

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KÖK HÜCRE VE REJENERATİF TIP YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
KHÜ-2018-0001

OTOLOG NAKİL YAPILAN MULTİPL MYELOMALI
HASTALARDA GLUT-1 DÜZEYİNİN LÖKOSİT,
TROMBOSİT, ERİTROSİT ENGRAFMAN SÜRESİNE
ETKİSİ

Eylem AKKAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU

AYDIN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre ve Rejeneratif Tıp Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Eylem AKKAYA tarafından hazırlanan “Otolog Nakil Yapılan Multipl Myelomalı Hastalarda GLUT-1 Düzeyinin Lökosit, Trombosit, Eritrosit Engrafman Süresine Etkisi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora/Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10/08/2018

Üye (T.D.) : Prof. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU ADÜ

Üye : Prof. Dr. Kemal ERGİN ADÜ

Üye : Prof. Dr. Meltem KURUŞ İKÇÜ

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalıřmam sűresince bilgi birikimi ve deneyimleriyle tezimin ve eęitimimin her ařamasında destek saęlayan danıřman hocam Prof. Dr. İrfan YAVAŐOęLU'na teőekkűr ederim.

Deneysel alıřma, istatistiksel analiz konularında destek saęlayan ve eęitimimde emeęi geçen hocalarım Prof. Dr. Filiz ABACIGİL'e, Prof. Dr. Kemal Ergin'e, Prof. Dr. Ali Zahit BOLAMAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa YILMAZ'a ve çalıřmada emeęi geçen tűm arkadaşlara teőekkűr ederim.

Bugűne kadar her daim yanımda olan, sabır gűsteren ve benden manevi ve maddi desteęini hiçbir zaman esirgemeyen aileme teőekkűr ederim.

Tez çalıřmam sűresince bana her daim destek olan, tezimin tamamlanması konusunda katkı saęlayan Berkan BİBER'e teőekkűr ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Multipl Myelom ve Tarihçesine Kısa Bir Bakış.....	2
2.1.1. Epidemiyoloji	3
2.1.2. Etiyoloji	3
2.1.2.1. Sigara ve alkol	3
2.1.2.2. Diyet ve obezite	3
2.1.2.3. Hormonal faktörler	4
2.1.2.4. Çevre ve meslek.....	4
2.1.2.5. İyonize radyasyon.....	4
2.1.2.6. Aile öyküsü ve genetik	4
2.1.3. Patogenez.....	4
2.1.4. Klinik Bulgular	5
2.1.5. Tanı Kriterleri	5
2.1.6. Evreleme ve Prognostik Faktörler	6
2.1.7. Tedavi ve Yanıt	7
2.1.8. Tedavi Seçenekleri	8

2.2. Otolog Kök Hücre Nakli.....	11
2.3. GLUT 1.....	12
2.4. ELISA.....	13
2.5. Hematopoez.....	14
2.5.1. Eritrositler (Alyuvarlar).....	14
2.5.2. Lökositler (Akyuvarlar).....	15
2.5.3. Trombositler (Kan Pulcukları, Plateletler).....	15
2.6. Engrafman.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Hasta grupları ve Onam Süreçleri.....	17
3.2. Kullanılan Kitler, Cihazlar ve Araçlar.....	17
3.3. Yöntem.....	19
3.4. İstatistik Analiz.....	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	27
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	28
KAYNAKLAR.....	29
EKLER.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	35

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μl	: Mikrolitre
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
GLUT	: Glukoz taşıyıcı protein
Ig	: İmmünglobulin
IL-6	: İnterlokın 6
IMWG	: Uluslararası miyelom çalışma grubu
mL	: Mililitre
MM	: Multipl myelom
ng	: Nanogram
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Revize edilmiş Uluslararası Evreleme Sistemi (R-ISS) ve tedavi tipine göre genel sağkalım	7
Şekil 2. GLUT-1'e ait tipik standart eğri	23



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. DAR 800 Absorbance Microplate Reader	18
Resim 2. Yüksek hassasiyetli transfer pipeti.....	19
Resim 3. ELISA Protokolü	20
Resim 4. ELISA Protokolü	20
Resim 5. ELISA Protokolü	21
Resim 6. ELISA Protokolü	21
Resim 7. ELISA Protokolü	21
Resim 8. ELISA Protokolü	22
Resim 9. ELISA Protokolü	22
Resim 10. Stop solution eklendikten sonra örneklerde oluşan renk değişimi.....	23

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Tanı kriterleri ve bulgular.....	5
Tablo 2. Durie-Salmon evreleme sistemi.....	6
Tablo 3. Kit özellikleri.....	17
Tablo 4. Kit içeriği.....	17
Tablo 5. Cinsiyet değerleri.....	25
Tablo 6. Yaş, boy, kilo değerleri.....	25
Tablo 7. Hastalık alt tipleri	25
Tablo 8. Engrafman süreleri ve GLUT-1 düzeyi arasındaki ilişki.....	26

ÖZET

OTOLOG NAKİL YAPILAN MULTİPL MYELOMALI HASTALARDA GLUT-1 DÜZEYİNİN LÖKOSİT, TROMBOSİT, ERİTROSİT ENGRAFMAN SÜRESİNE ETKİSİ

Akkaya E. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre ve Rejeneratif Tıp Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2018.

