

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

AKUT LÖSEMİ TANISI VE HEMATOLOJİK
HASTALIĞI OLAN HASTALARDA KEMİK İLİĞİ
HÜCRELERİNİN YENİ NESİL OTOMATİK KAN
SAYIM CİHAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. SELİN SİNEM KADIOĞLU TERZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ZÜHRE KAYA

ANKARA
MAYIS 2024

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

AKUT LÖSEMİ TANISI VE HEMATOLOJİK
HASTALIĞI OLAN HASTALARDA KEMİK İLİĞİ
HÜCRELERİNİN YENİ NESİL OTOMATİK KAN
SAYIM CİHAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. SELİN SİNEM KADIOĞLU TERZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ZÜHRE KAYA

ANKARA
MAYIS 2024

TEŞEKKÜR

Tezimi hazırlamamda çok büyük emeği olan, asistanlık sürem boyunca bilgisini her zaman paylaştan, akademik alanda gelişmemi destekleyen, bilgisine ve hekimliğine çok saygı duyduğum, kendime her zaman örnek aldığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Zühre KAYA'ya,

Asistanlık eğitim sürecinde ve özellikle başasistanlık dönemimde desteğini her zaman hissettiğim, hekimliğine ve yöneticiliğine çok saygı duyduğum ve çalışma etiğini her zaman örnek alacağım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Aysun BİDECİ'ye,

Asistanlık sürem boyunca ilk günden beri yanımda olan, beraber bir sürü güzel anılar biriktirdiğim, çok yorulduğumuz her an beraber gülebildiğimiz canım dostlarım Furkan, Aybike, Feyza'ya ve tüm eşkıdemlerime,

Bütün Gazi Pediatri Ailemizdeki Hocalarıma, Yandal uzmanlarına ve Asistan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca ellerini hep omzumda hissettiğim, çocukluk hayalimi gerçekleştirmemde büyük emekleri olan birtanecik annem Nurten Kadioğlu ve canım babam Ahmet Kadioğlu'ya,

Her zaman beni en iyi anlayan, beni doğruya yönlendiren, neşe kaynağım, diğer yarım kardeşim Ayşe'ye,

Tüm stresimi yumuşatan, en büyük destekçim, bana her zaman yol gösteren canım eşim Mert'e

Teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

Teşekkür

İçindekiler

Özet

Abstract

Kısaltmalar

Tablolar Listesi

Şekiller Listesi

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Çocukluk Çağı Akut Lösemileri	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Sıklık	3
2.1.3. Etiyoloji	4
2.1.4. Patogenez	4
2.1.5. Sınıflandırma	4
2.1.5.1. ALL sınıflandırması	4
2.1.5.2. AML sınıflandırması	6
2.1.6. Klinik ve laboratuvar bulgular	7
2.1.7. Tanı	8
2.1.8. Risk grupları	8
2.1.9. Prognoz	9
2.1.9.1. ALL Prognostik faktörler	9
2.1.9.2. AML prognostik faktörler	11
2.1.10. Tedavi	11
2.2. Hematopoez	20
2.3. Hematopoetik Kök Hücre	24
2.3.1. Kök hücre belirteçleri	27
2.4. Hematopoetik Kök Hücre Nakli	28

2.4.1. Hematopoetik Kök Hücre Nakli Aşamaları	29
2.4.2. Kök Hücre Kaynakları	29
2.4.2.1. Kemik iliği	30
2.4.2.2. Periferik kan kök hücre	31
2.4.2.3. Kordon kanı	31
2.5. Tam Kan Sayım Cihazı ve Ölçüm Yöntemleri	32
3. MATERYAL METOD	35
3.1. Çalışma Grupları	35
3.2. Çalışma Parametreleri	35
3.2.1. Eritrosit Seriyeye Ait Yeni Kan Sayım Parametreleri	37
3.2.2. Retikülosit Seriyeye Ait Yeni Kan Sayım Parametreleri	38
3.2.3. Lökosit Seriyeye Ait Yeni Kan Sayım Parametreleri	39
3.2.4. Yeni Nesil Kan Sayım Cihazındaki Gelişmeler ve <i>Hematopoetik Progenitor Cell (HPC)</i> Parametresi	40
3.3. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR	45
4.1. Demografik Veriler	45
4.2. Gruplar Arası İlk Kemik İliği Örneklerinde HPC ve Monosit Değerlendirilmesi	49
4.3. ALL Hastalarında Tedavi Günlerine Göre HPC ve Monosit Korelasyonu	50
4.4. ALL Hastalarında Tedavi Günlerine Göre HPC ve Monosit Karşılaştırılması	51
4.5. ALL Hastaları ile Sağlıklı Kontroller Arasında İlk Kemik İliği Değerlendirmesinde HPC ve Monosit Karşılaştırılması	57
4.6. ALL ve AML Hastalarının Tedavi Günlerine Göre HPC Karşılaştırması	58
4.7. ALL Hastalarının Relaps Durumlarına Göre HPC ve Monosit Karşılaştırması	59
4.8. ALL Hastalarının Sitogenetik Bozukluklarına Göre HPC ve Monosit Karşılaştırılması	61

5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇLAR	75
7. KAYNAKÇA	77
8. EKLER	87
Ek-1. Etik Kurul Onayı	87



ÖZET

Giriş: Akut lösemili hastaların tanı ve tedavi izleminde kemik iliğinin mikroskopik incelemesi hala altın standart yöntemdir. Kemik iliği morfolojisinin maliyeti düşük olmasına karşın zaman alıcı olması ve çok sayıda hücre değerlendirilmesi gerekmesi en büyük dezavantajıdır. Otomatik kan sayım cihazlarının ise periferik kan hücrelerini hızlıca ölçmesi büyük avantajdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar kan sayım cihazında periferik kanda görülmesi beklenmeyen normoblast, immatur granulosit gibi immatur hücrelerin yanında *Hematopoetik Progenitor Cell* (HPC) olarak adlandırılan yeni bir parametrenin eklenmesiyle kemik iliği hücrelerinin de kan sayım cihazlarında ölçülebildiğini göstermiştir. Özellikle periferik kök hücre nakli yapılacak alıcılarda nakil öncesi bakılan CD34⁺ kök hücre sayısı ile HPC arasında güçlü korelasyon bulunması kök hücre nakli planlanan hastaların optimal kök hücre toplama zamanını belirlemede CD34⁺ ölçümü yerine HPC'nin kullanılabileceğini göstermiştir. Bu çalışmada kliniğimizde akut lösemi tanısı alan hastaların otomatik kan sayım cihazında çalışılan kemik iliği örneklerinde HPC parametresinin akut lösemi tanı, izlem ve relapsı öngörmedeki rolünü araştırdık.

Yöntem: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji kliniğine 2017-2021 yılları arasında kabul edilen 1-18 yaş arası toplam 72 çocuk, n=29 Akut Lösemi (n=24 Akut Lenfoblastik Lösemi, n=5 Akut Myeloblastik Lösemi), n=32 reaktif kemik iliği bulguları olan hasta, n=11 sağlıklı kök hücre vericisi çocuklar çalışmaya alındı. Sysmex-XN20® otomatik kan sayım cihazında hastaların ve sağlıklı kontrollerin kemik iliği örnekleri çalışıldı. Lösemi hastalarında ilk tanıda, 15. gün, 33. gün ve 78.günkü kemik iliği örneklerinde HPC, monosit sayı ve yüzdeleri ile eş zamanlı kemik iliği blast yüzdeleri ve 15. Gün *minimal residual disease* (MRD) değerleri kaydedildi. Reaktif kemik iliği bulguları olan hastaların ve sağlıklı kontrollerin ilk kemik iliği örneklerindeki HPC, monosit sayı ve yüzdeleri kaydedildi. Tüm veriler SPSS 25.0 programında analiz edildi.

Bulgular: Lösemi hastalarında tanı anında HPC yüzde, monosit sayı ve yüzde değerleri, reaktif kemik iliği bulguları olan hastalara göre anlamlı yüksek

bulunmuştur($p<0.05$). Lösemi hastaları ile sağlıklı kök hücre vericileri arasında ilk kemik iliği değerlendirmesinde Monosit sayı ve yüzde değerleri anlamlı yüksek bulunmuştur($p<0.05$). Lösemi hastaları ile sağlıklı kök hücre vericileri arasında HPC yüzde ve sayısında anlamlı fark saptanmamıştır($p>0.05$). ALL ve AML grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır($p>0.05$). ALL hastalarında tedavi günlerine göre yapılan değerlendirmede en yüksek HPC ve monosit değerleri tanı anında bulunurken en düşük değerler 15. günde bulunmuştur. HPC ve monosit değerleri arasında 33. ve 78. günde güçlü korelasyon ($r_{33}=0.886$, $r_{78}=0.945$), tanı anı ve 15.günde orta düzeyde korelasyon ($r_0=0.482$, $r_{15}=0.680$) bulunmuştur. Relaps hastalarda tedavinin 15. gününde yüksek HPC% ve MRD değerleri relaps olmayan hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Sonuç: Bulgularımız ALL'li çocuklarda akut lösemi tanı, izlem ve relaps durumunda HPC parametresinin yararlı olabileceğine işaret etmektedir

ABSTRACT

Introduction: Microscopic examination of bone marrow is still the gold standard method in the diagnosis and treatment monitoring of patients with acute leukemia. Although the cost of bone marrow morphology is low, it is time-consuming and requires the evaluation of a large number of cells, which is its major disadvantage. On the other hand, automated blood counters have the advantage of rapidly measuring peripheral blood cells. Recent studies have shown that with the addition of a new parameter called Hematopoietic Progenitor Cell (HPC) immature cells of bone marrow such as normoblasts and immature granulocytes which are not expected to be seen in peripheral blood can also be measured in blood counters. Especially in peripheral stem cell transplant recipients, the strong correlation between HPC and CD34⁺ stem cell count before transplantation has shown that HPC can be used instead of CD34⁺ measurement to determine the optimal stem cell collection time in patients who are planned for stem cell transplantation. In this study, we investigated the role of HPC parameter in the diagnosis, follow-up and prediction of relapse in bone marrow samples of patients diagnosed with acute leukemia in our clinic.

Method: A total of 72 children aged 1-18 years, n=29 patients with acute leukemia (n=24 Acute Lymphoblastic Leukemia, n=5 Acute Myeloblastic Leukemia), n=32 patients with reactive bone marrow findings, and n=11 healthy bone marrow donor children admitted to the Pediatric Hematology Clinic of Gazi University Faculty of Medicine between 2017 and 2021 were included in the study. Bone marrow samples of the patients and healthy controls were analyzed by Sysmex-XN20® automatic blood counting device. HPC, monocyte counts and percentages, simultaneous bone marrow blast percentages and Day 15 minimal residual disease (MRD) values were recorded in bone marrow samples of leukemia patients at initial diagnosis, Day 15, Day 33 and Day 78. HPC, monocyte counts and percentages in the first bone marrow samples of patients with reactive bone marrow findings and healthy controls were recorded. All data were analyzed in SPSS 25.0 program.

Results: The count and percentage values of HPC and monocyte at the time of diagnosis were significantly higher in leukemia patients than in patients with reactive bone marrow findings ($p<0.05$). Monocyte counts and percentages were significantly higher between leukemia patients and healthy stem cell donors at the first bone marrow evaluation ($p<0.05$). There was no significant difference in percentage and count values of HPCs between leukemia patients and healthy stem cell donors ($p>0.05$). There was no significant difference between ALL and AML groups ($p>0.05$). In ALL patients, the highest HPC and monocyte levels were found at the time of diagnosis, while the lowest levels were found at day 15. A strong correlation was found between HPC and monocyte levels at days 33 and 78 ($r_{33}=0.886$, $r_{78}=0.945$) and a moderate correlation at diagnosis and day 15 ($r_0=0.482$, $r_{15}=0.680$). High HPC% and MRD values on day 15 of treatment were significantly higher in relapsed patients than in non-relapsed patients.

Conclusion: Our findings suggest that the HPC parameter may be useful in the diagnosis, follow-up and relapse of acute leukemia in children with ALL.

KISALTMALAR

ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	: Akut Miyeloblastik Lösemi
BFM	: <i>Berlin, Frankfurt and Münster</i>
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CD	: <i>Cluster Of Differentiation</i>
CLP	: <i>Common Lymphoid Progenitor Cell</i>
CMP	: <i>Common Myeloid Progenitor Cell</i>
COG	: <i>Children's Oncology Group</i>
Delta-He	: Delta Hemoglobin
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EPO	: Eritropoetin
FAB	: <i>French-American-British</i>
FACS	: Floresan Aktive Edilmiş Hücre Sıralama
FSC	: Direkt Işık Saçılımı
G/E	: Granulosit/Eritrosit Oranı
G-CSF	: <i>Granulocyte Colony Stimulating Factor</i>
GMP	: <i>Granulocyte Macrophage Progenitor Cell</i>
GVHH	: <i>Graft Versus Host Hastalığı</i>
HKHN	: Hematopoetik Kök Hücre Nakli
HPC	: <i>Hematopoietic Progenitor Cell</i>

HPC #	: HPC Sayısı
HPC %	: HPC Yüzdesi
HYPER-He %	: Hiperkrom Hemoglobin Oranı
HYPO-He %	: Hipokrom Hemoglobin Oranı
ICC	: <i>International Consensus Classification</i>
IPF	: İmmatür Platelet Fraksiyonu
IRF	: İmmatür Retikülosit Fraksiyonu
LFR	: Düşük Floresans Retikülosit
M/E	: Miyeloid/Eritroid Oranı
MACRO-R %	: Makrositik Eritrosit Oranı
MCH	: Ortalama Eritrosit Hemoglobini
MCHC	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
M-CSF	: Makrofaj-Koloni Uyarıcı Faktör
MDS	: Miyelodisplastik Sendrom
MEP	: Megakaryosit Eritrosit Progenitör Hücre
MFR	: Orta Floresans Retikülosit
MICRO-R %	: Mikrositik Eritrosit Oranı
MLC	: Mutlak Lenfosit Sayısı
MNS	: Mutlak Nötrofil Sayısı
MONO %	: Monosit Yüzdesi
MONO#	: Monosit Sayısı
MPP	: Multi Potent Progenitör Hücre
MRC	: <i>Medical Research Council</i>

MRD	: <i>Minimal Residual Disease</i>
NEUT-GI	: Nötrofil Granülarite İndeksi
NEUT-RI	: Nötrofil Reaktivite indeksi
NRBC	: Çekirdekli Kırmızı Küre Hücresi
OEV	: Ortalama Eritrosit Volümü
RBC	: Kırmızı küre sayısı
RBC-He	: Kırmızı küre hücrelerinin Hb içeriği
RDW	: Eritrosit Dağılım Genişliği
RET-Hb	: Retikülosit Hemoglobin İçeriği
RNA	: Ribonükleik Asit
RPI	: Retikülosit Üretim İndeksi
SFL	: Düşük Yandan Floresan Işık Sinyalleri
SLAM	: Sinyal Lenfosit Aktivasyon Molekülü
SSC	: Düşük Yandan Işık Saçılımı
TKS	: Tam Kan Sayımı
TPO	: Trombopoietin
VCS	: Hacim (Volume), İletkenlik (Conductivity), Dağılım (Scattering)
WBC	: Beyaz Kan Hücresi
WDF	: Beyaz Hücre Diferansiyel Sayımı

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü Akut Lenfoblastik Lösemi ve Belirsiz Serili Akut Lösemi Sınıflaması	6
Tablo 2. Demografik Özellikler	47
Tablo 3. Lösemi Hastaları Sitogenetik İncelemesi.....	48
Tablo 4. Gruplar Arası İlk Kemik İliği Örneğinde HPC %, HPC#, MONO# ve MONO % Karşılaştırılması	49
Tablo 5. ALL Hastalarında HPC% ile MONO% ve HPC # ile MONO# Değerlerinin Tedavi Günlerine Göre Korelasyonu	50
Tablo 6. ALL Hastalarında Tedavi Günlerine Göre HPC %, HPC #, MONO# ve MONO% Karşılaştırılması	51
Tablo 7. ALL Hastaları ve Sağlıklı Çocukların İlk Kemik İliği Değerlendirmesinde HPC %, HPC #, MONO# ve MONO% Ortalamalarının Karşılaştırılması	57
Tablo 8. ALL ve AML Hastalarının 0.gün, 15.gün ve İdame Tedavi Altında HPC % ve HPC # Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	58
Tablo 9. ALL Hastalarında Farklı Zaman Dilimlerinde Relaps Durumlarına Göre HPC %, HPC #, MONO# ve MONO % Ortalamalarının Karşılaştırılması	59
Tablo 10. ALL Hastalarının Relaps ve Ölüm Durumuna Göre 15.gün MRD, HPC % ve HPC # Değerlerinin Tedavi Günlerine Göre Karşılaştırılması	60
Tablo 11. Tedavi Günlerine Göre Sitogenetik İncelemelerin HPC %, HPC #, MONO# ve MONO% Ortalamaları ile Karşılaştırılması	61
Tablo 12. Sitogenetik İncelemelere Göre HPC %, HPC #, MONO# ve MONO% Ortalamalarının Karşılaştırılması	62

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Tedavi günlerine göre MONO% ve MONO# ortalamaları	52
Şekil 2. Tedavi günlerine göre HPC% ve HPC# ortalamaları	53
Şekil 3. 0.gün kemik iliği incelemesinde HPC# ve MONO# korelasyonu	53
Şekil 4. 0.gün kemik iliği incelemesinde HPC% ve MONO% korelasyonu ..	54
Şekil 5. 15. gün kemik iliği incelemesinde HPC# ve MONO# korelasyonu ...	54
Şekil 6. 15. gün kemik iliği incelemesinde HPC% ve MONO% korelasyonu	55
Şekil 7. 33. gün kemik iliği incelemesinde HPC# ve MONO# korelasyonu ...	55
Şekil 8. 33. gün kemik iliği incelemesinde HPC% ve MONO% korelasyonu	56
Şekil 9. 78. gün kemik iliği incelemesinde HPC# ve MONO# korelasyonu ...	56

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut lösemi hastalarında ilk tanı anında ve tedavi izleminde kemik iliği incelemesi yapılmaktadır. Akut lösemi hastalarında kesin tanıya ulaşmak için yapılan kemik iliği incelemesinde mikroskopik değerlendirme günümüzde hala altın standart yöntem olarak uygulanmaktadır. Maliyeti düşük olmasına karşın çok zaman alıcı olması ve çok fazla sayıda hücre değerlendirilmesi gerektirmesi hekimleri yeni arayışlara yönlendirmiştir. Otomatik kan sayım cihazları periferik kan hücrelerinin hızlıca ölçülebilmesini, değerlendirilebilmesini ve çoğu hastalıkta erken tanı alınmasını sağlar. Bununla birlikte periferik yayma bakılma ihtiyacını da azaltır(1). Teknolojik gelişmelere paralel olarak otomatik kan sayım cihazlarındaki gelişmeler sonucu periferik kanda görülmesi beklenmeyen normoblast, immatur granulosit gibi immatur hücrelerin yanında *hematopoetik progenitör cell* (HPC) olarak adlandırılan yeni bir parametrenin eklenmesi kemik iliği hücrelerinin de yeni nesil kan sayım cihazlarında ölçülebildiğini göstermiştir(2). Yeni nesil kan sayım cihazlarının HPC modunda kemik iliğindeki immatur çekirdek ve sitoplazma yapısına sahip öncül hücrelerin ölçümü yapılmaktadır(3). Özellikle periferik kök hücre nakli yapılacak olan alıcılarda nakil öncesi bakılan CD34⁺ kök hücre sayısı ile HPC hücreleri arasında güçlü korelasyon bulunması HPC ile ilgili çalışmaların artışına yol açmıştır. Bu konu ile ilgili araştırmalar sonucu otolog veya allojenik kök hücre nakli planlanan hastaların optimal kök hücre toplama zamanını belirlemede CD34⁺ ölçümü zaman alıcı bir yöntem olduğundan yeni nesil kan

sayım cihazında kısa sürede ölçülebilen HPC'nin CD34⁺ yerine kullanılmasının yararlı olabileceği belirtilmiştir(4).

Periferik kanda HPC ölçümü ile CD34⁺ kök hücre sayımının korelasyonu hakkında çalışmalar olmasına rağmen akut lösemi tanı, tedavi ve izleminde HPC parametresinin kullanımına dair bir araştırmaya rastlanmamıştır. HPC parametresinin periferik kanda immatur hücreleri yansıtmaması nedeniyle bu parametrenin akut lösemi hastalarında ölçülmesinin tanı koymada, hastalık seyrinde, hastalık prognozunda ve relapsı öngörmede önemli rolü olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca sağlıklı kök hücre bağışçıları ve reaktif kemik iliği bulguları olan hastalarda HPC parametresinin değerlendirildiği bir çalışma yapılmamış olup, malignite dışlamada veya reaktif hastalıklardan şüphelenme konusunda da yardımcı bir parametre olarak kullanılabileceği öngörülmektedir.

Bu çalışmada kliniğimizde akut lösemi tanısı ile izlenen çocukların ilk tanı sırasında ve tedavi boyunca yapılan kemik iliği örnekleri ile sağlıklı kök hücre verici ve reaktif kemik iliği bulguları olan hastaların kemik iliği örneklerinde yeni nesil kan sayım parametrelerini ve bu parametrelerin klinik izlemdeki seyrini değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çocukluk Çağı Akut Lösemileri

2.1.1. Tanım

Lösemi, kemik iliğindeki kök hücre ve progenitör hücrelerin anormal şekilde çoğalması sonucunda ortaya çıkan, sınırsız çoğalma kapasitesine sahip anormal hücre klonunun oluşmasıyla tanımlanan çocukluk çağıının en sık görülen malign hastalığıdır. Kemik iliğinde miyeloid veya lenfoid hematopoezin belirli bir aşamasında klonal çoğalma ve duraklaması sonucu gelişir(5). Kemik iliğindeki anormal hücre oranının %25'i aştığı durumlarda hastaya lösemi tanısı konulur (5).

2.1.2. Sıklık

Akut lösemiler çocukluk çağı malignitelerinin yaklaşık %25-30'unu, lösemilerin ise yaklaşık %97'sini oluşturmaktadır(5). Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL), lösemi tiplerinin en sık görülen alt tipidir ve Akut Miyeloblastik Lösemi (AML)'ye kıyasla yaklaşık 5 kat daha fazla görülür (6). Gelişmiş ülkelerde, ALL en sık 2-5 yaş arasındaki çocuklarda ortaya çıkar, AML ise en sık ilk 2 yaşta ve ergenlik döneminde görülür (7). AML, lösemiler içindeki çocuk ölümlerinin büyük bir kısmından sorumludur(8). Lösemi tiplerinin %2-3'ünü Kronik Miyeloid Lösemi, yaklaşık %1-2'si kadar az bir kısmını da Juvenil Miyelomonositik Lösemi oluşturur.

2.1.3. Etyoloji

Lösemilerin çoğu, bilinen bir risk faktörü olmadan ortaya çıkar. Genetik ve çevresel faktörlerin lösemi gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (9).

2.1.4. Patogenez

Lösemide, hücre çoğalmasını ve olgunlaşmasını kontrol eden genlerde protoonkogenlerin ekspresyonunda bozukluklar, kinaz enzimlerini aktifleştiren ve transkripsiyon faktörlerini etkileyen gen füzyonlarına yol açan kromozomal translokasyonlar, hiperdiploidi gibi genetik mekanizmalar, PAX5, ETV6 ve TP53 gibi bazı nadir gen mutasyonları ve ARD5B, CDKN21 ve IKZF1 gibi bazı polimorfik varyantların meydana gelen mutasyonları sonucunda, hücreler olgunlaşma sürecini tamamlayamazlar ve aşırı çoğalmaya devam ederek lösemik hücreler oluştururlar (10).

2.1.5. Sınıflandırma

Lösemilerin sınıflandırılması morfolojik, immünofenotipik ve genetik özelliklerine dayanarak yapılır.

