



**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**MULTİPLE MYELOMALI HASTALARDA XPD,  
XRCC1 VE XRCC4 GEN POLİMORFİZMLERİNİN  
KLİNİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ VE PROGNOZ  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Sami ÇİFÇİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Mehmet YILMAZ**

**Eylül-2009**

**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**MULTİPLE MYELOMALI HASTALARDA XPD,  
XRCC1 VE XRCC4 GEN POLİMORFİZMLERİNİN  
KLİNİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ VE PROGNOZ  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Sami ÇİFÇİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Mehmet YILMAZ**

**Eylül-2009**

**Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından TF.09.03 proje  
numarası ile desteklenmiştir.**

## I. ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleşmesi için gerekli ortamı hazırlayan ve araştırmanın planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarda bana danışmanlık yaparak yardımlarını esirgemeyen tez hocam Doç. Dr. Mehmet Yılmaz'a, İç Hastalıkları AD. Başkanı Prof. Dr. Celalettin Usalan'a, Hematoloji BD. hocalarından Doç. Dr. Vahap Okan ve Doç. Dr. Mustafa Pehlivan'a, tezimin laboratuvar çalışmalarında her türlü güçlüğü karşı uygun ortamı hazırlayan ve laboratuvar çalışmalarını tamamlayan Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD. öğretim üyesi Doç. Dr. Sacide Pehlivan'a, Araştırma görevlisi Tuğçe Sever'e, Selin Büdeyri'ye, iyi ve kötü günleri paylaştığım çalışma arkadaşlarıma, ihtisasım boyunca her türlü desteğini gördüğüm sevgili eşim Nilüfer Çifçi'ye ve beni her zaman destekleyen ve yanımda olan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. Sami ÇİFÇİ

Gaziantep, 2009

## II. İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
KISALTMALAR.....	VII
TABLO LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
RESİM LİSTESİ.....	X
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Tanım.....	3
2.2. Epidemiyoloji.....	3
2.3. Etiyoloji.....	3
2.4. Patogenez.....	4
2.5. Klinik Özellikler.....	5
2.5.1. Kemik Tutulumu.....	5
2.5.2. Böbrek Tutulumu.....	6
2.5.3. İnfeksiyonlar.....	6
2.5.4. Hiperkalsemi.....	7
2.5.5. Nörolojik semptomlar.....	7

2.5.6. Hiperviskozite.....	7
2.5.7. Kanama ve Anemi.....	8
2.5.8. Venöz tromboemboli.....	8
2.5.9. Amiloidoz.....	9
2.6. Genetik.....	9
2.7. Laboratuvar.....	9
2.8. Multipl Myelom alt tipleri.....	13
2.9. Tanı.....	14
2.10. Evrelendirme ve prognostik faktörler.....	15
2.11. Ayırıcı tanı.....	16
2.12. Tedavi.....	18
2.12.1. Başlangıç tedavisi.....	18
2.12.2. İdame tedavi.....	20
2.12.3. Proteozom inhibitörleri.....	21
2.12.4. Talidomid.....	21
2.13. DNA tamir mekanizmaları.....	22
<b>3.MATERYAL ve METOD.....</b>	<b>25</b>
3.1. Örneklerin Seçimi.....	25
3.2. Kemik İliği Yayma Preparatları İçin DNA İzolasyonu.....	25
3.2.1. Gerekli Alet ve Kimyasallar.....	25
3.2.2. DNA İzolasyonu.....	26
3.3. Kandan DNA İzolasyonu.....	26
3.3.1. Kandan DNA İzolasyonu İşleminde Kullanılan Araç ve Kimyasallar.....	27
3.4. DNA Amplifikasyonu.....	27
3.4.1. PCR Kimyasal Konsantrasyonları.....	27
3.4.2. PCR Koşulları.....	29
3.5. PCR Amplifikasyonu Sonuçlarının Görüntülenmesi ve	

Değerlendirilmesi.....	30
3.5.1. Agaroz Jel Elektroforezi (Yatay Jel Elektroforezi).....	30
3.6. DNA'nın Enzimatik Kesim İşlemi.....	30
3.6.1. DNA'nın Enzimatik Kesim İşleminde Kullanılan Alet ve Enzimler.....	30
3.6.2. Enzim Kesimi ve Değerlendirilmesi.....	31
3.7. İstatistikî analiz.....	32
<b>4.BULGULAR.....</b>	<b>33</b>
<b>5.TARTIŞMA.....</b>	<b>45</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>50</b>

## V. ÖZET

### MULTİPLE MYELOMALI HASTALARDA XPD, XRCC1 VE XRCC4 GEN POLİMORFİZMLERİNİN KLİNİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ VE PROGNOZ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

**Dr. Sami ÇİFÇİ**

**Uzmanlık Tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet YILMAZ**

**Eylül 2009, 64 sayfa**

Bu çalışmada, Multipl Myeloma'lı hastalarda XRCC1-399, XPD-751, XRCC4 intron3 ve XRCC4-1394 gen polimorfizmleri ile klinik parametrelerin ilişkisi ve prognoz üzerindeki etkileri değerlendirildi. Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalında multipl myeloma tanısı konulan 63 hasta dahil edildi. Kontrol grubu olarak hematolojik malignitesi olmayan sağlıklı 70 kişi alındı. XRCC1 kodon 399 gen polimorfizmi dağılımı AA: 25(%39.7), AG: 21(%33.3), GG: 17(%27.0), XPD kodon 751 gen polimorfizmi dağılımı AA: 27(%42.8), AC: 25(%39.7), CC: 11(%17.5), XRCC4intron3 gen polimorfizmi dağılımı DD: 1(%1.6), DI: 38(%60.3), II: 24(%38.1), XRCC4-1394 gen polimorfizmi dağılımı TT:14(%22.2), TG:29(%46.0), GG:20(%31.2) oranlarında tespit edildi. XRCC1-399 ve XPD-751 gen polimorfizmleri ile MM arasında ilişki tespit edilmedi. XRCC4 intron3 gen polimorfizminde D alleli (p=0.03) ve DD genotipi (p=0.007) ile XRCC4-1394 geninde TT genotipinin (p=0.04) MM hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı.

Sonuç olarak, XRCC1-399 ve XPD-751 gen polimorfizmi ile MM arasında bir ilişki kurulamayacağı, XRCC4 intron3'de D alleli ve DD genotipinin azalması, XRCC4-1394 genin de ise TT genotipinin azalması ile multipl myelomaya yatkınlığın arttığı düşünüldü.

**Anahtar kelimeler:** Multipl myeloma, XPD , XRCC1, XRCC4

## VI. ABSTRACT

### RELATIONS OF CLINICAL PARAMETERS AND EFFECTS ON PROGNOSIS OF GENOMIC POLYMORPHISMS IN XPD, XRCC1 VE XRCC4 IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA

**Dr. Sami ÇİFÇİ, MD**

**Residency Thesis, Department on Internal Medicine**

**Supervisor: Assos. Prof. Mehmet YILMAZ**

**September 2009, 64 pages**

In this study, relations of clinic parameters and effects on prognosis of genomic polymorphisms in XRCC1-399, XPD-751, XRCC4 intron3 and XRCC4-1394 are assessed in patients with multiple myeloma. Sixty patients with multiple myeloma in Haematology department in Internal Medicine of Gaziantep University hospital are included. Healthy 70 people without any haematological malignancies are included as control group. Distribution of XRCC1 codon 399 gene polymorphism is AA: 25(39.7%), AG: 20(33.3%), GG: 17(28.3%), distribution of XPD codon 751 gene polymorphism is AA: 27(%42.8), AC: 25(%39.7), CC: 11(%17.5), distribution of XRCC4intron3 gene polymorphism is DD: 1(1.6%), DI: 38(60.3%), II: 24(38.1%) and distribution of XRCC4-1394 gene polymorphism is TT:14(%22.2), TG:29(%46.0), GG:20(%31.2). No significant relation is found between XRCC1-399 and XPD-751 gen polymorphisms and MM. D allele ( $p=0.03$ ) ve DD genotype ( $p=0.007$ ) in XRCC4 intron3 gene polymorphism and TT genotype ( $p=0.04$ ) in XRCC4-1394 gene are significantly decreased in patients with MM in comparison with control group.

As a result, there cannot be any relation between XRCC1-399 and XPD-751 gen polymorphisms and MM, however, decreases in D allele and DD genotype in XRCC4 intron3 and decreases in TT genotype in XRCC4-1394 gene thought as increasing the tendency in multiple myeloma.

**Key words:** Multiple myeloma, XRCC1, XPD, XRCC4



## VII. KISALTMALAR

**BER:** Base excision repair

**IG F-1:** İnsülin benzeri büyüme faktörü-1

**IL-6:** İnterlökin-6

**MMR:** Mismatch repair

**NER:** Nucleotide excision repair

**NF- $\kappa$ B:** Nükleer faktör  $\kappa$ B

**PARP:** Poli (ADP-riboz) polimeraz

**PCLI:** Plasma cell labeling index

**SNP:** Tek nükleotid polimorfizmi

**TNF- $\alpha$ :** Tümör nekroz edici faktör  $\alpha$

**VEGF:** Vasküler endotelial büyüme faktörü

**XPB:** Xeroderma pigmentosum complementing group D

**XRCC1:** X-ray cross complementing group 1

**XRCC4:** X-ray cross-complementing group 4

**ECOG:** Eastern Cooperative Oncology Group

**HWE:** Hardy Weinberg Eşitsizliği

## VIII. TABLOLAR LİSTESİ

**Tablo 1.** MM Fenotipik özellikleri

**Tablo 2.** MGUS, asemptomatik ve semptomatik myelom tanı kriteri

**Tablo 3.** M. Myelomada evrelendirme (Durie ve Salmon evreleme sistemi)

**Tablo 4.** Remisyon kriterleri

**Tablo 5.** DNA tamir genleri

**Tablo 6.** Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki gen polimorfizmlerinin karşılaştırılması

**Tablo 7.** Hastaların demografik ve klinik özellikleri

**Tablo 8.** Kontrol grubu demografik bulguları

**Tablo 9.** DNA tamir gen polimorfizmi ve paraprotein ilişkisi

**Tablo 10.** DNA tamir gen polimorfizmi ve paraprotein ilişkisi

**Tablo 11.** DNA tamir gen polimorfizmi ile MM evreleri arasındaki ilişki

**Tablo 12.** DNA tamir gen polimorfizmlerinin  $\beta$ 2MG ve PS ile ilişkisi

**Tablo 13.** DNA tamir gen polimorfizmi ve sağkalım ilişkisi

**Tablo 14.** DNA tamir gen polimorfizmleri ve tedavi ilişkisi

## IX.ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil 1.** Normal ve gama piki gözlenen protein elektroforezi.

**Şekil 2.** Serum protein immünfiksasyon elektroforezi, IgG Kappa paraproteini.

**Şekil 3.** Mayo klinik'te 1982-1994 yılları arasında multipl myeloma tanılı 984 vakanın serum monoklonal protein tipleri.

**Şekil 4.** Pst I enzim kesimi sonucu genotipleme sonuçları.

**Şekil 5.** MspI enzim kesimi sonucu genotipleme sonuçları.

**Şekil 6.** HincII enzim kesimi sonucu genotipleme sonuçları.

**Şekil 7.** XRCC4-intron3 genotipleme sonuçları.\*M: Markır

**Şekil 8.** Hasta ve kontrol grubunda allel frekansının dağılımı

**Şekil 9.** Hasta ve kontrol grubu arasında TT ile TG + GG genotiplerinin karşılaştırılması

## X. RESİM LİSTESİ

**Resim 1.** Matür plazma hücreleri.

**Resim 2.** İmmatür plazma hücreleri.

**Resim 3.** Plazmablast hücresi.

**Resim 4.** PCR aleti (gene Amp PCR System 9700)

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl Miyelom (MM), anormal miktarda immünglobulin sentezleyen ve kemik iliğini infiltre eden plazma hücrelerinin artışından kaynaklanan malign bir tümördür. Klinik olarak hastalar asemptomatik olabilecekleri gibi anemi, renal tutulum, kemiklerde litik lezyonlar, sık enfeksiyon hikayesi ve hiperviskosite ile ilişkili sorunlar gelişebilir. Hastalığın ortalama sağkalımı 3-4 yıl iken son yıllarda periferik kök hücre tedavileri ve yeni nesil ilaçlar ile bu süre ortalama 5-6 yıla çıkmıştır.

Her bir insan hücresinin DNA'sında kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olan hasarlar meydana gelmektedir. Normal hücreler DNA dizisinde oluşan bu hataları saptayan mekanizmalara sahiptirler. DNA hasarlandığı zaman bir grup tamir mekanizması hasarlı nükleotidleri normal nükleotitlerle değiştirir. Bu mekanizmalar oluşan iki yeni hücredeki genetik materyalin ana hücredeki materyalle kesinlikle aynı olmasını sağlarlar. Baz-eksizyon tamir (BER) sisteminde önce DNA glikozilazlar vasıtasıyla hatalı baz çıkarılarak abazik yerler oluşturulur ve daha sonra bu bölgeler doğru nükleotitler eklenerek tamir edilir. Nükleotid-eksizyon tamir (NER) sistemi, DNA'nın heliks yapısında büyük değişiklik oluşturan hasarları tamir eder.

Baz eksizyon tamir (BER), mismatch tamir, nükleotid eksizyon tamir (NER) sistemlerinin ilaç direnci ile ilişkili oldukları bildirilmiştir (1,2). Fankoni anemisi ve Ataxia telanjektazi gibi hastalıklarda ortaya çıkan lösemi ve lenfoma gibi hematolojik kanser gelişiminin sebebi bozuk DNA tamir sistemidir (3,4). Son yıllarda DNA tamir genlerinde tespit edilen polimorfizmlerin, DNA tamir fonksiyonunu etkileyerek kişilerin hastalıklara eğilimlerinde önemli rol oynadıkları tespit edilmiştir (5).

XPD (Xeroderma pigmentosum group D) proteini hem bazal transkripsiyonda hem de NER'de önemli rol oynayan proteinlerden biridir. XPD geninde meydana gelen mutasyonlar genetik bir hastalık olan xeroderma pigmentosuma neden olduğundan, XPD genindeki polimorfizmler genetik yatkınlık faktörü olarak görülebilir. XPD lokusunda bir çok tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tespit edilmiştir.

Kodon 751 polimorfizmi, poli (A) sinyalinin 50 baz yukarisinda yer almaktadır. Yapılan çalişmalarda, bu polimorfizm ile kromatid kırıklarının yüksek seviyeleri ve çeşitli kanser tipleri (6-8) arasında ilişki tespit edilmiştir.

BER sisteminde yer alan XRCC1 (X-ray repair cross-complementing group 1) iyonizan radyasyon ve alkilleyici ajanların yol açtığı hasarların tamirinde rol oynar. Tamir sürecinde önemli bir role sahiptir, DNA ligaz III, DNA polimeraz beta, poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) ile etkileşime girer (9). XRCC1 gen polimorfizmleri sonucu diğer proteinler ile oluşturduğu kompleksin stabilitesi ve dolayısıyla tamir kapasitesi etkilenebilir. Yapılan epidemiyolojik çalişmalarda, çeşitli kanser tipleri ile bu polimorfizmler arasında ilişki ortaya konmuştur (10-12).

X-ray cross-complementing group 4 (XRCC4) BER mekanizması alt grubunda bulunan bir DNA tamir genidir. XRCC4 özellikle B hücrelerinin erken evre gelişimlerinde ve immünglobulin kombinasyonları sırasında oluşan DNA hasarlarının ve iyonize radyasyonun oluşturduğu DNA hasarlarının tamirinde görev almaktadır. İmmünglobulin rekombinasyonu sırasında oluşan DNA hasarlarının B-hücreli lenfoma ve lösemilerin patogenezinde çok önemli rol oynadığı düşünölmektedir (13).

DNA tamir genlerinin birçok hematolojik maligniteye sebep olabileceği konusunda giderek artan bir bilgi birikimi ve deneyimi oluşmasına rağmen, bu bilgilerin MM'da kullanımı hala çok sınırlı düzeydedir. Ortalama yaşam ömrü 3-5 yıl kadar olabilen MM hastalığında, etyolojik ve prognostik faktörlerin iyi belirlenmesinin hastalığın patogenezinin aydınlanmasına, uygun tedavi rejimlerinin oluşmasına yardımda bulunacağı ve hastaların yaşam sürelerini arttırmaya katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Türkiye'de ilk defa yapılan bu çalişmada Multipl Myeloma'lı hastalarda XPD, XRCC1 ve XRCC4 gen polimorfizmleri ile klinik parametrelerin ilişkisi ve prognoz üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Tanım**

Multipl Miyelom (MM), kemik iliğinde malign plazma hücrelerinin artışı ile seyreden aşırı miktarda monoklonal immünglobulin üretiminin olduğu, genel olarak osteolitik lezyonlar, hiperkalsemi, anemi, monoklonal protein artışı ve renal yetmezlik ile karakterize B hücreli lenfoproliferatif bir hastalıktır (14,15).

### **2.2. Epidemiyoloji**

Tüm hematolojik malignitelerin yaklaşık %10'unu oluşturur (14,15). Myelomun yaklaşık insidansı yıllık 100000'de 4.5'dir. Siyah ırkta beyaz ırkın 2 katı sıklıkta görülmektedir. Erkeklerde kadınlardan biraz daha sıktır. Tanı konulduğu dönemde ortalama yaş 70'dir. Hastaların sadece %5'i 40 yaşın altındadır (16). Mortalite oranları da erkeklerde kadınlara göre, siyah ırkta beyaz ırka göre daha fazladır (17).

### **2.3. Etiyoloji**

MM etyolojisi henüz tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte literatürde, MM olgularının bir kısmının etyolojisinde genetik, radyasyon, viral, kronik antijenik uyarının ve çevresel faktörler gibi etkenlerin rolü olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır. İyonize radyasyon maruziyeti en önemli risk faktörüdür. Kısa sürede yüksek doz veya uzun süre düşük doz radyasyon maruziyetinden sonra MM açısından artmış bir risk olduğu gözlenmiştir (18).

Çevresel faktörlerinde MM gelişimi üzerinde etkilerinin olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur.

Tarım işçilerinde gübre ve hububat tozlarına maruziyet sonrası MM gelişme riskinin arttığı belirtilmektedir (19). Petrol endüstrisinde çalışan ve benzen maruziyeti olan kişilerde MM riskinin attığı (20), yine özellikle erimiş metal işçilerinde'de ağır metallere maruziyet sonrası MM riskinin arttığı belirtilmektedir (21).

Human Herpes Virüs (HHV-8) ve Human Immunodeficiency Virus (HIV) enfeksiyonlarında MM hastalığı daha sık görülmektedir (22).

Retikuloendotelial sistemin kronik antijenik stimülasyonu sonucu'da MM gelişme riskinin olduğu (23), romatoid atrit, gauche hastalığı, kronik osteomyelit ve tüberküloz gibi kronik seyirli hastalıklarda MM görülme sıklığının normale göre daha yüksek olduğu belirtilmektedir (24).

#### 2.4. Patogenez

Multipl miyelom gelişiminde birçok sistem bozukluğunun rol aldığı düşünülmektedir. Sinyal ileti sistemi, apoptoz, kemik iliği mikroçevresi ve hücre siklusu bunlar arasındadır. Malign plazma hücreleri oluşumunda hücre siklusunda yer alan gen ekspresyon bozuklukları rol almaktadır.