Bu tez çalışmasında otolog nakil yapılan multipl myelomalı hastaların GLUT-1 düzeylerinin, nakilden sonra lökosit, trombosit, eritrosit engrafman sürelerine olan etkisini gözlemlemek amaçlanmaktadır.

Çalışma için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. Toplam 51 kök hücre ürünüde ayrıştırma yapıldı. Kök hücre ürünüdeki GLUT-1 düzeyleri ELISA testi ile belirlendi. Tüm bilgiler SPSS for Windows versiyon 19.0 modülüne girilerek istatistiksel analiz yapıldı.

Nötrofil yamalanması süresi ile GLUT-1 seviyesi arasında pozitif yönde ($p:0,004$) ilişki bulundu. Trombosit yamalanma süresi ile GLUT-1 seviyesi arasında korelasyon tespit edilmedi. Eritrositlerle ilgili herhangi bir engrafman tanımı bulunamadığı için eritrositlerin GLUT-1 ile ilişkisi değerlendirilemedi.

Anahtar Kelimeler: GLUT-1, Engrafman, ELISA.

ABSTRACT

THE EFFECT OF GLUT-1 LEVELS ON LEUKOCYTE, THROMBOCYTE, ERYTHROCYTE ENGRAFTMENT IN MYELOMA PATIENTS AT AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION

Akkaya E. Aydın Adnan Menderes University Graduate School of Health Sciences Stem Cell and Regenerative Medicine, Aydın, 2018.

We aimed to evaluate the effect of serum GLUT-1 levels leukocyte, thrombocyte, erythrocyte engraftment in myeloma patients during autologous stem cell transplantation.

The fifty one sample were included to the study. Adnan Menderes University Non-Interventional Ethical Commission approved the study. GLUT-1 levels at autologous stem cell harvest of patients with myeloma were determined by sandwich-ELISA procedure. The results were analysed with SPSS for Windows version 19.0 module.

Neutrophil and platelet engraftment occurred 15.6th and 18.6th day of autologous stem cell transplantation, respectively. There was a positive correlation between GLUT-1 level and neutrophil engraftment ($p:0,004$) and no correlation with thrombocyte engraftment. The association of erythrocytes with GLUT-1 could not be assessed because of the definition of an engraftment associated with erythrocytes.

Key words: GLUT-1, Engraftment, ELISA.

1. GİRİŞ

Glukoz taşıyıcı protein 1 (GLUT-1), kötücül hücrelerde fazla oranda ifadelenen ve hücre çoğalmasında görev alan bir proteindir.

Otolog (kendinden olan) kök hücre nakli, kişinin kendi kök hücrelerinin toplanarak dondurulup saklanması ve kemoterapi uygulamasından sonra kişiye geri verilmesi işlemidir.

Engrafman (yamalanma), ise nakil sonrasında lenfohematopoietik hücrelerinin alıcıda yerleşmesi ve yeni kan hücrelerinin oluşmasıdır.

Glikoz taşıyıcı protein ailesi üyelerinden biri olan GLUT-1, eritrositlerde en yüksek seviyede ifade edilen proteindir. İnsanlarda SLC2A1 geni tarafından kodlanır ve glikozun memeli hücrelerinin plazma membranlarından taşınmasını kolaylaştırır.

Glikoz taşıyıcı protein ailesi üyeleri ile ilgili daha önce yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların birinde GLUT-1'in meme kanseri ile ilişkisi ortaya konmuştur. Yapılan başka bir çalışmada ise multipl myelomada glikoz taşıyıcı protein ailesi üyelerinden olan GLUT-4, GLUT-8, GLUT-11'e yönelik terapiler araştırılmıştır. Tüm bu çalışmalar glikoz taşıyıcı protein ailesi üyelerinin insandaki kanser türleri üzerine etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Bu tez çalışmasında GLUT-1 in malign hastalıklarda ifade edilmesinden yola çıkarak otolog nakil yapılan hastaların GLUT-1 düzeylerinin, nakilden sonra lökosit, trombosit, eritrosit engrafman sürelerine olan etkisini gözlemlemek amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Multipl Myelom ve Tarihçesine Kısa Bir Bakış

Multipl myelom beyaz kan hücresi olan plazma hücrelerinde başlayan bir kanser türüdür. Normalde kemik iliğinde bulunan hücreler olan plazma hücrelerinden kaynaklanan bir kemik iliği kanseri tipidir.