2.1.5.1. ALL sınıflandırması

Morfolojik sınıflandırmada *French-American-British* (FAB) Kooperatif Çalışma Grubu tarafından öne sürülen FAB sistemine göre L1-L2-L3 olarak hücre büyüklüğü, nükleer kromatin içeriği, nükleer şekil, sitoplazma miktarı, sitoplazma bazofilisi ve sitoplazmik vakuolizasyona göre lenfoblastlar üç gruba ayrılmaktadır (8,11). ALL’li çocuklarda sırasıyla en sık L1, L2 ve L3 morfolojisi görülür (12).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 yılında Akut Lenfoblastik Lösemi ve Belirsiz Serili Akut Sınıflaması tamamlanmıştır (13) (Tablo 1).

İmmüfenotipik sınıflandırma antikor paneli kullanılarak yapılır. Miyeloid, B lenfoid, T lenfoid olarak blastların serisi tanımlanır. B serisi için CD19, T serisi için sitoplazmik CD3 ve miyeloperoksidaz, miyeloid seri için için nonspesifik esteraz, CD11c, CD14, CD64 ve lizozim gibi yüksek oranda spesifik olan en az bir tane olmak üzere monositik farklılaşma belirteçleri kullanılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre ALL hastalarının %85'i B-ALL, %15'i T-ALL olarak görülür (13).

Sitogenetik ve moleküler sınıflama ise lösemide görülen sitogenetik anormalliklerin biyolojik ve prognostik öneminin olması ve tedavi algoritmasının belirlenmesinde etkili olması sebebiyle önem taşımaktadır (11). ALL'lerin yaklaşık %75'i kromozomal kayıp, kazanım veya translokasyonlarla ilişkilidir.

Tablo 1. DSÖ Akut Lenfoblastik Lösemi ve Belirsiz Serili Akut Lösemi Sınıflaması (2016) (13)

B-LENFOBLASTİK LÖSEMİ/LENFOMA
B-lenfoblastik lösemi/lenfoma, klasik
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma, rekürren genetik anomalilerle seyreden
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma, t(9;22)(q34;q11.2); BCR–ABL 1 ile
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma, t(v;11q23); MLL gen düzenlemesi ile
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma, t(12;21)(p13;q22) TEL–AML1 (ETV6–RUNX1) ile
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma, hipoploidi ile
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma hiperploidi ile
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma, t(5;14)(q31;q32) IL3-IGH ile
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma, t(1;19) (q23;p13.3); TCF3–PBX1 ile
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma, BCR–ABL1 benzeri
B- lenfoblastik lösemi/lenfoma, iAMP21 ile
T- LENFOBLASTİK LÖSEMİ/LENFOMA
Erken T-Hücreli prekürsör lenfoblastik lenfoma
NK hücreli lenfoblastik lösemi/lenfoma
BELİRSİZ SERİLİ AKUT LÖSEMİLER
Akut İndiferansiye Lösemi
Miks Fenotipli Akut Lösemi(MPAL), t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR–ABL1 ile
MPAL, t(v;11q23.3); KMT2A gen düzenlemesi ile
MPAL, B/miyeloid, klasik
MPAL, T/miyeloid, klasik

2.1.5.2. AML sınıflandırması

AML sınıflandırması morfoloji, immünofenotip, sitogenetik ve moleküler özelliklerine göre yapılır. Miyeloid lösemiler FAB sistemi ile önceki yıllarda morfolojik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır ve bu sınıflama şu an kullanılmakta olan sınıflama modellerinin temelini oluşturmaktadır. FAB sınıflamasında miyeloid lösemiler, M0-akut undifferansiye lösemi, M1- matürasyon olmayan akut miyeloblastik lösemi, M2- matürasyon gösteren akut miyeloblastik lösemi, M3—akut promiyelositik lösemi, M4—akut miyelomonositik lösemi, M4EO- eozinofilik M4 varyantı, M5—akut monositik lösemi, M6—eritrolösemi ve M7—akut megakaryoblastik lösemi olmak üzere sınıflandırılmıştır (8). 2002 yılında ilk kez miyeloid maligniteler için DSÖ sınıflaması önerilmiştir. 2022 yılında ise AML için

ağırlıklı olarak lösemik hücrelerin sitogenetik ve moleküler özelliklerine dayanan ‘Miyeloid Neoplazmlar ve Akut Löseminin Uluslararası Konsensus Sınıflandırması’ (ICC) ve ‘DSÖ-5 miyeloid ve histiyositik/dendritik neoplazmlar’ olmak üzere iki sınıflandırma sistemi daha yayınlanmıştır(13). Bu sınıflandırmalarda miyelodisplastik sendromlar/neoplazmalar (MDS) ve miyeloproliferatif neoplazileri kategorize etmek için morfoloji, klinik özellikler, immünofenotipik ve sitogenetik özellikler kullanılmıştır.

2.1.6. Klinik ve laboratuvar bulgular

Çocukluk çağı lösemilerinde klinik bulgular kemik iliğinin ya da organların blastlar tarafından tutulması sonucunda ortaya çıkar. Kemik iliği tutulumuna bağlı laboratuvar bulgular anemi, trombositopeni, nötropeni ve pansitopenidir. Lenfoid sistem infiltrasyonuna bağlı klinik bulgular hepatomegali, splenomegali ve lenfadenomegalidir. Hastalarda görülen en sık yakınmalar ateş, halsizlik, solukluk, kanama (peteşi, purpura), kemik ağrısı ve lenf bezlerinde şişlik olarak sayılabilir(5). Renal, gastrointestinal sistem, kemik ve eklem, cilt, kalp ve akciğer, santral sinir sistemi, organ tutulumları da lösemi hastalarında blast infiltrasyonuna bağlı görülebilir (14).

AML’ de ekstramedüller hastalık %10-20 sıklıkta görülürken kemik iliği dışında miyeloblastların bir araya gelmesinden kaynaklanır. Miyeloid sarkom veya beyin omurilik sıvısında (BOS) lösemik hücrelerin varlığı şeklinde ortaya çıkabilir, en sık görülen klinik tablo gingiva hipertrofisi, lenfadenopati ve *leukemia kutis*

denilen cilt lösemik tutulumudur (15). Ekstramedüller hastalık tipik olarak AML ile eş zamanlı olarak ortaya çıkar, bazen kemik iliği tutulumundan önce ilk bulgu olarak ortaya çıkabilir(8).

2.1.7. Tanı

Kan sayımında hafif-orta normositik normokrom anemi, lökositoz/lökopeni, trombositopeni görülürken lökopenik hastalarda periferik yaymada blastlar hücre azlığından dolayı saptanamayabilir bu hastalar geç tanı alabilirler. Tanı kemik iliği aspirasyonunda nükleer kromatini dağınık, bir veya daha fazla nükleollü (AML'de daha belirgin) ve dar sitoplazmalı (AML'de daha geniş) blastların görülmesi ile konulur(5). Tanı sırasında kemik iliğinde genellikle %80-100 oranında blast görülür. Kemik iliği örneklerinden tiplendirme için immünohistokimya için akım sitometri, karyotip analizi ve moleküler inceleme için sitogenetik testler çalıştırılmaktadır (5). T-hücreli ALL'li hastalarda akciğer grafisinde mediastinal kitle saptanabilir. Ayrıca tedavi öncesi Tümör Lizis Sendromu açısından biyokimyasal parametrelerin bakılması, santral sinir sistemi tutulumu değerlendirilmesi için lomber ponksiyon yapılması, koagülasyon parametrelerinin, kardiyak fonksiyonun ve viral serolojinin değerlendirilmesi gerekmektedir(14).

2.1.8. Risk grupları

ALL-Berlin, Frankfurt and Münster (BFM)-95 protokolüne göre hastaların kemoterapi yanıtı ve genetik t (9;22), t (4;11) tiplerine göre standart, orta ve yüksek risk gruplarına ayrılır (16). AML ise AML Medical Research Council (MRC)-12

protokolüne göre hastaların kemoterapi yanıtına ve genetik (t (8;21), t (15;17), inv (16) sonuçlarına göre iyi, standart ve yüksek risk gruplarına ayrılır.

2.1.9. Prognoz

Çocukluk çağı akut lösemisinin tedavisinde son yıllarda önemli gelişme izlenmiş ve bunun sonucunda özellikle ALL’de 5 yıllık sağ kalım oranı %90’lara ulaşmıştır. AML’li çocuklar için prognostik yıllar içinde iyileşmiş olsa da hastalıksız yaşam oranı hala yaklaşık %65’tir. Tedavi başarısızlığı temel olarak nüks ve tedaviye bağlı mortaliteden kaynaklanmaktadır. Son yıllarda AML’de uzun dönem sağ kalım kemoterapilerdeki yenilikler, kemoterapi rejimlerinin yoğunlaştırılması, sitogenetik ve moleküler belirteçlere bağlı risk sınıflamasının kullanılması, Hematopoetik Kök Hücre Nakli (HKHN) başarılarının artması ve destek tedavilerin iyileşmesi sonucu %70’lere kadar yükselmiştir (17).

2.1.9.1. ALL Prognostik faktörler

ALL’li çocuklarda 1-9 yaş arası ve tanı lökosit sayısı $<50000/\text{mm}^3$ olan pre-B ALL vakalarının 2/3’sinin dört yıllık olaysız sağ kalımı % 80’dir. Kalan yüksek riskli hastaların dört yıllık olaysız sağ kalımı % 65’tir (11).

1. Yaş: Bir yaş altı ve 10 yaştan büyük çocuklar daha kötü prognoza sahiptir.

2. Lökosit sayısı: Tanı beyaz küre sayısı yüksek olan hastalar kötü prognozludur.

3. İmmünfenotip: Erken pre-B ALL en iyi prognozludur. Matür T hücreli ALL tanı anında büyük yaş ve yüksek lökosit sayısına bağlı olarak daha kötü prognozludur. Matür B hücreli ALL önceleri erken relaps ve Merkezi Sinir Sistemi (MSS) tutulumu ile kötü prognozlu olarak bilinirken, yeni agresif tedavilerle daha iyi prognoz sağlanmıştır.

4. DNA indeksi: Hiperdiploidi (Elli kromozomdan fazla), DNA indeksi>1.16 ALL, iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir.

5. Sitogenetik: Philadelphia kromozomlu t(9;22) (q34;q11) ALL tedavisi en zor ve kötü prognozlu formudur. Hipodiploidi, lösemik blastlarda 46'dan az kromozom olması olarak tanımlanır ve kötü prognozla ilişkilidir. Hiperdiploidi ve spesifik trizomiler iyi prognozla ilişkilidir. ETV6–RUNX1 füzyon geni t(12;21) (p13q22) iyi prognozla ilişkilidir. BCR-ABL füzyon geni t(9;22)(q34;q11), erişkin lösemilerinin aksine pediatrik vakaların yalnızca % 3-5'inde saptanır. Genellikle büyük yaş, tanı anında yüksek lökosit sayısı ve sıklıkla santral sinir sistemi tutulumu ile ilişkilidir. E2A-PBX1 füzyon geni t(1;19)(q23;p13.3), tanı anında sıklıkla yüksek lökosit sayısı ile ilişkilidir. Bu alt tipte agresif tedavi gerekmektedir. Kromozom band 11q23'deki MLL gen düzenlemeleri, infant ALL vakalarının %80'inde, daha büyük çocukların yaklaşık %3'ünde, sekonder AML vakalarında %85 sıklıkta görülür ve agresif tedaviye rağmen % 20'den az sağ kalım ve kötü prognoz ile ilişkilidir(11).

B hücreli ALL translokasyonları MYC genleri ile ilişkilidir ve B ALL vakalarının %80 kadarı t(8;14)(q24;q32) taşır. T hücreli ALL translokasyonları heterojendir. Bugüne kadar hiçbirinin prognozla belirgin ilişkisi bulunamamıştır. T-hücreli ALL vakalarının %50'sinden NOTCH1 geni aktive edici mutasyonlar mevcuttur.

6. MSS hastalığı: Tanı anında merkezi sinir sistemi tutulumu varlığı, radyoterapi ve intratekal tedavilere rağmen kötü prognozla ilişkilidir.

7. İndüksiyon tedavisine erken yanıt: İndüksiyon tedavisinin sonunda remisyonda olmayan hastalar çok kötü prognozludur(8).

2.1.9.2. AML prognostik faktörler

AML-MRC protokolünde iyi karyotipik özellikler ve 28. gün kemik iliği yanıtına göre olgular iyi, standart ve kötü risk olarak ayrılmaktadır (18). Düşük risk kriterlerinde inv (16), t (16;16), t (8;21), t (15;17), eşlik eden Down sendromu olması; standart risk kriterlerinde düşük ve yüksek risk kriterlerinin olmaması, del5q, tedaviye-bağlı AML, MDS/AML, Primer indüksiyon başarısızlığı yer alırken, yüksek risk kriterlerinde ise FLT3-internal tandem duplikasyonu, AML M6 ve M7, t(6;9) ve Monozomi 7 belirtilmiştir (19).

2.1.10. Tedavi

Akut lösemi tedavisindeki amaç, etkinliği kanıtlanmış kemoterapi protokolleriyle lösemik blast hücrelerini yok ederek çocuklara hastalıksız yaşam

sağlamaktır. Kemoterapi protokolü, hastaların risk gruplarına göre planlanmaktadır (20). Geleneksel kemoterapötik ajanların çoğu 1970'ten önce geliştirilmiştir ve kombinasyon kemoterapileri için en uygun dozlar ve protokoller tolerabilite, *Minimal Residual Disease* (MRD) ile tedaviye yanıtın değerlendirilmesi ve kişiselleştirilmiş farmakodinamik ve farmakogenetik çalışmalara dayalı doz ayarlamaları ile güçlendirilmiştir.

ALL BFM-95 protokolü remisyon indüksiyon-erken intensifikasyon, konsolidasyon ve reindüksiyon-geç intensifikasyon ve idame olarak 4 tedavi fazından oluşmaktadır (21). Remisyon indüksiyon tedavisinde, 4-6 hafta boyunca, glukokortikoid (prednizolon veya deksametazon), vinkristin ve asparaginaz kullanılmaktadır ve hastaların yaklaşık %98'inde kemik iliğinde $<5\%$ blast ve 4-6 haftalık tedavi sonrası normal nötrofil ve trombosit sayısının gözlenmesi olarak tanımlanan tam remisyon sağlanmaktadır(14). Yüksek riskli hastalarda bu üçlü tedaviye antrasiklin grubu (daunorubisin veya doksorubisin) bir kemoterapötik eklenmektedir. İntratekal kemoterapi sitarabin ve metotreksat ile uygulanmakta olup tedavi başlangıcında ve sonrasında en az bir kez daha olmak üzere remisyon indüksiyon tedavisinde mutlaka verilmektedir(14). Remisyon İndüksiyon tedavisinin 8. gününde periferik kanında steroid tedavisi yanıtı değerlendirilir. 8. Gün periferik yaymada blast sayısının $<1000/\text{mm}^3$ olması iyi yanıt olarak kabul edilir (22).

Glukokortikoidler enfeksiyon riskinde artış, patolojik kemik kırıkları, osteoporoz, osteonekroz, kan şekeri disregülasyonu, diyabet, adrenal yetmezlik,

obezite, duygu durum problemleri, kas gücü kaybı ve miyopati gibi sık görülen yan etkilerle ilişkilidir(23). Mevcut birçok rejimde prednizolon yerine deksametazon kullanılmaktadır ancak deksametazonun tüm hasta gruplarına fayda sağlayıp sağlamadığı tartışmalıdır. Bazı çalışmalar, indüksiyon sırasında deksametazonun, daha yüksek enfeksiyon oranları, osteonekroz, miyopati ve davranış değişiklikleri gibi yan etkilerinin prednizolondan daha fazla görüldüğünü belirtmektedir(24). Prednizolon ve deksametazonun karşılaştırıldığı randomize kontrollü çalışmalarda, sadece deksametazon alan hastalarda, prednizon-deksametazon doz oranı <7 olan hastalara göre daha başarılı olaysız sağkalım elde edilmiştir (25). Bu nedenle glukokortikoidin dozu ve seçimi hastanın yaşı, nüks riski ve tedavi aşamasına göre belirlenir. Bakteriyel enfeksiyon riskini azaltmak için nötropeni esnasında levofloksasin, trimetoprim-sulfometaksazol gibi profilaktik antibiyotikler kullanılmaktadır. Vinkristin, belirgin miyelosupresyona neden olmamaktadır. Remisyon indüksiyon tedavisi sırasında 0.,7.,14. Ve 21. Günlerde olmak üzere haftalık olarak ve tedavinin devamında glukokortikoidlerle birlikte aylık veya üç aylık pulsar şeklinde 1,5-2,0 mg/m² dozlarında uygulanır(23). Periferik sensoriyal ve motor nöropati, vinkristinin en önemli yan etkilerindendir. Polietilen glikol (PEG)- Asparajinaz, L-Asparajinaz ile karşılaştırıldığında daha uzun yarı ömre ve daha az aşırı duyarlılık reaksiyonu riskine sahip olması nedeniyle birçok ülkede L-Asparajinazın yerini almıştır. PEG-Asparajinaz genellikle 1000 IU/m² ila 2500 IU/m² arası dozlarda kullanılmaktadır. Buna karşılık yapılan bir terapötik ilaç izleme çalışmasında 450 IU/m² gibi düşük dozların iki haftada bir uygulanması yolu ile de serumda yeterli (>100 IU/L) Asparajinaz aktivitesi gösterilmiştir (26).

Allerjik reaksiyon, pankreatit, ataksi, bilinç değişikliği, konvülsyon gibi nörotoksisite, trigliserid yüksekliği, hepatotoksisite ve tromboemboli riskinde artış gibi yan etkileri bulunmaktadır(26). PEG-Asparajinazın neden olduğu alerjik reaksiyonların çoğu ikinci veya üçüncü dozdan sonra gerçekleşmektedir. Gerçekleşen alerjik reaksiyonlar nedeniyle planlanan Asparajinaz dozlarının kesilmesinin, özellikle yüksek riskli hastalarda daha kötü prognozla ilişkili olması nedeniyle PEG-Asparajinaz veya L-Asparajinaz allerjisi durumunda, Erwinia-Asparajinaz (Erwinase) alternatif tedavi olarak kabul edilmektedir(27,28). Ancak Erwinase'ın daha pahalı olması, kısa yarılanma ömrü nedeniyle sık uygulama gerektirmesi ve ilaç temininde zorluklar yaşanması dezavantajlarıdır (27). Remisyon indüksiyon tedavisinin sonunda, genellikle 33. günde MRD ile birlikte hastalık değerlendirmesi yapılmaktadır.

Tedavinin ikinci aşaması olan konsolidasyon tedavisinde yoğun MSS tedavisi ve ileri dönemde MSS relapslarını önlemek için yoğun metotreksat, vinkristin ve 6-Merkaptopürinden oluşan sistemik bir tedavi uygulanmaktadır (8,14). İntratekal tedavi lomber ponksiyonlar aracılığı ile verilmektedir ve bu tedaviler MSS relaps oranlarını $<5\%$ 'e düşürmüştür. MSS relapsı için yüksek risk faktörleri taşıyan hastalara ise kraniyospinal radyoterapi uygulanmaktadır. Metotreksat, lösemi tedavisi, MSS ve testis tutulumu kontrolünde çok önemlidir. Lökovorin kurtarma tedavisi ile birlikte yüksek doz ($2-5 \text{ G/m}^2$) Metotreksat, 6-Merkaptopürin ile birlikte veya lökovorin kurtarma olmadan Metotreksat ara dozları ($100-300 \text{ mg/m}^2$) Asparajinaz ile birlikte (Capizzi rejimi) olarak uygulanır.

Metotreksat yan etkileri arasında sık olarak gastrointestinal sistem semptomları, mukozit, alopesi ve karaciğer fonksiyonlarında bozulma yer almaktadır. Konsolidasyon tedavisinin sonunda, genellikle 78.günde tekrar MRD ile birlikte hastalık değerlendirmesi yapılır. Bu değerlendirmelerde 33.gün ve 78.gün MRD negatif sonuçlanması %92.3 oranında olaysız sağkalım ile ilişkilidir(29).

Tedavinin üçüncü aşaması olan reindüksiyon-geç intensifikasyon tedavisinde ise risk grubuna göre farklılık gösterebilen tedavi şemaları ile 14-28 haftalık bir tedavi planlanır. Deksametazon, Doksorubisin, Siklofosamid, Sitarabin, Metotreksat, Asparajinaz ve Vinkristin gibi ilaçları içeren çoklu kematerapötikler MRD'yi ortadan kaldırmak için kullanılır(8,14).

Tedavinin son aşaması olan idame tedavide ise hastalara günlük 6-Merkaptopürin ve haftalık oral Metotreksat ve genellikle beraberinde aralıklı Vinkristin ve kortikosteroid verilmektedir. Bu tedaviler 12 haftalık tedavi şemaları şeklinde verilir ve kullanılan protokole göre 2-3 yıl devam etmesi gerekmektedir (8,14).

ALL'li hastalarda, standart ve orta risk grubundaki hastalar en az 104 hafta süren bu kemoterapi protokolünü tamamlarken, yüksek riskli ALL'li hastalara, 3. blok kemoterapiden sonra akraba veya akraba dışı verici bulunursa HKHN uygulanır. 15., 33., 78., günde ve idame döneminde kemik iliği aspirasyonu incelemesi ile tedavi değerlendirilmeleri yapılır. ALL'de kemik iliği remisyonu kemik iliği blast yüzdelere göre M1 (<%5), M2(%5-25) ve M3 (>%25) olarak

sınıflandırılır(8). Bu değerlendirmeye göre risk sınıflamasının tekrar gözden geçirilmesi gerekir. İndüksiyon tedavisinin sonunda remisyonda olmayan hastalar (tüm hastaların <%2-5'i) çok kötü bir prognoza sahiptir. 15.günde MRD değerlendirmesi PCR veya akım sitometri yöntemiyle yapılır. Standart risk kriterleri olan hastalar MRD <%0.1, %0.1-10,>%10 değerlerine göre sırasıyla düşük, orta ve yüksek risk olarak değerlendirilir(22). Remisyonda olan hastalarda, saptanabilir MRD seviyelerinin >%0,1 olması daha kötü bir prognoza işaretler ve tedavinin yoğunlaştırılmasını gerektirir. Diğer yandan periferik kan MRD'si 8. günde temizlenen hastaların prognozu mükemmeldir(8). 33. gün indüksiyon tedavisi sonu remisyon kemik iliği blast yüzdelerine göre M1- tam remisyon, M2- kısmi remisyon, M3- primer dirençli (refrakter) olarak değerlendirilir(22).

Tam remisyon kavramı, M1 kemik iliği, fizik muayene ile veya radyolojik olarak lösemik infiltrasyon bulunmaması, 33. gün intratekal tedavi için yapılan LP'de BOS tutulumu olmaması olarak değerlendirilir. Remisyona girmeyen olgular HKHN adayıdır(22).

AML'li hastalarda tedavi protokolü remisyon indüksiyon, MSS profilaksisi ve post remisyon tedavisi evrelerinden oluşur(19). Günümüzde uygulanmakta olan pediatrik AML protokolleri ile %85-%90 tam remisyon sağlanmaktadır. Tam remisyon sağlanması için kombinasyon kemoterapi rejimleriyle derin kemik iliği aplazisinin indüklenmesi gerekmektedir. İndüksiyon kemoterapisinin şiddetli miyelosupresyona neden olması nedeniyle bu dönemde gerçekleşebilen enfeksiyon veya kanama gibi komplikasyonlar morbidite ve mortalite ile ilişkili olup hastaların

yaklaşık %2'si tedaviye bağlı bu komplikasyonlar nedeniyle indüksiyon aşamasında kaybedilmektedir(30).

