

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
HEMATOLOJİ BİLİM DALI**

**MULTİPLE MYELOMA VE KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ
TANILI HASTALARDA TROMBİN JENERASYONU VE
MİKROPARTİKÜL VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Uz. Dr. Yusuf BİLEN

HEMATOLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Fuat ERDEM

ERZURUM 2014

İÇİNDEKİLER

ONAY	III
ÖZET	VI
SUMMARY	V
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Kronik lenfositik lösemi	2
2.1.1. Tanım ve epidemiyolojisi	2
2.1.2. Tanı	3
2.1.3. Klinik ve Evreleme	4
2.1.4. Prognoz	5
2.1.5. Tedavi	7
2.2. Plazma Hücreli Myelom	11
2.2.1. Tanım ve Epidemiyolojisi	11
2.2.2. Tanı	11
2.2.3. Klinik ve Evreleme	12
2.2.4. Prognoz	14
2.2.5. Tedavi	14
2.3. Mikropartiküller	16
2.3.1. Fosfatidil Serin bağımlı Mikropartikül Deney Kitleri	17
2.4. Trombin Oluşum Testi [Thrombin Generation Assay(TGA)]	18
3. GEREÇ ve YÖNTEM	20
3.1. Mikropartikül Varlığının Tayini	21
3.2. Trombin Oluşum Testi (TGA)	21
3.3. İstatistiksel Analiz	22
4. BULGULAR	23
4.1. Hastalar ve Özellikleri	23
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇLAR	56
7. KAYNAKLAR	58

ONAY

“Multiple myeloma ve kronik lenfositik lösemi tanılı hastalarında trombin jenerasyonu ve mikropartikül varlığının araştırılması” adlı çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nın 16.12.2010 tarih 12 sayılı oturumun 7 nolu bendinin E fıkrası kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı’nın 28.03.2013 tarih ve 3 nolu toplantının 3 nolu kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı’nın 05.03.2013 tarih ve 1 sayılı oturum, 9 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.Çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğünce Bilimsel Araştırma Projesi olarak 2012-49 proje no ile desteklenmiştir.

MULTİPLE MYELOMA VE KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ TANILI HASTALARDA TROMBİN JENERASYONU VE MİKROPARTİKÜL VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Canlı hücrelerden veya apoptoza uğramış hücrelerden salınan küçük hücre membran vezikülleri genel olarak mikropartikül (MPs) olarak adlandırılmaktadırlar. Çeşitli hastalıklarda MPs araştırılmış, venöz tromboemboli riskinin MPs varlığı ile arttığı gösterilmiştir. Bizde bu çalışma ile çoğunluğu yaşlılardan oluşan Plazma Hücreli Myelom (PHM) ve Kronik lenfositik Lösemi (KLL) tanılı hastalarımızda MPs varlığını araştırırken olayın patofizyolojisi hakkında bilgi edinebilmek için trombin jenerasyonu (TGE) yöntemini kullanmayı amaçladık.

Çalışma amacı ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloj Bilim Dalı Kliniği ve Polikliniğinde Ocak 2011 ile Temmuz 2013 tarihleri arasında takip edilerek PHM tanısı almış 40 hasta veya KLL tanısı almış 30 hasta ile bilinen sistemik hastalığı olmayan 26 sağlıklı birey kontrol grubu olarak dahil edildi. Hastalardan çalışmanın başlangıcında MPs ve TGE testleri için örnek alındı. Hastalar gözlemsel olarak takip edildi. Kemoterapi cevapları ve hastalıkla ilgili demografik bilgiler kayıt edildi. Çalışma sonlandığında elde edilen veriler ile MPs sonuçları ve TGE test parametreleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Çalışmada, hastaların ortalama takip süreleri PHM için 22.6 ay, KLL için 38.8 ay olarak tespit edildi. PHM hastaların 13 tanesinde tromboembolik olay, 10 tanesinde ise mortalite gözlemlendi. KLL tanılı hastaların 10 tanesinde tromboembolik olay 3 tanesinde ise mortalite gelişti. KLL ve PHM tanılı hastaların MPs oranları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi (1.46 ± 1.03 , 1.16 ± 0.52 sırası ile). Çalışma süresince ortaya çıkan tromboembolik olaylar KLL ve PHM hastalarının çalışmaya dahil edildikleri dönemdeki evresi ($p=0.01$), kemoterapiye alınan cevabın yetersizliği ($p=0.008$), komorbid hastalık varlığı ($p<0.001$), mortalite ($p=0.002$), ve lag-time ($p=0.048$) parametreleri ile istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon tespit edildi. Yine KLL ve PHM hastalarında gelişen tromboembolik olaylar ile TGA testinde ölçülen ETP ($p=0.021$) ve pik değerleri ($p=0.046$) arasında istatistiksel

olarak anlamlı negatif korelasyon olduğu tespit edildi. ETP süresi ve Pik değerlerde kısalmanın tromboembolik morbidite oranında artışa eşlik ettiğini tespit ettik.

Sonuç olarak, PHM ve KLL hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunan MP oranı ve bu hastalarda gözlenen yüksek tromboembolik olay insidansının arasında istatistiksel bir ilişki olduğunu tespit ettik. Bu istatistiki ilişkinin patofizyolojik boyutunu TGA testi ile de gösterdik. Tromboembolik olaylar PHM ve KLL gibi hematolojik maligniteler ile diğer kanser türlerinde önemli morbidite ve mortalite sebebi olup yüksek riskli hastalara profilaksi verilmesi tartışmalarında riskli hasta gruplarının belirlenmesi için TGA ve MPs ölçümleri ile elde edilen TF-aktivitesinin değerli bir parametre olabileceği kanaatine vardık.

Anahtar kelimeler: Plazma Hücreli Myelom, Kronik Lenfositik Lösemi, Mikropartikül, TGA

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF MICROPARTICLES AND THROMBIN GENERATION ASSAY in MULTIPLE MYELOMA and CHRONIC LYPHOCYTIC LEUKEMIA PATIENTS

Microparticles (MPs) are small membrane derivatives that generally released from either live cells or apoptosed cells. MPs have been studied with various types of diseases and has been shown that presence of MPs is accompanies with increased risk of venous thromboembolism. In this study we aimed to detect presence of MPs together with Thrombin Generation Assay (TGA) to improve understanding of pathophysiology in an aged patient population that includes Plasma Cell Myeloma (PCM) and Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) patients.

We include 40 PCM and 30 CLL patients who diagnosed and followed in Hematology Department and outpatient clinic of Atatürk University Medicine Faculty between January 2011 and July 2013. 26 Healthy individual also included to the study as control group. At the beginning of the study samples for TGA and MPs tests were taken from the patients and control group after informed consents were given. Patients were followed prospectively during the study. Chemotherapy responses, disease related informations and demographic data were recorded. At the end of the study TGA and MPs test results were investigated statistically with collected data.

In this study, patients' mean follow-up period was found 22.6 months for the PCM, 38.8 months for CLL. Among the PCM patients thromboembolic events was observed in 13 patients and mortality observed in 10 of PCM patients. Among the CLL patients 10 Thromboembolic events and 3 mortality was observed during the study period. MPs rates of patients with CLL and PCM significantly higher than the control group were detected (1.46 ± 1.03 , 1.16 ± 0.52 , 0.99 ± 0.29 respectively). During the study, The rate of thromboembolic events in patient group (CLL and PCM patients) was detected that statistically significantly has positive correlation with the stage of the disease ($p=0.01$), presence of co-morbid disease ($p<0.001$), mortality ($p=0.002$), Lag-time in TGA test ($p=0.048$). We also detected that the rate of thromboembolic events

has a statistically significant negative correlation with ETP and Peak time in TGA test ($p=0.021$ and 0.046 in orderly). Decrease in ETP value and peak values were statistically significantly accompanied by an increase of thromboembolic morbidity.

As a result, we detected that PCM and CLL patients found significantly high incidence of thromboembolic. Stage of the disease, co-morbid diseases and some TGA test parameters were statistically significantly correlated with thromboembolic events. This relationship with TGA can be interpreted as a pathophysiological association for PCM and CLL patients. Thromboembolic events are significant morbidity and mortality cause for hematological malignancies and other cancers. We speculated that TGA and MPs evaluation to obtain an idea for Tissue Factor activity can be a valuable parameter for the determination of the high-risk patients to administer prophylaxis.

Key words: Plasma Cell Myeloma, Chronic Lymphocytic Leukemia, Microparticle, TGA

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Derin ven trombozunu (DVT) da içeren venöz tromboemboli (VTE) ve pulmoner emboli (PE) hematolojik ve solid organ kanserli hastalarda topluma göre daha sık karşılaşılmaktadır. PE ve VTE yaşlı hasta grubunda mortalite ve morbiditenin en önde gelen nedenleri arasındadır (1). Plazma Hücreli Myeloma (PHM) ve Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) hematolojik maligniteler arasında yaşlı nüfusta daha çok karşılaşılmakta olup 6. ve 7. dekatta pik yapmaktadırlar (2, 3). Hiperkoagulabilitenin VTE için bir risk faktörü olduğu kanıtlanmıştır (4). Trombin, koagulasyon kaskadının akselerasyonu için gerekli olan bir enzimdir. Trombin, trombositler, faktör V ve faktör VIII için bir aktivatör görevi görmekle birlikte pozitif geri-besleme halkası içinde kritik bir role de sahiptir. Trombin varlığı ile daha büyük miktarlarda ilave trombin oluşumu sağlanmakta, fibrinojen fibrine dönüşmekte ve sonuç olarak pıhtı oluşumu sağlanmaktadır. [Trombin jenerasyonu, trombin oluşumunun başlaması, yayılımı (propagation) ve sonlanma safhalarından oluşmakta olup eğri altında kalan alan ve eğrinin eğimi kullanılarak değerlendirilmektedir] (5). Mikro partiküller (MPs) sağlıklı kişilerin kanlarında da bulunmakta olup kardiovasküler hastalık, diyabet, sepsis ve kanser gibi çeşitli hastalıklarda artmış olarak tespit edilmiştir. MPs aktive olmuş veya apoptoza uğramış hücrelerden salınan küçük membranların oluşturduğu veziküllerdir (6). Trombosit kaynaklı mikro partiküller çoğunlukla fosfatidil serin (FS) olan anyonik fosfolipid içerdiklerinden kuvvetli prokagulan özellik göstermektedirler. VTE insidansı yüksek olan yaşlı ve hematolojik maligniteli hastaların takibinde trombo-emboli profilaksisinin kimlere, ne zaman ve ne kadar verileceği henüz sonuca ulaşmamış ancak çok tartışılan bir konudur. Çeşitli hastalıklarda MPs araştırılmış VTE riskinin MPs varlığı ile arttığı gösterilmiştir. Biz de bu çalışma ile çoğunluğu yaşlılardan oluşan PHM ve KLL tanılı hastalarımızda MPs varlığını araştırırken olayın patofizyolojisi hakkında bilgi edinebilmek için trombin jenerasyonu yöntemini kullanmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Kronik Lenfositik Lösemi

2.1.1. Tanım ve Epidemioloji

Kronik Lenfositik Lösemi (KLL), monoklonal CD5 (Cluster of differentiation) pozitif B lenfositlerinin periferik kan, kemik iliği ve ikincil lenfoid organlarda (lenf nodu ve dalak) toplanması ile şekillenen bir hastalıktır (7).

KLL, batı toplumunda, erişkinlerde, en sık görülen lösemi türü olup tüm lösemilerin % 25-30'unu oluşturmaktadır. Yıllık insidansı batı ülkelerinde 4.2/100 000 dir. Görülme sıklığı yaşla birlikte artan bir hastalık olup 80 yaş üzerindeki insidansı 30/100 000'nin üzerine çıkmaktadır. Ortanca tanı yaşı 72 dir. Yaşlılık hastalığı olarak bilinmekte ise de genç yaşta görülme sıklığı artmaktadır. KLL hastalarının % 10 kadarı 55 yaş altında tanı almaktadır (8). KLL, erkeklerde kadınlara göre daha sık gözlenir ve E/K oranı yaklaşık olarak 1.5 – 2.1:1'dir(7).

KLL'li olguların periferik yaymasında, çok az stoplazması olan, homojen, olgun lenfositler izlenir. Hücre zarı oldukça kırılgandır ve sıklıkla preparatın hazırlanma aşamasında lösemik hücreler parçalanırlar. KLL' de klonal B lenfositler yüzeylerinde kuvvetli CD5 antijeni ile birlikte B hücre markırlarından CD19, CD20 ve CD23 antijenlerini eksprese ederler.. CD20, CD79a ve yüzey immünglobulin (sıklıkla IgM ± IgD ve düşük oranda IgG ya da IgA) antijen sunumu normal B hücrelerine göre karakteristik olarak daha düşüktür. Lösemik hücreler monoklonal olduğu için kappa ya da lambda hafif zincirlerinden sadece biri eksprese edilir (7, 8).

KLL tanılı hastaların % 10 kadarının birinci veya ikinci derece yakınlarında da KLL tanısı konulmuş akraba hastalar bulunmaktadır. Familial KLL olarak adlandırılan bu hastalar için henüz genetik belirteç tespit edilememiştir. KLL tanılı hastaların birinci ve ikinci derece akrabalarında yaşam boyu KLL riski topluma göre oldukça yüksektir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan geniş tabanlı vaka kontrol çalışmasında toplumda KLL için rölatif risk 5.0 olarak tespit edilirken diğer kanser riskleri için bu oran 2.1 olarak bulunmuştur. Bu kişilerde yalnızca KLL riski değil diğer

lenfoproliferatif hastalıklar ve otoimmün hastlıklara yakalanma riski de toplumdan fazla bulunmuştur (9, 10).

2.1.2. Tanı

KLL tanısının konulması için; en az 3 ay kadar süren periferik kandaki klonal B lenfosit sayısının 5000/ μ l üzerinde olması gerekmektedir. Klonalitenin ve hematolojik malignitenin tanınmasında genellikle kan sayımı, çevresel kan yaymasının incelenmesi ve immün fenotipleme yeterli olmaktadır (11).

- Dünya sağlık örgütü KLL'yi lösemik/lenfositik lenfoma olarakta adlandırmakta olup small lenfositik lenfomadan ayrımında malign klonal hücrelerin çevresel kanda bulunamaması hali olarak tanımlamaktadır. Uluslar arası KLL çalışma grubu (IWCLL) kriterlerine göre ise Small lenfositik Lösemi (SLL) tanısı için, sitopenilerin olmadığı, klonal B hücre sayısının 5000/ μ l altında olduğu ve immün fenotipik olarak KLL ile uyumlu hücrelerin dokuda gösterilmesi ile tanı konulmaktadır.
- Morfolojik olarak lenfositlerin %55'inden fazla olması B hücreli prolenfositik lösemiye düşündürmektedir.
- Kemik iliği aspirasyonunda çekirdekli hücrelerin % 30'dan fazlasının lenfoid seriye ait olması veya kemik iliği biyopsisinde KLL infiltrasyonu ile uyumlu lenfoid infiltrasyon tespit edilmesi kemik iliği infiltrasyonu olarak kabul edilmektedir.
- Kemik iliği selülaritesinin normoselüler veya hiperselüler olması
- Immünfenotipik incelemede B hücrelerinin monoklonal olması (CD19, CD20 ve CD23) ile birlikte CD5 dışında başka bir pan T hücre belirtecini olmaması ile tanı konulmaktadır (12) (Tablo1.). KLL ile diğer B hücreli lösemilerin ayrımı için çeşitli skorlama sistemleri geliştirilmiştir. Bu skorlama sisteminde zayıf yüzey Ig, CD5, CD23 pozitiflikleri, CD79a ve FMC7 negatifliği veya zayıf pozitifliği birer puan olarak alınmaktadır. Bu sistemle KLL hastalarının % 92'si 4 veya 5 puan alırken % 6'sı 3 puan ve % 2'si ise 1 veya 2 puan almaktadır (13).

Kemik iliği ve lenfoid organlarda KLL ile uyumlu immünofenotipik özellikte klonal lenfosit infiltrasyonu olan ancak çevresel kandaki B lenfosit sayısı 5000/ μ l'nin altında olan hastalar small lenfositik lösemi olarak adlandırılmakta ise de Dünya sağlık örgütü bu hastaların immünofenotipik, genetik, doğal seyir ve komplikasyonlarının KLL ile benzer olması nedeniyle bu hastaları da KLL olarak kabul etmektedir.

Kemik iliği incelemesi, KLL tanısı için gerekli değildir fakat sitopeninin nedeninin belirlenmesinde ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde çok yararlı olabilir. Atipik morfoloji gösteren KLL'de tanının desteklenmesini sağlayabilir. İnfiltrasyon tipi (yaygın ya da yaygın olmayan) hastalık seyrini önceden kestirmede kullanılan klasik işaretlerdendir(10).

2.1.3 Klinik ve Evreleme

Hastaların çoğu tanı anında asemptomatik olmakta birlikte kimi olgularda klonal B hücrelerinin kemik iliği ve kanda birikmesi nedeniyle lenfadenopati, kilo kaybı, gece terlemesi, ateş yüksekliği gibi tümör yüküne bağlı semptomlar nedeni ile başvurabilmektedir. Anemi ve trombositopeniye bağlı semptomlar da ileri evrede tanı alan hastalarda tespit edilmektedir (7).

Hastaların ancak % 15'inde tanı anında hastalıkla ilişkili semptomlar bulunmakta olup geri kalanında ilerleyen hastalıkla birlikte bu semptomlar ortaya çıkmaktadır. KLL progresyonundan ayrı olarak hastalık immünsüpresif bir özelliğe de sahiptir. İlerlemiş hastalığı olanlarda artan oranlarda enfeksiyonlar görülmekte ve hastalığın mortalitesine katkı sağlamaktadır. İmmünsüpresyonla ilgili diğer etkilerde; yüksek ikincil malignite oranı, otoimmün komplikasyonları içermektedir. İmmün aracılıklı sitopeniler (Trombositopeni %2, Otoimmün hemolitik anemi %10-25) hastalığın herhangi bir döneminde görülebilmektedir (7, 10).

KLL'nin evrelendirilmesinde RAİ ve Binet evrelendirme sistemleri (Tablo 1) olarak adlandırılan başlıca iki yöntem kullanılmaktadır. Her iki yöntemde de hastanın tümör yükü ve sitopeniler baz alınmaktadır (8).

RAİ EVRELEMESİ (8)

Evre	Klinik Özellikler	III	Lenfositoz + Anemi (Hb< 11g/dl) +/- lenfadenopati/organomegali
0	Lenfositoz		
I	Lenfositoz + Lenfadenomegali	IV	Lenfositoz + Trombositopeni (<100 000/mm ³) +/- lenfadenopati/organomegali
II	Lenfositoz + Hepatomegali ve/veya Splenomegali +/- Lenfadenopati		

Tablo 1: Binet Evreleme Sistemi (9)

Evre	Kan Sayımı	Tutulan Lenfoid Bölge sayısı	Survey (~)
A	Hb> 10 gr/dl, Trombosit >100,000/ml	< 3	9 yıl
B	Hb> 10 gr/dl, Trombosit >100,000/ml	≥3	5 yıl
C	Hb< 10 gr/dl veya Trombosit <100,000/ml	Önemi yok	2 yıl

2.1.4 Prognoz

Hastaların tanı anındaki evreleri prognoz ile direkt ilişkilidir. Rai evre 0 düşük riskli grup olup ortalama sağkalım >12 yıldan fazla iken, evre I ve II orta risk grubunu oluşturmakta ve ortalama sağkalım 8 yıla gerilemektedir. Yüksek risk grubu olan evre III ve IV 'te genel sağkalım 2 yıl gibi kısa sürelerle gerilemektedir. Binet evre A, B,C de de sağkalımlar benzerdir. Erken tedavinin genel sağkalımda yarar sağlamaması hangi hastanın tedavi edilmesi konusunda araştırmaları yoğunlaştırmaktadır (9).

Hastalık son derece heterojen olup hangi hastaların uzun süre tedavi gerektirmeden takip edilmesi veya hangi hastaların agresif tedavilerle tedavi edilmesi

gerektiğini aydınlayabilecek yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bununla birlikte prognoz ile ilgili bilgi verebilecek ve tedavi mortalitesini etkileyen çeşitli parametreler bulunmaktadır. Belli başlı olanlara gözatacak olursak;

- Hastalığın evresi; Rai düşük evre (0 veya I) ve Binet A diğer evrelere göre daha iyi prognoza sahiptir.
- Lenfosit katlanma zamanı; 6 aydan daha kısa olması progresif hastalığı gösterir.
- Kemik iliği infiltrasyon paterni; diffüz infiltrasyon daha kötü bir prognoz göstergesi olarak kabul edilir.
- Periferik yaymada $>10\%$ ’dan daha fazla prolenfosit bulunması kötü prognoza işaret etmekte.
- Beta-2 mikroglobulin düzeyi genel sağkalım ve kemoterapiye cevap ile ters korrelasyon göstermektedir.
- Serum Timidin-Kinaz düzeyleri sağkalım ile zıt korelasyon göstermektedir (7).
- Stoplazmik CD23 (sCD23) sağkalım ile zıt korelasyona sahiptir.
- P53 ekspresyonu prolenfositik transformasyon ile korelasyon gösterir.
- Immunglobulin ağır zincir (IGHV) geni somatik mutasyonları nedeniyle germinal merkezdeki lenfositlere benzerliği $< 98\%$ ’in altında kalan grup daha iyi bir prognoza sahiptir.
- Klonal lenfositlerde CD38 pozitifliği daha kısa sağkalım ve erken progresyon ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (12).
- Hücre içi *Zeta-chain-associated protein kinase 70* (ZAP 70) pozitifliği $>20\%$ üzerinde olan hastaların prognozunun daha kötü olduğu ve IGHV genetik mutasyonları ile korrelasyonu gösterilmiştir (10).
- Kromozomal anomaliler; KLL hastaların $20-50\%$ ’inde metafaz sitogenetiği yöntemiyle kromozomal anomaliler tespit edilebilmektedir. Floresan insitu hybridizasyon (FISH) yöntemi ile tespit edilebilen genetik anomaliler 80% ’e kadar çıkmaktadır. Bu genetik anomalilerden başlıcaları, sıklık sırasına göre; trizomi 12, 13q14 delesyonları, 14q32 aberan mutasyonları, 11q, 17p, ve 6q delesyonlarıdır. Hastaların 15%

kadarında kompleks karyotip (iç veya daha fazla anormalliğin bir arada bulunması) tespit edilmekte olup bu hasta grubunda progresyon daha hızlı olup, Richter dönüşümü ve daha kısa survey ile ilişkilendirilmiştir. 17p ve 11q delesyonları kötü prognostik gösterge iken trizomi 12 varlığı hastayı orta risk grubuna sokmaktadır. 13q delesyonunun tek başına olması halinde ise prognoz iyidir. Bu genetik anormalliklerin dışında KLL hastalarında trizomi 3, dengeli 13q14,11q,14q32,18q21 mutasyonları daha az sıklıkla görülen mutasyonlar arasındadır(5, 7, 10, 14, 15).