Plazma hücreleri bağışıklık sisteminizin bir parçasıdır ve enfeksiyonla savaşmak için antikorlar üretirler. Myelomda ise normal plazma hücreleri yerini anormal plazma hücrelerine bırakır ve bu anormal plazma hücreleri “paraprotein” olarak bilinen ve faydalı bir işlevi olmayan tek bir antikor tipi üretir.

Myelom’da plazma hücrelerinin DNA’sı hasarlanarak malign veya kanserli hale gelmelerine yol açar. Bu anormal plazma hücreleri myelom hücreleri olarak bilinir ve myelom bir kitle veya tümör halinde bulunmaz. Bunun yerine, myelom hücreleri kemik iliği içinde normal olarak bölünmeye ve çoğalmaya devam ederler. Myelom, kemik iliğinin yetişkinlerde normal olarak aktif olduğu bölgeleri, yani omurga, kafatası, pelvis (leğen kemiği), göğüs kafesi, omuzlar ve kalçalar çevresindeki alanları tutar ve bu yüzden multipl myelom olarak adlandırılır (multipl = çoklu, birden çok).

Multipl myelomun farklı tipleri ve alt tipleri vardır. Bunlar, myelom hücreleri tarafından üretilen immünglobulin yani protein tipine bağlıdır. Her bir immünglobulin iki ağır zincirden ve iki hafif zincirden oluşmaktadır.

Ağır protein zincirleri G, A, D, E, M olmak üzere beş çeşittir.

Hafif zincirler ise hafif zincir, kappa (κ) ve lambda (λ) olmak üzere iki çeşittir. Multipl myelomun tiplendirilmesi hem ağır hem de hafif zincirleri tanımlamaktadır (Türk Hematoloji Derneği’nin web sitesinden ulaşılabilir).

İlk myelom olgu tanımlamaları “mollities and fragilitas ossium” (yumuşak ve kırılğan kemikler) olarak bildirilmiştir. Belgelere geçen ilk hasta 1845’te Londra’da Dr. William Macintyre tarafından teşhis edilmiştir. Dr. William Macintyre hastada olağan dışı bir idrar sorunu keşfetmiş ve Dr. Henry Bence Jones ise hastanın idrarında bulunan yabancı proteini araştırmaya başlamıştır. Kaynatıldığında çözünen ancak soğutulduğunda yeniden

Çöken bir idrar proteini Dr. Henry Bence Jones'un dikkatini çekmiştir ve bunlara "Bence Jones" hafif zincirleri adı verilmiştir. Bu araştırmaya dair sonuçlar ise 1848'te yayınlanmıştır (Kyle, 1991; 1996).

2.1.1. Epidemiyoloji

Multipl myelom bütün hematolojik kanserlerin %10-15'ini oluştururken, bütün kanserlerin %1'ini oluşturmaktadır.

Amerikan Kanser Derneği'nin 2010 verilerine göre dünya genelinde yaklaşık 230.000 kişi myelom ile yaşamaktadır. Bu insidans, ülkeden ülkeye değişir. En düşük rakam Çin'de < 1/100.000 iken sanayileşmiş çoğu batı ülkesinde yaklaşık 4/100.000'e kadar çıkmaktadır.

Cođrafik olarak görülme sıklığı farklılıklar gösterir. En yüksek insidans Avusturalya, Yeni Zelanda, Avrupa ve Kuzey Amerika'da iken en düşük insidans Japon veya Çin kökenli Amerika'lılara aittir (Coleman ve ark, 2008).

40 yaşında multipl myelom tanısı alan hasta oranı %2'dir ve hastaların %60'ına 60 yaş üzerinde konmaktadır (Morgan ve ark, 2002).

2.1.2. Etiyoloji

Multipl myelomun etiyojisinde birçok farklı alt başlık sıralamak mümkün olsa da yapılan çalışmaların az olması sebebiyle etiyojisi henüz net olarak anlaşılamamıştır.

2.1.2.1. Sigara ve alkol

Sigara ve multipl myelom ilişkisini araştıran çok sayıda çalışma yayınlanmış ve sonuçta multipl myelom ile sigara arasında ilişki olduğu kanısına varılmıştır fakat alkol alımı ile multipl myelom arasında bir ilişki bulunamamıştır (Tavani ve ark, 1997).

2.1.2.2. Diyet ve obezite

Yüksek sebze ve meyve içeren diyetlerin multipl myelom gelişiminde koruyucu olduğu söylenebilir. Obezitenin MM ile ilişkisi konusunda çelişkili sonuçlar bulunmakla beraber henüz bu konuda kesin bir hüküm verilmemiştir.

2.1.2.3. Hormonal faktörler

Multipl myelom erkeklerde kadınlardan daha fazla görüldüğü için hormonal faktörlerin MM etiyojisinde rol oynayabileceği düşünülmüştür fakat myelom ile hormon faktörleri arasında bir ilişki kurulamamıştır.