Birçok farklı indüksiyon kemoterapi protokolü olmasına karşın AML'li çocuklarda yaygın olarak kullanılan indüksiyon tedavisi rejimleri sitarabin ve bir antrasiklin grubu kemoterapötik ajanların etoposid ve/veya tiyoguanin gibi diğer ajanlarla kombine edilmesini içermektedir(31). AML'li çocuklar için indüksiyon rejimlerinde en çok kullanılan antrasiklin, daunorubisindir. Post remisyon konsolidasyon tedavisinde iyi riskli hastalara 5 blok (indüksiyon 1 ve 2, intensifikasyon 1, 2 ve 3) kemoterapi verilirken yüksek riskli hastalara 3 blok kemoterapi sonrası HKHN uygulanmaktadır. İndüksiyon 1 ve 2 tedavisi 'ADE Protokolü' olarak adlandırılan Daunorubisin, Sitarabin ve Etoposid'den oluşmaktadır ve bu tedavilerin ilk günlerinde intratekal Sitarabin rutin olarak MSS profilaksisi için uygulanmaktadır(8). *Children's Oncology Group* (COG)'un son verilerine göre, yeni tanı konmuş AML tedavisinin dört bloğa indirilmesinin (indüksiyon 1 ve 2, yoğunlaştırma 1 ve 2) küçük bir hasta popülasyonu için uygulanabilir olduğunu göstermektedir. Diğer tüm hastalar beş blok kemoterapi almalı veya üç blok sonrası HKHN yapılmalıdır. Gemtuzumab ozogamisın monoklonal antikorunun indüksiyon 1 tedavisinin 6. gününde kullanılması hastalarda olaysız sağkalım oranı yükseltmektedir(8). İndüksiyon tedavilerinden sonra hastalara sırasıyla İntensifikasyon 1, Sitarabin ve Etoposidden oluşan 'AE Protokolü'; İntensifikasyon 2, Mitoksantron, Sitarabin ve intratekal Sitarabinden

oluşan ‘MA Protokolü’ ve İntensifikasyon 3, Sitarabin ve Erwinase’dan oluşan ‘Capizzi Protokolü’ uygulanmaktadır(8).

MSS profilaksisi için tarihsel olarak radyoterapi kullanılmış olmakla beraber bu yöntem uzun dönem yan etkileri nedeniyle terk edilmiştir(32). Bunun yerine günümüzde MSS tutulumunun gelişmesini engellemek için intratekal kemoterapi kullanılmaktadır. COG tarafından MSS profilaksisi ve MSS tutulumunun tedavisi için tek ajan sitarabin kullanımı önerilmektedir. AML’li hastalara indüksiyon 1, indüksiyon 2 ve intensifikasyon 2 tedavi aşamalarında MSS profilaksisi uygulanmaktadır. Hala devam etmekte olan COG AAML1831 çalışması intratekal üçlü (metotreksat, sitarabin ve hidrokortizon) kullanımını içermektedir ve yapılan çalışmalarda tek başına sitarabin kullanımına göre üçlü tedavinin MSS tutulumu riskini belirgin azalttığı belirtilmiştir(33).

Post remisyon tedavinin amacı ise AML’li çocuklarda ilk remisyonun süresini uzatmaktır. Post remisyon tedavi rejimleri arasında ek kemoterapi, HKHN veya FLT-3 inhibitörleri gibi hedefe yönelik tedavileri içermektedir(34,35) ve tedavi protokolünün seçimi hastaların indüksiyon tedavisi sonrası tedavi yanıtına (MRD değerlendirilmesi), sitogenetik ve moleküler belirteçlerine göre yapılmaktadır.

Post remisyon kemoterapisi, indüksiyonda kullanılan bazı ilaçları ve yaygın olarak kullanılan yüksek doz sitarabini içermektedir. Post remisyon kemoterapide optimal tedavi için kesin bir kür sayısı belirtilmemekle birlikte indüksiyondan sonra

en az iki ila üç kür yoğun tedavinin gerekli olduğu belirtilmiştir (24). Post remisyon HKHN, 1970'lerin sonlarından beri kullanılmaktadır ve hastaların risk sınıflamasına göre yapılır. AML'li çocuklarda yapılan prospektif nakil çalışmaları, ilk remisyonları sırasında allojenik HKHN uygulanan HLA uyumlu vericilere sahip çocuklarda genel olarak %60 ila %70 oranında uzun dönem remisyon sağlandığını göstermektedir(36). Post remisyon hedefe yönelik tedavilerde ise lösemiye özgü mutasyonları hedef alan ajanlar kullanılmaktadır ve geleneksel kemoterapinin ciddi toksisitesini azaltması en önemli avantajlarından. Hedefe yönelik tedavi ajanları midostaurin, sorafenib gibi multikinaz inhibitörlerini içermektedir. Yetişkin hastalarda kullanıma girmiş olan hedefe yönelik tedavi ajanlarının, AML'li çocuklarda sonuçları iyileştirdiği randomize klinik çalışmalarla henüz gösterilememiş olmakla birlikte bazı tek kollu çalışmalarda sorafenibin de novo FLT3 mutasyonlu AML'li hastalarda olaysız sağkalım oranlarını iyileştirdiği gösterilmiştir(34).

Tedavinin 15., 28.gün ve protokol aralarında kemik iliği aspirasyonu ile hastalık değerlendirmesi yapılmalıdır(18). Çocukluk çağı AML remisyon indüksiyon tedavisinde, en az 4 veya 5 kür kullanılarak yoğun bir antrasiklin ve sitarabin bazlı tedavi gerekmektedir(37). Bu tedavi ile hastaların >%85'i tam remisyona girer(37). Tedavi sonrası kanda <%5 blast olması tam remisyon olarak tanımlanır. İyi risk grubundaki hastalar 24 hafta süren bir kemoterapi protokolü alırken, standart riskli AML'li hastalara, kardeş verici varsa HKHN uygulanır; kardeş verici yoksa, 4 kür kemoterapi ile tedavi tamamlanır(18). İyi risk grubundaki

hastalara sadece relaps gerçekleşmesi durumunda HKHN uygulanır. Yüksek riskli AML'li hastalara ise, 3 kür kemoterapiyi tamamladıktan sonra, akraba veya akraba dışı verici bulunursa HKHN uygulanır. İndüksiyonu takiben tam remisyona giren hastaların yaklaşık yarısında nüks saptanmaktadır. MRD olarak adlandırılan morfolojik saptama düzeyinin altındaki gizli hastalığın saptanması için duyarlılığı artırılmış yöntemler kullanılmaktadır. AML ile ilişkili genetik anormalliklerin PCR veya AML ile ilişkili immünofenotiplerin akım sitometri profili yer almaktadır. MRD artık AML'de nüks riski daha yüksek olan hastaları belirlemek için kullanılmaktadır ve klinik çalışmalarda ve tedavi kararlarında risk sınıflandırmasının bir parçası olarak dahil edilmektedir(8). İndüksiyon sonrası MRD pozitifliğinin >0,1 olması da ilk remisyonda HKHN için bir endikasyondur (8).

2.2. Hematopoez

Hematopoez, tüm hematopoetik hücelere dönüşen pluripotent bir hematopoetik kök hücrenin çoğalmasıyla dolaşımdaki kan hücrelerinin üretimi olup yaşamın ilk gününden son gününe kadar gerçekleşen dinamik bir süreçtir. Bu süreçte saatte yaklaşık 10^{10} eritrosit, 10^8 ila 10^9 lökosit, toplam yaklaşık 200 milyar kırmızı küre hücresi, 10 milyar lökosit ve 400 milyar trombosit üretilmektedir (38).

İnsan embriyo ve fetusu gelişirken, hematopoez üç gelişimsel dönem ve kavram olarak mezoblastik (yolk kesesi), hepatik (karaciğer) ve miyeloid (kemik iliği) olmak üzere üç anatomik evreye ayrılmaktadır(14). Mezoblastik hematopoez, ekstraembriyonik yapılarda, özellikle yolk sac kesesinde ortaya çıkarak 10. ve 14.

gebelik günleri arasında başlar. Gebeliğin 6-8. haftasında, karaciğer, kan hücresi üretiminin öncelikli yeri olarak yolk sac kesesinin yerine geçer ve bu süre içinde plasenta da hematopoeze katkıda bulunur. Gebeliğin 10-12. haftasında ekstraembriyonik hematopoez durur ve gebeliğin geri kalanında hepatik hematopoez görülür. Sonrasında ikinci trimesterde hepatik hematopoez azalırken kemik iliğinde (miyeloid) hematopoez artar. Karaciğer, gebeliğin 20-24. haftası boyunca baskın olan eritropoetik organdır. İnsanlarda hematopoez ikisi yolk sac'te, üçüncüsü intraembriyonik; Aort/Gonad/Mezonefroz, plasenta ve damarlarında olmak üzere üç ardışık aşamada gerçekleşir. Aort/Gonad/Mezonefrozdan kaynaklanan kök hücrelerin endotelial hücrelerden üretildikten sonra fetal karaciğere ve sonrasında kemik iliğine göç etmesi gözlemi nedeniyle uzun dönem hematopoetik kök hücrelerin ilk olarak Aort/Gonad/Mezonefroz bölgesinde ortaya çıktığı düşünülmektedir(39).

Her hematopoetik organ, farklı hücre topluluklarına dönüşme kapasitesine sahiptir. Yolk sac, ağırlıklı olarak eritrositleri, megakaryositleri ve makrofajları üretir. Fetal karaciğer ilk eritropoetik organ iken kemik iliğinde eritrositler, megakaryositler ve lökositler üretilir. Fetal karaciğer ve kemik iliğinde bulunan lökosit tipleri gebelik boyunca farklılık gösterir. Makrofajlar kemik iliğinde nötrofillerden önce gelişir ve gebelik ilerledikçe makrofajların nötrofillere oranı azalır. Tüm hematopoetik dokuların üretimi hem kendi kendini yenileyebilen hem de klonal olgunlaşmaya sahip olan multipotent hücrelerle başlar. Öncül hücreler,

transkripsiyon faktörlerinin ve hematopoetik büyüme faktörlerinin etkisi ile farklılaşır(14).

Postnatal dönemde HKH'ler periferik kanda düşük düzeylerde bulunarak iskeletin uzak bölgelerinde kemik iliği mikroçevresinde bulunan kök hücrelerin dengeli bir sayıda kalmasını sağlayarak hem normal koşullar altında hem de ciddi hematopoetik hasar durumlarında homeostazın korunmasını sağlar.

Kök hücre farklılaşması sırasında granülosit, eritrosit, monosit ve megakaryosite özgü kök hücre öncülü olan hematopoetik kök hücre olan CFU-GEMM'e dönüşür. Bu farklılaşma ve immün yanıt kök hücre fonksiyonunu ileri düzeyde koordineli bir transkripsiyon programı ile düzenlemektedir. Bu programda transkripsiyon ve büyüme faktörleri, sinyal ileti yolları ile birlikte çeşitli sitokin ve kemokinler rol almaktadır. CFU-GEMM, Granülosit-Koloni stimüle edici faktör (G-CSF) ve diğer destekleyici büyüme faktörleri etkisiyle nötrofil, bazofil ve/veya eozinofil üretimine, Makrofaj-Koloni Uyarıcı Faktör (M-CSF) ve diğer destekleyici büyüme faktörleri etkisiyle monosit/makrofaj yapımına veya EPO etkisiyle eritroid hücrelere farklılaşma sağlar(38). G-CSF, nötrofil progenitor hücrelerin çoğalması yanı sıra terminal farklılaşma için de önemlidir(38). G-CSF, interleukin 6, interleukin 1, interleukin 4, interleukin 9, insülin büyüme faktörü-1 ve EPO, eritrosit seri hücrelerin oluşumu sırasında esas rolü üstlenen faktörlerdendir(40).

Eritroid serinin ilk hücresi proeritroblasttır. Daha sonra bazofilik eritroblast, polikromatofilik eritroblast, asidofilik eritroblast, retikülosit ve çekirdeksiz

eritrositler oluşur. Eritrosit zarı %50 protein, %40 lipid ve %10 karbonhidrattan oluşan çift lipid tabakasından oluşur. Eritrositler milyonlarca hemoglobin (Hb) proteini içerir. Hemoglobin, hem grubunun içine yerleşik globuler proteinden oluşur. Hem grubu 1 adet demir atomu içerir ve her bir demir atomu oksidasyon redüksiyon reaksiyonlara uğrayarak akciğer ve dokular arasında oksijen-karbondioksit taşınmasından sorumludur.

Miyeloid seri farklılaşması evreleri; myeloblast, promyelosit, myelosit, metamyelosit, band ve nötrofil şeklindedir. Bazofil ve eozinofiller de benzer öncü hücrelerden üretilmektedir. Monosit ve makrofajların oluşması ise monoblast, promonosit, olgun monosit şeklinde izlenmektedir.

Trombosit seri ise kemik iliğindeki megakaryositlerden köken alır. Megakaryositler birden çok loblu çekirdeği olan, geniş ince granüllü, açık mavi sitoplazmalı büyük hücrelerdir. Megakaryositlerden trombosit yapımına trombopoez adı verilir. Trombositler; konsepsiyondan yaklaşık 6 hafta sonra görülür, fetal yaşam boyunca sayıları artar ve gebeliğin 22. haftasında normal erişkin sayısına ulaşır. Megakaryositlerin olgunlaşma aşamaları başlıca dört evrede tamamlanır. Bu evrelerin ayrımı sitoplazma boyutu, çekirdek büyüklüğü, çekirdek lobulasyonu ve kromatin paterni gibi hücre özellikleri ile yapılır. Bu dört evre sırasıyla; megakaryoblast, bazofilik megakaryosit, granüler megakaryosit ve olgun megakaryosit olarak sıralanır. Bu hücrelerde nükleer proliferasyon, megakaryosit sitoplazmasının genişlemesi, granüllerin oluşumu ve trombositlerin dolaşıma

salınması gerçekleşir. Bu işlemlerin gerçekleşmesi için megakaryosite özgü trombopoetin gibi büyüme faktörlerinin uyarısına ihtiyaç vardır.

2.3. Hematopoetik Kök Hücre

Hematopoetik kök hücre ve progenitör hücrelerden oluşan heterojen bir hücre popülasyonu, kendini yenileme ve matür hücre tiplerine diferansiye olma özelliği sayesinde yaşam boyu organ işlevlerini sürdürmede önemli rol oynamaktadırlar. Yetişkin yaşamı boyunca, niş olarak adlandırılan çekirdek birimler, HSPC tükenmesini önlemek için hücreleri ağırlıklı olarak inaktif durumda tutmaktadır. Sistemik ihtiyaca veya hasara yanıt olarak, az sayıda bulunan uzun dönem hematopoetik kök hücreler asimetrik hücre bölünmesi geçirmek üzere ortaya çıkar ve eş zamanlı olarak kendini yenilemeye ve hematopoetik diferansiyasyona yol açmaktadır (41).

Dolaşımdaki kök hücrelerinin ilk bilimsel tanımlaması 1961’de, Till ve McCulloch tarafından, farelerde letal doz radyasyon çalışmaları ile fareleri ölümden kurtarmak için sağlıklı donör hayvanlardan alınan kemik iliği hücre ekstrelerini kullanarak kanın kendini yenilemesinde görevli olan bileşenleri ortaya çıkartmaları ile başladı (42).

Yaygın olarak kabul edilen kök hücre tanımına göre, HKH'ler kendini yenileme yeteneğine sahiptir ve miyeloid ve lenfoid kan hücrelerine dönüşen *Hematopoietic Progenitor Cell* (HPC)'lere farklılaşabilmektedir. HKHler’in asimetrik bölünmeler geçirmesiyle oluşan hücrelerden biri HKH potansiyelini

korurken, diğeri HPC'ye dönüşür. HPC'ler kendini yenileme yeteneğini kaybeder ancak diğeri hematopoetik hücrelere dönüşümü sağlayabilmektedirler. Bu asimetrik hücre bölünmesi mekanizması, hematopoetik organlarda HKH'lerin sayısını sabit tutmak, tükenmelerini önlemek için gereklidir ve bu hücre havuzu bireyin yaşamı boyunca sürdürülmektedir (43).

Antikorların ve floresan aktive edilmiş hücre sıralama (FACS) kullanımı ile HKH'lerin izole edilmesi mümkün hale gelmiştir. Weissman ve ark. ilk olarak 1988 yılında çeşitli yüzey belirteçlerinin kombinasyonunu kullanarak HKH'den zenginleştirilmiş hücreleri tanımlamıştır (44). O zamanlardan beri farklı çalışmalarla HKH'nin diğer hücrelerden ayrımı için çeşitli yüzey markerları tanımlanmaya çalışılmıştır.

Klasik tanımlamaya göre HKH'ler CD34⁺ ekspresyonuna göre, CD34⁻ uzun dönem kök hücreler ve CD34⁺ kısa dönem kök hücreler olarak iki alt gruba ayrılmaktadır. Uzun dönem kök hücreler kemik iliğinde daha az bulunur, uzun süreli (> 3-4 ay) kendini yenileme kapasitesine ve multipotent hücrelere farklılaşma yeteneğine sahiptir, kısa dönem kök hücreler yalnızca kısa süreli (çoğunlukla <1 ay) kendini yenileme yeteneğine sahiptir. Uzun dönem kök hücreler, kısa dönem kök hücrelere farklılaşır ve daha sonra kısa dönem kök hücreler kendini yenileme yeteneği olmayan multipotent progenitörlere (MPP) farklılaşır(45). İlk ayırım oligopotent olan ortak miyeloid progenitörler (CMP: miyeloid, eritroid ve megakaryositik potansiyele sahip hücreler) ile MPP'lerden farklılaşan ortak lenfoid progenitörler (CLP: sadece lenfoid potansiyele sahip hücreler) arasında gerçekleşir.

CMP'lerdeki ikinci ayırım sonucu bipotent granülosit-makrofaj progenitörler (GMP) ve megakaryosit-eritrosit progenitörler (MEP) olarak ayrılır. CLP'ler; T, B, NK ve dendritik hücrelere, GMP'ler granülositlere ve monositlere ve MEP'ler megakaryositlere ve eritrositlere farklılaşır. Çeşitli transkripsiyon faktörleri ve sitokinler aracılığıyla HKH'lerin matür kan hücrelerine kademeli olarak farklılaşması gerçekleşir(46).

Çoğunlukla fare modellerinde olmak üzere, giderek artan sayıda araştırmalarda, kemik iliği nişindeki bileşenlerin HKH'leri düzenlemedeki rolü incelenmiştir. Kemik iliği, fibroblastlar, endotelial hücreler ve osteoblastlar gibi çeşitli hematopoetik olmayan hücrelere, hematopoetik büyüme faktörleri, kemokinler, sitokinler, morfojenler ve adezyon molekülleri ile HKH'ler tarafından alınan jukstakrin ve parakrin sinyaller sağlar (47). Anjiyopoietin-1 ve trombopoietin (TPO) gibi osteoblast kaynaklı faktörler, kök hücrelerde eksprese edilen ilgili TIE2 ve MPL reseptörlerini bağlayarak HSPC inaktifliğini sağlar (48). Benzer şekilde, perivasküler C-X-C kemokin 12, abondan retiküler hücrelere temas yoluyla C-X-C Kemokin Reseptörü 4 sinyali, HSPC havuzunun korunması ve genişlemesi için kritik öneme sahiptir (49).

Enfeksiyon ve inflamasyon durumlarında HKH'ler inflamatuvar sinyallere yanıt olarak çeşitli sitokinler aracılığıyla aktive olması ve geçici olarak çoğalması sonucunda acil granülopoiez başlatmaktadır. Yapılan fare deneyleri sonucunda kök hücre havuzunun genişlemesinin anemi ve miyeloid diferansiyasyon ile ilişkili

olduğu gözlenmiştir. HKH nişini oluşturan hücrelerin geri dönüşsüz değişikliklere uğraması sonucunda malign transformasyonlar gerçekleşmektedir.

2.3.1. Kök Hücre Belirteçleri

1988 yılında ilk defa Irving Weisman ekibi tarafından kendi kendini yenileyebilme yeteneği olan uzun dönem kök hücreler, kısa dönem kök hücreler, erken ve geç multipotent progenitör hücrelerin yüzeylerindeki antijenik belirteçleri tanımlanmıştır (50).

HKH'leri izole etmek için hücre yüzey antijenleri (CD34, CD133, CXCR4 ve c-kit) ve metabolik florokromlar (Hoechst 33342, pyronin Y ve rhodamine 123) bir arada kullanılmaktadır (43). HKH'ler, vital boyalar ile (rhodamine 123, Hoechst 33342 vb.) soluk boyanmakta, yüzeylerinde CD34, CD38, CD90, CD133, CD105, CD45 (CD: cluster of differentiation) gibi çeşitli yüzey farklılaşma antijenleri ve c-kit kök hücre faktör reseptörü taşımaktadırlar(50). HKH'ler oluşturdukları kan hücrelerinin yüzeylerinde farklı olgunlaşma süreçlerinde ortaya çıkan 13-14 farklı yüzey tanımlama antijenlerini taşımaktadırlar. Bu antijenler miyeloid seri için; CD13-CD33, eritroid seri için; CD71, B hücreleri için; CD19, T hücreleri için; CD7, megakaryositler için; CD61 olarak belirtilmiştir (50).

En sık kullanılan kök hücre belirteci HKH ve HPC üzerinde eksprese edilen CD34 yüzey antijenidir. Daha olgun progenitör hücrelerde ve olgunlaşmakta olan hücrelerde CD38 ekspresyonu gözlenmesine rağmen, HKH'lerde CD38 ekspresyonu gözlenmemektedir. Bu nedenle insan HKH'leri CD34⁺, CD38⁻ olarak

gözlenmektedir(51). CD34⁺ hücrelerin kemik iliğindeki çekirdekli hücrelerin yüzde 2-5'ini oluştururken HKH'lerin çok daha nadir görülmesi, CD34⁺ yüzey antijeninin hücre zenginleştirmesinde yararlı olmasına rağmen dolaylı bir belirteç olduğunu göstermektedir(52). HKH'leri sınıflandırmak için yakın zamanda sinyal lenfosit aktivasyon molekülü (SLAM) belirteçlerinin (CD150+CD48-CD244-) bir kombinasyonu önerilmiştir (53). CD48, CD244 ve CD150(SLAMF1)'yi içeren SLAM molekülüleri, immünoglobulin gen ailesinin bir alt kümesine aittir (54). CD34 yüzey antijeninin megakaryositler, monositler, trombositler ve lenfositler gibi farklılaşmış hematopoetik hücreler üzerinde de eksprese edilmesi nedeniyle HKH izolasyonu için farklı hücre yüzey ve metabolik belirteçleri hedefleyen çok parametrelili FACS çalışması gerekmektedir (55).

2.4. Hematopoetik Kök Hücre Nakli

HKHN, 1950'li yıllarda başlayarak günümüze kadar gelen, hematopoetik sistemin konjenital veya edinsel bozukluklarının tedavisi için kullanılan bir tedavidir (56). HKHN, talasemi, orak hücre anemisi gibi hemoglobinopatiler, aplastik anemi, kalıtsal metabolik hastalıklar, primer immün yetmezlikler gibi kemik iliğinin fonksiyon bozukluğunun görüldüğü benign hastalıklarda ve sıklıkla akut veya kronik lösemi, lenfomalar, solid tümörler ve miyeloproliferatif hastalıklar gibi hematopoetik malignitelere uygulanır(57). Yüksek doz kemoterapi verilerek hastalığın veya hastalıklı kemik iliğinin yok edilmesi ve hematopoezin yeniden sağlanması için kişinin kendisinin (otolog) veya doku tipi uygun bir vericinin (allojenik) hematopoetik kök hücresinin verilmesi prensibine dayanır.

2.4.1. Hematopoetik Kök Hücre Nakli Aşamaları

Hematopoetik kök hücre naklinde temel olarak hastaya kemik iliğindeki hücresel popülasyonu ortadan kaldıracak miyeloablative (çok yüksek doz kemoterapötik ilaçlar) ilaçlar verildikten sonra hastanın kendisinin (otolog) veya doku tipi uygun bir vericinin (allojenik) hematopoetik kök hücrelerinin nakledilmesidir.

