

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**PLAZMA HÜCRELİ MYELOM OLGULARINDA
KEMİK İLİĞİ BİYOPSİLERİNDE PLAZMA
HÜCRE YÜZDESİ, TUTULUM PATERNİ,
FİBROZİS VE MİKRODAMAR
YOĞUNLUĞUNUN PROGNOZ İLE İLİŞKİSİ**

DR. HAZAL İZOL

UZMANLIK TEZİ

İZMİR 2020

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**PLAZMA HÜCRELİ MYELOM OLGULARINDA
KEMİK İLİĞİ BİYOPSİLERİNDE PLAZMA
HÜCRE YÜZDESİ, TUTULUM PATERNİ,
FİBROZİS VE MİKRODAMAR
YOĞUNLUĞUNUN PROGNOZ İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HAZAL İZOL

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sermin Özkal

İÇİNDEKİLER

TABLO, GRAFİK VE RESİM LİSTESİ	iii
KISALTMALAR LİSTESİ	v
TEŞEKKÜR	vii
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1 PLAZMA HÜCRELİ NEOPLAZİ	7
2.1.1 Plazma Hücresi Gelişimi	7
2.1.2 Kemik İliği Mikroçevresi	8
2.1.3 Tanım	9
2.1.4 Epidemiyoloji.....	11
2.1.5 Etiyoloji	12
2.1.6 Lokalizasyon	12
2.1.7 Klinik Bulgular	12
2.1.8 Görüntüleme	13
2.1.9 Makroskopi	13
2.1.10 Morfolojik Bulgular	13
2.1.11 İmmunfenotip	15
2.1.12 Prognoz ve Prediktif Faktörler	15
2.1.13 Tedavi.....	18
2.2 FİBROZİS	20
2.3 ANJİOGENEZ.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1 Olguların Seçilmesi	25

3.2 Morfolojik Parametreler	25
3.3 Histokimyasal Bulgular	25
3.4 İmmünohistokimyasal Boyama	25
3.4.1 Kullanılan Belirteçler	25
3.4.2 İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi	25
3.4.3 İmmünohistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi	26
3.5 İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR	27
4.1 Olguların Klinik ve Morfolojik Özellikleri.....	27
4.2 Fibrozisin Klinik ve Patolojik Özellikler ile İlişkisi.....	45
4.3 Mikrodamar Yoğunluğunun Klinik ve Patolojik Özellikler ile İlişkisi.....	50
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇLAR.....	62
KAYNAKLAR:.....	63

TABLO, GRAFİK VE RESİM LİSTESİ

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 Sınıflaması'na Göre Plazma Hücreli Neoplaziler	10
Tablo 2. PHM İçin Diagnostik Tanı Kriterleri. Uluslararası Myelom Çalışma Grubu'nun [International Myeloma Working Group (IMWG)] Multiple Myelom Tanı Kriterlerinden Adapte Edilmiştir (1).	11
Tablo 3. Uluslararası Plazma Hücreli Myelom Evreleme Sistemi (International Staging System, ISS)	16
Tablo 4. Yeni Risk Modellemesi (R-ISS).....	17
Tablo 5. Myelomun Mayo Sınıflaması (45)	18
Tablo 6. Kemik iliği fibrozisi (KİF) dereceleme sistemi (12)	20
Tablo 7. Olguların Klinik Özellikleri	36
Tablo 8. Olguların Morfolojik Özellikleri	37
Tablo 9. Kemik İliği Tutulum Paterninin Evre ile Karşılaştırılması	43
Tablo 10. CD38 Pozitif Hücre Gruplarının Evre ile Karşılaştırılması.....	43
Tablo 11. CD38 Pozitif Hücre Gruplarının Tutulum Paterni ile Karşılaştırılması.....	44
Tablo 12. Kemik İliği Fibrozisinin Tutulum Paterni ile Karşılaştırılması.....	45
Tablo 13. Kemik İliği Fibrozisinin CD38 Pozitif Hücre Grupları ile Karşılaştırılması	47
Tablo 14. Kemik İliği Fibrozisinin Evre ile Karşılaştırılması	49
Tablo 15. MDY'nin Kemik İliği Fibrozisi (KİF) ile Karşılaştırılması	50
Tablo 16. MDY'nin Tutulum Paterni ile Karşılaştırılması.....	51
Tablo 17. MDY'nin CD38 Pozitif Hücre Grupları ile Karşılaştırılması	52
Tablo 18. MDY'nin Evre ile Karşılaştırılması	53
Grafik 1. Hastaların Genel Sağkalım Eğrisi	38
Grafik 2. Hastaların ISS Evresine Göre Sağkalım Eğrisi.....	39
Grafik 3. Hastaların Tutulum Paternine Göre Sağkalım Eğrisi.....	40
Grafik 4. Hastaların CD38 Pozitif Hücre Yüzdesi Gruplarına Göre Sağkalım Eğrisi	41
Grafik 5. Hastaların Kemik İliği Fibrozisi Derecelerine Göre Sağkalım Eğrisi	42
Grafik 6. Kemik İliği Fibrozisi Derecesine Göre Patern Dağılımı.....	46
Grafik 7. Kemik İliği Fibrozisi Derecesine Göre CD38 Pozitif Hücre Gruplarının Dağılımı	48
Grafik 8. Kemik İliği Fibrozisi Derecesine Göre ISS Evrelerinin Dağılımı	49

Grafik 9. Kemik İliği Fibrozisinin MDY ile Karşılaştırılması	50
Grafik 10. Kemik İliği Tutulum Paterninin MDY ile Karşılaştırılması	51
Grafik 11. CD38 Pozitif Hücre Gruplarının MDY ile Karşılaştırılması	52
Grafik 12. ISS Evresinin MDY ile Karşılaştırılması.....	53
 Şekil 1. B Hücrelerinin Pro B Hücrelerinden Plazma Hücrelerine Matürasyonu	8
 Resim 1. İnterstisyel Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x40).....	28
Resim 2. İnterstisyel Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x200).....	28
Resim 3. Nodüler Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x40)	29
Resim 4. Nodüler Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x200)	29
Resim 5. Diffüz Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x40).....	30
Resim 6. Diffüz Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x200).....	30
Resim 7. Kemik İliği Fibrozisi, Derece 0 (Retikülin histokimyası, x200)	31
Resim 8. Kemik İliği Fibrozisi, Derece 1 (Retikülin histokimyası, x200)	32
Resim 9. Kemik İliği Fibrozisi, Derece 2 (Retikülin histokimyası, x200)	32
Resim 10. Kemik İliği Fibrozisi, Derece 3 (Retikülin histokimyası, x200).....	33
Resim 11. Düşük Mikrodamar Yoğunluğu (CD34 immunhistokimyası, x400)	34
Resim 12. Yüksek Mikrodamar Yoğunluğu (CD34 immunhistokimyası, x40)	35

KISALTMALAR LİSTESİ

Ang 1 ve Ang 2: Anjiopoetin 1 ve 2
CC1: Cell Conditioning 1
CRP: C Reaktif Protein
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
ECM: Ekstrasellüler Matriks
FGF: Fibroblast Growth Factor
bFGF: basic Fibroblast Growth Factor
FISH: Floresan In Situ Hibridizasyon
HE: Hematoksilen-Eozin
HIF 1-alfa: Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha
Ig: İmmüoglobulin
IMiDs: Immunmodulator ilaçlar
IGF: Insulin like Growth Factor
IL6: İnterlökin-6
IMWG: International Myeloma Working Group
ISS: International Staging System
İHK: İmmunhistokimya
LDH: Laktat Dehidrogenaz
MDY: Mikrodamar Yoğunluğu
MGUS: Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance
MM: Multiple Myelom
MMP: Matriks Metalloproteinazı
NO: Nitrik Oksit
OKHT: Otolog Kök Hücre Transplantasyonu
PDGF: Platelet Derived Growth Factor
PHM: Plazma Hücreli Myelom
P.I.: Proteozom İnhibitörleri
R-ISS: Yeni Risk Modellemesi
SMM: Smoldering Multiple Myeloma
TGF-beta: Tissue Growth Factor-beta
TNF- α : Tumor Necrosis Factor-alfa

VEGF: Vascular Endotelial Growth Factor



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın oluşmasında büyük emeği geçen ve her konuda bana destek olan değerli hocam Prof. Dr. Sermin Özkal başta olmak üzere, uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocalarıma,

birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli asistan arkadaşlarıma, bölüm sekreterlerimize, teknisyenlerimize ve personelimize,

her konuda benden desteğini esirgemeyen aileme

Teşekkür ederim.

Dr. Hazal İzol



ÖZET

PLAZMA HÜCRELİ MYELOM OLGULARINDA KEMİK İLİĞİ BİYOPSİLERİNDE PLAZMA HÜCRE YÜZDESİ, TUTULUM PATERNİ, FİBROZİS VE MİKRODAMAR YOĞUNLUĞUNUN PROGNOZ İLE İLİŞKİSİ

Dr. Hazal İzol

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

İnciraltı/İZMİR 35340

Plazma hücreli myelom (PHM), kemik iliğinden kaynaklanan, plazma hücrelerinin multifokal neoplastik proliferasyonudur. PHM; anemi, serum ve/veya idrarda monoklonal protein varlığı, kemiklerde osteolitik lezyonlar, hiperkalsemi ve böbrek yetersizliği ile karakterli monoklonal bir hastalık olup hastalık riski yaşla birlikte, özellikle 50 yaşından sonra artar.

PHM tüm malignitelerin %1'ini, hematopoetik neoplazilerin %10-15'ini ve hematolojik malignitelerden ölümlerin %20'sini oluşturur.

Kemik iliği hemen hemen tüm PHM'lerin orijin aldığı yerdir ve monoklonal plazma hücre oranı çoğunlukla %10'nun üzerindedir. Ancak hastaların az bir kısmında bu oran daha düşük değerlerde olabileceğinden, oran için alt limit belirlemek her zaman geçerli bir kural olamamaktadır. Biyopsi bulguları sadece tanı için değil, hastanın prognozunu belirlemede de yardımcıdır.

Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda, 2015-2017 yılları arasında tanı alan 135 PHM olgusuna ait kemik iliği biyopsisi, plazma hücre yüzdesi ve tutulum paterni açısından yeniden değerlendirildi. Retikülin boyası olan 132 olguda fibrozis derecesi ve CD34 boyası olan 51 olguda mikrodamar yoğunluğu (MDY) belirlendi. Tüm bu morfolojik parametrelerin evre ve sağkalım durumu ile ilişkisi gösterildi.

Evre ile plazma hücre yüzdesi, tutulum paterni ve MDY ilişkili bulunurken ($p<0.001$, $p=0.001$, $p=0.011$); kemik iliği fibrozisi ilişkili bulunmadı ($p>0.05$). Plazma hücre yüzdesi arttıkça ($p<0.001$), tutulum paterni interstisyelden diffüze doğru değiştikçe ($p<0.001$) ve fibrozis derecesi arttıkça ($p=0.036$) MDY'nin arttığı saptandı. Cinsiyet, yaş, evre, plazma hücre yüzdesi, kemik iliği tutulum paterni, kemik iliği fibrozisi ve MDY ayrı ayrı sağkalım durumu ile karşılaştırıldığında, aralarında anlamlı ilişki bulunmadı.

Sonuç olarak yeni tanı alan vakalara ait kemik iliği biyopsilerinde rutin olarak plazma hücre yüzdesi, infiltrasyon paterni, fibrozis ve MDY'nin değerlendirilmesinin hastalık

prognozu ile ilişkili fikir verebileceği, tedavi seçiminde ve takibinde faydalı olabileceği düşünölmüştür.

Anahtar kelimeler: Plazma hücreli myelom, anjiogenez, fibrozis



ABSTRACT

THE RELATIONSHIP BETWEEN PROGNOSIS AND PLASMA CELL PERCENTAGE, INFILTRATION PATTERN, FIBROSIS AND MICROVESSEL DENSITY IN BONE MARROW BIOPSIES OF PLASMA CELL MYELOMA PATIENTS

Dr. Hazal İzol

**Dokuz Eylül University Medical Faculty Department of Pathology İnciraltı/İZMİR
35340**

Plasma cell myeloma (PCM) is a bone marrow based, multifocal neoplastic proliferation of plasma cells. PCM is a monoclonal disease characterized by the presence of anemia, monoclonal protein in the serum and/or urine, osteolytic lesions in the bones, hypercalcemia and renal failure; and the risk of disease increases with age, especially after the age 50.

PCM accounts for about 1% of malignant tumours, 10-15% of hematopoietic neoplasms, and 20% of deaths from hematological malignancies.

Bone marrow is the site of origin of nearly all PCMs and the proportion of monoclonal plasma cells is often above 10%. But since for a few number of patients this percentage might be lower, specifying a lower limit is not always a valid rule. Biopsy findings are helpful not only for diagnosing but also for determining the prognosis of the patient.

In this study, bone marrow biopsies of 135 PCM cases diagnosed between 2015-2017 at Dokuz Eylül University Medical Pathology Department were reevaluated in terms of plasma cell percentage and involvement pattern. Fibrosis was assessed in 132 cases with reticulin staining and microvessel density (MVD) in 51 cases with CD34 staining. The relation of these morphological parameters with stage and survival status was examined.

Plasma cell percentage, involvement pattern and MVD showed statistically significant correlation with stage ($p<0.001$, $p=0.001$, $p=0.011$), while bone marrow fibrosis was not correlated ($p>0.05$). It was found that as the percentage of plasma cells increased ($p<0.001$), as the involvement pattern changed from interstitial to diffuse ($p<0.001$) and as the degree of fibrosis increased ($p=0.036$); MVD increased. There was no significant relationship between survival status and sex, age, stage, percentage of plasma cells, bone marrow involvement pattern, bone marrow fibrosis and MVD.

The results suggest that evaluation of plasma cell percentage, infiltration pattern, fibrosis and MVD in bone marrow biopsies of newly diagnosed PCM cases may give an idea about disease progression and may be useful in the selection and follow-up of treatment.

Key words: plasma cell myeloma, angiogenesis, fibrosis



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Plazma hücreli myelom (PHM), kemik iliğinden kaynaklanan, plazma hücrelerinin multifokal neoplastik proliferasyonudur. Genellikle serum ve/veya idrarda M proteini ve organ hasarı ile ilişkilidir. Kemik iliği hemen hemen tüm PHM'lerin orijin aldığı yerdir ve çoğu olguda yaygın kemik iliği tutulumu vardır. Diğer organlar sekonder olarak tutulabilir. Hastalık asemptomatikten agresife kadar değişen bir klinik spektruma sahiptir. Tanı klinik, morfolojik, immünolojik ve radyolojik özelliklere dayanarak konulur (1).

PHM tüm malignitelerin %1'ini, hematolojik malignitelerin %10-15'ini ve hematolojik malignitelerden ölümlerin %20'sini oluşturur (2,3). Erkeklerde daha sıktır, erkek-kadın oranı 1.1:1'dir. Siyah popülasyonda beyaz popülasyondan 2 kat daha fazla görülür (3,4). Çocuklarda görülmez ve 30 yaşından küçüklerde oldukça nadirdir (5,6). Hasta yaşı arttıkça insidans artar, vakaların %90'dan fazlası 50 yaşından büyüktür. Tanı anında ortalama yaş 70'dir.

Birçok hasta için PHM tedavi edilemez progresif bir hastalıktır ancak yeni terapötik yaklaşımlar hayat kalitesini ve sağkalım süresini arttırmıştır (7). Sağkalım süresi 6 ay ile 10 yıl arasında değişmektedir (ortalama 5.5 yıl) (8). 70 yaşından büyükler, komorbiditesi olanlar ve performans statüsü zayıf olanların prognozu daha kötüdür. Uluslararası evreleme sistemi (International Staging System, ISS) tedavi öncesi serum beta 2 mikroglobulin ve albümin seviyelerine dayanır (9). Özellikle otolog kök hücre transplantasyonunu takip eden, flow sitometri ile tespit edilen tedavi yanıtı, hastalısız ve genel sağkalımı öngörür (10,11).

Myelofibroz kemik iliği stromasında sitokinlerle hazırlanmış bir olaydır. Otoimmün granülatöz hastalıklarda, neoplastik hastalıklarda reaktif olarak ortaya çıkabilir. Myelofibrozun derecesini skorlama, patoloğun subjektif değerlendirmesine dayanır (12).

Tedavi öncesi kemik iliğinde fibrozis saptanması PHM'li hastalarda % 8.8 ile % 20.9 arasında değişen bir oranda görülmektedir (13,14), bu oran farklı çalışmalarda %10-30 arasında olarak bildirilmektedir (15,16).

Kemik iliği fibrozisinin derecesi plazma hücre infiltrasyon miktarı ile uyumludur ve prognostik önem taşımaktadır. PHM'de kemik iliğinde interstisyel fibrozis genellikle fokaldır ve plazma hücre infiltrasyon alanlarına sınırlıdır (15).

Anjiyogenez var olan damarlardan yeni damar oluşumu ile karakterize çok basamaklı bir süreçtir. Büyüme, doku tamiri gibi fizyolojik ve kanser gibi patolojik süreçlerde gerçekleşebilir. Son yıllarda PHM de dahil birçok hematolojik malignitede, kemik iliğinde

artmış anjiogenez gösterilmiştir. Kemik iliği anjiogenezi PHM hastalarında hastalık progresyonu ve prognoz ile ilişkilidir (17).

Bu çalışmanın amacı Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda, 2015-2017 yılları arasında tanı alan PHM olgularına ait kemik iliği biyopsilerini plazma hücre yüzdesi, tutulum paterni, fibrozis derecesi ve anjiogenez açısından yeniden değerlendirmek ve bunların klinik prognostik belirteçler ile olan ilişkisini göstermektir.



2. GENEL BİLGİLER

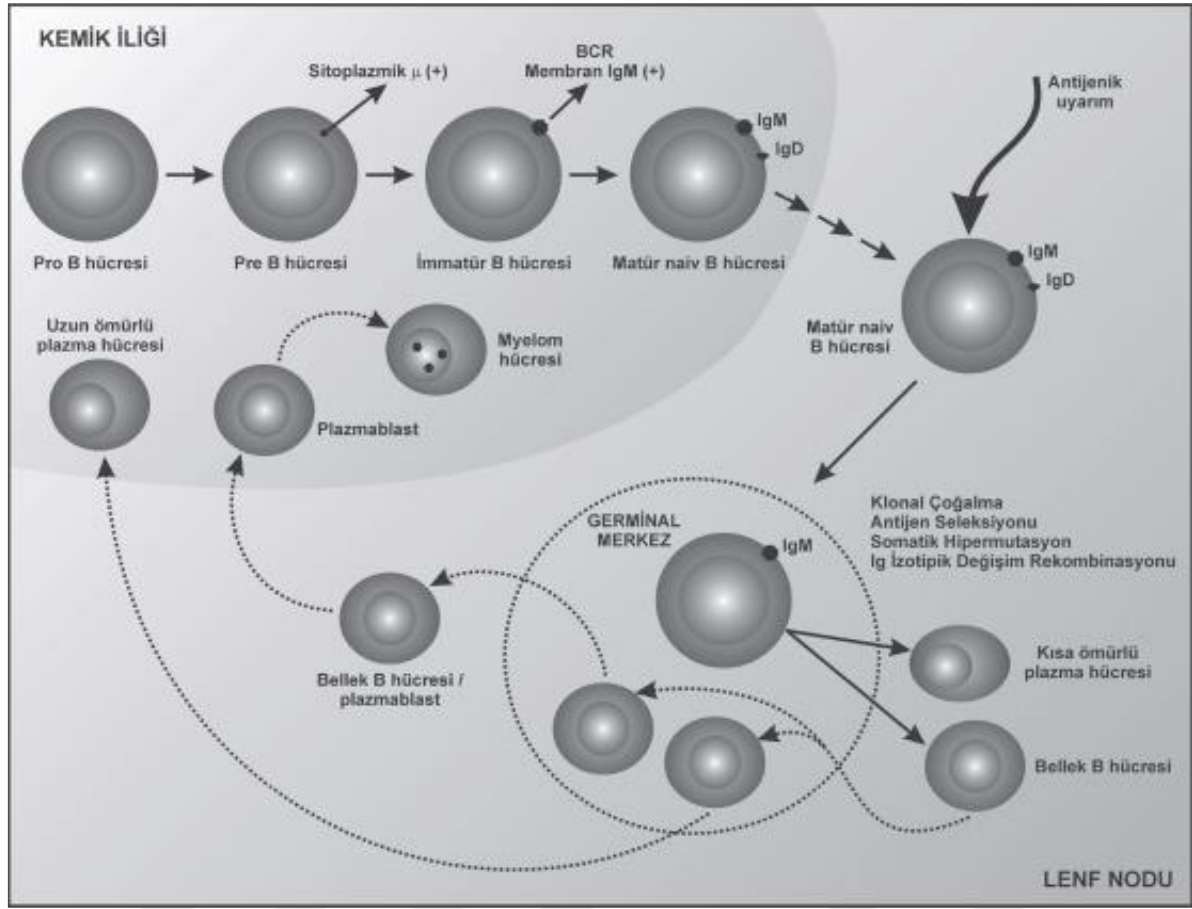
2.1 PLAZMA HÜCRELİ NEOPLAZİ

2.1.1 Plazma Hücresi Gelişimi

Kemik iliğinde, pluripotent hematopoetik kök hücreden, öncül lenfoid kök hücre gelişir. Bilinen en öncül lenfoid hücre pro-B hücresidir. Pro-B hücrelerinde Ig ağır zincir gen düzenlenmesi oluştuktan sonra bu hücre pre-B hücresi adını alır. Pre-B hücrelerinde sitoplazmik IgM ağır zinciri tespit edilebilir. Bunu hafif zincir gen düzenlenmesi izler. Pre-B hücreleri hafif zincir olarak öncelikle Kappa'yı (κ) oluşturmaya çalışır. Kappa'yı oluşturmamayan hücrelerde Lambda (λ) yapımı görülür. Hafif zincir gen düzenlenmesi ve Ig hafif zincir yapımı sonrası B hücre membranında ilk kez IgM saptanabilir. Membranda IgM saptanan bu hücre immatür B hücresidir. Bu hücrelerde IgM'den sonra IgD'nin de açığa çıkmasıyla matür naiv B hücreler oluşur. Matür naiv B hücresi antijenle karşılaşmamış B hücresidir. IgM ve IgD pozitif matür naiv B hücresi kemik iliğinden ayrılıp periferik kana geçer ve periferik kandaki B lenfositlerinin çoğunluğunu (%60-70) oluşturur. Naiv B hücreleri lenfoid dokuya girip antijenlerle aktive olunca bellek B hücrelerine dönüşürler. Bellek B hücreleri ise lenf nodu içerisinde primer foliküllere gelince, folliküler dendritik hücrelerce sunulan antijenle karşılaşılır ve sekonder yanıt gelişir. Bu aşamada primer folliküller de germinal merkez içeren sekonder folliküllere dönüşürler. Burada bir antijenle uyarılan bellek B hücreleri sentroblastlara dönüşürler ve yüksek afiniteli antikörlerin sentezi gerçekleşir. Sentroblastlar sentrositlere farklılaşır ve yüzey Ig ifade ederler. Folliküler dendritik hücreler ve T hücreleri ile etkileşim sonucu sentrositler ya bellek B hücrelerine ya da plazma hücrelerine dönüşürler. Germinal merkezde üretilen plazma hücreleri periferik kana ve oradan da kemik iliğine geçer (

)(18–23).