İnterlökin-6 (IL-6)'nın myelom hücreleri için çok önemli bir yaşamsal ve büyüme faktörü olduğu ortaya konmuştur (25). Plazma hücreleri için en önemli büyüme faktörü ve anti-apoptotik faktör IL-6'dır. IL-6, myelom hücrelerince otokrin olarak salgılandığında başlıca kemik iliği mikro çevresindeki stromal hücrelerinden salgılanır (26). IL-6 düzeyleri hastalığın aktivasyonu ile yakın ilişkilidir. Erken evrede serum seviyeleri düşük, ileri evrede ise yüksek olarak bulunur (27). Birçok miyelom hücresi; CD 56, very late antijen (VLA)-4 ve VLA-5 ve  $\beta 1$  integrin gibi adezyon moleküllerini eksprese ederler. Miyelom hücreleri bu moleküller ile bir taraftan birbirlerine, diğer taraftan stromal hücrelere tutunurlar ve stromal hücrelerden IL-6 salınımına yol açarlar (28).

Miyelom hücreleri, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), tümör nekroz edici faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve az miktarda IL-6 salgırlar. IGF-1 myelom hücrelerinin yaşamında, proliferasyonunda ve ilaç direncinde rol oynar. VEGF tümör hücrelerinin büyüme, migrasyonunda ve angiogenezinde rol alırken, TNF- $\alpha$  ise Nükleer faktör  $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ )'yı aktive ederek myelom hücrelerinin yaşam sürelerini arttırır (29). Multipl Myeloma'da gerek sitokinler aracılığı ile gerekse genetik faktörlerin rol oynaması sonucu apoptotik kontrol bozukluğu meydana gelebilir. Apoptozis defektinin'de multipl myeloma patogenezinde ve tedaviye direnç te kritik öneminin olduğu belirtilmektedir (30).

Kemik iliği mikroçevresi ile myeloma hücreleri arasında sinerjistik bir etkileşim vardır ve MM patogenezinde önemli rol aldıkları ortaya konmuştur. Bu etkileşim sonucu stromal



hücrelerden salınan IL-6, myeloma hücrelerinden IL-1 $\beta$ , VEGF ve makrofaj inflamatuvar protein-1 $\alpha$  salınımına neden olarak osteoklast aktivasyonuna ve bunun sonucu olarak kemik rezorbsiyonuna neden oldukları gösterilmiştir (23). Kemik iliği stromal hücrelerince salınan bu sitokinler myelom hücrelerinin yaşamında, proliferasyonunda ve angiogenezinde önemli roller oynarlar (25).

Multiple myeloma etiolojisinde rol oynadığı ve prognostik faktör olarak düşünülen bir çok genetik çalışma vardır. Bunlardan en önemlileri kromozom 1 anomalileri, kromozom 13 anomalileri ve 14q32 immünglobulin lokusundaki anormalliklerdir (31). P53 tümör süpresyon geninin mutasyonu ileri evre ve hızlı ilerleyen miyelom hastalarında tespit edilmiştir (32).

Genel olarak myeloma hücreleri CD45 negatif ve CD38 ve CD138 pozitifdir (33). Normal plazma hücrelerinde CD13, CD16 ve CD33 gibi belirli miyeloid antijenler tespit edilebilmektedir. Miyelom hücrelerinde CD19, CD20 ve CD22 gibi çeşitli B hücre işaretleyicilerin ekspresyonunda önemli derecede heterojenite bulunmaktadır. MM'da plazmasitoid hücrelerde CD10 ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (34). CD56 olguların %55-78'inde belirgin olarak pozitifdir ve negatif olan olgularda kötü prognoz göstergesidir (35)(Tablo 1).

**Tablo 1.** MM Fenotipik özellikleri

<b>Primitif plazma hücreleri</b>	CD45++, CD38++, CD19+, CD10+, CD56+, VLA5+
<b>İmmatür plazma hücreleri</b>	CD45+, CD38++
<b>Matür plazma hücreleri</b>	CD45-, CD38++, CD19-

## 2.5. Klinik Özellikler

Multiple Myelomanın klinik özellikleri başta kemikler olmak üzere organların neoplastik plazma hücreleri tarafından infiltre edilmesine, çoğu kez anormal fizikokimyasal özellikler taşıyan aşırı Ig üretimine ve normal humoral immunitenin baskılanmasına bağlıdır.

### 2.5.1. Kemik Tutulumu

Multiple Myelomanın en sık belirtisi osteolizise bağlı kemik kaybı ile alakalıdır, tanı aşamasında bile hastaların yaklaşık %75'de yaygın osteoporoz veya tümöral tutulum nedeni

ile patolojik durumlar görülür (36). Kemik ağrıları en sık bulunan semptomdur ve olguların yaklaşık %75'inde görülür. Ağrı daha sık olarak, sırt, bel ve göğüs bölgelerinde olup ve hareketle şiddeti artar. Osteoklastik aktivite artışı lokal osteolitik alanlar oluşturur. Bu osteolitik lezyonlar daha sık olarak kafa, pelvis, kostalar ve vertebralar gibi yassı kemiklerde görülür (37). MM'da osteoklastik aktivite artışı plazma hücreleri ve stromal hücrelerden açığa çıkan birçok sitokin neticesinde meydana gelmektedir. Bu sitokinlerden özellikle NF- $\kappa$ B preosteoklastların farklılaşmasına, oluşmasına ve yaşam sürelerinin uzamasına neden olarak kemik yıkımını arttırmaktadırlar (38).

### **2.5.2. Böbrek Tutulumu**

Multipl Myelomada böbrek tutulumu sıklıkla renal yetmezlik ve proteinüri şeklinde kendini gösterir, bazen ise hastalık kendini renal tübüler disfonksiyon, asidifikasyon ve konsantrasyon defekti, nadiren de fanconi sendromu bulguları ile gösterebilir (39). Renal yetmezlik (kreatinin >1.3 mg/dlt.) hastaların yaklaşık %50'de görülürken, şiddetli renal yetmezlik yaklaşık olarak hastaların %15-20'de görülür (37). Myeloma böbreği distal ve toplayıcı tübüllerde geniş, mumsu silendirlerin bulunmasıyla karakterizedir. Bu silendirler başlıca presipite monoklonal hafif zincirler ve etrafını kuşatan multinükleer epitelyal hücreler tarafından oluşturulur. Silendirler renal tübüllerin atrofi ve dilatasyonunda oluşur. Sonunda tüm nefron nonfonksiyone olur ve intersitisyel fibrozis oluşabilir (40). Bunun dışında, hiperürisemi, hiperviskozite, amiloidozis, nefrotoksik antibiyotikler ve sitotoksik ilaç kullanımı da böbrek fonksiyon bozukluklarına neden olabilen diğer etkenlerdir (41). Böbrek fonksiyon bozuklukları enfeksiyonlardan sonraki en önemli mortalite nedenidir (42).

### **2.5.3. Enfeksiyonlar**

Enfeksiyon, MM'de mortaliteyi ve morbiliteyi etkileyen major komplikasyondur (43). Myelomlu hastaların primer immün cevabı ve antijenlere sekonder antikor cevabı bozulmuştur. MM'lı hastalarda %70'e varan bir mortalite nedenidir. Enfeksiyona predispozan faktörler olarak normal immünglobulinde seviyesine ve fonksiyonlarında azalma, hastalığa ve verilen kemoterapilere bağlı oluşan kemik iliği rezervinde azalma, nötrofil opsonizasyonu, fagositozda bozulma, ayrıca kemik hastalığına ve ağrıya bağlı immobilizasyon sayılabilir (44). Streptokok pnömoni ve Haemophilus influenza majör enfeksiyon etkenleridir. MM'da T ve B hücrelerinin miktar ve kalitesinde bozukluklar mevcuttur. Bununla beraber esas defekt intrinsik B hücre anormallığıdır (45).

#### 2.5.4. Hiperkalsemi

Myelom hastalarında hiperkalsemi genel olarak tümörün indüklediği kemik destrüksiyonudur. Bu primer olarak malign plazma hücreleri ve stromal hücrelerce salgılanan potent sitokinlere bağlı oluşan osteoklastik kemik rezorpsiyonu sonucu oluşur ve bu sitokinlerde en önemlileri, (receptor activator of nuclear factor –  $\kappa\beta$  ligand (RANKL), macrophage inflamatuvar protein (MIP)-1 $\alpha$  ve tümör nekrozis faktör (TNF)'dür (46). Hiperkalsemi, %18-30 oranında gözlenmektedir. Hiperkalsemik hastalarda yorgunluk, konstipasyon, letarji, poliüri, polidipsi, bulantı ve konfüzyon yakınmaları gelişebilmektedir (47).

#### 2.5.5. Nörolojik semptomlar

Nörolojik semptomlar genel olarak, metabolik nedenler, sinir basısına bağlı sorunlar, tedavide kullanılan ilaçlara ve hastalığa bağlı periferik nöropatiye bağlı oluşurlar. Myeloma bağlı hiperviskozite durumlarında vertigo, işitme kaybı, ataksi, parestezi, ataksi, konfüzyon gibi semptomlar görülebilir (48). Ayrıca hiperkalsemide yukarıda belirtildiği gibi letarji, konfüzyon gibi semptomlara neden olabilmektedir. Vertebral plazmositomun direkt yayılımı ile, osteoporoz veya litik lezyonlara bağlı spinal kord basısına bağlı olarak gelişen sırt ağrısı genel olarak ilk semptom olup hastalığın ilerlemesi ile nörolojik defisitler oluşabilir (49). Multipl myelomada periferik nöropati patogenezi net olmamakla beraber neden olarak, tümöre bağlı hüморal nedenler, hafif zincire bağlı etkiler, plazma hücre ve amiloid infiltrasyonu sonucu olabilir. Hastalarda daha çok progressif, simetrik, sensorimotor distal tipte nöropati görülür (50). Myelom tedavisinde kullanılan bir çok ilaç nöropatiye yol açar. Vinka alkaloidleri sinirlerde mikrotübüllerde kırılmalara neden olarak polinöropatiye sebep olur (51). Talidomid'in nöropati yapma mekanizması net olarak belli olmamakla beraber doz ile ilişkisi tartışmalıdır (52). Bortezomib tedavisine bağlı doza bağlı olarak %35 oranlarında polinöropati görülmektedir (53).

#### 2.5.6. Hiperviskozite

Multipl myelomda tabloya eklenebilen hiperviskozite sendromu, immunglobulin G ve A'nın kontrolsüz sentezine bağlı olarak, immunglobulin konsantrasyonunun 5g/dl'nin üzerine çıkmasıyla kendini gösteren yorgunluk, konfüzyon, başağrısı, başdönmesi, diplopi, geçici görme bozuklukları ve kanama eğilimine neden olan bir durumdur.

Normal serum viskozitesi 1.4-1.8 U iken, multipl myelomda bu semptom ve bulgular serum viskozitesi 4 U'in üzerindeyken görülebilir. Sendromun tüm bulgularının ortaya çıkması için serum viskozitesinin 5-6 U'in üzerinde olması gerekmektedir. Semptomatik hiperviskozite sendromu multipl myelomlu olguların sadece %2-6 sında izlenir. Kan viskozitesini azaltmak, hiperviskozite sendromu gelişen hastalarda semptomları azaltmaya yönelik acil tedavidir (54). Hiperviskozite sendromu gelişen hastalarda tedavi plazmaferezdir. Hidrasyon, hiperkalsemiye yönelik diürez, anemiye yönelik kan transfüzyonları, altta yatan maligniteye yönelik kemoterapi de diğer tedavi seçenekleridir (55).

### **2.5.7. Kanama ve Anemi**

Ciddi kanama bulguları, miyelomlu hastalarda nadirdir. Ancak, terminal dönem hastalarda artmış kemik iliği plazma hücresi infiltrasyonuna bağlı olarak ağır trombositopeni ve aşırı yüksek M proteinine bağlı hiperviskozite sonucu mukozal kanamalar gelişebilmektedir. Amiloidozla seyreden miyelomlu hastalarda, vasküler hasara bağlı olarak kanamalar ortaya çıkabilmektedir. Kanama platelet disfonksiyonu veya kazanılmış koagülopatiyeye bağlı olarakta görülebilir. Trombositopeni, hastalığın erken döneminde kemik iliğinin şiddetli tutulumunda bile nadirdir (56). Anemi patogenezinde eritropoetine azalmış cevap, azalmış eritrosit yaşam süresi ve azalmış demir kullanılabilirliği anemi patogenezinde katkıda bulunur. Tanı sırasında olguların 2/3'ünde normokrom normositer anemi bulunurken, olguların ancak %20'sinde anemi ile ilişkili semptomlar ön plandadır. Etyolojide ayrıca plazma hücre infiltrasyonu, böbrek yetersizliği varlığında eritropoetin salınımında yetersizlik ve TNF- $\alpha$  ve IL-1 gibi sitokinlerin varlığı suçlanmaktadır (57).

### **2.5.8. Venöz tromboemboli**

Multipl myelomda venöz tromboembolizm (VTE)'de belirgin bir yatkınlık bulunmaktadır, bu yatkınlığı açıklayan birkaç mekanizma bulunmaktadır. Yüksek immünglobulin düzeyleri fibrinojen yapısında değişikliklere neden olarak fibrinolizi azaltabilir (58). MM'da gerek immünglobulinlerin kendisinin gerekse hafif zincirlerin lupus antikoagulan etki gösterdikleri bildirilmiştir (59). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda koagülasyon sisteminde oluşan defektlerinde MM'da VTE riskini arttırdığı belirtilmektedir. Edinsel aktive protein C rezistansının MM'da VTE riskini arttırdığı nı gösteren çalışmalar mevcuttur (60). MM'da tedaviye bağlı VTE'de görülebilir, Thalidomid gibi immünmodülatör ilaçların tek başına kullanımına nazaran antrasiklin içeren kemoterapiler veya dexametazon ile birlikte kullanımı VTE riskini belirgin bir şekilde arttırmaktadır (61).

### 2.5.9. Amiloidoz

Plazma hücre diskrazilerine bağlı olarak gelişen primer sistemik amiloidoz ile multipl myelomda, immünglobülin hafif zincirleri ile idantik olan amiloidin dil, kalp, gastrointestinal sistem, düz kas, iskelet kası, sinirler, deri gibi mezenkimal dokularda depolanma eğilimi vardır (62). Amiloidoz tanısı subkutanöz yağ aspirasyonu, rektal ve kemik iliği biyopsisi ile konur. En yaygın klinik bulgu karpal tünel sendromu veya nefrotik sendroma bağlı jeneralize ödem, daha az sıklıkla kardiyomyopati, makroglossiye rastlanır. Yaklaşık olarak yeni tanı MM hastaların %3'ü belirgin amiloidoza sahiptir (63).

### 2.6. Genetik

MM'da yapılan klasik sitogenetik ve moleküler sitogenetik çalışmalarda pek çok tekrarlıyan genetik anomali bildirilmiştir. Akut ya da kronik lösemilerle karşılaştırıldığı zaman MM'da konvansiyonel sitogenetik analiz, oldukça zordur. MM'da sitogenetik bulgular lösemi ve lenfomalar kadar karakteristik değildir. Günümüzde konvansiyonel sitogenetik sonrası klonal kromozom anomalisi insidansı %40 olarak bildirilmekle birlikte çeşitli çalışmalar da bu oran %20-50 arasında değişmektedir. FISH yöntemi ile yapılan analizlerde bu oran %80'e kadar çıkabilmektedir (64).

Kromozom anomalilerinin progresyonu gösteren bir parametre olduğu düşünülmektedir. MM olgularının sadece %10'unda yapısal kromozom anomalileri bulunurken (65). Kromozom 13q delesyon oranı MM da anormal karyotiplerin yaklaşık %40-50'ni oluşturur ve literatürde kötü prognostik faktör olarak değerlendirilmektedir (31). Kromozom 14q32 immünoglobulin ağır zincir lokusundaki anormalliklerin immünglobulin cevabı ve matürasyonunda anormalliğe neden olduğu ve bununda MM patogenezinde rol alabileceği belirtilmiştir (66). t(4;14) sitogenetik olarak oldukça zor tanımlanır, olguların yaklaşık %15-20'de rastlanır ve kötü prognostik olup, kemoterapi direnci ve kısa yaşam süresi bildirilmektedir (67). Tümör süprese edici p53 genindeki mutasyonlar, özellikle ilerleme görülen ve ileri evredeki MM hastalarında ortaya çıkmakta ve %50 olguda görülmektedir (68).

### 2.7. Laboratuvar

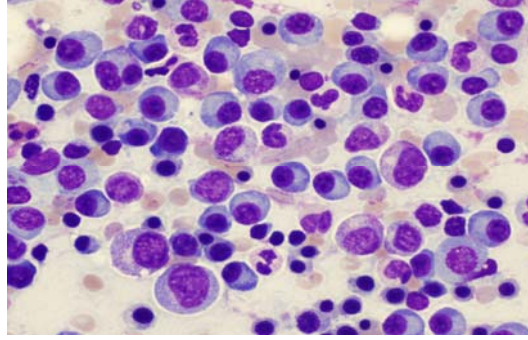
Anemi hastaların ortalama %80'de tanı sırasında saptanır yada hastalığın seyrinde ortaya çıkar. Morfolojik olarak normokrom normositik özelliindedir. Trombosit ve lökosit sayısı genellikle normaldir, ilerlemiş hastalıkta bazen lökopeni ve trombositopeni görülebilir.

M-proteinlerinin eritrosit yüzeylerini kaplaması sonucu eritrositlerin birbirlerinin üstüne yığılarak oluşturdukları “rulo formasyonu” periferik yaymanın tipik bulgusudur.

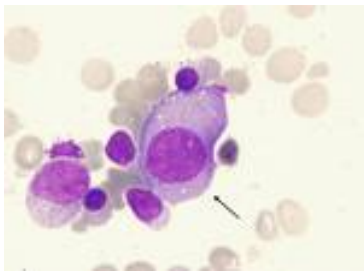
$\beta_2$  mikroglobulin tanısal açıdan bir öneme sahip olmamasına rağmen, düzeyi hastalığın prognozu ve uygulanan tedaviye alınan cevabın takibi için önemli bir kriterdir. Hastalarda artmış hücre yapım ve yıkımına bağlı hiperürisemi görülebilir. Serum LDH düzeyinde artma tespit edilebilir.

Eritrosit sedimentasyon hızı, serumda M protein olan hastalarda yüksektir ve sıklıkla  $>100$  mm'dir. Serum proteini elektroforezinde M proteini görülmeyen hastalarda sedimentasyon hızı daha düşük tespit edilebilir. Krioglobulineminin olduğu hastalarda sedimentasyon hızı sıfır tespit edilebilir.

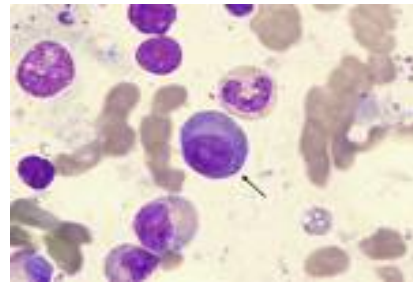
Myelomadaki plazma hücreleri üç morfolojik tipe ayrılabilir; matür, immatür veya plazmablastik. Matür tipteki plazma hücreleri eksantrik nükleuslu, yoğun nükleer kromatinli, nükleolusu belirsiz veya bulunmayan, iyi şekillenmiş bir Hof'a sahip küçük hücrelerdir. İmmatür tipteki plazma hücreleri daha büyük, eksantrik nükleusa, daha az kondanse bir kromatin yapısına, belirgin nükleoluslara ve geniş sitoplazmaya sahip olurlar. Plazmablastların nükleositolazmik oranları nispeten yüksektir, nükleusları merkezi yerleşimli, nükleer kromatinleri dağınık, nükleolusları belirgin olur. Sıklıkla birden fazla hücre tipi bulunur. Genellikle hakim olan hücre tipi prognozu belirler; plazmablastik tip genellikle saldırgan bir seyrin göstergesidir (Resim 1,2,3).