Otolog HKHN için çoğunlukla ilik tutulumu olmayan lösemi dışı malignitesi bulunan hastalara kemoterapi sonrası verilen granülosit stimüle edici faktör (G-CSF) etkisiyle periferik kana çıkması sağlanan hastanın kök hücreleri periferik kandan lökaferez yöntemi ile toplayıp dondurularak nitrojen tankında saklanır. Sonra yüksek doz kemoterapi verilerek malign hastalığın tamamen yok edilmesi amaçlanır. Hastaya önceden toplanarak saklanmış olan kendi kök hücreleri yeniden verilerek hematopoezin tekrar sağlanması hedeflenir. Allojenik HKHN’de kök hücre sıklıkla doku antijenleri tam uygun olan kardeşlerden elde edilmektedir. Uygun kardeşi olmayan hastalar için doku tipi kısmen uygun aile içi bireyler veya tam uygun aile dışı bireyler kullanılabilir.

2.4.2. Kök Hücre Kaynakları

Dolaşımdaki HKH’lerin değerlendirilmesi ve aferez işlemine başlama kararı ise Uluslararası Hematoterapi ve Graft Mühendisliği Derneği tarafından önerilen bir protokole göre CD34⁺ hücrelerinin akım sitometri ile sayılmasına dayanmaktadır(58). Bu yöntem mobilizasyon başarısını değerlendirmek, aferez prosedürünü yönetmek ve kök hücre toplama verimini değerlendirmek için altın

standarttır. Tarihsel olarak, otomatik hemositometreler kullanılarak yapılan beyaz kan hücresi (WBC) sayımı, hızlı ve ucuz olması nedeniyle kök hücre mobilizasyonuna kemik iliği yanıtının bir belirteci olarak kullanılmıştır. Fakat bazı çalışmalar WBC'ler ile CD34⁺ hücre sayısı arasında zayıf korelasyon olduğunu göstermiştir. Bu durum potansiyel olarak verimsiz hücre toplama ve transplantasyon maliyetinin artması ile ilişkilidir(59).

İlk başarılı allojenik HKHN, 1968 yılında kemik iliği kullanılarak yapılmış, takip eden yirmi yılda, nakil için kök hücre kaynağı olarak sadece kemik iliği kullanılmıştır. 1960'larda yapılan deneyler ile periferik kanın, bazı kemoterapötik ilaçlar ve hematopoetik büyüme faktörleri ile transplant öncesi zenginleştirilebilen kök hücre içerdiğini göstermiştir. Bu nedenle mobilize periferik kan kök hücreleri, HKHN için başka bir kök hücre kaynağı haline gelmiştir. 1978'de ise kordon kanının zengin bir kök hücre kaynağı olarak bulunması ile allojenik HKHN'lerde başarıyla kullanılmaya başlanmıştır (60).

2.4.2.1. Kemik iliği

Geleneksel kök hücre kaynağıdır ve iliak kemiğin posteriorundan genel anestezi altında 1 ila 1.5 L kemik iliği iğne aspirasyonları ile toplanır (61). İlikteki her yüz bin hücreden yaklaşık bir tanesi uzun dönem kan şekillendirme kök hücresidir. Diğerleri stromal hücreler, hematopoetik progenitör hücreler, olgun ya da olgunlaşmakta olan beyaz ve kırmızı küre hücreleridir(50). Kemik iliğinde, periferik kan kök hücre nakline göre engraftman (tutunma) daha yavaştır (62), ancak yine periferik kana kıyasla *Graft Versus Host* Hastalığı (GVHH) sıklığının az

olması veya kordon kanına göre miyeloid engraftmanın hızlı olması avantajlarıdır (60).

2.4.2.2. Periferik kan kök hücre

Normalde hematopoetik kök hücreler sistemik dolaşımda az miktarda bulunur, ancak yoğun kemoterapiden sonra veya granülosit koloni uyarıcı faktör uygulamasından sonra, çok sayıda kök hücre kemik iliğinden dolaşıma mobilize olur ve mobilizasyon sonrası periferik veya santral kateterler aracılığıyla aferez yöntemi ile toplanır (61). Verici kanı filtreleme sistemi aracılığıyla CD 34⁺ beyaz kan hücreleri içeren mononükleer hücre komponenti alınır ve geri kalan kısım ise donöre kırmızı kan hücreleri olarak geri döner (50) Periferik kan kök hücre toplama için kök hücre sayımının çoklu kez yapılması gerekmektedir.

Periferik kan kök hücre kullanımıyla ilgili en büyük üstünlük nötrofil ve trombosit engraftman sürelerinin daha kısa olması ve bunun sonucunda enfeksiyöz komplikasyonların, hastane kalım süresinin ve transfüzyon ihtiyacının daha az olmasıdır. Ancak toplama işleminin kendisi ve artmış GVHH riski temel dezavantajlarıdır (63).

2.4.2.3. Kordon kanı

HKH'ler doğumdan hemen sonra plasentadan ayrılan umbilikal kord kanında bulunabilir. Kordon kanı kemik iliği veya periferik dolaşıma kıyasla kök hücreler açısından daha zengindir ve kök hücre nakli için kaynak olarak kullanılabilir. Kordon kanı, allojenik HKHN'de yeni bir alana yol açmıştır,

tek bir göbek kordonunun lenfo-hematopoetik sistemi tamamen yapılandırmak için yeterli kök hücreyi içermesi, doğumda yenidoğan bebeğe zarar vermeden toplanabilmesi ve bu tip kök hücrelerin saklanabilir ve kapasitelerini kaybetmeden çözüldükten sonra hastaya nakledilebilir olması avantajlarıdır (64). Ayrıca göreceli satın alma kolaylığı, anneler ve bebekler için risk olmaması, enfeksiyon bulaşma ihtimalinin azalması da avantajları arasındadır (64). Fakat kordon kanı kullanılan hastalarda miyeloid ve trombosit engraftmanının kemik iliği kullanılan hastalara göre daha geç olması ve immün yapılanmanın gecikmesi dezavantajlarından (64).

2.5. Tam Kan Sayım Cihazı ve Ölçüm Yöntemleri

Tam kan sayımı cihazları 1940 yılında Wallece H. Coulter tarafından geliştirilmiş olup patenti 1953 yılında alınmıştır. Bunun öncesinde hemositometre adı verilen pipetler kan değerlendirmesi için kullanılmaktaydı. Bu yöntemle sonuç alınması uzun sürmekte, seyreltme işlemleri ile ilgili sorunlar yaşanabilmekteydi (65). 20. yüzyılın sonu ve 21. yüzyılın başlarında hücre sayım teknolojisinde hızlı bir gelişme olmuştur. Yeni gelişmelerle daha doğru hücre sayımları ve sonuçları elde edilmeye başlanmıştır. 1960 yılında temel olarak eritrosit, lökosit sayısı, hemoglobin, hematokrit gibi değerler ölçülebilen, 1970 yılında lökosit hücrelerinin 5 alt tipi de belirlenebilmiş, 1990 yılında immatür granülosit sayıları saptanmaya başlanmıştır. Gelişen teknoloji ile her hücre tipi için ek tanımlanabilen ve günlük hayatta da kullanabildiğimiz yeni parametreler kullanılmaya başlanmıştır (66).

Tam Kan Sayımı (TKS) ölçümünde ilk olarak kullanılan yöntem elektriksel empadans yöntemidir. Yeni cihazlarda ise elektiksel empedans yöntemi, radyofrekans geçirgenliği, lazer ışığı ile granülarite sayımı gibi birçok yöntem eş zamanlı olarak kullanılabilir (67).

Elektiriksel empedans yönteminde; hücre sayı ve volümü düşük frekanslı doğrudan elektriksel akım yöntemi ile ölçülür. İki elektrot arasındaki delikten geçen hücrelerin yarattığı elektriksel direncin oluşturduğu voltaj değişimleri ile hücre sayısı ve hücre volümü değerlendirilmiş olur. Bu cihazlarda alınan kanın bir kısmı parçalanarak hemoglobin ve lökosit sayımı yapılırken diğer kısmı parçalanmadan seyreltilerek eritrosit ve trombosit sayımı yapılmaktadır (67).

Diğer bir yöntem radyofrekans geçirgenlik yöntemidir. Bu yöntem hücre iç yapısını, nükleus yoğunluğunu, nükleus-sitoplazma oranını ve sitoplazmadaki granül yapısını yüksek frekanslı elektriksel akım yöntemi ile ölçer. Yeni nesil otomatik kan sayım cihazlarında hücrelerin sayı ve büyüklüğü empedans yöntemi ile ölçülürken eşzamanlı radyofrekans sinyalleri ile hücre iç yapısı da değerlendirilmiş olur (67).

Argon iyon lazer ile saçılan ışık, hücrelerin boyutunu ve Deoksiribonükleik asit (DNA) içeriğini tespit ederek hücre iç ve dış yapısının ayrıntılı tanımlanmasını sağlar. Coulter cihazlarında VCS (Hacim, İletkenlik, Dağılım) yöntemleri kullanılarak lökosit formülü de hesaplanır. Işık saçılımının açısına göre hücre yapısı tanımlanır. Örneğin açısı 0° olması ileri direkt ışık saçılımı olup hücre boyutunu

ölçebilirken, 7°de hücre kompleksitesi, 90°'de yandan ışık saçılımı olup nükleer lobularitesini, 90°'de depolarize olup sitoplazmik granularitenin ölçümü ile nötrofil, monosit ve lenfositlerin ölçümü yapılır. Eozinofiller 90° açı ile nükleer lobularitesine ve 90° depolarize açıda sitoplazmik granularitesine göre nötrofillerden ayrılır(68). Bunların yanında nötrofil, monosit ve eozinofiller myeloperoksidaz boyası ile boyanıp pozitif sonuç verirken lenfositler ve bazofiller bu boya ile boyanmaz ve negatif sonuç verirler. Ayrıca detaylı retikülosit sayımı için floresans yöntemi de kullanılır(67).

Yeni nesil kan sayım cihazları, hücrelerin ayrımı için akım sitometri ve floresansın birlikte kullanımı açısından yeni bir yöntemdir. Lökosit diferansiyel sayımı ile hücrelerdeki ribozomal RNA ve DNA miktarına göre hacim, yapı ve floresans eşzamanlı olarak ölçülerek belirlenmekte ve immatur miyeloid hücrelerin ölçümü sağlanmaktadır. Floresans yöntemi ile, TKS ve WBC diferansiyel sayımı, eritroblastların analizi ile zenginleştirilerek, lökosit ve lenfosit sayımlarına olanak sağlar. Mikrositler veya büyük trombositler mevcut olduğunda, trombositler de bu optik yöntemle daha hassas bir şekilde sayılabilmektedir (3).

3. MATERİYAL METOD

3.1. Çalışma Grupları

Hastanemiz Çocuk Hematoloji Bilim Dalı'nda Ocak 2017 ile Ocak 2021 yılları arasında kesitsel olarak 1-18 yaş arası toplam 72 çocuktan alınmış olan kemik iliği aspirasyonu ve tam kan sayımı örneklerinden çalışılan yeni nesil kan sayım parametreleri incelenmiştir.

Gazi Üniversitesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı'nda akut lösemi tanısı alan, allojenik kök hücre nakli yapılan hastaların sağlıklı vericileri ve akut lösemi dışında tanı alan reaktif kemik iliği bulguları olan hastalar (İmmün Trombositopeni ve açıklayanamayan sitopeniler) dahil edilirken, kronik lösemili hastalar ve kök hücre nakli uygulanan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışma grupları tanıya göre akut lösemi (Grup 1, n=29), reaktif kemik iliği bulguları olan hastalar (Grup 2, n=32), sağlıklı kök hücre vericileri (Grup 3, n=11) olarak 3 grupta incelenmiştir. Ayrıca Grup 1'deki hastalar lösemi alt tipine göre Grup 1a (n=24 ALL) ve Grup 1b (n=5 AML) olmak üzere iki ayrı alt grupta incelenmiştir. Çalışmaya başlamadan önce 01.11.2021 tarihinde üniversitemiz etik kurulundan onay alınmıştır. (Onay Kodu:52)

3.2. Çalışma Parametreleri

Çocuk Hematoloji Servisi ve Kök Hücre Transplantasyon Ünitesi'ne yatışı yapılmış hastaların iliak krestlerinden yapılan kemik iliği aspirasyon materyalinden en az 3 ml örnek ile çalışılan tam kan sayımı örnekleri, örneklerle eş zamanlı alınan

kemik iliği yaymaları ve periferik kan sayımları değerlendirilmiştir. Tüm kemik iliği örnekleri K₂EDTA içeren tüplere alınmış ve alındıktan sonraki iki saat içinde Sysmex-XN20 Module® (Sysmex, Kobe, Japonya) otomatik kan sayım cihazında analiz edilmiştir. Lösemi hastalarının farklı tedavi zamanlarında, ALL için 0.,15.,33.,78. günler ve idame tedavi döneminde, AML için 0. ve 15. günlere ait kemik iliği örnekleri, sağlıklı kök hücre vericilerinin ve reaktif kemik iliği bulguları olan hastaların kemik iliği örnekleri hematoloji cihazı ile yapılan kan sayımı ve kemik iliği yaymaları ile karşılaştırılmıştır.

Kan sayım cihazında rutin kan sayım parametreleri [Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW, retikülosit sayısı, lökosit sayısı, nötrofil sayısı, lenfosit sayısı, monosit sayısı(MONO#), monosit yüzdesi(MONO%), eozinofil sayısı, trombosit sayısı] ve yeni nesil kan sayım parametreleri [HPC yüzdesi (HPC%), HPC sayısı (HPC#), HYPO-He %, HYPER-He %, MICRO-R %, MACRO-R %, kırmızı küre hücrelerinin Hb içeriği (RBC-He), Delta Hemoglobin (Delta-He), IRF, RPI, RET-Hb, IG, delta nötrofil, delta lenfosit, Nötrofil Granülarite İndeksi (NEUT-GI), Nötrofil Reaktivite İndeksi (NEUT-RI)] Sysmex XN® 2000 (Sysmex, Kobe, Japan) cihazı ile incelenmiştir. Kemik iliği yaymaları için Wright-Giemsa boyası kullanılmıştır ve ışık mikroskobu altında bir hematoloji uzmanı tarafından değerlendirilmiştir. Her vaka için en az 200 hücre değerlendirilmiştir, yaymaların blast oranları not edilmiştir. Lösemi grubu yaş, cinsiyet, lösemi tipi (ALL veya AML), hastaların steroid yanıtı, relaps, MRD oranları, sitogenetik pozitiflik, sağkalım ve kök hücre transplantasyonu yapılma açısından her grup kendi

içerisinde değerlendirilmiştir. HPC sayı ve yüzdeleri morfolojik benzerlik nedeniyle monosit sayı ve yüzdeleriyle karşılaştırılmıştır.

3.2.1. Eritrosit Seriyeye Ait Yeni Kan Sayım Parametreleri

Çekirdekli kırmızı kan hücreleri (NRBC'ler), dolaşımdaki immatür eritrositleri gösterir. Eski cihazlarda çekirdekli kırmızı küre hücrelerinin lenfositler ile karıştırılmasına rağmen yeni cihazlarda çekirdekli kırmızı küre hücreleri daha net sayılabilmektedir(69).

Hemoglobin ile ilgili yeni parametreler, HYPO-He %, HYPER-He %, MICRO-R %, MACRO-R %, RBC-He, Delta-He'dir.

HYPO-He %, kırmızı küre hücrelerinde bulunan Hb miktarı 17 pg altında olan hücrelerin oranını göstermektedir. Retikülosit dağılım grafiğinde olgun kırmızı küre hücrelerinin bulunduğu alandaki ileri ışık saçılım sinyalini düşük seviyede veren hücrelerin sayısının, olgun kırmızı küre hücre sayısına oranı ile hesaplanmaktadır.

HYPER-He % kırmızı küre hücrelerinde bulunan Hb miktarı 49 pg'dan yüksek olan hücrelerin oranını göstermektedir. HYPER-He % ise retikülosit dağılım grafiğinin olgun kırmızı küre hücrelerinin bulunduğu alandaki ileri ışık saçılım sinyalini yüksek seviyede veren hücrelerin sayısının, olgun kırmızı küre hücre sayısına oranı ile hesaplanmaktadır.

MICRO-R % ve MACRO-R % ise hücrelerin boyutuna göre mikrositik ve makrositik hücreler olarak tanımlanıp bu hücrelerin oranının total kırmızı küre hücrelerine oranı ile yeni cihazlarda hesaplanan değerlerdir. MICRO-R % 60 fL altındaki kırmızı küre hücrelerin oranı, MACRO-R % ise 120 fL üzerindeki kırmızı küre hücrelerinin oranıdır.

Delta-He ise RET-Hb'den RBC-He'nin çıkartılması ile hesaplanmaktadır. Yüksek değerleri artmış eritropoetik aktivite olduğunu gösterirken, düşük değerleri baskılanmış eritropoeze işaret etmektedir.

3.2.2. Retikülosit Seriye Ait Yeni Kan Sayım Parametreleri

Retikülosit seri için retikülosit sayı ve yüzdesi dışında cihazlardaki gelişmelerle birlikte IRF, RET-Hb, RPI da son yıllarda kullanıma girmiştir.

Retikülosit parametreleri değerlendirilirken hücredeki Ribonükleik asit (RNA) içeriğini gösteren nükleik asit boyası olan oksazine 750 kullanılmaktadır. Kırmızı küre hücreleri RNA içermedikleri için boya tutulumu izlenmez, retikülositlerde belirgin boya tutulumu izlenmektedir. Retikülositler olgunlaşma evrelerine ve floresans yoğunluğuna göre 3 alt grupta incelenmektedir. Bu hücreler düşük, orta ve yüksek floresansa göre sırasıyla Düşük Floresans Retikülosit (LFR), Orta Floresans Retikülosit (MFR), Yüksek Floresans Retikülosit (HFR) olarak sınıflandırılır. LFR, az miktarda RNA içerir ve olgun retikülositleri gösterir. MFR, LFR'ye göre daha fazla RNA içerir ve orta maturasyondaki retikülositleri gösterir. HFR'de ise yüksek miktarda RNA olup, immatür retikülositleri gösterir. Orta ve

düşük floresanslı retikülositlerin toplamının yüzdesi ise IRF olarak adlandırılmıştır (70). IRF> %5 hemopoetik iyileşme için güvenilir bir belirteç olarak değerlendirilmektedir (70).

RET-Hb retikülosit içerisindeki hemoglobin içeriğini gösterir. Retikülositlerin ömürleri yaklaşık 2-4 gün olması nedeniyle RET-Hb gelişmekte olan kırmızı küre hücrelerindeki hemoglobin oranını daha çok göstermektedir. RPI, normal kişilerde 0,1 olarak bulunmuştur. RPI>2 eritropoezdeki artışı göstermekte iken, RPI<2 eritropoezdeki baskılanmayı göstermektedir(69).

3.2.3. Lökosit Seriyeye Ait Yeni Kan Sayım Parametreleri

Rutin olarak cihazlarda lökosit seri ile ilgili olarak lökosit sayısı ve alt hücre grupları hesaplanabilmektedir. Bu ölçümler lökositler, granüler hücreler (nötrofil, eozinofil, bazofil) ve agranüler hücrelerden (lenfosit ve monosit) oluşmaktadır. Nötrofiller periferik kanda 3-5 loblu olarak bulunan granüler hücrelerden oluşurken eozinofiller periferik kanda 2 loblu olarak bulunan pembe granüllü hücrelerdir. Bazofiller ise periferik kanda görülen çekirdekli bazofilik granüllü hücrelerdir. Agranüler hücreler olan lenfosit ve monositler ise periferik kanda çekirdekli olarak görülürler. Monositler büyük boyutlu iken lenfositler küçük hücrelerdir(68).

Yeni kan sayımı cihazlarında lökosit seri hücreleri dağılım grafiğindeki pozisyonları ve şekilleri sayesinde farklı hücre kümeleri olarak ayrılmaktadırlar. Bu özellik sayesinde Immatur Granulosit (IG) miktarı sayı ve yüzde olarak ölçülebilmektedir. Hücre membranı özel bir reaktif madde ile parçalamakta ve

sonrasında hücre içi DNA ve RNA floresan bir boya ile işaretlenmektedir. Daha fazla RNA içermesi nedeniyle immatur hücreler daha fazla floresan sinyali göstermektedir (71). Sepsisli hastalarda immatur granulosit (IG) oranının %2 altında bulunması sepsisi %90 oranında dışlayabilmektedir. Bu da IG parametresinin sepsis için önemli bir belirteç olduğuna işaret etmektedir (72).

Enfeksiyon, inflamasyon durumlarının yanı sıra IG ve IG%, fonksiyonel demir eksikliğini öngörmeye de oldukça hassas ve spesifik bir belirteç olarak değerlendirilmiştir (73).

3.2.4. Yeni Nesil Kan Sayım Cihazındaki Gelişmeler ve *Hematopoetik Progenitor Cell (HPC) Parametresi*

Yeni nesil kan sayım cihazında, kemik iliğindeki immatur hücrelerin tanımlandığı HPC adlı bir mod geliştirilmiştir. Bu modda kemik iliğindeki immatur çekirdek ve sitoplazma yapısına sahip öncül hücrelerin ölçümü yapılmaktadır. Hematoloji analizörü Sysmex-XN serisinde geliştirilen HPC modu, optik sistem ve özel reaktifler (WPC reaktifleri) kullanarak hematopoetik progenitor kök hücrelerin sayımını gerçekleştirmektedir. Bu seride kök hücreler morfolojik, optik ve biyokimyasal özelliklerine göre diğer beyaz kan hücrelerinden ayırt edilebilir. Yeni nesil kan sayım cihazları kök hücre sayımı teknolojisi, ön işleme ve yıkama olmadan, yalnızca 190 µL periferik kan veya aferez ürünü kullanılarak yapılmaktadır. Ortalama dört dakika içinde total hematopoetik progenitor hücre sayısı (HPC #) ve toplam beyaz kan hücrelerine oranı (HPC %) olarak rapor edilebilmektedir(74).

Cihaz iki temel yöntem ile çalışmaktadır. 1) Elektriksel yöntem: düşük frekanslı direkt akım ile oluşan impedans ölçülerek hücre volümü hakkında bilgi verir. Yüksek frekanslı alterne akım (radyofrekans) ile oluşan impedans ölçülerek hücre yapısı ve dansitesi hakkında bilgi verir. 2) Optik yöntem: Işık kaynağının orijini yarı iletken lazer ışınıdır. Hücreler 3 yöntemle ayrılır. 1. İleri ışık saçılımı (0') ile hücre boyutunun, 2.Yana ışık saçılımı (90') ile hücre granülaritesinin, 3.fluorescent emission fluorochrome (polymethine) ile hücre icindeki anstabil komplekslerin (ribosomal RNA and DNA) tanınmasını sağlar(3).

Yeni nesil kan sayım cihazının '*Immatur Miyeloid Information*' kanalında kullanılan spesifik reaktifler ile eritrosit ve trombosit membranı zarar görerek küçülür ve hayalet hücreye dönüşür. Ayrıca matür lökositlerin membran yağ içeriğinin immatur hücrelere göre fazla olması nedeniyle spesifik reaktif maddeler bu hücreleri de zedeleyerek hayalet hücre bölümünde yer almasını sağlamaktadır. Böylece grafikte immatur ve matür hücre ayrımı sağlanmış olur. Yine immatur hücreler kemik iliği yaymasındaki, myeloblast, promyelosit ve myelositle orantılı, immatur granülositler (IG) ise myelosit+metamyelosit ve band hücreleri ile orantılı bulunmuştur. Son yıllarda HPC de immatur ve matür hücre ayırımında kullanılmaktadır (75).