Şekil 1. B Hücrelerinin Pro B Hücrelerinden Plazma Hücrelerine Matürasyonu (20).



B hücreleri humoral immüniteden, antikor yapımından sorumludur. Antikorlar immünoglobulin yapısındadır. Antijenik uyarıma karşı B hücreleri, antikor yapan plazma hücrelerine farklılaşırlar. 5 tür Ig bulunur. Farkı oluşturan ağır zincir kısmıdır. IgG, IgA, IgM, IgD ve IgE, moleküllerinde ağır zincir olarak sırasıyla γ , α , μ , δ , ϵ , ağır zincirleri bulunur. B hücreleri tarafından pre B hücrelerinde ilk sentezlenen sitoplazmik μ 'dür. Hafif zincirin yapılması sonrası ilk oluşan Ig olan IgM membran immunoglobulin'i olarak yer alır (20).

Kemik iliğindeki normal bir plazma hücresinin yaşama süresi yaklaşık bir aydır ve kemik iliğindeki plazma hücre oranı %5 civarındadır. Plazma hücreli neoplazilerde bir plazma hücre kolonunun baskınlığı ve tek bir Ig'nin aşırı üretimi söz konusudur (20).

2.1.2 Kemik İliği Mikroçevresi

Germinal merkezde Ig izotipik değişimini gerçekleştirmiş geç evre bellek B hücresi/plazmablast, ilk onkogenik etkinin ortaya çıktığı premyelom (öncül myelom) hücresidir. Daha sonra kemik iliğine yerleşen bu hücrede kemik iliği ortamında ikinci

onkogenik etki ortaya çıkmaktadır. Kemik iliği mikroçevresi, premyelom hücresinin ilik stroma hücreleri ve hücre dışı matriks ile ilişkileri plazma hücreli neoplazi gelişimi için büyük önem taşımaktadır. In vitro çalışmalar kemik iliği mikroçevresinde myelom hücresi-stroma hücreleri temasının sitokin salgılanmasını uyardığını göstermiştir. Kemik iliği stroma hücreleri, osteoblast ve ostoklastlar başta interlökin-6 (IL6, myelom büyüme faktörü) olmak üzere Tumor Necrosis Faktor-alfa (TNF- α), Insulin like Growth Factor -1(IGF- 1), Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF) salgılayarak myelom gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar. Myelom hücrelerinin kemik iliği ortamında IL-1 β salgılayarak myelomun ilerlemesinde rol oynadığı da ileri sürülmektedir. Myelom gelişiminde rol oynayan esas sitokin, kuşkusuz kemik iliği ve serumda diğerlerine göre çok daha yoğun bulunan IL-6'dır. Anti IL-6 monoklonal antikorların myelom hücre proliferasyonunu engelleyici etkisi klinik olarak da gösterilmiştir. Normal B hücre matürasyonunda, diferansiyasyon-farklılaşma faktörü olarak iş gören IL-6, myelom hücrelerine proliferasyon faktörü olarak etki göstermektedir. Myelomda sitokin sekresyonuna bağlı olarak anjiogenez de artmıştır (20,23,24).

2.1.3 Tanım

Plazma hücreli neoplaziler (diskraziler) kemik iliğinde immünoglobülin salgılayan diferansiye B hücrelerinin (plazma hücreleri) monoklonal artışı ile karakterli, küratif tedavisi olmayan bir grup hastalığı kapsamaktadır (

Tablo 1)(25). PHM, kemik iliğinden kaynaklanan, plazma hücrelerinin multifokal neoplastik proliferasyonudur. Genellikle serum ve/veya idrarda M proteini ve organ hasarı ile ilişkilidir. Kemik iliği hemen hemen tüm PHM'lerin orijin aldığı yerdir ve çoğu olguda yaygın kemik iliği tutulumu vardır. Diğer organlar sekonder olarak tutulabilir. Hastalık asemptomatikten agresife kadar değişen bir klinik spektruma sahiptir. Tanı klinik, morfolojik, immünolojik ve radyolojik özelliklere dayanarak konulur. Tanısal kriterler



'de listelenmiştir (1).



Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 Sınıflaması'na Göre Plazma Hücreli Neoplaziler

1- Önemi belirsiz monoklonal gammopati, IgM olmayan [monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS)]
2- Plazma hücreli myelom
3- Plazma hücreli myelom varyantları - Sessiz-sinsi myelom [smoldering multiple myeloma (SMM)] - Sekretuar olmayan myelom - Plazma hücreli lösemi
4- Plazmositom - Kemiğin soliter plazmasitomu - Kemik dışı (ekstramedüller) plazmasitom
5- İmmünglobulin depo hastalıkları - Primer amiloidozis - Sistemik hafif ve ağır zincir depo hastalıkları
6- Paraneoplastik sendromlarla ilişki plazma hücreli neoplaziler - POEMS sendromu - TEMPI sendromu (provizyonel)

Tablo 2. PHM İçin Diagnostik Tanı Kriterleri. Uluslararası Myelom Çalışma Grubu'nun [International Myeloma Working Group (IMWG)] Multiple Myelom Tanı Kriterlerinden Adapte Edilmiştir (1).

Kemik iliği klonal plazma hücre oranı $\geq$%10 veya biyopsi ile kanıtlanmış kemik kaynaklı veya ekstremiteler plazmositom ve myelom tanımlayıcı olay varlığı: • En az bir veya daha fazla CRAB belirti veya bulgusunun olması veya • En az bir veya daha fazla SLiM kriterinin bulunması
CRAB belirti ve bulguları: • (C) Artmış serum kalsiyum düzeyi: Serum kalsiyumunun laboratuvar üst limitinin en az 1 mg/dL üzerinde olması veya serum kalsiyumunun 11 mg/dL'nin üzerinde olması, • (R) Böbrek yetmezliği: Kreatinin klirensinin 40 mL/dk'nın altında olması veya serum kreatininin 2 mg/dL'nin üzerinde olması, • (A) Anemi: Hemoglobin düzeyinin normalin alt limitinin en az 2 g/dL altında olması veya hemoglobin düzeyinin 10 g/dL'nin altında olması, • (B) Kemik lezyonları: Direkt grafide, tüm vücut BT veya PET-BT'de bir veya daha fazla osteolitik lezyonun olması
SLiM kriterleri: • (S) Kemik iliği klonal plazma hücre oranı $>$%60, • (Li) Etkilenen/etkilenmeyen serum serbest hafif zincir oranı $>$100*, • (M) Tüm vücut MR'de birden fazla 5 mm veya daha büyük odaksal lezyon varlığı

*Etkilenen serbest hafif zincir düzeyi 10 mg/dL'nin üzerinde olmalıdır, MR: Manyetik rezonans, PET-BT: Pozitron emisyon tomografisi-bilgisayarlı tomografi.

2.1.4 Epidemiyoloji

Plazma hücreli myelom, tüm malign tümörlerin %1'ini, hematolojik malignitelerin %10-15'ini ve hematolojik malignitelerden ölümlerin %20'sini oluşturur (2,3). Amerika Birleşik Devletleri'nde 2015 yılında yapılan bir araştırmaya göre 26.000 yeni vakanın plazma hücreli myelom tanısı aldığı ve 11.000'den fazla vakanın da plazma hücreli myelomdan

öldüğü saptanmıştır (4). Erkeklerde daha sıktır, erkek-kadın oranı 1.1:1'dir. Siyah popülasyonda beyaz popülasyondan 2 kat daha fazla görülür (3,4). Çocuklarda görülmez ve 30 yaşından küçüklerde oldukça nadirdir (26). Hasta yaşı arttıkça insidans artar, vakaların %90'dan fazlası 50 yaşından büyüktür. Tanı anında ortalama yaş 70'dir.

2.1.5 Etiyoloji

Enfeksiyon veya kronik hastalıklara bağlı kronik antijenik stimülasyon, spesifik toksik maddelere maruziyet veya radyasyon artmış PHM insidansı ile ilişkilidir. Ancak hastaların çoğunda saptanabilir bir toksik maruziyet ya da kronik antijenik stimülasyon yoktur (27). Hemen hemen tüm PHM'ler MGUS zemininde gelişir (6,28).

2.1.6 Lokalizasyon

Yaygın veya multifokal kemik iliği tutulumu tipik olarak vardır. Genellikle aktif hematopoezin olduğu bölgelerde litik kemik lezyonları ve fokal tümöral plazma hücre kitleleri de izlenir. Ekstramedüller tutulum, genellikle ilerlemiş hastalık göstergesidir (19,29).

2.1.7 Klinik Bulgular

Çoğu hastada PHM ilişkili son organ hasarı vardır ve bu şu şekillerde kendini gösterir: hiperkalsemi, renal yetmezlik, anemi ve kemik lezyonları (CRAB). Renal yetmezlik monoklonal hafif zincir proteinürisine bağlı tübüler hasara; anemi ise kemik iliği tutulumu ve renal hasara bağlı olarak gelişir. Kemik ağrısı ve hiperkalsemi, litik lezyonların ve osteoporozun sonucudur. Bunun haricinde enfeksiyon (genellikle normal Ig üretiminin azalmasına bağlı olarak), kanama, spinal kord kompresyonuna veya periferik nöropatiye bağlı nörolojik manifestasyonlar gelişebilir. Fizik muayene bulguları genellikle nonspesifiktir. Ekstramedüller plazmositom veya amiloidoza bağlı kitle veya organomegali hastaların %10'unda vardır. Plazma hücre infiltratlarına bağlı cilt lezyonları ve purpura nadiren izlenir (3).

M proteini, olguların yaklaşık %97'sinde serumda veya idrarda saptanır: bunların %50'si IgG, %20'si IgA, %20'si hafif zincir ve <%10'u ise IgD, IgE ve IgM'dir. Hastaların %90'ında poliklonal Ig'de düşme vardır. Diğer laboratuvar bulguları hiperkalsemi, artmış kreatinin, hiperürisemi ve hipoalbuminemi (3,9).

2.1.8 Görüntüleme

Vakaların %70'inde görüntüleme yöntemleri ile belirtilen kemik lezyonları vardır (3,30). En sık olarak litik lezyonlar izlenir; ancak osteoporoz, patolojik kırık, vertebral kompresyon kırıkları da izlenebilir. Lezyonların en sık yerleşim yeri vertebra, kaburga, kafatası, omuz, pelvis ve uzun kemiklerdir (31).

2.1.9 Makroskopi

Makroskopik olarak izlenebilen kemik lezyonları yumuşak, jelatinöz, balık eti kıvamında, hemorajik görünümündedir (29).

2.1.10 Morfolojik Bulgular

2.1.10.1 Kemik İliği Biyopsisi

Plazma hücreleri normal kemik iliği hücrel popülasyonunun %0,5-4'ünü oluşturmaktadır. Kemik iliği hacminin %30'u plazma hücrelerinden oluştuğunda myelomdan söz edilir; ancak nadir vakalarda, reaktif plazmositozda da bu seviyelere ulaşılabilir. Plazma hücre oranı %30'dan az olsa bile, normal kemik iliği elemanlarının yerini alan, plazma hücrelerinden oluşan bir tümöral kitle kuvvetli olarak PHM tanısını destekler (32).

Normal plazma hücreleri, interstisyel alanda dağınık ve arterioller çevresinde dizilim gösterirken, monoklonal plazma hücreleri interstisyel, küçük kümeler, fokal nodüller ya da diffüz tabakalar halinde dağılabilir (33,34). İnterstisyel paternde plazma hücreleri küçük kümeler oluşturur ve normal hematopoetik hücrelerin arasında dağılır. Bu paternde hematoxilen-eozin (HE) boyasında plazma hücrelerini seçmek zordur ve immunhistokimyasal (İHK) boyamalar gerekmektedir. Nodüler paternde plazma hücreleri normal hematopoetik hücrelerin ve yağ hücrelerinin yerini alır ve belirgin nodüler lezyon oluşturur. Bu nodüller kemik iliğinde dağınık yerleşim gösterir. İnterstisyel ve nodüler tutulumda genellikle normal hematopoez korunur. Diffüz paternde çok sayıda plazma hücresi kemik iliğini diffüz olarak infiltre eder ve bu paternde hematopoez belirgin olarak azalabilir (32). Hastalığın ileri evrelerinde, erken evre PHM'deki interstisyel ve fokal hastalıktan diffüz tutulumla progresyon olabilir (33). Bazı vakalarda belirgin osteoklastik aktivite dikkati çeker.

İHK, plazma hücrelerini göstermek, monoklonal proliferasyonu konfirme etmek ve PHM'yi diğer neoplazilerden ayırt etmekte faydalıdır. CD38 ve CD138 ile boyanma plazma

hücrelerini gösterir; Ig kappa ve lambda hafif zincirleri ile de klonalite gösterilebilir (35,36). CD56, CD20, CD10 ve CD117 neoplastik plazma hücrelerini saptamada kullanılabilir (32).

2.1.10.2 Kemik İliği Aspirasyonu

Aspirasyon yaymalarında plazma hücrelerinin oranı hafif artmıştan, %90'dan fazla orana kadar değişebilir. Myelom plazma hücreleri matür, immatür, plazmablastik ve pleomorfik hücrelerden oluşabilir (33). Matür plazma hücreleri genellikle ovaldir, eksantrik nükleusludur, tekerlek şeklinde kromatini vardır ve nükleolü yoktur. Sitoplazma genellikle bazofiliktir. İmmatür formlarda nükleer kromatin daha dağınıktır, nükleus:sitoplazma oranı yüksektir ve genellikle nükleol belirgindir. Vakaların %10'u plazmablastik morfolojiye sahiptir (37). Bazı vakalarda ise multinükleer, multilobule, pleomorfik plazma hücreleri belirgindir (33). Nükleer immatürite ve pleomorfizm reaktif plazma hücrelerinde çok nadir olduğundan, bu bulgular bu hücrelerin neoplastik olduğunu göstermede güvenilir ipuçlarıdır.

Myelom hücreleri endoplazmik retikulumdan zengin olup, kristalize ve kondanse immünoglobulin sentezlemektedir. Aşırı immünglobulin birikimine bağlı olarak sitoplazmada mavi-beyaz renkte, üzüm salkımına benzer görünüme sahip "*Mott hücreleri*" veya "*Morula hücreleri*"; kırmızı-pembe renkte yuvarlak sitoplazmik "*Russell cisimcikleri*"; glikojenden zengin IgA birikimine bağlı "*Flame hücreleri*"; fibriler görünümde "*Gaucher hücreleri*" ve plazma hücreli myeloma spesifik olan "*çubuk görünümünde kristalin birikimi*" ile karakterli inklüzyonlar izlenebilmektedir (19,29).

2.1.10.3 Periferik Kan Bulguları

Kan yaymalarındaki en dikkat çekici bulgu rulo formasyonudur ve M proteini miktarına ve tipine bağlıdır. Bazı vakalarda lökoeritroblastik tablo oluşabilir. Vakaların %15'inde kan yaymalarında plazma hücreleri olur. Belirgin plazmositoz plazma hücreli lösemi bulgusudur (19).

2.1.10.4 Böbrek Bulguları

Renal tübüllerin lümenlerinde eozinofilik agregatlar şeklinde Bence Jones proteinleri birikir. Bu proteinlerin reabsorbsiyonu PHM'deki renal hasardan esas sorumlu mekanizmadır (19).

2.1.11 İmmunfenotip

Neoplastik plazma hücreleri monotipik sitoplazmik Ig'ye sahiptir ve genellikle yüzeyinde Ig bulundurmaz. Hücreler tipik olarak CD38 ve CD138 eksprese eder (38). Normal plazma hücrelerinin aksine CD45 negatiftir ya da düşük seviyelerde eksprese edilir, CD19 %95 olguda negatiftir. Sıklıkla CD27 ve CD81 ekspresyonu da olmaz (38–40). Normal plazma hücrelerinde olmayan antijenlerin aberran ekspresyonu %95 vakada izlenir (39). Bu antijenler CD56, CD200, CD28, CD117, CD20, CD52, CD10, myeloid, monositik ve kök hücre ilişkili antijenlerdir (38,39,41–43). İHK ile artmış MYC ekspresyonu saptanabilir. T(11;14)(q13;q32)(IGH/CCND1) translokasyonu içeren ve bazı hiperdiploidli olgularda Cyclin D1 eksprese olabilir (44,45).

İmmunfenotipin prognozu gösterdiğine dair görüşler vardır. CD19, CD28, CD200 ekspresyonu, CD45 ve CD117 ekspresyon kaybı, CD27'nin az eksprese olması agresif hastalıkla ilişkilidir, ancak bu belirteçlerin hiçbirisi henüz bağımsız prognostik öneme sahip değildir (40,46,47).

2.1.12 Prognoz ve Prediktif Faktörler

Birçok hasta için PHM tedavi edilemez progresif bir hastalıktır ancak yeni terapötik yaklaşımlar hayat kalitesini ve sağkalım süresini arttırmıştır (7). Sağkalım süresi 6 ay ile 10 yıl arasında değişmektedir (ortalama 5.5 yıl) (8). 70 yaşından büyükler, komorbiditesi olanlar ve performans statüsü zayıf olanların prognozu daha kötüdür. ISS tedavi öncesi serum beta 2 mikroglobulin ve albümin seviyelerine dayanır (Tablo 3)(9). Özellikle otolog kök hücre transplantasyonunu takip eden, flow sitometri ile tespit edilen tedavi yanıtı, hastalıksız ve genel sağkalımı öngörür (10,11).

Tablo 3. Uluslararası Plazma Hücreli Myelom Evreleme Sistemi (International Staging System, ISS)

Evre	Kriterler	Ortalama Sağkalım (ay)
I	Serum B2 mikroglobulin düzeyi <3,5 mg/L ve serum albümin düzeyi $\geq$ 3,5 g/dL	62
II	ISS evre 1 ve evre 3 kriterlerinin sağlanmaması	44
III	Serum B2 mikroglobulin düzeyi $\geq$ 5,5 mg/L	39

Genetik prognozu göstermede önemlidir ve ISS ile kombine edilir (R-ISS)(Tablo 4) (17). Genetik risk sınıflaması FISH bulgularına dayanır ve vakaları standart, orta ve yüksek riskli olmak üzere gruplandırır (24). Yüksek riskli myelomların en önemli genetik göstergesi 17p/TP53 sekansının delesyonu ve MAF translokasyonlarıdır (

). Kötü prognostik olduğu bildirilen diğer özellikler azalmış poliklonal serum Ig'leri, artmış LDH, yüksek CRP, kemik iliğinin yüksek oranda tutulması, plazmablastik morfoloji ve artmış serum IL6 reseptör düzeyleridir (33,37,48,49).

Tablo 4. Yeni Risk Modellemesi (R-ISS)

ISS evre gruplarına ek olarak Interfaz FISH ile kromozomal anomaliler: - Yüksek risk: del 17p varlığı ve/veya t(4;14) varlığı ve/veya t(14;16) varlığı - Standart risk: Yüksek risk sitogenetik anomalilerin yokluğu LDH: - Normal: Laboratuvar üst limitinin altında serum LDH düzeyi - Yüksek: Laboratuvar üst limitinin üstünde serum LDH düzeyi		
Evre	Kriterler	Ortalama Sağkalım (ay)
I	ISS evre 1 ve iFISH ile standart risk kromozomal anomaliler ve normal LDH	Ortanca sağkalıma erişilememiş
II	R-ISS evre 1 ve evre 3 kriterlerinin sağlanmaması	83 ay

III	ISS evre 3'e ek olarak ya iFISH ile yüksek risk kromozomal anomaliler ya da yüksek LDH varlığı	43 ay
-----	---	-------



Tablo 5. Myelomun Mayo Sınıflaması (24)

Standart risk (%60)	Orta risk (%20)	Yüksek risk (%20)
t(11;14)	t(4;14)	Del 17p
t(6;14)	Del 13	t(14;16)
Hiperdiploidi	Hipodiploidi	t(14;20)
Diğerleri		GEP yüksek risk imzası
OS: 8-10 yıl	OS: 4-5 yıl	OS: 3 yıl
GEP: gen ekspresyon profili, OS: overall survival (genel sağkalım)		

Plazma hücre infiltrasyon oranı: Tanı anı kemik iliği biyopsilerinde plazma hücre infiltrasyon oranı arttıkça sağkalım süresinin kısaldığı bilinmektedir. Buna göre plazma hücre infiltrasyon oranı <%20 ise ortalama sağkalım süresi 53 ay; %20-50 ise 25 ay; >%50 ise 15 ay olarak belirtilmiştir (33).

Plazma hücre infiltrasyon patterni: Prognozun interstisyel fokal tutulumdan diffüz infiltrasyona doğru ilerledikçe kötüleştiğini bildiren yayınlar mevcuttur (33).

Plazma hücre morfolojisi: Daha önce tanımlandığı gibi matür plazma hücre morfolojisinden plazmablastik morfolojiye doğru ilerledikçe prognozun kötüleştiği saptanmıştır (33).

Yüksek plazma hücre proliferasyon indeksi (Ki-67), ağır fibrozis, amiloidozis ve sekonder neoplazi (plazma hücreli lösemi) diğer kötü prognostik belirteçlerdir.