**Resim 1.** Matür plazma hücreleri



**Resim 2.** İmmatür plazma hücresi



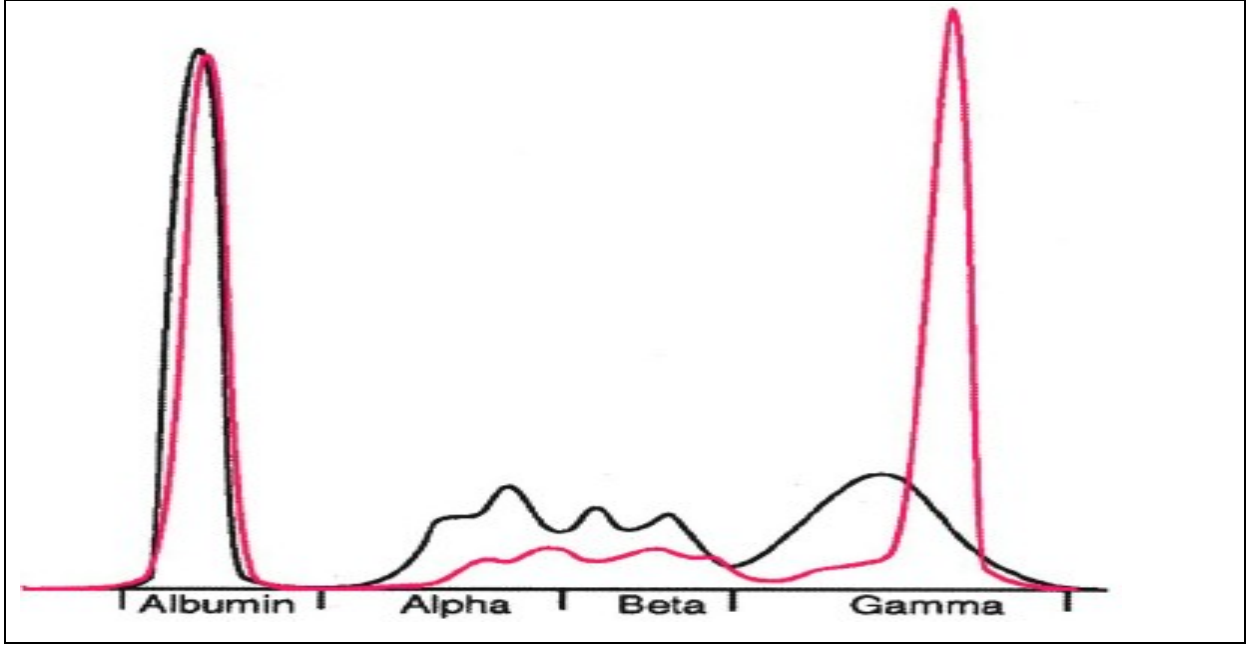
**Resim 3.** Plazmablast hücresi

İğne biyopsilerinde myelomatöz infiltrasyon diffuz, fokal, interstisiyel veya bu şekillerin kombinasyonu halinde görülebilir. Kemik iliği tutulumu yama tarzında olabilir ve değişen derecelerde fibrozis bulunabilir.

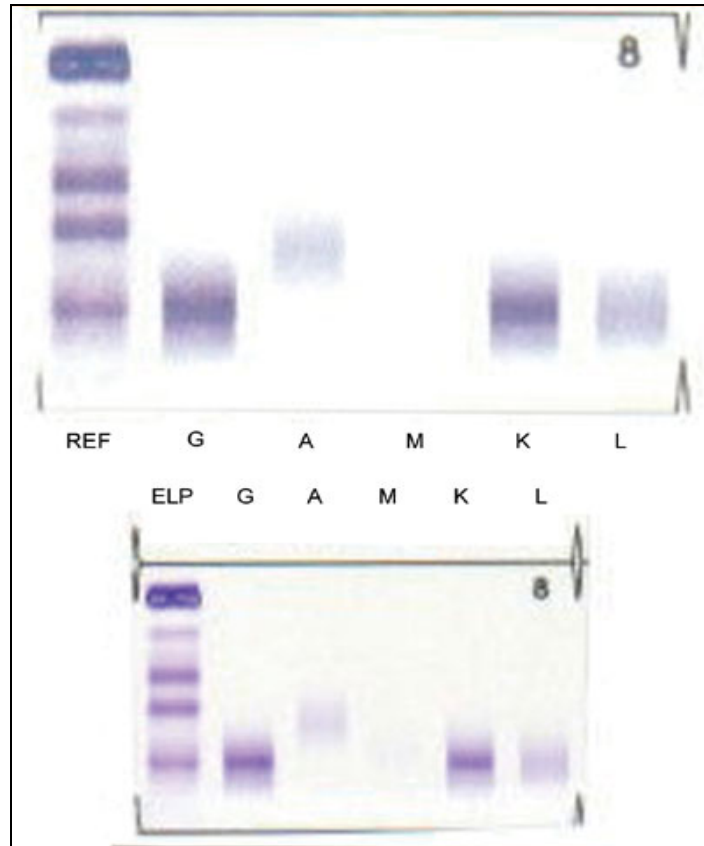
Plazma hücre lezyonları sıklıkla patolojik kırıklara yol açarlar; bu kırıklar en çok vertebral kolonda görülür ama kortikal kısmında erozyon ve tahribat olan herhangi bir kemikte de olabilirler. Klasik olarak direk filmlerde yuvarlak, sabun köpüğü gibi bir manzara oluşturan zımba ile delinmiş tarzda defektler görülür fakat yaygın osteoporoz da gözlenebilir (69).

Multipl myelomalı hastaların elektroforetik incelemelerde kan ve/veya idrarda artmış Ig hafif zincirleri (Bence Jones proteinleri) tespit edilir. Serum veya idrar elektroforezi yapıldığında monoklonal Ig sivri bir çıkış gösterir.

Monoklonal Ig'in tabiatını belirlemek için immunoelektroforez veya immunofiksasyon uygulanır (Şekil 1,2). Hastaların %97'inde protein elektroforezi ile serum veya idrarda intakt Ig veya serbest hafif zincir varlığı tespit edilebilmektedir (70).



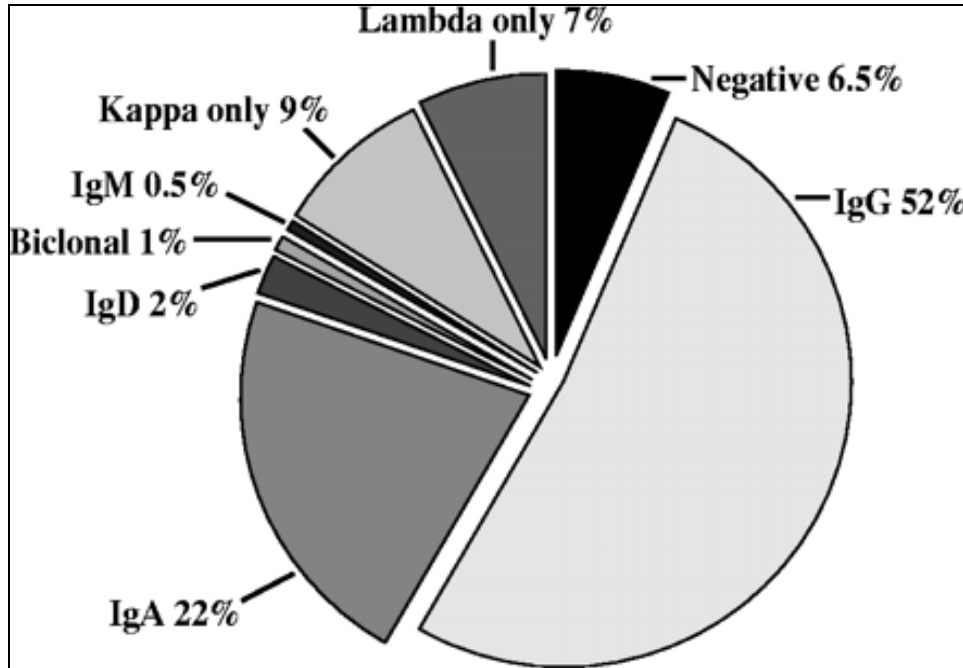
Şekil 1. Normal ve gama piki gözlenen protein elektroforezi.



Şekil 2. Serum protein immünfiksasyon elektroforezi, IgG Kappa paraproteini.



Yaklaşık 984 hastalık bir çalışmada tespit edilen immün fenotipleme aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 3).



**Şekil 3.** Mayo klinik'te 1982-1994 yılları arasında multipl myeloma tanılı 984 vakanın serum monoklonal protein tipleri.

### 2.8. Multipl Myelom Alt Tipleri

**Ig G Myeloma:** En sık görülen tiptir. İmmünglobulinler en çok bu tipte baskılanmıştır. Bu nedenle enfeksiyon diğer tiplere göre daha fazla görülür.

**Ig A Myeloma:** Hiperkalsemi ve hiperviskozite diğer tiplere göre daha sıktır.

**Ig D Myeloma:** Serumda M protein düşük düzeydedir. Erkeklerde daha sıktır. Hepatosplenomegali ve lenfadenopati, amiloidoz, ekstraosseoz lezyonlar daha fazla görülür.

**Hafif zincir hastalığı:** Hafif zincir hastalığı bir monoklonal gammopatidir. Burada kappa ya da lamda monoklonal hafif zincirleri ya da Bence Jones Proteinleri oluşmuştur. Hafif zincir hastalığı monoklonal gammopatilerin %10-15 'ini oluşturur. Diğer tiplere göre daha agresif bir seyir izler. Hiperkalsemi, osteolitik lezyonlar ve böbrek yetmezliği oldukça sık görülür

**Non-Sekretuar myelom:** Bu tipte serum veya idrarda M-proteini tespit edilemez. MM olgularının %1'ini oluşturur. İdrarda veya serumda M-proteini bulunmaması ile karakterize bir multiple myeloma varyantıdır.

## 2.9. Tanı

Hastalardan alınan öykü, fizik muayene ve laboratuvar değerlendirmeleri tanı için gereklidir. MM tanısında laboratuvar çalışmaları temeli oluşturmaktadır. Multipl myelom ile ilgili tanı kriterleri yıllar boyunca süren araştırmalar ve tecrübe neticesinde değişikliğe uğramıştır. Günümüzde myelomlu hastalarda ana yaklaşım önemi bilinmeyen monoklonal gamapati (MGUS), asemptomatik ve semptomatik myelom arasında ayırım yapılmasına dayanmaktadır. Myelomlu hastaların tanısı İskandinav Myelom Çalışma Grubu ve İngiliz Hematolojide Standart Cemiyetinin önerdiği kriterler baz alınmaktadır. Tablo 2’de tanı kriterleri özetlenmiştir.

**Tablo 2.** MGUS, asemptomatik ve semptomatik myelom tanı kriteri (71)

<b>MGUS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>•M protein &lt;3 gr/dl</li> <li>•Kemik iliği plazma hücre &lt;%10</li> <li>•Trefin biyopside düşük oranda plazma hücresi</li> <li>•Myelom ilişkili organ ve doku hasarının olmaması (kemik dahil)</li> <li>•Diğer B hücre proliferatif hastalıkları veya hafif ya da ağır zincir hastalığı veya immünglobulin ilişkili doku hasarı olmaması</li> </ul>
<b>Asemptomatik myelom</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>•M potein &gt;3 gr/dl</li> <li>•Kemik iliği plazma hücre &gt;%10</li> <li>•Myelom ile ilişkili organ ve doku hasarının olmaması (kemik dahil)</li> </ul>
<b>Semptomatik myelom</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>•İdrar/serumda M protein*</li> <li>•Kemik iliğinde klonal plazma hücresi varlığı</li> <li>•Biyopsi ile plazmositoma</li> <li>•Myelom ilişkili organ ve doku hasarı varlığı (kemik dahil)**</li> </ul>

\*Tanı için bir düzey gerekli değildir. Nadiren hastalarda idrar veya serumda M protein saptanamayabilir ancak myelom ilişkili organ-doku hasarı mevcuttur ve kemik iliğinde plazma hücre oranı artmıştır (non sekretuar myelom)\*\*Myelom ilişkili organ/doku hasarı Serum Ca artışı: Düzeltilmiş Ca artışının normal düzeyden >0.25 mmol/L veya Ca >2.75 mmol/L. Myelom ile ilişkili böbrek yetmezliği. Anemi: Hb <10 gr/dl veya alt limit değerlerinden <2 gr/dl olması. Kemik lezyonları: Litik lezyonlar veya CT ya da MR ile ispatlanmış kompresyon fraktürü. Diğer: Semptomatik hiperviskozite, amiloidoz, tekrarlayan bakteriyel enfeksiyon (2 kez > yıl).

## 2.10. Evrelendirme ve Prognostik faktörler

Evrelendirme prognoz, uzun dönem sağkalımı özellikle tedaviye yaklaşımı belirlemede temel oluşturmaktadır. Tablo 3’de evrelendirme özetlenmiştir.

**Tablo 3.** M. Myelomada evrelendirme (Durie ve Salmon evreleme sistemi) (37)

---

### Evre-I

---

Aşağıda tanımlananların hepsi;

- Hemoglobin > 10 gr/dl
- Normal kalsiyum düzeyi (< 12 mg/dl)
- Normal kemik grafileri veya soliter kemik plazmasitomu veya sadece osteoporoz varlığı
- Düşük M komponent (IgG < 5gr/dl, IgA < 3gr/dl, idrar hafif zincir M komponenti < 4 gr/dl)

### Evre-II

---

Bulgular evre I.dekiler kadar düşük ve evre III.teki kadar yüksek değil

### Evre-III

---

Aşağıda tanımlananlardan bir veya daha fazlasının varlığı

- Hemoglobin < 8.5 gr/dl
- Serum kalsiyum > 12 mg/dl
- İlerlemiş litik kemik lezyonu, 3 veya daha fazla
- Artmış M komponent varlığı

IgG > 7 gr/dl

IgA > 5 gr/dl

Elektroforezde idrar hafif zincir M komponenti >12gr/dl/24 h

### Alt sınıflandırma

---

- A= relatif olarak normal böbrek fonksiyonları
- B= anormal böbrek fonksiyon testleri (serum kreatinin > 2 mg/dl)

MM’da yaşam süresi birkaç ay ile yıllar arasında değişir. Ancak %5 hasta 10 yıldan daha uzun bir süre yaşayabilir. Ancak son yıllarda nispeten daha genç hastalara uygulanan periferik kök hücre destekli yüksek doz melphalan tedavileri ile bu oran daha yükseklere çıkarılmıştır. Multipl myelomlu hastalarda çok sayıda prognostik parametre tanımlanmıştır, bu prognostik parametreler ışığında hastalığın nasıl seyredeceği öngörülmeğe çalışılır. Tümör yükünü belirlemede Durie-Salmon evresi ve  $\beta$ 2 mikroglobulin, proliferasyon hızının tespitinde ise plazma hücrelerinin morfolojik özellikleri (plazmablast), labeling indeksi ve serum CRP düzeyleri en yararlı bilgilerdir.  $\beta$ 2 mikroglobulin ve labeling indeksi kombinasyonu klinik evrelemeden daha önemli prognostik değere sahiptir (72).

Durie-salmon evrelemesinde esas olarak tümör yükü ve renal fonksiyonlar göz önüne alınmaktadır ve Evre-1A’da ortanca sağ kalım 5 yıldan fazla iken, Evre-B’de 15 aya kadar

inmektedir (73). Serum  $\beta 2$  mikroglobulin tek başına sağkalımı öngörmeye çok güçlü bir belirteçtir. Serum düzeyi  $<0.004$  g/l'den az olanlarda ortanca yaşam 43 ay iken bu değerin üstünde olanlarda ortanca yaşam 12 aya inmektedir (74).

Plasma cell labeling index: PCLI güçlü bir prognoz belirleme indeksidir çoğalma sürecinde olan hücre yüzdesini ölçer ve tümörün ne kadar agresif olduğunu gösteren bir belirteçtir. 2001 yılında yapılmış olan bir çalışmada PCLI değeri düşük olan hastalar ile yüksek olan hastalar arasında yaşam süresi ve progresyon oranları arasında belirgin bir fark tespit edilmiştir (75).

Miyelomlu hastalarda delesyon, anaploidi ve translokasyon şeklinde sitogenetik anomaliler bulunmaktadır. 13q del ve t(4;14) ve P 53 gen kaybı kötü prognoz ile ilişkilidir (76).

## **2.11. Ayırıcı tanı**

### **Plazmasitom**

Plazma hücre neoplazmalarının %3 kadarı kemik yada yumuşak dokularda soliter bir lezyon şeklinde görülürler. Lezyonlar çoğunlukla akciğerler, orofarinks veya nazal sinüslere yerleşirler (77). Plazmasitomlar genellikle yerleşimlerine göre, kemiğin soliter plazmasitomu veya ekstra meduller plazmasitom olarak sınıflanırlar. Başlangıçta hastaların çoğunun serum veya idrarında tespit edilebilen bir monoklonal protein bulunmaz. Tanı için kemik iliğinde hastalık bulunmadığının gösterilmesi gerekir. Kemikte soliter plazmasitomu bulunan hastaların yaklaşık %75'inde 10 yıl içinde multipl myeloma gelişir.

Ekstrameduller plazmasitomların küçük bir kısmı multipl myelomaya ilerler, hastaların %30 undan azında MM veya multipl ekstramedüller tümör gelişir (78). Tedavide lokal radyoterapi tercih edilir.

### **MGUS/ Asemptomatik (Smoldering) multipl myelom**

Morfolojik ve radyolojik olarak multipl myeloma bulguları olmayan monoklonal gammopatili hastaları içine alan bir gruptur. 70 yaşın üzerindeki kişilerin yaklaşık %3'ünde belirlenebilen bir hastalık olmaksızın tespit edilebilir bir monoklonal immunoglobulin bulunur. Başlangıçtan yirmi yıl kadar sonra hastaların üçte bir kadarında aşık myeloma, amiloidoz veya lenfoproliferatif bir hastalık ortaya çıkar.

## **MGUS tanı kriterleri (79)**

---

Monoklonal immunoglobulin var fakat <3 g/dL

Kemik iliğinde belirgin ada oluşturmayan %10> plazma hücreleri

Normal Hb, Ca iyonu ve bobrek fonksiyonları

Litik kemik lezyonu yok

İdrarda monoklonal immunoglobulin yok veya minimal

Amiloidoz bulguları yok

Plazmasitom yok

---

### **POEM sendromu**

POEM sendromu monoklonal plazma hücre diskrazisi ile ilişkili nadir bir paraneoplastik hastalıktır. Polinöropati, organomegali, endokrinopati, monoklonal gamapati ve deri değişikliklikleri ile karakterizedir. Patogenezi tam anlaşılmamıştır. Bildirilen vakaların çoğu IgA ya da IgG lambda hafif zincirdir (80). Genellikle baskın klinik görüntü tüm hastalarda görülen periferik nöropatidir. Endokrinopatinin nedeni tam anlaşılamamıştır. Kemik iliği sıklıkla hipersellülerdir, hastaların çoğunda osteosklerotik myeloma olmasına rağmen plazma hücre sayısı %5'den daha azdır.

### **Amiloidoz**

Amiloidozis, çeşitli organ ve dokularda erimez nitelikte fibriler protein yapısında bir maddenin birikmesine bağlı olarak ilgili organlarda fonksiyon bozukluğu ile seyreden bir hastalıktır. Mutipl myelom yokluğunda görülen sistemik amiloidoza, idiyomatik (primer) amiloidoz adı verilir. Primer ve Mutipl myeloma amiloidinin, immünglobulin hafif zincirlerinin tümünden veya bir parçasından oluştuğu anlaşılmıştır. AL amiloidozun ayırımı her zaman kesin değildir. Litik kemik lezyonları, hiperkalsemi, anemi yoksa, serum ya da idrar monoklonal komponenti düşükse veya kemik iliği plazma hücreleri %25'in altındaysa mutipl myeloma olmadığı düşünülür (81).

