Prognostic impact of chromosome alterations detected by FISH in Turkish patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. 2009;188(2):65-9.
185. Baumann t, delgado j, mozas p, ortiz-maldonado v, santacruz r, rozman m, et al., editors. Cll: is lymphocyte doubling time (ldt) a relevant prognostic parameter in the era of prognostic biomarkers? *Haematologica*; 2017: ferrata storti foundation via giuseppe belli 4, 27100 pavia, italy.
186. Rozovski U, Keating MJ, Estrov ZJAh. Why is the immunoglobulin heavy chain gene mutation status a prognostic indicator in chronic lymphocytic leukemia? 2018;140(1):51-4.
187. Ayer M, Akay ÇM, Ayer FA, Özmen D, Elibol T. Evaluation of Hypogammaglobulinemia in Chronic Lymphocytic Leukemia Patients and Its Relation to Poor Prognostic Factors. 2018;56(3).