2.1.13 Tedavi

PHM’li genç hastalarda (<65 yaş) ya da performans skoru yüksek olan ileri yaş hastalarda (>65 yaş), yüksek doz kemoterapi ve otolog kök hücre transplantasyonu (OKHT) standart tedavi olarak uygulanmaktadır. OKHT tam remisyon oranlarını artırmakta, progresyonsuz ve genel sağkalımı uzatmaktadır. Kök hücre nakline uygun olmayan hastalar için performans, komorbid hastalıklar ve tedavilerin komplikasyonları göz önünde bulundurularak uygun tedavi seçimi yapılmalıdır. OKHT için uygun olmayan hastalarda tedavi seçeneği önceden alkileyici ajanlarla kemoterapi iken günümüzde immunmodulator ilaçlar (IMiDs; thalidomide, lenalidomide gibi) ve proteozom inhibitörleri (P.I.; bortezomib, kafilzomib gibi) kullanılmaktadır PHM’de 1980’lerin başına kadar ortalama yaşam süresi yaklaşık 2 yıl iken birleşik ilaç kemoterapileri, kök hücre destekli yüksek doz kemoterapi ve

immunomodulator ilaçlar, proteozom inhibitörleri, immunoterapiler (anti CD38 antikoru Daratumumab) gibi yeni tedavi seçeneklerinin ortaya çıkmasıyla 10 yılı aşan yaşam süreleri elde etmek mümkün olmuştur (50).



2.2 FİBROZİS

Myelofibrozis kemik iliği stromasında sitokin aracılığıyla gelişen bir süreçtir. Otoimmün, granümatöz ve neoplastik hastalıklarda reaktif olarak ortaya çıkabilir.

Kemik iliği fibrozisi megakaryositlerden salınan TGF-beta aracılığıyla meydana gelir, ancak başka hücreler, sitokinler ve büyüme faktörleri de rol oynamaktadır. Kemik iliği stromal mikroçevresi hücreler, yapısal fibriller ve ekstrasellüler matriksten (ECM) oluşmaktadır. En sık görülen yapısal lifler; kollajen, retikülin, laminin ve fibronektindir. Hücresel komponent makrofajları, fibroblastik hücreleri, adipositleri ve endotel hücrelerini içerir. Kemik iliği kollajeni esas olarak tip I ve tip III kollajenden oluşmaktadır (51).

Kemik iliği biyopsilerinde stromal yapısal fibriller, retikülin ve trikrom boyaları ile saptanır. Artmış retikülin fibrozisi birçok benign ve malign süreç ile ilişkiliyken, artmış kollajen fibrozisi şiddetli myeloproliferatif hastalıkların geç evresi ya da kemik iliğine tümör metastazı ile ilişkilidir (51).

Kollajen fibrozis olmaksızın retikülin fibrozisi oluşumu Hairy Cell Lösemi, HIV enfeksiyonu, pulmoner hipertansiyon, visseral leşmanyaz, hematopoetik büyüme faktörleriyle tedavi durumlarında görülür. Bununla beraber birçok hastalıkta hem retikülin lif hem de kollajen lif beraber artabilir. Malign hastalıklar, kronik idiyopatik myelofibrozis, akut lösemi, lenfoproliferatif hastalıklar, plazma hücreli myelom, tüberküloz, diğer granümatöz hastalıklar, yaygın myelofibrozisin görüldüğü hastalıklara örnektir (51).

Myelofibrozisin derecesini skora, patoloğun subjektif değerlendirmesine dayanır. Bu değerlendirme Avrupa Konsensus Metodu'na göre 4 kategori halinde yapılmaktadır: derece 0: lif artışı olmayan kemik iliği, derece 1: hafif lif artışı olan kemik iliği, derece 2: orta derecede lif artışı olan kemik iliği, derece 3: yoğun lif artışı olan kemik iliği (12).

Tablo 6. Kemik iliği fibrozisi (KİF) dereceleme sistemi (12)

Derece	Tanım
KİF 0	Dağınık, birbiri ile çaprazlaşmayan lineer retikülin
KİF 1	Özellikle perivasküler alanlarda, birbiriyle çaprazlaşan gevşek retikülin ağı
KİF 2	Belirgin çaprazlaşma gösteren retikülinde diffüz ve yoğun artış, yer yer fokal kollajen bantlar ve/veya osteoskleroz
KİF 3	Belirgin çaprazlaşma gösteren retikülinde diffüz ve yoğun artış, kaba kollajen bantlar ve sıklıkla osteoskleroz

PHM, proliferatif aktivitesi ve osteoklast aktive edici sitokin salgılaması nedeniyle genellikle yaygın osteopeniye ve iskelet kemiği erozyonlarına neden olur ve bunun sonucunda da patolojik kırıklar meydana gelir. Daha nadir olarak PHM dikkat çekici kemik sklerozu ya da kemik iliği fibrozisi ile ilişkili olabilir (52).

Tedavi öncesi kemik iliğinde fibrozis saptanması myelomlu hastalarda % 8.8 ile % 20.9 arasında değişen bir oranda görülmektedir (13,14), bu oran farklı çalışmalarda %10-30 arasında olarak bildirilmektedir (15,16).

Kemik iliği fibrozisinin derecesi plazma hücre infiltrasyon miktarı ile uyumludur ve prognostik önem taşımaktadır. Myelomda kemik iliğinde intertisyel fibrozis genellikle fokaldır ve plazma hücre infiltrasyon alanlarına sınırlıdır (15).



2.3 ANJİOGENEZ

Anjiogenez var olan damarlardan yeni kan damarı oluşum sürecidir. Hasarın iyileşmesinde, iskemi yerinde kollateral sirkülasyon gelişiminde ve tümör boyutunun büyümesinde kritik öneme sahiptir. Anjiogenezin altında yatan mekanizmaları anlamak ve anjiogenez sürecini arttırmaya (örneğin, koroner aterosklerozda kalbe kan akımını arttırmak) ya da inhibe etmeye (örneğin, tümör büyümesini engellemek veya diyabetik retinopatideki patolojik damar büyümesini bloklamak) yönelik tedavileri geliştirmek için birçok çalışma yapılmaktadır.

Anjiogenez şu basamakları içermektedir:

- Nitrik oksite (NO) yanıt olarak vazodilatasyon ve VEGF tarafından indüklenen artmış damar geçirgenliği
- Perisitlerin luminal olmayan yüzeyden ayrılması, bazal membranın parçalanması ve damar tomurcuklarının oluşumu
- Endotelial hücrelerin doku hasarının olduğu alana migrasyonu ve proliferasyonu
- Matür damarları oluşturmak için periendotelial hücrelerin toplanması (küçük kapillerler için perisitler ve büyük damarlar için düz kas hücreleri)
- Endotel proliferasyonu ve migrasyonunun baskılanması ve bazal membran depozisyonu.

Anjiogenez sürecine bazı sinyal yolları, hücre-hücre etkileşimleri, ECM proteinleri ve doku enzimleri dahil olur.

Büyüme faktörleri: VEGF'ler, özellikle VEGF-A, endotelial hücrelerin hem migrasyonunu hem de proliferasyonunu stimüle eder, böylece kapiller tomurcuklanma başlar. NO'yu stimüle ederek vazodilatasyona ve vasküler lümen oluşumuna neden olur. Fibroblast büyüme faktörleri (FGF'ler), özellikle FGF-2, endotelial hücre proliferasyonunu uyarır. Ayrıca makrofajların ve fibroblastların hasarlı alana migrasyonunu tetikler. Anjiopoetin 1 ve 2 (Ang 1 ve Ang 2) anjiogenezde ve yeni damarların yapısal matürasyonunda rol alan büyüme faktörleridir. Platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF) ve doku büyüme faktörü beta (TGF-beta) da bu stabilizasyon sürecine dahil olur. PDGF düz kas hücrelerinin toplanmasını, TGF beta ise endotel migrasyonunun ve proliferasyonunun inhibisyonunu sağlar.

Notch sinyal yolağı: VEGF ile birlikte yeni damarların dallanmasını ve tomurcuklanmasını kontrol eder.

ECM proteinleri: Endotel hücrelerindeki integrinler ile etkileşime girer ve yeni oluşan damarların stabilizasyonunda görev alır.

Enzimler: ECM'deki enzimler, özellikle matriks metalloproteinazları (MMP), ECM'yi degrade eder, böylece vasküler tüplerin yeniden şekillenmesi ve genişlemesi/uzaması sağlanır.

Anjiogenez büyüme, doku tamiri, menstruel siklus gibi durumlarda fizyolojik olarak görülmekle birlikte pek çok solid tümörün büyümesi, invazyonu ve metastazında da rol oynamaktadır. Tümöral anjiogenez, fizyolojik anjiogenezden daha kaotik oluşu ve pro-anjiogenik faktörlerin aberran üretimi ile ayrılır. Neovaskülarizasyonun tümör büyümesinde ikili bir etkisi vardır: perfüzyon, ihtiyaç duyulan besinleri ve oksijeni sağlar; yeni oluşan endotel hücreleri ise insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve PDGF salgılayarak tümör hücrelerinin büyümesine katkıda bulunur. Tümör damarlanması normal değildir, damarlar daha geçirgen ve dilatedir, gelişigüzel dağılmıştır. Tümör hücrelerinin bu damarlara girişi nedeniyle anjiogenez aynı zamanda metastazda da rol alır (53).

Tümör hücreleri damar oluşumunu tümör mikroçevresindeki pro-anjiogenik moleküllerin aşırı ekspresyonu ya da indüksiyonu ile stimüle eder, buna “anjiogenik switch/değişim” denir. Anjiogenik switch normalde kapalıdır ve pro-anjiogenik ve anti-anjiogenik moleküller arasında bir denge vardır. Anjiogenik switch açıldığında ise denge pro-anjiogenik moleküller lehine kayar. Bu moleküller tümörün kendisi veya tümör ile ilişkili enflamatuar ve stromal hücreler tarafından üretilir. Anjiogenik ve antianjiogenik faktörler arasındaki dengede proteazlar da rol alır. Birçok proteaz ECM'de depolanan basit fibroblast büyüme faktörünün (bFGF) salınımını sağlar. Bu süreç tümör tipine ve onun mikroçevresine bağlı olarak tümörün herhangi bir evresinde gerçekleşebilir (53,54).

Anjiogenik ve antianjiogenik faktörler arasındaki lokal denge bazı faktörlerden etkilenir:

- Hipoksiye bağlı oksijen azlığı “Hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF1-alfa)”nın stabilize olmasına neden olur. Bunun sonucunda HIF1-alfa, VEGF ve bFGF gibi proanjiogenik sitokinlerin transkripsiyonunu ve buna bağlı olarak endotel proliferasyonunu artırır. VEGF aynı zamanda yeni damarların dallanmasını ve yoğunluğunu regüle eden Notch sinyal yolağını aktive eder.

- Kanselerde tümör supresor veya onkogenlerdeki mutasyonlar da dengeyi anjiogenez lehine kaydırır. Örneğin p53, trombospondin-1 gibi antianjiogenik moleküllerin ekspresyonunu stimüle ve VEGF gibi proanjiogenik moleküllerin

ekspresyonunu inhibe eder. Bu yüzden tümör hücrelerinde p53 kaybı, sadece hücre siklusundaki kontrol noktası kaybına değil aynı zamanda anjiogenez için daha uygun bir mikroçevre oluşumuna neden olur.

- VEGF transkripsiyonu aynı zamanda RAS-MAP kinaz yolağından da sinyaller alır. RAS veya MYC'teki fonksiyon kazanımı mutasyonları VEGF üretimini artırır. VEGF'in artmış seviyeleri serumda veya idrarda saptanabilir (53).

Son yıllarda PHM de dahil olmak üzere birçok hematolojik malignitede, kemik iliğinde artmış anjiogenez gösterilmiştir. Kemik iliği anjiogenezi PHM hastalarında hastalık progresyonu ve prognoz ile ilişkilidir (55).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların Seçilmesi

Çalışmamızda Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2015-2017 yılları arasında tanı almış plazma hücreli myelom olgularına ait tanı anı kemik iliği biyopsileri incelendi. Toplam 135 olgu çalışmaya dahil edildi. Olgulara ait klinik bilgiler hasta dosyalarından elde edildi. Beta 2 mikroglobulin düzeyi bakılan hastalarda ISS evrelemesi yapıldı.

Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 16 Eylül 2019 tarihinde 2019/21-23 nolu karar ile yerel etik kurul onayı alındı. Çalışmamız retrospektif bir çalışma olduğundan ve ek histokimyasal veya immunhistokimyasal boya kullanılmadığından finansal kaynağa ihtiyaç duyulmadı.

3.2 Morfolojik Parametreler

Vakalara ait tüm HE boyalı preparatlar plazma hücre infiltrasyon paterni açısından yeniden değerlendirildi.

3.3 Histokimyasal Bulgular

Biyopsilerdeki fibrozis derecesi Retikülin histokimyasal boyası değerlendirilerek belirlendi. Buna göre fibrozis varlığı 4 dereceye ayrıldı: derece 0: lif artışı olmayan kemik iliği, derece 1: hafif lif artışı olan kemik iliği, derece 2: orta derecede lif artışı olan kemik iliği, derece 3: yoğun lif artışı olan kemik iliği.

3.4 İmmünohistokimyasal Boyama

3.4.1 Kullanılan Belirteçler

CD38: Plazma hücrelerini ve plazmablastik diferansiasyonu belirlemek için kullanılan bir belirteçtir.

CD34: Hematopoetik progenitör hücreleri ve endotelial hücreleri belirlemek için kullanılan bir belirteçtir.

3.4.2 İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

İmmünohistokimyasal CD34 ve CD38 boyaması için 3 µm kalınlığındaki kesitler önce "Cell Conditioning 1 (CC1)" solüsyonunda, 95 °C'de, 64 dakika; sonra CD34 (VENTANA

anti-CD-34 QBEnd/10) ve CD38 (CELL MARQUE anti-CD38SP149) antikorlarıyla 40 dakika inkübe edilmiştir. Boyama Ultraview universal DAB detection kit (Ventana Medical Systems) ile desteklenen the BenchMark ULTRA (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) tam otomatize immunhistokimyasal boyama sistemi aracılığıyla uygulanmıştır.

CD38 antikorunun pozitif kontrolü olarak tonsil dokusu kullanılmıştır.

3.4.3 İmmünhistokimyasal Boyanmanın Değerlendirilmesi

Plazma hücrelerinde CD38 ile membranöz boyanma pozitif olarak kabul edildi. HE ve CD38 boyalı lamlarda plazma hücre infiltrasyonu oranı ve plazma hücre infiltrasyonu paterni değerlendirildi. Boyanma yaygınlığı sonuçları yüzde (%) ve infiltrasyon paterni interstisyel, nodüler ve diffüz olarak belirtildi. Buna göre, CD38 boyanma yaygınlığına göre olgular 3 gruba ayrıldı: grup 1 <%20, grup 2 %20-50, grup 3>%50 (56).

CD34 ile boyanan kemik iliği biyopsisinde x100'lük büyütme alanında mikrodamar (kapillerler veya venüller) yoğunluğunun en fazla olduğu alanlar seçilerek, bu alanlar “sıcak noktalar” olarak belirlendi. X400'lük büyütmede sıcak noktalardaki 10 alanda mikrodamarlar sayılarak, mikrodamar sayısının aritmetik ortalaması alındı. Bulunan değer “mikrodamar yoğunluğu (MDY)” olarak belirtildi. Mikrodamarlar birbirinden net olarak ayrılabilen, tübüller veya adalar şeklinde, tek tek veya kümeler halinde endotel hücreleri olarak tanımlandı. Devamlılık gösteren boyanmalar da damar olarak kabul edildi. Lümen formasyonu şart koşul sayılmadı. Lümenleri 10 mikrometreden küçük çapta yani transvers çapı endotelial hücre nükleusunun 1.5 katından küçük olan damarlar mikrodamar olarak değerlendirildi. Periost veya kemik dokudaki büyük damarlar değerlendirme dışı bırakıldı (56,57).

3.5 İstatistiksel Analiz

Veri SPSS 22.0 paket programında analiz edildi. Ölçümle belirtilen değişkenler normal dağılıma uygunluk analizi ardından iki grup karşılaştırmasında T testi ve Mann Whitney U testi ile, ikiden fazla grup karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldı. Korelasyon analizinde Kendall korelasyon uygulandı. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki Kare Testi kullanıldı.

Yaşam analizinde Kaplan Meier testi ikili analizde kullanıldı. İstatistik anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Olguların Klinik ve Morfolojik Özellikleri

Olguların klinik ve morfolojik özellikler Tablo 7 ve



Tablo 8’de belirtilmiştir.

Cinsiyet: Çalışmada 42’si (%31) kadın, 93’ü (%69) erkek olmak üzere toplam 135 olguya ait kemik iliği biyopsisi incelendi.

Yaş: Olguların yaş aralığı 25-90 olup, yaş ortalaması 63.3 ± 11.2 ’dir. Olguların 12’si (%9) <50 yaşında iken, 123’ü (%91) ≥ 50 yaşındadır.

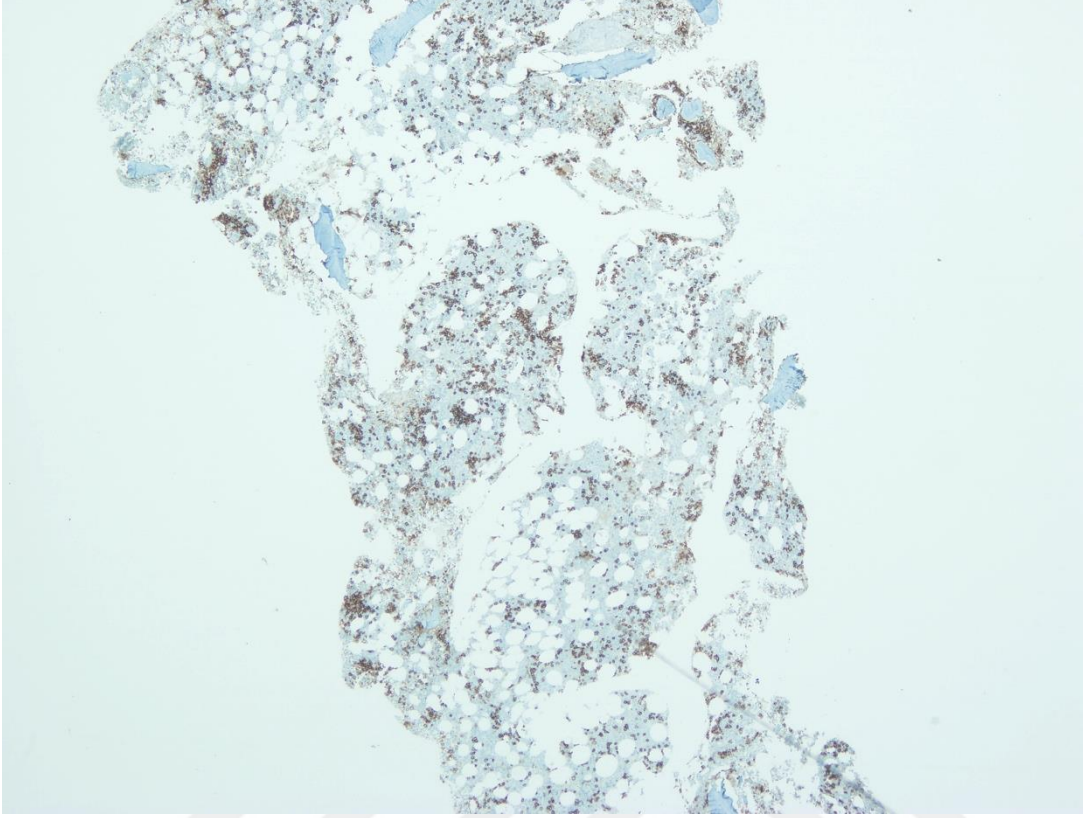
ISS evresi: Olguların 27’si (%20) evre 1, 25’i (%19) evre 2, 50’si (%37) ise evre 3’tür. 33 (%24) olgunun ise beta2 mikroglobulin düzeyine bakılmadığından ISS evresi bilinmemektedir.

Toplam sağkalım süreleri/oranları: Olguların tamamının sağkalım süresi ile sağ ya da ölü olduğu bilgisine ulaşıldı. 135 olgunun 72’sinin (%53) sağ olduğu, 63’ünün (%47) ise öldüğü saptandı. Olguların toplam sağkalım süreleri 1-57 ay arasında değişmekte olup Kaplan-Meier sağkalım analizine göre median sağkalım süresi 34.5 ± 6.6 ay olarak bulundu.

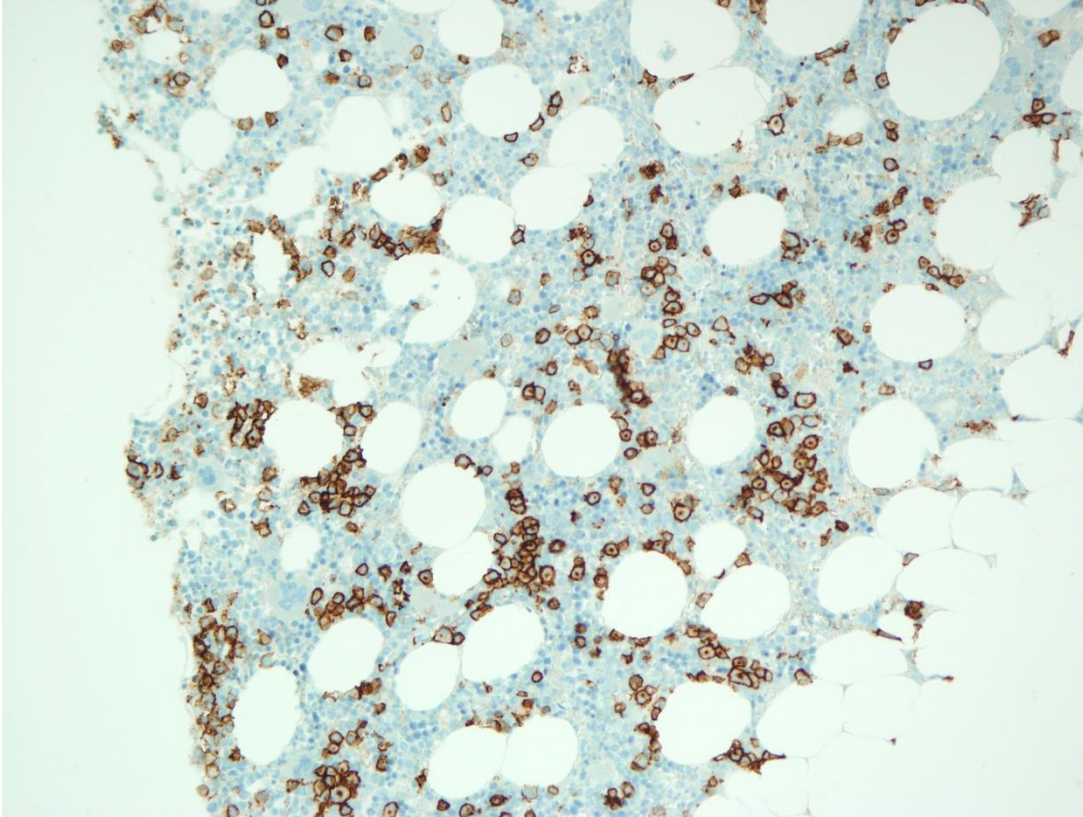
CD38 pozitif hücre oranı: CD38 boyanma yaygınlığına göre olgular 3 gruba ayrıldı: grup 1 <%20, grup 2 %20-50, grup 3 >%50. Buna göre 8 olgu (%5.9) grup 1, 30 olgu (%22.2) grup 2 ve 97 olgu (%71.9) grup 3 olarak değerlendirildi.