Floresans prensibi ile özel lizis reaktifleri ve *White Blood Precursor Cell* (WPC) kanalı kullanılarak ölçüm sağlanır. Hücre floresan yoğunluğu, WPC reaktifine karşı hücre membran geçirgenliğine bağlıdır. Kök hücrelerin direkt ışık saçılımı, yandan ışık saçılımı ve yandan floresan ışık sinyalleri ile ayrımı sağlanır.

WPC parçalayıcı reaktif bir yüzey aktif madde içerir. Lipid üreten küçük gözenekleri çözerek hücre zarını deler. İkinci bir reaktif olan WPC floresan boya, membran gözeneklerinden girer ve nükleer içeriğe bağlanır. Hücreye ne kadar çok floresan boya girerse, floresan sinyal o kadar güçlü olur. Blastlar ve kök hücreler membranlarının düşük lipid bileşimi nedeniyle WPC reaktif tarafından permeabilizasyona dirençlidir, bu nedenle orta Direkt Işık Saçılımı (FSC), düşük Yandan Işık Saçılımı (SSC) ve düşük Yandan Floresan Işık Sinyalleri (SFL) verir(74). Buna karşılık malign lenfositler, hücre zarında daha yüksek oranda lipid içerir. Bu nedenle yüksek permeabilizasyon ve floresan sinyalleri oluşmaktadır. Ayrıca bu hücreler hızlı proliferasyon özellikleri nedeniyle daha belirgin DNA'ya sahiptirler, bu durum yüksek SFL göstermelerine neden olur. Membran lipid bileşimindeki farklılıklar nedeniyle malign hücrelerin sağlıklı hücrelerden ve immatur hücrelerin matür hücrelerden ayrımı sağlanmaktadır. Bu ışık saçılım özellikleri incelenerek cihazın WPC kanalı, örnekleri "Blastlar?", "Anormal lenfositler?"(şüpheli malign), "Atipik lenfositler?"(şüpheli reaktif) veya "İşaretleme Yok" olmak üzere dört tanımlı kategoriden birine sınıflar. WPC kanalının kullanılması, hücrelerin tekrar değerlendirilmesiyle olası yanlış işaretleme durumunda işaretin kaldırılmasını, blast, anormal veya atipik lenfositler arasında ayırım yapılabilmesini sağlar(1).

Diferansiyel tam kan sayımı, Beyaz Hücre Diferansiyel Sayımı (WDF) kanalı (nötrofiller, lenfositler, eozinofiller ve olgunlaşmamış granülositler), WNR kanalı (bazofiller, çekirdekli kırmızı kan hücreleri) ve WPC kanalı (eritrosit

öncülleri hariç miyeloid hücre sayıları, granülosit sayıları) kombinasyonları kullanılarak oluşturulur(76). Lizis ve floresans reaktifleri kullanılarak hücrelerin ışık saçılımlarına göre ayrımlarının yapılması sağlanır. WDF kanalında lökosit diferansiyasyonu, blast, anormal lenfositler ve atipik lenfositlerin işaretlemesi yapılır. Fakat atipik lenfositlerin de artmış floresans göstermesi nedeniyle her zaman malign lenfositlerden ayırt edilememektedir; bu nedenle birleşik "Blastlar/Anormal lenfositler?" + "Atipik lenfositler?" işaretlemesi görülmektedir (1). Bu hücrelerin ayrımı için periferik yayma incelemesi yapmak ya da WPC kanalında tekrar değerlendirme gerekmektedir.

WDF kanalı ile birlikte WPC kanalının kullanımı hücre tanımlanmasının hassasiyetini arttırmaktadır. WPC kanalında, WPC reaktifi lökositlerin membranındaki lipitleri çözer ve sonrasında özel bir floresan boyanın hücrelere nüfuz etmesiyle hücre DNA'ları boyanır. Bu boyanma farklılığı blastların, anormal lenfositlerin ve normal lökositlerin ayrımını ve tanımlanmasını sağlar. Numuneye WPC analizi yapılması önceden seçilebilir veya otomatik bir refleks test olarak gerçekleştirilebilir. Bu refleks test WDF kanalından gelen "Blast/Anormal lenfositler?" birleşik işaretinin varlığıyla tetiklenir. WPC analizi sonrası, 'Blast?' veya 'Abn lympho?' işaretlemesi yapılabilir veya ilk uyarının kaldırılması sağlanabilir(71).

3.3. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS.25.0 programında analiz edildi. Değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığını değerlendirmek amacıyla Kolmogrov-Smirnov testi uygulandı.

Normal dağılan sayısal veriler için ortalama ve standart sapma değerleri kullanılırken normal dağılmayan sayısal veriler için medyan ve çeyrekler arası minimum-maksimum aralık kullanıldı. Kategorik verilerin tanımlanmasında sayısal ve yüzde değerler hesaplandı. Kategorik veriler Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Bağımsız sayısal değişkenler normal dağılıyorsa Student-t testi, normal dağılmayanlar ise Mann-Whitney U testi kullanılarak analiz edildi. Bağımlı sayısal değişkenler için Wilcoxon testiyle karşılaştırma yapıldı. Değişkenler arası ilişki veriler normal dağılmıyorsa Spearman korelasyon testi ile normal dağılıyorsa Pearson korelasyon testi ile analiz edildi. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Çalışmaya toplam 72 çocuk dahil edildi. Çocukların %40,3 ($n=29$)'ünü lösemi hastaları (Grup 1), %44,4 ($n=32$)'ünü reaktif hastalıklar (Grup 2), %15,3 ($n=11$)'ünü sağlıklı kök hücre vericileri (Grup 3) oluşturmaktaydı. Bu hastaların %41,6 ($n=30$)'sı kız cinsiyet, %58,4 ($n=42$) erkek cinsiyetti. Lösemi hastalarının %41,4($n=12$)' ü kız, %58,6($n=17$)'sı erkek cinsiyetti. Reaktif hastaların %43,8($n=14$)'i kız, %56,2($n=18$) erkek cinsiyetti. Sağlıklı kök hücre vericilerinin %36,4($n=4$)'ü kız, %63,6 ($n=7$) erkek cinsiyetti. Çalışmamızdaki çocukların %38,8 ($n=28$)'i 5 yaş altında, %26,3 ($n=19$)'ü 5-10 yaş arası, %34,9 ($n=25$)'u 10-18 yaş arasındaydı. Lösemi hastaları ve sağlıklı kontroller arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Lösemi hastalarının %82,7 ($n=24$)'si ALL tipi (Grup 1a), %17,3 ($n=5$) 'ü AML (Grup 1b) tipi idi (Tablo 2).

Lösemi hastalarının %100 ($n=29$)'ünde ilk tanıda kemik iliği aspirasyonunda silme blast mevcuttu. Hastaların tedavilerinin 15. gününde yapılan kemik iliği aspirasyonlarında ALL hastalarının %58,3($n=14$)'ünde M1, %29,2 ($n=7$)'sinde M2, %12,5 ($n= 3$)'unda M3 kemik iliği bulguları mevcuttu, AML hastalarının ise %20($n=1$)'sinde M1, %40($n=2$)sinde M2, %40($n=2$)'sinde M3 kemik iliği bulguları mevcuttu. Hastaların tedavilerinin 33. gününde yapılan kemik iliği aspirasyonlarında ALL hastalarının %79,2 ($n=19$)'sinde M1, %20,8 ($n=5$)'inde M2 kemik iliği bulguları mevcuttu, AML hastalarının ise %60($n=3$)'ında M1, %40($n=2$)'ında M2 kemik iliği bulguları mevcuttu. Tedavinin 33. gününde M3

kemik iliği bulguları olan hasta bulunmamaktaydı. ALL hastalarının tedavilerinin 78. gününde hastaların %79,2 (n=19)'sinin M1 kemik iliği bulguları, %20,8 (n=5)'inin M2 kemik iliği bulguları mevcuttu, M3 kemik iliği bulguları olan hasta bulunmamaktaydı. Lösemi hastalarının %31 (n=9)'inde hastalık relapsı gerçekleşti, %69 (n=20)'unda hastalık relapsı gerçekleşmedi. Hastalık relapsı gerçekleşen ve steroid yanıtı olmayan hastalara, toplam lösemi hastalarının %41,3(n=12)'üne kök hücre transplantasyonu yapıldı, kalan %58,7 (n=17) hastaya kök hücre transplantasyonu yapılmadı. Lösemi hastalarının tedavileri %93,1(n=27)'i kür ile sonuçlandı, hastaların %6,9(n=2)'u kaybedildi. Reaktif hastalıkların %75(n=24)'ünü İmmün Trombositopeni (ITP) ve %25 (n=8)'ini açıklanamayan sitopeniler oluşturdu. ALL hastalarının %90(n=18)'i MRD pozitif, %10(n=2)'u MRD negatif idi. ALL hastalarının %72,4(n=21)'ü remisyon indüksiyon tedavisinin 8.gün kortikosteroid yanıtı var, %27,6 (n=8)'sının kortikosteroid yanıtı yok olarak değerlendirildi. Lösemi hastalarının sitogenetik belirteçleri incelendiğinde ALL hastalarının, %91,7(n=22)'si t(1,19) pozitif, tüm lösemi hastalarının %17,9(n=5)'u t(9,22) pozitif, ALL hastalarının %16,7(n=4)'si t(12,21) pozitif, t(8,21) ve inv 16 çalışılan n=5 AML, n=1 ALL olmak üzere toplam 6 hastadan %50(n=3)'si t(8,21) pozitif, %100(n=6)'ü inv 16 negatif idi. FLT -3 mutasyon analizi çalışılan n=2 AML, n=3 ALL olmak üzere toplam 5 hastanın tamamı FLT-3 negatif saptandı. AML-1 ETO füzyon geni analizi n=1 AML hastasında çalışıldı ve pozitif sonuçlandı. ALL hastalarının tamamı (n=24) t(4,11) negatif idi(Tablo 3).

Tablo 2. Demografik özellikler

Değişkenler-Lösemi (n=29)			n	%
Cinsiyet		Kız	12	%41,4
		Erkek	17	%58,6
Yaş		<5 yaş	11	%37,9
		5-10 yaş	8	%27,5
		10-18 yaş	10	%34,6
Lösemi Tipi		ALL	24	%96
		AML	5	%4
Nakil Durumu		Var	12	%41,3
		Yok	17	%58,7
Sağkalım		Var	27	%93,1
		Yok	2	%6,9
Relaps Durumu		Var	9	%31
		Yok	20	%69
Kortikosteroid Yanıtı		Var	21	%72,4
		Yok	8	%27,6
MRD		Var	18	%90
		Yok	2	%10
Tedavi 15. gün				
Kemik İliği Blast Oranı	ALL	M1	14	%58,3
		M2	7	%29,2
		M3	3	%12,5
	AML	M1	1	%20
		M2	2	%40
		M3	2	%40
Tedavi 33. Gün				
Kemik İliği Blast Oranı	ALL	M1	19	%79,2
		M2	5	%20,8
		M3	0	%0
	AML	M1	3	%60
		M2	2	%40
		M3	0	%0
Tedavi 78. Gün				
Kemik İliği Blast Oranı	ALL	M1	19	%79,2
		M2	5	%20,8
		M3	0	%0
Değişkenler-Reaktif (n=32)			n	%
Cinsiyet		Kız	14	%43,8
		Erkek	18	%56,2
Yaş		<5 yaş	15	46,8
		5-10 yaş	4	%12,5
		10-18 yaş	13	%40,7
Tanı		ITP	24	%75,0
		Açıklanamayan Sitopeniler	8	%25
Değişkenler-Sağlıklı (n=11)			n	%
Cinsiyet		Kız	4	%36,4
		Erkek	7	%63,6
Yaş		<5 yaş	2	%18,1
		5-10 yaş	7	%63,8
		10-18 yaş	2	%18,1

Tablo 3. Lösemi hastaları sitogenetik incelemesi

Sitogenetik	
t (4;11) (n:24)	
Pozitif	-
Negatif	24 (%100)
t (9,22) (n:28)	
Pozitif	5 (%17.9)
Negatif	23 (%82.1)
t (1,19) (n:24)	
Pozitif	2 (%8.3)
Negatif	22 (%91.7)
t (8,21) (n:6)	
Pozitif	3 (%50)
Negatif	3 (%50)
t (12,21) (n:24)	
Pozitif	4 (%16.7)
Negatif	20 (%83.3)
t (15,17) (n:6)	
Pozitif	2 (%33.3)
Negatif	4 (%66.7)
inv 16 (n:6)	
Pozitif	-
Negatif	6 (%100)
FLT-3 (n:5)	
Pozitif	-
Negatif	5 (%100)
AML-1 ETO (n:1)	
Pozitif	1 (%100)
Negatif	-

4.2. Gruplar Arası İlk Kemik İliği Örneklerinde HPC ve Monosit Değerlendirilmesi

Tablo 4. Gruplar Arası İlk Kemik İliği Örneğinde HPC %, HPC#, MONO# ve MONO % Karşılaştırılması

(n:72)	Gruplar					
Ort±SS Median (Min-Max)	Lösemi-1 (n:29)	Reaktif-2 (n:32)	Sağlıklı-3 (n:11)	Grup1-2	Grup1-3	Grup2-3
HPC % 0.gün	2.4±1.2 0.71 (0.02-34.29)	0.3±0.04 0.25 (0.03-0.95)	0.5±0.05 0.52 (0.19-0.71)	0.0001	0.15	0.006
HPC # 0.gün	1.5±0.9 0.1 (0.0-26.22)	0.1±0.02 0.09 (0.0-0.38)	0.2±0.08 0.12 (0.0-1.01)	0.33	0.71	0.58
MONO # 0.gün	16.9±3.3 12.10 (0.96-62.17)	2.9±0.6 1.79 (0.26-17.46)	5.2±3.9 0.97 (0.40-44.30)	0.0001	0.04	0.36
MONO% 0.gün	30.8±2.9 30.40 (4.70-71.0)	7.4±0.6 6.75 (2.0-15.6)	8.2±2.2 5.50 (4.0-29.6)	0.0001	0.0001	0.62

Grup 1'deki lösemi hastalarının 0. Gün monosit sayıları ve yüzdeleri Grup 2 ve 3'teki reaktif kemik iliği olan hastalar ve sağlıklı gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$) Monosit sayı ve yüzdelerinde Grup 2'deki reaktif kemik iliği bulguları olan hastalar ile Grup 3'teki sağlıklı bireyler arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Grup 1'deki lösemi hastalarının 0.gün HPC% değerleri Grup 2'deki reaktif kemik iliği bulguları olan hastalara göre anlamlı yüksek, Grup 2'deki reaktif kemik iliği bulguları olan hastaların ise HPC% değerleri Grup 3'teki sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$) Grup 1 ve Grup 3' teki hastalar arasında HPC % değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Grup 1, 2 ve 3 arasında 0. Gün HPC# değerlerinde anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4).

4.3. ALL Hastalarında Tedavi Günlerine Göre HPC ve Monosit Korelasyonu

Tablo 5. ALL Hastalarında HPC% ile MONO% ve HPC # ile MONO# Değerlerinin Tedavi Günlerine Göre Korelasyonu

n=24		r	P
0.gün	MONO#- HPC#	0.482	0.0001
	HPC % -MONO%	0.517	0.0001
15.gün	MONO#- HPC#	0.680	0.001
	HPC% -MONO%	0.480	0.009
33.gün	MONO#- HPC #	0.886	0.0001
	HPC% -MONO%	0.519	0.009
78.gün	MONO#- HPC#	0.945	0.0001
	HPC % -MONO%	0.260	0.22

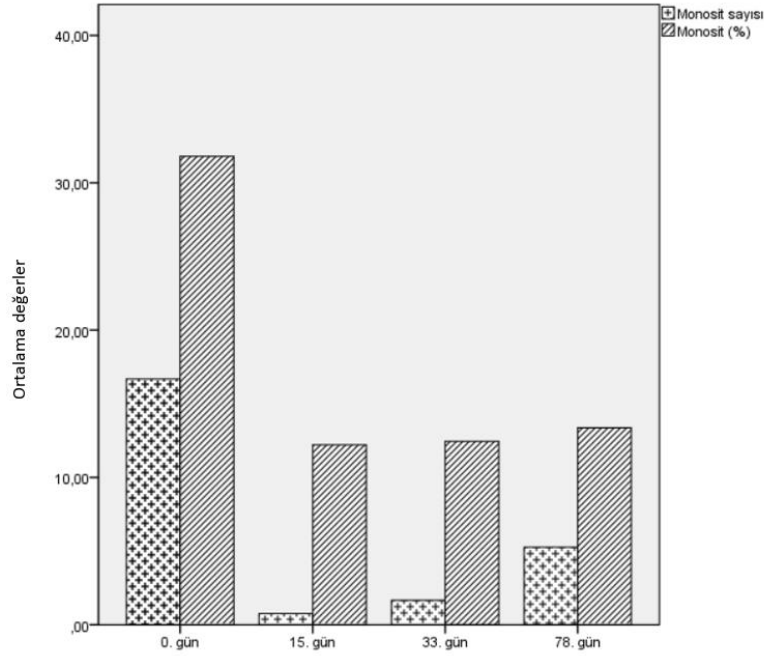
Grup 1’deki ALL hastalarında HPC ve monosit sayı ve yüzdeleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde MONO#- HPC# ve MONO%-HPC% arasında 0., 15. ve 33. günlerde istatistiksel anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0.05$). 78. gün değerlendirmesinde ise MONO#-HPC# arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0.05$). 78. gün değerlendirmesinde MONO%- HPC% arasında istatistiksel anlamlı ilişki tespit edilememiştir ($p>0.05$). Grup 1’deki ALL hastalarında 33. gün ve 78. gün değerlendirmesinde MONO#-HPC# arasında güçlü düzeyde ilişki ($r_{33}=0.886$, $r_{78}=0.945$) bulunurken, 0.gün ve 15. gün MONO#-HPC# arasında orta düzeyde pozitif yönlü ilişki ($r_0=0.482$, $r_{15}=0.680$) saptanmıştır ($p<0.05$) HPC%-MONO % için 0.,15. Ve 33. gün orta düzeyde pozitif yönlü ilişki ($r_0=0.517$, $r_{15}=0.480$, $r_{33}=0.519$) saptanırken ($p<0.05$), 78. gün değerlendirmesinde düşük düzeyde ilişki ($r_{78}=0.260$) saptanmıştır ($p>0.05$) (Tablo 5) (Şekil 3,4,5,6,7,8,9)

4.4. ALL Hastalarında Tedavi Günlerine Göre HPC ve Monosit Karşılaştırılması

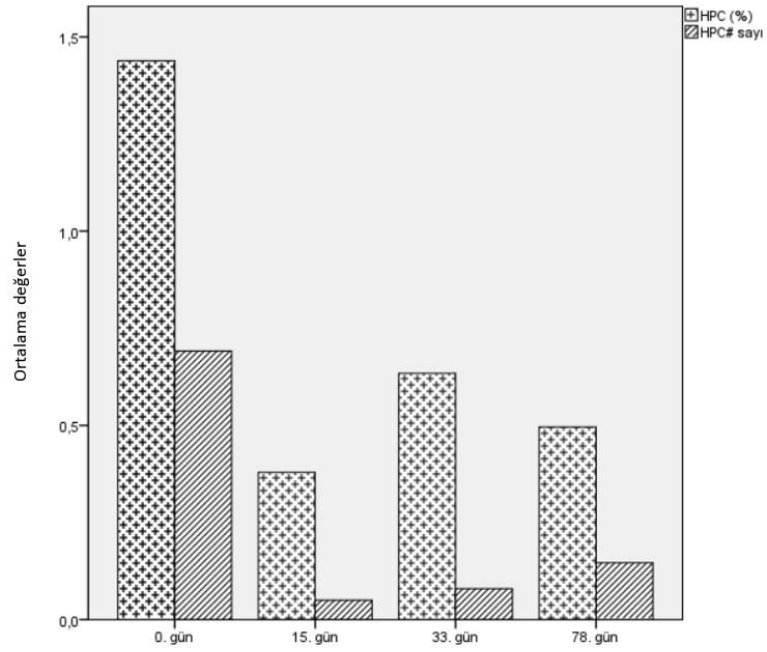
Tablo 6. ALL Hastalarında Tedavi Günlerine Göre HPC %, HPC #, MONO# ve MONO% Karşılaştırılması

(N:24)		GÜNLER					P			
ORT±SS MEDIAN (MIN-MAX)	0.gün	15.gün	33.gün	78.gün	0-15	0-33	0-78	15-33	15-78	33-78
HPC %	2.4±1.2 0.71 (0.02-34.29)	0.4±0.06 0.22 (0.03-1.39)	0.6±0.2 0.30 (0.0-5.0)	0.5±0.09 0.39 (0.10-2.31)	0.003	0.01	0.001	0.69	0.07	0.90
HPC #	1.5±0.9 0.1 (0.0-26.22)	0.06±0.03 0.01 (0.0-0.8)	0.07±0.03 0.03 (0.0-0.92)	0.1±0.06 0.0 (0.0-1.22)	0.001	0.001	0.03	0.06	0.0001	0.08
MONO#	16.9±3.3 12.10 (0.96-62.17)	1.3±0.4 0.32 (0.01-9.91)	1.9±0.6 1.20 (0.0-12.06)	4.9±2.4 1.7 (0.02-64.03)	0.001	0.001	0.03	0.06	0.0001	0.06
MONO%	30.8±2.9 30.40 (4.70-71.0)	11.6±2.4 6.3 (1.50-59.20)	10.9±1.6 7.60 (0.0-33.10)	13.5±1.6 11.6 (1.70-41.40)	0.0001	0.0001	0.0001	0.96	0.26	0.14

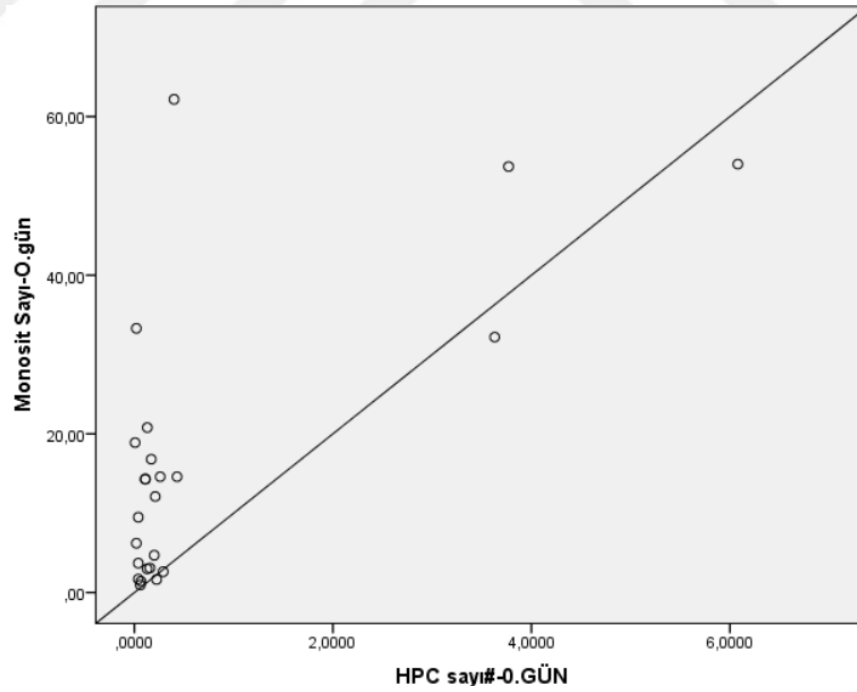
Grup 1'deki ALL hastalarında tedavi günlerine göre yapılan değerlendirmede 0.gün HPC %, HPC #, MONO% ve MONO# ortalama değerleri, 15.,33. Ve 78. gün HPC%, HPC #, MONO% ve MONO# ortalama değerlerine göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). 15.gün HPC# ve MONO# ortalama değerleri, 78. Güne göre anlamlı düşük bulunurken ($p<0.05$), aynı tedavi günlerinde HPC% ve MONO% ortalama değerlerinde anlamlı fark görülmemiştir ($p>0.05$) Ortalama HPC%, HPC#, MONO% ve MONO# için 15.gün-33. gün ve 33. gün- 78. gün arası değerlendirmede anlamlı fark bulunmamaktadır ($P>0.05$). (Tablo 6) (Şekil 1,2)