2.1.5 Tedavi

Hastaların büyük çoğunluğu insidental tanı almakta olup tanı anında normal hemoglobulin ve trombosit değerlerine sahiptir. Asemptomatik bu hastalarda tedavisiz gözlem standart takip yöntemidir. Tedavi genellikle hastalık semptomatik bir hal alana kadar ertelenir. Bu pratik uygulama erken dönemde tedavi edilen ve semptomatik dönemde tedavi edilen hastalar arasında gelen sağkalım arasında bir fark olmadığını gösteren çalışmalara dayanmaktadır (10). Ancak bu çalışmalar tam remisyon elde edilme oranlarının düşük olduğu alkilleyici ajanlar ve klorambusil kullanımının standart tedavi olduğu döneme aittir. Yeni kemoterapötik ilaçlar ve monoklonal antikör kullanımı ile tam yanıt oranlarının daha yüksek olduğu günümüzde özellikle biyolojik ve genetik olarak yüksek riskli olup düşük sağkalım ve düşük tedavi cevabı beklenen hastalarda erken dönem tedavi tartışılır hale gelmiştir. *British Committee for Standards in Hematology* (BCSH) 2013 kılavuzuna göre tedavi endikasyonları Tablo 2’te verilmiştir (13).

Tablo 2:Kronik Lenfositik Lösemi için Modifiye Tedavi Kriterleri (14)

Yeni ortaya çıkan/şiddeti artan anemi ve/veya trombositopeni gibi progresif kemik iliği yetmezliği bulgusunun olması
Massif (sol kosta kavsini en az 6 cm geçen) veya progresyon gösteren veya semptomatik splenomegali
Massif (uzun aksı en az 10 cm olan) veya progresyon gösteren veya semptomatik lenf nodu varlığı
6 aydan kısa lenfosit katlanma zamanı (LDT) veya 2 aylık sürede lenfosit sayısında % 50'den fazla artış gösteren progresif lenfositoz (Başlangıç lenfosit sayısı $30 \times 10^9/l$ olan hastalarda LDT tek başına bir tedavi endikasyonu olarak kullanılmamalıdır.)
Kortikosteroidlere veya diğer standart tedavilere yetersiz yanıtli otoimmün anemi ve/veya trombositopeni
Hastalıkla ilişkilendirilmiş konstitüsyonel semptomların bir veya birkaç tanesinin bulunması;
• Son 6 ay içerisinde istemsiz olarak % 10 veya daha fazla kilo kaybı. • Şiddetli kuvvetsizlik Eastern cooperative onkoloji grup performans skorlamasına göre 2 veya daha fazla (ECOG). • Herhangi bir enfeksiyon varlığı olmaksızın 2 hafta veya daha uzun süren $38.0^{\circ}C$ üzeri ateş varlığı. • Herhangi bir enfeksiyon varlığı olmaksızın bir aydan daha uzun süredir gece terlemesinin olması.

Tedavi endikasyonu ortaya çıkan hastalarda tekli ajan tedavileri geçmişte uygulanmış ise de günümüzde sadece komorbid hastalıkları olan, ileri yaşı (>70),

beklenen cevap ve sağkalım oranlarının düşük olduğu yüksek riskli hastalara palyasyon amaçlı önerilmektedir. Günümüzde KLL tedavisinde çoklu ajanları içeren kombine tedavilerle tam yanıt hedeflenmektedir (10). Tedavi protokolünün belirlenmesinde biyolojik ve genetik faktörler önem kazanmaktadır. 17p veya 11q23 mutasyonu olan hastalarda bir pürin analogu olan fludarabinin etkinliği oldukça düşüktür. Bu hastalar özellikle genç ise allojenik kök hücre nakline yönlendirilebilirler (16). Kemoterapide alkileyici ajan kullanımının genel sağkalım ve cevap oranları açısından tedaviye belirli bir katkısı olmayıp kemikiliği süpresyonunu ve komplikasyon riskini arttırdığı gösterilmiştir. Alkileyici ajan kombinasyonlarının sadece genç yaşta olan ve fludarabin tedavisi alamayacak hastalarda uygulanması önerilmektedir (10). Purin analogları ile alkileyici ajan olan siklofosfamid kombinasyonu tekli ajan fludarabine göre daha yüksek tam yanıt ve progresyona kadar geçen süre cevapları sağlamakla birlikte genel sağkalımda belirgin bir fayda sağlamamaktadır. Bifonksiyonel bir alkileyici ajan olan bendamustinin tek başına kullanımı ile KLL’de elde edilen tam yanıt ve genel yanıt oranlarının klorambusilden üstün çıkması sonrası 2008’de FDA onayı almıştır. Bendamustin kullanımı ile birlikte hematolojik toksisite ve enfeksiyon riskide oldukça artmaktadır (10, 17).

B lenfosit kökenli olan KLL hastalarının %90-100’ünde CD20 eksprese edildiğinden monoklonal antikorların kullanımı için ideal bir hastalık türü olmuştur. 1997 de CD20 monoklonal antikor ritüksimabın CD20 pozitif lenfoma ve lösemilerde endikasyon alması sonrası bu alanda geniş kullanım imkanı bulmuştur. Özellikle fludarabin ile kombine kullanımı ile KLL’de genel sağkalım avantajı da ortaya koymuştur (10, 14). Ritüksimab ile KLL tedavisinde elde edilen başarı sonrasında yeni CD20 monoklonal antikorları ofatumumab ve obinutuzumab üretilmiştir. Her iki ajan da ilk sıra tedavilere dirençli veya nüks hastalar için önerilmekte olup obinutuzumab faz II aşamasındadır (14, 18).

Alemtuzumab monoklonal bir diğer antineoplastik antikor olup CD52 antijenine karşı oluşturulmuştur. Monoterapi ile %33-53’e varan cevap oranlarına sahip olup ikinci seri tedavilerde kendine yerbulmaktadır. Yüksek genetik riske sahip (11q, 17p delesyonları ve TP53 mutasyon varlığı) hastalarda etkili olduğu gösterilmiştir (14, 18, 19). Tüm bu gelişmelere rağmen KLL halen tam kür sağlanamayan, sık nüks ve

relapslarla seyreden ileri bazı hasta gruplarında ise surveyde bir azalmaya neden olmadan yıllarca takip edilen uç grupları barındıran heterojen bir kronik lösemi olarak kabul edilmektedir.

2.1.6 Tedavi Yanıt Değerlendirmesi

Tablo 3: Uluslar arası KLL çalışma grubu (IWCLL) kriterlerine göre tedavi yanıt kriterleri: Tam yanıt (TY), Kısmi Yanıt (KY), Progresyon gösteren hastalık (PH) (13).

Parametre	Grup	TY	KY	PH
Lenfadenopati	A	>1.5 cm LAP yok	% 50 ve daha fazla azalma	% 50 ve daha fazla artış
Hepatomegali	A	Yok	% 50 ve daha fazla azalma	% 50 ve daha fazla artış
Splenomegali	A	Yok	% 50 ve daha fazla azalma	% 50 ve daha fazla artış
Çevresel kan lenfositozu	A	< 4000/µl	Başlangıç değere göre (BD) % 50 ve daha fazla azalma	BD % 50 ve daha fazla artış
Kemik iliği	B	Normoselüler, < % 30 lenfosit, B-lenfoid nodüllerin olmaması	Kemik iliği infiltrasyonunda veya B lenfoid nodüllerde % 50 azalma	
Trombosit sayısı	B	>100 000/ µl	>100 000/ µl veya BD % 50 ve üzerinde artış	KLL'ye bağlı olarak BD % 50 ve üzerinde azalma
Hemoglobin	B	>11.0 gr/dl	>11 gr/dl veya BD >% 50 ve üzerinde artış	KLL nedeni ile BD > 2 gr/dl den daha fazla azalma
Nötrofil	B	>1500/ µl	>1500/ µl	

Uluslar arası kronik lenfositik lösemi çalışma grubu (IWCLL) kriterlerine göre tedaviye yanıt; tam yanıt (TY), kısmi yanıt (KY) ve progresif hastalık (PH) olarak tanımlanmıştır (Tablo 3). Tam yanıt: Tüm kriterler sağlanmalıdır ve hastada hastalık ile ilgili konstitüsyonel semptomlar olmamalıdır. KY: A grubu kriterlerden en az iki tanesi

ile birlikte B grubu kriterlerden bir tanesi sağlanmış olmalıdır. Stabil hastalık (SH): Kısmı yanıt elde edilememiş olup progresyon gösteren hastalık kriterlerinin olmaması (13).

2.2. Plazma Hücreli Myelom/ Multiple Myelom

2.2.1 Tanım ve Epidemiyoloji

Plazma Hücreli Myeloma (PHM) terminal diferansiasyonunu tamamlamış plazma hücrelerinin klonal çoğalmasından kaynaklanan hematolojik bir malignitedir. Anlamı Belirsiz Monoklonal Gammopatiden (MGUS) başlayıp, smoldering myeloma (SMM), semptomatik multiple myeloma (PHM) ve hastalığın en agresif hali olan ve çevresel kanda klonal malign plazma hücrelerinin görüldüğü Plazma Hücreli Lösemi'ye (PHL) kadar varan değişik klinik tablolarda ortaya çıkabilmektedir. PHM plazma hücrelerinin başlıca kemik iliğinde nadiren de diğer organ ve sistemlerde artışı ve monoklonal immünglobülin (Ig) üretimi ile karakterli bir hastalıktır. Yaş ilerledikçe sıklığı artmakla beraber genelde 50 yaş üzerinde görülmektedir. Monoklonal Ig veya Ig hafif zincir üretilmesi hastalığın temel özelliğidir. Çok seyrek olarak plazma hücrelerinden immünglobülin sekrete edilmez ve bu hastalara nonsekretuar PHM denilir (20).

Tüm malignitelerin %1'ini ve hematolojik malignitelerin yaklaşık % 10'unu oluşturan ikinci en sık hematolojik malignite ünvanına sahiptir. İnsidansı siyah ırkta 10-17/100 000 iken beyaz batı ırkında 4.6-7.2/100 000 civarındadır. Asya toplumlarındaki insidansı Avrupa ve Amerika'ya göre göreceli olarak daha düşüktür. Genellikle yaşlı bireyleri etkilemekte olup ortalama görülme yaşı 69 olup ortalama ölüm yaşı 74'tür. Hastaların % 5'inden azı 40 yaş altındadır (20).

2.2.2 Tanı

PHM tanısı için yapılan kemik iliği incelemesinde en az %10 monoklonal plazma hücresinin tespit edilmesi veya herhangi bir bölgeden yapılan biyopsi materyalinde plazmasitom varlığının yanında serum ve/veya idrarda monoklonal protein (M protein) tespit edilmesi gerekmektedir. M protein yükünün olmadığı durumda non-sekretuar PHM olarak adlandırılan alt grubun tespiti için ise kemik iliği incelemesinde

plazma hücre oranının en az %10 olmasının yanında herhangi bir hastalık ilişkili organ hasarının ortaya çıkması gerekmektedir. PHM asemptomatik dönemde tedavisiz izlenebilirken semptomatik hale geldiğinde mutlaka tedavi edilmektedir. Semptomatik myeloma tanısı için PHM ile ilişkili doku veya organ disfonksiyonunun olması gerekmektedir. PHM ile ilişkili organ hasarları arasında; hiperkalsemi (serum kalsiyum düzeyinin normal üst sınırından 1 mg/dl daha yüksek olması), anemi (hemoglobulin < 10 gr/dl veya normal aralığın alt sınırından <2 gr/dl daha düşük olması), renal yetmezlik (serum kreatinin değerinin >2 mg/dl üzerinde olması), amiloidoz, tekrarlayan enfeksiyonların varlığı, hiperviskozite sendromları ve kemik ile ilişkili hastalık varlığıdır (ciddi osteopeni, patolojik fraktürler veya litik kemik lezyonlarının varlığı). Tanısal yaklaşıma özet Tablo 4'da verilmiştir (21). Plazma hücreli lösemide ise çevresel kandaki plazma hücrelerinin sayısı $2 \times 10^6/\text{ml}$ veya dolaşımdaki lökositlerin % 20'sinin üzerinde olması durumunda ortaya çıkan daha agresif ve daha kısa surveyeye sahip bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır (22).

2.2.3 Klinik ve Evreleme

PHM tanısında kullanılması önerilen test ve değerlendirmeler için; anamnez, fizik muayene, kan sayımı, biyokimyasal testler, serum ve idrarda M protein yükünün tayini (immünfiksasyon elektroforez ve protein elektroforez),kemik iliği aspirasyon/biyopsi, konvansiyonel sitogenetik inceleme ve floresan insitu hibridizasyon incelemeleri yer almaktadır. Myeloma ile ilişkili organ hasarının tespiti için direk grafiler, manyetik rezonans (MR) incelemesi ve günümüzde bunların yanına pozitron emisyon tomografisi (PET), allojenik kök hücre nakli adayı olabilecek hastalar için Human Leukocyte Antigen (HLA) doku tiplemesi gibi özel hasta gruplarına yönelik testler de eklenmiştir.

Tablo 4: MGUS, AMM, PHM tanı kriterleri MGUS: Sebebi belirsiz monoklonal gammopati, AMM: Asemptomatik multiple myelom, PHM: Plazma hücreli myelom, M protein: Monoklonal protein (22)

Sebebi Belirsiz Monoklonal Gammopati	Asemptomatik Myelom	Semptomatik Myelom
Serum M protein <30 gr/l	Serum M protein ≥ 30 gr/l ve/veya	Serum ve/veya idrarda M protein varlığı
Kemik iliği klonal plazma hücre oranı < % 10 ve Kemik iliği biyopside düşük oranda plazma hücre infiltrasyonu (Eğer yapıldı ise)	Kemik iliği klonal plazma hücre oranı $\geq$ % 10	Kemik iliğinde klonal plazma hücre varlığı veya biyopsi ile gösterilmiş plazmasitom
Herhangi ilişkili bir organ hasarının olmaması (kemik lezyonları dahil)	Herhangi ilişkili organ veya doku hasarının (kemik lezyonları dahil) veya semptomun olmaması	Myelom ilişkili organ veya doku hasarı varlığı (anemi, hiperkalsemi, litik kemik lezyonları, renal yetersizlik, hiperviskozite, amiloidoz veya rekürren enfeksiyonların varlığı gibi)

Evrelemede günümüzde kullanılan yöntem Uluslararası Skorlama Sistemi (ISS) kullanılmakta olup tümör yükünün göstergesi olan Beta-2 mikroglobulin ve hastalığın agresifliği ile yakın ilişkili olan albümin değerlerine dayanan bir sistemdir. Bu skorlama sistemi ve prognoz ilişkisi Tablo 5’de verilmiştir (20).

Tablo 5: Plazma hücreli myelomda Uluslararası Skorlama Sistemi (ISS) Evreleme sistemi ve beklenen ortalama survey

Beta-2 Mikroglobulin mg/L	Albumin gr/dl	ISS Evre	Ortalama sağkalım (Ay)
<3.5	≥ 3.5	Evre I	62
<3.5	<3.5	Evre II	44
≥ 5.5		Evre III	29

PHM hastaları genellikle plazma hücrelerinin kemik iliği infiltrasyonuna bağlı oluşan klinik bulgular veya myelomun neden olduğu organ hasarının oluşturduğu bulgular nedeniyle başvurmaktadırlar. Gelişen teknoloji ve sağlık hizmetlerine ulaşılabilirliğin artması nedeniyle son yıllarda hastaların dörtte birinden fazlası asemptomatik olarak yapılan rutin tetkiklerle tanı almaktadır Bunlar sıklık sırasına göre; Myelomun kendisine bağlı semptomlar, kemik ağrıları, patolojik kemik kırıkları, hiperkalsemi, böbrek yetmezliği (kreatinin >2.0 mg/dl), anemi, tekrarlayan veya persistan enfeksiyonlar, hiperviskozite semptomlarıdır. Hastalarda acil tedavi gereksinimi ortaya çıkaran başvuru nedenleri arasında spinal kord kompresyonu, hiperkalsemi ve akut böbrek yetmezliği bulunmaktadır (23).

2.2.4 Prognoz

PHM heterojen bir hastalık olup sağkalım haftalar ile sınırlı olabileceği gibi 20 yıldan daha uzun yaşayan hastalar da vardır. Beklenen sağ kalımın belirlenebilmesi uygulanması planlanan tedaviler açısından önem arz etmektedir. ISS skoru sistemi prognostik açıdan bir veri sağlamakla birlikte (Bkz. Tablo 5) yeterli olmamaktadır. Bazı sitogenetik ve moleküler anormalliklerin PHM prognozunda prediktif değeri olduğu gösterilmiştir. Genel olarak t(4;14), t(14;16) ve 17p delesyonu varlığının FISH yöntemi ile gösterilmesi kötü prognostik özellik kabul edilmektedir. 13. kromozom delesyonlarının prognostik önemi olduğuna dair yayınlar olsa da bu durumun eşlik eden t(4;14) varlığı ile ortaya çıktığı ve t(4;14) gibi bir genetik anormallik olmaması halinde del13 kötü bir prognostik önemi olmadığı genel kabul görmektedir (24).

Netlik kazanmış yukarıdaki parametrelerin yanısıra; hastalığın agresivitesini ve tümör yükünü yansıtabildiği için kullanılmış prognostik parametreler arasında; üçten fazla litik kemik lezyonun bulunması, hiperkalsemi, soluble IL-6 reseptörü, C-reaktif protein, Laktat dehidrogenaz enzim düzeyi, CD16, tedavi sonrası tam yanıt elde edilebilmesi gibi maddeler sayılabilir (20).

2.2.5 Tedavi

Tedavide hedef tam yanıt oranı yüksek ajanlarla indüksiyon sağlamak ve tümör yükünü mümkün olduğunca minimize etmektir. Elde edilen yanıtın kalıcılığının

sağlanması için idame tedavilerde güncel protokollerde bulunmaktadır. PHM tedavi alternatifleri değerlendirilirken yaş kriteri oldukça önem kazanır. 65 yaş altında ve eşlik eden ciddi sistemik bir hastalığı olmayan vakalarda güncel tedavi imid (talidomid, lenalidomid) ve bortezomib içeren kombine kemoterapi protokolleri ile indüksiyon sonrasında otolog kemik iliği transplantasyonu (OKİT) uygulamasıdır. Bu ajanların kullanılmadığı durumlarda klasik vinkristin, adriamisin ve deksametazon içeren VAD kemoterapisi uygulanmaktadır (25).

OKİT adayı olmayan 65 yaş üstü hastalarda da yine imid ve bortezomib içeren tedavi protokolleri ile indüksiyon sağlanması amaçlanmaktadır. 75 yaş üstü hastalarda bu tedavi protokolleri ile tedavide ilaç toksisiteleri nedeniyle tedaviye ara verme sıklıklarını azaltmak için daha az yoğunluklu tedaviler tercih edilmektedir (25).

OKİT adayı hastalarda transplantasyon öncesi sürenin mümkün olduğunca kısa tutulması aynı zamanda mümkün olduğunca da derin bir tümör yükü sağaltımı transplant sonrası olaysız sağkalım ve genel sağkalımda avantaj sağlamaktadır. OKİT öncesi bu hedeflere ulaşmak için 3-6 kür çoklu ajan tedaviler kullanılmakta ve kemik iliği hasarı yaptığı bilinen ajanlardan kaçınılmaktadır. Allojeneik kök hücre transplantasyonunun rutin kullanımı PHM 'da tartışmalı olup klinik çalışma düzeyinde uygulanmaktadır. Tedavi ilişkili mortalitenin yüksek olması ve toksisite nedeniyle önerilmemektedir (26).

Tedavide kullanılan başlıca ajanlar; deksametazon, doksorubisin, siklofosfamid, melfalan, bortezomib; talidomid, lenalidomid gibi ajanlardır. Bu ajanların kullanımı ile en sık karşılaşılan yan etkiler ise, gastrointestinal sistem yan etkileri, cilt döküntüleri, kemik iliği supresyonu, nöropati, tromboembolik olay insidansında artıştır (3).

2.2.6 Tedavi yanıtının değerlendirilmesi

Plazma hücreli myelomda yanıt değerlendirmesi kemoterapi alan ve almış hastalarda, otolog veya allojenik kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalarda nakil sonrası düzenli aralıklarla yapılmaktadır. Elde edilen sonuçlarla devam etmekte olan tedavinin etkinliği ve hastalığın durumu değerlendirilmektedir. Yanıt değerlendirmesinde genellikle tanıda kullanılan bir dizi laboratuvar analizleri ve

görüntüleme teknikleri kullanılmaktadır. Hali hazırda yaygın kullanımda olan yanıt kriterleri uluslar arası myelom çalışma grubunun (IMWG) 2006'da tanımlamış olduğu kriterlerdir (27) (Tablo 6).