## **Plazma hücreli lösemi**

Multiple myelomalı olguların takibinde %1-2'sinde plazma hücreli lösemi gelişebilir. Bu terim plazma hücre sayısı  $2 \times 10^9/L$  veya periferel beyaz küre hücre sayısının %20'sini aştığı durumlarda kullanılır. Klinik tablo, klasik multipl myelomadan akut fulminan lösemi tablosuna kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Hastalarda en sık rastlanan semptom, genellikle vertebral kollapsa bağlı bel ağrısıdır. Plazma hücre lösemili hastalar MM la karşılaştırıldığında daha yüksek tümör yüküne, yüksek ekstramedüller tutulumu ve trombositopeniye, yüksek LDH ve  $\beta$ -2m seviyesi, daha yüksek proliferatif potansiyele ve hipodiplopiye rastlanır (82).

### **2.12. Tedavi**

Multipl myeloma'da agresif tedavi yaklaşımları olmasına rağmen, halen kür elde edilebilmiş bir hastalık değildir. Bununla birlikte uygun tedavi ile hastaların yaşam süresi ve kalitesi artmaktadır. MM'da tedavi; spesifik antitümör tedavi ile birlikte, böbrek yetmezliği, kemik ağrıları, kırık, anemi, enfeksiyon ve hiperviskozite gibi komplikasyonların destek tedavisinden oluşmaktadır.

#### **2.12.1. Başlangıç tedavisi**

Asemptomatik ve evre I olgularda sistemik tedavi önerilmemektedir, bu hastaların 2-3 aylık aralıklarla izlenmesi en ufak bir belirtide tedaviye başlanması gerekmektedir. Erken tedavinin yanıt oranı ve sağkalım üzerine bir etkisi bulunmamıştır (83). Semptomatik veya evre II ve III olan olgularda ise beklenilmeden tedaviye başlanmalıdır.

Tedavi endikasyonu konulan hastalarda risk faktörleri belirlenmeli ve kök hücre desteğinde tedaviye uygunluk açısından değerlendirilmeli. Günümüzde 65 yaşın altında, performans durumu uygun olan tüm hastalarda standart tedavi bir veya ardışık iki kez yapılan otolog kök hücre transplantasyonudur. İleri yaşta, performans durumu kötü olan, birlikte başka ciddi sorunları bulunan hastalara yüksek risk nedeni ile otolog transplant önerilmemektedir (84).

Başlangıç kemoterapi seçimi büyük oranda hastanın otolog KİT (kemik iliği transplantasyonu) adayı olup olmasına göre yapılır.

### **a-) Otolog kök hücre nakli düşünülmeyen olgular.**

Bu grupta en sık kullanılmakta olan ve yaklaşık 40 yıldan bu yana uygulanan melfalan/prednison (MP) tedavisi ile hastaların yaklaşık %50-60'da M protein düzeyinde %50'den fazla azalma olmakta ancak sadece %5'den azında tamamen kaybolmaktadır. MP tedavisi en az 1 yıl olmak üzere plato fazına ulaşıncaya kadar devam edilmelidir. Üç aylık tedaviye rağmen M proteininde azalma olmayan hastalar tedaviye dirençli kabul edilmektedirler. Kombine kemoterapi seçeneklerinde MP tedavisine karşı yanıt oranını arttırabileceği ancak yaşam süresini uzatmadığı kabul edilmektedir (85). Yakın dönemde İtalyan (86) ve İngiliz (87) myelom rehberlerine göre otoloğa uygun olmayan hastalarda standart tedavi MP olmalıdır. Mayo kliniğe göre ise standart riskli hastalarda başlangıç tedavisi olarak 12 kür MP-talidomid, sitogenetik yüksek riskli olgularda ise alternatif olarak doruk yanıtı ulaşıncaya kadar MP-bortezomib önerilmektedir (88).

### **b-) Otolog kök hücre nakli düşünülen olgular.**

Kök hücre toplanmasına olumsuz etkilerinden dolayı yüksek doz planlanan hastalarda alkilleyici ajan kullanılmamalıdır. Bu hastalarda otolog öncesi 3 veya 4 kür Vikristin-Doksorubisin-Deksametazon (VAD) protokolü standart tedavi olarak kullanılmaktadır. VAD tedavisi ile %60-70 yanıt alınmasına rağmen tüm sağkalım üzerine ek yararı bulunmamıştır. İçerdiği deksametazonun hızlı etkisi nedeni ile hiperkalsemi, böbrek yetmezliği, ağırlı kemik lezyonları, medulla basısı gibi durumlarda özellikle yararlıdır (89). Talidomid-Deksametazon (TD) kombinasyonun otolog öncesi yanıt oranı %63 olarak tespit edilmiş ve bu kombinasyonda klavuzlara geçmiştir. Ancak TD kombinasyonu yan etkiler yönünden dezavantajlar sağlamaktadır (90).

Lenalidomid-Deksametazon (LD) uygulanan bir çalışmada yanıt oranı %90, hastalık ilerlemesi olmadan sağkalım %59 bulunmuş olup transplant öncesi standart indüksiyon tedavisi olması gerektiği belirtilmektedir (91).

İtalyan (86) ve İngiliz (87) myelom rehberlerine göre otoloğa uygun olan 65 yaşın altındaki hastalarda başlangıç olarak VAD veya benzeri bir rejim önermektedir. VAD'ın uygun olmadığı hastalarda tek başına dexametazon veya TD kombinasyonu alternatif olabilir. Mayo klinik önerisi ise lenalidomid ile düşük doz dexametazon kombinasyonudur (88).

## **Otolog Hematopoetik kök hücre transplantasyonu**

Son yıllarda Otolog Hematopoetik kök hücre transplantasyonu (OHKHT) MM'da yeni tanıli uygun hastaların başlangıç tedavisinin standart bir parçası haline gelmiştir. OHKHT'nun hem tam ve toplam yanıt oranları, hem de progresyonsuz ve toplam yaşam süreleri üzerine olumlu etkileri prospektif randomize çalışmalar ile gösterilmiştir (92).

MM'da erken veya relaps/refrakter dönemde yapılan otolog transplantasyonda toplam yaşam süreleri açısından bir farklılık olmamasına karşın, tanıda uygulanan hastalarda semptomsuz, tedavisiz ve tedavi ilişkili toksisitesiz geçen dönemin geç dönemde uygulanan hastalara göre anlamlı olarak daha uzun olması nedeniyle, erken dönemde uygulanması önerilir (93).

### **2.12.2. İdame tedavi**

Kemoterapi hasta plato fazına (serum ve idrarda stabil M protein ve progresyon bulgusunun olmaması) ulaşana kadar sürdürülmelidir, bu dönem tümör progresyonunun olmadığı en az 4-6 ay kemoterapiden sonra hastalık stabilitesinin sağlandığı period olarak tanımlanır. Bu noktadan sonra hastalar ya tedavisiz olarak izlenmeye devam edilmekte ya da herhangi bir idame tedavisi uygulanabilmektedir. İdame tedavisinde çeşitli seçenekler bulunmaktadır.

**Kortikosteroidlerle idame:** VAD tedavisine yanıt alınan bir hasta grubunda günaşırı 10 ya da 50 mg prednizon ile idamenin karşılaştırılmasında yüksek doz kolunda hem progresyonsuz sağkalım hem de genel sağkalım istatistiksel olarak anlamlı uzun bulunmuştur (94).

**İnterferon ile idame:** VAD'ı izleyerek platoya giren hastalarda rekombinan interferon- $\alpha$  sağkalımı uzatmasa da, platoya giren hastada yaşam kalitesinin arttığı gösterilmiştir. Genel kullanım dozu 3 milyon ünite /m<sup>2</sup> x 3 gün/hafta olacak şekildedir (95).

**Talidomid ile idame:** Retrospektif bir çalışmada transplantasyon sonrası talidomid kullananların genel sağkalımlarının daha uzun olduğu, kullanım endikasyonu nüks yerine sadece idame amaçlı olanlarda farkın daha belirgin olduğu belirtilmiştir (96).



### 2.12.3. Proteozom inhibitörleri

Proteozom inhibitörlerinin antikanser etkileri; Myelom hücrelerindeki ve kemik iliği stroma hücrelerindeki adezyon moleküllerinin ortaya çıkışını engeller, NF- $\kappa$ B aktivasyonunu ve IL6 salgılanmasını engeller, Apoptosisi indükler, Anjiyogenezi engeller, P53'ün stabilizasyonu ve birikimi gibi etkileri vardır (37).

Yeni tanı MM hastalarında Bortezomib-Deksametazon (BD) kullanımı ile VAD kullanımı arasında tam remisyon açısından bortezomib lehine anlamlı fark tespit etmişlerdir (97). National Comprehensive Cancer Center Network (NCCN) klavuzu yeni tanı MM hastalarında BD kombinasyonunu kabul edilebilir bir kombinasyon olarak görmüştür.

İkinci sıra tedavi olarak bortezomib kullanılan 202 hastalık bir çalışmada, hastaların %64'ne kök hücre nakli yapılmış, ayrıca %91'i tüm tedavilere dirençli imiş. Tam yada kısmi yanıt alınan hastaların oranı %27 olarak tespit edilmiş, tam yanıt elde edilen hastaların %89'nun bortezomib öncesi aldığı tedavilere dirençli olduğu görülmüş (98).

### 2.12.4. Talidomid

Myelom ve kanser tedavilerinde kullanılan talidomid'in etkisini değişik mekanizmalar ile gösterir. Anjiyogenezi inhibe eder, TNF alfa yapımını engeller, T hücre çoğalmasını uyarır, interferon- $\gamma$  ve IL-2 sekresyonunu uyarır, Adezyon moleküllerini yeniden düzenler (37).

Relaps veya refrakter myelomalı hastalarda günümüzde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu hastalarda talidomid'in tek başına kullanıldığı zaman %25 ile %48 arasında değişen oranlarda yanıt alınabildiği belirtilmektedir (99).

Yeni tanı myelom'lu hastalarda talidomid ve deksametazon kombinasyonun başlangıç tedavisinde başarı ile kullanılabileceği yönünde yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmalarda %48 ile %80 arasında değişen yanıt oranları izlendiği ve bu yanıtların %4-16'sının tam veya tama yakın yanıt şeklinde olduğu bildirilmektedir (100).

**Tablo 4.** Remisyon kriterleri

<b>Komplet remisyon (tüm kriterleri içermeli)</b>
İmmünfiksasyonla serum ve idrarda monoklonal protein yokluğu
Kemik iliği aspirasyon ve biyopside <%5 plazma hücresi
Litik kemik lezyonlarının sayısı ve boyutunda artış olmaması
Yumuşak doku plazmasitomalarının kayboluşu
<b>Parsiyel cevap (tüm kriterleri içermeli)</b>
Serum monoklonal paraproteinde $\geq$ %50 azalma
24 h lik idrarda hafif zincir atılımının $\geq$ %90 azalması
Yumuşak doku plazmositom boyutunda $\geq$ %50 azalma
Litik kemik lezyonlarının sayısı ve boyutunda artış olmaması
<b>Minimal cevap (tüm kriterleri içermeli)</b>
Serum monoklonal paraproteinde %25-49 oranında azalma
24 h lik hafif zincir atılımı %50-89 oranında azalma
Nonsekretuar myelom: kemik iliği plazma hücresinde %25-49 azalma
Yumuşak doku plazmositom boyutunda %25-49 azalma
Litik kemik lezyonlarının sayısı ve boyutunda artış olmaması

### 2.13. DNA tamir mekanizmaları

Bir canlıya ait tüm genetik bilgiyi taşıyan DNA molekülü doğal olarak veya çevresel faktörlerin etkisiyle sürekli hasara maruz kalmaktadır. Genomdaki hasar ve tamir araştırmaları birçok genetik hastalığın moleküler mekanizmasının anlaşılmasına da yardımcı olmaktadır. Küçük hasarlar çoğunlukla DNA onarım sistemleri tarafından düzeltilir. Yüksek düzeydeki hasarlar apoptozisi uyararak hücre ölümüne yol açar (101).

DNA hasarı, hücre içi Ca seviyesinde artış, hücre içi pH'da düşme, metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları hücreyi apoptoza götüren merkezi hücre ölüm sinyallerini başlatabilmektedir. DNA hasarı oluştuğunda aktive olan bazı genler, hücrenin apoptozuna neden olabilir. Bu genlerden en önemlisi p53 genidir. Normalde inaktif durumda bulunan p53 geni, DNA hasarı oluştuğunda aktifleşerek p21 genini harekete geçirir. p21 geni hücrenin geç G1 fazında kalarak, S fazına geçmesini engeller. Böylece hücre siklusu durdurularak oluşmuş olan DNA hasarlı hücrenin çoğalması engellenir. p53 geni DNA tamiri yapan proteinlerin transkripsiyonunu sağlar. Bu proteinler DNA hasarını tamir edebilirse, hücre siklusundaki blok kalkar (102).

Genomik bütünlüğü sağlamak amacı ile görevli 130 dan fazla DNA tamir enzimi tespit edilmiştir . Hücre, DNA hasarlarını DNA tamir mekanizmaları ile tamir edebilir. Bu tamir mekanizmalarının en önde gelenleri eksizyon tamir mekanizmalarıdır. Bunlar; Nükleotid eksizyon tamiri (nucleotide excision repair - NER), Baz eksizyon tamiri (base excision repair-BER) ve Yanlış eşleşme tamiri (mismatch repair - MMR)'dir (103).

Eksizyon tamiri sırasında kimyasal olarak değişmiş, yanlış eşleşmiş veya uygun olmayan bazlar genomdan kesilerek yerlerine doğru dizideki bazlar konur. BER sırasında hasarlı bazlar serbest baz olarak kesilir ve çıkartılır, NER'de ise hasarlı bazlar oligonükleotid parçaları olarak kesilir. NER mekanizması daha çok ultraviyole ışığı ve polisiklik hidrokarbonlara bağlı DNA hasarında, BER mekanizması X ışınları, oksijen radikalleri ve alkilleyici ajanlara bağlı DNA hasarı, MMR ise replikasyon hatalarının tamirinde görev alır (101).

**Tablo 5.** DNA tamir genleri

NER Genleri:	<b>ERCC2 (XPD)</b> , XPC, XPA , ERCC3 (XPB), ERCC5 (XPG), ERCC1, ERCC4 (XPF), ERCC6 (CSB), RPA1-2-3
BER Genleri:	<b>XRCC1, XRCC4</b> , UNG, MBD4, SMUG1, TDG, NEIL1, NEIL2
MMR Genleri:	MSH2, MSH3, MSH4, MSH5, MSH6, PMS1, PMS6

DNA hasarı replikasyon sırasında tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa neden olur. DNA'da birçok özgün değişimi içine alan genomik kararsızlık, hem kanserin hem de yaşlanmanın önemli bir belirtisidir (104).

**XRCC1:** X-ray repair cross-complementing group 1 (XRCC1), DNA tamirinde görev alan bir enzimdir. Baz hasarları ve tek iplikli DNA kırıklarında DNA Ligaz III'ün karboksili ile DNA polimeraz b'nin ve poly (ADP-riboz) polimerazın hasarlı DNA kısmına bağlanarak iş görür (105). XRCC1 geni 19q13.2 bölgesinde, 17 ekzonlu 2087 baz çifti (bç) uzunluğu olan transkripsiyon ürününe sahiptir. Son yapılan çalışmalarda XRCC1 geninde çeşitli polimorfizmler tespit edilmiş olup, bu genin kodon 399'daki "Arjinin/Glutamin (Arg/Gln)" polimorfizminin pek çok epidemiyolojik çalışmada çeşitli kanserlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (106).

**XRCC4:** X-ray cross-complementing group 4 (XRCC4) 16p.13.12 gen bölgesinde bulunan, BER mekanizması alt grubunda bulunan bir DNA tamir genidir.

B-hücrelerinin erken gelişme döneminde immünglobulin ağır (Vh) zincirinin V(variable) ve D(diversity) gen bölümleri, J (joining) bölümüyle kendine özgü rekombinasyon yapar ve her lenfosit yeni bir V(D)J genetik yapı yaratarak farklı immünglobulinlerin sentezini sağlar. V(D)J rekombinasyonu B ve T lenfositlerini kodlayan genlerin düzenlenmesi esnasında DNA çift zincir kırıkları oluşur (107). XRCC4 geninin iki temel bölümü vardır, V(D)J rekombinasyonundaki defektleri tamamlayıcı olan bölüm ve radyosensitif XR-1 hücre serisinde DNA onarımı yapan DNA ligaz IV bölümüdür (108).

V(D)J rekombinasyonu sırasında oluşan DNA hasarlarının B-hücreli lenfoma ve lösemilerin patogenezinde çok önemli rol oynadığı düşünülmektedir (109).

**ERCC2 (XPD):** XPD (Xeroderma pigmentosum group D) geninin polimorfizmidir. XPD geni, nükleotid kesim-onarım işlevi için esansiyel olan bir helikazı kodlar. Bu gendeki polimorfizm ise DNA onarım kapasitesinde önemli değişikliklere neden olur. XPD geninin 751. kodonundaki lizinin glutamine dönüşümü tedaviye yanıtı değiştirmektedir. Kolorektal kanserli 73 hasta ile yapılan bir çalışmada, lizin için homozigot olan (lizin/lizin) bireylerin %24'ünün, heterozigot (lizin/glutamin) ya da glutamin için homozigot olan (glutamin/glutamin) bireylerin ise %10'nun tedaviye iyi yanıt verdiği görülmüştür (110). Ayrıca 2006 yılında yapılmış olan bir çalışmada XPD 751 polimorfizminin özefageal adenokarsinoma yatkınlık oluşturabilecek bir genetik markır olabileceği belirtilmiştir (111).

### **3. MATERYALVE METOD**

#### **3.1. Örneklerin Seçimi**

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Hastanesi Hematoloji kliniğinde multipl myelom tanısı konulan 63 hasta çalışmaya alındı. Multipl myelom tanısı klinik bulgular, kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi, serum ve idrar immünoelektroforezi, serum protein elektroforezi ile konuldu. 70 sağlıklı kontrol grubundan oluşan bireylerden, kontrol grubu için EDTA'lı tüplere 2 cc kan örneği ile hasta grubu için kemik iliği yayma preparatları hazırlandı. DNA'ları izole edildi. Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu 02.07.2007 tarih ve 07-2007/40 sayılı numaralı onayı alınarak yapıldı.