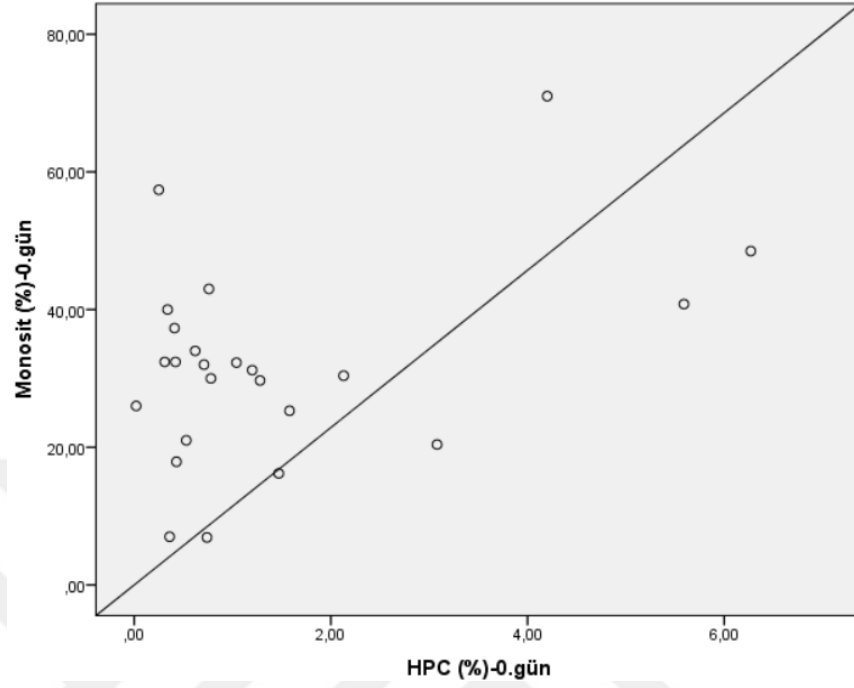
Şekil 1. Tedavi günlerine göre MONO% ve MONO# ortalamaları



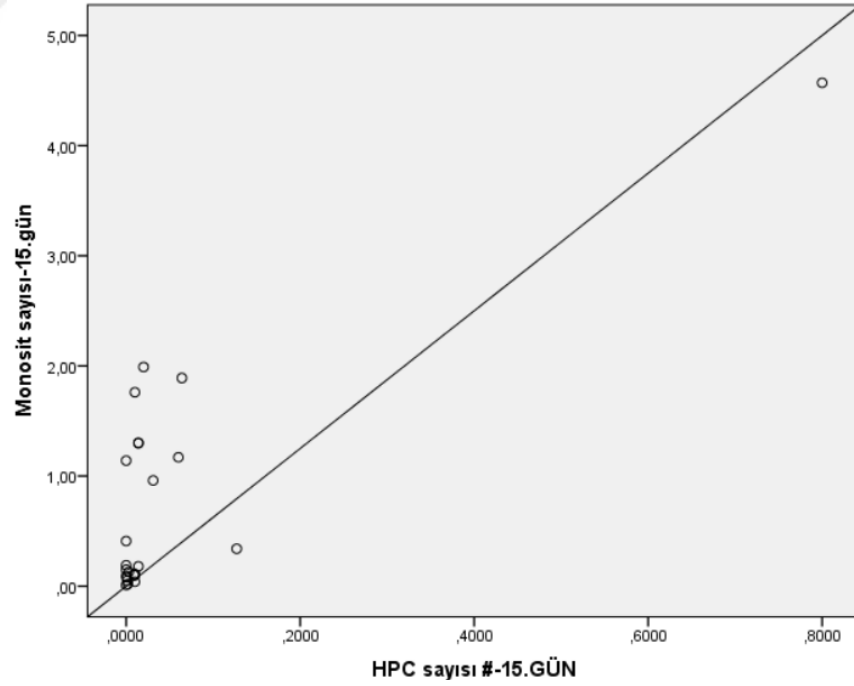
Şekil 2. Tedavi günlerine göre HPC% ve HPC# ortalamaları



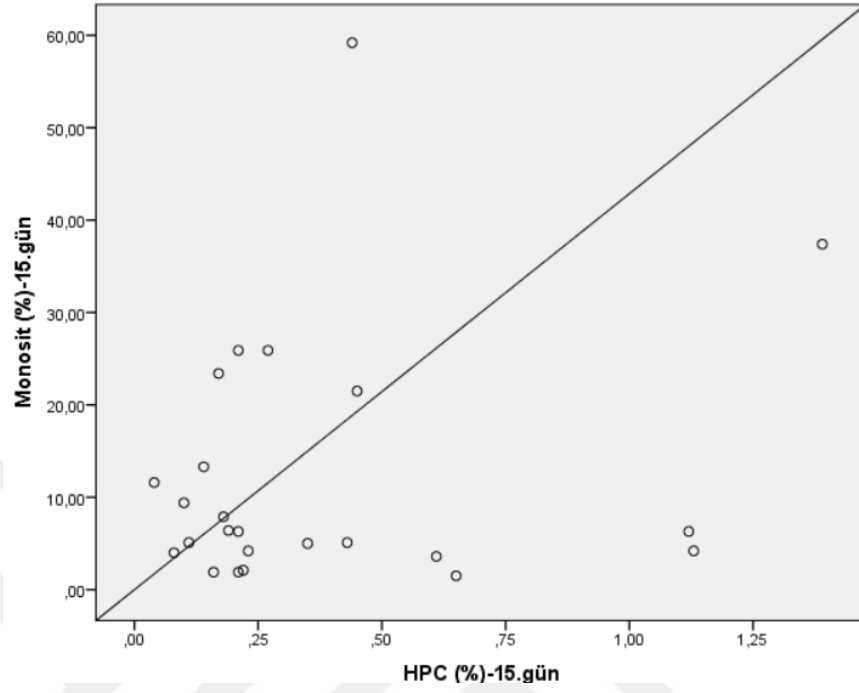
Şekil 3. 0.gün kemik iliği incelemesinde HPC# ve MONO# korelasyonu



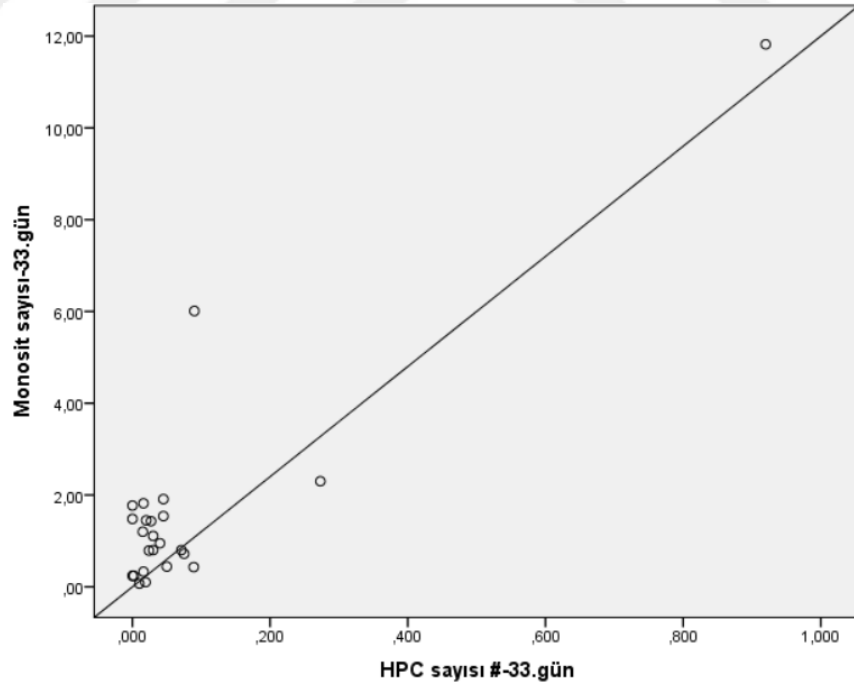
Şekil 4. 0.gün kemik iliği incelemesinde HPC% ve MONO% korelasyonu



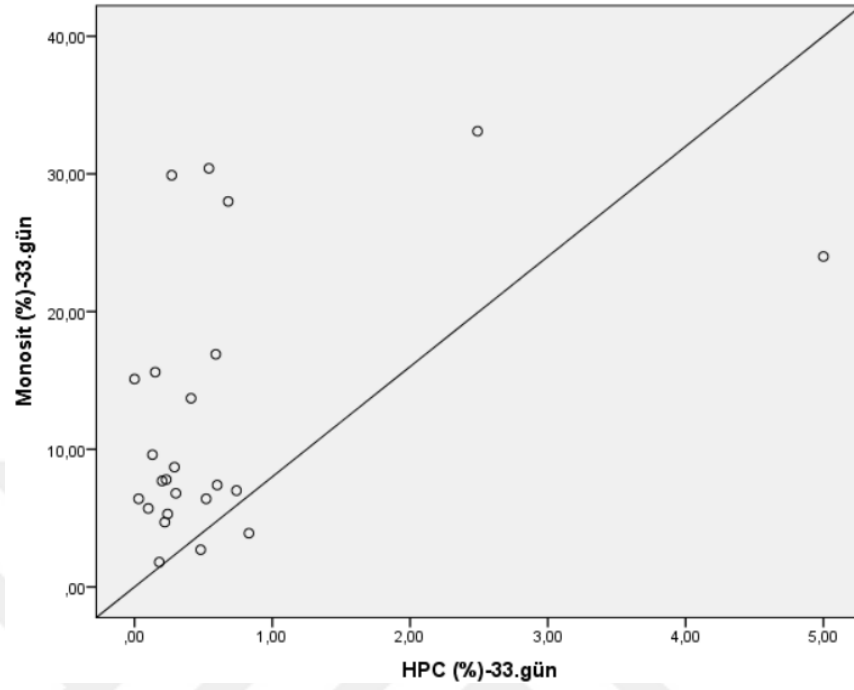
Şekil 5. 15. gün kemik iliği incelemesinde HPC# ve MONO# korelasyonu



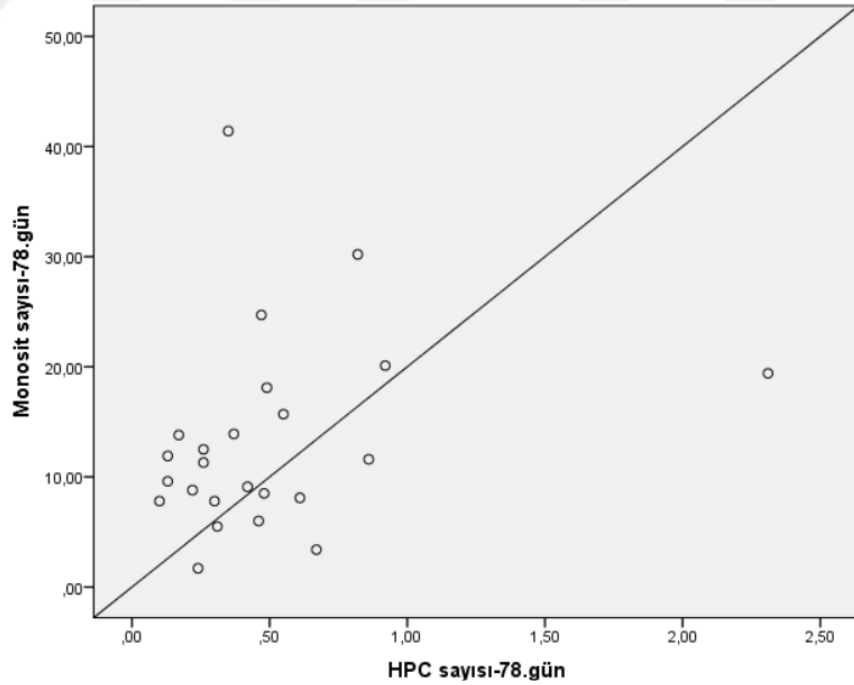
Şekil 6. 15. gün kemik iliği incelemesinde HPC% ve MONO% korelasyonu



Şekil 7. 33. gün kemik iliği incelemesinde HPC# ve MONO# korelasyonu



Şekil 8. 33. gün kemik iliği incelemesinde HPC% ve MONO% korelasyonu



Şekil 9. 78. gün kemik iliği incelemesinde HPC# ve MONO# korelasyonu

4.5. ALL Hastaları ile Sağlıklı Kontroller Arasında İlk Kemik İliği Değerlendirmesinde HPC ve Monosit Karşılaştırılması

Tablo 7. ALL Hastaları ve Sağlıklı Çocukların İlk Kemik İliği Değerlendirmesinde HPC %, HPC #, MONO# ve MONO% Ortalamalarının Karşılaştırılması

	Gruplar		
Ort±SS Median (Min-Max)	ALL (n:24)	Sağlıklı (n:11)	P
HPC % 0.gün	1.4±0.3 0.75 (0.02–6.27)	0.5±0.05 0.52 (0.19–0.71)	0.04
MONO# 0.gün	16.7±3.7 13.20 (0.96-62.17)	5.2±3.9 0.97 (0.40-44.30)	0.001
MONO% 0.gün	31.8±2.9 31.60 (6.90-71.0)	8.2±2.2 5.5 (4.00–29.60)	0.0001
HPC # 0.gün	0.7±0.3 0.14 (0.007–6.08)	0.2±0.08 0.12 (0.0–1.01)	0.46

Grup 1'deki ALL hastalarında HPC% ortalama değeri 0.günde 0.75, HPC# ortalama değeri 0. Günde 0,14 olarak görülmüştür. ALL hastalarında MONO % ortalama değeri 0. Günde 31,6 görülmürken, MONO# ortalama değeri 13,2 olarak görülmüştür. Grup 3'teki sağlıklı çocuklarda HPC% 0. Gün ortalama değeri 0,52, HPC# 0. Gün ortalama değeri 0,12, MONO% ortalama değeri 5,5, MONO# ortalama değeri 0,97 olarak görülmüştür. 0. Günde, HPC %, MONO% ve MONO# değerleri Grup1'deki ALL hastalarında aynı günde Grup 3'teki sağlıklı çocuklara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 1'deki ALL hastalarında HPC# değeri Grup 3'teki sağlıklı çocuklarla karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). (Tablo 7)

4.6. ALL ve AML Hastalarının Tedavi Günlerine Göre HPC Karşılaştırması

Tablo 8. ALL ve AML Hastalarının 0.gün, 15.gün ve İdame Tedavi Altında HPC % ve HPC # Ortalamalarının Karşılaştırılması

	Lösemi		
Ort±SS Median (Min-Max)	ALL (n:24)	AML (n:5)	P
HPC % 0.gün	1.4±0.3 0.75 (0.02–6.27)	7.1±6.8 0.37 (0.02–34.29)	0.07
HPC % 15.gün	0.4±0.07 0.22 (0.04–1.39)	0.4±0.1 0.55 (0.03–0.87)	0.74
İdame HPC %	0.4±0.07 0.26 (0.07–0.98)	0.2±0.09 0.11 (0.04–0.55)	0.21
HPC # 0.gün	0.7±0.3 0.14 (0.007–6.08)	5.3±5.2 0.6 (0.0–26.22)	0.04
HPC # 15.gün	0.05±0.03 0.01 (0.0–0.80)	0.10±0.06 0.08 (0.0–0.35)	0.49
İdame HPC #	0.04±0.01 0.02 (0.0–0.22)	0.05±0.01 0.03 (0.01–0.10)	0.93

Grup 1a ‘daki ALL hastalarında HPC% ve HPC# değeri en yüksek 0.günde görülürken, en düşük 15. günde görülmüştür. Grup 1b’deki AML hastalarında ise HPC% değeri en yüksek 15. günde, HPC# değeri ise en yüksek 0. günde görülmüştür. Grup 1b’deki AML hastalarının 0.gün HPC# değeri, Grup 1a’daki ALL tanıli hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). 0. gün HPC% değerinde her iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır($p>0.05$). 15. gün HPC % ve HPC # değerleri arasında Grup 1a ve Grup 1b arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). (Tablo 8).

4.7. ALL Hastalarının Relaps Durumlarına Göre HPC ve Monosit Karşılaştırması

Tablo 9. ALL Hastalarında Farklı Zaman Dilimlerinde Relaps Durumlarına Göre HPC %, HPC #, MONO# ve MONO % Ortalamalarının Karşılaştırılması

(n:24)	0.gün			15.gün			33.gün			78.gün		
Ort±SS	Relaps Var (n:8)	Relaps Yok (n:16)	p	Relaps Var (n:8)	Relaps Yok (n:16)	p	Relaps Var (n:8)	Relaps Yok (n:16)	p	Relaps Var (n:8)	Relaps Yok (n:16)	p
HPC %	1.9±0.8	1.2±0.3	0.92	0.6±0.2	0.3±0.06	0.02	0.9±0.6	0.5±0.1	0.33	0.7±0.3	0.4±0.05	0.56
HPC #	0.9±0.7	0.6±0.3	0.64	0.1±0.09	0.07±0.001	0.10	0.2±1	0.03±0.007	0.06	0.3±0.1	0.06±0.009	0.11
MONO#	9.8±6.4	20.1±4.4	0.19	1.1±0.5	0.6±0.1	0.54	2.5±1.4	1.2±0.4	0.45	11.6±7.8	2.1±0.4	0.83
MONO%	26.9±6.8	34.2±2.8	0.13	15.8±7.4	10.4±2.2	0.73	11.8±3.4	12.8±2.5	0.77	14.1±3.5	13.09±2.2	0.68

Relaps olan hastalar ile relaps olmayan hastalar değerlendirildiğinde tanı anında bakılan HPC#, HPC%, MONO# ve MONO % değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Tedavinin 15. gününde relaps olan hastaların HPC% değerleri relaps olmayan hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). HPC#, MONO# ve MONO% ortalama değerlerinde ise tedavinin 15. günü değerlendirmesinde hastalık relapsı için anlamlı yükseklik saptanmamıştır. Tedavinin 33. Ve 78. gününde ortalama HPC%, HPC#, MONO% ve MONO# değerlendirmesinde hastalık relapsı için anlamlı yükseklik saptanmamıştır ($p>0.05$) Relaps hastalarının 15. gün ortalama MRD değeri ve HPC % ortalama değeri relaps olmayanlara göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$). (Tablo 9).

Tablo 10. ALL Hastalarının Relaps ve Ölüm Durumuna Göre 15.gün MRD, HPC % ve HPC# Değerlerinin Tedavi Günlerine Göre Karşılaştırılması

		Relaps ve Ölüm		
Ort±SS		Var (n:9)	Yok (n:15)	P
15.gün	MRD sayısı	3.0±1.4	0.5±0.2	0.02
0.gün	HPC (%)	2.7±1.7	1.8±0.8	0.72
	HPC #	0.8±0.2	1.8±0.3	0.63
15.gün	HPC (%)	0.6±0.1	0.3±0.06	0.03
	HPC #	0.1±0.08	0.03±0.01	0.10
33.gün	HPC (%)	0.9±0.5	0.4±0.1	0.24
	HPC #	0.2±0.1	0.03±0.007	0.06
78.gün	HPC (%)	0.7±0.2	0.4±0.05	0.16
	HPC #	0.3±0.1	0.06±0.01	0.02

Relaps olan ve kaybedilen hastalarda 15. gün MRD, 15. HPC% ve 78. gün HPC# ortalama değerleri, relaps olmayan ve sağ kalan hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). 0. gün ve 33. gün HPC# ve HPC% ortalama

değerlerinde relaps ve ölüm açısından anlamlı yükseklik saptanmamıştır ($p>0.05$.

(Tablo 10)

4.8. ALL Hastalarının Sitogenetik Bozukluklarına Göre HPC ve Monosit Karşılaştırılması

Tablo 11. Tedavi Günlerine Göre Sitogenetik İncelemelerin HPC %, HPC #, MONO# ve MONO% Ortalamaları ile Karşılaştırılması

	Sitogenetik Bozukluk		
Parametre	Pozitif (n:9)	Negatif (n:15)	P
HPC % 0.gün	1.4±0.4	1.5±0.5	0.89
HPC % 15.gün	0.3±0.04	0.4±0.1	0.23
HPC % 33.gün	0.3±0.06	0.9±0.3	0.19
HPC % 78.gün	0.3±0.06	0.6±0.1	0.18
HPC # 0.gün	0.6±0.3	0.8±0.4	0.79
HPC # 15.gün	0.03±0.01	0.06±0.05	0.59
HPC # 33.gün	0.1±0.1	0.05±0.02	0.41
HPC # 78.gün	0.1±0.07	0.2±0.07	0.69
MONO% 0.gün	38.3±5.6	27.9±2.9	0.09
MONO% 15.gün	18.9±6.1	8.2±2.2	0.07
MONO% 33.gün	7.2±1.2	15.6±2.8	0.06
MONO% 78.gün	8.9±1.5	16.0±2.6	0.06
MONO# 0.gün	18.7±6.3	15.5±4.6	0.68
MONO#15.gün	0.7±0.2	0.8±0.3	0.80
MONO# 33.gün	2.1±1.2	1.4±0.3	0.48
MONO#78.gün	3.5±2.1	6.3±4.1	0.63

Tablo 12. Sitogenetik İncelemelere Göre HPC %, HPC #, MONO# ve MONO% Ortalamalarının Karşılaştırılması

	Sitogenetik Bozukluk		
Ort±SS Median (Min-Max)	Pozitif (n:13)	Negatif (n:16)	P
HPC % 0.gün	3.6±2.6	1.4±0.5	0.35
HPC # 0.gün	2.4±2.0	0.7±0.4	0.36
MONO% 0.gün	35.1±5.3	27.2±2.9	0.57
MONO# 0.gün	19.1±5.3	15.2±4.3	0.18

HPC %, HPC#, MONO# ve MONO% değerleri arasında 0.,15.,33. Ve 78. günlerde sitogenetik pozitiflik veya negatiflik açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 11,12)

5. TARTIŞMA

Literatürde HPC'nin lösemi hastalarının tanı, tedavi ve hastalık izleminde değerlendirildiği bir çalışma daha önce yapılmamış olmasına karşın yeni nesil kan sayım parametrelerinin klinik kullanımına yönelik yapılan çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Örneğin periferik yaymada bulunan IG miktarı enfeksiyon, inflamasyon ve diğer kemik iliği patolojilerinin erken göstergesidir. Ülkemizde 2020 yılında pediatrik hastalarda yapılan bir çalışmada IG parametresi, sepsis, bakteriyemi, bakteriyel menenjit gibi ciddi bakteriyel enfeksiyonların riskini öngörmeye lökosit sayısı, CRP ve Mutlak Nötrofil Sayısı (MNS)'na göre daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip bulunmuştur(77).

Benzer şekilde NRBC'lerin yenidoğan dönemi dışında periferik kandaki varlığı kemik iliği dışında kırmızı kan hücresi üretiminin arttığını veya myelofibrozis, lösemi gibi kan-kemik iliği bariyerinin bozulduğu durumları gösterebileceği bildirilmiştir (78) (79). 2012 yılında yapılmış bir Avrupa çalışmasında NRBC'nin bazı hematolojik hastalıklarda tanı, tedavi süresi ve remisyon döneminde ölçümü değerlendirildiğinde, ilk tanı ve tedavi süresince yüksek olan bu parametrenin tedavi sonu remisyon döneminde kaybolması bu parametrenin hastalık reaktivasyonunu ve izlemi açısından önemli bir parametre olabileceği belirtilmiştir (80). Erişkin hastalarda yapılan bazı çalışmalarda kronik miyeloid lösemili hastalarda tedavi etkinliğini değerlendirmek ve miyelodisplastik sendromların (MDS) seyrini ve AML'ye dönüşme riskini tahmin etmek için NRBC'nin bir belirteç olarak kullanılabileceği ön görülmüştür (81,82). NRBC'nin

periferik kanda varlığının HKHN yapılan hastalarda kötü prognostik belirteç olabileceği ile ilgili yapılan bir diğer çalışmada, HKHN sonrası NRBC sayısı yüksek olan hastalarda hastalıksız sağ kalım oranları NRBC sayısı düşük olan hastalara göre belirgin düşük gözlenmiş olup HKHN sonrası NRBC izleminin klinik takipte faydalı olabileceği belirtilmiştir(79).