Tablo 6: Uluslararası Myelom Çalışma Grubu (IMWG) Myelom Yanıt Kriterleri. mTY:Mükemmel Tam Yanıt, TY: Tam Yanıt, ÇIKY:Çok İyi Kısmi Yanıt, KY: Kısmi Yanıt, DH: Durağan Hastalık, IF: Immün Fiksasyon (27)

Tanım	Plazma hücresi	M Protein		Kappa/ Lambda	Yumuşak doku plazmasito m
		Serum	İdrar		
mTY	Klonal Plazma hücresi yok	IF negatif, Ig düzeyi normal	IF negatif	Normal sınırlarda	Yok
TY	$\leq \% 5$	IF negatif	IF negatif	Nomal sınırlarda	Yok
ÇIKY		IF pozitif, $\leq \% 90$ azalma	IF pozitif, < 100 mg/24 saat		
KY	$\geq \% 30$ azalma	$\geq \% 50$ azalma	< 200 mg/24 saat		
DH	TY, ÇIKY, KY kriterlerinin olmaması				

2.3. Mikropartiküller

Mikropartiküller (MPs) sağlıklı insanların kanlarında bulunmakla birlikte, kardiovasküler hastalık, diyabet, sepsis ve kanserler gibi çeşitli hastalık hallerinde arttığı gösterilmiştir. Canlı hücrelerden veya apoptoza uğramış hücrelerden salınan küçük hücre membran vezikülleri olup genel olarak mikropartikül (MPs) olarak adlandırılmaktadırlar. Çapları 100-1000 nm arasında değişebilmekle birlikte genellikle 200nm civarındadır. Hücreler arası iletişimde taşımakta oldukları hücre yüzey

markerları, mRNA ve microRNA parçacıkları ile etkili olmaktadır. Bunun yanısıra hedef hücre yüzeyine yapışarak veya endositoz ile hedef hücre ile etkileşime neden olmaktadır. MPs'in tromboz, enflamasyon ve anjiogeneze etkili oldukları savunulmaktadır. Prokoagulan aktiviteleri içermekte oldukları fosfolipidler özellikle fosfatidilserine bağlanmaktadır. Bunun yanında doku faktörü bulundurmaları nedeni ile de koagulasyon kaskadının tetiklenmesinde suçlanmaktadır. Sağlıklı insanlarda bulunan MPs lerde bu moleküllerin çok daha az oranda bulunduğu çeşitli hastalık hallerinde ise MPs lerin fosfatidil serin (PS), doku faktörü (DF) içeriğinin arttığı gösterilmiştir (28).

DF, FVII/VIIa için bir reseptördür. FVII/VIIa kompleksi FX'u ve FIX'u aktif hale getirerek koagulasyon kaskadını başlatır. MPs içerisinde DF bulunması dramatik olarak prokoagulan aktiviteyi arttırmaktadır. DF inhibitörü endotel hücreler tarafından salınmakta olup dolaşımda bol miktarda bulunmaktadır. Bu inhibitör, koagulasyon kaskadının uygunsuz aktifleşmesini engellemekten sorumludur (6, 28).

MPs varlığının tayininde çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bunlar arasında dolaşımdaki membran parçacıklarının yüzey antijenlerinin kullanılarak hücre kökeninin tespitinde kullanılan flowsitometrik yöntemler, MPs'in büyüklüğünün tespiti için kullanılan elektron mikroskopisi gibi metodlar veya varolan MPs'lerin fonksiyonlarından yola çıkılarak hazırlanmış uygulanması daha basit ve MPs varlığının etkilerini ortaya koyan; TF, fosfatidilserin gibi moleküllerin kullanımı ile hazırlanmış ticari deney kitleri mevcuttur. Bu deney kitlerinde MPs'lerin koagulasyon kaskadı üzerine etkilerinden faydalanılmıştır(29).

2.3.1.FS bağımlı MPs deney kitleri

MPs yüzeyinde FS bulunması MPs'nin çeşitli koagulasyon bileşenleri ile etkileşime girmesine neden olmaktadır. Bu sistem üzerinden hazırlanmış kitlerden halihazırda iki çeşit bulunmaktadır. Birincisi Zymuphen MP activity assay (Hyphen BioMed); kısaca FS taşıyan MPs annexin V-streptavidin kaplı ELISA kitleri tarafından bağlanılır ve FV, FX, FII ile protrombinaz kompleksi oluşturmak üzere inkübe edilir.Substrattaki trombin miktarı kromojenik yöntemle tayin edilir. Elde edilen sonuçlar PS varlığı ile denk kabul edilir. Diğer bir ticari kit olan prokoagulant fosfolipid (Proag PPL) (Stago) da ise MPs'in prokoagulan aktiviteleri fosfolipidden arındırılmış

domuz plazması kullanılarak ölçülür. Eş hacimli test plazması ve fosfolipidden arındırılmış domuz plazması FXa eklenmeden önce karıştırılır ve pıhtılaşma zamanı ölçülür. Sentetik fosfolipidler kullanılarak hazırlanmış standart eğri yardımı ile numune deki MPs miktarı hesaplanır (6).

2.4. Trombin Oluşum Testi [Trombin Generation Assay (TGE)]

DF ve aktive FVII kompleksinin damar duvarındaki hasarı takiben bir dizi reaksiyonu tetiklemesi sonrası fibrinojenin fibrine dönüşümü ile pıhtı oluşumu ortaya çıkmaktadır. Bu da sonuçta bir miktar trombin oluşumuna neden olmaktadır. Trombin oluşum testi olarak adlandırabileceğimiz bu test plazma örneklerinde trombin konsantrasyonundaki zamana bağlı değişiklikleri ölçer. Ölçüm yapılan plazma örneği trombositten zengin veya trombositten fakir olabilir. TGE’da trombin oluşumu, düşük konsantrasyonda rekombinan doku faktörü eklenerek tetiklenir. Oluşan trombin, ortamda bulunan floresan peptid substratı ayrıştırır, böylece florofor (floresan) serbestleşir. Ortaya çıkan floresan yoğunluğunun derecesi, trombin kalibratörü aracılığıyla eşdeğer trombin konsantrasyonuna (nM) dönüştürülerek trombin aktivitesi ölçülür. TGE ile mevcut olan aktif trombin miktarı ölçülür (Şekil 1) (30).

Oluşan trombin konsantrasyonu - zaman eğrisi ve trombin oluşum parametreleri bir grafik halinde elde edilir. Bu grafiğin değerlendirmesinde kullanılan parametreler;

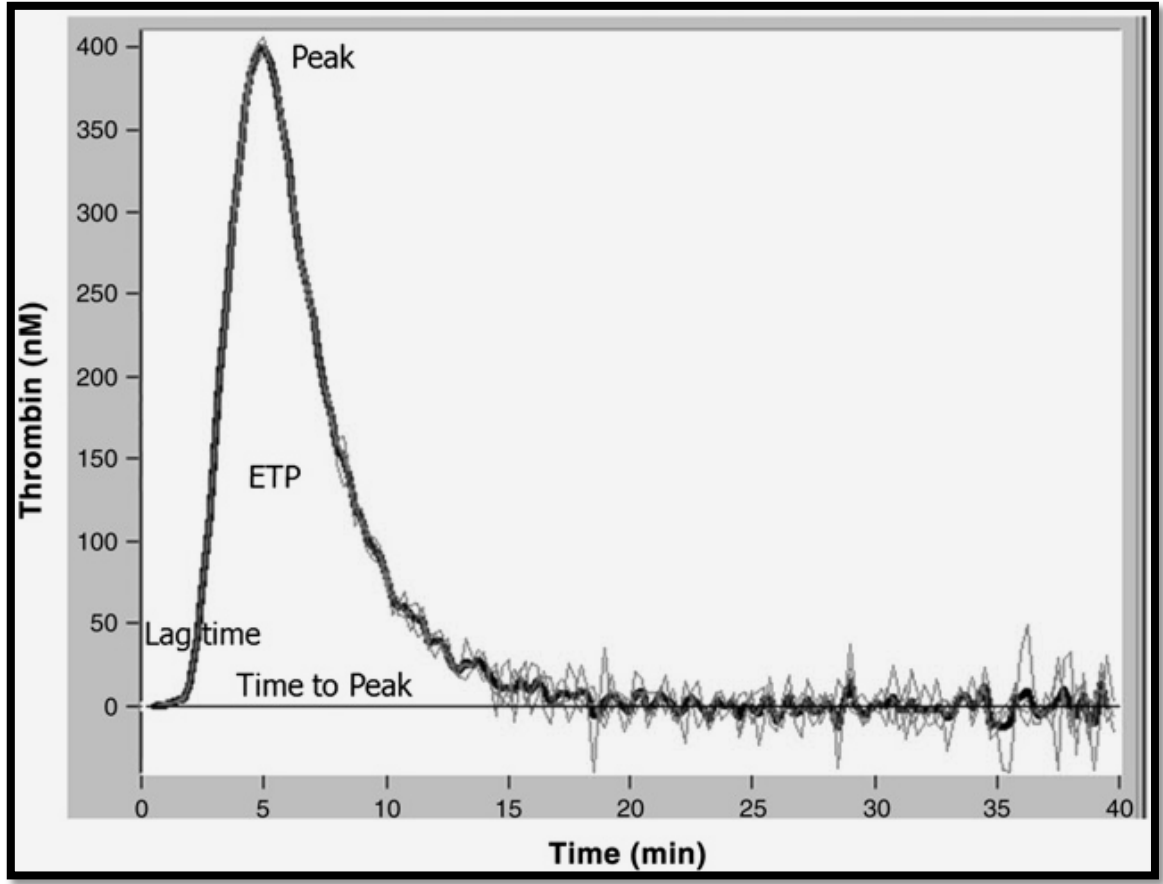
Lag time: Bazal horizontal hatta göre sinyalin 2 standart derivasyondan daha yüksek olduğu an. Reaksiyonun başlangıcına kadar geçen süre olarak kabul edilmektedir.

Pik trombin jenerasyon zamanı (PTGZ): Maksimum trombin konsantrasyonun ölçüldüğü an

PTGZ’ye kadar geçen zaman (TtPeak): Deneyin başlangıcından PTGZ’ye kadar geçen süre

Eğri altında kalan alan (ETP): endojen trombin potansiyeli

TGE, pıhtı oluşum öncesi - sonrası güncel trombin konsantrasyonunu ölçer ve koagülasyon faktörlerindeki değişikliklere çok hassastır (31).



Şekil 1.1:Trombin Jenerasyon assay sonuç eğrisi

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloj Bilim Dalı Kliniği ve Polikliniğinde Ocak 2011 ile Temmuz 2013 tarihleri arasında takip edilerek plazma hücreli myelom veya kronik lenfositik lösemi tanısı almış ve henüz kemoterapi almamış 40 Plazma Hücreli Myelom (PHM) hastası ve 30 Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) hastası dahil edildi. Ayrıca bilinen herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 26 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilme kriterleri arasında daha önceden mevcut hematolojik malignitelere veya bilinen ikinci malignitelere yönelik son iki yıl içerisinde herhangi bir tedavi almamış olma şartı arandı. Çalışma prospektif gözlemsel çalışma olarak düzenlendi.

Plazma hücreli myelom tanılı hastaların tanısında ve evrelemesinde rutin kullanımda olan kan sayımı, biyokimyasal testler, protein elektroforez, immün fiksasyon elektroforez, kemik iliği aspirasyonu, direk kemik grafileri ve gerektiğinde kemik iliği biyopsisi kullanıldı. KLL hastalarında ise yine kan sayımı, biyokimyasal testler ,çevresel kan yayması, flowsitometrik inceleme gerekli hallerde ultrasonografi ve/veya tomografi ile görüntüleme, gerekli hallerde lenf nodu veya kemik iliği biyopsisi kullanıldı.

Hastaların tanıları, yaşı, cinsiyeti, varolan komorbid hastalıkları, öz geçmişinde tromboembolik olay varlığı, hastalığın başlangıç tarihi, daha önceden bir tedavi alıp almadığı, takibinde tedavi alıp almadığı, tedavi verilen hastalarda tedaviye cevabı gibi demografik bilgileri ve hastalığa ait özellikleri, hastalık evreleri, trombosit ve lökosit sayıları, hastalığın evresi, beta-2 mikroglobulin düzeyi, m protein yükü, eritrosit sedimentasyon hızı, C-reaktif protein düzeyi gibi parametrelerden tedavi öncesinde elde edilebilenleri hasta dosyalarından ve hastane otomasyonundan derlenerek kayıt altına alındı. Hastaların takip süreleri PHM hastalar için çalışmaya alınma tarihleri olarak alınırken KLL hastaları için ise tanı tarihi baz alınarak hesaplandı. Proresyona kadar geçen süre sadece tam remisyon elde edilen hastalarda hesaplandı.

Hastalardan tanı anında kemoterapi öncesinde trombin oluşum testi ve mikropartikül tayininde kullanılmak üzere aydınlatılmış onamları alındıktan sonra 2

adet 3'er cc tam kan örneği kubital bölgeden venöz ponksiyon ile alınarak sitratlı tüpe konuldu. Plazma örnekleri alındıktan sonra 30 dk içerisinde 10.000 rpm de 5 dk santrifüj edilerek -80 °C de çalışma yapılana kadar kaydedilerek saklandı.

Hastaların yanıt değerlendirmeleri KLL hastalarında uluslararası kronik lenfositik lösemi çalışma grubu (IWCLL) kriterlerine göre, PHM hastalarında ise uluslar arası myelom çalışma grubunun (IMWG) kriterlerine göre yapıldı.

3.1. Mikropartikül varlığının tayini

Bu çalışmada mikropartikül (prokoagulan fosfolipid) varlığının tayini kronometrik standardize yöntem ile yapılmıştır. Bunun için prokoagulan fosfolipid içeren STA-Procoag-PPL (Lot no:108661, Stago, Asnieres, Fransa) ticari kiti STA-R© (Stago, Asnieres, Fransa) cihazı kullanılmıştır. Bu test kalsiyum varlığında pıhtılaşma zamanının ölçümü üzerine oluşturulmuş bir sisteme sahiptir. Eşit hacimde test plazması ve fosfolipidden arındırılmış domuz plazması karıştırılır. Daha sonra FXa eklenerek pıhtılaşma zamanı sn cinsinden ölçülür. Elde edilen sonuçların yorumlanması için referans testler kullanılır.

Çalışmaya başlamadan 4 saat önce plazma örnekleri -80 °C 'den +4 °C'ye alınarak çözünmesi sağlandı. Aynı şartlarda kontrol plazma örnekleri hazırlandı. Kontrol sağlıklı grup kullanılarak elde edilen değerler referans olarak kullanıldı. Kitin kendisine ait kontrolleri kullanılarak testin geçerliliği teyit edildi. Test sonuçları saniye (sn) cinsinden ve oran olarak verildi. Kontrol gruptan elde edilen standart sapma ve ortalamalar hesaplanarak referans değerler belirlendi. Sonuçların yorumlanmasında saniye cinsinden sonuçlar ve oran cinsinden sonuçlar kullanıldı. Kontrol plazmalara göre daha kısa pıhtılaşma zamanına sahip örnekler (<1) prokoagulan fosfolipid miktarının artmış olduğu yani mikropartikül varlığının gösterildiği örnekler olarak kabul edildi.

3.2. Trombin oluşum testi (TGE)

Trombin oluşum testi (TGE) çalışma öncesinde toplanmış ve trombositlerden arındırılmış plazma (TAP) örnekleri ile çalışıldı. Çalışma için kalibre edilmiş otomatize trombografi (CAT, Netherlands) cihazı ve grafiklerin elde edilmesinde Trombinoscope

yazılım programı 3.0.0.29 (Netherlands) kullanıldı. 80 mikrolitre plazma ile birlikte 20 µl insan recombinant doku faktörü ve sentetik fosfolipid vezikülleri içeren karışım kuyucuklara pipetlendi. Reaksiyon 40 µl flurojenik substrat ve kalsiyum klorid karışımı eklenerek tetiklendi. Floresans Fluoroskan Ascent reader (Helsinki, Finland) okuyucu tarafından 15 sn'de bir 60 dk süresince ölçüldü. Elde edilen trombin jenerasyon eğrilerinde lag-zamanı, pik, eğri altında kalan alan (ETP), ttail (kuyruğun başlamasına kadar geçen süre) değerleri okunarak değerlendirmeye tabi tutuldu. Trombin oluşumu ve örneklerle özel kalibratörler her bir örnek için ayrı ayrı test edildi.

3.3. İstatistiksel analiz

Hastalardan elde edilen verilerin analizi SPSS (versiyon 20.0) programı kullanılarak değerlendirildi. Sürekli değişkenler için ortalamalar ortalama $\pm$ Standard sapma, kategorik değişkenler için ise frekans ve yüzde olarak verildi. Dağılımı normal olan değişkenlerin iki grup arasındaki karşılaştırmalarında student t testi kullanıldı. Kategorik değişkenler için ise ki-kare testi kullanıldı. Mikropartikül, peak, Lag-time, ETP, ttail, beta-2 mikroglobulin düzeyleri arasındaki korelasyon Spearman korelasyonu ile belirlendi. Mikropartikül, peak, Lag-time, ETP, ttail, beta-2 mikroglobulin düzeyleri ile hastaların yaşam süreleri arasındaki ilişkiyi saptamak için Kaplan Meier analizi kullanıldı. Düşük ve yüksek mikropatikül düzeyleri için sağ kalım sürelerinin farklı olup olmadığı log rank testi kullanılarak analiz edildi. P değeri 0.05'ten küçük olan test sonuçları istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hastalar ve özellikleri

Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı kliniği veya polikliniğinde Ekim 2010 ile Temmuz 2013 tarihleri arasında yapılan rutin tetkikler sonrasında Plazma Hücreli Myelom (PHM) veya Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) tanısı almış henüz kemoterapi almamış veya son 24 ay içerisinde mevcut hastalığı (KLL hastaları için) veya diğer bir kanser türü (Tüm hastalar için) nedeni ile kemoterapiye maruz kalmamış 40 PHM ve 30 KLL hastası ve bilinen sistemik hastalığı olmayan 26 sağlıklı kişi dahil edildi.

PHM tanısı ile çalışmaya dahil edilen 40 hastanın 28'i erkek (% 70), 12'si kadın (%30) idi. Bu hastaların yaş ortalaması 63.25 ± 11.86 (31-80) idi. Hastaların 2 tanesi (% 5) ISS evre 1, 15 tanesi (% 37.5)'i evre 2, 23 tanesi (%57.5) ise evre 3 idi. Hastaların 23 tanesinde (% 57.5) eşlik eden başka bir sistemik hastalık mevcuttu. Çalışma süresince veya öncesinde hastaların 13 tanesinde (%32.5) tromboembolik olay gözlemlendi. Hastaların tedavi sonrası takip süreleri ortalaması 22.75 ± 16.31 (1-42) ay olarak hesaplandı. Çalışma tamamlandığında hastaların 30'u (% 75) halen yaşamaktaydı. Çalışma süresince tüm hastalar kemoterapiye maruz kaldı. Hastaların 25 (% 67.5) tanesinde tam yanıt, 4 (% 10) tanesinde tama yakın yanıt, 4 (% 10) tanesinde kısmi yanıt tespit edilirken 7 (% 17.5) tanesinde progresif hastalık tespit edildi. Çalışma süresince tedaviye tam cevap veren hastalarda hastalıksız sağkalım süre (elde edilen tam yanıtın devam ettiği süre) ortalaması 18 ay olarak tespit edildi. Hastalara ait diğer laboratuvar parametreleri özet olarak Tablo 7 'de verilmiştir.

Tablo 7: Plazma hücreli myelom tanılı hastaların demografik verileri ve hastalığa ait parametreler.
ETP: Eğri altında kalan alan, Ttpeak: Pik Trombin oluşumuna kadar geçen süre, Lag Time: Enzimatik aktivitenin başlamasına kadar geçen süre, CRP: C-Reaktif protein, ESR: Eritrosit sedimentasyon hızı, PPL: Prokoagulan fosfolipid, ISS: Uluslar arası skorlama sistemi.

		Tanı: Plazma hücreli myelom		
		Sayı (%)	Ortalama	Standart sapma
Cinsiyet	Erkek	28 (70)		
	Kadın	12 (30)		
Hastalığın evresi (ISS Evreleme sistemine göre)	1	2(5)		
	2	15 (37.5)		
	3	23 (57.5)		
Tedaviye alınan cevap	Tam yanıt	25 (62.5)		
	Çok iyi kısmi yanıt	4 (10)		
	Kısmi yanıt	4 (10)		
	Stabil Hastalık	0		
	Progresyon gösteren hastalık	7 (17.5)		
Mortalite	Exitus	10 (25)		
	Yaşıyor	30 (75)		
Tromboembolik olay	Yok	27 (67.5)		
	Var	13 (32.5)		
Komorbid hastalıklar	Yok	17 (42.5)		
	Var	23 (57.5)		
Takip süresi (ay)			22.75	16.31
M Protein (gr/l)			23.40	16.01
Lag time (sn)			4.18	2.30
ETP (nM)			2228.92	793.59
Pik trombin seviyesi (nM)			388.61	167.22
Ttpik (sn)			6.93	3.27
Stail (sn)			24.23	5.33
PPL (sn)			35.81	16.18
Tam yanıt elde edilen hastalarda progresyona kadar geçen süre (ay)			17.06	14.01
Beta-2 mikroglobulin (mg/dl)			7.84	6.51
Trombosit sayısı (x 10³/ml)			219.93	106.56
CRP (mg/dl)			28.17	38.06
ESR (mm/h)			87.63	34.03

Kronik lenfositik lösemi tanısı ile çalışmaya dahil edilen 30 hastanın 20'si erkek (% 66.6), 10'u kadın (% 33.3) idi. Bu hastaların yaş ortalaması 67.5 ± 11.08 (35-81) idi. Rai evreleme sistemine göre hastalardan 8 (% 26.66) tanesi evre 0, 5 (%16.66) tanesi evre 1, 11 (% 36.66) tanesi evre 2, 2 tanesi (% 6.66) evre 3 ve 4 tanesi (%13.33) evre 4 idi. Hastaların 16 tanesinde (% 53.34) eşlik eden başka bir sistemik hastalık mevcut idi. Çalışma süresinde veya hasta anamnezinde KLL tanılı hastaların 10 tanesinde (% 33.33) tromboembolik olay varlığı tespit edildi. Hastaların ortalama hastalık süreleri 39.79 ± 39.02 (4-186) ay olarak hesaplandı. Çalışma tamamlandığında hastaların 27 'si (% 90.11) halen yaşamaktaydı. Çalışmaya dahil edilen 30 hastanın 13 (% 42.22) tanesi çalışma süresince tedavi endikasyonu oluşmadığından tedavisiz takip edildi. Tedavi endikasyonu olan ve kemoterapi alan 17 hastanın 8 (% 47) tanesinde tedaviye tam yanıt, 2 (% 11.7) tanesinde tama-yakın yanıt, 5 (%29.4) tanesinde stabil hastalık, 2 (% 11.7) tanesinde ise progresif hastalık tespit edildi. Çalışma sonunda tedavi verilen hastalarda hastalıksız sağkalım ortalama 32 ay olarak tespit edildi. Hastalara ait diğer parametreler geniş olarak Tablo 8 'de verilmiştir.