Kemik iliği tutulum paterni: 46 hastada (%34.1) interstisyel, 17 hastada (%12.6) nodüler, 72 hastada (%53.3) diffüz tutulum paterni izlendi.

Resim 1. İnterstisyel Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x40)



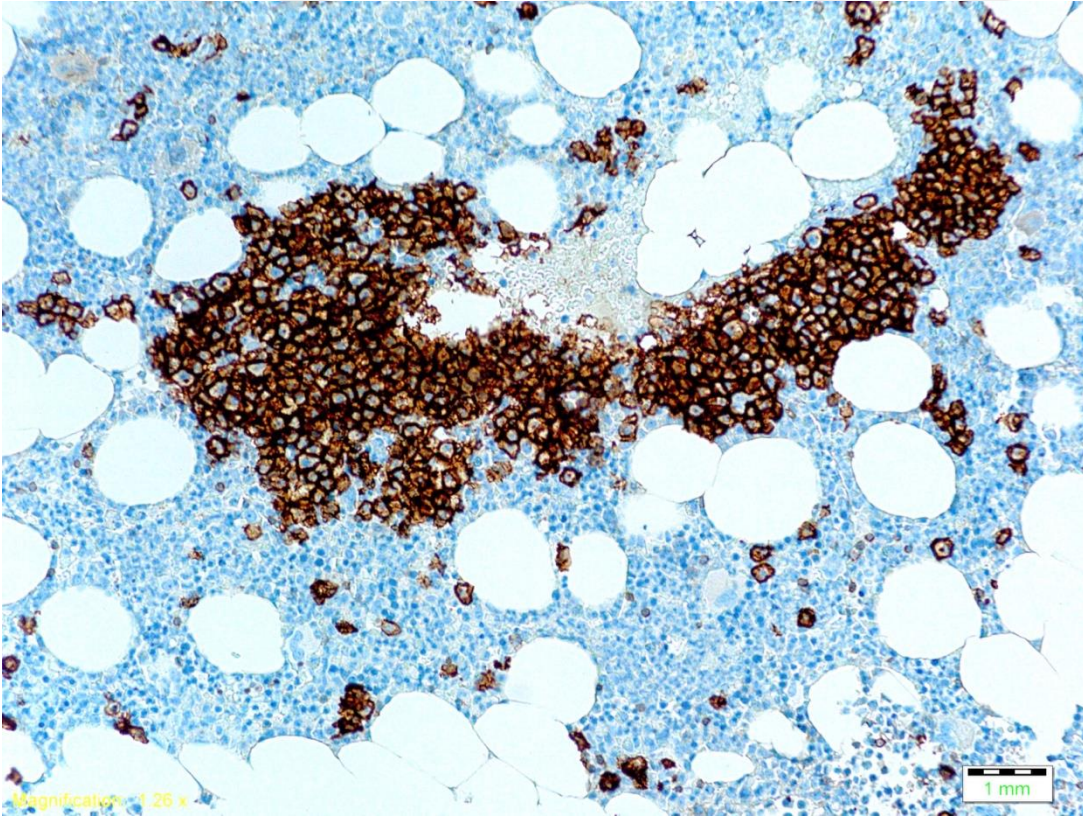
Resim 2. İnterstisyel Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x200)



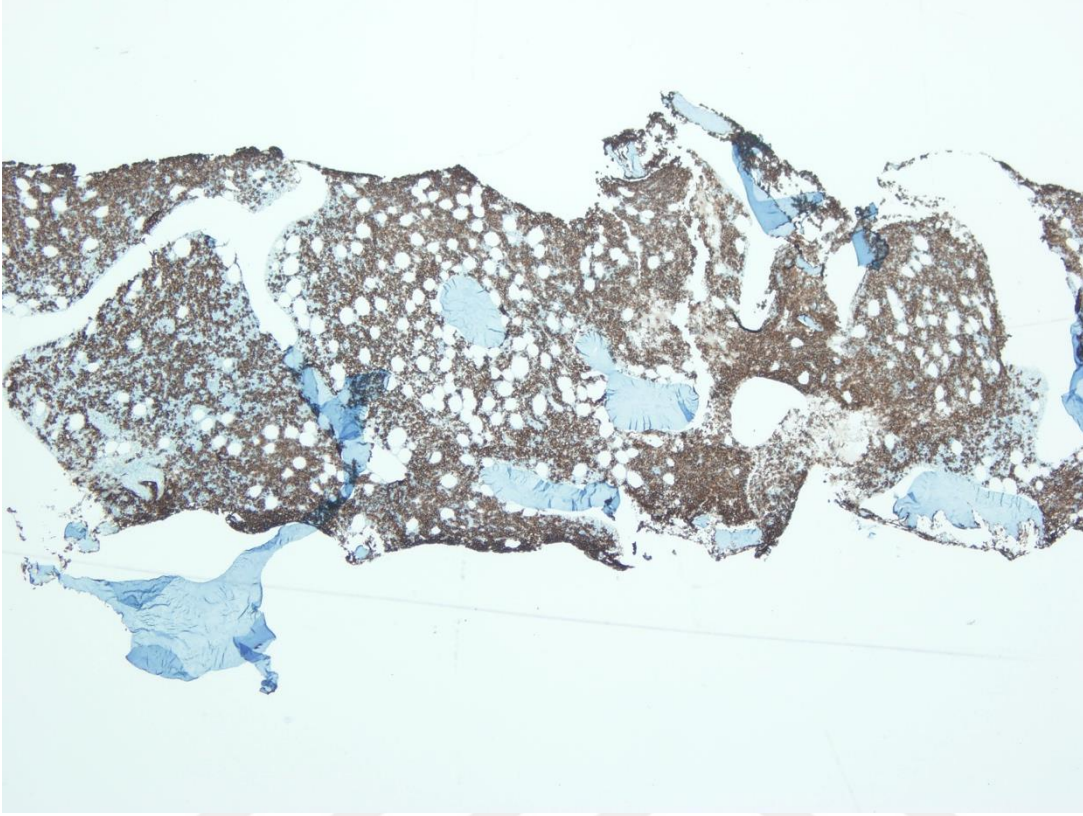
Resim 3. Nodüler Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x40)



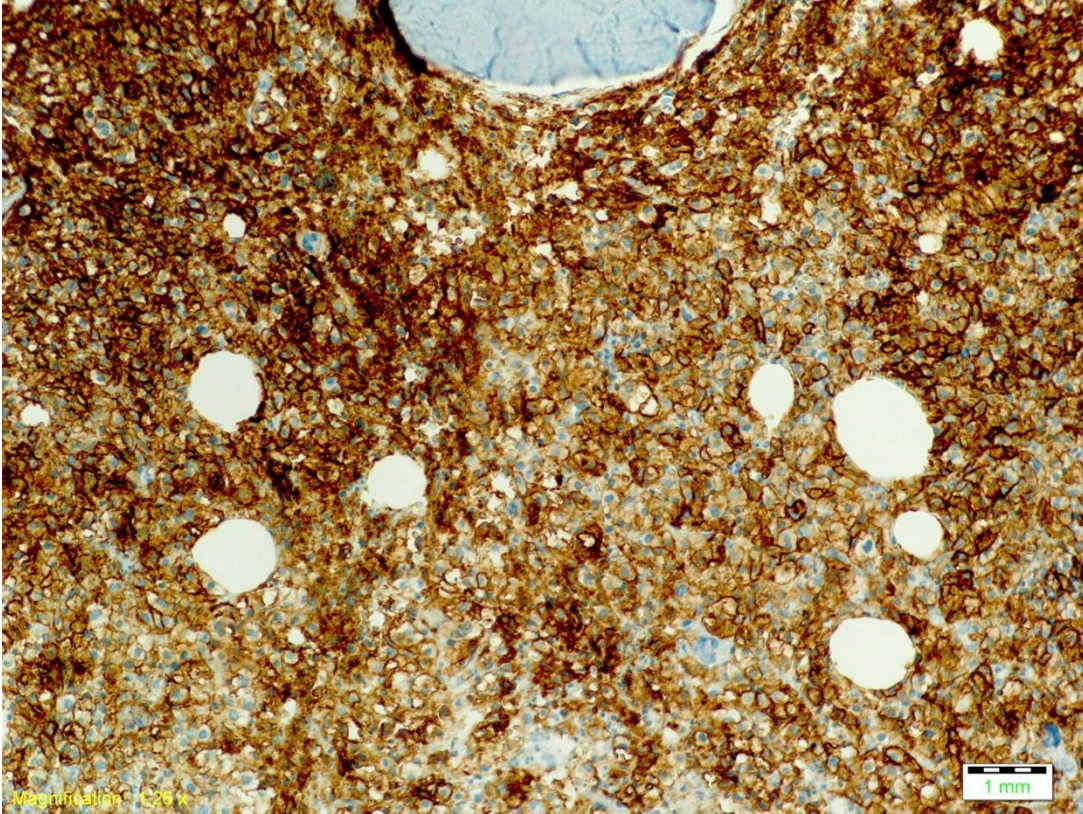
Resim 4. Nodüler Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x200)



Resim 5. Diffüz Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x40)

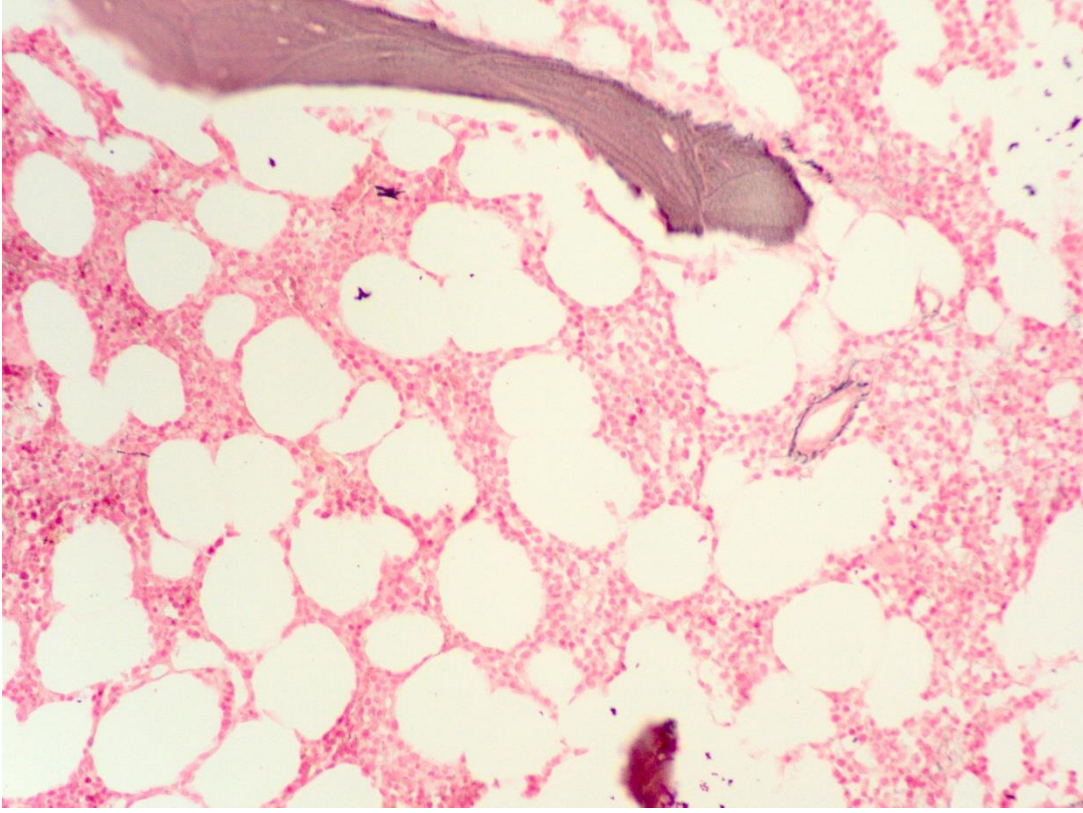


Resim 6. Diffüz Tutulum Paterni (CD38 immunhistokimyası, x200)

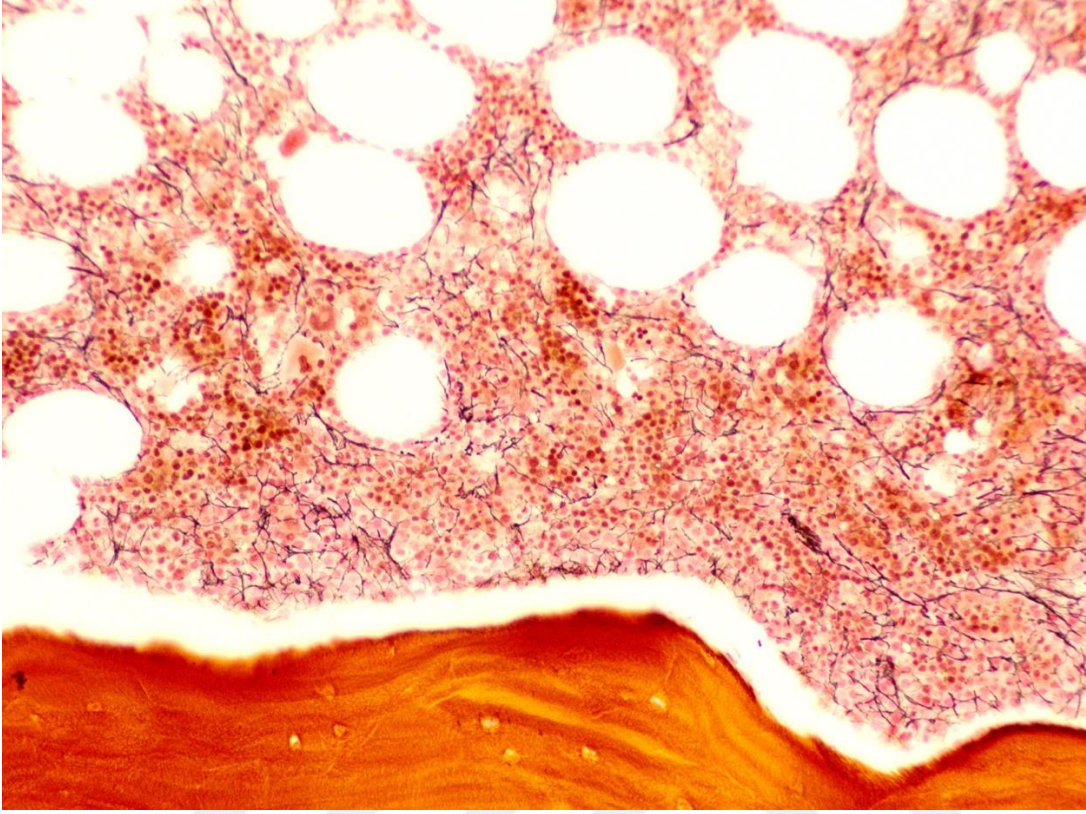


Kemik iliği fibrozisi: Olguların 16'sında (%11.9) derece 0, 41'inde (30.4%) derece 1, 54'ünde (%40) derece 2 ve 21'inde (%15.6) derece 3 kemik iliği fibrozisi görüldü.

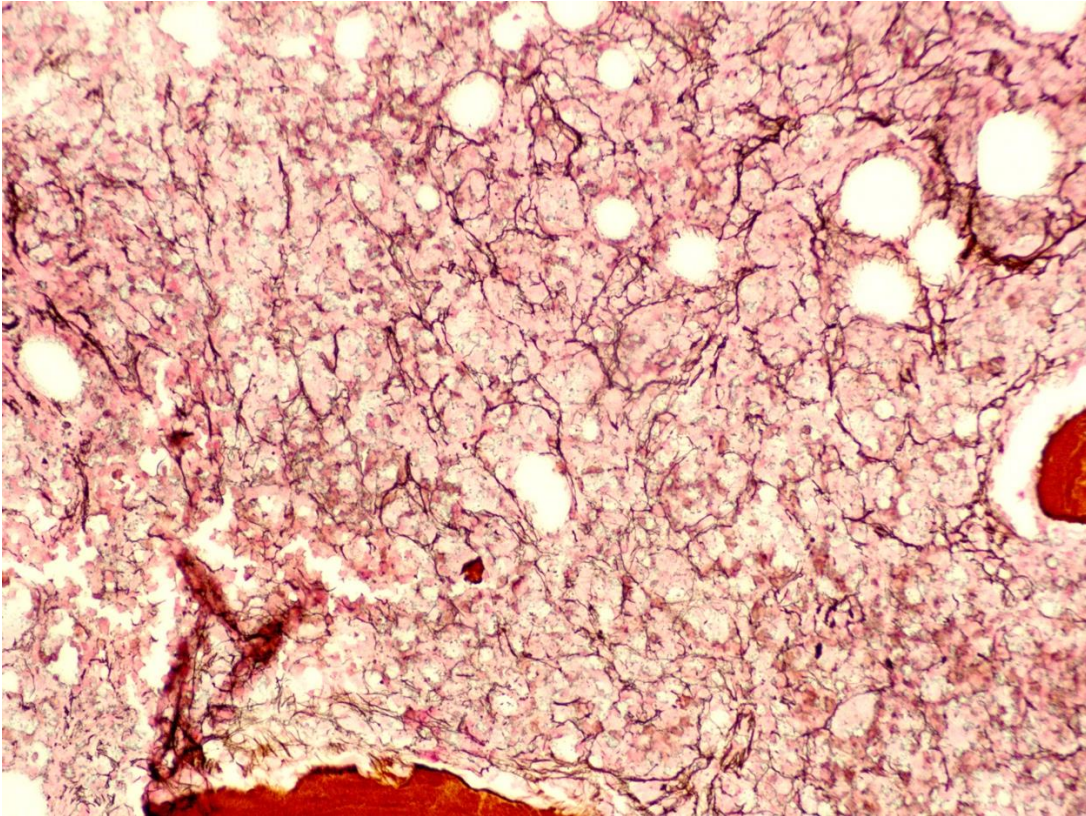
Resim 7. Kemik İliği Fibrozisi, Derece 0 (Retikülin histokimyası, x200)



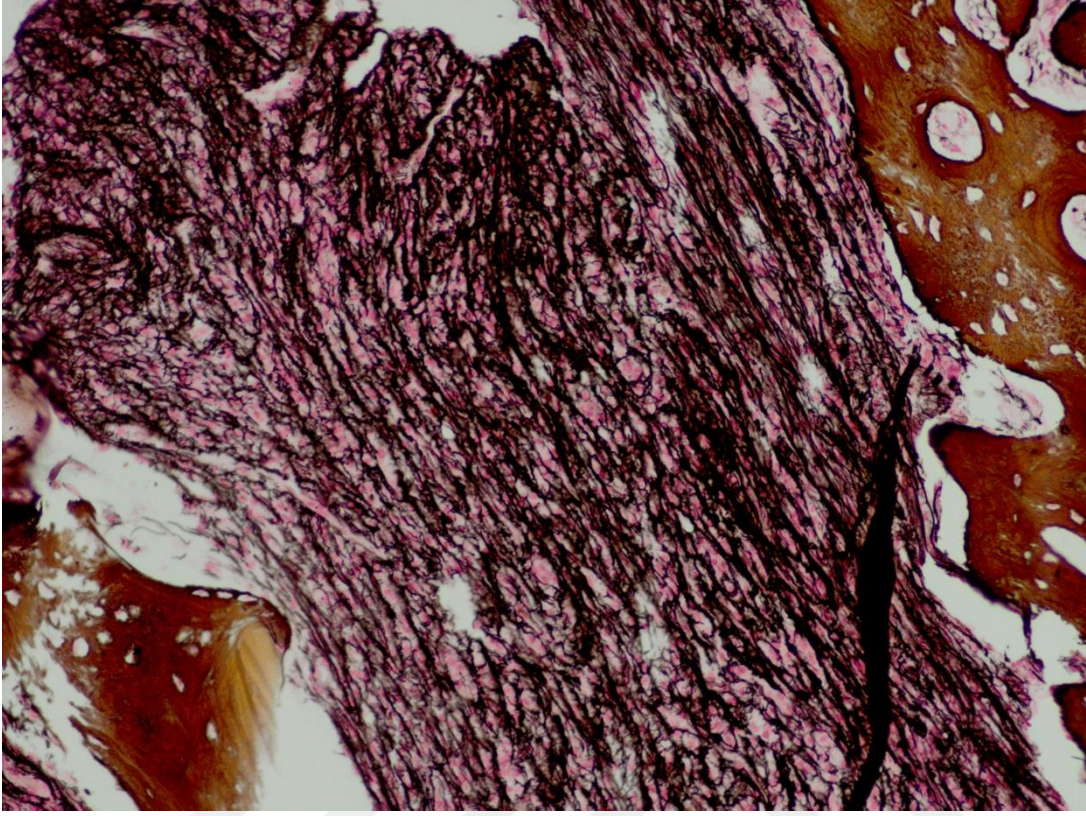
Resim 8. Kemik İliği Fibrozisi, Derece 1 (Retikülin histokimyası, x200)