Bir diğer yeni kan sayım parametresi olan IRF, eritropoetik aktivitenin bir göstergesidir ve kemik iliği nakli sonrasında kemik iliği engraftmanı olmasında IRF değerlerinde artış gözlenmektedir. Hemopoetik iyileşme MNS yükselmesi gibi geleneksel parametrelerle veya retikülositlerin kemik iliğinin eritropoetik aktivitesini yansıtması nedeniyle olgunlaşmamış retikülosit fraksiyonu (IRF) parametresiyle değerlendirilebilmektedir (83). Rauf ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ALL hastalarında myelosupresyon sonrası hematopoetik iyileşmenin gösterilmesinde geleneksel olarak kullanılan MNS kullanımının yerine IRF yükselmesinin daha erken bir gösterge olabileceği belirtilmiştir(84). Otolog kök hücre nakli yapılan hastalarda engraftman zamanının değerlendirildiği başka bir çalışmada IRF'nin, MNS'ye göre ortalama 4,2 gün önce hematopoetik iyileşmeyi gösterdiği ve hastaların %25'inde mutlak monosit sayısının IRF'den de önce yükseldiği görülmüştür (85).

Son yıllarda kemik iliğindeki kök hücre, blast ve hematogonları yansıtan yeni bir parametre olarak HPC gündeme gelmiştir. Literatürdeki HPC ile ilgili yapılan ilk klinik çalışmalar çoğunlukla hastalara HKHN yapılmadan önce

lökoferez zamanını öngörmek için CD34⁺ sayımının yerine kullanılması üzerine yapılmıştır.

Dolaşımdaki HKH'lerin değerlendirilmesi ve aferez işlemine başlama kararı ise Uluslararası Hematoterapi ve Greft Mühendisliği Derneği tarafından önerilen bir protokole göre CD34⁺ hücrelerinin akım sitometri ile sayılmasına dayanmaktadır(58). Bu yöntem mobilizasyon başarısını değerlendirmek, aferez prosedürünü yönetmek ve kök hücre toplama verimini değerlendirmek için altın standarttır. CD34⁺ > 2.0×10⁶ hücre/kg değeri lökoferez işlemine başlanması için uygun eşik değeri olarak kabul edilmektedir.

CD34⁺ hücre sayımı için kullanılan akım sitometri yöntemi zaman alıcı, pahalı, zahmetli ve eğitimli laboratuvar personeline ihtiyaç duyulan bir yöntemdir(74). Özellikle periferik kök hücre nakli yapılacak olan alıcılarda nakil öncesi bakılan CD34⁺ kök hücre sayısı ile HPC hücreleri arasında güçlü korelasyon bulunması HPC ile ilgili araştırmaların artışına yol açmıştır. Bu konu ile ilgili araştırmalar sonucu otolog veya allojenik kök hücre nakli planlanan hastaların optimal kök hücre toplama zamanını belirlemede CD34⁺ hücre ölçümü zaman alıcı, pahalı, deneyimli personel gerektiren bir yöntem olduğundan yeni nesil kan sayım cihazında kısa sürede ölçülebilen HPC'nin CD34⁺ sayımı yerine kullanılabileceği belirtilmiştir (4,59). Bu avantajlar sebebiyle HPC-CD34⁺ kök hücre sayımı korelasyonu ve kök hücre toplama zamanını öngörmek için uygun HPC eşik değeri bulma çalışmaları devam etmektedir.

Yapılan bir Avrupa çalışmasında HPC $>20 \times 10^6/L$ eşik değerinin aferez zamanlamasını planlamada çok iyi bir tanısal gösterge olabileceği belirtilmiştir(58). Letestu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada HPC ve CD34⁺ kök hücreler arasında iyi lineer korelasyon tespit edilmiş olup HPC# $>30/mm^3$ eşik değeri HKHN için hücre toplamak üzere, HPC# $<0/mm^3$ eşik değeri hücre toplanmasının ertelenmesi için uygun olarak değerlendirilmiş olup HPC# $0-30/mm^3$ değer aralığında ise hücre toplama kararı için akım sitometri ile CD34⁺ kök hücre sayımı yapılması önerilmiştir ve HPC# parametresinin hücre toplama için akım sitometri ile CD34⁺ sayımı yerine kullanılabileceği belirtilmiştir(86). Yang ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise HPC# değerinin CD34⁺ sayımı ile orta düzeyde korelasyon gösterdiği ve HPC# $<21,3 \times 10^6/L$ değerinin zayıf mobilizasyonu dışlamak için %89,2 sensitivite ve %83,3 spesifite gösterdiği belirtilmiştir. Buna karşılık aynı çalışmada CD34⁺ sayımı ile CD34⁺ kök hücre ürünü arasında güçlü korelasyon($r=0.729$) tespit edilirken, HPC# değeri ile CD34⁺ kök hücre ürünü arasında orta düzeyde korelasyon($r=0.321$) tespit edilmiştir (59). Tanosaki ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise HPC# ve CD34⁺ kök hücreler arasında başlangıç, orta ve son aferez ürünlerinde güçlü korelasyon tespit edilmiş olup aynı zamanda HPC'nin periferik kanda ortaya çıkış zamanlamasının CD34⁺ hücreleri ile neredeyse tam uyumlu olması nedeniyle HPC'lerin ortaya çıkışının HKH toplamının en uygun zamanlaması için iyi bir gösterge olabileceği belirtilmiştir(4). Peerschke ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir Avrupa merkezli çalışmada benzer HPC-CD34⁺ hücre sayımı korelasyon sonuçları elde edilmiş olup HPC# $>38 \times 10^6$ hücre/L eşik değeri %71,4 pozitif

prediktif değer, %97.7 negatif prediktif değer gösterirken, CD34⁺ kök hücre sayımı ise CD34⁺>2.0×10⁶ hücre/kg eşik değeri %78,9 pozitif prediktif değer, %98 negatif prediktif değer göstermiştir. Bu çalışmada diğerlerinden farklı olarak özellikle belirtilen eşik değerin altındaki HPC# değerlerinin zayıf kök hücre mobilizasyonu ile ilişkili olabileceği ve aferez işleminin ertelenmesinde önemli rolü olabileceği vurgulanmıştır(87). Shin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise aferezrnlerinde CD34⁺ hcrern ile gözlenen iyi korelasyonlara rağmen, otomatik HPC sayımlarının muhtemelen birlikte bulunan immatür granülositlerin varlığıyla ilişkili olarak eksik veya fazla değerlendirilmesi nedeniyle sınırlı bir değere sahip olabileceği belirtilmiştir(88). Fakat birçok kan sayım cihazına yeni kanalların eklenmesiyle anormal/olgunlaşmamış kemik iliği hücrelerinin tanımlanması kolaylaşmıştır(89). Bu çalışmaların aksine Almamari ve arkadaşları tarafından yapılan prospektif bir çalışmada HPC-CD34⁺ kök hücre korelasyonunun periferik kanrnlerinde güçlü, aferezrnlerinde ise orta-zayıf korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. Bunun nedeni olarak da aferezrnlerindeki büyük farkın, yüksek kök hücre konsantrasyonundan kaynaklanıyor olabileceği dşnlmştr. HPC analizi dilüsyon gerektirmediğinden, cihaz çalışırken kullanılan WPC reaktiflerini tüketmiş olabileceği ve tüm hücreleri boyamak için yeterli olmayabileceği dşnlmştr.

Literatür taramasında HPC parametresinin tanısıl değerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle biz bu parametrenin lösemi hastalarının tanı, izlem ve relaps durumlarında değerlendirilmesini amaçladık. Çalışmamızda kan

sayım parametrelerinden HPC%, HPC#, MONO% ve MONO# değerleri lösemi ilk tanı, izlem ve tedavi sürecinde değerlendirilip, reaktif kemik iliği bulguları olan hastalar ve sağlıklı kök hücre vericileri ile karşılaştırılmıştır.

Yeni nesil kan sayım cihazlarının aynı zamanda kemik iliği örneklerinin analizinde kullanılabileceğine yönelik çalışmaların sayısı da son yıllarda artmıştır. Özellikle malign hastalıkların kemik iliği örnekleri bu cihazlarda incelenmiştir (90). Onkohematolojik hastalığı olan hastalar ile yapılan bir çalışmada kemik iliği selülaritesi, Granulosit/Eritrosit(G/E) oranı ve Miyeloid/Eritroid (M/E) oranının Sysmex-XE-2100 analizörü ile değerlendirildiğinde, aplastik anemili bir hastada zayıf kemik iliği selülaritesi görülmesi ve lenfomalı bir hastada kemik iliği nötrofil iyileşmesinin gözlenmesinde hekime hızlı geri bildirim sağladığı bildirilmiştir (91).

Çeşitli hematolojik hastalıkları olan hastaların kemik iliği örneklerinin otomatik kan sayım cihazlarında değerlendirildiği başka bir çalışmada, G/E, M/E oranları ve kemik iliği selülaritesinin AML ve lenfoma hastalarında anlamlı derecede yüksek, aplastik anemi hastalarında ise anlamlı derecede düşük tespit edilmiştir. Tüm hastalarda ve sağlıklı kontrollerde hematoloji analizörü ve mikroskopi verileri arasında kemik iliği selülaritesi, G/E ve M/E oranlarında orta-güçlü korelasyonlar tespit edilmesi nedeniyle otomatik hematoloji analizörünün kullanımının hasta bakımında zaman kazanma ve tanı koymada kolaylık sağlayabileceği belirtilmiştir (76).

Çalışmamızda HPC, morfolojik olarak benzerliği ve kök hücreyi yansıtmayı göz önünde bulundurularak monosit ile birlikte değerlendirilmiştir. Tedavi günlerine göre yaptığımız değerlendirmede HPC ve monosit arasında güçlü korelasyonlar tespit edilmiştir. Özellikle tedavinin 78. günü değerlendirmesinde bakılan HPC#-MONO# arasında $r=0.945$ ve tedavinin 33. gününde HPC#-MONO# arasında $r=0.886$ olarak güçlü düzeyde pozitif korelasyon tespit edilmiştir. 15. gün HPC#-MONO# arasında $r=0.680$, tanı anında HPC#-MONO# arasında $r=0.482$ olarak orta düzeyde pozitif korelasyon tespit edilmiştir. HPC% ve MONO% korelasyonları tanı anı dışındaki günlerde HPC# ve MONO# değerlerine göre daha düşük tespit edilmiştir. 78. gün değerlendirmesinde HPC% ve MONO% arasında ilişki tespit edilmemiştir. Çalışmamızda monosit ve HPC arasında en yüksek korelasyonun kemoterapinin 78. gününde bulunması, MRD çalışmalarında ALL hastalarının 78. gün kemoterapisinin hematopoetik rejenerasyon sonucu görülen hematogonların monositlere benzemesi nedeniyle HPC'nin monositle en yüksek korelasyonu bu dönemde bulunması HPC'nin blastik hücre dışındaki hematogon benzeri hücrelere de işaret edebileceğini düşündürmüştür.

Gruplar arası HPC değerlendirmelerine göre, HPC# ortalama değerlerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamışken, Grup 1a'daki ALL hastalarında HPC% ortalama değeri Grup 2'deki reaktif kemik iliği bulguları olan hastalara göre anlamlı yüksek görülmüştür. Lösemi hastalarının ilk tanı kemik iliği HPC% değerinin, reaktif kemik iliği bulguları olan hastalardan yüksek bulunması HPC'nin blastik karakterdeki immatür hücrelere işaret ettiğinin bir göstergesi

olabileceği düşünülmüştür. Buna karşılık HPC% değerinde Grup 1a'da, Grup 3'teki sağlıklı çocuklara göre anlamlı yükseklik gözlenmezken, Grup 3'teki hastaların HPC% değeri Grup 2'ye göre anlamlı yüksek gözlenmesinin çalışmamızdaki sağlıklı kök hücre vericisi sayısının azlığı ile açıklanabileceği düşünülmüştür. Blomme ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada cihazın WPC kanalı kullanılarak örneklerin "Blastlar?", "Anormal lenfositler?"(şüpheli malign), "Atipik lenfositler?"(şüpheli reaktif) veya "işaretleme yok" olmak üzere dört tanımlı kategoriden birine sınıflandırıldığı ve WPC kanalının kullanılması ile hücrelerin tekrar değerlendirilip olası yanlış işaretleme durumunda işaretin kaldırılmasını, blast, anormal veya atipik lenfositler arasında ayırım yapılabilmesini, buna bağlı olarak da periferik yayma bakılma ihtiyacının %12 oranında azaldığı gösterilmiştir (1). Bu çalışmada WDF ve WPC kanalları aracılığıyla %99 sensitivite %29 spesifite ile yeni nesil kan sayım cihazlarının blast veya anormal lenfositleri tanımladığı belirtilmiştir(1). WPC kanalı, malignitesi olan hastalarda da blastların veya atipik lenfositlerin saptanması ve kemik iliği yaymalarının incelenmesini desteklemek için daha yararlı olabilmektedir (71). Petrone ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise yeni nesil kan sayım cihazlarının otomatik dijital mikroskoplara göre %100 spesifite %50,2 sensitivite ile blast tanımlama özelliklerinin olduğu belirtilmiştir(92). Bizim çalışmamızdaki HPC sonuçları Sysmex cihazının HPC modunda çalışılmıştır.

HPC ve monosit sayı ve yüzdelерinin Grup 1a hastalarında tedavi günlerine göre değerlendirilmesinde ilk tanı kemik iliği değerlendirmesinde HPC%, HPC#,

MONO% ve MONO# parametreleri, 15., 33. ve 78. güne göre anlamlı yüksek bulunmuştur. HPC%, HPC#, MONO% ve MONO# parametrelerinin tanı anında yüksek görülmesine ek olarak tedavi altında azalma göstermesi bu parametrelerin hastalık seyri ve tedavi izleminde de kullanılabileceğinin göstergesi olabileceğine işaret etmiştir. HPC ve monosit sayısının tedavinin 15. gününde, 78. güne göre anlamlı düşük bulunmuştur. HPC# ve MONO# parametrelerindeki 15. gündeki daha düşük değerler yoğun myelosupresif tedavinin yanında 15.günde hastaların %88'inin kemik iliği blast oranlarının <%25 (M1 kemik iliği) olması ile açıklanabileceği düşünülmüştür. Grup1a hastalarında monosit sayı ve yüzde ortalama değerleri, Grup 2 ve Grup 3 ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulunmuştur. Grup 2 ve Grup 3 arasında ise anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Monositoz çeşitli bakteriyel, viral, fungal enfeksiyonlar, konjenital veya edinsel nötropeni, hemolitik anemi gibi benign hematolojik hastalıklar, romatoid artrit, sarkoidoz, sistemik lupus eritematozus gibi kronik inflamatuvar hastalıklar nedeniyle gözlenebilirken açıklanamayan monositozlar juvenil myelomonositik lösemi, akut myeloid lösemi, kronik myeloid lösemi, Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfoma gibi malign hastalıklar ile de ilişkili olabilir(93). Grup 1a'daki ALL hastaları Grup 3'teki sağlıklı çocuklar ile karşılaştırıldığında tanı anındaki HPC%, MONO% ve MONO# ortalama değerlerinin Grup 1a'da Grup 3'e göre anlamlı yüksek olduğu gözlenmiştir. HPC# ortalama değerlerinde ise anlamlı fark bulunmamıştır. Bizim çalışmamızdaki sonuçlara göre MONO% ve MONO# parametrelerinin lösemi hastalarında anlamlı yüksek görülürken, reaktif kemik iliği

bulguları olan hastalar ve sağlıklı çocuklar arasında monositoz açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Bu durum monositozun hastanın klinik, fizik muayene ve diğer laboratuvar bulgularının şüphelendirmesi veya desteklemesi durumunda kemik iliğinin malign hastalıkları açısından uyarıcı bir parametre olabileceğini göstermektedir. Buna ek olarak Embaby ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada hastalarda ilk tanı anındaki monosit sayısının, hastaların indüksiyon kemoterapisine yanıtı için bağımsız bir prognostik faktör olabileceği belirtilmiştir(94). Bizim çalışmamızda da HPC ve monosit değerlerinin lösemi hastalarında tanı anında yüksek olup tedavi altında giderek azalması ve HPC ile monosit arasında güçlü korelasyon bulunması HPC'nin de hastalık seyrinde monosit kadar önemli bir parametre olduğunu düşündürmektedir.

Grup 1a'daki ALL ve Grup 1b'deki AML hastaları tanı ve tedavi günlerine göre karşılaştırıldığında AML hastalarının tanı kemik iliği değerlendirmesindeki HPC# değeri ALL hastalarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu durum kan sayım cihazında çalışılan HPC parametresinin ALL'li olgularda olduğu gibi AML'li olgularda da blastlara işaret edebileceğini akla getirmiştir (95). Tanı anında ise ALL ve AML hastalarında HPC% değerlerinde anlamlı fark saptanmamıştır. Her iki grupta da en yüksek ortalama HPC# değerleri tanı anında görülürken, en düşük ortalama HPC# ve HPC% değerleri ALL ve AML için 15. gün ve idame tedavi altında iken gözlenmiştir. Tedavi altındaki ve idame dönemindeki düşük HPC% ve HPC# değerlerinin kemik iliğindeki blast infiltrasyonunun gerilemesi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Grup 1a'daki ALL hastaları, hastalık relapsı ve ölüm durumlarına göre değerlendirildiğinde, 15. gün MRD pozitifliği ve 15. gün yüksek HPC% değerleri olan hastalarda relaps ve ölüm oranı artmaktadır. MRD'nin akım sitometri ile tespiti, lösemi şiddetini tahmin etmek ve ileri tedavi stratejilerinin yoğunluğunu belirlemek için kritik öneme sahiptir(96). Benzer şekilde tedavinin 15. gününde yüksek gözlenen HPC% değeri hastalık prognozunu öngörmek veya uygulanan tedaviyi güçlendirme kararı vermek için yardımcı bir parametre olabilir.

HPC#, MONO% ve MONO# değerlerinde ise relaps ile ilişkili anlamlı yükseklik saptanmamıştır. Grup 1b'deki AML hasta sayısının az olması nedeniyle bu değerlendirmenin sağlıklı olmadığı kanısına varılmıştır. İsmail ve arkadaşları tarafından yapılan, AML hastalarında monosit sayımının 1.,14.,21. ve 28. günlerde değerlendirildiği bir çalışmada ise 28. günde $\text{MONO\#} > 800 \times 10^6/\text{L}$ olan hastaların daha düşük hastalıksız sağkalım oranları ile ilişkili olduğu bulunmuştur(97). Zhang ve arkadaşları tarafından yakın zamanda yapılan bir erişkin çalışmasında ise AML hastalarında MONO# ve Mutlak Lenfosit Sayısı (ALC)'nın hastalık relapsındaki prognostik önemi değerlendirilmiş olup normal MONO# değerleri ile birlikte normal/yüksek ALC değerleri olan hastaların düşük/normal MONO# ile birlikte düşük ALC değerlerine sahip olan hastalara göre daha iyi sağkalım oranlarına sahip oldukları gözlenmiştir(98). Yapılan bazı çalışmalarda ise AML'de kötü prognoz belirteci olarak monositler yerine olgunlaşmamış monosit hücresi olan monositik myeloid supresör hücrelerin kullanılabileceği, yüksek monositik myeloid supresör hücre değerlerinin daha yüksek relaps ve refrakter hastalık oranları ile ilişkili

olduğu düşünölmüştür (99). Nötrofiller ve monositlerin hacim ve iletkenliklerinin erken engraftman belirteçleri olarak değeriendirildiğı bir çalışmada ise ortalama nötrofil volüm>180fl, ortalama monosit volüm>190fl eşik değeri engraftman için anlamlı bulunmuştur(100).

Sitogenetik analizler ile lösemi gelişim sürecinde rol oynayan spesifik genler ve kromozom anomalileri lösemideki bazı spesifik klinik ve laboratuvar özelliklerle ilişkilendirilmesinin yanı sıra klinisyenlere tanı koymak, hastalık prognozunu belirlemek ve hastalar için en uygun tedaviyi seçmek konusunda fayda sağlamaktadır. Günümüzde BCR-ABL füzyon geni t(9;22) ve E2A-PBX1 füzyon geni t(1;19) gibi bazı genlerin tanı anında yüksek lökosit sayısı ile ilişkili olduğı bilinmektedir. Fakat HPC%, HPC#, MONO% ve MONO# parametrelerinin sitogenetik pozitiflikler açısından değeriendirilmesinde az sayıda olguda incelenmesi nedeniyle istatistiksel anlamlı bir sonuç bulunmamıştır.

Sonuçlarımız HPC parametresinin ilk tanı anında çok yüksek değerielerde bulunması, kemoterapi sonrası tedavi izleminde giderek azalması, HPC değerielerinin monosit ile korele bulunması ve relapsta yüksek izlenmesi bu yeni parametrenin akut lösemi tanı, tedavi, izlem ve relapsta yararlı bir parametre olabileceğini göstermektedir.

6. SONUÇLAR

1. Hastaların ilk kemik iliği değerlendirmesinde ortalama HPC% değerleri Grup 1’de, Grup 2’ye göre anlamlı yüksek bulunmuştur($p<0.05$). İlk kemik iliği değerlendirmesinde HPC# için gruplar arası anlamlı fark saptanmamıştır($p>0.05$).

2. Grup 1’deki hastaların ilk kemik iliği değerlendirmesinde monosit sayı ve yüzdeleri Grup 2 ve 3’teki hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur($p<0.05$).

3. Grup1a hastalarının 33. gün ve 78. gün tedavi değerlendirmesinde MONO#-HPC# arasında güçlü düzeyde pozitif korelasyon bulunurken, 0.gün ve 15.gün MONO#-HPC# arasında orta düzeyde pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır. MONO % -HPC% arasında 0.,15. Ve 33.gün orta düzeyde pozitif yönlü ilişki saptanırken, 78.gün değerlendirmesinde düşük düzeyde ilişki saptanmıştır($p<0.05$).

4. Grup 1a hastalarında tedavi günlerine göre yapılan değerlendirmede 0.gün HPC ve Monosit, 15.,33. Ve 78. günlere göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

5. Grup 1a ve 1b hastalarında HPC% ve HPC# değerleri en yüksek 0.günde görülürken, en düşük 15. Gün ve idame tedavi döneminde görülmüştür ($p<0.05$).