Tablo 8: Kronik lenfositik Lösemi tanılı hastaların demografik özellikleri ve hastalığa ait parametreler. ETP: Eğri altında kalan alan, Ttpeak: Pik Trombin oluşumuna kadar geçen süre, Lag Time: Enzimatik aktivitenin başlamasına kadar geçen süre,CRP: C-Reaktif protein, ESR: Eritrosit sedimentasyon hızı, PPL: Prokoagulan fosfolipid, ISS: Uluslar arası skrolama sistemi.

		Tanı:Kronik Lenfositik Lösemi		
		Sayı (%)	Ortalama	Standart sapma
Cinsiyet	Erkek	20 (66.6)		
	Kadın	10 (33.3)		
Hastalığın evresi (Rai evreleme sistemine göre)	0	8 (26.6)		
	1	5 (16.6)		
	2	11 (36.6)		
	3	2 (6.6)		
	4	4 (13.3)		
Tedaviye alınan cevap	Tedavisiz izlem	13 (43.3)		
	Tam yanıt	8(26.6)		
	Tama yakın yanıt	2(6.6)		
	Kısmi yanıt	0		
	Stabil Hastalık	5 (16.6)		
	Progresyon gösteren hastalık	2 (6.6)		
Mortalite	Exitus	3 (9.9)		
	Yaşıyor	27 (90.1)		
Tromboembolik olay	Yok	20 (66.6)		
	Var	10 (33.3)		
Komorbid hastalıklar	Yok	14 (46.6)		
	Var	16 (53.3)		
Takip süresi (ay)			39	39
M Protein (gr/dl)			9.09	4.90
Lag time (sn)			3.98	2.90
ETP (nM)			1757.89	707.49
Pik trombin seviyesi (nM)			331.26	130.03
Ttpik (sn)			7.40	3.94
Stail (sn)			22.40	7.98
PPL (sn)			45.13	31.74
Lenfosit doubling time (ay)			21.75	18.42
Progresyona kadar geçen süre (ay)			31.67	24.34
Beta-2 mikroglobulin (mg/dl)			6.21	4.55
Trombosit sayısı (x 10³/ml)			210.93	118.39
CRP (mg/dl)			10.77	14.744
ESR (mm/h)			25.90	32.44

Çalışmaya kontrol grubu olarak dahil edilen 26 sağlıklı bireyin 15'i erkek (% 57.69), 11'i kadın (% 42.31) idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması 47.42 ± 15.69 (21-80) idi. Çalışmaya alınan PHM ve KLL tanılı hastalarda mikropartikül tayini kontrol grubunun ölçülen PPL değerlerinin ortalama değerine oranlanarak hesaplandı. Oranı < 1 olan hastalarda mikropartikül varlığı artmış olarak kabul edilirken, oranı >1 olan hastalarda mikropartikül varlığı artmamış olarak kabul edildi.

PHM grubunda mikropartikül tayini için yapılan PPL testi ortalaması 35.80 ± 16.17 sn olarak ölçüldü. Trombin oluşum testi ile elde edilen parametrelerin ortalama değerleri; Lag time: 4.17 ± 2.29 dk, ETP: 2228.92 ± 793.59 , Peak değer: 388.60 ± 167.21 nm olarak ölçüldü.

Tablo 9: Plazma Hücreli Myelom (PHM) ve Kontrol grubunun Trombin oluşum testi (TGE) ve Mikropartikül test parametreleri açısından karşılaştırılması. ETP: Eğri altında kalan alan, Ttpeak: Pik Trombin oluşumuna kadar geçen süre, Lag Time: Enzimatik aktivitenin başlamasına kadar geçen süre, PPL: Prokoagulan fosfolipid.

Test parametresi	Kontrol ve PHM tanılı hastalar	N	Ortalama	Std. sapma	P değeri
LAG (dk)	Kontrol	26	3.1669	0.49226	0.000
	PHM	39	4.1779	2.29579	
ETP (nm)	Kontrol	24	2115.7917	528.09543	0.017
	PHM	39	2228.9231	793.59072	
PEAK (nm)	Kontrol	26	348.7377	123.74957	0.102
	PHM	39	388.6069	167.21834	
TTPEAK (sn)	Kontrol	26	6.9085	1.42600	0.003
	PHM	39	6.9267	3.27001	
STAİL (dk)	Kontrol	24	25.1667	4.63134	0.692
	PHM	39	24.2308	5.32848	
PPL (sn)	Kontrol	26	30.5538	9.12229	0.088
	PHM	40	35.8050	16.17889	
MİKRO PARTİKÜL ORANI					0.088
	PHM	40	1.16477	0.526314	

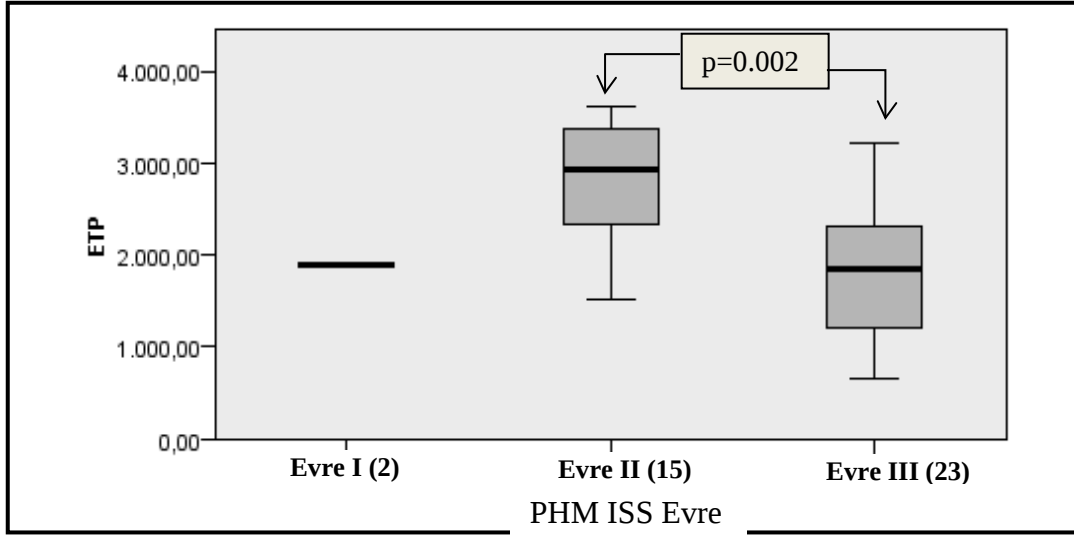
PHM tanısı ile çalışmaya dahil edilen 40 hastanın 23 tanesinde mikropartikül tayini için ölçülen PPL test süresinin kontrol grubunun ortalama değerine oranı 1'den büyük olarak tespit edildi (>1). Kalan 17 PHM tanılı hastada ise ölçülen PPL değerleri

kontrol grubunun PPL ortalamasının altında (<1) tespit edildi. Çalışma sonunda 40 PHM tanıılı hastadan 10 tanesinde mortalite gözlemlendi. Mortalite gözlenen 10 hastadan 8 tanesinde mikropartikül oranı > 1 olarak tespit edilirken, 2 tanesinde mikropartikül oranı < 1 olarak tespit edildi. Çalışma süresince PHM tanısı ile çalışmaya dahil edilen 40 hastadan 13 tanesinde tromboembolik morbidite gelişti. Tromboembolik morbidite gelişen 13 PHM tanıılı hastadan 9 tanesinde mikropartikül oranı > 1 olarak tespit edilirken, kalan 4 hastada mikropartikül oranı < 1 olarak tespit edildi. PHM tanıılı hastalardan tromboembolik morbidite gelişmeyen 27 hastanın 14 tanesinde mikropartikül oranı >1 tespit edilirken, 13 tanesinde mikropartikül oranı < 1 olarak tespit edildi.

PHM hastaları ile kontrol grubu arasında trombin generasyon testi parametreleri açısından yapılan karşılaştırmalarda PHM tanıılı hastalarda Lag-time 4.17 ± 2.29 dk, kontrol grubuna ait ortalama Lag-time ise 3.16 ± 0.49 dk olarak ölçüldü. PHM hastalarının Lag-time süresi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı uzun bulundu ($p=0.000$). PHM grubunun ETP değeri ise kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi ($p=0.017$). PHM grubunun TtPeak değerleri de istatistiksel olarak kontrol grubundan anlamlı uzun ($p=0.003$) tespit edildi. Trombin oluşum testlerine ait diğer parametreler için PHM ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi. PHM ve kontrol grubunun mikropartikül tayini ve TGE test parametreleri açısından karşılaştırmalarının özeti Tablo 9’ da verilmiştir.

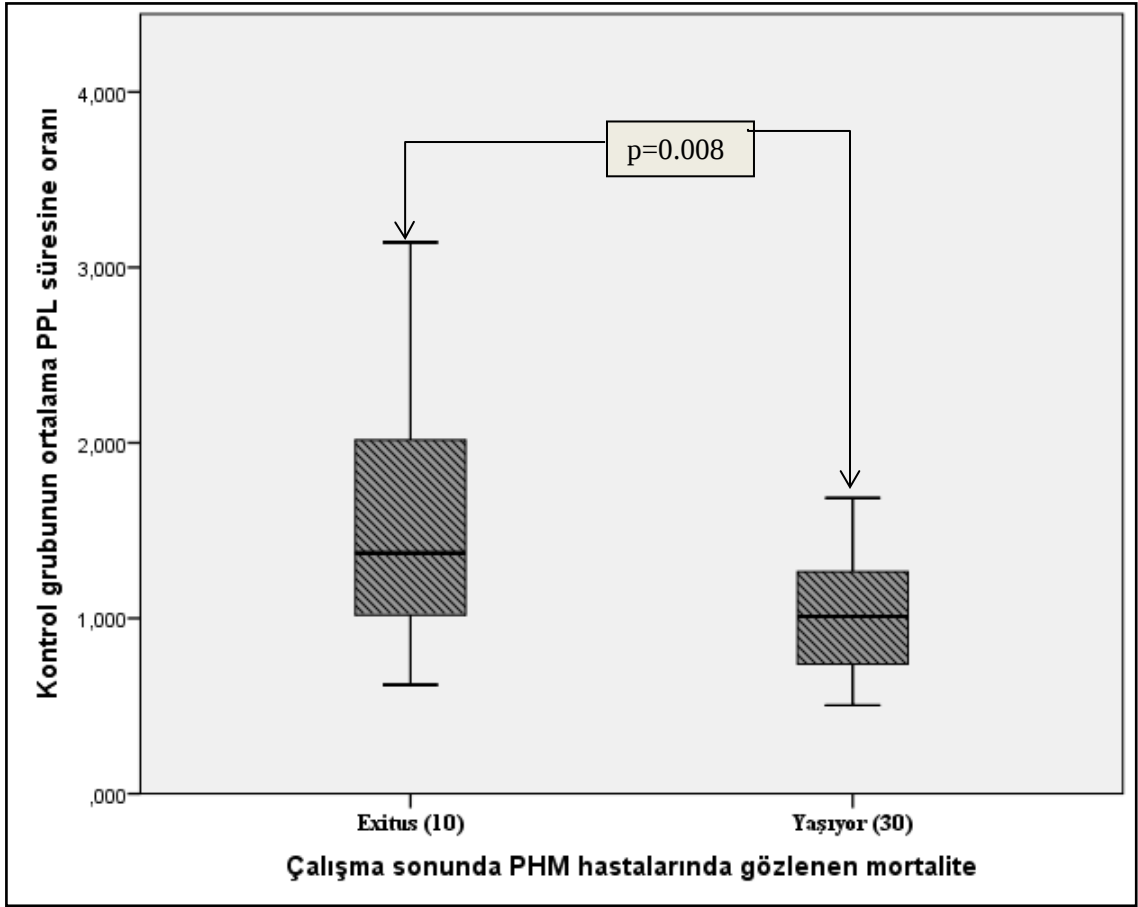
PHM tanıılı hasta grubunda bakılan diğer testlerden C-reaktif protein; 28.17 ± 38.62 , Eritrosit sedimentasyon hızı: 87.63 ± 34.03 mm/h, olarak tespit edildi.

PHM hastalarında ölçülen trombin oluşum testi parametreleri ve PHM’un ISS evresi ile ilişkisine bakıldığında gruplar arasında ETP açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu; ISS evre 3 PHM hastalarında ISS evre 1 ve 2 hastalara göre ETP değerinin daha düşük olduğu tespit edildi ($p=0.002$) (Şekil 2).



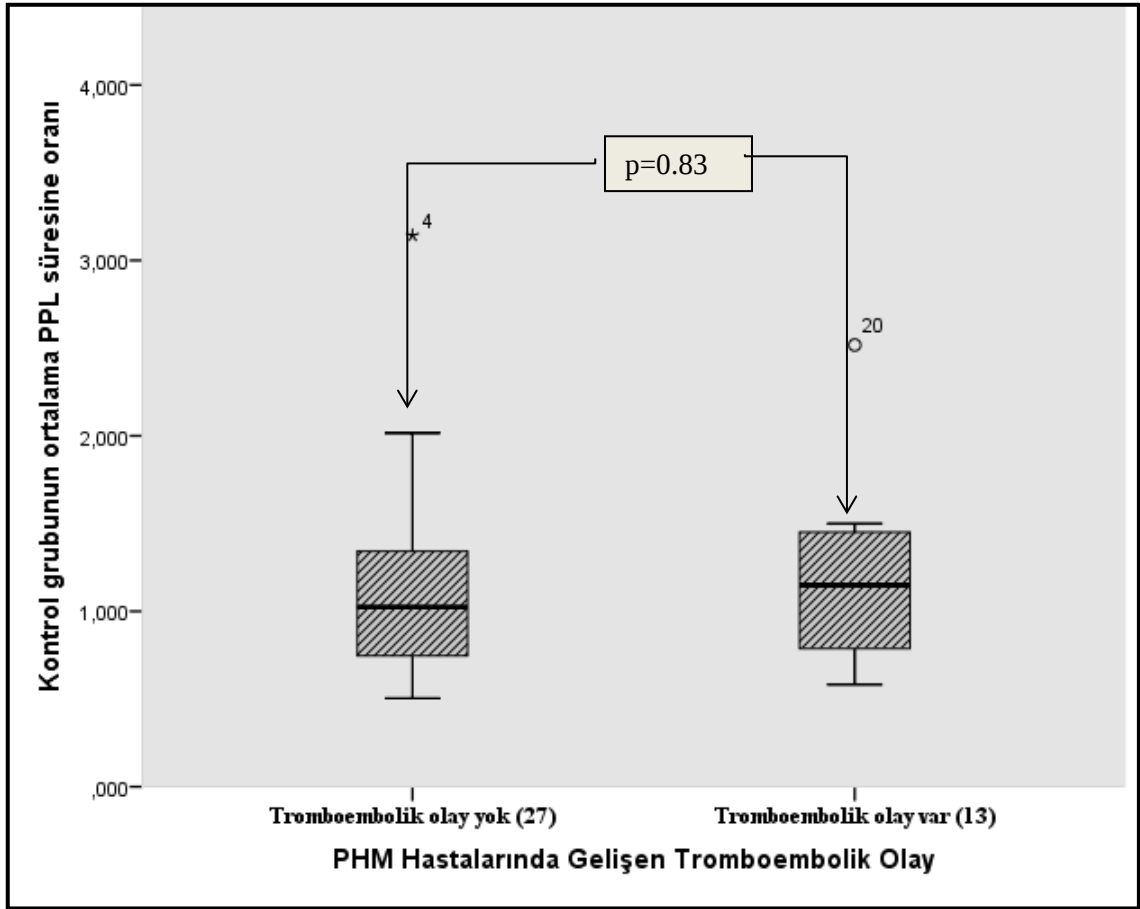
Şekil 2: Plazma Hücreli Myelom (PHM) hastalarının Uluslararası skorlama sistemi (ISS) evreleri ve Eğri altında kalan alan (ETP) değerleri arasındaki ilişki. Evre 3 tanılı hastalarda ETP değeri Evre 2 hastalara göre anlamlı düşük

PHM tanısı ile çalışmaya dahil edilen 40 hastadan 30'u çalışma tamamlandığında halen yaşamaktaydı. PHM tanılı 10 hastada (%25) çalışma süresince mortalite gözlemlendi. Çalışma süresince mortalite gözlenen PHM tanılı 10 hastadan 8 (% 80) tanesinde mikropartikül oranı >1 olarak tespit edildi, gerikalan mortalite gelişen 2 hastada ise mikropartikül oranı <1 olarak tespit edildi. Çalışma sonunda halen yaşayan 30 PHM tanılı hastanın ise 15 (% 50) tanesinde mikropartikül oranı >1 olarak tespit edilirken 15 tanesinde ise mikropartikül oranı < 1 olarak bulundu. Mikropartikül oranı mortalite gözlenen PHM tanılı hastalarda ortalama 1.190 ± 0.505 olarak hesaplandı. Mortalite gözlenmeyen PHM tanılı hastalarda mikropartikül oranının ortalaması ise 1.153 ± 0.545 olarak hesaplandı. PHM tanılı hastalardan mortalite gözlenenlerin PPL testi süre ortalaması mortalite gözlenen grupta 47.29 ± 24.59 sn, gözlenmeyenlerde 31.97 ± 10.18 sn olarak ölçüldü (Şekil 3). Mortalite gözlenen grupta PPL süresi gözlenmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı uzun bulundu ($p=0.008$) (Şekil 3). Mortalite gözlenen ve gözlemlenmeyen PHM hastaların analizlerinde trombin oluşum testi parametrelerinin herhangi biri için istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p>0.05$).



Şekil 3: Plazma Hücreli Myelom (PHM) hastalarında mortalite gelişen ve gelişmeyenlerin ortalama Prokoagulan fosfolipid (PPL) süresi

PHM tanılı hastalardan çalışma süresince tromboembolik olay gelişen ve gelişmeyen hastaların PPL süreleri karşılaştırıldı. Tromboembolik olay gelişen PHM tanılı 13 hastanın ortalama PPL süresi 36.58 ± 15.51 sn iken, tromboembolik olay gelişmeyen 27 hastanın ortalama PPL süresi 35.42 ± 16.76 sn olarak ölçüldü. Bu iki grup arasında PPL süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p=0.83$) (Şekil 4)



Şekil 4: Plazma Hücreli Myelom (PHM) Hastalarından Tromboembolik Olay Gelişen Ve Gelişmeyen Hastaların Ortalama Prokoagulan fosfolipid (PPL) Süreleri.

PHM tanısı ile takip edilen ve çalışma süresince mortalite gelişen hastalarda tromboembolik olay oranı ve tedaviye cevapsızlık oranı mortalite gelişmeyen hastalardan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.032$ ve $p=0.003$ sırası ile). Tromboembolik olaylar ve PHM'un ISS evresi arasındaki ilişkiye bakıldığında; evre 1 olarak çalışmaya alınan 2 hastada herhangi bir olay gözlemlenmezken, evre 2 olan 15 hastadan 2 tanesinde (% 13.3), evre 3 olarak çalışmaya alınan 23 hastadan 11 tanesinde (% 47.8) tromboembolik olay varlığı tespit edildi. PHM hastalarında artan ISS evresi ile birlikte tromboembolik olay görülme sıklığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı, ISS evresi ile tromboembolik olay arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki varlığı tespit edildi ($p=0.002$).

Tablo 10:Plazma Hücreli Myelom ISS (Uluslararası skorlama sistemi) Evresi ve hastalara ait çeşitli parametreler. ESR: Eritrosit sedimentasyon hızı, CRP: C-reaktif protein, TTP: Progresyona kadar geçen süre, TEO: Tromboembolik olay, PLT: Trombosit sayısı. ETP: Eğri altında kalan alan, Ttpeak: Pik Trombin oluşumuna kadar geçen süre, Lag Time: Enzimatik aktivitenin başlamasına kadar geçen süre, PPL: Prokoagulan fosfolipid, ISS: Uluslar arası skorlama sistemi.

PHM ISS Evresi							
		Evre I		Evre II		Evre III	
		Mean	N	Mean	N	Mean	N
ESR (mm/h)		120		88		86	
CRP (mg/dl)		4.35		20.37		34.65	
Takip süresi (ay)		42		24		21	
TTP (ay)		18		18		18	
TEO	Yok		1		14		12
	Var		0		2		11
LAG (dk)		3.29		3.45		4.69	
ETP (nm)		1882.00		2794.53		1875.13	
PEAK (nm)		351.63		457.33		345.39	
PPL (sn)		26.90		33.37		37.89	
PLT (x10 ³)		208		256		194	

PHM hastaları tanı anındaki evreleri ile çeşitli parametreler arasında istatistiksel ilişki olup olmadığı araştırıldı (Tablo10). PHM tanılı hastaların çalışmaya alındıkları dönemdeki hastalık evresi ile tedaviye alınan cevap arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon olduğu, artan evrelerde tedavi yanıt kalitesinin daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0.001$). Yine PHM tanılı hastalarda ISS evresi ile takip süresince gelişen mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu, artan evrelerde mortaliteninde arttığı tespit edildi ($p<0.001$). PHM hastalarının çalışmaya alındıkları dönemdeki ISS evresi ile takipte gelişen tromboembolik olay varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon olduğu, artan evrelerde gelişen tromboembolik olay sıklığının da arttığı tespit edildi ($p<0.001$). PHM'un ISS evresi ile ilişkisine bakıldığında gruplar arasında ETP açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu; ISS evre 3 PHM hastalarında ISS evre 1 ve 2 hastalara göre ETP değerinin daha düşük olduğu tespit edildi ($p=0.002$). PHM hastaların ISS evreleri ile çalışmaya alındıkları döneme ait C-reaktif protein düzeyi ($p=0.07$), eritrosit sedimentasyon hızı

(p=0.165), trombosit sayısı (p=0.335), olaysız sağkalım süresi (p=0.83), Diğer TGA test parametreleri ve mikropartikül varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi (p>0.05).