#### **3.2. Kemik iliği Yayma Preparatları İçin DNA İzolasyonu**

##### **3.2.1. Gerekli Alet ve Kimyasallar**

- İnvitrogen Pure Link (Katolog No: K1820-01)
- Fitreli tüpler
- Receiver tüpleri
- Eppendorf tüpleri
- Proteinaz K
- Lysis Buffer A
- Binding Buffer B6
- Wash Buffer I
- Wash Buffer II
- Elution Buffer D
- Etanol (%95-99)
- Otomatik pipetler (1-100 µl ve 1-1000 µl)
- Steril pipet uçları
- 1,5 ml Eppendorf tüp
- Santrifüj
- Su banyosu

### 3.2.2. DNA İzolasyonu

Hasta grubundan kemik iliği yayma preparatları steril olarak kazınarak 1.5 ml'lik ependorf tüplere siteril pipet ucu yardımıyla alındı. Üzerine 200µl Lysis Buffer A ve 20 µl Proteinaz K ilave edildi. Kısa süreli vorteksle karıştırma işlemi yapıldıktan sonra 56°C'de 10 dakika su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 400 µl Binding Buffer B6 ilave edilip pipet yardımıyla karıştırıldı. Kit içindeki 2.0 ml'lik ependorf taşıyıcı tüplere filtreli tüpler yerleştirildi ve örnekler bu filtreli tüplere transfer edildi. Örnekler 12.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildikten sonra alttaki taşıyıcı süpernatantlı tüpler yenileri ile değiştirildi (DNA filtrede) ve üzerine 500 µl Wash Buffer I ilave edildi. 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldıktan sonra alttaki taşıyıcı tüplerin içindeki süpernatant atıldı. 800 µl Wash Buffer II ilave edildi ve 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Tekrar alttaki taşıyıcı tüpteki süpernatant atıldı, filtredeki etanol'ün tamamen uzaklaşması için 14.000 rpm'de 4 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında 2.0 ml'lik alttaki taşıyıcı tüp 1.5 ml'lik ependorf tüp ile değiştirildi. 56°C'deki su banyosuna önceden bırakılmış Elution Buffer D'den 200 µl filtrenin tam ortasına gelecek şekilde ilave edildi ve 1 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrası 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldıktan sonra, filtreli tüpler atıldı (DNA 1.5ml'lik ependorf tüpte). Ependorf tüplerin kapakları kapatılıp, parafilm'de izole edildikten sonra etiketleme işlemi yapıldı. PCR işlemi yapılan kadar -20°C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

### 3.3. Kandan DNA İzolasyonu

EDTA'lı tüplere alınmış kandan DNA izolasyonu ticari kit ile yapıldı

Çalışmamızda, kandan DNA izolasyonu Invitek (Katalog No: CA070023) ticari kiti ile yapılarak elde edilen DNA materyali daha sonra kullanılmak üzere -20°C'de saklandı. Bu işlemde uygulanan prosedür;

1. Kandan 200 µl alınır (200 µl'den az kan materyali 200 µl'ye tamamlanır), 1.5 ml'lik tüpe aktarılıp üzerine 200 µl Lysis (eritme) Tamponu ve 20 µl Proteinaz K eklenir. Vortex sonrasında 56°C'de 10 dakikalık inkübasyona bırakılır.
2. 400 µl Binding (bağlama) Tamponu pipetlenerek ilave edilir.
3. Hazırlanan karışım, filtrelere sahip 2.0 ml'lik tüplere konur ve 1 dakikalık inkübasyon sonrasında da 2 dakika santrifüj edilir (12.000 rpm).

4. Filtreden geçen ve altta biriken karışım dökülerek, filtreler üzerine 500 µl yıkama tamponu I ilave edilir. 1 dakika santrifüj edilip filtreden geçen tampon dökülür.
5. Yıkama tamponu II'den 800 µl filtre üzerine ilave edilip, tekrar 1 dakika santrifüj edilir. Tüpler santrifüj sonrasında tampondan arındırılır ve filtreler takılarak 4 dakika 15.000 rpm 'de santrifüj edilir.
6. Sonrasında filtreler yeni tüplere yerleştirilir, 200 µl Elution (ayırıştırma) Tamponu eklenir ve muhafaza edilmek üzere -20°C'ye alınır.

### 3.3.1. Kandan DNA İzolasyonu İşleminde Kullanılan Araç ve Kimyasallar

1. Invitek DNA izolasyon kiti Filtreli tüpler (Katalog No: CA070023)

- Proteinaz K
- Lysis (Lizis Solüsyonu)
- Wash A buffer (Yıkama Tamponu I)
- Wash B buffer (Yıkama Tamponu II)
- Elution buffer (Elüsyon Tamponu)

2. Etanol (Sigma)

3. Mikropipetler (1-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 Scorex, Rainin, Eppendorf)

4. Steril sarı ve beyaz pipet uçları (Eppendorf)

5. 1.5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)

6. Eppendorf tüp taşıyıcıları

7. Vorteks (Heidolph Reaks Top)

8. Santrifüj Aleti (Sigma 1-15)

9. Su banyosu (Nüve BM 302)

10. Steril lateks eldiven

### 3.4. DNA Amplifikasyonu

#### 3.4.1. PCR Kimyasal Konsantrasyonları

PCR karışımları aşağıdaki gibi hazırlanmıştır (örnek başına):

**XPD- için:**

- ddH<sub>2</sub>O : 11.3 mikrolitre
- Buffer : 2.5 mikrolitre
- MgCl<sub>2</sub> : 2 mikrolitre

- dNTP : 2 mikrolitre
- primer 1 : 1 mikrolitre (20 pmol konsantrasyonda)
- primer 2 : 1 mikrolitre (20 pmol konsantrasyonda)
- Taq : 0.2 mikrolitre
- DNA : 5 mikrolitre (150-200 ng)

Polimeraz zincir reaksiyonu toplam 25 µl hacimde gerçekleştirildi.

#### **XRCC1-399 için:**

- ddH<sub>2</sub>O : 11.3 mikrolitre
- Buffer : 2.5 mikrolitre
- MgCl<sub>2</sub> : 2 mikrolitre
- dNTP : 2 mikrolitre
- primer 1 : 1 mikrolitre (5 pmol konsantrasyonda)
- primer 2 : 1 mikrolitre (5 pmol konsantrasyonda)
- Taq : 0,2 mikrolitre
- DNA : 5 mikrolitre (150-200 ng)

Polimeraz zincir reaksiyonu toplam 25 µl hacimde gerçekleştirildi.

#### **XRCC4'ler için:**

- ddH<sub>2</sub>O : 15.3 mikrolitre
- Buffer : 2.5 mikrolitre
- MgCl<sub>2</sub> : 2 mikrolitre
- dNTP : 2 mikrolitre
- primer 1 : 1 mikrolitre (5 pmol konsantrasyonda)
- primer 2 : 1 mikrolitre (5 pmol konsantrasyonda)
- Taq : 0,2 mikrolitre
- DNA : 1 mikrolitre (150-200 ng)

Polimeraz zincir reaksiyonu toplam 25 µl hacimde gerçekleştirildi.

#### **XRCC1 Geni**

XRCC1 geni Primer dizileri (Thermo Electron):

Forward: 5' –AGT AGT CTG CTG GCT CTG G -3'

Reverse: 5' – TCT CCC TTG GTC TCC AAC CT-3'



**XPD geni**

Forward: 5' – ATC CTG TCC CTA CTG GCC ATT C-3'

Reverse: 5' – TGT GGA CGT GAC AGT GAG AAA T-3'

**XRCC4-1394 Geni**

Forward: 5' – GAT GCG AAC TCA AAG ATA CTG A-3'

Reverse: 5' – TGT AAA GCC AGT ACT CAA ACT T-3'

**XRCC4-intron 3**

Forward: 5' – TCC TGT TAC CAT TTC AGT GTT AT-3'

Reverse: 5' – CAC CTG TGT TCA ATT CCA GCT T-3'

**3.4.4. PCR Koşulları**

- 94°C → 4 dakika
  - 60°C → 30 saniye
  - 72°C → 45 saniye
- } 1 Döngü

- 94°C → 30 saniye
  - 60°C → 30 saniye
  - 72°C → 45 saniye
- } 35 Döngü

- 94°C → 30 saniye
  - 60°C → 30 saniye
  - 72°C → 7 dakika
  - 4°C → sonsuz
- } 1 Döngü

Amplifikasyon koşullarında hazırlanan karışım daha sonra PCR aletine konularak (Resim 4), istenen XRCC1, XPD ve XRCC4 gen gölgeleri çoğaltılmıştır.



**Resim 4.** PCR aleti (gene Amp PCR System 9700)

### **3.5. PCR Amplifikasyonu Sonuçlarının Görüntülenmesi ve Değerlendirilmesi**

#### **3.5.1. Agaroz Jel Elektroforezi (Yatay Jel Elektroforezi)**

XRCC1, XPD ve XRCC4 geni PCR ürünleri amplifikasyonun kontrolü %2.5'lük agaroz jelde yapıldı.

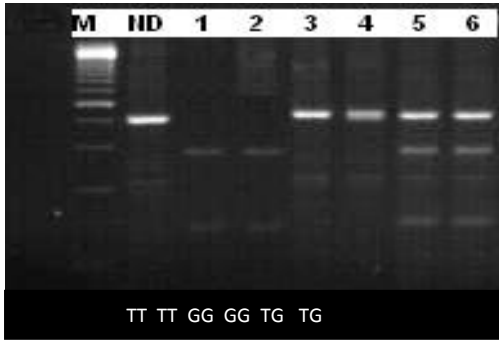
### **3.6. DNA'nın Enzimatik Kesim İşlemi**

XRCC1, XPD ve XRCC4 PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde amplifikasyonun oluşumu kontrolü yapıldıktan sonra XRCC1 PCR ürünleri için MspI kesim enzimi (restriksiyon endonükleaz enzimi), XPD PCR ürünleri için PstI kesim enzimi ve XRCC4 PCR ürünleri için HincII kesim enzimi kullanıldı.

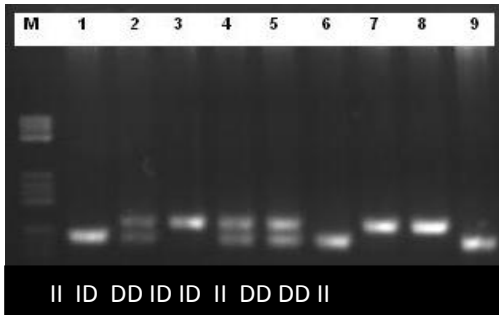
#### **3.6.1. DNA'nın Enzimatik Kesim İşleminde kullanılan Alet ve Enzimler:**

- Su banyosu
- Etüv
- 0.5 ml.'lik eppendorf tüpler
- Pipetler (1-10 µl. ve 10-100 µl)
- Steril beyaz ve sarı pipet ucu





**Şekil 6.** HincII enzim kesimi sonucu genotipleme sonuçları.\*M: Markır



**Şekil 7.** XRCC4-intron3 genotipleme sonuçları.\*M: Markır

### 3.7. İstatistikî analiz

Sürekli sayısal (kantitatif) değerler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) ve katagorik (nominal) değerler grupta bulunan kişi sayısı (n) ve/veya yüzde (%) ile ifade edildi. Çalışma ve kontrol grubundaki katagorik değişkenler ki-kare veya Fisher's exact test, kantitatif değişkenler Varyans analizi ile Kruskal Wallis Varyans analizi kullanıldı.

Her bir allele ait gen frekansları bulunarak çalışılan populasyonun denge kontrolü Hardy-Weinberg eşitsizliği de Finetti programı, genotip ve alel frekansları ki-kare testleri ile belirlendi. Sonuçlar %95 güven aralığında (%CI), anlamlılık  $P < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi. Tüm istatistiksel hesaplamalar Windows SPSS 16.0 programı kullanılarak yapıldı.





#### 4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 63 olgunun 36'sı erkek, 27'si kadındı. Plazma hücre hastalıkları grubunda olan 63 hastanın XRCC1-399, XPD-751, XRCC4 intron3 ve XRCC4-1394 gen polimorfizmleri kontrol grubu ile karşılaştırıldı (Tablo 6). Bu hasta grubunda 1 hasta MGUS, 2 hasta soliter plazmositom, 60 hasta ise MM tanılıydı. Gen polimorfizmleri ile klinik verilerin karşılaştırılması için çalışmaya 60 MM tanılı hasta ile devam edildi. Hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 7'de görülmektedir. Kontrol grubuna alınan hematolojik malignitesi olmayan 70 sağlıklı gönüllü kişinin 35'i erkek, 35'i kadın idi. Kontrol grubunun ortalama yaşı  $54.84 \pm 9.36$  ortanca yaşı ise 56.00 (34-70) idi (Tablo 8). Hastaların tespit edilen paraprotein tipleri; Hafif zincir: 9(%15.0), IgA:14(%14.0), IgG: 36(%60.0), IgM: 1(%1.7), Kappa: 43(%71.7), Lambda: 17(%28.3) olarak tespit edildi. Durie-Salmon sınıflamasına göre hastaların 2 tanesi evre 1A (%3.3), 4 tanesi evre 2A (%6.7), 4 tanesi evre 2B (%6.7), 38 tanesi evre 3A (%63.3), ve 12 tanesi de evre 3B (%20.0) idi. Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performans skalası bilinen 50 hastanın 5 tanesi ECOG 0 (%10.0), 15 tanesi ECOG 1 (%30.0), 17 tanesi ECOG 2 (%34.0), 8 tanesi ECOG 3 (%16.0), 5 tanesi ECOG 4 (%10.0) olarak tespit edildi (Tablo 7).

XRCC1-399 gen polimorfizmlerinin değerlendirilmesinde, hem hasta grubu (C.I.:%95,  $p=0.0013$ ) hem de kontrol grubunda (C.I.:%95,  $p=0.009$ ) Hardy Weinberg Eşitsizliği (HWE)'den sapma tespit edildi. Genotip ve allel frekansları açısından incelendiğinde ise hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 6).

XPD-751 gen polimorfizmlerinde hem kontrol grubunda (C.I.:%95,  $p=0.12$ ) hem de hasta grubunda (C.I.:%95,  $p=0.22$ ) HWE'den sapma tespit edilmedi. Genotip ve allel frekansları açısından incelendiğinde ise hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 6).

**Tablo 6.** Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki gen polimorfizmlerinin karşılaştırılması (n, %)

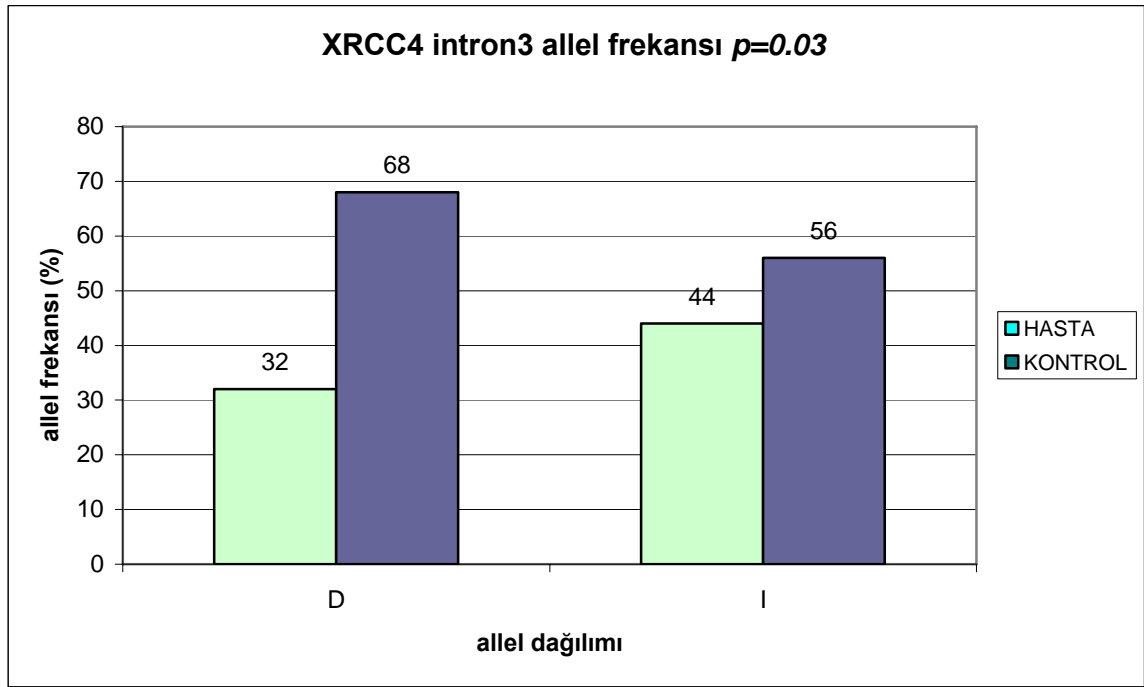
	Hasta (n:63)	Kontrol (n:70)	p
<b>XRCC1 A399G</b>			
AA	25(39.7)	25(35.8)	
AG	21(33.3)	24(34.2)	
GG	17(27.0)	21(30.0)	
	<i>p=0.001*</i>	<i>p=0.009*</i>	
A/G	0.56/0.44	0.53/0.47	0.65 <sup>1</sup>
AA-AG	25(39.7)-21(33.3)	25(35.8)-24(34.2)	0.82 <sup>1</sup>
GG-AG	17(27.0)-21(33.3)	21(30.0)-24(34.2)	0.86 <sup>1</sup>
AA-GG	25(39.7)-17(27.0)	25(35.8)-21(30.0)	0.69 <sup>1</sup>
AA-(AG+GG)	25(39.7)-38(60.3)	25(35.8)-45(63.2)	0.72 <sup>1</sup>
GG-(AA+AG)	17(27.0)-46(73.0)	21(30.0)-49(70.0)	0.74 <sup>1</sup>
<b>XPD751</b>			
AA	27(42.8)	37(52.9)	
AC	25(39.7)	24(34.3)	
CC	11(17.5)	9(12.8)	
	<i>p=0.12*</i>	<i>p=0.22*</i>	
A/C	0.63/0.37	0.7/0.3	0.20 <sup>1</sup>
AA-AC	27(42.8)- 25(39.7)	37(52.9)- 24(34.3)	0.35 <sup>1</sup>
CC-AC	11(17.5)- 25(39.7)	9(12.8)- 24(34.3)	0.76 <sup>1</sup>
AA-CC	27(42.8)- 11(17.5)	37(52.9)- 9(12.8)	0.31 <sup>1</sup>
AA-(AC+CC)	27(42.8)-36(57.2)	37(52.9)-33(47.1)	0.24 <sup>1</sup>
CC-(AA+AC)	11(17.5)-52(82.5)	9(12.8)-61(77.2)	0.45 <sup>1</sup>
<b>XRCC4 intron3</b>			
DD	1(1.6)	10(14.3)	
ID	38(60.3)	42(60.0)	
II	24(38.1)	18(25.7)	
	<i>p=0.0018*</i>	<i>p=0.07*</i>	
I/D	0.68/0.32	0.56/0.44	<b>0.03<sup>1</sup></b>
II-ID	24(38.1)- 38(60.3)	18(25.7)- 42(60.0)	0.31 <sup>1</sup>
DD-ID	1(1.6)- 38(60.3)	10(14.3)- 42(60.0)	<b>0.01<sup>1</sup></b>
DD-II	24(38.1)- 1(1.6)	18(25.7)- 10(14.3)	<b>0.004<sup>1</sup></b>
II-(ID+DD)	24(38.1)-39(61.9)	18(25.7)-62(74.3)	0.12 <sup>1</sup>
DD-(II+ID)	1(1.6)-62(98.4)	10(14.3)-60(85.7)	<b>0.007<sup>1</sup></b>
<b>XRCC4</b>			
TT	14(22.2)	27(38.6)	
TG	29(46.0)	26(37.1)	
GG	20(31.2)	17(24.3)	
	<i>p=0.57*</i>	<i>p=0.043*</i>	
T/G	0.45/0.55	0.57/0.43	0.52 <sup>1</sup>
TT/TG	14(22.2)- 29(46.0)	27(38.6)- 26(37.1)	0.07 <sup>1</sup>
GG/TG	20(31.2)- 29(46.0)	17(24.3)- 26(37.1)	0.90 <sup>1</sup>
TT/GG	14(22.2)- 20(31.2)	27(38.6)- 17(24.3)	0.07 <sup>1</sup>
TT-(TG+GG)	14(22.2)-49(77.8)	27(38.6)-43(61.4)	<b>0.04<sup>1</sup></b>
GG-(TT+TG)	20(31.2)-43(68.8)	17(24.3)-53(75.7)	0.33 <sup>1</sup>

\* HWE: Hardy Weinberg Eşitsizliği



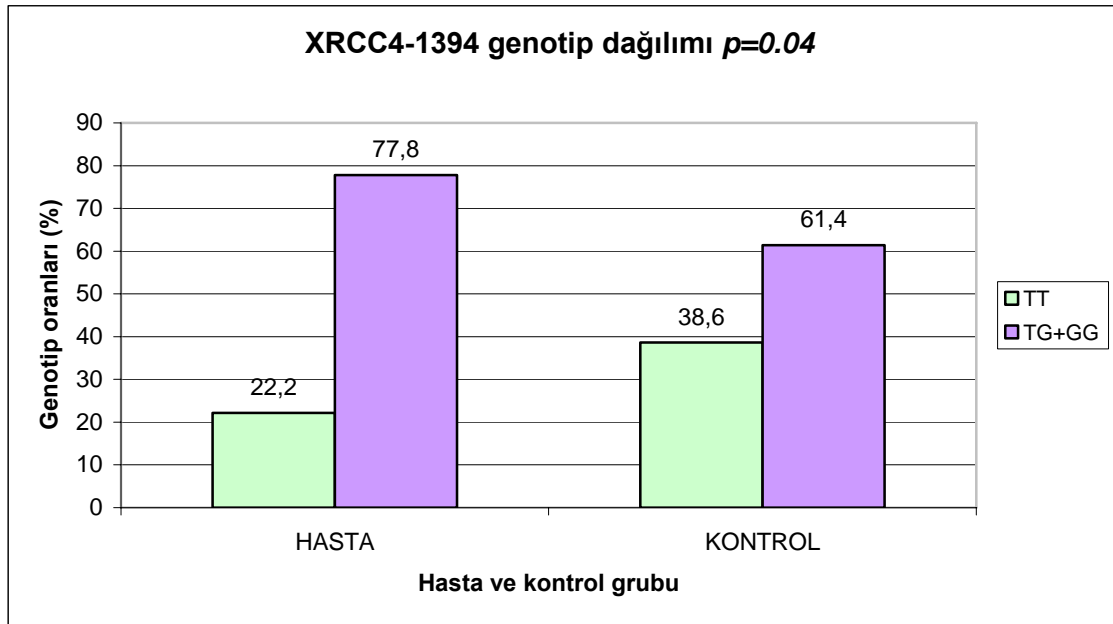
<sup>1</sup> Pearson  $\chi^2$  (C.I.:95%)

XRCC4 intron3 gen polimorfizmlerinin değerlendirilmesinde kontrol grubunda (C.I.:%95,  $p=0.07$ ) HWE'den sapma gözlenmezken hasta grubunda (C.I.:%95,  $p=0.0018$ ) HWE'den sapma tespit edildi. Allel frekansları açısından incelendiğinde ise D allelinin hasta grubunda sağlıklı gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu ( $p=0.03$ ) belirlenmiştir. Genotip sıklığı açısından DD genotipi ile ID ve II genotipleri karşılaştırıldığında hasta grubunda sağlıklı gruba göre DD genotipinin anlamlı derecede düşük olduğu ( $p=0.007$ ) belirlenmiştir (Tablo 6).