6. Relaps olan hastalar değerlendirildiğinde tedavinin 15. gününde relaps olan hastaların HPC% ve MRD değerleri relaps olmayan hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

7. HPC %, HPC#, MONO# ve MONO% değerlerinde sitogenetik pozitiflik veya negatiflik açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$)



7. KAYNAKÇA

1. Blomme S, Boeckx N, Brusselmans C, Claerhout H, Van Laer C. The integration of Sysmex XN-9100' WPC channel reflex testing in the detection of reactive versus malignant blood samples. *Int J Lab Hematol*. 2021 Apr 1;43(2):191–8.
2. Fujimaki K, Hummel K, Magonde I, Dammert K, Hamaguchi Y, Mintzas K, et al. Performance evaluation of the new Sysmex XR-Series haematology analyser. *Pract Lab Med*. 2024 Mar 1;39.
3. Nakul-Aquaronne D, Sudaka-Sammarcelli I, Ferrero-Vacher C, Starck B, Bayle J. Evaluation of the Sysmex Xe-2100® hematology analyzer in hospital use. *J Clin Lab Anal*. 2003;17(4):113–23.
4. Tanosaki R, Kumazawa T, Yoshida A, Oguni S, Nakano A, Yamagata S, et al. Novel and rapid enumeration method of peripheral blood stem cells using automated hematology analyzer. *Int J Lab Hematol*. 2014 Oct 1;36(5):521–30.
5. Lanzkowsky P, Lipton JM, Fish JD, Preceded by: Lanzkowsky Philip. *Lanzkowsky's manual of pediatric hematology and oncology*. 731 p.
6. Ward E, DeSantis C, Robbins A, Kohler B, Jemal A. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin*. 2014 Mar;64(2):83–103.
7. Kaplan JA. Leukemia in Children Practice Gaps [Internet]. Available from:
8. Lanzkowsky P, Lipton JM, Fish JD, Preceded by: Lanzkowsky Philip. *Lanzkowsky's manual of pediatric hematology and oncology*. 731 p.
9. Seif AE. Pediatric leukemia predisposition syndromes: Clues to understanding leukemogenesis. Vol. 204, *Cancer Genetics*. 2011. p. 227–44.
10. Serpa J, editor. *Tumor Microenvironment*. Cham: Springer International Publishing; 2020. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 1219).
11. Aksu Uzunhan T, Karakas Z. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Tuberculin Skin Test in Children*. 2013 Mar 14;12(1):6–15.
12. Bennett JM, Catovsky D, Daniel M therbse, Flandrin G, G Galton DA, Gralnick HR. Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias. *British Journal of Haematology*. 1976.

13. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Vol. 127, Blood. American Society of Hematology; 2016. p. 2391–405.
14. Kliegman RM, St JW, Iii G, Blum NJ, Bennett WH. Nelson Textbook of Pediatrics 21 EDITION.
15. Sakaguchi H, Miyamura T, Tomizawa D, Taga T, Ishida H, Okamoto Y, et al. Effect of extramedullary disease on allogeneic hematopoietic cell transplantation for pediatric acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective study. Bone Marrow Transplant. 2021 Aug 1;56(8):1859–65.
16. Schrappe M, Reiter A, Ludwig WD, Harbott J, Zimmermann M, Hiddemann W, et al. Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 90.
17. Pui CH, Williams DL, Raimondi SC, Rivera GK, Look AT, Dodge RK, et al. Hypodiploidy Is Associated With a Poor Prognosis in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Blood. 1987 Jul 1;70(1):247–53.
18. Türk Hematoloji Derneği. ÇOCUK VE GENÇLERDE AKUT MYELOİD LÖSEMİDE TANI VE TEDAVİ REHBERİ. 2012.
19. Anak S, Uysalol E. Acute Myelogenous Leukemia (AML). Tuberculin Skin Test in Children. 2013 Apr 15;12(4):153–8.
20. Kaya Z, Gursel T, Bakkaloglu SA, Kocak U, Atasever T, Oktar SO. Evaluation of renal function in Turkish children receiving BFM-95 therapy for acute lymphoblastic leukemia. Pediatr Hematol Oncol. 2007 May;24(4):257–67.
21. Kocak U, Gursel T, Kaya Z, Aral YZ, Albayrak M, Keskin EY, et al. ALL-BFM 95 treatment in turkish children with acute lymphoblastic leukemiaexperience of a single center. Pediatr Hematol Oncol. 2012 Mar;29(2):130–40.
22. Türk Hematoloji Derneği. Çocuk ve Ergenlerde Akut Lenfoblastik Lösemide Tanı ve İzlem Ölçütleri. 2011.
23. Inaba H, Mullighan CG. Ferrata Storti Foundation Pediatric acute lymphoblastic leukemia. CENTENARY REVIEW ARTICLE. 2020;105(11):2524–39.

24. Lange BJ, Smith FO, Feusner J, Barnard DR, Dinndorf P, Feig S, et al. CLINICAL TRIALS AND OBSERVATIONS Outcomes in CCG-2961, a Children's Oncology Group Phase 3 Trial for untreated pediatric acute myeloid leukemia: a report from the Children's Oncology Group. 2008;
25. Inaba H, Pui CH. Glucocorticoid use in acute lymphoblastic leukemia: comparison of prednisone and dexamethasone. *Lancet Oncol.* 2010;11(11):1096–106.
26. Kloos RQH, Pieters R, Jumelet FM V, De Groot-Kruseman HA, Cor Van Den Bos ;, Van Der Sluis IM. Individualized Asparaginase Dosing in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 2020;38:715–24.
27. Salzer WL, Asselin B, Supko JG, Devidas M, Kaiser NA, Plourde P, et al. Erwinia asparaginase achieves therapeutic activity after pegaspargase allergy: a report from the Children's Oncology Group Key Points. 2013; Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf>
28. Gupta S, Wang C, Raetz EA, Schore R, Salzer WL, Larsen EC, et al. Impact of Asparaginase Discontinuation on Outcome in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: A Report From the Children's Oncology Group . Vol. 38, *J Clin Oncol.* 2020.
29. Conter V, Bartram CR, Valsecchi MG, Schrauder A, Panzer-Grü R, Mö A, et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood.*
30. Gibson BES, Webb DKH, Howman AJ, de Graaf SSN, Harrison CJ, Wheatley K. Results of a randomized trial in children with Acute Myeloid Leukaemia: Medical Research Council AML12 trial. *Br J Haematol.* 2011 Nov;155(3):366–76.
31. Stevens RF, Hann IM, Wheatley K, Gray RG. Marked improvements in outcome with chemotherapy alone in paediatric acute myeloid leukaemia: results of the United Kingdom Medical Research Council's 10th AML trial.
32. Getz KD, Sung L, Ky B, Gerbing RB, Leger KJ, Barz Leahy A, et al. Occurrence of Treatment-Related Cardiotoxicity and Its Impact on Outcomes Among Children Treated in the AAML0531 Clinical Trial: A Report From the Children's Oncology Group. Vol. 37, *J Clin Oncol.* 2018.
33. Pui CH, Howard SC. Current management and challenges of malignant disease in the CNS in paediatric leukaemia. Vol. 9, *Lancet Oncol.* 2008.

34. Pollard JA, Alonzo TA, Gerbing R, Brown P, Fox E, Choi J, et al. Sorafenib in Combination With Standard Chemotherapy for Children With High Allelic Ratio FLT3 /ITD+ Acute Myeloid Leukemia: A Report From the Children's Oncology Group Protocol AAML1031. *Journal of Clinical Oncology*. 2022 Jun 20;40(18):2023–35.
35. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. Vol. 36, *Leukemia*. Springer Nature; 2022. p. 1703–19.
36. Woods WG, Neudorf S, Gold S, Sanders J, Buckley JD, Barnard DR, et al. A comparison of allogeneic bone marrow transplantation, autologous bone marrow transplantation, and aggressive chemotherapy in children with acute myeloid leukemia in remission: a report from the Children's Cancer Group. 2001.
37. Creutzig U, Van Den Heuvel-Eibrink MM, Gibson B, Dworzak MN, Adachi S, De Bont E, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: Recommendations from an international expert panel. Vol. 120, *Blood*. American Society of Hematology; 2012. p. 3167–205.
38. Yoder MC. Hematopoiesis. In: Pedro de Alarcón, Eric Werner, Robert D. Christensen, editor. *Neonatal hematology: pathogenesis, diagnosis, and management of hematologic problems*. 2013:11-35.
39. Medvinsky A, Dzierzak E. Definitive Hematopoiesis Is Autonomously Initiated by the AGM Region. Vol. 86, *Cell*. 1996.
40. Proytcheva MA. CME/SAM Issues in Neonatal Cellular Analysis. *Am J Clin Pathol*. 2009;131:560–73.
41. Hurwitz SN, Jung SK, Kurre P. Hematopoietic stem and progenitor cell signaling in the niche. Vol. 34, *Leukemia*. Springer Nature; 2020. p. 3136–48.
42. Eaves C, Miller C, Cashman J, Conneally E, Petzer A, Zandstra P, et al. Hematopoietic Stem Cells: Inferences-from In Vivo Assays.
43. Ratajczak MZ, editor. *Stem Cells*. Cham: Springer International Publishing; 2019. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 1201).
44. Cheng H, Zheng Z, Cheng T. New paradigms on hematopoietic stem cell differentiation. Vol. 11, *Protein and Cell*. Higher Education Press; 2020. p. 34–44.

45. Yang L, Bryder D, Rgen Adolfsson J, Nygren J, Månsson R, Sigvardsson M, et al. Identification of Lin Sca1 kit CD34 Flt3 short-term hematopoietic stem cells capable of rapidly reconstituting and rescuing myeloablated transplant recipients. 2005;
46. Seita J, Weissman IL. Hematopoietic stem cell: Self-renewal versus differentiation. Vol. 2, Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine. 2010. p. 640–53.
47. Yu VWC, Scadden DT. Hematopoietic Stem Cell and Its Bone Marrow Niche. In: Current Topics in Developmental Biology. Academic Press Inc.; 2016. p. 21–44.
48. Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, Hagiwara T, Takubo K, Nakamura Y, et al. Thrombopoietin/MPL Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence and Interaction with the Osteoblastic Niche. *Cell Stem Cell*. 2007 Dec 13;1(6):685–97.
49. Sugiyama T, Kohara H, Noda M, Nagasawa T. Maintenance of the Hematopoietic Stem Cell Pool by CXCL12-CXCR4 Chemokine Signaling in Bone Marrow Stromal Cell Niches. *Immunity*. 2006 Dec 1;25(6):977–88.
50. Koçyiğit İ, Kaynar L, Çetin M. Hematopoetik Kök Hücre Biyolojisi. 2008.
51. Terstappen L, Huang S, Safford M, Lansdorp P, Loken M. Sequential Generations of Hematopoietic Colonies Derived From Single Nonlineage-Committed CD34+CD38- Progenitor Cells. *Blood*. 1991 Mar 15 [cited 2024 Apr 15];77(6):1218–27. s
52. Glimm H, Eisterer W, Lee K, Cashman J, Holyoake TL, Nicolini F, et al. Previously undetected human hematopoietic cell populations with short-term repopulating activity selectively engraft NOD/SCID- β 2 microglobulin-null mice. *Journal of Clinical Investigation*. 2001;107(2):199–206.
53. Oguro H, Ding L, Morrison SJ. SLAM family markers resolve functionally distinct subpopulations of hematopoietic stem cells and multipotent progenitors. *Cell Stem Cell*. 2013 Jul 3;13(1):102–16.
54. Kiel MJ, Yilmaz ÖH, Iwashita T, Yilmaz OH, Terhorst C, Morrison SJ. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell*. 2005 Jul 1;121(7):1109–21.

55. Gangenahalli GU, Singh VK, Verma YK, Gupta P, Sharma RK, Chandra R, et al. Issues in Development Hematopoietic Stem Cell Antigen CD34: Role in Adhesion or Homing. Vol. 15, STEM CELLS AND DEVELOPMENT. 2006.
56. Gratwohl A, Pasquini MC, Aljurf M, Atsuta Y, Baldomero H, Foeken L, et al. One million haemopoietic stem-cell transplants: a retrospective observational study. *Lancet Haematol*. 2015 Mar 1;2(3):e91–100.
57. Cho SY, Lee HJ, Lee DG. Infectious complications after hematopoietic stem cell transplantation: Current status and future perspectives in Korea. Vol. 33, *Korean Journal of Internal Medicine*. Korean Association of Internal Medicine; 2018. p. 256–76.
58. Dima F, Barison E, Midolo M, Benedetti F, Lippi G. Assessment of haematopoietic progenitor cell counting with the Sysmex® XN-1000 to guide timing of apheresis of peripheral blood stem cells. *Blood Transfusion*. 2020 Jan 1;18(1):67–76.
59. Yang SH, Wang TF, Tsai HH, Lin TY, Wen SH, Chen SH. Preharvest hematopoietic progenitor cell counts predict CD34+ cell yields in granulocyte-colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cell harvest in healthy donors. *Transfusion (Paris)*. 2010 May;50(5):1088–95.
60. Cheuk DK. Optimal stem cell source for allogeneic stem cell transplantation for hematological malignancies. *World J Transplant*. 2013;3(4):99.
61. Wingard JR, Hsu J, Hiemenz JW. Hematopoietic stem cell transplantation: An overview of infection risks and epidemiology. Vol. 24, *Infectious Disease Clinics of North America*. 2010. p. 257–72.
62. Sahin U, Toprak SK, Atilla PA, Atilla E, Demirel T. An overview of infectious complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Vol. 22, *Journal of Infection and Chemotherapy*. Elsevier B.V.; 2016. p. 505–14.
63. Yeşilipek MA. Hematopoietic stem cell transplantation in children. Vol. 49, *Türk Pediatri Arsivi*. Kare Publishing; 2014. p. 91–8.
64. Ballen KK, Gluckman E, Broxmeyer HE. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. Vol. 122, *Blood*. American Society of Hematology; 2013. p. 491–8.
65. Lam CCK. Journey through quantitative haematology. Vol. 26, *Hong Kong Medical Journal*. Hong Kong Academy of Medicine Press; 2020. p. 556–7.

66. Khodaiji S. Newer CBC Parameters of Clinical Significance. In: Hematopathology: Advances in Understanding. Springer Singapore; 2019. p. 3–25.
67. Chabot-Richards DS, George TI. White Blood Cell Counts. Reference Methodology. Vol. 35, Clinics in Laboratory Medicine. W.B. Saunders; 2015. p. 11–24.
68. Kaya Z. Interpretation of automated blood cell counts. Dicle Medical Journal/Dicle Tıp Dergisi. 2013 Sep 1;40(3):521–8.
69. Saxena R, Pati HP. Hematopathology: Advances in Understanding. Hematopathology: Advances in Understanding. Springer Singapore; 2019. 1–502 p.
70. Ann A. Immature reticulocyte fraction as a predictor of bone marrow recovery in children with acute lymphoblastic leukaemia on remission induction phase. Vol. 37, Bangladesh Med Res Counc Bull. 2011.
71. Jones AS, Tailor H, Liesner R, Machin SJ, Briggs CJ. The value of the white precursor cell channel (WPC) on the Sysmex XN-1000 analyser in a specialist paediatric hospital. J Clin Pathol. 2015 Feb 1;68(2):161–5.
72. Ayres LS, Sgnaolin V, Munhoz TP. Immature granulocytes index as early marker of sepsis. Int J Lab Hematol. 2019 Jun 1;41(3):392–6.
73. Med Sci TJ, Mutlu KARAKAŞ N, Kirkiz S, Kaya Z. Turkish Journal of Medical Sciences Identification of subclinical iron deficiency using new erythrocytes, leukocytes, and reticulocytes parameters during nonsevere acute infection in pediatric outpatients.
74. Al Mamari S, Al Saadi A, Al Zaabi R, Al Jamalani A, Al Qassabi J, Pathare A, et al. Measurement of hematopoietic progenitor cells using XN2000 hematology analyzer. Int J Lab Hematol. 2022 Feb 1;44(1):82–7.
75. Shibata H, Yamane T, Yamamura R, Ohta K, Takubo T, Kamitani T, et al. Automatic analysis of normal bone marrow blood cells using the XE-2100 automated hematology analyzer. J Clin Lab Anal. 2003;17(1):12–7.
76. Kaya Z, Kirkiz S, Özkurt ZN, Yagcı M, Kocak U. Analysis of bone marrow samples by the SYSMEX-XN20 hematology analyzer. Vol. 45, International Journal of Laboratory Hematology. John Wiley and Sons Inc; 2023. p. e47–51.
77. Güngör A, Göktuğ A, Tekeli A, Bodur İ, Öztürk B, Güneylioglu MM, et al. Evaluation of the accuracy of immature granulocyte percentage in predicting pediatric serious bacterial infection. Int J Lab Hematol. 2021 Aug 1;43(4):632–7.

78. Purwosunu Y, Sekizawa A, Farina A, Okai T, Takabayashi H, Wen P, et al. Enrichment of NRBC in maternal blood: A more feasible method for noninvasive prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2006 Jun;26(6):545–7.
79. Otsubo H, Kaito K, Asai O, Usui N, Kobayashi M, Hoshi Y. Persistent nucleated red blood cells in peripheral blood is a poor prognostic factor in patients undergoing stem cell transplantation.
80. Danise P, MacOni M, Barrella F, Di Palma A, Avino D, Rovetti A, et al. Evaluation of nucleated red blood cells in the peripheral blood of hematological diseases. *Clin Chem Lab Med.* 2012 Feb 1;50(2):357–60.
81. Phan TT, Vy HT, Ho TT, Tran VT, Tran TT, Pho SP, et al. Emergence role of nucleated red blood cells in molecular response evaluation for chronic myeloid leukemia. *Int J Gen Med.* 2019 Sep 1;12:333–41.
82. Matarraz S, Teodosio C, Fernandez C, Albors M, Jara-Acevedo M. The Proliferation Index of Specific Bone Marrow Cell Compartments from Myelodysplastic Syndromes Is Associated with the Diagnostic and Patient Outcome. *PLoS One.* 2012;7(8):44321.
83. Rauf SE, Khan SA, Ali N, Afridi NK, Haroon M, Arslan A. Remisyon indüksiyon kemoterapisi alan akut lenfoblastik lösemi hastalarında hematopoietik toparlanmanın öngörülmesinde immatür retikülosit fraksiyonu ve mutlak nötrofil sayısı. *Turkish Journal of Hematology.* 2016;33(2):131–4.
84. Rauf SE, Khan SA, Ali N, Afridi NK, Haroon M, Arslan A. Remisyon indüksiyon kemoterapisi alan akut lenfoblastik lösemi hastalarında hematopoietik toparlanmanın öngörülmesinde immatür retikülosit fraksiyonu ve mutlak nötrofil sayısı. *Turkish Journal of Hematology.* 2016;33(2):131–4.
85. Graziutti ML, Dong L, Miceli MH, Cottler-Fox M, Krishna SG, Fassas A, et al. Recovery from neutropenia can be predicted by the immature reticulocyte fraction several days before neutrophil recovery in autologous stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2006;37:403–9.
86. Letestu R, Marzac C, Audat F, Belhocine R, Tondeur S, Baccini V, et al. Use of hematopoietic progenitor cell count on the Sysmex XE-2100 for peripheral blood stem cell harvest monitoring. *Leuk Lymphoma.* 2007 Jan;48(1):89–96.

87. Peerschke EI, Mounq C, Pessin MS, Maslak P. Evaluation of new automated hematopoietic progenitor cell analysis in the clinical management of peripheral blood stem cell collections. *Transfusion (Paris)*. 2015 Aug 1;55(8):2001–9.
88. Shin S, Cho SR, Kim S, Choi JR, Lee KA. Identification of cell morphology parameters from automatic hematology analyzers to predict the peripheral blood CD34-positive cell count after mobilization. 2017.
89. Furundarena JR, Sainz M, Uranga A, Cuevas L, Lopez I, Zubicaray J, et al. Comparison of abnormal cell flagging of the hematology analyzers Sysmex XN and Sysmex XE-5000 in oncohematologic patients. *Int J Lab Hematol*. 2017 Feb 1;39(1):58–67.
90. W. GOOSSENS, C. BRUSSELMANS, N. BOECKX. Preliminary Data on the Feasibility of Bone Marrow Screening on the Sysmex XE-2100 Automated Hematology Analyzer. *Sysmex Journal International*. 2001;11(2):70–3.
91. Gina Zini. Automated Bone Marrow Analysis: Dream or Reality? 2005.
92. Petrone J, Jackups R, Eby CS, Shimer G, Anderson J, Frater JL. Blast flagging of the Sysmex XN-10 hematology analyzer with supervised cell image analysis: Impact on quality parameters. *Int J Lab Hematol*. 2019 Oct 1;41(5):601–6.
93. Greenmyer JR, Kohorst M. Pediatric Neoplasms Presenting with Monocytosis. Vol. 16, *Current Hematologic Malignancy Reports*. Springer; 2021. p. 235–46.
94. Embaby A, Fathy A, Al-Akkad M, Baraka A, Ibrahim T, Zidan N, et al. Initial absolute monocyte count as an immune biomarker for clinical response in acute myeloid leukemia with monocytic differentiation. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2020 Dec 1;32(1).
95. Chabot-Richards DS, George TI. White Blood Cell Counts. Reference Methodology. Vol. 35, *Clinics in Laboratory Medicine*. W.B. Saunders; 2015. p. 11–24.
96. Kruse A, Abdel-Azim N, Kim HN, Ruan Y, Phan V, Ogana H, et al. Minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020.
97. Ismail MM, Abdulateef NAB. Absolute Monocyte Count is Superior than Absolute Lymphocyte Count at Day 28 as an Independent Prognostic Factor in Acute Myeloid Leukemia.

98. Zhang Y, Dai K, Zhang Q, Huang Y, Feng Y, Bhardwaj D, et al. Normal Absolute Monocyte Count in Combination with Normal/High Absolute Lymphocyte Count at the Time of Relapse is Associated with Improved Survival in Patients with Early Relapsed Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Invest.* 2021;39(6–7):550–8.
99. Adresi Y, Tao Q. Published by Galenos Publishing House Turk. *Turkish Journal of Hematology.* 2022;39:230–6.
100. Kahng J, Yahng SA, Lee JW, Kim Y, Kim M, Oh EJ, et al. Novel markers of early neutrophilic and monocytic engraftment after hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Lab Med.* 2014;34(2):92–7.

8. EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU							
ETİK KURUL İLETİŞİM BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi (GÜ) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu					
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık (GÜTF) Binası 06500 Beşevler/Ankara					
	TELEFON	0312 202 69 58					
	FAKS	0312 202 46 73					
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr					
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Akut lösemi tanısı ve hematolojik hastalığı olan hastalarda kemik iliği hücrelerinin yeni nesil otomatik kan sayım cihazında değerlendirilmesi					
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Zühre KAYA					
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI/UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı/ GÜTF					
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)						
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Dosya ve görüntü kayıtları kullanılarak yapılan retrospektif çalışmalar veya arşiv taramaları- Uzmanlık tezi					
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐		
	DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili		
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ		21.10.2021	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐			
AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU				Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐			
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ						
	BIYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU						
	DİĞER						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 52 Toplantı tarihi: 01.11.2021						
	Akut lösemi tanısı ve hematolojik hastalığı olan hastalarda kemik iliği hücrelerinin yeni nesil otomatik kan sayım cihazında değerlendirilmesi başlıklı başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri ile incelenerek uygun bulunduğu GÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.						
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik İy Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI		Prof. Dr Ebru ARHAN					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırmayla ilişkisi	Katılım	İmza	
Prof. Dr. Ebru ARHAN BAŞKAN	Çocuk Sağ. ve Hast. AD. Nöroloji BD	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Doç. Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN BAŞKAN YARD.	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL BİLDİRİMLERDEN SORUMLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya AD.	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		

Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN ÜYE	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Prof. Dr. Ö. Sezai LEVENTOĞLU ÜYE	Genel Cerrahi Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Prof. Dr. Çiğdem ÖZER ÜYE	Fizyoloji AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Prof. Dr. Çiğdem ATAMAN HATİPOĞLU ÜYE	Enfeksiyon Hast ve Klinik Mik Kliniği AD.	Sağ.Bil.Öniv. Ankara Eğt Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Doç. Dr. Hamit KÜÇÜK ÜYE	İç Hastalıkları AD Romatoloji BD	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Dr. Öğr. Üyesi Halit Nahit ŞENDUR ÜYE	Radyoloji AD.	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Öğr. Gör. Dr. İrem EKMEKÇİ ERTEK ÜYE	Psikiyatri AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Öğr. Gör. Dr. Cansu ÖZBAŞ ÜYE	Halk Sağlığı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
İpek GÜVENÇ ÜYE	Hukukçu	Ankara Barosu	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Nejla CAN GÜLER ÜYE	Sivil Temsilci	Sağ.Bak. Avrupa Birl. ve Dış İliş.Gn.Md.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