PHM tanılı hastalarda çalışma süresince verilen kemoterapiye alınan cevap oranı ile çalışmaya alındıkları andaki hastalığın evresi (p<0.001), çalışma süresince gözlenen mortalite (p<0.001), çalışma süresince gözlenen tromboembolik olay varlığı (p=0.008) ve tedavi sonrası hastalıksız sağkalım süresi (p=0.008) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu tespit edildi

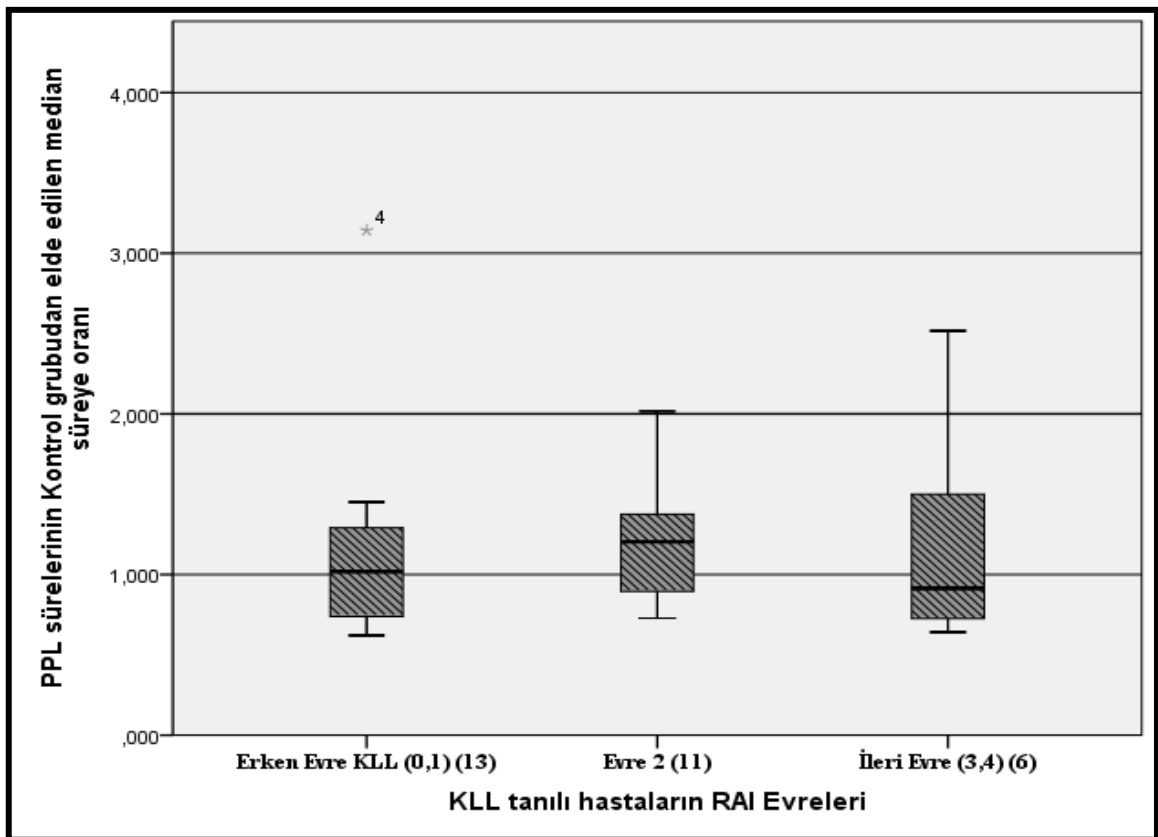
Çalışmaya dahil edilen 30 KLL tanılı hasta ve 26 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubu arasında trombin oluşum testi ve ölçülen PPL test sonuçları karşılaştırıldı (Tablo 11). KLL hastalarının ölçülen Lag-time süresi kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı uzun tespit edildi (p=0.005). Peak (maksimum konsantrasyonda trombin oluşumuna kadar geçen süre) KLL tanılı hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak uzun tespit edildi (p=0.001). PPL süresi KLL tanılı hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı uzun tespit edildi (p=0.009).

Tablo 11: KLL tanılı hasta grubu ve Kontrol grubu'nun TGE ve Mikropartikül oranlarının karşılaştırılması ETP: Eğri altında kalan alan, Ttpeak: Pik Trombin oluşumuna kadar geçen süre, Lag Time: Enzimatik aktivitenin başlamasına kadar geçen süre, PPL: Prokoagulan fosfolipid.					
	Tanı	N	Mean	Std. Deviation	p
LAG	Kll	30	3.9787	2.89961	0.005
	Kontrol	26	3.1669	0.49226	
ETP	Kll	30	1757.8850	707.48975	0.149
	Kontrol	24	2115.7917	528.09543	
PEAK	Kll	30	331.2623	130.02921	0.731
	Kontrol	26	348.7377	123.74957	
TTPEAK	Kll	30	7.4043	3.94484	0.001
	Kontrol	26	6.9085	1.42600	
STAİL	Kll	30	22.4000	7.97669	0.083
	Kontrol	24	25.1667	4.63134	
PPL	Kll	30	45.1300	31.74450	0.009
	Kontrol	26	30.5538	9.12229	
MİKROPARTİKÜL ORANI	Kll	30	1.46812	1.032677	0.009
	Kontrol	26	1.46812	1.032677	

Kronik lenfositik lösemi tanılı hastalarda çalışma süresince gözlenen mortalite ile hastanın çalışmaya alındığı dönemdeki evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu (p=0.002), artan evre ile mortaliteninde arttığı tespit edildi. Yine

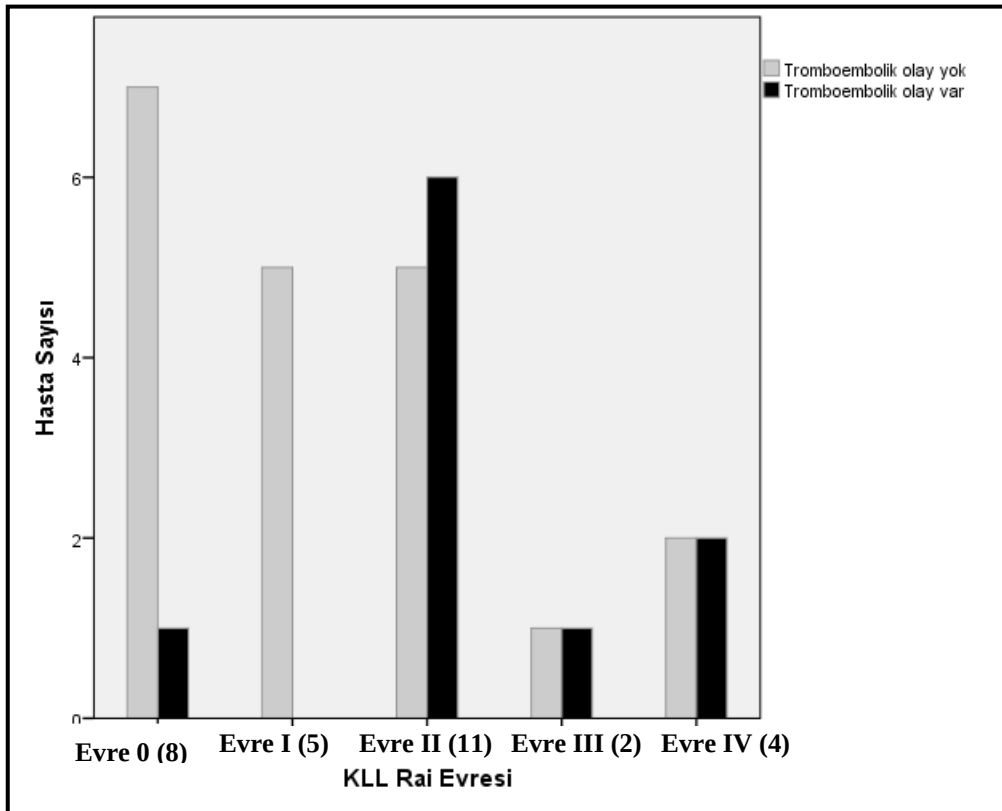
hastaların kemoterapiye alınan cevap ile hastanın çalışmaya alındığı döneme ait evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu tespit edildi ($p<0.001$), İleri evre hastaların kemoterapiye cevap kalitesinin daha kötü olduğu tespit edildi. Hastalarda çalışma süresince gelişen tromboembolik morbidite ile mortalite arasında da istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu, tromboembolik morbidite gelişen hastalarda mortalitenin daha yüksek olduğu tespit edildi ($p=0.002$).

Çalışmaya dahil edilen 30 KLL tanılı hastanın 3 tanesinde çalışma süresinde mortalite gözlemlendi (% 10). Çalışmaya dahil edilen 30 KLL tanılı hastanın 21 (% 70) tanesinde mikropartikül oranı > 1 olarak tespit edilirken 9 tanesinde mikropartikül oranı <1 olarak bulundu. Mortalite gözlenen 3 hastanın mikropartikül oranı ortalaması 1.410 ± 0.447 olarak tespit edilmiştir. Mortalite gelişmeyen 27 KLL tanılı hastanın ortalama mikropartikül oranı ise 1.475 ± 1.083 olarak hesaplandı. KLL tanısı ile çalışmaya dahil edilen hastaların çalışmaya dahil edildikleri dönemdeki evreleri ile PPL süreleri (sn) arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Şekil 5)



Şekil 5: KLL (Kronik Lenfositik Lösemi) tanılı hastaların Rai Evresi ve Mikropartikül oranı

KLL tanısı ile çalışmaya dahil edilen toplam 30 hastanın 10 tanesinde tromboembolik olay varlığı tespit edildi. Tromboembolik olaylar tedavisiz takip edilen (Rai evre 0 ve 1) 13 hastadan 1 tanesinde (% 7.7) tespit edilirken, 11 evre 2 tanılı hastanın 6 (% 54.5) tanesinde ve ileri evre (Rai evre 3 ve 4) tanılı 6 hastanın 3 tanesinde (% 50) tromboembolik olay varlığı tespit edildi. Tromboembolik olay sıklığının KLL evresi ile istatistiksel açıdan anlamlı olarak ilişki gösterdiği artan evre ile birlikte tromboembolik olay sıklığında arttığı tespit edildi ($p=0.033$) (Şekil 6). Tromboembolik olay gelişen 10 KLL tanılı hastanın 6 (% 60) tanesinde mikropartikül oranı > 1 olarak tespit edilirken, tromboembolik olay gelişmeyen 20 hastanın 11 (% 55) tanesinde mikropartikül oranı > 1 olarak tespit edildi. Tromboembolik olay gözlenen ve gözlenmeyen KLL hastalarının yaş, cinsiyet, eşlik eden hastalık ve trombin oluşum testi ile elde edilen parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$).



Şekil 6: Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) tanılı hastaların Rai Evresi ve Tromboembolik olay gelişen Hasta sayısı

KLL tanılı hastalarından sadece bir tanesinde çalışma süresince mortalite gözlemlendi. Bu hasta tromboembolik morbidite gözlenen hastalar arasında idi.

Tromboembolik olay gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında yapılan karşılaştırmada komorbid hastalık varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p=0.59$). Tromboembolik olay gözlenen 10 hastadan 6 tanesinde eşlik eden hastalık tespit edilirken, Tromboembolik olay gözlenmeyen 20 hastadan sadece 11 tanesinde eşlik eden başka bir sistemik hastalık vardı.

KLL tanılı hastalarda çalışma süresince tespit edilen tromboembolik olaylar ile kemoterapiye alınan cevap arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon olduğu tespit edildi ($p=0.008$). Kemoterapiye yanıtı daha kaliteli olan grupta tromboembolik olay gelişme sıklığının kemoterapiye yanıtı kötü olan hastalardan daha düşük olduğu tespit edildi.

KLL tanılı hastalardan tromboembolik gelişen ve gelişmeyen gruplarda ölçülen TGE test parametreleri ve PPL süreleri açısından karşılaştırıldı. Tromboembolik morbidite gözlenen grupta ölçülen Lag-time 3.44 ± 1.26 dk, iken tromboembolik morbidite gelişmeyen 20 KLL tanılı hastanın ölçülen ortalama Lag-time 4.44 ± 2.37 dk idi. Tromboembolik olay gözlenen KLL tanılı hastaların ortalama Lag-time değeri gelişmeyenlerden daha uzun olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.1$).

Tromboembolik morbidite gelişen KLL tanılı hastaların ortalama ETP değeri 1543.00 ± 695.49 nm, iken tromboembolik morbidite gelişmeyen KLL tanılı hastaların ortalama ETP değeri 1865.32 ± 705.97 nm olarak tespit edildi. Tromboembolik morbidite gelişen hastaların ortalama ETP değeri tromboembolik morbidite gözlenen KLL tanılı hastalardan daha yüksek tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.44$).

KLL tanılı hastalardan tromboembolik morbidite gelişenlerde ölçülen ortalama Peak değer 448.26 ± 185.27 nm olarak tespit edilirken tromboembolik morbidite gelişmeyen KLL tanılı hastaların ortalama Peak değeri 375.16 ± 164.50 nm olarak ölçüldü. Tromboembolik morbidite gelişen KLL tanılı hastalarda ölçülen Peak değer ortalaması gelişmeyenlerden daha yüksek iken istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.29$).

Çalışmaya dahil edilen KLL tanılı hastalardan tromboembolik morbidite gelişenlerde ölçülen ortalama mikropartikül oranı 1.922 ± 1.400 olarak hesaplanırken tromboembolik morbidite gelişmeyen KLL tanılı hastalarda ortalama mikropartikül oranı 1.241 ± 0.733 olarak hesaplandı. Tromboembolik morbidite gelişen KLL tanılı hastalarda ölçülen ortalama PPL süresi 38.82 ± 16.49 sn iken, tromboembolik morbidite gelişmeyen KLL tanılı hastaların ortalama PPL süresi 35.48 ± 15.18 sn olarak ölçüldü. Tromboembolik olay gözlenen KLL tanılı hastalarda ölçülen ortalama PPL süresi tromboembolik olay gelişmeyenlerden daha uzun olarak ölçülmesine rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.62$),

Çalışmaya dahil edilen 70 hasta dan 23 (% 32.9) tanesinde çalışma süresince veya öncesinde venöz tromboz, pulmoner emboli, koroner arter hastalığı, myokardial infarktüs, serebrovasküler trombus, ani ölüm gibi tromboembolik olayların varlığı tespit edildi.

Plazma hücreli myelom tanılı hastaların ölçülen PPL test süreleri ortalaması 35.80 ± 16.17 sn iken KLL hastalarında bu süre 45.13 ± 31.74 sn olarak saptandı. Kontrol grubunda ise PPL süresi 30.55 ± 9.12 sn olarak bulundu. Ortalama mikropartikül oranı PHM tanılı hastalarda 1.164 ± 0.526 , KLL tanılı hastalarda ise 1.468 ± 1.032 olarak hesaplandı. KLL tanılı hastalarda ölçülen mikropartikül oranı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı uzun tespit edildi ($p=0.009$). KLL tanılı hastalar ile PHM tanılı hastaların karşılaştırılmasında KLL tanılı hastaların mikropartikül oranı istatistiksel açıdan önemli olarak PHM hastalarına göre uzun tespit edildi ($p=0.043$). PHM tanılı hastalarda ölçülen ortalama mikropartikül oranı kontrol grubundan yüksek bulundu ancak tespit edilen bu fark istatistiksel olarak anlamlı olacak kadar yüksek değildi ($p=0.088$). Kontrol grubu ile PHM ve KLL tanılı hastaların tümünün oluşturduğu hasta grubu arasında yapılan karşılaştırmada mikropartikül oranı hastalarda artmış olarak tespit edilmiş olsa da bu artış istatistiksel açıdan anlamlı olacak kadar yüksek değildi (30.55 ± 9.12 sn, 39.80 ± 24.35 sn sırasıyla) ($p=0.056$)

Trombin jenerasyon testi ile elde edilen verilerde; Lag-zamanı olarak verilen ve pıhtılaşmanın başlamasına kadar geçen süre olarak kabul edilen süre kontrol grubunda 3.16 ± 0.49 dk olarak ölçülürken hasta gruplarında bu süre 4.09 ± 2.55 dk olarak

ölçüldü. Kontrol grubunda Lag-time hastalara göre anlamlı olarak daha kısa idi ($p<0.001$). PHM tanılı hastalar ile kontrol grubu aralarında karşılaştırıldığında PHM tanılı hastaların ortalama Lag-time değeri 4.17 ± 2.29 dk olarak tespit edildi. PHM tanılı hastaların Lag-time değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı uzun bulundu ($p<0.001$). KLL tanılı hastaların ortalama Lag-time değeri 3.97 ± 2.89 dk olarak ölçüldü ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı uzun idi ($p=0.005$). PHM ve KLL tanılı hastaların lag-time açısından yapılan karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p>0.05$). Kontrol grubu ile KLL ve PHM tanılı hastaların TGE ve mikropartikül ölçümleri açısından yapılan karşılaştırmalarının özeti Tablo 12’de verilmiştir.

Eğri altında kalan alan olan ve plazmadaki potansiyel pıhtılaşma kapasitesi olarak kabul edilen ETP değerlerinin karşılaştırılmasında kontrol grubunda hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek ETP değerleri tespit edildi (2115.79 ± 528.09 nm, 2024.12 ± 787.86 nm sırasıyla $p=0.026$). PHM ve KLL tanılı hasta gruplarının kendi aralarında yapılan analizde ise PHM tanılı hastalarda ölçülen ETP değeri istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi (2228.92 ± 793.59 nm, 1757.88 ± 707.48 nm sırasıyla, $p=0.35$).

Tablo 12: Kontrol grubu ile hastaların PPL ve TGA sonuçlarının karşılaştırılması. ETP: Eğri altında kalan alan, Ttpeak: Pik Trombin oluşumuna kadar geçen süre, Lag Time: Enzimatik aktivitenin başlamasına kadar geçen süre, PPL: Prokoagulan fosfolipid.

Test edilen parametre		N	Ortalama	Std. sapma	P değeri
Lag-time (sn)	Kontrol	26	3.1669	0.49226	$p<0.001$
	Hastalar	69	4.0913	2.55752	
ETP (nM)	Kontrol	24	2115.7917	528.09543	$p=0.026$
	Hastalar	69	2024.1239	787.86614	
Pik (nM)	Kontrol	26	348.7377	123.74957	$p=0.21$
	Hastalar	69	363.6745	153.80637	
Ttpik (sn)	Kontrol	26	6.9085	1.42600	$p=0.001$
	Hastalar	69	7.1343	3.55935	
Stail (sn)	Kontrol	24	25.1667	4.63134	$p=0.22$
	Hastalar	69	23.4348	6.62100	
PPL (sn)	Kontrol	26	30.5538	9.12229	$p=0.056$
	Hastalar	70	39.8014	24.35333	

Elde edilen trombin jenerasyon eğrisinin pik yükseklikleri açısından gruplar karşılaştırıldı. Kontrol grubu ortalama pik değeri 348.73 ± 123.74 nm, PHM tanılı hastaların ortalama pik değeri 388.60 ± 167.21 nm, KLL tanılı hastaların pik değeri 331.26 ± 130.02 nm olarak hesaplandı. Hastalar ve kontrol grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemediği ($p=0.21$) gibi PHM ve KLL grupları arasında da pik yükseklik açısından anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p=0.16$).

TGA grafiğinde pik düzey elde edilene kadar geçen süreler hesaplandı ve tpeak olarak adlandırıldı. Elde edilen sürelerin ortalamaları kontrol grubunda 6.908 ± 1.126 dk, PHM hastalarında 6.926 ± 3.270 dk, KLL hastalarında ise 7.404 ± 3.944 dk olarak tespit edildi. Yapılan istatistiksel analizde hasta grubunda tpeak değeri kontrol grubuna göre anlamlı olarak uzun tespit edildi ($p=0.001$). Bu anlamlılık kontrol grubu ile KLL ve PHM hasta gruplarının ayrı ayrı karşılaştırılmasında da devam ediyordu ($p=0.003$, $p=0.001$). KLL ve PHM hasta gruplarının kendi aralarında yapılan karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p=0.39$).

TGE grafiğinde pıhtılaşma aktivitesinin sona erdiği yer olarak kabul edilen kuyruk başlangıcı (stail) süreleri kontrol grubunda 25.16 ± 4.63 dk, KLL tanılı hasta grubunda 22.40 ± 7.97 dk, PHM tanılı hasta grubunda ise 24.23 ± 5.32 dk olarak tespit edildi. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda stail süreleri açısından kontrol grubu ile hasta grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p=0.22$). Hasta gruplarının kendi aralarında yapılan karşılaştırmada da PHM ve KLL tanılı hasta grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p=0.09$).