2.1.2.4. Çevre ve meslek

Çevresel veya işle ilgili olarak maruz kalınan toksik kimyasallar ile MM arasında pozitif bir ilişki olduğu yapılan çalışmalarla netlik kazanmıştır. Örneğin; İsveçli 140,208 erkek çiftçide yapılan bir çalışmada MM insidansında belirgin artış saptanmıştır (Kristensen ve ark, 1996).

2.1.2.5. İyonize radyasyon

Genel olarak literatüre bakacak olursak MM ile iyonize radyasyon arasında bir ilişki olduğu görülmektedir. Örneğin; ikinci dünya savaşında atom bombası sonrası kurtulan Japonlarda, yüksek doz radyoterapi alan kişilerde ve radyasyona maruz kalan meslek gruplarında MM insidansının yüksek olduğu saptanmıştır (Lewis EB, 1963).

2.1.2.6. Aile öyküsü ve genetik

Genetik olarak t (11; 14), t(14; 18), t(8; 14); 13q del kaynaklı olan multipl myelom ile ilgili bazı çalışmalarda ailede multipl myelom öyküsü olan kişilerde risk artışı olduğuna dair bulgular bulunmakta iken çeşitli ırklarda yapılan değişik çalışmalarda farklı sonuçlar da bildirilmiştir (Hemminki ve ark, 2004).

2.1.3. Patogenez

Myelom plazma hücreleri germinal merkez veya post germinal merkez kaynaklı hücrelerdir (Raab ve ark, 2009). Myelom plazma hücreleri için en önemli büyüme faktörü ve antiapoptotik faktör interlökin-6'dır (Roodman ve ark, 2009). Birçok myelom hücresi CD56, very late antijen 4-5 (VLA 4-5) gibi adhezyon molekülleri de ekspres eder (Fauci ve ark, 2008; Raab ve ark, 2009).

Multipl myelom patogenezinde Cyclin-D ekspresyonunda artma, P16 ve P15 hipermutasyonu, Ras onkogen mutasyonu, P53 kaybı, C-myc over ekspresyonu gibi hücre siklus regülasyon değişiklikleri yanında kemik iliği mikroçevre ilişkileri de rol oynamaktadır (Raab ve ark, 2009).

2.1.4. Klinik Bulgular

Myelom birçok klinik bulguya sahip bir hastalıktır. En sık görülen belirtileri arasında;

- ✓ Kemik ve eklem ağrısı,
- ✓ Anemi, sedimantasyon yüksekliği,
- ✓ Patolojik kırıklar,
- ✓ Spinal kord kompresyonu,
- ✓ Nötropeni ve immün yetmezliğin tetiklediği enfeksiyonlar,
- ✓ Nörolojik semptomlar (hipervizkosite),
- ✓ Renal (myelom böbreği) yetmezlik bulunmaktadır.

2.1.5. Tanı Kriterleri

Uluslararası Myelom Çalışma Grubu verilerine göre multipl myelomda tanı kriterleri ve bu kriterlere dair tanımlamalar Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Tanı kriterleri ve bulgular