**Şekil 8.** Hasta ve kontrol grubunda allel frekansının dağılımı.

XRCC4-1394 gen polimorfizmlerinin değerlendirilmesinde ise kontrol grubunda (C.I.:%95,  $p=0.043$ ) HWE'den sapma gözlenirken hasta grubunda (C.I.:%95,  $p=0.57$ ) sapma tespit edilmedi. Allel frekansı açısından incelendiğinde hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı ( $p=0.52$ ) tespit edildi. Genotip sıklığı açısından ise TT genotipinin TG + GG genotipi ile karşılaştırılması sonucu hasta grubunda TT genotipinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu ( $p=0.04$ ) tespit edildi (Tablo 6).



**Şekil 9.** Hasta ve kontrol grubu arasında TT ile TG + GG genotiplerinin karşılaştırılması.

**Tablo 7.** Hastaların klinik ve demografik özellikleri (n=60)

<b>Yaş</b> (ortalama±SD) (ortanca)(minimum-maksimum)	59.92 ±10.01 61.00 (36-80)
<b>Cinsiyet</b> (n, %) Erkek Kadın	35 (58.3) 25 (41.7)
<b>Paraprotein</b> (n,%) HZ IgA IgG IgM K L	9 (15.0) 14 (14.0) 36 (60.0) 1 (1.7) 43 (71.7) 17 (28.3)
<b>Evre</b> (n:, %) 1A 1B 2A 2B 3A 3B	2 (3.3) 0 4 (6.7) 4 (6.7) 38 (63.3) 12 (20.0)
<b>Performans durumu</b> (ECOG: 0-4), (n:50, %) 0 1 2 3 4	5 (10.0) 15 (30.0) 17 (34.0) 8 (16.0) 5 (10.0) Toplam: 50(100.0)
<b>B2MG</b> (ortalama±SD)(mg/dl) (ortanca)(minimum-maksimum)	5.77±5.12 4.0 (1.67-27)

**Tablo 8.** Kontrol grubu demografik bulguları (n=70)

<b>Yaş</b> (ortalama±SD) (ortanca)(minimum-maksimum)	54.84 ±9.36 56.00 (34-70)
<b>Cinsiyet</b> (n, %) Erkek Kadın	35 (50) 35 (50)

**Tablo 9.** DNA tamir gen polimorfizmi ve paraprotein ilişkisi (n, %)

	<b>HZ</b>	<b>IgA</b>	<b>IgG</b>	<b>IgM</b>	<b>Total</b>	x <sup>2</sup> , p
<b>XRCC1</b>						
<b>AA</b>	5(21.7)	4(17.4)	13(56.5)	1(4.3)	23(100.0)	0.472
<b>AG</b>	1(5.0)	7(35.0)	12(60.0)	0	20(100.0)	
<b>GG</b>	3(17.6)	3(17.6)	11(64.7)	0	17(100.0)	
<b>Total</b>	9(15.0)	14(23.3)	36(60.0)	1(1.7)	60(100.0)	
<b>XPB</b>						
<b>AA</b>	4(16.0)	5(20.0)	15(60.0)	1(4.0)	25(100.0)	0.840
<b>AC</b>	4(16.7)	7(29.2)	13(54.2)	0	24(100.0)	
<b>CC</b>	1(9.1)	2(18.2)	8(72.7)	0	11(100.0)	
<b>Total</b>	9(15.0)	14(23.3)	36(60.0)	1(1.7)	60(100.0)	
<b>XRCC4 intron3</b>						
<b>DD</b>	0	0	1(100.0)	0	1(100.0)	0.843
<b>ID</b>	7(19.4)	8(22.2)	20(55.6)	1(2.8)	36(100.0)	
<b>II</b>	2(8.7)	6(26.1)	15(65.2)	0	23(100.0)	
<b>Total</b>	9(15.0)	14(23.3)	36(60.0)	1(1.7)	60(100.0)	
<b>XRCC4</b>						
<b>TT</b>	2(15.4)	4(30.8)	7(53.8)	0	13(100.0)	0.671
<b>TG</b>	5(18.5)	7(25.9)	15(55.6)	0	27(100.0)	
<b>GG</b>	2(10.0)	3(15.0)	14(70.0)	1(5.0)	20(100.0)	
<b>Total</b>	9(15.0)	14(23.3)	36(60.0)	1(1.7)	60(100.0)	

**Tablo 10.** DNA tamir gen polimorfizmi ve paraprotein ilişkisi (n, %)

	<b>Paraprotein Kappa, Lambda</b>			$\chi^2$ , p
	<b>K</b>	<b>L</b>	<b>Total</b>	
<b>XRCC1</b>				0.630
AA	18(78.3)	5(21.7)	23(100.0)	
AG	14(70.0)	6(30.0)	20(100.0)	
GG	11(64.7)	6(35.3)	17(100.0)	
<b>Total</b>	43(71.7)	17(28.3)	60(100.0)	
<b>XPD</b>				0.396
AA	20(80.0)	5(20.0)	25(100.0)	
AC	15(62.5)	9(37.5)	24(100.0)	
CC	8(72.7)	3(27.3)	11(100.0)	
<b>Total</b>	43(71.7)	17(28.3)	60(100.0)	
<b>XRCC4 intron3</b>				0.763
DD	1(100.0)	0(.0)	1(100.0)	
ID	25(69.4)	11(30.6)	36(100.0)	
II	17(73.9)	6(26.1)	23(100.0)	
<b>Total</b>	43(71.7)	17(28.3)	60(100.0)	
<b>XRCC4</b>				0.91
TT	9(69.2)	4(30.8)	13(100.0)	
TG	19(70.4)	8(29.6)	27(100.0)	
GG	15(75.0)	5(25.0)	20(100.0)	
<b>Total</b>	43(71.7)	17(28.3)	60(100.0)	

Hastaların sahip oldukları paraprotein tipleri ile XRCC1, XPD751, XRCC4 intron3 ve XRCC4 gen polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (Tablo 9-10).

**Tablo 11.** DNA tamir gen polimorfizmi ile MM evreleri arasındaki ilişki (n, %)

	<b>1A</b>	<b>2A</b>	<b>2B</b>	<b>3A</b>	<b>3B</b>	<b>Total</b>	$\chi^2$ , p
<b>XRCC1</b>							
<b>AA</b>	1(4.3)	2(8.7)	0(.0)	14(60.9)	6(26.1)	23(100.0)	0.455
<b>AG</b>	0(.0)	0(.0)	3(15.0)	14(70.0)	3(15.0)	20(100.0)	
<b>GG</b>	1(5.9)	2(11.8)	1(5.9)	10(58.8)	3(17.6)	17(100.0)	
<b>XPB</b>							
<b>AA</b>	2(8.0)	3(12.0)	0(.0)	13(52.0)	7(28.0)	25(100.0)	0.024*
<b>AC</b>	0(.0)	0(.0)	1(4.2)	19(79.2)	4(16.7)	24(100.0)	
<b>CC</b>	0(.0)	1(9.1)	3(27.3)	6(54.5)	1(9.1)	11(100.0)	
<b>XRCC4 intron3</b>							
<b>DD</b>	0(.0)	0(.0)	0(.0)	1(100.0)	0(.0)	1(100.0)	0.873
<b>ID</b>	1(2.8)	2(5.6)	3(8.3)	25(69.4)	5(13.9)	36(100.0)	
<b>II</b>	1(4.3)	2(8.7)	1(4.3)	12(52.2)	7(30.4)	23(100.0)	
<b>XRCC4</b>							
<b>TT</b>	0	2(15.4)	0	7(53.8)	4(30.8)	13(100.0)	0.18
<b>TG</b>	0	0	3(11.1)	20(74.1)	4(14.8)	27(100.0)	
<b>GG</b>	2(10.0)	2(10.0)	1(5.0)	11(55.0)	4(20.0)	20(100.0)	
<b>Total</b>	2(3.3)	4(6.7)	4(6.7)	38(63.3)	12(20.0)	60(100.0)	

\* AA-AC p=0.94, AA-CC p=0.61, AC-CC p=0.84

XRCC1, XPD751, XRCC4 intron3 ve XRCC4 gen polimorfizmleri ile hastalık evreleri incelendiğinde, XRCC1, XRCC4 intron3 ve XRCC4 gen polimorfizmleri ile hastalık evreleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. XPD gen polimorfizmi ve hastalık evresi arasında p değeri anlamında bir farklılık varmış gibi görülmüş gibi görünse de ikili gen polimorfizmlerinin incelenmesinde hastalık evresi ile XPD gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 11).

**Tablo 12.** DNA tamir gen polimorfizmlerinin  $\beta$ 2MG ve PS ile ilişkisi

	Ortalama	SD	p	ECOG-PS* (n,%)				
				0	1	2	3	4
<b>XRCC1</b>								
AA	5.67	5.69393	0.987	1(20.0)	6(40.0)	8(47.1)	4(50.0)	1(20.0)
AG	5.92	4.99326		3(60.0)	4(26.7)	6(35.3)	1(12.5)	3(60.0)
GG	5.73	4.75386		1(20.0)	5(33.3)	3(17.6)	3(37.5)	1(20.0)
				p=0.642				
<b>XPD</b>								
AA	4.44	3.28212	0.231	1(20.0)	7(46.7)	6(35.3)	3(37.5)	2(40.0)
AC	6.86	6.73916		4(80.0)	4(26.7)	8(47.1)	3(37.5)	1(40.0)
CC	6.43	4.10443		0	4(26.7)	3(17.6)	2(25.0)	1(20.0)
				p=0.763				
<b>XRCC4 intron3</b>								
DD	4.00	.	0.109	0	1(6.7)	0	0	0
ID	6.91	6.21119		5(100.0)	6(40.0)	12(70.6)	5(62.5)	2(40.0)
II	4.07	1.94335		0	8(53.3)	5(29.4)	3(37.5)	3(60.0)
				p=0.332				
<b>XRCC4</b>								
TT	5.84	6.56698	0.686	1(20.0)	4(26.7)	4(23.5)	1(12.5)	1(20.0)
TG	6.32	4.86864		2(40.0)	4(26.7)	9(52.9)	4(50.0)	4(80.0)
GG	4.99	4.56032		2(40.0)	7(46.7)	4(23.5)	3(37.5)	0
<b>Total</b>	5.77	5.12437		p=0.603				

\*ECOG-PS: Eastern Cooperative Oncology Group-Performans status

XRCC1, XPD751 ve XRCC4 intron3 gen polimorfizmleri ile hastaların PS ve  $\beta$ 2MG düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde,  $\beta$ 2MG düzeyleri ve PS ile gen polimorfizmleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 12).

**Tablo 13.** DNA tamir gen polimorfizmi ve sağkalım ilişkisi (n:52)

	Sağkalım <sup>2</sup>		Total Sağkalım <sup>1</sup>	Hastaliksız sağkalım <sup>1</sup>
	3yıllık(n,%)	5yıllık(n,%)	(ortalama/ay) n:19	(ortalama/ay) n:27
<b>XRCC1</b>				
AA	8 (42.1)	2 (10.0)	13.38	17.71
AG	6 (31.6)	3 (16.7)	8.83	11.54
GG	5 (26.3)	2 (14.3)	9.50	14.86
	p=0.911	p=0.83	p=0.388	p=0.23
<b>XPD</b>				
AA	8 (42.1)	3 (42.9)	10.9	16.89
AC	8 (42.1)	2 (28.6)	9.5	12.62
CC	3 (15.8)	2 (28.6)	9.92	12.42
	p=0.86	p=0.68	p=0.907	p=0.403
<b>XRCC4 intron3</b>				
DD	1 (5.3)	1 (14.3)	18.50	26.5
ID	13 (68.4)	3 (42.9)	11.18	14.5
II	5(26.3)	3 (42.9)	6.93	11.67
	p=0.19	p <sup>3</sup>	p:0.086	p=0.185
<b>XRCC4</b>				
TT	3(15.8)	2(28.6)	13.0	23.5
TG	9(47.4)	4(57.1)	9.59	14.46
GG	7(36.8)	1(14.3)	9.10	11.73
	p=0.77	p=0.47	p=0.591	p=0.156
<b>Total</b>	<b>19(36.5)</b>	<b>7(13.5)</b>	<b>26.68</b> SD:23.542	<b>27.3</b> SD:17.466

<sup>1</sup>Kruskal Wallis test<sup>2</sup>Pearson  $\chi^2$ <sup>3</sup> Fisher's Exact Test; II-ID p=0.19 , II-ID p=0.66, DD-ID p=0.125

Değerlendirmeye alınan 60 hastadan 8'i yatışlarından kısa bir süre sonra kaybedilmelerinden dolayı sağkalım değerlendirilmesine alınmamışlardır. Hastaların gen polimorfizmi ile sağkalımlar arasındaki ilişki incelendiğinde, 3 yıllık sağkalım ile gen polimorfizmleri arasında istatistikî açıdan anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. 5



yıllık sağkalım incelendiğinde XRCC1, XPD ve XRCC4 gen polimorfizmleri ile 5 yıllık sağkalım arasında istatistiki bir fark tespit edilmemiştir. XRCC4 intron3 gen polimorfizmleri ile 5 yıllık sağkalım arasında anlamlı bir fark görülmüşdür ikili gen polimorfizmlerinin Fisher'in kesin testi ile incelenmesi sonucunda istatistiki anlamda bir fark tespit edilmemiştir (Tablo 13).

Hastaların hastalısız sağkalımları ve total sağkalımlarının incelenmesi neticesinde XRCC1, XPD, XRCC4intron3 ve XRCC4 gen polimorfizmleri arasında istatistiki anlamda bir fark tespit edilmemiştir (Tablo 13).

**Tablo 14.** DNA tamir gen polimorfizmleri ve tedavi ilişkisi

	VAD* (n:43,%)			BODEC* (n:18,%)			OKİT+TAL* (n:12,%)	
	CR	PR	REF	CR	PR	REF	CR	PR
<b>XRCC1</b>								
AA	3(7.0)	4(9.3)	5(11.6)	5(27.8)	3(16.7)	0	2(16.7)	1(8.3)
AG	8(18.6)	5(11.6)	4(9.3)	5(27.8)	1(5.6)	1(5.6)	2(16.7)	4(33.3)
GG	2(4.7)	8(18.6)	4(9.3)	1(5.6)	2(11.1)	0	3(25.0)	0
	p=0.256			p=0.423			p=0.152	
<b>XPD</b>								
AA	4(9.3)	4(9.3)	6(14.0)	5(27.8)	3(16.7)	0	2(16.7)	2(16.7)
AC	7(16.3)	9(20.9)	3(7.0)	5(27.8)	0	1(5.6)	4(33.3)	2(16.7)
CC	2(4.7)	4(9.3)	4(9.3)	1(5.6)	3(16.7)	0	1(8.3)	1(8.3)
	p=0.445			p=0.113			p=0.842	
<b>XRCC4 intron3</b>								
DD	0	0	0	0	1(16.7)	0	0	0
ID	9(33.3)	10(37.0)	8(29.6)	9(69.2)	4(30.8)	0	6(60.0)	4(40.0)
II	4(25.0)	7(43.8)	5(31.2)	2(50.0)	1(25.0)	1(25.0)	1(50.0)	1(50.0)
	p=0.838			p=0.217			p=0.113	
<b>XRCC4</b>								
TT	1(2.3)	1(2.3)	4(9.3)	2(11.1)	2(11.1)	0	1(8.3)	0
TG	7(16.3)	8(18.6)	6(14.0)	6(33.3)	2(11.1)	1(5.6)	3(25.0)	2(16.7)
GG	5(11.6)	8(18.6)	3(7.0)	3(16.7)	2(11.1)	0	3(25.0)	3(25.0)
	p=0.284			p=0.761			p=0.64	
<b>Total (n)</b>	<b>13</b>	<b>17</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>5</b>
<b>%</b>	<b>(30.2)</b>	<b>(39.5)</b>	<b>(30.2)</b>	<b>(61.1)</b>	<b>(33.3)</b>	<b>(5.6)</b>	<b>(58.3)</b>	<b>(41.7)</b>

CR: Komplet remisyon PR: Parsiyel remisyon REF: Refrakter

\* VAD: Vincristin 0.4 mg/gün + Adriamycin 9 mg/m<sup>2</sup> + Deksamethazon 40 mg/gün.

BODEC: Bortezomib 1.3 mg/m<sup>2</sup> + Deksamethazon 20 mg/gün + Siklofosamid 50 mg/gün.  
OKİT+TAL: Ototolog kemik iliği transplantasyonu + Thalidomid 100 mg/gün.

Çalışmaya alınan tedavi verilebilen ve yanıt değerlendirmeleri tam olan hastaların incelenmesi sonucu; VAD kemoterapisi sonrası 13 hasta (%30.2) komplet remisyon, 17 hasta (%39.5) parsiyel remisyon, 13 hasta (%30.2) ise tedaviye refrakter olarak değerlendirildi. BODEC kemoterapi rejimi sonrası 11 hasta (%61.1) komplet remisyon, 6 hasta parsiyel remisyon (%33.3), 1 hasta (%5.6) ise refrakter olarak değerlendirildi. OKİT + TAL tedavisi sonrası 7 hasta (%58.3) komplet remisyon, 5 hasta (%41.7) ise parsiyel remisyon olarak değerlendirildi.