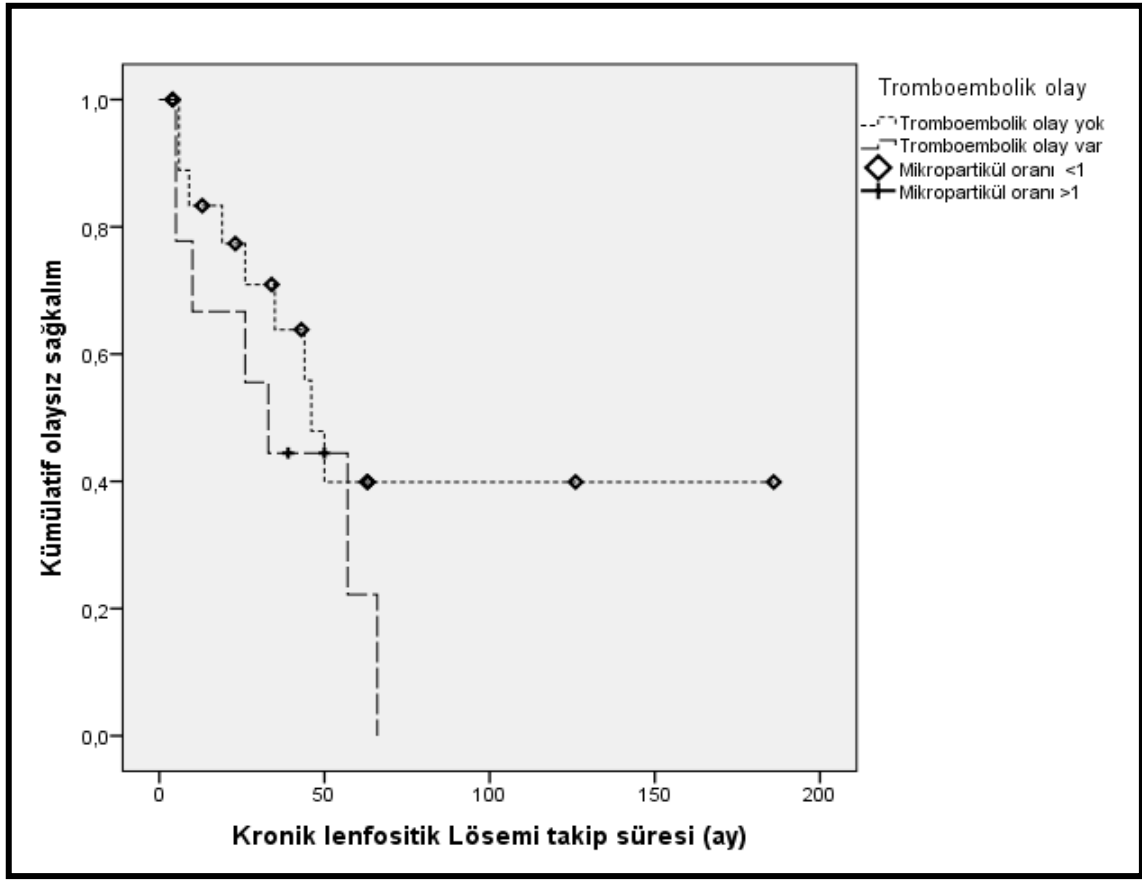
PHM tanılı hastaların çalışma başlangıcındaki beta-2 mikroglobulin düzeyleri ile, tedavi ile elde edilen cevap arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon olduğu, başlangıç beta-2 mikroglobulin düzeyi yüksek olanlarda elde edilen yanıt kalitesinin daha düşük olduğu tespit edildi ($p=0.004$). Yine PHM hastalarının çalışma başlangıcındaki beta-2 mikroglobulin düzeyleri ile eşlik eden hastalık varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu, eşlik eden hastalığı bulunan PHM hastalarının tanı anındaki beta-2 mikroglobulin düzeylerinin eşlik eden hastalığı bulunmayan hastalardan istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu tespit edildi (8.94 ± 6.87 gr/dl, 4.87 ± 2.70 gr/dl sırası ile) ($p=0.003$).

Kronik lenfositik lösemi tanılı hastalarda takip süresince gözlenen olaysız sağkalım ile mikropartikül oranı arasındaki ilişki şekil 7’ de gösterilmiştir. Mikropartikül oranı >1 olan KLL tanılı hastalarda olaysız sağkalım süresi (21.75 ± 12.92 ay) ve genel sağkalım süresi (25.56 ± 24.68 ay) olarak hesaplanırken, Mikropartikül oranı <1 olan hastalarda olaysız sağkalım (35.27 ± 26.94 ay) ve genel sağkalım (44.29 ± 42.84 ay) olarak hesaplandı. Çalışmaya dahil edilen KLL tanılı hastalardan tromboembolik olay gözlenen hastaların progresyona kadar geçen süre ve genel sağkalım süreleri daha kısa olarak tespit edilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı ilişki varlığı tespit edilemedi ($p>0.05$).

KLL ve PHM tanılı hastaların kendi aralarında yapılan karşılaştırmalar Tablo 13’de özetlenmiştir.

Tablo 13: Kronik lenfositik lösemi (KLL) ve Plazma Hücreli Myelom (PHM) tanılı hastaların kendi aralarında karşılaştırılması. ETP: Eğri altında kalan alan, Ttpeak: Pik Trombin oluşumuna kadar geçen süre, Lag Time: Enzimatik aktivitenin başlamasına kadar geçen süre, CRP: C-Reaktif protein, ESR: Eritrosit sedimentasyon hızı, PPL: Prokoagulan fosfolipid,

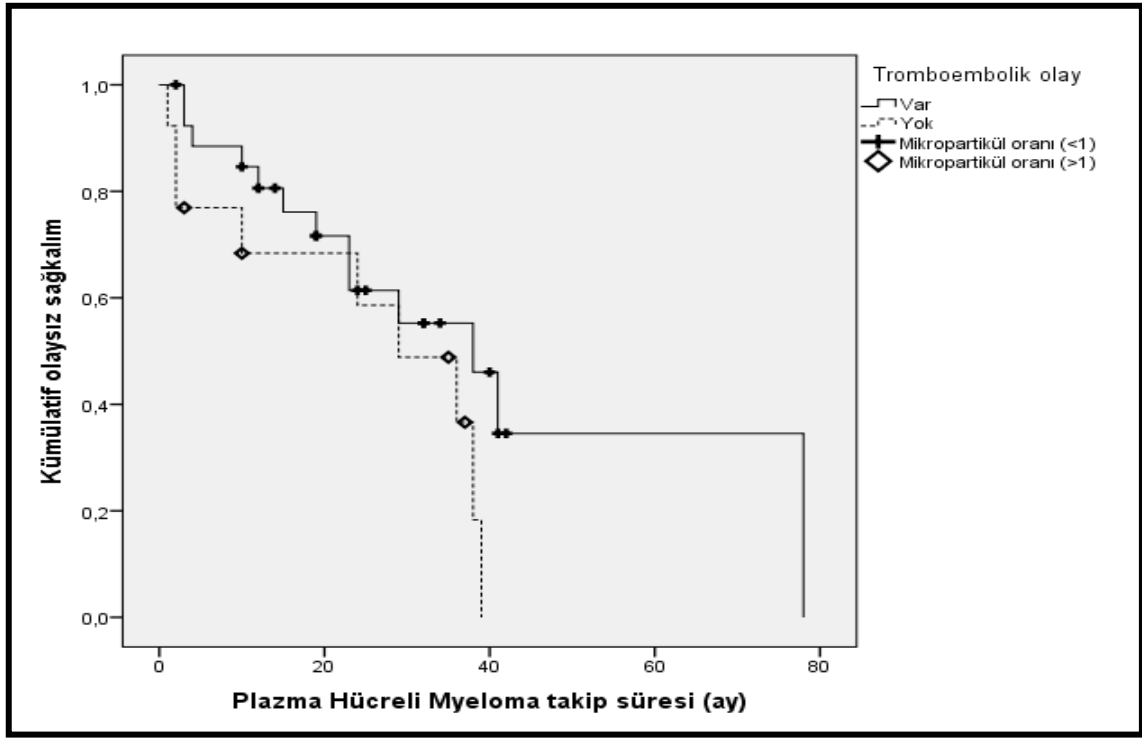
Test parametresi	Hasta grubu	N	Ortalama	Std. Sapma	p değeri
Lag-time (sn)	PHM	39	4.1779	2.29579	p>0.05
	KLL	30	3.9787	2.89961	
ETP (nM)	PHM	39	2228.9231	793.59072	p=0.031
	KLL	30	1757.8850	707.48975	
Pik (nM)	PHM	39	388.6069	167.21834	p>0.05
	KLL	30	331.2623	130.02921	
Ttpik (sn)	PHM	39	6.9267	3.27001	p>0.05
	KLL	30	7.4043	3.94484	
Stail (sn)	PHM	39	24.2308	5.32848	p>0.05
	KLL	30	22.4000	7.97669	
PPL (sn)	PHM	40	35.8050	16.17889	p=0.043
	KLL	30	45.1300	31.74450	
Yaş (yıl)	PHM	40	63.25	11.864	p>0.05
	KLL	30	67.50	11.082	
CRP (mg/dl)	PHM	40	28.1795	38.62962	p<0.001
	KLL	30	10.7730	14.74991	
ESR (mm/h)	PHM	40	87.63	34.034	P<0.001
	KLL	30	25.90	32.446	
Trombosit sayısı (x10³/ml)	PHM	40	219.9250	106.56679	p>0.05
	KLL	30	210.9333	118.39965	
Beta-2 mikroglobulin (mg/dl)	PHM	40	7.8370	6.51997	p=0.068
	KLL	30	6.2087	4.55023	
Mortalite	PHM	40	0.75	0.439	p=0.001
	KLL	30	0.90	0.305	
Tromboembolik morbidite	PHM	40	0.33	0.474	p>0.05
	KLL	30	0.33	0.479	
Takip süresi (ay)	PHM	40	22.75	16.311	
	KLL	30	38.67	38.865	
Komorbid hastalık varlığı	PHM	40	0.58	0.501	
	KLL	30	0.53	0.507	



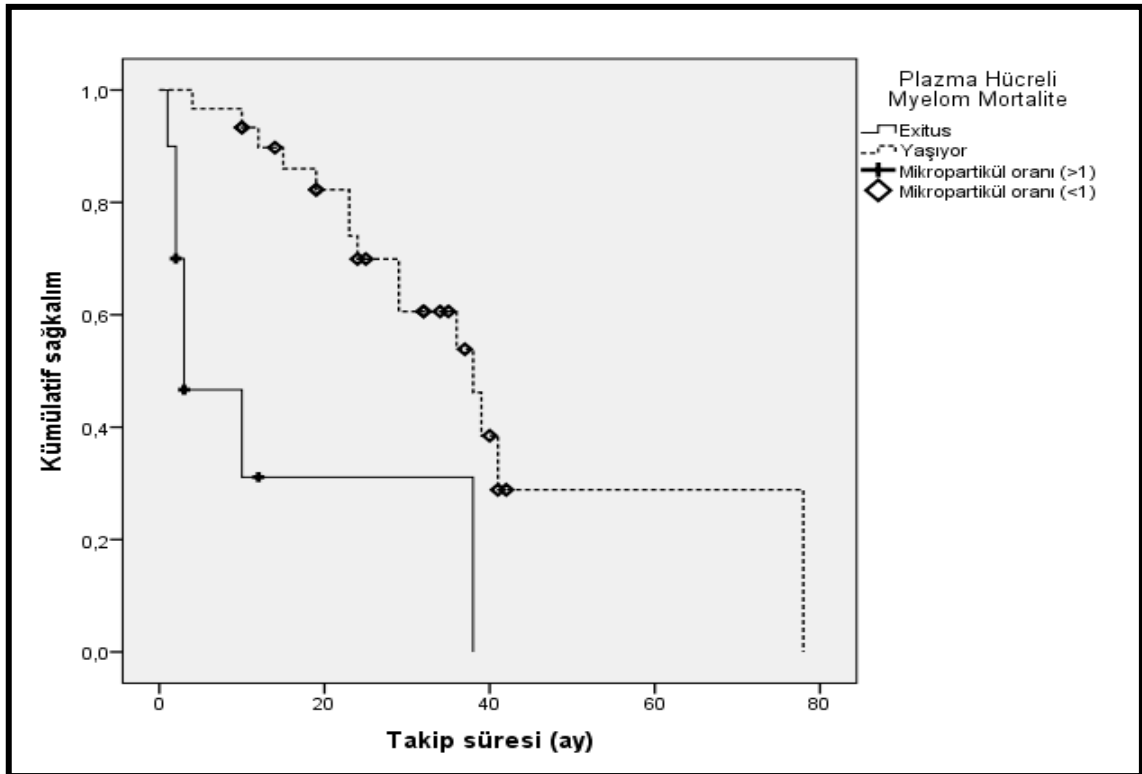
Şekil 7:Kronik lenfositik Lösemi tanılı hastaların takibide olaysız sağkalım ve mikropartikül varlığı arasındaki ilişki

Mikropartikül tayini için yapılan PPL ölçümü ile TGE testinin tüm parametreleri arasında istatistiksel açıdan yüksek anlamlı bir korelasyon varlığı tespit edildi (Lag time; $p < 0.001$, ETP; $p = 0.006$, Pik; $p = 0.002$, ttpik; $p < 0.001$, stail; $p < 0.001$). PPL ile eritrosit sedimentasyon hızı ($p = 0.041$) ve trombosit sayısı ($p = 0.04$) arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu tespit edildi.

PHM tanısı ile çalışmaya dahil edilen hastaların takibinde elde edilen olaysız sağkalım ve kümülatif genel sağkalım ile mikropartikül oranı arasındaki ilişki şekil 8 ve şekil 9’da verilmiştir. PHM tanılı hastalarda mikropartikül oranı >1 olan grupta mikropartikül oranı <1 olan gruba göre genel sağkalım süresi daha kısa olarak tespit edildi (20.91 ± 18.71 ve 25.24 ± 12.47 ay).



Şekil 8: Plazma Hücreli Myelom tanılı hastalarda olaysız sağkalım ve mikropartikül oranı arasındaki ilişki



Şekil 9: Plazma Hücreli Myelom tanılı hastalarda genel sağkalım ve mikropartikül oranı arasındaki ilişki

4.TARTIŞMA

Trouseau'nun 1865 yılında malignitesi olan bir hastada migratuar tromboflebit ile ilgili bildirisinden beri kanser ve vasküler tromboz arasındaki ilişki bilinmektedir. Son yıllarda ise gelişen tanısal testler ve laboratuvar tekniklerin kullanımı ile kanser ve tromboz arasındaki nedensellik ilişkisi daha bir sorgulanır ve anlaşılır hale gelmiştir. Kanser hastalarındaki artmış tromboz riskinin yapılan çalışmalarda hastalığın evresi, tümör yükü, uzamış hastane yatış süresi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (32). Bunun yanı sıra kanserin tipinin de tromboz riskinde etkili olduğu; özellikle pankreas, karaciğer, beyin kanseri gibi solid tümörlerde ve multiple myelomda bu riskin diğer kanser türlerine göre daha da arttığını destekleyen deneysel ve toplum bazlı kohort çalışmaları bulunmaktadır (33).

Toplum bazlı çalışmalarda kanser hastalarının topluma göre 4-7 kat artmış Venöz Tromboemboli (VTE) riski taşıdığı belirtilmiştir. Kanser ile ilişkili tromboz oranı yapılan yayınlarda % 0.6 ile % 18 arasında değişmektedir. Bu geniş aralık çalışmalara dahil edilen hasta gruplarının farklılığından, çalışmalardaki takip sürelerinden, tromboembolik olayın tanımındaki farklılıklardan ve aktif veya pasif değerlendirmelerden kaynaklanmaktadır. Gerçek oranların çok daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir. Bunu destekleyen bulgu otopsi serilerindeki tromboembolik olay oranının % 50 'leri aşmasıdır (34). 1874 kanser hastasının dahil edildiği retrospektif bir çalışmada VTE oranı % 10.4 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada VTE açısından tespit edilen risk faktörleri arasında ileri yaş, etnik köken (Kafkas ırkı), obezite, kanser tipi (karaciğer ve pankreas kanseri), ileri evre (metastatik) hastalık, cerrahi girişim, tanı öncesi 3 ve sonrası 6 aylık dönem gibi (32). Bizim çalışmamızda da tromboembolik olay oranı oldukça yüksek bulundu. Tromboembolik olay ile ileri yaş, eşlik eden komorbid hastalık ve hastalığın evresi arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişkinin varlığı tespit edildi.

Venöz tromboembolizm (VTE) literatürde malignitelere ait bir komplikasyon olarak kabul edilmekte ve geniş olarak incelenmektedir. VTE oluşumu ile ilişkili olduğu gösterilmiş olan faktörler arasında; tümörün indüklediği hiperkoagulabilite, tümör tarafından oluşturulan vasküler hasar, immobilizasyon nedeni ile ortaya çıkan venöz

staz yer almaktadır (35). VTE'nin kanserli hastalarda meydana gelme riski ve bu durumun zaman ile ilişkisini araştırmak amacıyla sağlıklı insanlar ile kanserli hastalardan oluşan 1.8 milyon kişilik bir kohort çalışmasında; kanserli hastalarda VTE nedeni ile hastane yatış riski topluma göre 4.7 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu risk kanser tanısı konulan yılda en yüksek olup takip eden yıllarda azalmakta olduğu, kanserin yeri, evresi ve tipi ile de risk oranlarının değiştiği bildirilmiştir. Bu çalışmada VTE açısından en yüksek riskli kanser çeşitleri özofagus, pankreas, beyin kanserleri ve myelom olarak tespit edilirken, en düşük riskli gruplar ise meme, endometrium ve böbrek kanserleri olarak bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada çoğu kanser lokalizasyonu da VTE rölatif riskinin tanıyı takip eden ilk iki yılda en yüksek olduğu, cerrahi müdahale sonrası 90 günlük döneminde rölatif VTE riski açısından oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir (33). Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak multiple myelom tanılı hastalarda tromboembolik olay sıklığı kronik lenfositik lösemi hastalarından daha yüksek bulunmuştur. Tromboembolik olaylar myelom tanılı hastalarımızda genellikle hastalığın tanı yılında veya nüks nedeni ile yoğun kemoterapi alınan dönemlerde tespit edilmiştir.

Plazma Hücreli Myelom (PHM) tedavisinde son yıllarda ortaya çıkan kemoterapötik ilaçlarla genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım oranlarında belirgin bir iyileşme sağlanmıştır. Bununla birlikte tedaviye eklenen immünomodülatör ilaçlarla eş zamanlı VTE sıklığında da belirgin bir artış tespit edilmiştir. Özellikle bu yeni ilaçlarla yapılan kombinasyon tedavilerinde monoterapiye nazaran VTE riskinin daha da arttığı randomize kontrollü çalışmalarla da tespit edilmiştir (36). Bu çalışmalardan sonra zaten VTE açısından yüksek riskli olan bu hasta grubunda özellikle kombinasyon tedavi alanlar için tromboprofilaksi kılavuzlarda önerilir hale gelmiştir (37). Bu çalışmalardan sonra yapılan geniş çaplı hasta çalışmalarında ise myelom tanılı hastalarda yeni ilaçlarla VTE riskinin ve VTE'ye bağlı mortalitenin ilaçlardan bağımsız olarak myelomun kendisine bağlı ortaya çıktığını destekleyen çalışmalar da yayımlanmıştır (38). Bununla birlikte myelom tanılı hastalarda tromboprofilaksi rutin olarak uygulanmamakta olup VTE açısından düşük risk gruplarının olduğu ve hastalarda risk değerlendirilmesi yapılmadan böyle bir uygulamanın her hasta için optimal olmadığını beyan eden azımsanmayacak sayıda literatür de mevcuttur (34).

İsveç'te yapılan bir çalışmada 1987 ile 2005 yılları arasında myelom tanısı ile takip ve tedavi edilen hastalar İsveç Kanser Kayıt programından derlenerek yapılan çalışmaya 9,399 myelom tanılı hasta dahil edilmiş ve bu hastalardan İmid türevi immünmodülatör tedavi alan 1,756 hasta ile geri kalan hastalar karşılaştırılmıştır. Çalışma sonunda myelom tanılı hastalardan VTE atağı geçirenlerin diğerlerine göre 1,5 ve 10 yıllık takipte daha yüksek mortaliteye sahip oldukları (Hazard ratio; 1. yıl için 3.4, 5 yıl için 2.1 ve 10 yıl için 2.0) tespit edilmiştir. İmid kullanan ve kullanmayan hastalar karşılaştırıldığında ise iki grupta VTE, VTE ilişkili morbidite ve mortalite açısından istatistiksel açıdan bir fark olmadığını vurgulamışlardır. Çalışma sonunda VTE gelişen myelom tanılı hastaların VTE sonrası birinci yıl içinde ölüm açısından 1,6 kat daha yüksek riske sahip olduğu ve myelom hastalarında VTE riskinin sağlıklı topluma göre 3 kat yüksek olduğu bildirilmiştir (39). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak myelom tanılı hastalarda erken dönem mortalite ve morbidite oranları oldukça yüksek bulunmuştur.

Kanser hastalarında artmış VTE riski ile ilişkilendirilmiş risk faktörlerinin yanı sıra myelom hastalarında VTE oluşumu ile ilgili farklı mekanizmaların varlığını araştıran çalışmalar da bulunmaktadır. Bu faktörlerin varlığını destekleyen bulgular arasında; myelom hastalarında artmış aktive protein C rezistansı insidansının olması ve bu durumun tedavi ile düzelmesi, paraproteinemi, inflammatuar sitokin seviyelerinin yüksek olması (C-reaktif protein, IL-6, TNF) gibi nedenler gösterilmektedir. PHM da hem arteriyel hem de venöz tromboz riskinin artmış olması ayrıca trombosit aktivasyon mekanizmalarının da olaya eşlik ettiğini düşündürmektedir (40). Trombosit aktivasyon mekanizması olarak vasküler girişimler, damar endotel hasarı suçlanmakla birlikte fizyolojik olarak asıl trombosit uyarıcı ajan olan doku faktörünün mikropartiküller ile ilişkisi de son zamanlarda ciddi olarak araştırılmaya başlanmış ve malign hastalıklarda artmış VTE ve trombosit aktivasyonu ile ilişkisi gösterilmiştir. Doku faktörünün varlığı dolaşımda olan mikropartiküller üzerinde, küçük membran veziküllerinde, trombositlerin yüzeyinde ve tümoral hücre yüzeylerinde gösterilmiştir. Bunlara ilaveten doku faktörü ekspresyonunun malignitenin evresi ile de korele olduğu gösterilmiştir (41). VTE geçiren myelom tanılı hastalarda geçirmeyenlere göre mikropartikül-doku faktörü etkileşiminin kaybolmadan devam ettiği de yapılan çalışmaların sonucunda bildirilmiştir. İndüksiyon kemoterapisi sonrasında mikropartikül-doku faktörü

ekspresyonunun VTE geçiren hastalarda azalmadan devam ediyor olması bu iki bileşen arasında fizyo-patolojik bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (42).