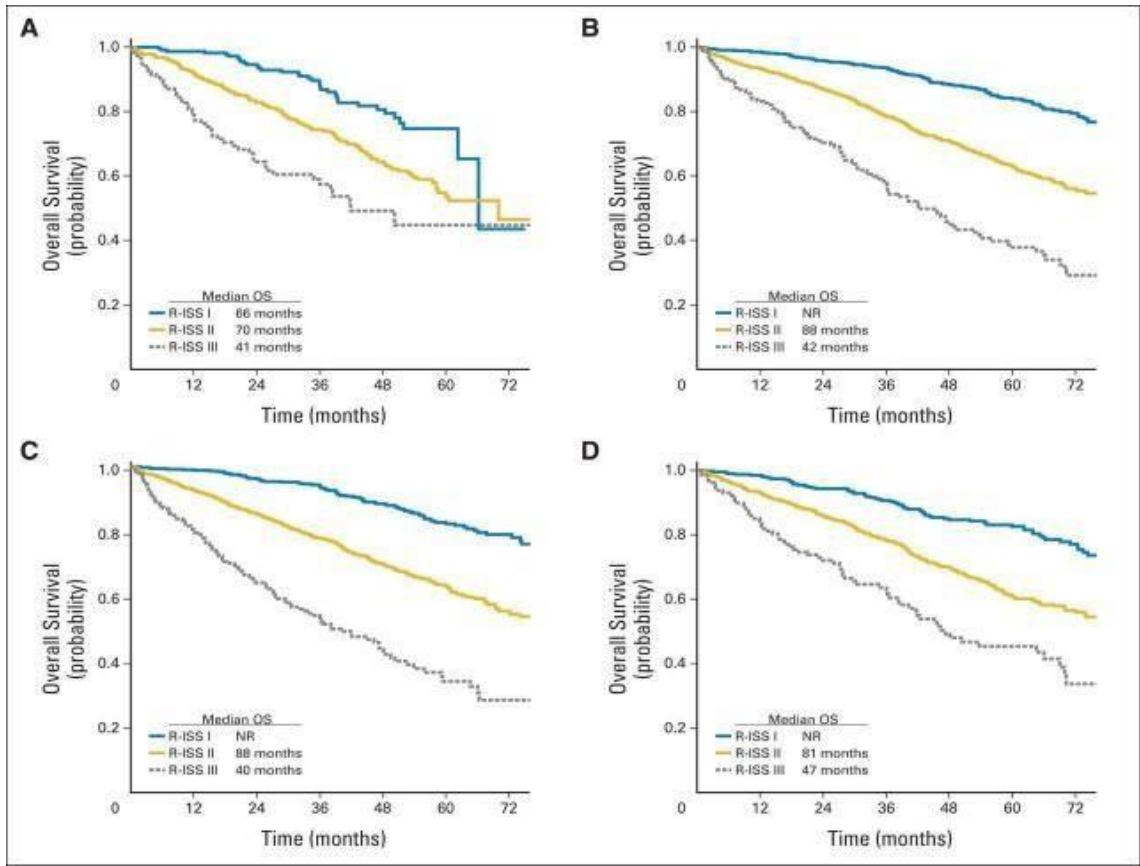
Monoklonal Protein	Serum ve/veya idrarda M protein bulunması
Kemik İliği Bulguları	% 60 veya üzeri klonal plazma hücreleri
Laktik Dehidrogenaz	Serum laktikdehidrogenaz (LDH) düzeyinin yüksek olması
Anemi	Hemoglobin değeri > 20g / L Veya hemoglobin değeri <100 g / L
Böbrek Yetersizliği	Kreatinin klerensi <40 mL / dakika veya serum kreatinin > 177 mol / L (> 2mg / dL)
Hiperkalsemi	Serum kalsiyum > 0.25 mmol / L (> 1mg / dL) veya > 2.75 mmol / L’den (> 11mg / dL)
Kemik Lezyonları	İskelet radyografisinde (CT veya PET / CT) bir veya daha fazla osteolitik lezyon
Beta2 Mikroglobulin	Tümör yükü ve böbrek yetersizliği ile doğrudan ilişkili
İmmunfenotipik Özellikler	CD 38+ ve CD 138+

2.1.6. Evreleme ve Prognostik Faktörler

Myelom hastalarında sağkalım oranları değişkenlik göstermektedir. Bu değişkenlik hem myelom hücre biyolojisinden hem de hastaya ait çeşitli faktörlerden kaynaklanmaktadır. 1975 yılında Durie ve Salmon tarafından ortaya konulan evreleme sistemi uzun süre en sık kullanılan evreleme sistemi olmuştur (Tablo 2). Bu sistem monoklonal proteinin tipi ve düzeyi, hemogloblin, kalsiyum düzeyi ve kemik lezyonlarının sayısı dikkate alınarak oluşturulmuştur (Durie ve Salmon, 1975). Modern tedaviye geçilmesi ile beraber bu prognostik belirteçlerin geçerliliği azalmıştır (Sirohi ve ark, 1999). Bu nedenle tüm dünyada 17 merkezden daha önce tedavi almamış 10.750 myelom hastasına dayanarak uluslararası evreleme sistemi geliştirilmiştir (Tablo 3) (Durie ve Salmon, 1975).

Tablo 2. Durie-Salmon evreleme sistemi

Evre 1 (Aşağıdakilerin hepsine sahip olan hastalar)
1. Hemogloblin >10g/dl
2. Serum kalsiyum: normal veya < 12 mg/dl
3. İskelet grafileri: normal veya tek soliter plazmasitom
4. Düşük M-komponent üretim hızı
a. IgG değeri <5 g/dl
b. IgA değeri <3 g/dl
c. İdrarda hafif-zincir <4g/24 saat
Evre 2
Evre I'e de evre III'e de uymayan hastalar
Evre 3 (Aşağıdakilerden herhangi birine sahip olan hastalar)
1. Hemogloblin <8,5g/dl
2. Serum kalsiyum >12mg/dl
3. Yaygın litik kemik lezyonları
4. Yüksek M komponent üretim hızı
a. IgG değeri >7 g/dl
b. IgA değeri >5 g/dl
c. İdrarda hafif zincir >12g/24 saat



Şekil 1. Revize edilmiş Uluslararası Evreleme Sistemi (R-ISS) ve tedavi tipine göre genel sağkalım (Palumbo ve ark, 2015)

- (A) Transplantasyon yapılmayanlarda genel sağkalım
- (B) Transplantasyon temelli tedavilerde genel sağkalım
- (C) İmmünomodülatör temelli tedavi rejimlerinde genel sağkalım
- (D) Proteozom inhibitör temelli tedavi rejimlerinde genel sağkalım

2.1.7. Tedavi ve Yanıt

Multipl myelomun tedavi tarihçesi aşağıda verilmiştir.