Resim 9. Kemik İliği Fibrozisi, Derece 2 (Retikülin histokimyası, x200)

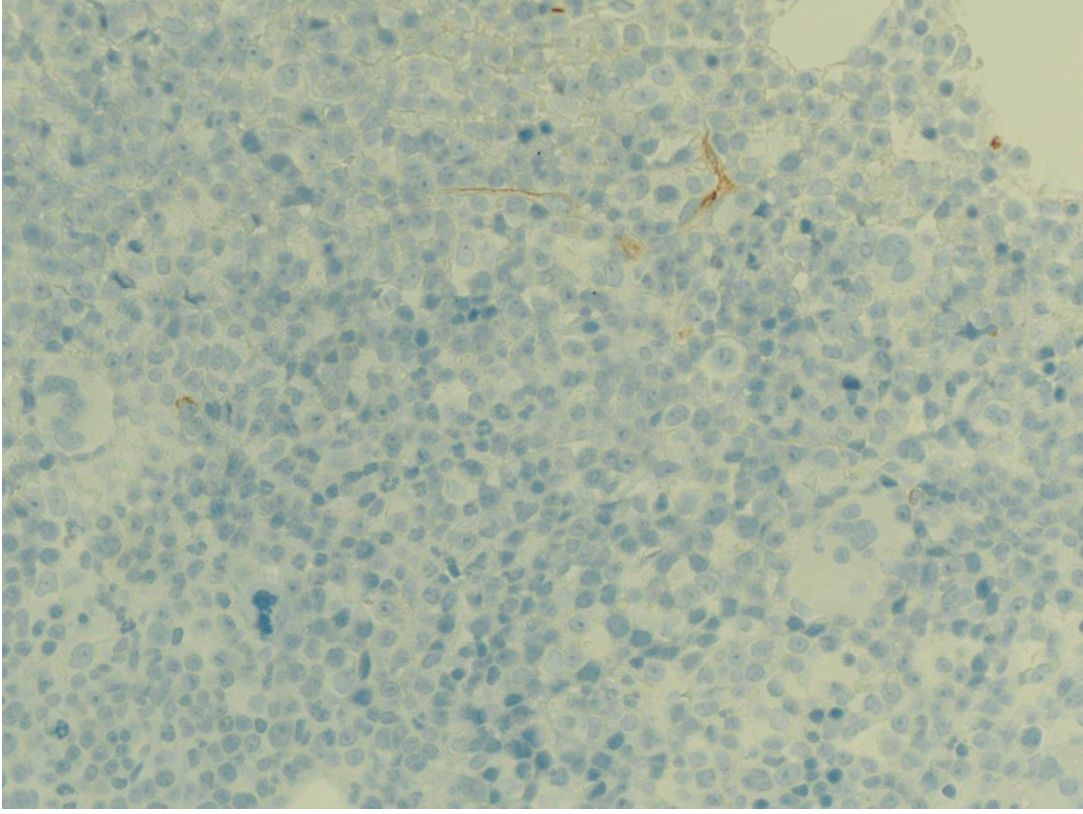


Resim 10. Kemik İliği Fibrozisi, Derece 3 (Retikülin histokimyası, x200)

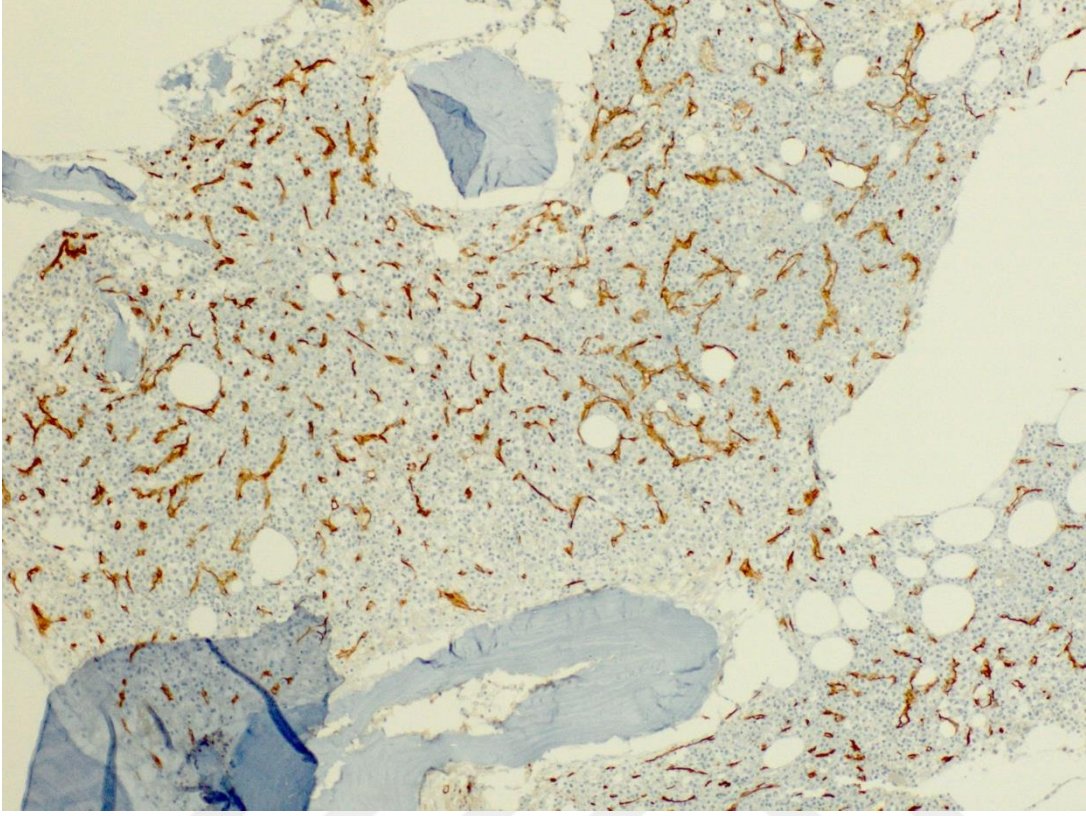


Mikrodamar yoğunluğu: 51 hastada CD34 immunhistokimyası ile MDY belirlendi. MDY 1.0 ile 36.3 arasında değişmekte olup, ortalama MDY 7.96 ± 7.3 'tür.

Resim 11. Düşük Mikrodamar Yoğunluğu (CD34 immunhistokimyası, x400)



Resim 12. Yüksek Mikrodamar Yoğunluğu (CD34 immunhistokimyası, x100)



Tablo 7. Olguların Klinik Özellikleri

Hasta Yaşı (n=135) 63.3±11.2 (25-90)

Ort(min-maks)

Cinsiyet (n=135)

Erkek 93 (%69)

Kadın 42 (%31)

Evre (n=102)

1 27 (%20)

2 25 (%19)

3 50 (%37)

Sağkalım(n=135)

Sağ 63 (%47)

Ölü 72 (%53)

Takip süresi (ay) 26.3±16.4 (1-57)

Tablo 8. Olguların Morfolojik Özellikleri

CD38+ Hücre Oranı (n=135)

Grup 1 (%1-19)	8 (%5.9)
Grup 2 (%20-49)	30 (%22.2)
Grup 3 (%50-99)	97 (%71.9)

İnfiltrasyon Patterni (n=135)

İnterstisyel	46 (%34.1)
Nodüler	17 (%12.6)
Diffüz	72 (%52.3)

Kemik İliği Fibrozisi (n=132)

0	16 (%12.1)
1	41 (%31.1)
2	54 (%40.9)
3	21 (%15.9)

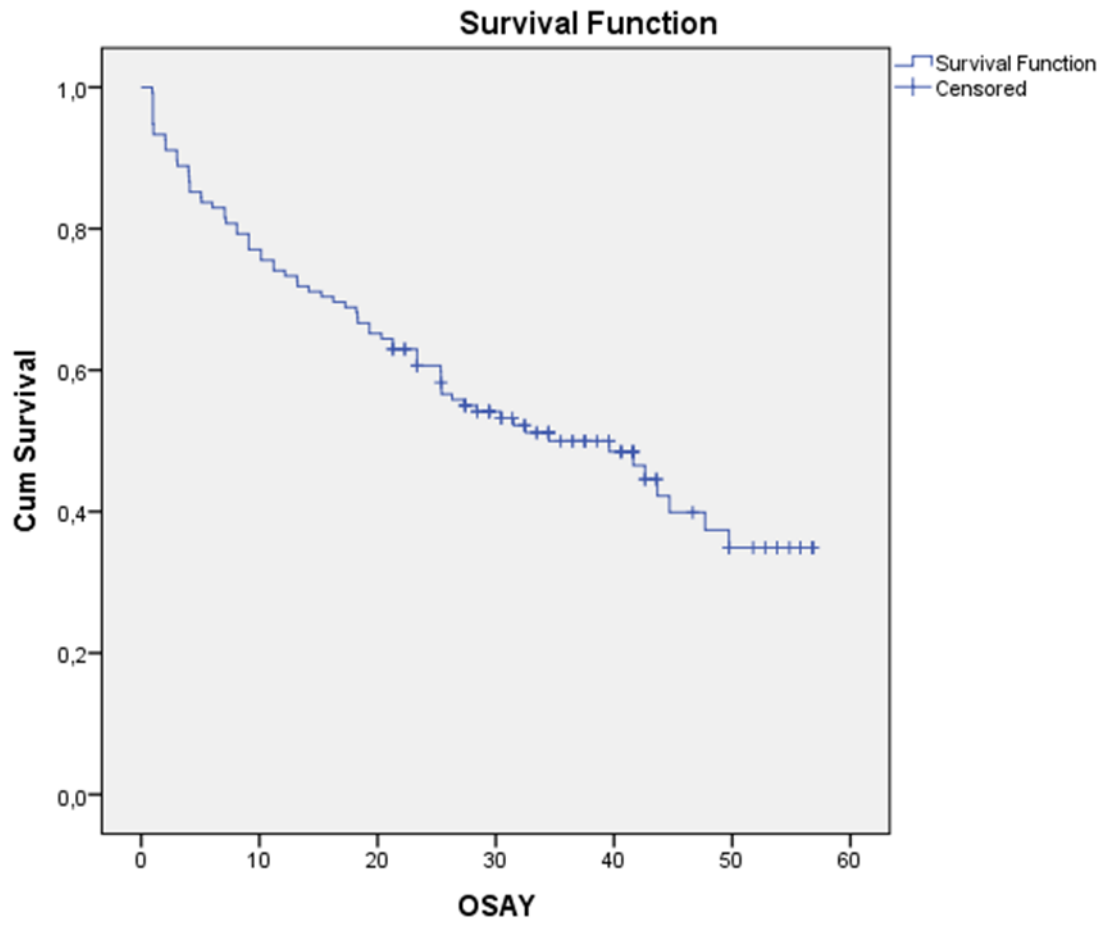
MDY (n=51) 7.96±7.3 (1.0-36.3)

Erkek cinsiyetteki hastaların 48'inde (%51.6), kadın cinsiyetteki hastaların 24'ünde (%57.1) ölüm gerçekleşti. Hastaların cinsiyetlerine göre ölüm oranı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.551$).

Cinsiyet, evre, kemik iliği tutulum paterni ve kemik iliği fibrozisi, ayrı ayrı sağkalım ile Ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldığında bu parametreler ile sağkalım arasında anlamlı ilişki görülmedi (sırasıyla $p=0.551$, $p=0.374$, $p=0.481$, $p=0.199$).

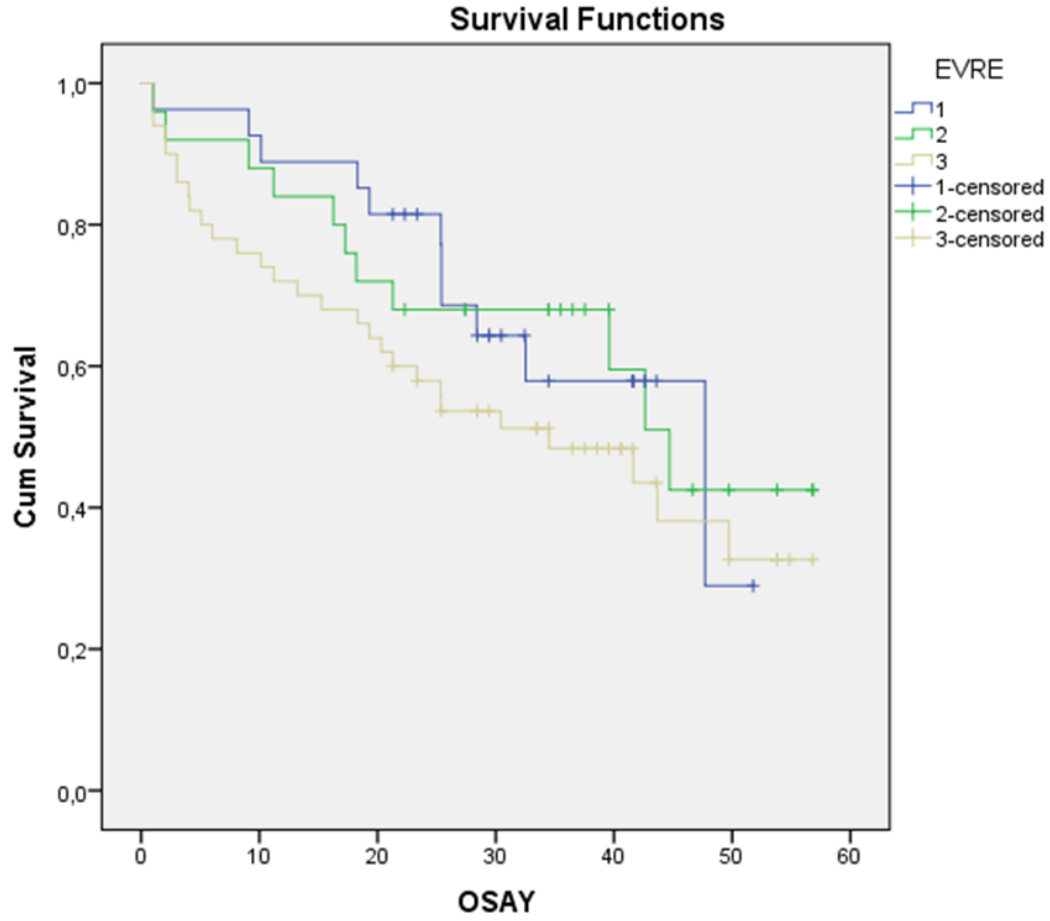
Sağ ve ölü hastalar MDY değeri açısından Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında MDY değerleri arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0.512$). Tanı yaşı ve CD38 pozitif hücre oranı, T testi ile analiz edildiğinde bu parametreler sağkalım durumu ile anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p=0.057$ ve $p=0.959$).

Grafik 1. Hastaların Genel Sağkalım Eğrisi



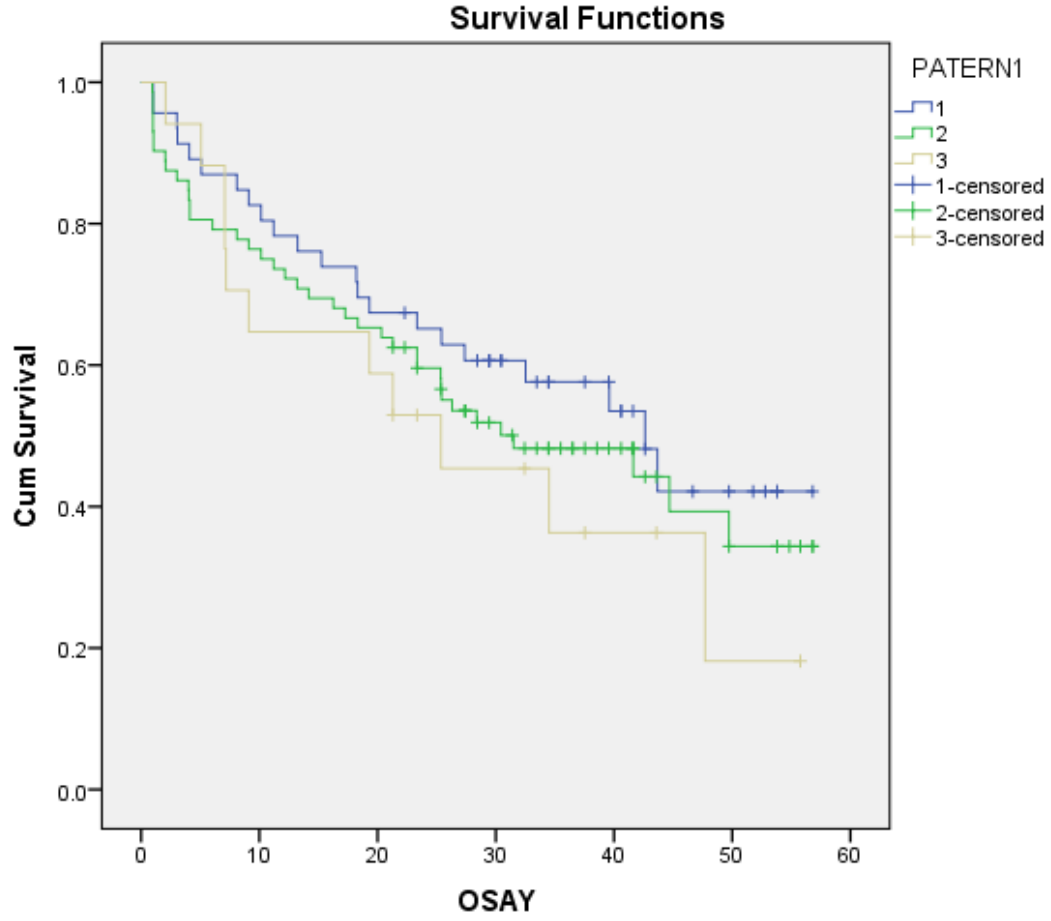
Sağ kalım analizi farklı evreler arasında karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü (Logrank testi, $p>0.05$) (Grafik 2).

Grafik 2. Hastaların ISS Evresine Göre Sağkalım Eğrisi



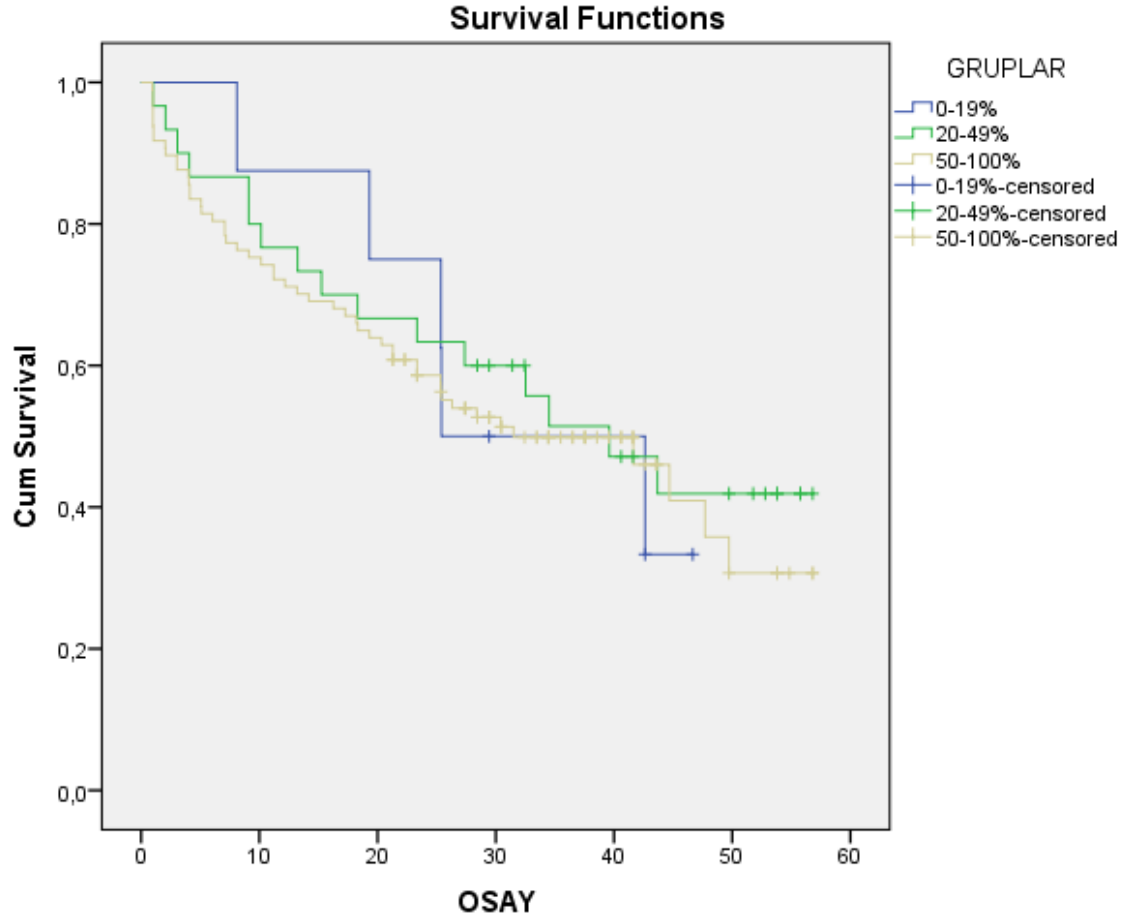
Sağ kalım analizi farklı kemik iliği tutulum paternleri arasında yapıldığında aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü (Logrank testi, $p>0.05$)(Grafik 3).