Hastalarda tespit edilen XRCC1, XPD, XRCC4 intron3 ve XRCC4 gen polimorfizmleri ile tedavi yanıtları arasında istatistiksel anlamda fark tespit edilmemiştir.

## 5. TARTIŞMA

Bu alışma Multipl miyelomalı hastalarda XRCC1 geni kodon 399, XPD geni kodon 751, XRCC4 geni intron3 ve XRCC4-1394 gen polimorfizmlerinin tedavi protokolü, prognoz ve sağkalım üzerine etkisinin olmadığını, XRCC4 intron3'de D alleli ile DD genotipinin, XRCC4'de ise TT genotipinin dūřuk olduğunu gōstermektedir.

Multipl miyelom geliřiminde genetik, radyasyon, viral, kronik antijenik uyarı ve çevresel faktōrler rol almaktadır. Bu faktōrlerin etkisi ile sinyal ileti sistemi, apoptoz, kemik ilięi mikroçevresi ve hūcre siklusunda yer alan gen ekspresyon bozuklukları rol almaktadır (18). DNA tamir mekanizmasındaki genetik polimorfizmler DNA tamir kapasitesinde kiřisel farklılıklara yol açabilmekte ve kısmen de olsa hūcrelerin genotoksik ajanlara karřı hassasiyetini deęiřtirerek kanser hūcresine dōnūřmesine sebep olabilmektedir. DNA tamir sistemlerinin, karsinojen ve antikanser ajanların neden olduęu DNA hasarlarını dūzelttięi, yetersiz yada hatalı DNA tamir mekanizmalarının çeřitli maligniteler için bir risk faktōrū olduęu bildirilmiřtir (112).

XRCC1 DNA tamir mekanizmalarından BER (baz eksizyon tamiri) mekanizması ile DNA tamirinde gōrev alan bir gendir. Yanlış yerleştirilen ve hasarlı bazları uzaklaştırmak için kullanılan onarım mekanizmasıdır. Bir çok araştırmacı XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi ile kanser riski arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Ritchy ve arkadaşlarının (113) XRCC1 399Gln/Gln genotipinin Prostat kanser riski ile ilişkili olduğunu bildirirken, Sak ve arkadaşlarının (114) yaptıkları çalışmada, XRCC1 kodon 399 polimorfizmi ile Prostat kanseri arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir. Meme kanseri riski ve XRCC1 Arg339Gln polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran diğer bir çalışmada ise XRCC1 399Gln alleleline sahip Afrika kōkenli Amerikalı kadınların artmış meme kanseri riskine sahip oldukları bildirilmiştir (115). Diğer taraftan Sobti ve arkadaşlarının (116) oşofagus kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada, XRCC1 399Gln/Gln genotipi kanserden koruyucu genotip olarak bildirilmiştir.

Literatürde hematolojik maligniteler ve DNA tamir genleri arasındaki ilişkiyi inceleyen sınırlı sayıda çalışmada sonuçları itibarıyla birbirleriyle çelişen kimi çalışmalar da mevcuttur. Joseph ve arkadaşlarının (117) XRCC1 polimorfizmleri (kodon 194, 280 ve 399) ile çocukluk çağı ALL riski arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmada, sadece XRCC1 399Gln varyant allelinin ALL için risk oluşturduğu tespit edilmiştir. Hill ve arkadaşlarının (118) yapmış oldukları bir çalışmada XRCC1 A194T allelinin NHL riskinde çok az bir artma ile ilişkili olduğunu belirtirlerken, Shen ve arkadaşlarının (119) yapmış oldukları çalışmada ise bu allelin diffüz büyük B hücreli lenfoma riskinde azalma ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Matsuo ve arkadaşlarının (120) Japon popülasyonu üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada XRCC1 Arg339Gln polimorfizmi ile NHL subtipleri arasında bir ilişkinin olmadığını rapor etmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada multipl myelom tanısı konan 63 olguda XRCC1 kodon 399 gen polimorfizmi dağılımı AA: 25(%39.7), AG: 21(%33.3), GG: 17(%27.0) olarak tespit edilmiştir. Hem kontrol ( $p=0.009$ ) hemde hasta ( $p=0.001$ ) grubunda Hardy Weinberg Eşitsizliği (HWE)'den sapma gözlenmiştir. Hematolojik malignitesi bulunmayan sağlıklı erişkin kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda XRCC1 kodon 399 gen polimorfizmleri ile kontrol grubu arasında genotip ve allel sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p=0.65$ ). Ayrıca hastaların klinik özellikleri incelendiğinde paraprotein tipi, hastalık evresi,  $\beta$ 2MG düzeyi, performans durumu, sağ kalım oranları ve tedaviye verilen cevap arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

ERCC2 (XPD, Xeroderma pigmentosum group D) nükleotid eksizyon tamiri (NER) mekanizması ile DNA tamirinde görev alan bir genidir. NER'de hasarlı bazlar oligonükleotid parçaları olarak kesilir ve bu sayede birçok DNA hasarının özellikle de heliks distorsiyonuna neden olanların onarımında etkilidir. NER mekanizması daha çok ultraviyole ışığı ve polisiklik hidrokarbonlara bağlı DNA hasarının tamirinde görev alır. Kalıtsal sendromları (Xeroderma pigmentosum 'XP', Cockayne sendromu 'CS', Trichothiodystrophy 'TTD') olan bireylerde NER mekanizmasında bozukluklar saptanmıştır, bu bireylerde güneşe duyarlılık, bazı dokularda erken yaşlanma, nörolojik bozukluklar ve genellikle UV kaynaklı cilt kanseri insidansında artış gözlenmiştir (121). XPD kodon 751 polimorfizmi ile ilişkili çalışmaların bazılarında XPD 751Lys allelinin akciğer kanseri, melanom ve bazal hücre karsinomu için artmış risk ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (122). Bu konu ile ilgili diğer iki çalışma ise AML hastalarında

gerçekleştirilmiştir. Allan ve arkadaşlarının (123) yaptıkları çalışmada, XPD 751Gln alleli ile kötü sitogenetik bulgu ve tedavi ile gelişen AML arasında bir ilişki tespit edilirken, diğer prognostik faktörler (yaş, cinsiyet, WBC sayısı, FAB sınıfı) ile XPD kodon 751 polimorfizmi arasında bir ilişki tespit edilmemiştir. Mehta ve arkadaşlarının (124) yaptıkları diğer bir çalışmada ise XPD kodon 751 ile AML etiyojisi, prognostik faktörler veya tedaviye yanıt arasında herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir.

Multipl myeloma gibi lenfoproliferatif hastalıklar grubundan olan Folliküler lenfomalı hastalar üzerinde yapılan ve ERCC2 (XPD), ERCC1 ve XRCC3 genlerinin araştırıldığı, sigara içenler ve içmeyenler olarak değerlendirilen 430 Folliküler lenfoma ve 605 kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada, ERCC2 ve ERCC1 gen polimorfizmlerinin hastalıkla ilişkisinin bulunmadığı ancak sigara içen Folliküler lenfomalı hastalar ile XRCC3 gen varyasyonlarının hastalık ile ilişkisinin olabileceği belirtilmiştir (125).

Çalışmamızda araştırmaya alınan 63 olguda, XPD kodon 751 gen polimorfizmi dağılımı AA: 27(%42.8), AC: 25(%39.7), CC: 11(%17.5) olarak tespit edilmiş olup, hem kontrol hemde hasta gruplarında HWE'den sapma tespit edilmedi. MM hasta grubu (P=0.12) ile kontrol grubu (P=0.22) arasında genotip ve allel sıklığı açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Ayrıca hastaların klinik özellikleri incelendiğinde paraprotein tipi, hastalık evresi,  $\beta$ 2MG düzeyi, performans durumu, sağ kalım oranları ve tedaviye verilen cevap arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi.

XRCC4, BER mekanizması alt grubunda bulunan bir DNA tamir genidir. XRCC4 gen polimorfizmi ile ilgili sınırlı sayıda bilgi bulunmaktadır, bu konu ile ilgili en geniş araştırmalar Tayvan'lı araştırmacılar tarafından gerçekleştirilmiştir. Chiu ve arkadaşlarının Tayvan popülasyonunda yaptıkları bir çalışmada XRCC4 gen polimorfizmleri ile gastrik kanser arasındaki ilişki araştırılmış olup XRCC4 G-1394T gen polimorfizmlerinden G/G ve G/T gen polimorfizmleri ile gastrik kanser arasında ilişki bulunmayıp, T/T gen polimorfizmi ile gastrik kanser arasında artmış bir ilişki olduğu tespit edilmiş. Ayrıca XRCC4 codon 247, intron3 ve intron7 gen polimorfizmlerinin gastrik kanser ile bir ilişkisi olmadığı belirtilmiştir (126). Chiu ve arkadaşlarının XRCC4 gen polimorfizmleri ile oral kanser arasındaki ilişkiyi incelemişler ve XRCC4 intron3 ins / ins gen polimorfizmi ile Oral kanser arasında artmış bir risk ilişkisi olduğunu bulmuşlardır (127).

XRCC4 geni ile lenfoproliferatif sistem arasındaki ilişki incelendiğinde, B hücrelerinin gelişim döneminde farklı tipte immünglobulin sentezlenmesi amacı ile oluşturulan genetik farklılaşma esnasında oluşan DNA çift zincir kırıklarının B hücreli lösemi ve lenfomaların gelişiminde çok önemli olduğu belirtilmekte ve özellikle bu rekombinasyon esnasında oluşan hasarlarında XRCC4 geni tarafınca düzeltildiği belirtilmektedir (108,109). Literatürdeki nadir çalışmalardan olan, Hayden ve arkadaşlarının yapmış oldukları MM'lı hastalarda DNA tamir genlerinden XRCC3, XRCC4 ve XRCC5 polimorfizmlerinin araştırıldığı 307 hasta ve 263 kontrol grubu arasındaki incelemede, tek nükleotit polimorfizmleri (SNP) incelenmiş ve rs963248 numaralı SNP'de A allelinin ( $p=0.0133$ ) ve AA genotipinin ( $p=0.026$ ) hasta grubunda kontrol grubuna göre belirgin derecede arttığı belirtilmiştir, bu durumda MM'ya yatkınlığı arttırdığını belirtilmişlerdir (128).

Çalışmamızda araştırmaya alınan 63 olguda XRCC4intron3 gen polimorfizmi dağılımı, DD: 1(%1.6), DI: 38(%60.3), II: 24(%38.1) olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda HWE'den sapma gözlenmezken, MM hasta grubunda HWE'den sapma belirlenmiştir ( $p=0.001$ ). Hasta grubu ile kontrol grubu genotip ve allel frekansları açısından incelendiğinde D allelinin hasta grubunda sağlıklı gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu ( $p=0.03$ ), genotip sıklığı açısından ise DD genotipi ile ID ve II genotipleri karşılaştırıldığında hasta grubunda sağlıklı gruba göre DD genotipinin anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durumda D alleli ve DD geotipinin azalması ile MM ya yatkınlığın arttığı söylenebilir.

Araştırmamızda hasta grubunda XRRC4 gen polimorfizmi dağılımı, TT:14(%22.2), TG:29(%46.0), GG:20(%31.2) olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda HWE'den sapma gözlenirken ( $P=0.043$ ), hasta grubunda HWE'den sapma gözlenmemiştir. Hematolojik malignitesi olmayan sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, allel frekansı açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı ( $p=0.52$ ) tespit edildi. Genotip sıklığı açısından ise TT genotipinin TG + GG genotipi ile karşılaştırılması sonucu hasta grubunda TT genotipinin kontrol grubuna göre düşük olduğu ( $p=0.04$ ) tespit edildi. Bu durumda TT genotipinin azalması ile MM'ya yatkınlığın arttığı söylenebilir.

Hastaların klinik özellikleri incelendiğinde, paraprotein tipi,  $\beta$ 2MG düzeyi, performans durumu, evre, sağkalım ve tedaviye verilen cevap ile XRCC4 intron3 ve XRCC4 gen polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi.

Sonuç olarak; bu çalışma ile BER-DNA tamir sisteminde görevli XRCC1 ve XRCC4, NER-DNA tamir sisteminde görevli XRCC2(XPD) genlerine ait toplam 4 farklı polimorfizm MM'da birlikte çalışılmış ve değerlendirilmiştir. XRCC1-399 ve XPD-751 gen bölgelerinin polimorfizmleri MM hastalarında anlamlı bulunmamakla birlikte söz konusu genlerin farklı lokusları MM patogenezi ile ilişkili olabilir. MM'lı hastalarda XRCC4 intron3 gen polimorfizminde D allelinin ve DD genotipinin düşük olduğunu, ayrıca XRCC4 gen polimorfizminde ise TT genotipinin düşük olduğunu tespit ettik. Kontrol grubunda XRCC4 intron3 gen polimorfizminde D alelinin ve XRCC4 gen polimorfizmindeki TT genotipinin multipl myelom hastalarına göre yüksek bulunması tümöre karşı koruyucu bir mekanizma olabilir. Tüm bu veriler DNA tamir proteinlerini kodlayan genlerdeki varyasyonların diğer maligniteler gibi multipl myelomaya da yatkınlığı arttırdığı hipotezine katkı sağlamaktadır.

Çalışmamız pub med veri tabanına Multipl myeloma, XPD, XRCC1, XRCC4 anahtar kelimeleri ile girildiğinde XRCC1-399 ve XPD-751 gen plimorfizmleri ile multipl myelom arasındaki ilişkiyi inceleyen literatürdeki ilk çalışmadır. XRCC4 polimorfizmleri ile multipl myelom arasındaki ilişkiyi inceleyen Türkiye de yapılmış olan ilk çalışma olmasının yanında literatürde de bu konuda yapılmış olan az sayıdaki çalışmalardan biridir. Bu çalışmaların sonucunda DNA onarım kapasitesinin değişmesine neden olan fonksiyonel polimorfizmlerin belirlenmesi MM etiyolojisi, riski ve tedavisine verilen yanıtta önemli olacaktır, ayrıca çeşitli kanser türlerinde çalışmalar yapılarak insanların DNA hasarlarına neden olan iyonize radyasyon, UV ve alkilleyici mutajenlerden korunması yönünde bilgilendirilmesi açısından faydalı olacaktır. DNA tamir gen polimorfizmleri ile MM arasındaki ilişkiyi inceleyen daha geniş çaplı ve daha fazla hasta sayısına sahip çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Rajewsky MF, Engelbergs J, Thomale J, Schweer T. DNA repair: counteragent in mutagenesis and carcinogenesis- accomplice in cancer therapy resistance. *Mutat Res* 2000;462:101-105.
2. Runger TM, Emmert S, Schadendorf D, Diem C, Epe B, Hellfritsch D. Alterations of DNA repair in melanoma cell lines resistant to cisplatin, fotemustine, or etoposide. *J Investig Dermatol* 2000;114:34-39.
3. Taylor AMR, Metcalfe JA, Thick J, Mak YE. Leukemia and lymphoma in ataxia telangiectasia. *Blood* 1996;87:423-438.
4. Auerbach AD, Allan RG. Leukemia and preleukemia in Fanconi anemia patients: a review of literature and report of the International Fanconi Anemia Registry. *Cancer Genet Cytogenet* 1991;51:1-12.
5. Shen MR, Jones IM, Mohrenweiser H. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans. *Cancer Res* 1998;58:604-608.
6. Lunn RM, Helzlsouer KJ, Parshad R. XPD polymorphisms: effects on DNA repair proficiency. *Carcinogenesis* 2000;21:551-555.
7. Liang G, Xing D, Miao X, Tan W, Yu C, Lu W, et al. Sequence variations in the DNA repair gene XPD and risk of lung cancer in a Chinese population. *Int J Cancer* 2003;105:669-673.
8. Vogel U, Hedayati M, Dybdahl M, Grossman L, Nexø BA. Polymorphisms of the DNA repair gene XPD: correlations with risk of basal cell carcinoma revisited. *Carcinogenesis* 2001;22:899-904.



9. Thompson LH, West MG. XRCC1 keeps DNA from getting stranded. *Mutat Res* 2000;459:1-18.
10. Yu MW, Yang SY, Pan IJ, Lin CL, Liu CJ, Liaw YF, et al. Polymorphisms in XRCC1 and glutathione S-transferase genes and hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1485-1488.
11. Smith TR, Levine EA, Perrier ND, Miller MS, Freimanis RI, Lohman K, et al. DNA-repair genetic polymorphisms and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:1200-4.
12. Varzim G, Monteiro E, Silva RA, Fernandes J, Lopes C. CYP1A1 and XRCC1 gene polymorphisms in SCC of the larynx. *Eur J Cancer Prev* 2003;12:495-499.
13. Shanafelt TD, Geyer SM, Kay NE. Prognosis at diagnosis: integrating molecular biologic insights into clinical practice for patients with CLL. *Blood* 2004;103:1202-1210.
14. Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *N Engl J Med* 2004;351:1860-1873.
15. Rajkumar SV, Kyle RA. Plasma cell disorders. In: Goldman L, Ausiello D. (eds.), *Cecil Textbook of Medicine*, 23rd ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2007;1426-1437.
16. Ishida T, Dorfman HD. Plasma cell myeloma in unusually in young patients: a report two cases and review of the literature. *Skeletal Radiol* 1995;24:47-51.
17. Howe HL, Wingo PA, Thun MJ, Reis LA, Rosenberg HM, Feigal EG, et al. Annual report to the nation on the status of cancer (1973 through 1998), featuring cancers with recent increasing trends. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:824-842.

18. Shimizu Y, Kato H, Schull WJ. Studies of the mortality of A-bomb survivors. 9. Mortality, 1950-1985: Part 2. Cancer mortality based on the recently revised doses (DS86). *Radiat Res* 1990;121:120-141.
19. Brown LM, Gridley G, Pottern LM. Diet and nutrition as risk factors for multiple myeloma among blacks and whites in the United States. *Cancer Causes Control* 2001;12:117-125.
20. Wong O, Raabe GK. A critical review of cancer epidemiology in the petroleum industry, with a meta analysis of a combined database of more than 350,000 workers. *Regul Toxicol Pharmacol* 2000;32:78-98.
21. Siemiatycki J. *Risk Factors for Cancer in the Workplace*. Boca Raton, Florida. CRC Pres,1991.
22. Konrad RJ, Kricka LJ, Goodman DB, Goldman J, Siberstein LE. Brief report: Myeloma associated paraprotein directed against the 1-III-1p24 antigen in an HIV seropositive patient. *N Engl J Med* 1993;328:1817-1819.
23. Lichtenstein A, Tu Y, Fady C. Interleukin-6 inhibits apoptosis of malignant plasma cells. *Cell Immunol* 1995;162:248-255.
24. Isomaki HA, Hakulinen T, Joutsenlahti U. Excess risk of lymphomas, leukemia and multiple myeloma in patient with rheumatoid arthritis. *J Chron Dis* 1978;31:691-696.
25. Sileri B, Powles R. Multiple Myeloma. *Lancet* 2004;363:875-887.
26. Klein B, Zhang XG, Jourdan M, Content J, Houssiau F, Aarden L, et al. Paracrine rather than autocrine regulation of myeloma-cell growth and differentiation by interleukin-6. *Blood* 1989;73:517-526.