- 1844- Multipl myelomun tanımlanması
- 1962- Melfalen ile ilk başarılı sonuç
- 1962- Melfalan ve prednizolon birlikte daha iyi sonuç
- 1964- Siklofosfamid ile benzer sonuçlar

- 1976-1992 -Kemoterapi ajanları kombinasyonları
- 1982- İlk ikiz kardeşten transplantasyon
- 1984- İlk VAD tedavisi
- 1990- Myeloablasyon +otolog / allojenik kök hücre transplantasyonu
- 1990- Pamidronat ve zolondronat ile destek tedavi
- 2000- Çift transplantasyon
- 2002- Bortezomib ile ilk bildiri (Kyle, 1991; 1996).

2.1.8. Tedavi Seçenekleri

- Kemoterapi
- Transplantasyon eşliğinde yüksek doz tedavi
- Radyoterapi
- İdame tedavisi
- Destek tedavisi
 - Eritropoietin,
 - Bifosfonatlar,
 - Antibiyotikler
 - Ağrı tedavisi
 - Büyüme faktörleri
 - Egzersiz
 - Acil tedavi
- İlaça dirençli ya da refrakter hastalığın tedavisi
- Yeni ve gelişmekte olan tedaviler
 - Talidomid ve lenalidomid
 - Bortezomid ve çalışma aşamasında olan yeni nesil proteasome inhibitörleri

- Adriyamisin infüzyonunun yerine doxil- trisenox ve çalışma aşamasında olan ZIO-101 Mini allo transplantasyon
- Çalışma aşamasında olan ve IL-6 ile VEGF'ı hedef alan ajanlar.

Yeni tanı multipl myelom hastalarında tedavi aşamasında önemli bir unsur, hastanın otolog kök hücre nakli adayı olup olmadığının tespit edilmesidir. Multipl myelomlu genç hastalarda standart tedavi olarak yüksek doz kemoterapi ve otolog kök hücre nakli uygulanmaktadır. Otolog kök hücre nakli ile tam remisyon oranı artmakta ve progresyonsuz ve tüm sağkalımı uzamaktadır. 65 yaşını geçmemiş hastalar için “Genç hasta” terimi kullanılmaktadır ve bu hastalarda performans durumu uygun ve organ fonksiyonları yeterli hastalara da otolog kök hücre nakli yapılabilmektedir. Tanı anında performans ve organ fonksiyonları kök hücre nakli için uygun olmayan hastaların bazılarında birkaç kür kemoterapi sonrası durumlarının düzeliş, nakil yapılabilecek duruma gelmesi muhtemeldir. Son yıllarda multipl myelom ile ilgili yeni ilaçların transplantasyonun gerekliliğini ortadan kaldırıp kaldırmadığı hakkında tartışmalar ortaya çıkmıştır fakat bu konuda yayınlanmış ve yayınlanacak bazı faz III çalışmalarında, yüksek doz melfalan ve otolog kök hücre naklinin üstünlüğü hala koruduğu görülmektedir (Ludwig ve ark, 2010).

Myelomda tedaviye yanıtın değerlendirilmesi oldukça karmaşık bir süreçten geçmiştir. Farklı grupların değişik kriterlere dayalı yanıt kriterleri özellikle klinik araştırmaların değerlendirmesini zora sokmuştur. Başlangıçta genellikle dört farklı grubun oluşturduğu yanıt kriterleri kullanılmıştır;

- Chronic Leukemia-Myeloma Task Force (CLMTF),
- Southwest Oncology Group (SWOG) (Alexanian ve ark, 1972),
- Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) (Oken ve ark, 1996)
- Autologous Blood and Marrow Transplant Registry and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR/ ABMTR) (Blade ve ark, 1998).

2006 senesinde Uluslararası Myelom Çalışma Grubu'nun oluşturduğu International Response Criteria (IRC), önceki tanımlamalara ek olarak serbest hafif zincir ölçümleri ile mükemmel tam yanıt (MTY) ve Intergroupe Français du Myeloma (IFM)'nin çok iyi kısmi yanıt kriterlerini (ÇİKY) de ekleyerek yanıt tanımlamalarını daha net hale getirmiştir.

Mükemmel Tam Yanıt (mTY); Tam yanıt kriterlerine ek olarak;

- Normal serbest hafif zincir oranı
- Kemik iliğinde immünohistokimya veya immünofloresan yöntemi ile klonal hücrelerin yokluğunun gösterilmesi

Tam Yanıt (TY);

- Serumda ve idrarda immünfiksasyon negatif
- Kemik iliğinde plazma hücreleri %5
- Yumuşak doku plazmositomları yok

Çok İyi Kısmi Yanıt (ÇİKY);

- Serum ve idrar M proteini elektroforezde yok ancak immünofiksasyonda saptanabiliyor
- Serum M proteininde %90 veya daha fazla azalma ve idrar M proteinin < 100 mg/24 saat olması

Kısmi Yanıt (KY);

- Serum M proteininde %50 azalma ve 24 saatlik idrar M proteinin % 90 azalması veya 200 mg/24 saat altına inmesi
- Serum veya idrar M proteinleri ölçülemiyorsa, M protein kriteri yerine serbest hafif zincirleri arasındaki farkta %50 azalma olması
- Serum veya idrar M proteinleri ölçülemiyorsa ve serum hafif zincirde ölçülemiyorsa
- M protein yerine bazal kemik iliği plazma hücresi oranının en az %30 olması kaydı ile plazma hücre oranında %50 azalma olması
- Başlangıçta varsa yumuşak doku plazmositomlarında %50 azalma (Sirohi ve ark, 1999; Davies ve ark, 2001).