Johannes JA ve arkadaşlarının (43) yapmış olukları bir çalışmada PHM tanılı hastalarda mikropartikül varlığı ve VTE arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu amaçla yeni tanı almış 122 PHM hastasında ve 20 kişilik sağlıklı kontrol grubunda mikropartikül ile ilişkilendirilmiş doku faktörü aktivitesi (MP-DFa) ölçülmüştür. 75 hastada ise tedavi öncesi ve sonrası mikropartikül varlığı araştırılmıştır. Takip sırasında ortaya çıkan VTE olayları kaydedilerek elde edilen verilerle yorumlanmıştır. Doku faktörü aktivitesi ise bizim çalışmamızda kullandığımız gibi trombin generation assay yöntemi ile belirlenmiştir. Bu çalışmada 122 hastanın takibinde toplam 15 VTE olayı tespit edilerek tedavi edilmiştir. Çalışma sonunda hastalara ait herhangi bir karakteristik özellik ile MP-DFa arasında korelasyon tespit edilememiştir. Bununla birlikte kemoterapi alan hastalarda kemoterapi sonrası MP-DFa’nde anlamlı düşüş tespit edildiği, tedavi öncesi ve sonrası ölçülen MP-DFa değerlerinin anlamlı olarak kontrol grubundan yüksek bulunduğu bildirilmiştir. VTE gelişen ve gelişmeyen hastaların tedavi öncesi MP-DFa açısından farklılık göstermezken VTE gelişmeyen hastalardaki MP-DFa’nin kemoterapi ile VTE gelişenlere göre anlamlı azaldığını da bildirmişlerdir. Yazarlar çalışma sonunda; indüksiyon kemoterapisi sonrası ölçülen yüksek MP-DFa’nin PHM tanılı hastalarda MP-DFa’nin VTE de patolojik bir rolü olabileceğini belirtmişlerdir . Bizim çalışmamızda da mikropartikül miktarı tromboembolik olay gelişen PHM tanılı hastalarda gelişmeyenlere oranla daha yüksek tespit edildi. Ancak bizim hasta grubumuzda gözlenen VTE oranı bu çalışmadan daha yüksek bulundu. Bunun bir nedeni bizim hasta grubunun yaş ortalamasının bahsi geçen çalışmadaki hastalara göre 10,2 yaş daha fazla olması yani ateroembolik olaylar açısından daha riskli bir grup olmasından kaynaklanabilir. Bunun yanı sıra bizim çalışmamıza dâhil ettiğimiz hastalarda ileri evre hasta oranının daha fazla olmasından da kaynaklanabilir.

Erişkin çağda gözlenen en yaygın lenfoid malignite olan kronik lenfositik lösemi ile hematolojik ve diğer solid organ maligniteli hastalar için majör mortalite nedenlerinden biri olan VTE arasındaki ilişki literatürde çok sık olarak ele alınmamıştır. Bu amaçla Whittle A.M ve arkadaşlarının (44) yapmış olduğu bir kohort çalışmasında Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) hastalarında VTE riski araştırılmıştır. Bu amaçla Hull

ve Batı Yorkshire da (1,1 milyonluk bir populasyon) sağlık merkezlerinde 2005 Ağustos sonrasında KLL tanısı ile takip edilen tüm hastaları çalışmaya dahil ederek izleme almışlardır. Çalışmaya toplam 268 hasta alınmış ve bu hastaların büyük çoğunluğu (% 82) Binet evre A imiş. Hastaların ortalama yaşı 64 olup erkek/kadın oranı da 1.62 olarak hesaplanmış. Ortalama takip süresi 5.42 yıl olan çalışma sonunda toplam 14 hastada 15 VTE olayı tespit edilmiştir. VTE insidansı % 1.45 /hasta yılı olarak tespit edilmiştir. KLL tanısı ile VTE arasında geçen ortalama süre ise 5 yıl olarak bildirilmiştir. Yine aynı bölgedeki hastane kayıtlarından elde ettikleri bilgilere göre 60 yaş üstü hastalarda VTE insidansını % 0.75 /yıl olarak bildiren araştırmacılar KLL tanılı hastalarda VTE insidansının normal sağlıklı topluma göre 10 kat daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir . Bizim çalışmamıza dahil edilen 30 KLL hastasının ortalama 39 aylık takip süresinde 10 tanesinde tromboembolik olay tespit edildi. Bu oran sağlıklı topluma göre yaklaşık 50 -68 kat daha yüksek idi. Whittle ve arkadaşlarının çalışmasında tespit edilen insidanstan ise yaklaşık 7 kat yüksek tespit edildi. Bizim çalışmamızdaki yüksek VTE insidansı dahil edilen hasta yaşı ortalamasının daha yüksek olması, hastaların büyük çoğunluğunun orta iler evre (% 57) olması, hastalarımızın yarısından fazlasında (% 53) eşlik eden en az bir sistemik hastalık olması gibi VTE için risk faktörü olabilecek özelliklerden kaynaklanıyor olabilir.

Hematolojik malignitelerden KLL’de artmış VTE insidansının etiyolojik nedenlerinin prelinik ve klinik olarak araştırılmasına yönelik yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Gonmori ve ark yaptığı klinik çalışmada malignitelere eşlik eden dissemine intravasküler koagulopati durumu incelenmiştir. Bu çalışmada hastalardan elde edilen malign doku örneklerinde ve lösemik hücrelerde doku tromboplastini (TTP) araştırılmış ve içlerinde KLL’nin de olduğu lösemik hastalarda TTP aktivitesi yüksek bulunmuştur. Bu hastalardan lösemik hücre oranı ile fibrinojen ve fibrin yıkım ürünlerinin serum düzeyleri orantılı bulunmuş, heparin ile tedavi edilmeyen ve Yağın Damar İçi Koagülasyon (DIC) gelişen hastaların hepsi kaybedilirken lösemik hücre oranı düşük bulunan ve heparin ile tedavi edilenler ise çalışma sonunda hayatta kalmıştır (45). Benzer hasta gruplarının dahil edildiği başka bir çalışmada ise hematolojik malignitesi olan hastalarda doku faktörü inhibitörü konsantrasyonu belirgin yüksek bulunmuştur (46).

KLL hastalarından elde edilen B hücre serilerinin hücre kültürü laboratuvarında kullanılması ile yapılan bir çalışmada ise araştırmacılar B-KLL hücrelerinin artmış oranda VEGF, bFGF salınımı yaptığı ve bu durumun daha agresif ileri evre KLL hastalarında daha belirgin ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Çalışma sonunda KLL'deki klonal hücrelerin pro ve anti anjiogenik faktörlerin artmış miktarlarda salınımına neden olduğu bildirilmiştir. Bu durumun hematolojik malignitelerde ortaya çıkan endotel hasarının ve fonksiyon bozukluklarının aydınlatılmasına ışık tutabileceği ileri sürülmüştür (47). Kay N ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmadan yaklaşık 10 yıl kadar sonra KLL tanılı hastalarda endotel disfonksiyonunu araştıran başka bir çalışmada Aue G ve arkadaşları (48) KLL hastalarında ortaya çıkan endotel disfonksiyonun VTE ile ilişkisini araştırmışlardır. Bu çalışmaya 33 KLL hastası alınmış kemoterapi öncesi ve esnasında belirli aralıklar ile TNF alfa, sVCAM-1, CRP, thrombomodulin, D-dimer, protein-C, protein-S, antitrombin, doku faktörü ve trombin-antitrombin gibi parametrelerin ölçümü için örnekler alınmıştır. Hastalar yaklaşık olarak 3 yıl süre ile takip edildikten sonra çalışma sonlandırılmışdır. Çalışma süresince toplam 5 hastada 6 VTE tespit edilerek tedavi edilmiştir. Yıllık VTE insidansı % 16 olarak hesaplanmıştır. Çalışma başında bakılan parametrelere göre hastaların büyük bölümünde koagülasyon faktörü ve endotel hücre markeri olarak bakılan parametrelerin yüksek olduğu ve hastaların çoğunluğunda tedavi öncesi var olan hiperkoagülabl bir durumun eşlik ettiği endotel disfonksiyonun varlığını düşündürdüğünü bildirmişlerdir. Hasta grubundaki bu yüksek VTE insidansı ve artmış hiperkoagülabl durumu hastaların büyük bölümünün ileri evre ve bulky hastalığı olmasına bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda da hastalarımızdaki tromboembolik olay insidansı sağlıklı toplumdan ve literatürdeki diğer KLL hastalarında oldukça yüksek bulunmuştur. Bu durum bizim hastalarımızda da ileri evre hastalık ve bulky tümör yükü nedeni ile artmış hiperkoagülabl durumdan kaynaklanabilir. Artmış hiperkoagülabl durumu göstermede hastalarımızda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek çıkan mikropartikül oranı ve bu oran ile istatistiksel negatif korelasyon gösteren TGE testinde Eğri altında kalan alan (ETP) delil olarak gösterilebilir.

Hematolojik malignitelerde artmış hiperkoagülabl durumun etyolojik nedenlerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda özellikle akut lösemilerde bu durumun ortaya çıktığı ancak kronik lösemilerde de sağlıklı bireylere göre hiperkoagülabl bir

durum olduğu; bunun nedenleri arasında lösemik hücrelerin doku invazyonu yaparken artmış oranlarda doku faktörü, vasküler endotelial growth faktör-1, lösemik hücrelerde artmış makrofaj ilişkili fibrin oluşumu ve depolanması, TNF alfa ve interlökin-4 gibi sitokin ve proteinlerle desteklenmiştir (49-52).

Bu artmış hiperkoagulabl durumun direkt göstergelerinden bir tanesi de sonuç olarak ortaya çıkan tromboembolik olaylar olabilir. 590 Akut serebral enfarktüs vakasının dahil edildiği, hematolojik maligniteli hastalarla diğerk hastalarda ortaya çıkan serebral enfarktlerin karakteristik özelliklerinin karşılaştırılması ile yapılan bir çalışmada; hematolojik maligniteli hasta grubunda enfarktlerin genellikle multifokal ve küçük vasküler yapıları içeriyor olduğu tespit edilmiştir (53). Bu çalışmada akut multiple enfarkt alanların varlığı hematolojik malignitesi olanlarda % 53.8 iken diğerk hastalarda % 7.8 olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamız da da PHM ve KLL tanılı hastalarda kontrol grubuna göre belirgin bir inflamatuvar durumun var olduğu yüksek C-reaktif protein (CRP) ve sedimentasyon değerkleri ile ortaya konmuştur. Yine çalışmamız süresince tromboembolik olayların çalışmaya alınan hastalarda önemli bir mortalite nedeni olduğu da tespit edilmiştir.

Sharma P ve ark. yapmış oldukları ve trombosit fonksiyon bozukluğu tespit edilen 109 hastanın dahil edildiği çalışmada etyolojik nedenler arasında PHM ve KLL tanılı hastaların olması söz konusu hastalıkların daha karmaşık mekanizmalarda hemostazı ve trombozu etkilediklerini de ortaya koymaktadır (54).

Hematolojik malignitelere ve solid organ kanserlerinde artmış tromboembolik olayların etyolojisinde son zamanlarda araştırılan konulardan önemli bir tanesi de mikropartikül veya mikrovessikül olarak adlandırılan ve normal apoptoza, doku hasarı nedeni ile, spontan olarak veya kemoterapi sonrası gerek normal dokulardan gerekse tümoral hücrelerden kaynaklanan küçük membran parçacıklarının bu hastalarda yoğun bir şekilde tespit edilebilmesi nedeniyle ortaya atılan doku faktörü ve hemostaz arasındaki direkt ilişkidir. Bu ilişkinin araştırılması amacı ile yapılan bir çalışmada meme kanseri hücre kültüründe doku faktörü varlığı ve mikropartikül varlığı araştırılmıştır. Bu çalışmada doku faktörü varlığı bizim çalışmamızda olduğu gibi trombin oluşum testi ile araştırılırken mikropartikül varlığı elektron mikroskopisi incelemesi ile yapılmıştır. Çalışma sonunda hücre kültüründe önemli oranda

mikropartikül tespit edildiğini ve mikropartikül varlığının TGE ile elde edilen ölçümlerden Lag-time'da 7 kat kısaltmaya neden olduğunu ve boyutu 0.1µm den daha küçük olan mikropartiküllerin doku faktörü aktivitesi açısından daha büyük olanlardan daha aktif olduğunu bildirmişlerdir (55). Bizim çalışmamızda da hem PHM hem de KLL hastalarında mikropartikül oranı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Ancak çalışmamızda hasta grubunda ölçülen lag-time değerinde bir kısaltma tespit edilemedi. TGE testi sonuçlarımız da benzer bir istatistiksel anlamlılık ortaya çıkmaması, söz konusu çalışmada ultrafiltrasyon ve santrifüj yöntemleri ile daha büyük boyutlarda olan mikropartiküllerin ortamdan uzaklaştırılması ve hücre kültürü gibi homojen bir örnekleme çalışılmış olması nedeniyle sonuçların projeksiyona uğramış olmasından kaynaklanabilir.

Hematolojik malignite ve trombosit fonksiyonlarının araştırıldığı başka bir çalışmada araştırmacılar trombositemi ile karakterize esansiyel trombositemi (ET) hastalarına ait trombositler ile reaktif trombositoz (RT) tespit edilen hastalara ait trombositlerin fonksiyonlarını TGE testi ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada trombosit fonksiyonlarının yanısıra hiperkoagulabl bir durum olup olmadığı da dolaşan prokoagulan fosfolipid varlığının tayini ile tespit edilmeye çalışılmıştır. Çalışmaya 29 ET ve 24 reaktif trombositoz hastası ve 20 kişilik bir kontrol grubu dahil edilmiştir. Çalışma sonunda reaktif trombositozu olan hastalarda lag-time ET hastalarına ve kontrol grubuna göre daha uzun bulunurken, endojen trombin potansiyeli ET hastalarında kontrol ve RT grubundan daha düşük bulunmuştur. Pik değerler karşılaştırıldığında ET grubunda RT ve kontrol grubundan anlamlı düşük tespit edilirken ET grubunda daha düşük trombin oluşum hız indeksi tespit edilmiş. Dolaşan prokoagulan fosfolipid varlığı da ET grubunda RT ve kontrol gruplarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Yazarlar RT grubunda tespit edilen daha uzun Lag-time değerinin var olan tromboz riskinden ziyade inflamatuvar veya infeksiyöz nedenlerden kaynaklanan yüksek fibrinojen varlığından kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir (56). Bizim çalışmamızda ise Mikropartikül (MP) oranı hem PHM hem de KLL hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek tespit edilmişti. Bununla birlikte hasta gruplarımız da ETP değeri kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur. Söz konusu çalışmada kontrol grubunun ortalama Prokoagulan fosfolipid (PPL) süresi 59.2 sn olarak hesaplanırken bizim kontrol grubunun ortalama PPL süresi 30.5 sn bulundu. Bu ciddi

fark MP sonuçlarımızın yorumlanmasını etkilemiş olabilir. Bu yönleri ile çalışmamız literatürü KLL ve PHM hastaların yüksek VTE potansiyeli olan hasta grupları olduğuna dair desteklemektedir.

Doku faktörü (TF) faktör VII/VIIa için bir transmembran reseptörü olarak görev yapmaktadır ve koagülasyon için birincil tetikleyici bir role sahiptir. Bu nedenle doku faktörü, kanser ve tromboz arasındaki ilişkinin irdelendiği birkaç çalışma ve derlemeden burada bahsetmek gerekmektedir. Tilley ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kanser hastaları ile sağlıklı kontrol grubundan alınan örneklerde MP ve trombosit ilişkili TF aktivitesi araştırılmış. Çalışma sonunda yazarlar trombosit ilişkili TF aktivitesinin sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunduğunu bunun yanında kanser hastalarında ölçülen P-selektin değerlerinin de kontrol grubundan oldukça yüksek bulunduğu bildirmişler. Çalışma sonunda yazarlar trombosit ilişkili TF aktivitesi ve MP ölçümünün dolaşımdaki doku faktörünün varlığının belirlenmesinde kullanılabilir bir yöntem olabileceği kanaatine varmışlar (57). Dolaşımdaki TF ve MPs ile tromboz arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada VTE atağı gelişen ve gelişmeyen çeşitli kanser hastaları çalışmaya dahil edilerek mikropartikül (MP) ve TF aktivitesi açısından gruplar arasında bir fark olup olmadığı araştırılmış. Çalışmaya 66 kanser hastası dahil edilmiş. VTE gelişen 53 hastadan VTE tespitinden sonraki 24 saat içerisinde örnekleme yapılmış. 13 tane VTE geçirmemiş olan kanser hastasındanda kan örnekleri alınarak karşılaştırılmış. Çalışma sonunda VTE atağı gelişen hastalarda MP ilişkili TF aktivitesi, gelişmeyen kanser hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunduğu bildirilmiş (58). Tesselaar ve arkadaşlarının daha fazla hasta katılımı ile yapmış olduğu ve aynı dizayn ile yapılmış başka bir çalışmada da VTE gelişen hasta grubunda MP ilişkili TF aktivitesi yine yüksek olarak bildirilmiş (59). Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak mikropartikül varlığı PHM ve KLL gibi iki hematolojik maligniteli hasta grubunda sağlıklı bireylere göre yüksek bulundu. Yine TF aktivitesi de malign hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Çalışmamızda MP varlığının sadece tromboembolik olaylar ile olan ilişkisi değil aynı zamanda mortalite ile olan ilişkisi de gösterildi.

Dolaşımdaki MP varlığının prokoagulan etkilerinin varlığı konusunda çok sayıda araştırma ve derlemeler bulunmakla birlikte MP'in antikoagulan

fonksiyonlarının ve hatta fibrinolitik potansiyellerinin de olduğuna dair araştırmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda doku faktörü yolak inhibitörü (TFPI)'nın birincil görevinin koagülasyon kaskadının gereksiz tetiklenmesini önleme olduğu ve endotel hücrelerden salındığı bilgisinden yola çıkılarak endotel kaynaklı dolaşımdaki MP'lerin TFPI ihtivası nedeni ile antikoagulan etkilerinin de olduğu akut myokardial iskemi, sepsis, orak hücreli anemi ve diyabet gibi hasta gruplarında gösterilmiştir. Çalışmalar sonunda yapılan bir derlemedeki kanı ise dolaşımdaki MP'ler üzerinde var olan TF ve TFPI miktarları arasındaki dengenin prokoagulan ve antikoagulan etkilerin aynı mekanizma üzerinden ortaya çıkışını izah etmede kullanılabileceğini belirtmektedir (60). Bunun yanında dolaşımdaki MP'lerin fibrinolitik aktiviteye sahip olduğuna dair deneysel ve klinik az sayıda çalışmada vardır. Bu çalışmalarda MP üzerinde doku tipi plasminojen aktivatör (t-PA), urokinas plasminojen aktivatör (u-PA) gibi fibrinolitik karakter taşıyan proteinlerin varlığı gösterilmiştir (61, 62). Buradan özetle MP üzerinde taşıdığı gerek prokoagulan gerek antikoagulan ve fibrinolitik protein moleküller nedeniyle koagülasyon kaskadı üzerinde önemli aktivatör ve/veya inhibitör etkilere sahip olan bir donedir.

Sistemik etkileri ve prokoagulan etkilerinin anlaşılmasından sonra MP varlığı birçok sistemik hastalıkta araştırılmış ve geniş bir bilgi havuzu oluşmuştur. Bu konu ile ilgili derlemlerde literatüre artan sayılarda eklenmektedir. MP varlığının artmış olarak tespit edildiği hastalıklar arasında paroksizmal nocturnal hemoglobülinüri, orak hücreli anemi, antifosfolipid antikor sendromu, heparine bağlı trombositopeni, diyabet, kronik böbrek yetersizliği, akut koroner sendrom, VTE, sepsis ve kanserler sayılabilmektedir. MP'ün fosfolipid kompozisyonu, fenotipi, köken aldığı hücre tipi ve oluşumunu tetikleyen faktörler nedeni ile farklılıklar arz ettiği ve birbirine zıt veya bağımsız birçok sistemik etki gösterdiği belirtilmektedir (63). Dolaşımdaki MP'lerin bir sonuç olmakla birlikte bazı hastalıklarda ki özellikle malign hastalıklar, hastalığın progresyonunda da rol aldığı, komorbid durumlara neden olarak morbidite ve mortaliteye etki ettiğine dair yayınlar bildirilmiştir. Sepsis tanılı hastalarda plazma infüzyonuna göre hastaların mikropartiküllerin plazmadan uzaklaştırıldığı plazmaferezden fayda görmeleri de bu hipotezleri desteklemektedir (64).

Fibrinojenin fibrine dönüşmesi ile pıhtı oluşumu olarak tanımlanabilen trombin oluşumu, damar duvar hasarı sonrası karışık bir seri proteolitik enzimatik reaksiyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu durum küçük miktarlarda trombin oluşumuna neden olmakta ve protrombinaz kompleksinin aktivasyonuna yol açarak koagulasyon kaskadının tüm mekanizmalarını harekete geçirmektedir. Fosfatidil serin ihtiva eden hücre yüzeyi geleneksel olarak bu modelin anlatımında kullanılan TF-faktör VIIa sisteminde temel tetikleyici olarak kabul edilmektedir. Trombin pozitif geri besleme yolları ile sadece kendi üretimini arttırmakla kalmayıp trombomodulin ile etkileşerek de bu sistem üzerinde inhibitör etki göstermektedir. Geleneksel koagulasyon testlerinden protrombin zamanı (PZ) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTZ) tüm koagulasyon sisteminin değerlendirilmesi için yetersiz kalmaktadır. Kanamaya meyilli veya tromboza meyilli durumların daha iyi anlaşılabilmesi için bireyin trombin oluşturabilme kapasitesini değerlendirebilen trombin oluşum testi (TGA) daha değerli olmaktadır. Bu test ilk kez 1953 yılında Macfarlane ve Biggs tarafından tanımlanmıştır. Bu test konjenital veya edinsel kanamalı/trombozlu hasta gruplarında kullanılmış ve kullanılabilirliği teyit edilmiştir. Bununla birlikte çalışma parametrelerinde değişikliklerden çok kolay etkilenebilir olması uygulamayı ve değerlendirmeyi güçleştirmektedir. Bu nedenle uzun yıllardır var olan ve kullanılan bu testler halen araştırma laboratuvarlarında kullanılagelen rutin pratik uygulamalar için geliştirilmesine ihtiyaç duyulan testler konumundadır (31). Trombin oluşum testinde kullanılan parametrelerden eğri altında kalan alan (ETP) serbest trombinin oluşturduğu florojenik etki tarafından oluşturulduğu için testle elde edilen en önemli parametrelerden birisi olarak kabul edilmektedir. Pik değer trombin oluşum mekanizmalarındaki değişikliklere daha hassas bir yaklaşım göstermektedir (65).