27. Solary E, Guiguet M, Zeller V, Casasnovas RO, Caillot D, Chavanet P, et al. Radioimmunoassay for the measurement of serum IL-6 and its correlation with tumor cell mass parameters in multiple myeloma. *Am J Hematol* 1992;36:163-171.
28. Aydın Y, Başlar Z, Apak H. Hematolojik Maliniteler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, İstanbul: Cerrahpaşa Yayın Evi No:45: sayfa. 249-262.
29. Hideshima T, Bergsagel PL, Kuehl WM, Anderson KC. Advances in biology of multiple myeloma: clinical application. *Blood* 2004;104:607-618.
30. Marcela O, Aruna M, Mohamad AH, and Alexandru A. Apoptosis of Multiple Myeloma. *Int J Hematol* 2004;80:224–231.
31. Magrangeas F, Lode L, Willeme S, Minvielle S, Avet-Loiseau H. Genetic heterogeneity in multiple myeloma. *Leukemia* 2005;19:191–194.
32. Portier M, Moles JP, Mazars GR, Jeanteur P, Bataille R, Klein B, et al. P53 and RAS gene mutations in multiple myeloma. *Oncogene* 1992;7:2539-2543.
33. Van Camp B, Durõe BG, Spier C. Plasma cells in multiple myeloma express a natural killer cell associated antigen: CD56(NKH-1; Leu-19). *Blood* 1990;76:377-382.
34. King MA, Nelson DS. Tumor cell heterogeneity in multiple myeloma: antigenic, morphologic and functional studies of cells from blood and bone marrow. *Blood* 1989;73:1925-1935.
35. Lai R, Mederios LJ, Wilson CS. Expression of cell cycle related proteins E2F-1, p53, mdm-2, p21waf-1 and Ki-67 in multiple myeloma: correlation with cyclin-D1 immunoreactivity. *Mod Pathol* 1998;11:642-647.

36. Berenson JR, Myeloma bone disease. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;18:653-672.
37. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2003;78:21–33.
38. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligands is cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-176.
39. Clark AD, Shetty A, Soutar R. Renal failure and multiple myeloma. Pathogenesis and treatment of renal failure and management of underlying myeloma. *Blood* 1999;13:79–90.
40. Buxbaum J. Mechanisms of disease: monoklonal immunoglobulin deposition: Amyloidosis, light chain deposition disease, and light and heavy chain deposition disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6:323-346.
41. Blade J, Rosinol L. Renal, hematologic and infectious complications in multiple myeloma. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;18:635-652.
42. Augustson BM, Begum G, Dunn JA, Barth NJ, Davies F, Morgan G, et al. Early mortality after diagnosis of multiple myeloma: Analysis of patients entered onto the United kingdom medical research council trials between 1980 and 2002—Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party. *J Clin Oncol* 2005;23:9219–9226.
43. Kelleher P, Chapel H. Infections: principles of prevention and therapy. In: Metha J & Singhal S (Eds.). *Myeloma*, London: Martin Dunitz Ltd; 2002:223-239.
44. Oken MM. Multiple myeloma. *Med Clin North Am* 1984;68:763-764.

45. Perri RT, Oken MM, Kay NE. Enhanced T-cell suppression is directed toward sensitive circulatory B cells in multiple myeloma. *J Lab Clin Med* 1982;99:512-519.
46. Oyajobi BO, Mundy GR. Pathophysiology of myeloma bone disease. In: Gahrton G, Durie BGM, Samson DS. editor. *Multiple Myeloma and Related Disorders*. 2. London, UK: Arnold 2004:74–88.
47. Kyle RA. Multiple myeloma: review of 869 cases. *Mayo Clin Proc* 1975;50:29–40.
48. Dispenzieri A, Kyle RA. Neurological aspects of multiple myeloma and related disorders. *Best Pract. Res Clin Haematol* 2005;18:673-688.
49. Pollard JD, Young GAR. Neurology and the bone marrow. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*.1997;63:706-717.
50. Denier C, Lozeron P, Adams D, Decaudin D, Isnard-Grivau F, Lacroix C, et al. Multifocal neuropathy due to plasma cell infiltration of peripheral nerves in multiple myeloma. *Neurology* 2006;66:917-918.
51. Pollard JD, Young GAR. Neurology and the bone marrow. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;63:706-717.
52. Mileskin L, Prince HM. The troublesome toxicity of peripheral neuropathy with thalidomide. *Leuk Lymphoma* 2006;47:2276-2279.
53. Miguel JS, Blade J, Boccadoro M. Cavenagh J, Glasmacher A, Jagannath S, et al. A practical update on the use of bortezomib in the management of multiple myeloma. *Oncologist* 2006;11:51-61.
54. Mehta J, Singhal S. Hyperviscosity syndrome in plasma cell dyscrasias. *Semin Thromb Hemost* 2003;29:467-471.

55. Siami GA, Siami FS. Plasmapheresis and paraproteinemia: cryoprotein-induced diseases, monoclonal gammopathy, Waldenstrom's macroglobulinemia, hyperviscosity syndrome, multiple myeloma, light chain disease, and amyloidosis. *Ther Apher*. 1999;3:8-19.
56. Colwell NS, Tollefsen DM, Blinder MA. Identification of a monoclonal thrombin inhibitor associated with multiple myeloma and a severe bleeding disorder. *Br J Haematol* 1997;97:219–226.
57. Drach J, Ackerman J, Fritz E. Presence of p53 gene deletion in patients with multiple myeloma predicts for short survival after conventional dose chemotherapy. *Blood* 1998;92:802-809.
58. Gabriel DA, Muga K, Boothroyd FM. The effect of fibrin structure on fibrinolysis. *J Biol Chem* 1992;267:24259-24263.
59. Zangari M, Saghafifar F, Mehta P, Barlogie B, Fink L, Tricot G. The blood coagulation mechanism in multiple myeloma. *Semin Thromb Hemost* 2003;29:275-282.
60. Zangari M, Saghafifar F, Anaissie E, Badros A, Desikan R, Fassas A, et al. Activated protein C resistance in the absence of factor V Leiden mutation is a common finding in multiple myeloma and is associated with an increase risk of thrombo complications. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002;13:187-192.
61. Zonger JA, Thrombotic complications of myeloma therapy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006:348-355.
62. Fielder K, Durie BGM. Primary amyloidosis associated with multiple myeloma. *Am J Med* 1986;80:413-8.
63. Alexanian R, Fraschini G, Smith L. Amyloidosis in multiple myeloma or without apparent cause. *Arch Intern Med* 1984;144:2158-60.

64. Calasanz MJ, Cigudosa JC, Odero MD, Ferreira C, Ardanaz MT, Fraile A, et al. Cytogenetic analysis of 280 patients with multiple myeloma and related disorders: Primary breakpoints and clinical correlations. *Genes Chromosomes. Cancer* 1997;18:84-93.
65. Zandecki M, Lai IL, Facon T. Multiple Myeloma: Almost all patients are cytogenetically abnormal. *Br J Haematol* 1996;94:217-227.
66. Liebisch P, Dohner H. Cytogenetics and molecular cytogenetics in multiple myeloma. *Eur J Cancer* 2006;42:1520–1529.
67. Heim S, Mittleman F. *Cancer Cytogenetics*. 2. ed. New York: Wiles-liss; 1995.
68. Portier M, Molès JP, Mazars GR, Jeanteur P, Bataille R, Klein B, et al. P53 and RAS gene mutations in multiple myeloma. *Oncogene* 1992;7:2539.
69. Yochum TR, Rowe LJ. *Tumors and Tumorlike Processes; Essentials of Skeletal Radiology*. Baltimore: Williams & Wilkins.1996:1004-1013.
70. San Miguel ijf, Garcia-Sanz R, Gonzales M. Immunophenotype and DNA cell content in multiple myeloma. *Baillieres Clin Hematol* 1995;8:735-759.
71. Smith A, Wisloff F, Samson D. Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma. *Br J Hematol* 2005;132:410-455.
72. Bataille R, Grenier J. Serum beta 2 microglobulin in multiple myeloma. A Critical review. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987;23:1829.
73. Salmon SE, Dalton WS, Grogan TM, Plezia P, Lehnert M, Roe FJ, et al. Multidrug-resistan myeloma: Laboratory and clinical effects of verapamil as a chemosensitizer. *Blood* 1991;78:44-50.

74. Bataille R, Boccadora M, Klein B, Durie B, Pileri A. C-reactive protein and beta-2 microglobulin produce a simple and powerful myeloma staging system. *Blood* 1992;80:733-737.
75. Steensma DP, Gertz MA, Greipp PR, Kyle RA, Lacy MQ, Lust JA, et al. A high bone marrow plasma cell labeling index in stable plateau-phase multiple myeloma is a marker for early disease progression and death. *Blood* 2001;97(8):2522-3.
76. Greipp PR, Leong T, Bennett JM, Gaillard JP, Klein B, Stewart JA, 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;91:2501–2507.
77. Knowling M, Harwood A, Bergasagel D. Comparison of extramedullary plasmacytomas with solitary and multiple plasma cell tumors of bone. *J Clin Oncol* 1983;1:255-62.
78. Dimopoulos MA, Hamilos G. Solitary bone plasmacytoma and extramedullary plasmacytoma. *Curr Treat Options Oncol* 2002;3:255-259.
79. Rajkumar SV, Dispenzieri A, Fonseca R, ; Lacy MQ, Geyer S, Lust JA, et al. Thalidomide for previously untreated indolent or smoldering multiple myeloma. *Leukemia* 2001;15:1274-1276.
80. Soubrier MJ, Duobst JJ, Sauveze BJ and the French Study Group of 25 cases and a review of the literature. French Study Group on POEMS Syndrome. *Am J Med* 1994;97:543-53.
81. Odabaş AR. Amiloidozis ve Böbrek Tutulumu. *Türkiye Klinikleri J Nephrol* 2004;2(1):52-56.



82. Dimopoulos MA, Palumbo A, Delasalle KB, Alexanian A. Primary plasma cell leukemia. *Br J Haematol* 1994;88:754-759.
83. He Y, Wheatley K, Clark O, Glasmacher A, Ross H, Djulbegovic B. Early versus deferred treatment for early stage multiple myeloma. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;19:628-32.
84. Phekoo KJ, Schey SA, Richards MA, Bevan DH, Bell S, Gillett D, et al. A population study to define the incidence and survival of multiple myeloma in a National Health Service Region in UK. *Br J Haematol* 2004;127:299-304.
85. Combination chemotherapy versus melphalan plus prednisone as treatment for multiple myeloma: an overview of 6633 patients from 27 randomized trials. Myeloma Trialist's Collaborative Group. *J Clin Oncol* 1998;16:3822-3842.
86. Barosi G, Boccadoro M, Cavo M, Corradini P, Marchetti M, Massaia M. Management of multiple myeloma and related-disorders: guidelines from the Italian Society of Hematology (SIE), Italian Society of Experimental Hematology (SIES) and Italian Group for Bone Marrow Transplantation (GITMO). *Haematologica* 2004;89:717-741.
87. Smith A, Wisloff F, Samson D. On behalf of the UK Myeloma Forum, Nordic Myeloma Study Group and British Committee for Standards in Haematology. Department of Haematology, Southampton University Hospital NHS Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma 2005. *Br J Haematol* 2006;132:410-451.
88. Dispenzieri A, Rajkumar SV, Gertz M, Fonseca R, Lacy MQ, Bergsagel PL et al. Treatment of newly diagnosed multiple myeloma based on Mayo stratification of myeloma and risk- adapted therapy (mSMART): Consensus Statement. *Mayo Clin Proc* 2007;82:323-341.

89. Alexanian R, Barlogie B, Tucker S. VAD-based regimens as primary treatment for multiple myeloma. *Am J Hematol* 1990;33:86-89.
90. Rajkumar SV, Blood E, Vesole D, Fonseca R, Greipp PR. Phase III clinical trial of thalidomide plus dexamethasone compared with dexamethasone alone in newly diagnosed multiple myeloma: a clinical trial coordinated by the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2006;24:431-436.
91. Rajkumar SV, Hayman SR, Lacy MQ, Dispenzieri A, Geyer SM, Kabat B, et al. Combination therapy with lenalidomide plus dexamethasone (Rev/Dex) for newly diagnosed myeloma. *Blood* 2005;106:4050-4053.
92. Child JA, Morgan GJ, Davies FE, Owen RG, Bel SEI, Hawkins K, et al. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2003;348:1875-1883.
93. Femand JP, Ravaud P, Chevret S, Divine M, Leblond V, Belanger C. High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation in multiple myeloma: up-front or rescue treatment?. Results of a multicenter sequential randomized clinical trial. *Blood* 1998;92:3131-3136.
94. Berenson JR, Crowley JJ, Grogan TM, Zangmeister J, Briggs AD, Mills GM, et al. Maintenance therapy with alternate-day prednisone improves survival in multiple myeloma patients. *Blood* 2002;99:3163-3168.
95. Ludwig H, Fritz E. Interferon in multiple myeloma summary of treatment results and clinical implications. *Acta Oncol* 2000;39:815-821.
96. Brinker BT, Waller EK, Leong T, Heffner LT, Redei I, Langston AA, et al. Maintenance therapy with thalidomide improves overall survival after autologous hematopoietic progenitor cell transplantation for multiple myeloma. *Cancer* 2006;106:2171-2180.

97. Harousseau JL, Attal M, Leleu X, Troncy J, Pegourie B, Stoppa AM et al. Bortezomib plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of an IFM phase II study. *Haematologica* 2006;9:1498-1505.
98. Richards PG, Barlogie B, Berenson J, Singhal S, Jagannath S, Irwin DH. Extended follow-up of a phase II trial in relapsed, refractory multiple myeloma: final time-to-event results from the SUMMIT trial. *Cancer* 2006;106:1316-1319.
99. Singhal S, Mehta J, Desikan R, Ayer D, Roberson P, Eddlemon P et al. Anti-tumour activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *New Eng J Med* 1999;341:1565-1571.
100. Rajkumar SV, Hayman S, Gertz MA, Dispenzieri A, Lacy MQ, Greipp PR et al. Combination therapy with thalidomide plus dexamethasone for newly diagnosed myeloma. *J Clin Oncol* 2002;20:4319-4323.
101. Bohr VA. DNA repair fine structure and its relations to genomic instability. *Carcinogenesis* 1995;16:2885-2892.
102. Ferri KF, Kroemer G. Mitochondria-the suicide organelles. *BioEssays* 2001;23:111-115.
103. De Boer J, Hoeijmakers J. Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis* 2000;21:453-460.
104. Bohr VA. DNA repair fine structure and its relations to genomic instability. *Carcinogenesis*. 1995;16:2885-2892.
105. Caldecott KW, Aoufouchi S. And Shall S. XRCC1 polypeptide interacts with DNA polymerase and possibly poly (ADP-ribose) polymerase, and DNA Ligase III is a novel molecular "nick sensor" in vitro. *Nucleic Acid Res* 1996;24:4387-4397.

106. Hu JJ, Smith TR, Miller MS, Mohrenweiser HW, Golden A, Case LD. Amino acid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. *Carcinogenesis* 2001;22(6):917-22.
107. Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B. Mechanisms of human DNA repair: *Toxicology* 2003;193:3-34.
108. Critchlow SE, Bowater RP, Jackson SP. Mammalian DNA double-strand break repair protein XRCC4 interacts with DNA ligase IV. *Curr Biol* 1997;7:588-98.
109. Shanafelt TD, Geyer SM, Kay NE. Prognosis at diagnosis: integrating molecular biologic insights into clinical practice for patients with CLL. *Blood* 2004;103:1202-1210.
110. Park DJ, Stoehlmacher, Tsao-Wei D. A Xeroderma pigmentosum group D gene polymorphism predicts clinical outcome to platinum based chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Cancer Res* 2001;61:8654-8658.
111. Ye W, Kumar R, Bacova G, Lagergren J, Hemminki K, Nyrén O. The XPD 751Gln allele is associated with an increased risk for esophageal adenocarcinoma: a population-based case-control study in Sweden. *Carcinogenesis* 2006;27:1835-1841.
112. Krajcinovic M, Labuda D, Mathonnet G, Labuda M, Moghrabi A, Champagne J, et al. Polymorphisms in genes coding drugs and xenobiotic metabolizing enzymes, and response to treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res* 2002;8:802-810.
113. Ritchey JD, Huang WY, Chokkalingam AP, Gao YT, Deng J, Levine P, et al. Genetic variants of DNA repair genes and prostate cancer: a population -based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14:1703-1709.
114. Sak SC, Barrett JH, Paul AB, Bishop DT, Kiltie AE. DNA repair gene XRCC1 polymorphisms and bladder cancer risk. *BMC Genet* 2007;10:13-19.

115. Duell EJ, Millikan RC, Pittman GS, Winkel S, Lunn RM, Tse CK, et al. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:217-222.
116. Sobti RC, Singh J, Kaur P, Pachouri SS, Siddiqui EA, Bindra HS. XRCC1 codon 399 and ERCC2 codon 751 polymorphism, smoking, and drinking and risk of esophageal squamous cell carcinoma in a North Indian population. *Cancer Genet cytogenet* 2007;175:91-97.
117. Joseph T, Kusumakumary P, Chacko P, Abraham A, Pillai MR. DNA repair gene XRCC1 polymorphisms in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Letters* 2005;217:17-24.
118. Hill DA, Wang SS, Cerhan JR, Davis S, Cozen W, Severson RK, et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma (NHL) in relation to germline variation in DNA repair and related genes. *Blood* 2006;108:3161-3167.
119. Shen M, Purdue MP, Kricker A, Lan Q, Grulich AE, Vajdic CM, et al. Polymorphisms in DNA repair genes and risk of non-Hodgkin lymphoma in New South Wales, Australia. *Haematologica* 2007;92:1180-1185.
120. Matsuo K, Hamajima N, Suzuki R, Andoh M, Nakamura S, Seto M, et al. Lack of association between DNA base excision repair gene XRCC1 Gln399Arg polymorphism and risk of malignant lymphoma in Japan. *Cancer Genet Cytogenet* 2004;149:77-80.
121. Friedberg EC. How nucleotide excision repair protects against cancer, *Nat Rev Cancer* 2001;1:22-33.
122. Chen S, Tang D, Xue K, Xu L, Ma G, Hsu Y, et al. DNA repair gene XRCC1 and XPD polymorphisms and risk of lung cancer in a Chinese population. *Carcinogenesis* 2002;23:1321-1325.

123. Allan JM, Smith AG, Wheatley K, Hills RK, Travis LB, Hill DA, et al. Genetic variation in XPD predicts treatment outcome and risk of acute myeloid leukemia following chemotherapy. *Blood* 2004;104:3872-3877.
124. Mehta PA, Alonzo TA, Gerbing RB, Elliott JS, Wilke TA, Kennedy RJ, et al. XPD Lys751Gln polymorphism in the etiology and outcome of childhood acute myeloid leukemia: a Children's Oncology Group report. *Blood* 2006;107:39-45.
125. Smedby KE, Lindgren CM, Hjalgrim H, Humphreys K, Schollkopf C, Chang ET, et al. (2006) Variation in DNA repair genes ERCC2, XRCC1 and XRCC3 and risk of follicular lymphoma. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 2006;15:258–265.
126. Chiu CF, Wang CH, Wang CL, Lin CC, Hsu NY, Weng JR, et al. A Novel Single Nucleotide Polymorphism in XRCC4 Gene is Associated with Gastric Cancer Susceptibility in Taiwan. *Ann Surg Oncol* 2008;15:514–518.
127. Chiu CF, Tsai MH, Tseng HC, Wang CL, Wang CH, Wu CN, et al. A novel single nucleotide polymorphism in XRCC4 gene is associated with oral cancer susceptibility in Taiwanese patients. *Oral Oncol* 2008;44:898–902.
128. Hayden PJ, Tewari P, Morris WD, Staines A, Crowley D, Nieters A, et al. Variation in DNA repair genes XRCC3, XRCC4, XRCC5 and susceptibility to myeloma. *Human Molecular Genetics* 2007;16:3117-3127.