2.2. Otolog Kök Hücre Nakli

65 yaşın altında veya performans durumu iyi olan 65 yaş üzerindeki hastalarda indüksiyon tedavisi sonrası için standart tedavi olarak otolog kök hücre destekli yüksek doz melfalan tedavisi önerilmektedir. Son 10 yıl içinde transplanta uygun olan hastaların indüksiyon tedavisinde önemli değişiklikler olmuştur. İmmünmodülatuvar ilaçların (IMiDs) ve bortezomibin kullanıma girmesinden önce en sık kullanılan yaklaşımlar tek ajan deksametazon ve Vinkristin Adriamisin Deksametazon iken sonrasında yapılan çalışmalarla İmmünmodülatuvar ilaçlar ve bortezomib kombinasyonlarının daha yüksek yanıt oranları ve progresyonsuz sağkalım süreleri ortaya koyduğu görülmüştür (Ludwig ve ark, 2010).

Otolog kök hücre nakli tam yanıt oranlarını artırmakta ve myelomda medyan tüm sağkalımı 12 ay uzatmaktadır (Attal ve ark, 1996; Kumar ve ark, 2003).

İmmünmodülatuvar ilaçlar ve bortezomib içeren indüksiyon tedavileri sayesinde yeni tanı myelom hastalarında daha önce öngörülemeyen çok iyi kısmi yanıt veya daha iyi yanıt oranları elde edilmiştir ve yüksek doz melfalan yanıt oranlarında artan bir iyileşme sağlamaya devam etmektedir (Kumar ve ark, 2009).

Otolog periferik kök hücre nakli için kullanılacak hücreler periferik kandan toplanır ve dondurulur. Dondurulduktan sonra nakil için kullanılır. Bu işleme kök hücre mobilizasyonu denir. Mobilizasyon için granülosit-stimüle edici faktör (G-CSF) yöntemi sıklıkla kullanılır. Toplama işlemine ancak periferik kanda lökosit miktarı en az $1,0 \times 10^9$ /L olduğu zaman başlanabilmektedir ve toplanan kök hücrelerin dondurularak saklanması gerekir. Nakil işlemi en geç 72 saat içinde yapılacaksa kök hücreler $+4^{\circ}\text{C}$ de saklanabilir fakat nakil daha geç bir zamanda yapılacaksa kök hücrelerin dondurularak saklanması gerekir. Böylece dondurulmuş hücrelerin uzun yıllar boyunca canlılık özelliklerini yitirmeden saklanabilmeleri sağlanmaktadır. Otolog nakil adayı hastanın nakil öncesi tüm hazırlıkları tamamlandıktan ve melfalandan bir gün sonra kök hücreler hastaya verilir. Dondurulmuş kök hücreler hastaya verilmeden önce benmari cihazında eritilir ve venöz katater aracılığıyla hastaya verilir. İnfüzyon 45 dakika ile 1 saat arasında tamamlanır (Çağırğan, 2005).

2.3. GLUT 1

Kolaylaştırılmış Glukoz Taşıyıcıları (GLUT) üyeleri, memeli hücrelerinde metabolizma için gerekli glukozun ekstraselüler ve intraselüler kompartmanlar arasında hareketini düzenleyen membran proteinleridir (Medina ve Owen, 2002).

İnsanlarda 14 farklı GLUT üyesi olduğu bildirilmiştir (Augustin, 2010).

GLUT ailesi proteinleri, karakteristik elementlerine ve sekans benzerliklerine göre üç alt sınıfa ayrılmıştır. Bunlar;

Sınıf I : GLUT-1, GLUT-2, GLUT-3, GLUT-4, GLUT-14 Sınıf II: GLUT-5, GLUT-7, GLUT-9, GLUT-11

Sınıf III: GLUT-6, GLUT-8, GLUT-10, GLUT-12, GLUT-13 tür (Joost ve Thorens, 2001; Joost ve ark, 2002).

GLUT-1; eritrositlerde, beyinde, böbrekte, kolonda ve plasentada bulunur. İnsülininden bağımsız çalışan glukoz taşıyıcısıdır ve beyine glukoz taşınmasını sağlar (Ibberson, 2002).

İnsanlarda SLC2A1 geni tarafından kodlanır (Mueckler ve ark, 1985).