Trombin oluşum testinin (TGA) klinik anlamda uygulanabilirliğini test etmek amacıyla dizayn edilen bir çalışmada, araştırmacılar son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olan hastalar ile sağlıklı kontrol grubunda enoxaparin kullanımı sonrası ortaya çıkan antikoagülasyonun yeterli mi yoksa aşırı mı olduğunu TGA testi ile araştırmışlar. Hasta grubu olarak seçilen SDBY hastalarında birçok farklı mekanizma ile hemostaz etkilenmekte olup kanamaya eğilim artmakla birlikte ateroembolik olay insidansı da artmıştır. Çalışma sonunda TGA ile SDBY hastalarında tek doz kullanılan enoxaparin tedavisinin sağlıklı gruba göre % 20-60 oranında daha fazla antikoagülasyona neden

olduğunun TGA testi ile tespit edildiğini, TGA'nin SDBY hastalarının antikoagulan monitörizasyonu için kullanılabilir bir test olabileceği yorumunu yapmışlardır (66).

Kanser hastalarında tümör kaynaklı hiperkoagulabilitenin TGA testi ile değerlendirilmesi amacıyla düzenlenmiş çalışmalar da bulunmaktadır. Wang ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada pankreas kanseri hücre serilerinde, MPs, TF varlığı, TGA gibi parametreler incelenerek pankreatik tümör kaynaklı TF'nün koagülasyon aktivasyonuna ve tromboza olan katkısı araştırılmış. Çalışma sonunda insan pankreas tümörü taşıyan fare modellerinde doku faktörü etkileşimine bağlı olarak koagülasyon aktivasyonunda anlamlı artış tespit ettiklerini, ortama eklenen anti-İndan TFmAb ile koagülasyon aktivasyonunun inhibe olmasının da bu bulguyu desteklediğini bildirmişler. Hatta buradan yola çıkarak MP TF aktivitesinin pankreas kanserli hastalarda VTE riskinin belirlenmesi için iyi bir biomarker olabileceği yorumuna varmışlardır (67). Benzer bir çalışmada da malign melanom hücrelerinden salınan doku faktörünün yine trombin oluşumunu aktive ettiğini, bu durumun tümör metastazını da aktive ettiği, hatta TF'nün factor VIIa'ya bağlanmasının inhibe edilmesinin de tümör metastazını inhibe ettiğini göstermişlerdir (68).

Sonuç olarak bizim çalışmamızda malign hastalıklardan PHM ve KLL de mikropartikül oranının kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi. Bu hasta gruplarında tromboembolik olayların birer morbidite ve mortalite nedeni olduğu tespit edildi. Hastalarımızda TGA testi parametrelerinden ETP ve Lag-time ile mikropartikül oranları ve tromboembolik olaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu tespit edildi. Hastalarımızda tromboembolik olaylar ve mortalite ile eşlik eden diğer sistemik hastalıkların varlığının , hasta yaşının, hastalığın evresinin ve tedaviye alınan cevap kalitesinin de istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gösterdiği de tespit edildi.

SONUÇLAR

1. Çalışmaya dahil edilen 40 multiple myelom (PHM) tanılı hastanın büyük çoğunluğu (% 95) orta ileri evre hastalığa sahip olup ortalama yaş 63 idi. Hastaların ortalama takip süreleri 22.6 ay idi. Çalışma süresinde hastaların 13 tanesinde (% 32) tromboembolik olay gözlemlendi. 10 hastada (% 25) ise hastalık progresyonu, enfeksiyon ve ateroembolik olay gibi nedenlerden mortalite gözlemlendi.

2. PHM tanılı hastaların 23 (% 57,5)'ünde mikropartikül (MP) oranı > 1 olarak tespit edildi. Bu hastaların 8 tanesi tromboembolik olay geçirenlerdi. Tromboembolik olay gelişen 10 hastanın 8 tanesinde (%80) MP oranı > 1 tespit edilirken, tromboembolik olay gelişmeyen 30 hastanın 15 tanesinde (%50) MP oranı >1 olarak tespit edildi.

3. Çalışmaya dahil edilen 30 kronik lenfositik lösemi (KLL) tanılı hastanın 6 (% 20) tanesi orta ileri evre hastalığa sahip olup ortalama yaş 67 olarak tespit edildi. Hastaların ortalama takip süreleri 38.8 ay idi. KLL tanılı hastaların 10 tanesinde (%33) çalışma süresince tromboembolik olay gözlemlendi. Çalışma süresince toplam 3 (%10) KLL hastasında mortalite gözlemlendi.

4. Çalışma sonunda KLL ve PHM tanılı hastalarda kontrol grubuna göre MP oranı anlamlı olarak yüksek bulundu (1.468 ± 1.032 , 164 ± 0.526 sırası ile).

5. Trombin oluşum testi (TGA) ile elde edilen analizlerden Lag-time kontrol grubunda KLL ve PHM gruplarına göre anlamlı kısa (3.166 ± 0.492 , 4.091 ± 2.557 $p < 0.001$), Eğri altında kalan alan (ETP) kontrol grubunda KLL ve PHM gruplarına göre anlamlı yüksek (2115.79 ± 528.09 , 2024.12 ± 787.86 $p = 0.026$) olarak tespit edildi.

6. Çalışma süresince ortaya çıkan tromboembolik olaylar ile kronik lenfositik lösemi tanılı hastanın çalışmaya alındığı dönemdeki evresi ile pozitif ($p = 0.01$), kemoterapiye alınan cevap kalitesi ile negatif ($p = 0.008$), çalışma süresince hastalarda görülen mortalite ile pozitif ($p = 0.002$), komorbid hastalık varlığı ile pozitif ($p < 0.001$), TGA testinde ölçülen lag-time ile pozitif ($p = 0.048$), ETP değeri ile negatif

($p=0.021$) ve pik değerleri ile negatif ($p=0.046$) istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu tespit edildi.

7. PHM tanısı ile çalışmaya dahil edilen hastalarda, gelişen tromboembolik olaylar ile hastanın yaşı ile pozitif ($p=0.011$), hastalığın evresi ile pozitif ($p=0.017$), eşlik eden komorbid hastalıklar ile pozitif (0.001), çalışma süresince gelişen mortalite ile pozitif ($p=0.032$), ETP ile negatif ($p=0.034$), istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu tespit edildi.

PHM ve KLL hastalarımızda tromboemboli insidansının yüksek olduğunu ve mortalite ile ilişkili olduğunu tespit ettik. Hastalarımızda MP oranının kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunduğunu tespit ettik. Hastalarımızda MP oranı ile TGE test parametreleri ve tromboembolik olaylar arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunduğunu tespit ettik. Bu istatistiki ilişkinin patofizyolojik boyutunu TGE testi ile de gösterdik. Tromboembolik olaylar PHM ve KLL gibi hematolojik maligniteler ile diğer kanser türlerinde önemli morbidite ve mortalite sebebi olup yüksek riskli hastalara profilaksi verilmesi tartışmalarında riskli hasta gruplarının belirlenmesi için TGE ve MP ölçümleri ile elde edilen TF-aktivitesinin değerli bir parametre olabileceği kanaatine vardık.

KAYNAKLAR

1. Rada G, Schunemann HJ, Labedi N, El-Hachem P, Kairouz VF, Akl EA. Systematic evaluation of the methodology of randomized controlled trials of anticoagulation in patients with cancer. *BMC Cancer* 2013;13:76.
2. Binet JL, Lepoprier M, Dighiero G, Charron D, D'Athis P, Vaugier G, et al. A clinical staging system for chronic lymphocytic leukemia: prognostic significance. *Cancer* 1977;40(2):855-64.
3. Bird JM, Owen RG, D'Sa S, Snowden JA, Pratt G, Ashcroft J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of multiple myeloma 2011. *Br J Hematol* 2011;154(1):32-75.
4. Lutsey PL, Folsom AR, Heckbert SR, Cushman M. Peak thrombin generation and subsequent venous thromboembolism: the Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE) study. *J Thromb Haemost* 2009 ;7(10):1639-48.
5. Danforth CM, Orfeo T, Everse SJ, Mann KG, Brummel-Ziedins KE. Defining the Boundaries of Normal Thrombin Generation: Investigations into Hemostasis. *PLoS ONE* 2012;7(2).
6. Owens AP, Mackman N. Microparticles in hemostasis and thrombosis. *Circ Res* 2011 13;108(10):1284-97.
7. Ghia P, Ferreri AM, Caligaris-Cappio F. Chronic lymphocytic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007 ;64(3):234-46.
8. Eichhorst B, Dreyling M, Robak T, Montserrat E, Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 2011;22(Supplement 6):50-4.
9. Zent CS, Call TG, Hogan WJ, Shanafelt TD, Kay NE. Update on risk-stratified management for chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia and Lymphoma* 2006;47(9):1738-46.
10. Lin TS, Awan FT, Byrd JC. Chronic Lymphocytic Leukemia. In: Hoffman R BE, Silberstein LE, Heslop HE, Weitz JJ, Anastasi J., editor. *Hematology Basic Principles and Practice*. 6 ed. Canada: Elsevier Saunders; 2012. p. 1170-91.
11. Müller-Hermelink HK, Montserrat E, Catovsky D, Campo E, Harris NL, Stein H. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., editors. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. France: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2008; p. 180-3.
12. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, F. C-C, Dighiero G, Döhner HEa. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on ChronicLeukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood* 2008;111(12):5446-55.

13. Oscier D, Dearden C, Erem E, Fegan C, Follows G, Hillmen P, et al. Guidelines on the diagnosis, investigation and management of Chronic Lymphocytic leukaemia. British Committee for Standards in Haematology. 2013;1-64.
14. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2013 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol* 2013 Sep;88(9):803-16.
15. Chiorazzi N. Implications of new prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Hematology ASH Education Book*. 2012;8(1):p76-87.
16. Parikh SA, Kari G, Rabe, Neil E. Kay, Timothy G. Call, Wei Ding, Schwager S, et al. Chronic lymphocytic leukemia in young (≤ 55 years) patients: a comprehensive analysis of prognostic factors and outcomes. *Haematologica* 2014;99(1):140-7
17. Chang JE, Kahl BS. Bendamustine for treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Expert Opin Pharmacother* 2012;13(10):1495-505. .
18. Kelpin HD, Rizzieri D, Palumbo A, Magarotto V, Eichhorst B. Individualizing Treatment Decisions for Older Adults with Hematologic Malignancies. *ASCO Education book*. 2013;p. 208-19.
19. Kolibaba KS, Sterchele JA, Joshi AD, Forsyth M, Alwon E, Beygi H, et al. Demographics, treatment patterns, safety, and real-world effectiveness in patients aged 70 years and over with chronic lymphocytic leukemia receiving bendamustine with or without rituximab: a retrospective study. *Ther Adv Hematol* 2013;4(3):157-71.
20. Munshi NC, Jagannath S. Plasma Cell Neoplasms. In: Hoffman R, Benz E, Silberstein LE, Heslop HE, Weitz JI, Anastasi J, editors. *Hematology Basic Principles and Practice*. 6 ed. Canada: Elsevier Saunders; 2012. p. 1303-37.
21. Durie BG, Kyle RA, Belch A, Bensinger W, Blade J, Boccadoro M, et al. Scientific Advisors of the International Myeloma Foundation. Myeloma management guidelines: a consensus report from the Scientific Advisors of the International Myeloma Foundation. *Hematol J* 2004;4:379-98.
22. Mckenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, Grogan TM, Harris NL, Coupland RW. Plasma cell neoplasms. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., editors. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. France: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2008. p. 200-13.
23. Bird J, Behrens J, Westin J, Turesson I, Drayson M, Beetham R, et al. UK Myeloma Forum (UKMF) and Nordic Myeloma Study Group (NMSG): guidelines for the investigation of newly detected M-proteins and the management of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Hematol* 2009;147:22-42.
24. Bird J, Owen R, D'Sa S, Snowden J, Pratt G, Littlewood T, et al. BCSH and UKMF Guidelines on the Management and Diagnosis of Multiple Myeloma. London British Society for Haematology 2010;1-110.
25. Kenshi S. Current Therapeutic Strategy for Multiple Myeloma. *Jpn J Clin Oncol* 2013;43(2)116-124.

26. Anderson KC, Alsina M, Bensigner W, Biermann JS, Cohen AD, Devine S, et al. National Comprehensive Cancer Network NCCN clinical practice guidelines in oncology: Multiple myeloma Version 1.2013. *J Natl Compr Canc Netw* 2013;11:11-7.
27. Aydın Y. Multiple myelomda klinik özellikler. *Hematolog* 2013;3(1):28-37.
28. George FD, Boulanger CM. The Many Faces of Endothelial Microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31:27-33.
29. Fleitas T, Martinez-Sales V, Vila V, Reganon E, Mesado D, Martin M, et al. Circulating Endothelial Cells and Microparticles as Prognostic Markers in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *PLoS ONE* 2012;7(10):e47365.
30. Hemker HC, Giesen P, Al Dieri R, Regnault V, de Smedt E, Wagenvoort R, et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33(1):4-15.
31. Van Veen JJ, Gatt A, Markis M. Thrombin generation testing in routine clinical practice: are we there yet? *Br J Hematol* 2008;142:889-903.
32. Amer MH. Cancer-associated thrombosis: clinical presentation and survival. *Cancer management and research* 2013;5:165-78.
33. Cronin-Fenton DP, Sondergaard F, Pedersen LA, Fryzek JP, Cetin K, Acquavella J, et al. Hospitalisation for venous thromboembolism in cancer patients and the general population: a population-based cohort study in Denmark, 1997-2006. *British journal of cancer* 2010;103(7):947-53.
34. Kristinsson SY, Landgren O. Thromboprophylaxis in multiple myeloma: is the evidence there? *Expert Rev Anticanc* 2012;12(3):291-4.
35. Prandoni P, Falanga A, Piccioli A. Cancer and venous thromboembolism. *Lancet Oncol* 2005 6(6):401-10.
36. Baz R, Li L, Kottke-Marchant K, Srkalovic G, McGowan B, Yiannaki E, et al. The role of aspirin in the prevention of thrombotic complications of thalidomide and anthracycline-based chemotherapy for multiple myeloma. *Mayo Clinic proceedings Mayo Clinic* 2005;80(12):1568-74.
37. Mandal M, Falanga A, Roila F, Group EGW. Management of venous thromboembolism (VTE) in cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO.* 2011 Sep;22 Suppl 6:85-92.
38. Kristinsson SY PR, Björkholm M, Goldin LR, Schulman S, Blimark C. Arterial and venous thrombosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma: a populationbased study. *Blood* 2010;115(24):4991-8.
39. Kristinson SY, Pfeiffer RM, Björkholm M, Schulman S, Landgren O. Thrombosis is associated with inferior survival in multiple myeloma. *Haematologica* 2012;97(10):1603-7.

40. Kristinsson SY. Thrombosis in Multiple Myeloma. *Hematology* 2010;437-44.
41. Kakkar AK, Lemoine NR, Scully MF, Tebbutt S, Williamson RC. Tissue factor expression correlates with histological grade in human pancreatic cancer. *Br J Surg* 1995;82:1101-4.
42. Leebeek FWG, Kruip MJ, Sonneveld P. Risk and management of thrombosis in multiple myeloma. *Thromb Res* 2012;Supplement 1:88-92.
43. Auwerda JJA, Yuana Y, Osanto S, de Maat MPM, Sonneveld P, Bertina RM, et al. Microparticle-associated tissue factor activity and venous thrombosis in multiple myeloma. *Thromb Haemost* 2011;105(1).
44. Whittle AM, Allsup DJ, Bailey JR. Chronic lymphocytic leukaemia is a risk factor for venous thromboembolism. *Leukemia Research* 2011;35:419-21.
45. Gonmori H, Maekawa T, Kobayashi N, Tanaka H, Tsukada H, Takada M, et al. The role of tissue thromboplastin in the development of DIC accompanying neoplastic diseases. *Bibl Haematol* 1983;49:23-39.
46. Radziwon P, Schenk JF, Mazgajska K, Boczkowska-Radziwon B, Galar M, Kłoczko J, et al. Tissue factor (TF) and inhibitor (TFPI) concentrations in patients with urinary tract tumors and haematological malignancies. *Pol Merkur Lekarski* 2002;13(76):308-11.
47. Kay NE, Bone ND, Tschumper RC, Howell KH, Geyer SM, Dewald GW, et al. B-CLL cells are capable of synthesis and secretion of both pro- and anti-angiogenic molecules. *Leukemia* 2002;16(9):911-919.
48. Aue G, Lozier JN, Tian X, Cullinane AM, Soto S, Samsel L, et al. Inflammation, TNF α and endothelial dysfunction link lenalidomide to venous thrombosis in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 2011;86:835-40.
49. Zhevak TN, Chesnokova NP, Shelekhova TV. The diagnostic and prognostic value of increase of blood pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in chronic lymphatic leukemia. *Klin Lab Diagn* 2013;2:33-6.
50. Costantini V, Zacharski LR, Memoli VA, Kisiel W, Kudryk BJ, Rousseau SM, et al. Fibrinogen deposition and macrophage-associated fibrin formation in malignant and nonmalignant lymphoid tissue. *J Lab Clin Med* 1992;119(2):124-31.
51. Nakasaki T, Wada H, Watanabe R, Mori Y, Gabazza EC, Kageyama S, et al. Elevated tissue factor levels in leukemic cell homogenate. *Clin Appl Thromb Hemost* 2000;6(1):14-7.
52. Till KJ, Spiller DG, Harris RJ, Chen H, Zuzel M, Cawley JC. CLL, but not normal, B cells are dependent on autocrine VEGF and 41 integrin for chemokine-induced motility on and through endothelium. *Blood* 2005;105(12):4813-19.
53. Fagniez O, Tertian G, Dreyfus M, Ducreux D, Adams D, Denier C. Hematological disorders related cerebral infarctions are mostly multifocal. *J Neurol Sci* 2011;304(1-2):87-92.

54. Sharma P, Kar R, Bhargava R, Ranjan R, Mishra PC, Saxena R. Acquired Platelet Dysfunction in 109 Patients From a Tertiary Care Referral Hospital. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011;17(1):88-93.
55. Gheldof D, Hardij J, Cecchet F, Chatelain B, Dogne JM, Mullier F. Thrombin generation assay and transmission electron microscopy: a useful combination to study tissue factor-bearing microvesicles. *J Extracell Vesicles*. 2013; 2: 10.3402/jev.v2i0.19728.
56. Mignon I, Grand F, Boyer F, Hunault-Berger M, Hamel JF, Macchi L. Thrombin generation and procoagulant phospholipids in patients with essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. *Am J Hematol* 2013 Dec;88(12):1007-11.
57. Tilley RE, Holscher T, Belani R, Nieva J, Mackman N. Tissue Factor Activity is Increased in a Combined Platelet and Microparticle Sample from Cancer Patients. *Thromb Res* 2008;122(5):604-9.
58. Manly DA, Wang J, Glover SL, Kasthuri R, Liebman HA, Key NS, et al. Increased Microparticle Tissue Factor Activity in Cancer Patients with Venous Thromboembolism. *Thromb Res*. 2010;125(6):511-2.
59. Tesselaar MET, Romijn FP, Van Der Linden IK, Bertina RM, Osanto S. Microparticle-associated tissue factor activity in cancer patients with or without thrombosis. *J Throm Haemost* 2009;9:1421-23.
60. Lacroix R, Dignat-George F. Microparticles as a circulating source of procoagulant and fibrinolytic activities in the circulation. *Thrombosis Research* 2012;129(Supplement):27-9.
61. Ginestra A, Monea S, Seghezzi G, Dolo V, Nagase H, Mignatti P, et al. Urokinase plasminogen activator and gelatinases are associated with membrane vesicles shed by human HT1080 fibrosarcoma cells. *J Biol Chem* 1997;272:17216-22.
62. Angelucci A, D'Ascenzo S, Festuccia C, Gravina GL, Bologna M, Dolo V, et al. Vesicle-associated urokinase plasminogen activator promotes invasion in prostate cancer cell lines. *Clin Exp Metastasis* 2000;18:163-70.
63. Georg FD. Microparticles in vascular diseases. *Thrombosis Research*. 2008;122(Supplement 1):55-9.
64. Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Reviews* 2007;21:157-71.
65. Al Dieri R, de Laat B, Hemker HC. Thrombin generation: What have we learned? . *Blood Reviews* 2012;26:197-203.
66. Brophy DF, Martin EJ, Gehr TWB, Best AM, Paul K, Carr ME. Thrombin generation time is a novel parameter for monitoring enoxaparin therapy in patients with end-stage renal disease. *J Thromb Haemost*. 2006 Feb;4(2):372-6.
67. Wang JG, Geddings JE, Aleman MM, Cardenas JC, Chanthammachart P, Williams JC, et al. Tumor-derived tissue factor activates coagulation and enhances thrombosis in a mouse xenograft model of human pancreatic cancer. *Blood* 2012;119(23):5543-52.

68. Fischer EG, Ruf W, Mueller BM. Tissue Factor-initiated Thrombin Generation Activates the Signaling Thrombin Receptor on Malignant Melanoma Cells. *Cancer Res.* 1995 Apr 15;55(8):1629-32.

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI**

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**MULTİPLE MYELOMA VE KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ TANILI
HASTALARDA TROMBİN JENERASYONU VE MİKROPARTİKÜL
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Uz.Dr. Yusuf BİLEN

Yandal Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 30.09.2010

Yandal Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 05.10.2013

Yandal Uzmanlık Sınavı Tarihi : 13.03.2014

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Fuat ERDEM

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Salim Başol TEKİN

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Kerim ÇAYIR

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Rahşan YILDIRIM


Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

**MART 2014
ERZURUM**