Grafik 3. Hastaların Tutulum Paternine Göre Sağkalım Eğrisi



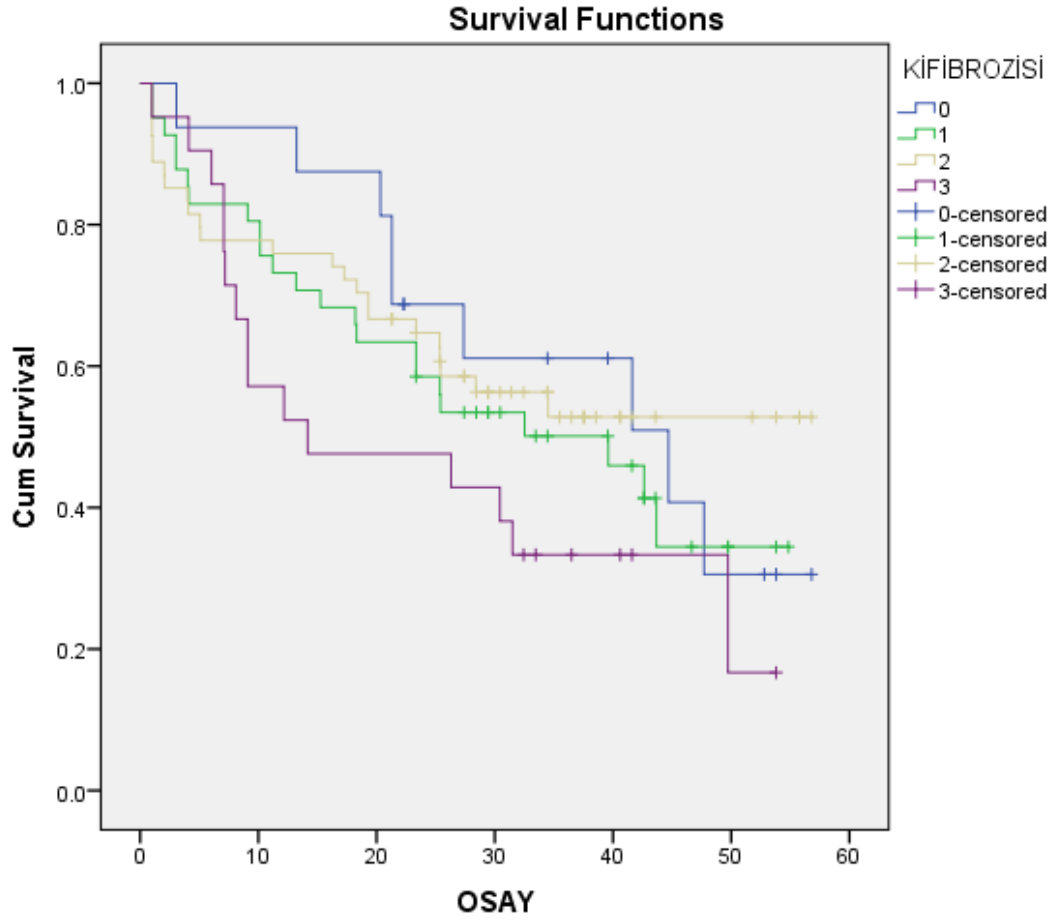
Sağ kalım analizi farklı CD38 pozitif hücre grupları arasında yapıldığında aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü (Logrank testi, $p>0.05$) (Grafik 4).

Grafik 4. Hastaların CD38 Pozitif Hücre Yüzdesi Gruplarına Göre Sağkalım Eğrisi



Sağ kalım analizi farklı kemik iliği fibrozisi dereceleri arasında yapıldığında aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü (Logrank testi, $p>0.05$)(Grafik 5).

Grafik 5. Hastaların Kemik İliği Fibrozisi Derecelerine Göre Sağkalım Eğrisi



Kemik iliği tutulum paterni, evre ile Ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldığında dağılımın istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili olduğu görüldü, evre 3 olguların büyük çoğunluğunun diffüz tutulum paterni gösterdiği izlendi ($p=0.001$) (Tablo 9).

Tablo 9. Kemik İliği Tutulum Paterninin Evre ile Karşılaştırılması

	İnterstisyel (n=35)	Nodüler (n=11)	Diffüz (n=56)
Evre 1	11 (%40.7)	7 (%25.9)	9 (%33.3)
Evre 2	13 (%52.0)	2 (%8.0)	10 (%40.0)
Evre 3	11 (%22.0)	2 (%4.0)	37 (%74.0)

Ki-kare testi (p değeri=0.001)

CD38 pozitif hücre grupları, evre ile Kendall korelasyon testine göre pozitif yönde zayıf korele saptandı (p değeri=0.001, r değeri=0.353). CD38 pozitif hücre gruplarının evre ile ilişkisine; grup 1 ve 2 birleştirilerek bakıldığında dağılımın istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili olduğu görüldü, evre 3 olguların büyük çoğunluğunun grup 3'te (%50-100) yer aldığı izlendi. (Ki-kare testi, $p<0.001$) (Tablo 10).

Tablo 10. CD38 Pozitif Hücre Gruplarının Evre ile Karşılaştırılması

	Grup 1 ve 2 (<%50) (n=26)	Grup 3 (%50-100) (n=76)
Evre 1	13 (%48,1)	14 (%51.9)
Evre 2	8 (%32.0)	17 (%68.0)
Evre 3	5 (%10.0)	45 (%90.0)

Ki-kare testi (p değeri<0.001)

CD38 pozitif hücre gruplarının tutulum paterni ile ilişkisine; grup 1 ve 2 birleştirilerek bakıldığında dağılımın istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili olduğu görüldü, diffüz patern gösteren olguların büyük çoğunluğunun grup 3'te (%50-100) yer aldığı izlendi (Ki-kare testi, $p<0.001$)(Tablo 11).

Tablo 11. CD38 Pozitif Hücre Gruplarının Tutulum Paterni ile Karşılaştırılması

	Grup 1 ve 2 (<%50) (n=38)	Grup 3 (%50-100) (n=97)
İnterstisyel	29 (%63.0)	17 (%37.0)
Nodüler	6 (%35.3)	11 (%64.7)
Diffüz	3 (%4.2)	69 (%95.8)
Ki-kare testi (p değeri<0.001)		

4.2 Fibrozisin Klinik ve Patolojik Özellikler ile İlişkisi

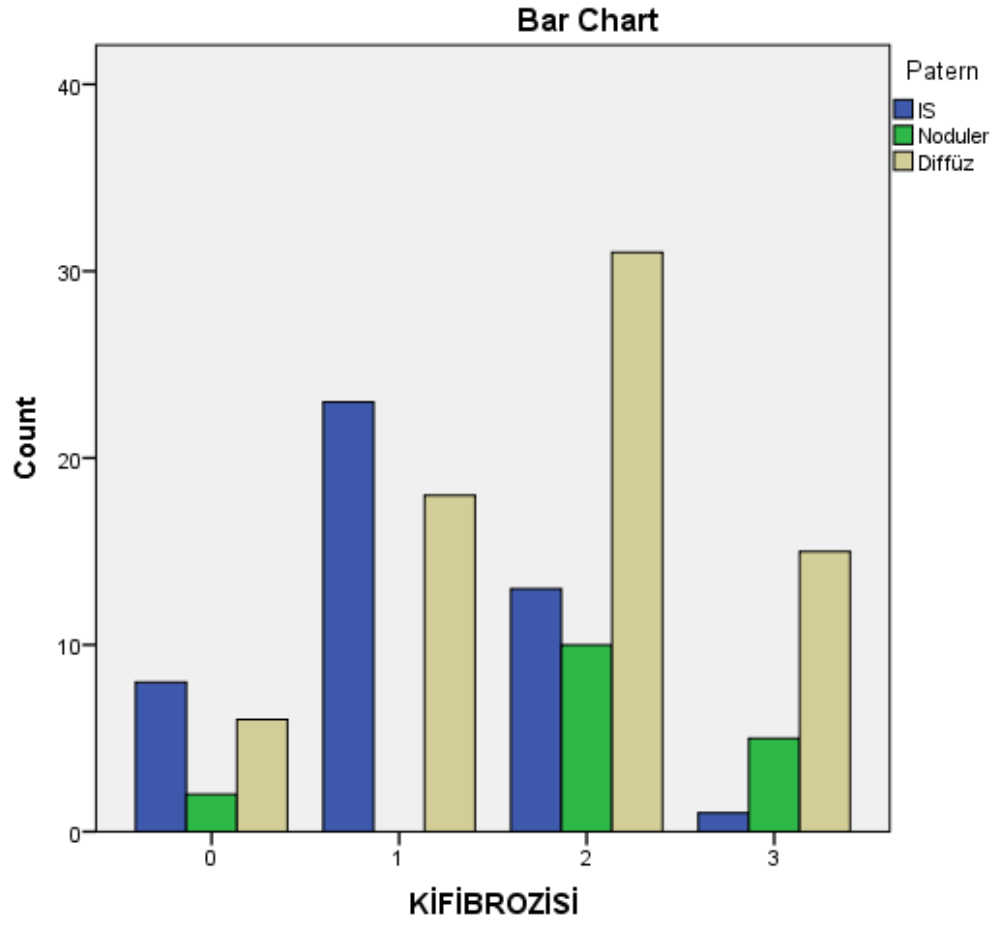
Kemik iliği fibrozisi derecesi, tutulum paterni ile Ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldığında dağılımın istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili olduğu görüldü ($p<0.001$)(Tablo 12, Grafik 6).

Tablo 12. Kemik İliği Fibrozisinin Tutulum Paterni ile Karşılaştırılması

	KİF 0 (n=16)	KİF 1 (n=41)	KİF 2 (n=54)	KİF 3 (n=21)
Interstisyel	8 (%50)	23 (%56.1)	13 (%24.1)	1 (%4.8)
Nodüler	2 (%12.5)	0 (%0)	10 (%18.5)	5 (%23.8)
Diffüz	6 (%37.5)	18 (%43.9)	31 (%57.4)	15(%71.4)

Ki-kare testi (p değeri= <0.001)

Grafik 6. Kemik İliği Fibrozisi Derecesine Göre Patern Dağılımı



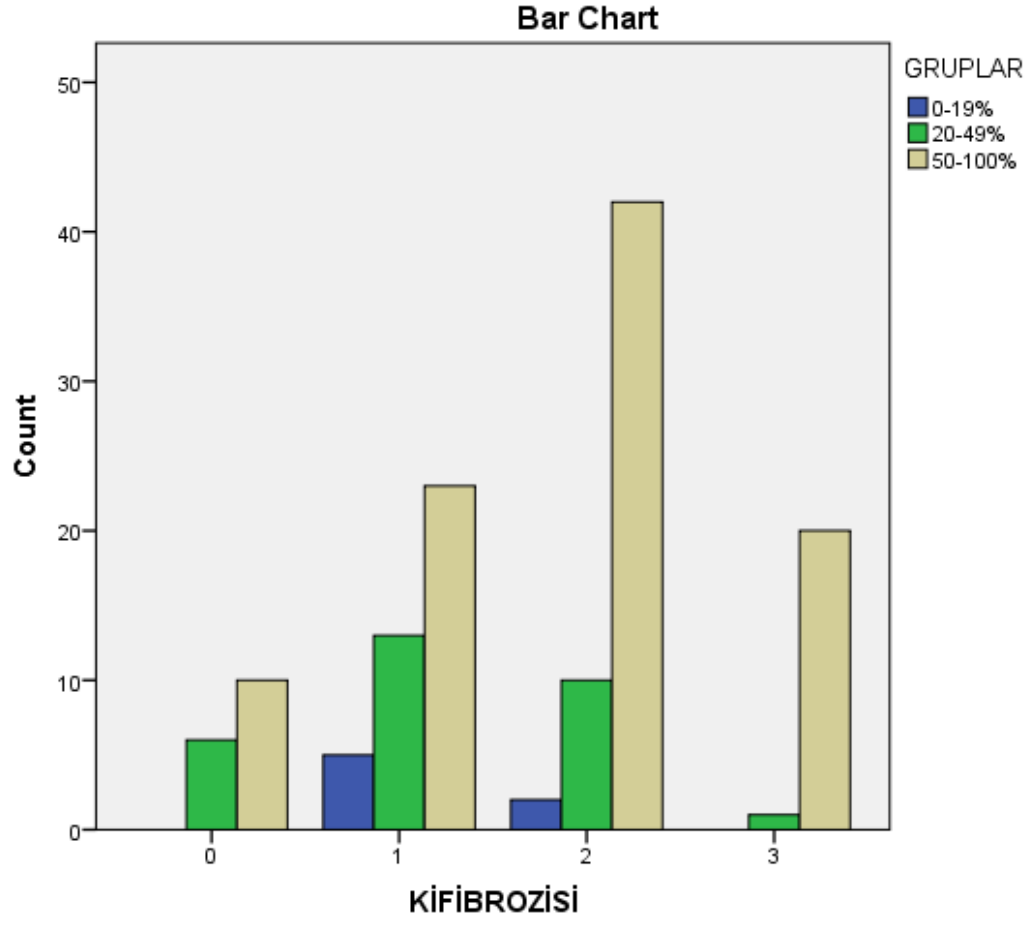
Kemik iliği fibrozisi derecesi, CD38 pozitif hücre grupları ile Kendall korelasyon testine göre pozitif yönde zayıf korele saptandı ($r=0.263$, $p<0.001$). Kemik iliği fibrozisinin CD38 pozitif hücre grupları ile ilişkisine grup 1 ve 2 birleştirilerek bakıldığında; dağılımın istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili olduğu görüldü, derece 3 fibrozis gösteren olguların çoğunluğunun grup 3'te (%50-100) yer aldığı izlendi (Ki-kare testi, $p=0.006$) (Tablo 13, Grafik 7).

Tablo 13. Kemik İliği Fibrozisinin CD38 Pozitif Hücre Grupları ile Karşılaştırılması

CD 38 pozitif hücre grupları	KİF 0 (n=16)	KİF 1 (n=41)	KİF 2 (n=54)	KİF 3 (n=21)
Grup 1 ve 2 (<%50) (n=37)	6 (%37.5)	18 (%43.9)	12 (%22.2)	1 (%4.8)
Grup 3 (%50-100) (n=97)	10 (%62.5)	23 (%56.1)	42 (%77.8)	20 (%95.2)

Ki-kare testi ($p=0.006$)

Grafik 7. Kemik İliği Fibrozisi Derecesine Göre CD38 Pozitif Hücre Gruplarının Dağılımı



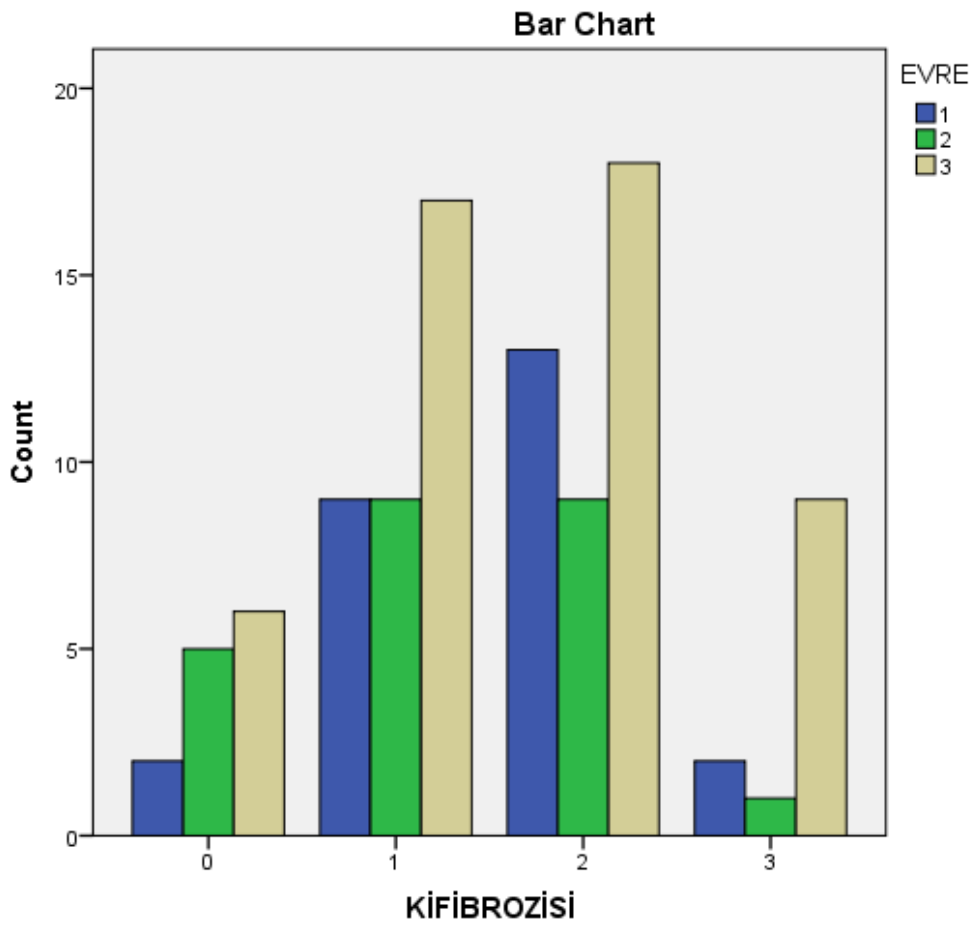
Kemik iliği fibrozisi derecesi, evre ile Ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldığında dağılımın istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili olmadığı görüldü ($p=0.445$) (Tablo 14, Grafik 8).

Tablo 14. Kemik İliği Fibrozisinin Evre ile Karşılaştırılması

	KİF 0 (13)	KİF 1 (n=35)	KİF 2 (n=40)	KİF 3(n=12)
Evre1	2	9	13	2
Evre 2	5	9	9	1
Evre 3	6	17	18	9

Ki-kare testi ($p=0.445$)

Grafik 8. Kemik İliği Fibrozisi Derecesine Göre ISS Evrelerinin Dağılımı



4.3 Mikrodamar Yoğunluğunun Klinik ve Patolojik Özellikler ile İlişkisi

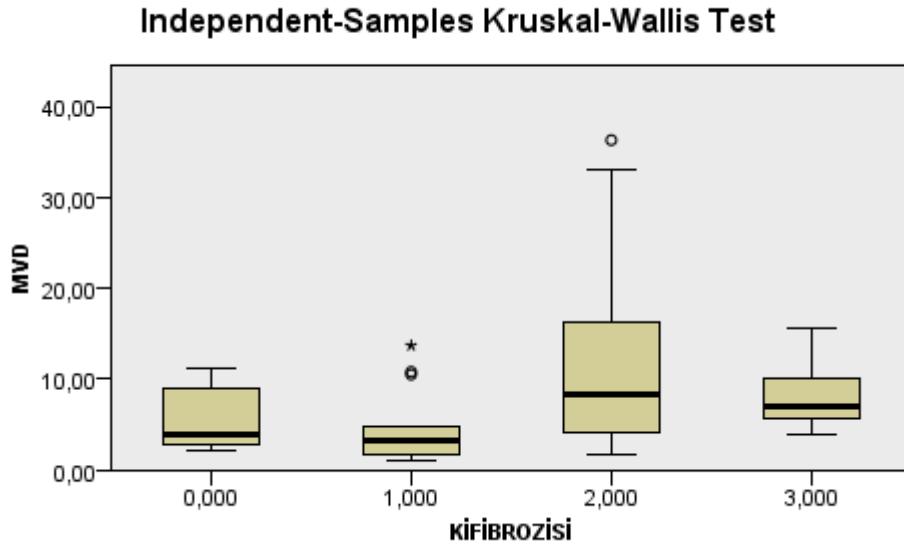
MDY, kemik iliği fibrozisi derecesi ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık olduğu görüldü (Kruskal Wallis, $p=0.036$). Gruplar kendi aralarında ikili karşılaştırıldığında kemik iliği fibrozisi derece 1 ve 2 arasında anlamlı fark olduğu ($p<0.05$) saptandı, diğer gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (Tablo 15, Grafik 9).

Tablo 15. MDY'nin Kemik İliği Fibrozisi (KİF) ile Karşılaştırılması

	KİF 0 (n=9)	KİF 1 (n=14)	KİF 2 (n=18)	KİF 3 (n=9)
MDY	5.9±3.6 (2.2-11.2)	4.7±4.0 (1.0-13.7)	11.6±10.2 (1.7-36.3)	8.0±3.7 (4-15.7)

Kruskal-Wallis Test ($p=0.036$)

Grafik 9. Kemik İliği Fibrozisinin MDY ile Karşılaştırılması



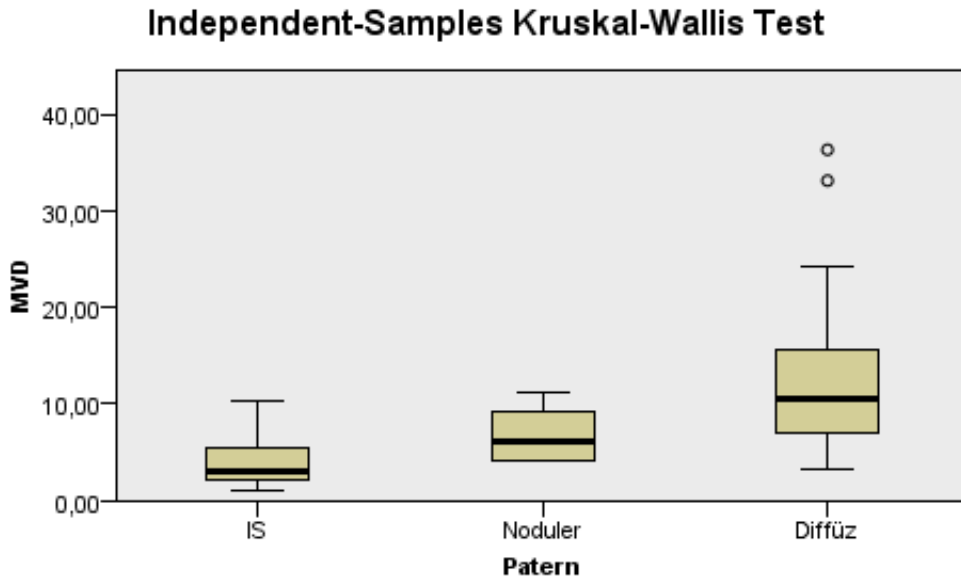
MDY, kemik iliği tutulum paternleri ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık olduğu görüldü (Kruskal Wallis, $p<0.001$). Gruplar kendi aralarında ikili karşılaştırıldığında interstisyel ve diffüz tutulum arasında anlamlı fark görülmüş olup ($p<0.001$), diğer gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (Tablo 16, Grafik 10).

Tablo 16. MDY'nin Tutulum Paterni ile Karşılaştırılması

	Interstisyel (n=25)	Nodüler (n=5)	Diffüz (n=21)
MDY	4.2±2.7 (1.0-10.4)	6.9±3.1 (4.1-11.2)	12.7±8.9 (3.2-36.3)

Kruskal-Wallis Test ($p<0.001$)

Grafik 10. Kemik İliği Tutulum Paterninin MDY ile Karşılaştırılması



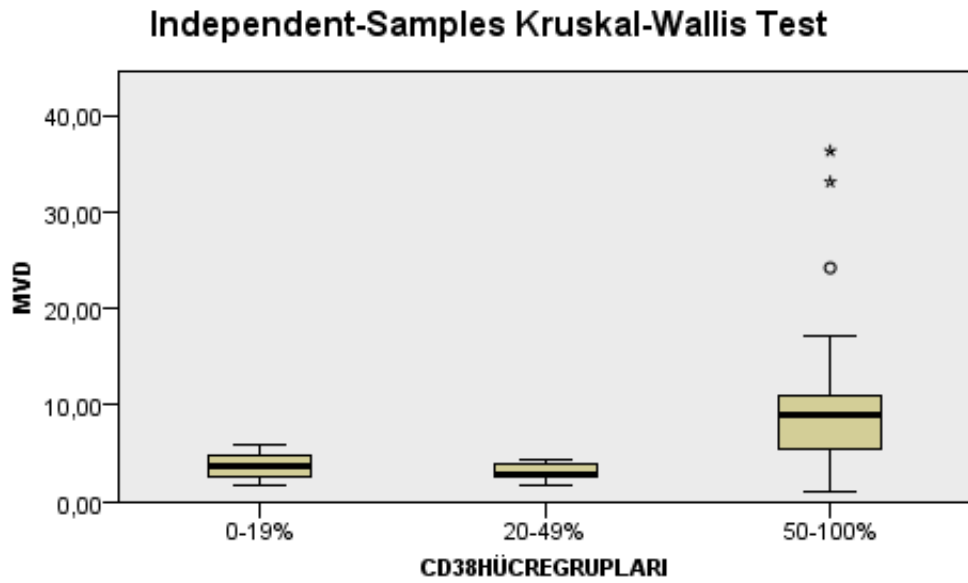
MDY, CD38 pozitif hücre grupları ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık olduğu görüldü (Kruskal Wallis, $p<0.001$). Gruplar kendi aralarında ikili karşılaştırıldığında grup 2 ve grup 3 arasında anlamlı fark görülmüş olup ($p<0.001$), diğer gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (Tablo 17, Grafik 11).

Tablo 17. MDY'nin CD38 Pozitif Hücre Grupları ile Karşılaştırılması

	1 (n=3)	2 (n=13)	3 (n=35)
MDY	3.7±2.1 (1.7-5.8)	3.1±0.9 (1.8-4.3)	10.1±7.8 (1-36.3)

Kruskal-Wallis Test ($p<0.001$)

Grafik 11. CD38 Pozitif Hücre Gruplarının MDY ile Karşılaştırılması



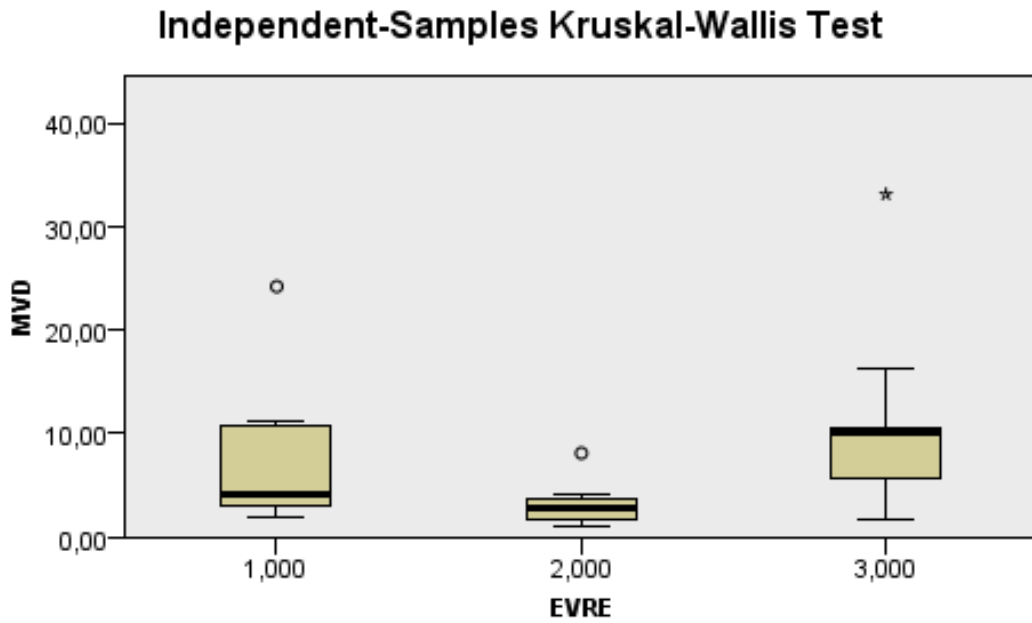
MDY, evre ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık olduğu görüldü (Kruskal Wallis, $p=0.011$). Gruplar kendi aralarında ikili karşılaştırıldığında evre 2 ve 3 arasında anlamlı fark görülmüş olup ($p=0.08$), diğer gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (Tablo 18, Grafik 12).

Tablo 18. MDY'nin Evre ile Karşılaştırılması

	Evre 1 (n=10)	Evre 2 (n=7)	Evre 3 (n=17)
MDY	7.1±6.8 (2.0-24.2)	3.3±2.4 (1.0-8.1)	10.1±7.1 (1.8-33.1)

Kruskal-Wallis Test ($p=0.011$)

Grafik 12. ISS Evresinin MDY ile Karşılaştırılması



5. TARTIŞMA

PHM, kemik iliğinden kaynaklanan, plazma hücrelerinin multifokal neoplastik proliferasyonudur. PHM, tüm malign tümörlerin %1'ini, hematolojik malignitelerin %10-15'ini ve hematolojik malignitelerden ölümlerin %20'sini oluşturur (2,3). Erkeklerde daha sıktır, erkek-kadın oranı 1.1:1'dir. Bizim çalışmamızda da olguların 93'ü (%69) erkek, 42'si (%31) kadındır (erkek-kadın oranı 2.3:1). Çocuklarda görülmez ve 30 yaşından küçüklerde oldukça nadirdir (26). Hasta yaşı arttıkça insidans artar, vakaların %90'dan fazlası 50 yaşından büyüktür. Çalışmamızda olguların 123'ü (%91) 50 yaşından sonra tanı almıştır ve tanı anında ortalama yaş 63'dür.

PHM çeşitli klinik sonuçları olan heterojen bir hastalıktır. PHM önceden Durie Salmon sistemine göre evrenirken, günümüzde serum beta 2 mikroglobulin ve serum albümin düzeylerine dayalı ISS tercih edilmektedir. Yeni revize edilmiş kılavuzlarda ise serum LDH ve yüksek riskli kromozomal anomaliler de risk sınıflandırmalarına dahil edilmiştir. Sitogenetik ve FISH gibi yeni prognostik yöntemler geliştirilmiştir, ancak birçok yerde bunların kullanımı mümkün olmayabilir. Bu nedenle alternatif prognostik göstergeler, PHM'deki genetik değişikliklerin göstergesi olarak kullanılabilir (56). Çalışmamızda 102 hastanın ISS evresi bilgisine ulaşılmış olup olguların 27'si (%20) evre 1, 25'i (%19) evre 2, 50'si (%37) ise evre 3'tür.

PHM'de prognostik faktörlerin belirlenmesinin tedavinin planlanmasında hekime yol gösterici olması nedeni ile prognostik faktörlerin tedavi başlamadan ortaya konması gerekmektedir. Diğer klinik ve laboratuvar bulgularının yanında kemik iliği incelemesinin yapılması tanı ve takip için bir gerekliliktir.

PHM tanısı için kemik iliğindeki plazma hücre oranı belirlenmelidir. Kemik iliğinde plazma hücrelerinin %10'un üzerinde olması ile PHM tanısı konabilir. Bu amaçla kemik iliği aspirasyonu yapmak çoğu kez PHM tanısı için yeterli olmaktadır. Ancak kemik iliği biyopsileri ile plazma hücre infiltrasyonu hakkında daha iyi bir değerlendirme yapılabilir. Bu nedenle tanı sırasında kemik iliği biyopsileri mutlaka yapılmalıdır. Tedavi cevabını değerlendirmek için de kemik iliği biyopsisi kullanılmaktadır.

Çalışmalar plazma hücre morfolojisi, infiltrasyon paterni ve plazma hücre yüzdesi gibi histomorfolojik özelliklerin prognostik önemi olduğunu göstermiştir. Anjiogenez, kemik iliği fibrozisi ve proliferasyon da prognostik önem taşıyan diğer parametrelerdir (13,56,58). PHM, anjiogenezin prognozla ilişkili olduğunun gösterildiği ilk hematolojik malignitedir (59).

Bartl ve arkadaşları, 1987’de kemik iliği biyopsi bulgularına dayanarak PHM’de ilk histolojik klasifikasyonu ortaya koymuş ve morfolojik bulguların önemini belirlemişlerdir (33). Kemik iliğinde fibrozis varlığı PHM’li hastalarda prognostik önemi olduğu bilinen bir parametredir. İlk kez 1985’de Vandermolen ve arkadaşları myelomlu hastaların bir kısmında kemik iliğinde bağ dokusu artışı olduğunu, bunun idiopatik myelofibroze bağlı bir durum olmadığını ve bu myelom fibrozis ilişkisinin klinik ve prognostik önemi olduğunu belirtmişlerdir (60).

Sekonder myelofibrozis birçok durumda ortaya çıkabilir. Lösemi, lenfoma, granülomatöz hastalıklar, bazı kimyasal maddelerle karşılaşma, kemik iliğine metastaz yapan nonhematolojik tümörler kemik iliğinde fibrozis gelişimine yol açabilir. Fibrozis 0 dereceden yoğun fibrozisin olduğu 3. dereceye dek 4 grupta incelenmektedir.

2019 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Derpartmanı’nda yapılan bir çalışmada, 148 otolog kök hücre nakli yapılan hasta retrospektif olarak kemik iliği plazma hücre konsantrasyonu açısından değerlendirilmiştir. Bu çalışma, otolog kök hücre nakli öncesinde kemik iliği plazma hücre yüzdesinin sağkalımla ilişkisi üzerine odaklanmıştır. Çalışmanın sonucunda pretransplant plazma hücre yüzdesi $\leq 5\%$ olan hastaların genel ve hastalıksız sağkalımlarının, plazma hücre yüzdesi $> 5\%$ olan hastalardan daha iyi olduğu saptanmıştır. Buna ek olarak tanı anındaki plazma hücre yüzdesi $\leq 50\%$ olan hastaların genel ve hastalıksız sağkalımı da tanı anındaki plazma hücre yüzdesi $> 50\%$ olan hastalara kıyasla daha iyidir. Ancak bu çalışmada genel ve hastalıksız sağkalım, diğer kemik iliği morfolojik parametreleri ile kıyaslanmamıştır (61).

2019 yılında yayınlanmış bir başka çalışmada ise, PHM olgularında ilk defa kemik iliği morfolojisi ve gen aberrasyonları birlikte incelenmiştir. Bu çalışmada gen ekspresyon profiline dayalı “Myeloma Prognostic Risk Signature (MyPRS)” risk stratifikasyonu; plazma hücre morfolojisi, kemik iliği tutulum paterni, mitoz ve fibrozisle karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda MyPRS yüksek risk skorunun spesifik histolojik özellikler ile ilişkili olduğu ve prognoz bu grupta daha kötü olduğu gösterilmiştir. Bu grupta plazma hücre yüzdesi daha fazladır, diffüz patern daha sık izlenmektedir ve kemik iliği fibrozisi artmıştır. Yani bahsi geçen morfolojik parametreler, gen ekspresyon profili ile de uyumluluk gösteren prognostik belirteçlerdir (62).

Bizim çalışmamızda 132 hastanın kemik iliği biyopsisi fibrozis açısından değerlendirildi ve olguların 16’sında (%11.9) derece 0, 41’inde (%30.4) derece 1, 54’ünde

(%40) derece 2 ve 21'inde (%15.6) derece 3 kemik iliği fibrozisi görüldü. Ayrıca çalışmamızda, 135 hastanın kemik iliğindeki plazma hücre oranı %5 ile %99 arasında değişmekte idi. Plazma hücre infiltrasyonunun %50'den fazla olduğu hastalar tüm hastaların %71.9'unu oluşturmaktaydı. Kemik iliği fibrozisi sağkalım durumu ve evre ile ilişkili bulunmazken; kemik iliği fibrozisi arttıkça CD38 pozitif plazma hücrelerinin de arttığı gözlemlendi, ancak bu iki parametrenin birbiriyle pozitif yönde zayıf korele olduğu saptandı. Evre 3 olguların %90'ında CD38 pozitif plazma hücre oranı %50'den fazla idi. Yine CD38 pozitif plazma hücre oranı %50'den fazla olan olguların da %59.2'si evre 3 gruba dahildi. Bu bulgulara dayanarak CD38 pozitif plazma hücresi oranının ileri evre hastalıkla ilişkili olduğunu ve kötü prognostik bir belirteç olduğunu söyleyebiliriz.

PHM'de kemik iliği biyopsilerinde kemik iliği fibrozisinin varlığı ve plazma hücre yüzdesi dışında, infiltrasyon paterni de değerlendirilmelidir. Kemik iliğinde plazma hücre infiltrasyon paterni interstisyel, nodüler ve diffüz şeklinde 3 gruba ayrılmaktadır. Plazma hücre yüzdesi %50'den fazla olan hastalarda infiltrasyon çoğu kez diffüz bulunur (13).

Subramanian ve ekibinin 2009 yılında yayınladığı, 2001-2006 yılları arasında tanı alan 55 PHM olgusunda yapılan bir çalışmada, hastalık evresi ve plazma hücre subtipi; plazma hücre yüzdesi, infiltrasyon paterni ve mitotik aktivite ile karşılaştırılmış olup aralarında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu çalışmada bahsedilen histolojik parametrelerden sadece mitotik aktivitenin sağkalım ile istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir (13).

Singhal, 49 hastadan oluşan çalışmasında hastalarının %22'sinde diffüz infiltrasyon saptamıştır. Yine bu çalışmada interstisyel patern gösteren, plazma hücre yüzdesi %20'den az olan ve fibrozisi bulunmayan olgular 5 yıldan uzun sağkalım göstermiştir (16). Bartl ise artmış fibrozisin diffüz infiltrasyon paterni ile birlikte olduğunu göstermiştir (33).

Hasta grubumuzu interstisyel, nodüler ve diffüz olarak üç grupta topladığımızda olguların %34.1'inde interstisyel, %12.6'sında nodüler ve %52.3'ünde diffüz infiltrasyon izlendi. Literatürle uyumlu şekilde evre 3 olguların büyük çoğunluğu (%74) diffüz tutulum paterni göstermekteydi. Diffüz tutulum paterni gösteren olguların çoğunda kemik iliği fibrozisi derece 3 iken, plazma hücre yüzdesi de %50'den fazla idi.

Subramanian ve arkadaşları artmış fibrozisin plazma hücre morfolojisi ve plazma hücreleri mitotik aktivitesi ile ilişkili olduğunu ve bu hastalarda median survinin 11 ay olduğunu belirlemişlerdir (14). Singhal artmış fibrozisi olan bu grup hastalarda yaşam süresinin 1 yıldan az olduğunu saptamıştır (16). Ancak bizim çalışmamızda kemik iliği

fibrozisinin, evre ve sağkalım durumu ile anlamlı şekilde ilişkili olmadığı görüldü. CD38 pozitif hücre yüzdesi ve tutulum paterni de sağkalım durumu ile anlamlı bulunmazken, evre ile anlamlı şekilde ilişkili bulundu.

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz bir diğerk morfolojik parametre ise anjiogenezdır. Anjiogenez neoplastik hastalıklarda önemli bir süreçtir. Bu kavram üzerine hem solid tümörlerde hem de hematolojik malignitelerde yapılmış birçok çalışma vardır. Anjiogenez tümör progresyonu ve metastazda anahtar rol oynamaktadır. Proanjiogenik ve antianjiogenik faktörler tarafından regule edilir (53,54).

“Antianjiogenez” konsepti ise ilk olarak 1971 yılında Judah Folkman tarafından ortaya atıldı. Folkman kan desteği kesilen solid tümörlerin daha fazla büyümediğini saptadı (63,64). Sonrasında kanser hücrelerinden salınan VEGF gibi spesifik anjiogenik faktörlerin tanımlanması, kanser hastalarında anjiogenezi inhibe etmek için hedef tedavilerin geliştirilmesini sağladı. 2003’te bevacizumab, anti-VEGF monoklonal antikorı, kanser tedavisinde kullanılan ilk antianjiogenik ajan oldu. Tirozin kinaz inhibitörleri (sunitinib, sorafenib), anti-sitokin ilaçlar (talidomid, lenalidomid) ve bir proteozom inhibitörü (bortezomib) artık klinik kullanıma girdi.

Hematolojik malignitelerdeki anjiogenez süreci de solid tümörlerin neovaskülarizasyonu ile benzerlikler taşımaktadır. Talidomid, lenalidomid ve bortezomib PHM tedavisinde kullanılan antianjiogenik ilaçlardır. Yine de, hayvan modellerindeki etkileyici sonuçlara rağmen, antianjiogenik ilaçlar henüz insanlarda bu kadar iyi sonuçlar vermemektedir. Antianjiogenik ilaçlar, hastalıksız sağkalımda küçük bir artış sağlamıştır. PHM hastalarında anjiogenez, hedefe yönelik tedavi seçiminde ve tedaviye yanıtı izlemde önemli olabilecek morfolojik bir prognostik belirteçtir, ancak tümör anjiogenezi ve ilaç direnci altında yatan mekanizmaları daha iyi anlamak, tedavi rejimlerini daha iyi optimize edebilmek için bu alanda yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır (65).

Vacca ve arkadaşları 1994 yılında, 67 PHM olgusunda anjiogenezi değerlendirmiştir ve aktif hastalığı olanlarda mikrodamar yoğunluğu daha fazla çıkmıştır. Yine bu çalışmada plazma hücre yoğunluğu ile mikrodamar yoğunluğu arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (66). Vacca ve ekibinin 2001 yılında yayınladığı bir çalışmada ise şu sonuçlara varılmıştır: (1) MGUS ve nonaktif PHM, plazma hücreli tümörlerin prevasküler fazını; aktif PHM ise vasküler fazını yansıtmaktadır; (2) aktif PHM hastalarında tümör plazma hücreleri, FGF-2 aracılığıyla anjiogenik switch’i indükleme yeteneğine sahiptir ve (3) yüksek oranda MMP-2

eksprese ve sekrete ederler; (4) kemik iliği anjiogenezi progresyon riskini gösterir ve bu nedenle prognostik bir belirteç olarak kullanılabilir ve (5) antianjiogenik (anti-FGF-2) ve anti-MMP-2 terapileri aktif PHM hastalarında potansiyel klinik bir uygulama haline gelebilir (67).

Rajkumar ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları 75 olguluk bir seride vWF immunhistokimyası kullanılarak mikrodamarlar incelenmiştir. Bu çalışmada mikrodamar yoğunluğunun plazma hücresi yüzdesi ve ortanca sağkalımla ilişkili olduğu saptanmıştır. Artmış mikrodamar yoğunluğu, kötü prognostik bir parametredir (68).

Sezer ve ekibi 2000 yılında yayınladıkları 44 olguluk bir seride, CD34 immunhistokimyası ile mikrodamar sayımı yaparak, MDY'nin, beta 2 mikroglobulin, CRP ve yaş gibi anlamlı bir prognostik faktör olabileceğini göstermiştir (69).

2002 yılında yayınlanan bir çalışmada kemik iliğinde mikrodamar yoğunluğunun PHM'li hastalarda MGUS'lu hastalara ve sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca anjiogenez, relaps PHM olgularında, yeni tanı PHM olgularına göre daha yüksek çıkmıştır. Bu nedenle MGUS'un veya asemptomatik plazma hücreli myelomun semptomatik plazma hücreli myeloma progresyonunda anjiogenezin rolü olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmada kemik iliği anjiogenezi ve plazma hücre yüzdesi arasındaki ilişki de gösterilmiştir (70).

Alexandrakis ve arkadaşları, 2004 yılında 44 olguda MDY'yi CD34 immunhistokimyası kullanarak saptamış ve hastalık evresi ve plazma hücre infiltrasyon yüzdesi ile MDY'nin pozitif korele olduğunu göstermiştir (71). Yine Alexandrakis ve ekibinin 2015 yılında yaptıkları bir başka çalışmada CD105 (endoglin) neoanjiogenez belirteci olarak kullanılmış ve bu belirtecin boyanma yoğunluğunun diğer vasküler belirteçlere benzer şekilde hastalık evresi ile korele olduğu ve tedavi ile birlikte azaldığı gösterilmiştir (72).

2011 yılında Sucak ve ekibinin yayınladığı bir araştırmada, PHM tanısı alan ve otolog kök hücre nakli yapılan 29 hastanın kemik iliği biyopsileri MDY açısından incelenmiş olup, MDY'nin serum monoklonal protein seviyeleri ile pozitif korele olduğu saptanmıştır. Ancak MDY; Durie Salmon evresi, indüksiyon kemoterapisine ve otolog kök hücre nakline yanıt, genel ve hastalısız sağkalım ile istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (73).

2016 yılında Priyadarshini ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada ise 48 myelomlu hastanın kemik iliği biyopsileri, plazma hücre yüzdesi, infiltrasyon paterni, neoplastik hücrelerin sitolojik derecesi, proliferasyon indeksi ve MDY açısından değerlendirilmiştir.

Proliferasyon indeksi az diferansiye morfolojiye sahip ve diffüz infiltrasyon paterni gösteren vakalarda daha yüksek çıkmıştır. Yine bu çalışmada yüksek MDY az diferansiye morfoloji, yüksek hastalık evresi ve diffüz infiltrasyon paterni ile ilişkili bulunmuştur (56).

Babarovic ve ekibinin yürüttüğü 42 olguluk bir seride, tanı esnasında ve tedavi sonrasında kemik iliği biyopsileri fibrozis, anjiogenez ve plazma hücre infiltratları açısından değerlendirilmiştir. Tedavi öncesi kemik iliği biyopsilerinde fibrozis gösteren hastalarda MDY ve plazma hücre infiltratı daha yüksek çıkmıştır. Tedavi sonrası biyopsilerde, tedaviye yanıt vermeyenlerde fibrozis, MDY ve plazma hücre infiltratı daha yüksek çıkmıştır. Tedavi yanıtı olmayanlarda ve fibrozisi olanlarda genel sağkalım belirgin olarak daha kısadır. Sonuç olarak bu çalışmada kemik iliği biyopsilerinin morfolojik açıdan detaylı olarak incelenmesinin PHM hastalarının monitorize edilmesinde oldukça önemli olduğu vurgulanmıştır (74).

Rao ve ekibinin 2020 yılı Ocak ayında yayınladıkları bir çalışmada, PHM hastalarına ait kemik iliklerindeki endotelyal hücrelerin, MGUS hastalarına ait endotelyal hücrelere kıyasla daha fazla epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve heparin bağlayan EGF benzeri büyüme faktörü (HB-EGF) eksprese ettikleri belirtilmiştir. Ayrıca EGFR ve HB-EGF seviyelerinin plazma hücre sayısı ile paralellik gösterdiği ve HB-EGF'nin kuvvetli bir anjiogenez indükleyicisi olduğu vurgulanmaktadır. Dolayısıyla HB-EGF-EGFR sinyal yolağını inhibe eden EGFR inhibitörlerinin konvansiyonel sitotoksik ilaçlarla birlikte kombine olarak kullanılabileceği önerilmektedir (75).

Ribatti ve ekibi ise PHM'de anjiogenezle birlikte mast hücrelerinin de arttığını belirterek, bunun yeni bir hedef tedavi alanı olabileceğini önermektedir (76).

Başka bir çalışmada, iskelet tutulumlu ekstramedüller hastalığı olan 70 olgu, MDY ve relaps ekstramedüller hastalık ilişkisi açısından incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda relaps ekstramedüller hastalığın MDY, lökosit sayısı ve tanı esnasındaki iskelet tutulum yeri ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak artmış MDY'nin relaps ekstramedüller hastalığı öngörmede kullanılabileceği önerilmiştir (77).

Chung ve ekibi de çalışmalarında MDY'nin PHM hastalarında önemli bir prognostik parametre olduğunu belirterek, MDY'nin otomatize metodlar ile ölçümünün zamandan kazanç ve daha objektif sonuçlar sağlayabileceğinden bahsetmiştir (78).

Biz de çalışmamızda kemik iliğinde plazma hücre oranı arttıkça MDY'nin de arttığını saptadık. Literatürde bu konuda tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. Bazı çalışmalarda

plazma hücre infiltrasyon oranı yüksek olan olgularda MDY'nin de yüksek olduğu saptanırken (56,66), diğer çalışmalarda plazma hücre infiltrasyon oranı ile MDY arasında korelasyon olmadığı bulunmuştur (79,80). Rana ve ekibinin 2010 yılında yayınladıkları çalışmada ise plazma hücre yüzdesi ile MDY arasında anlamlı korelasyon bulunmuştur. Yine bu çalışmada MDY'si yüksek olan, ama plazma hücre infiltrasyon oranı <%50 olan 5 olgunun takibinde olguların tümünün tedaviye direnç gösterdiği izlenmiştir. Bu nedenle anjiogenezin, PHM olgularının tedaviye yanıtlarını ön görmede plazma hücre infiltrasyon yüzdesine oranla daha değerli olabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada anjiogenezin PHM olgularında, kontrol olgularına kıyasla; rezidüel hastalığı olanlarda da tedavi sonrası komplet yanıt geliştiren olgulara kıyasla arttığı gösterilmiştir. Yani yeni tanı PHM olgularında anjiogenezin değerlendirilmesinin hastalık gidişatını öngörmede faydalı olabileceği vurgulanmaktadır. Ayrıca diffüz patern gösteren olgularda MDY de daha yüksektir. Tüm bu bulgular anjiogenezin diğer prognostik faktörlerle ilişkili olduğunu ve bağımsız bir prognostik faktör olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (59). Çalışmamızda 51 hastanın kemik iliği biyopsisi CD34 immunhistokimyası ile MDY açısından incelenmiştir. Literatürle uyumlu olarak diffüz patern gösteren ve CD38 pozitif hücre oranı %50'den fazla olan olgularda MDY daha yüksektir. Ayrıca MDY, evreler arasında karşılaştırıldığında evre 2 ve evre 3 olgular arasında anlamlı fark olduğu izlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen veriler özetlenecek olursa; plazma hücreli myelomda artmış kemik iliği anjiogenezinin hastalık evresini olumsuz etkilediği saptanmıştır. Myelomda kötü prognostik faktörler olduğu bilinen kemik iliğinde yüksek plazma hücre oranının, diffüz plazma hücre infiltrasyon paterninin ve fibrozisin de artmış anjiogenez ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak anjiogenez ve fibrozis, sağkalım durumuyla ilişkili bulunmamıştır.

Plazma hücreli myelomun günümüzde küratif tedavisi olmadığı ve uygulanan mevcut tedavi yöntemlerinin çok fazla yan etkisi olduğu göz önüne alındığında, anjiogenezi hedef alan tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinin hastalık sağkalımını arttırabileceği ön görülmüştür. Ayrıca yeni tanı alan vakalara ait kemik iliği biyopsilerinde rutin olarak plazma hücre yüzdesi, infiltrasyon paterni, fibrozis ve MDY'nin değerlendirilmesinin hastalık prognozu ile ilişkili fikir verebileceği düşünülmüştür.

Ülkemizde bu konuda yapılmış az sayıda çalışma vardır. Bu az sayıdaki çalışmalarda da MDY'nin sağkalım ve evre ile ilişkisi üzerinde durulmuş, ancak diğer morfolojik parametreler ile ilişkisi incelenmemiştir. Ayrıca dünya literatüründe de MDY ve kemik iliği

fibrozisini birlikte değerlendiren tek bir yayına rastlanmıştır (74). Tüm bu sebeplere dayanarak çalışmamızın ülkemiz ve dünya literatürüne katkıda bulunacağına inanmaktayız.



6. SONUÇLAR

1. Plazma hücreli myelom hastalarında ilk başvuru sırasında prognozu belirlemek için gerekli tetkikler içinde kemik iliğinin değerlendirilmesi de yer almalıdır.
2. Kemik iliğinde plazma hücresi yüzdesi, infiltrasyon paterni, fibrozis derecesi ve mikrodamar yoğunluğu prognostik önemi olan histolojik parametrelerdir. Bu amaçla değerlendirmeye yetecek boyut ve kalitede kemik iliği örneği alınması gereklidir.
3. Evre; plazma hücre yüzdesi, tutulum paterni ve mikrodamar yoğunluğu ile ilişkilidir. Kemik iliği fibrozisi ve evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.
4. Tutulum paterni interstisyelden diffüze doğru ilerledikçe kemik iliği fibrozisi derecesi ve evre artmaktadır.
5. Plazma hücre yüzdesi %50'den fazla olan olguların çoğu diffüz tutulum paterni göstermektedir.
6. Plazma hücre yüzdesi ile kemik iliği fibrozisi arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptanmıştır.
7. Mikrodamar yoğunluğu plazma hücre yüzdesi, tutulum paterni, fibrozis ve evre ile ilişkilidir.
8. Cinsiyet, yaş, evre, plazma hücre yüzdesi, kemik iliği tutulum paterni, kemik iliği fibrozisi ve mikrodamar yoğunluğu ayrı ayrı sağkalım durumu ile karşılaştırıldığında, aralarında anlamlı ilişki bulunmamıştır.
9. Yeni tanı alan vakalara ait kemik iliği biyopsilerinde rutin olarak plazma hücre yüzdesi, infiltrasyon paterni, fibrozis ve MDY'nin değerlendirilmesinin hastalık prognozu ile ilişkili fikir verebileceği, tedavi seçiminde ve takibinde faydalı olabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR:

1. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):e538–48.
2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, et al. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin.* 2007;57(1):43–66.
3. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. In: *Mayo Clinic Proceedings.* Elsevier; 2003. p. 21–33.
4. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(1):5–29.
5. Crusoe EQ, da Silva AM, Agareno J, Chauffaille ML, et al. Multiple myeloma: a rare case in an 8-year-old child. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2015;15(1):e31.
6. Weiss BM, Abadie J, Verma P, Howard RS, et al. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood.* 2009;113(22):5418–22.
7. Moreau P, Attal M, Facon T. Frontline therapy of multiple myeloma. *Blood, J Am Soc Hematol.* 2015;125(20):3076–84.
8. Chawla SS, Kumar SK, Dispenzieri A, Greenberg AJ, et al. Clinical course and prognosis of non-secretory multiple myeloma. *Eur J Haematol.* 2015;
9. Greipp PR, Miguel JS, Durie BGM, Crowley JJ, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2005;23(15):3412–20.
10. Paiva B, van Dongen JJM, Orfao A. New criteria for response assessment: role of minimal residual disease in multiple myeloma. *Blood, J Am Soc Hematol.* 2015;125(20):3059–68.
11. Paiva B, Vidriales M-B, Cerveró J, Mateo G, et al. Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood.* 2008;112(10):4017–23.
12. Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, et al. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica.* 2005;90(8):1128–32.
13. Subramanian R, Basu D, Dutta TK. Prognostic significance of bone marrow histology in multiple myeloma. *Indian J Cancer.* 2009;46(1):40.
14. Subramanian R, Basu D, Dutta TK. Significance of bone marrow fibrosis in multiple

- myeloma. *Pathology*. 2007;39(5):512–5.
15. Abildgaard N, Bendix-Hansen K, Kristensen JE, Vejlgaard T, et al. Bone marrow fibrosis and disease activity in multiple myeloma monitored by the aminoterminal propeptide of procollagen III in serum. *Br J Haematol*. 1997;99(3):641–8.
 16. Singhal N, Singh T, Singh ZN, Shome DK, et al. Histomorphology of multiple myeloma on bone marrow biopsy. *Indian J Pathol Microbiol*. 2004;47(3):359–63.
 17. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, Lokhorst HM, et al. Revised international staging system for multiple myeloma: a report from International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol*. 2015;33(26):2863.
 18. MacLennan ICM. Germinal centers. *Annu Rev Immunol*. 1994;12(1):117–39.
 19. Swerdlow SH. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. International Agency for Research on Cancer; 2017.
 20. Hematoloj RK. *HematoLog*. 2013;(1):8–19.
 21. Cambier JC, Gauld SB, Merrell KT, Vilen BJ. B-cell anergy: from transgenic models to naturally occurring anergic B cells? *Nat Rev Immunol*. 2007;7(8):633.
 22. Hallek M, Leif Bergsagel P, Anderson KC. Multiple myeloma: increasing evidence for a multistep transformation process. *Blood, J Am Soc Hematol*. 1998;91(1):3–21.
 23. Tarlinton D, Radbruch A, Hiepe F, Dörner T. Plasma cell differentiation and survival. *Curr Opin Immunol*. 2008;20(2):162–9.
 24. Chesi M, Bergsagel PL. Molecular pathogenesis of multiple myeloma: basic and clinical updates. *Int J Hematol*. 2013;97(3):313–23.
 25. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375–90.
 26. Bladé J, Kyle RA, Greipp PR. Multiple myeloma in patients younger than 30 years: report of 10 cases and review of the literature. *Arch Intern Med*. 1996;156(13):1463–8.
 27. Linet MS, Harlow SD, McLaughlin JK. A case-control study of multiple myeloma in whites: chronic antigenic stimulation, occupation, and drug use. *Cancer Res*. 1987;47(11):2978–81.
 28. Landgren O, Kyle RA, Pfeiffer RM, Katzmann JA, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood*. 2009;113(22):5412–7.

29. McKenna RW. Plasma cell neoplasms. WHO Classif tumours Haematop lymphoid tissues. 2008;200–13.
30. Dimopoulos M, Terpos E, Comenzo RL, Tosi P, et al. International myeloma working group consensus statement and guidelines regarding the current role of imaging techniques in the diagnosis and monitoring of multiple Myeloma. *Leukemia*. 2009;23(9):1545.
31. Zamagni E, Cavo M. The role of imaging techniques in the management of multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2012;159(5):499–513.
32. Fujino M. The histopathology of myeloma in the bone marrow. *J Clin Exp Hematop*. 2018;58(2):61–7.
33. Bartl R, Frisch B, Fateh-Moghadam A, Kettner G, et al. Histologic classification and staging of multiple myeloma: a retrospective and prospective study of 674 cases. *Am J Clin Pathol*. 1987;87(3):342–55.
34. Reed M, McKenna RW, Bridges R, Parkin J, et al. Morphologic manifestations of monoclonal gammopathies. *Am J Clin Pathol*. 1981;76(1):8–23.
35. Group IMW. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol*. 2003;121(5):749–57.
36. Peterson LC, Brown BA, Crosson JT, Mladenovic J. Application of the immunoperoxidase technic to bone marrow trephine biopsies in the classification of patients with monoclonal gammopathies. *Am J Clin Pathol*. 1986;85(6):688–93.
37. Greipp PR, Leong T, Bennett JM, Gaillard JP, et al. Plasmablastic morphology—an independent prognostic factor with clinical and laboratory correlates: Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) myeloma trial E9486 report by the ECOG Myeloma Laboratory Group. *Blood*. 1998;91(7):2501–7.
38. Bataille R, Jégo G, Robillard N, Barillé-Nion S, et al. The phenotype of normal, reactive and malignant plasma cells. Identification of "many and multiple myelomas" and of new targets for myeloma therapy. *Haematologica*. 2006;91(9):1234–40.
39. Lin P, Owens R, Tricot G, Wilson CS. Flow cytometric immunophenotypic analysis of 306 cases of multiple myeloma. *Am J Clin Pathol*. 2004;121(4):482–8.
40. Mateo G, Montalbán MA, Vidriales M-B, Lahuerta JJ, et al. Prognostic value of immunophenotyping in multiple myeloma: a study by the PETHEMA/GEM

- cooperative study groups on patients uniformly treated with high-dose therapy. *J Clin Oncol*. 2008;26(16):2737–44.
41. Almeida J, Orfao A, Ocqueteau M, Mateo G, et al. High-sensitive immunophenotyping and DNA ploidy studies for the investigation of minimal residual disease in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 1999;107(1):121–31.
 42. Bataille R, Pellat-Deceunynck C, Robillard N, Avet-Loiseau H, et al. CD117 (c-kit) is aberrantly expressed in a subset of MGUS and multiple myeloma with unexpectedly good prognosis. *Leuk Res*. 2008;32(3):379–82.
 43. Olteanu H, Harrington AM, Hari P, Kroft SH. CD200 expression in plasma cell myeloma. *Br J Haematol*. 2011;153(3):408–11.
 44. Cook JR, Hsi ED, Worley S, Tubbs RR, et al. Immunohistochemical analysis identifies two cyclin D1+ subsets of plasma cell myeloma, each associated with favorable survival. *Am J Clin Pathol*. 2006;125(4):615–24.
 45. Specht K, Haralambieva E, Bink K, Kremer M, et al. Different mechanisms of cyclin D1 overexpression in multiple myeloma revealed by fluorescence in situ hybridization and quantitative analysis of mRNA levels. *Blood*. 2004;104(4):1120–6.
 46. Alapat D, Coviello-Malle J, Owens R, Qu P, et al. Diagnostic usefulness and prognostic impact of CD200 expression in lymphoid malignancies and plasma cell myeloma. *Am J Clin Pathol*. 2012;137(1):93–100.
 47. Moreau P, Robillard N, Jégo G, Pellat C, et al. Lack of CD27 in myeloma delineates different presentation and outcome. *Br J Haematol*. 2006;132(2):168–70.
 48. Bataille R, Boccadoro M, Klein B, Durie B, et al. C-reactive protein and beta-2 microglobulin produce a simple and powerful myeloma staging system. *Blood*. 1992;80(3):733–7.
 49. Bataille R, Durie BG, Grenier J, Sany J. Prognostic factors and staging in multiple myeloma: a reappraisal. *J Clin Oncol*. 1986;4(1):80–7.
 50. Tedav TVE. Türk Hematoloji Derneği Multipl Myelom Tanı ve Tedavi Kılavuzu [Internet]. 2016. Available from: www.thd.org.tr
 51. Kuter DJ, Bain B, Mufti G, Bagg A, et al. Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres. *Br J Haematol*. 2007;139(3):351–62.
 52. Roberts GT, Khalil SH. Multiple myeloma with bone marrow crystal deposition and

- marrow fibrosis. *Ann Saudi Med.* 1998;18(5):432–6.
53. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book. Elsevier health sciences; 2014. 305–306 p.
 54. Moehler TM, Ho AD, Goldschmidt H, Barlogie B. Angiogenesis in hematologic malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2003;45(3):227–44.
 55. Jakob C, Sterz J, Zavrski I, Heider U, et al. Angiogenesis in multiple myeloma. *Eur J Cancer.* 2006;42(11):1581–90.
 56. Priyadarshini SG, Basu D, Kar R, Dutta TK. Proliferation and angiogenesis using immunohistochemistry in prognosticating multiple myeloma. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2016;32(4):418–23.
 57. Ashier M, Erdağ TK, Sarioğlu S, Güneri EA, et al. Assessment of Subepithelial Angiogenesis in Acquired Cholesteatoma between Pediatric and Adult Patients. *Turkish Arch Otorhinolaryngol.* 2015;53(2):47.
 58. Xu JL, Lai R, Kinoshita T, Nakashima N, et al. Proliferation, apoptosis, and intratumoral vascularity in multiple myeloma: correlation with the clinical stage and cytological grade. *J Clin Pathol.* 2002;55(7):530–4.
 59. Rana C, Sharma S, Agrawal V, Singh U. Bone marrow angiogenesis in multiple myeloma and its correlation with clinicopathological factors. *Ann Hematol.* 2010;89(8):789–94.
 60. Vandermolen L, Rice L, Lynch EC. Plasma cell dyscrasia with marrow fibrosis. Clinicopathologic syndrome. *Am J Med.* 1985;79(3):297–302.
 61. Ciftciler R, Goker H, Buyukasik Y, Aladag E, et al. Impact of bone marrow plasma cells percentage on survival at diagnosis and pre-transplant period in newly diagnosed multiple myeloma: Experience of a single center from Turkey. *Transfus Apher Sci.* 2019;58(3):313–7.
 62. Hao Y, Khaykin D, Machado L, van den Akker T, et al. Bone marrow morphologic features, MyPRS, and gene mutation correlations in plasma cell myeloma. *Mod Pathol.* 2019;1–8.
 63. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med.* 1971;285(21):1182–6.
 64. Folkman J. Angiogenesis-dependent diseases. In: *Seminars in oncology.* Elsevier; 2001. p. 536–42.

65. Ribatti D, Vacca A. New insights in anti-angiogenesis in multiple myeloma. *Int J Mol Sci.* 2018;19(7):2031.
66. Vacca A, Ribatti D, Roncali L, Ranieri G, et al. Bone marrow angiogenesis and progression in multiple myeloma. *Br J Haematol.* 1994;87(3):503–8.
67. Vacca A, Ribatti D, Roccaro AM, Frigeri A, et al. Bone marrow angiogenesis in patients with active multiple myeloma. In: *Seminars in oncology.* Elsevier; 2001. p. 543–50.
68. Rajkumar SV, Leong T, Roche PC, Fonseca R, et al. Prognostic value of bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Clin cancer Res.* 2000;6(8):3111–6.
69. Sezer O, Niemöller K, Eucker J, Jakob C, et al. Bone marrow microvessel density is a prognostic factor for survival in patients with multiple myeloma. *Ann Hematol.* 2000;79(10):574–7.
70. Rajkumar SV, Mesa RA, Fonseca R, Schroeder G, et al. Bone marrow angiogenesis in 400 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma, and primary amyloidosis. *Clin Cancer Res.* 2002;8(7):2210–6.
71. Alexandrakis MG, Passam FH, Dambaki C, Pappa CA, et al. The relation between bone marrow angiogenesis and the proliferation index Ki-67 in multiple myeloma. *J Clin Pathol.* 2004;57(8):856–60.
72. Alexandrakis MG, Neonakis IK, Pappa CA, Konsolas I, et al. Immunohistochemical expression of endoglin offers a reliable estimation of bone marrow neoangiogenesis in multiple myeloma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2015;141(8):1503–9.
73. Sucak GT, Aki ŞZ, Yüzbaşıoğlu B, Akyürek N, et al. Prognostic value of bone marrow microvessel density and angiogenic cytokines in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplant. *Leuk Lymphoma.* 2011;52(7):1281–9.
74. Babarović E, Valković T, Štifter S, Budisavljević I, et al. Assessment of bone marrow fibrosis and angiogenesis in monitoring patients with multiple myeloma. *Am J Clin Pathol.* 2012;137(6):870–8.
75. Rao L, Giannico D, Leone P, Solimando AG, et al. HB-EGF–EGFR Signaling in Bone Marrow Endothelial Cells Mediates Angiogenesis Associated with Multiple Myeloma. *Cancers (Basel).* 2020;12(1):173.
76. Ribatti D, Tamma R, Vacca A. Mast Cells and Angiogenesis in Human Plasma Cell

- Malignancies. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3):481.
77. Yang J-Z, Wu X-D, Meng J-B, Zhang J-Q, et al. Association of increased microvessel density with skeletal extramedullary disease relapse in multiple myeloma patients who have skeletal extramedullary disease at diagnosis. *Pathol Pract.* 2018;214(10):1694–9.
78. Chung Y, Shin S, Shim H, Sohn JY, et al. Development of an Automated Image Analyzer for Microvessel Density Measurement in Bone Marrow Biopsies. *Ann Lab Med.* 2020;40(4):312–6.
79. Munshi N, Wilson CS, Penn J, Epstein J, et al. Angiogenesis in newly diagnosed multiple myeloma: poor prognosis with increased microvessel density (MVD) in bone marrow biopsies. In: *Blood*. WB SAUNDERS CO INDEPENDENCE SQUARE WEST CURTIS CENTER, STE 300, PHILADELPHIA ...; 1998. p. 98A-98A.
80. Singhal S, Mehta J, Desikan R, Ayers D, et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med.* 1999;341(21):1565–71.