Eritrositlerin glukoz taşıyıcısı (GLUT-1), 12 hidrofobik segmente sahiptir. GLUT-1'in ayrıntılı yapısı henüz bilinmemektedir, ancak, bir olası model çeşitli sarmallarının yan yana dizilerek bir transmembran ürettiğini göstermektedir.

GLUT-1'in hücre membranlarında ekspresyon seviyeleri azaltılmış glikoz seviyeleri ile artırılır ve artan glikoz seviyeleri ile azalır.

Yetişkinlerde en yüksek seviyede ifade edildiği yerler eritrositler ve kan-beyin bariyeri gibi bariyer dokularının endotel hücreleridir (Uldry ve Thorens, 2004).

GLUT-1 genindeki mutasyonlar, nadir otozomal dominant bir bozukluk olan GLUT-1 eksikliği veya De Vivo hastalığına sebep olmaktadır. Bu hastalık, kan-beyin bariyeri boyunca bozulmuş glukoz taşınmasından kaynaklanan bir nöroglükopeni türü olan düşük beyin omurilik sıvısı glikoz konsantrasyonu ile karakterizedir (Seidner ve ark, 1998).

Glikoz taşıyıcı protein ailesi üyeleri ile ilgili daha önce yapılan birçok çalışma

bulunmaktadır. Bu çalışmaların birinde GLUT-1'in meme kanseri ile ilişkisi ortaya konmuştur (Brown ve Wahl, 1993). Yapılan başka bir çalışmada ise multipl myelomda glukoz taşıyıcı protein ailesi üyelerinden olan GLUT-4, GLUT-8, GLUT-11'e yönelik terapiler araştırılmıştır (McBrayer ve ark, 2012). Tüm bu çalışmalar glikoz taşıyıcı protein ailesi üyelerinin insandaki kanser türleri üzerine etkisi olduğunu düşündürmektedir.

2.4. ELISA

Enzime bağlı immünosorban testi (ELISA), bir maddeyi tanımlamak için antikorları ve renk değişimini kullanan bir testtir.

ELISA kompleks bir teknik olmamasına rağmen bu teknikte birçok değişken kontrol edilmelidir. Kontrol edilmesi gereken değişkenler;

- Katı faz,
- Yıkama işlemleri,
- Kullanılan enzim ve substratların seçimi ve etkinliği,
- Reaksiyonların sonlandırılma zamanıdır.

Katı faz olarak çoğunlukla mikrotitrasyon plakları şeklinde plastik kullanılmaktadır (Abbas ve ark, 1997; Hendry ve Hermann, 1984).

ELISA'nın çeşitli varyantları bulunmaktadır. Bunlar;

- Direkt ELISA
- İndirekt ELISA
- Sandwich ELISA
- Kompetitif ELISA'dır.

Bizim bu çalışmada kullandığımız yöntem Sandviç ELISA yöntemidir. Sandviç ELISA, ELISA'nın az yaygın bir varyantıdır, ancak örnek antijen algılamada oldukça etkilidir. Sandviç ELISA, iki antikor tabakası arasındaki antijeni ölçmektedir. Sandviç ELISA sistemlerinde yakalama ve tespit antikorları olarak monoklonal veya poliklonal antikorlar kullanılabilir. Avantajı, numunenin analizden önce saflaştırılmasının gerekmemesi ve tahlilin çok hassas olmasıdır.

Sandviç ELISA yöntemi ;

1. Antikorlar mikrotitre kabının kuyucuklarının katı fazına immobilize edilir.
2. Sonrasında antijeni içeren örnek ilave edilir ve antijen-antikor kompleksinin oluşması beklenir.
3. Bağlanmamış proteinler yıkanarak uzaklaştırılır.
4. Enzim işaretli ikinci bir antikor (deteksiyon antikor), yakalama antikoruna bağlanmış antijene farklı bir epitopundan bağlanır.
5. Bağlanmayan deteksiyon antikorunun yıkama işlemi ile uzaklaştırılır ve ortama enzime ait substrat eklenir.
6. Substrat deteksiyon antikoruna bağlı enzimle reaksiyona girerek renk değişimine neden olur.
7. Oluşan renk değişimi spektrofotometre ile ölçülür (Coligan ve ark, 1994).

2.5. Hematopoez

Kan ve kan plazmasının tüm hücresel bileşenlerinin üretilmesine hematopoez denir. Hematopoez hematopoetik sistem içerisinde gerçekleşir. Hematopoetik sistem kemik iliği, karaciğer ve dalak gibi organları ve dokuları içerir.

Kan;

- Eritrositler,
- Lökositler,
- Trombositler olmak üzere 3 ana gruba ayrılır.

2.5.1. Eritrositler (Alyuvarlar)

Nukleus (çekirdek) içermeyen, hemoglobin ile dolu kan hücrelerine eritrosit denir. Eritrositlerin kırmızı renkte olması hemoglobinin demir içeriğinden kaynaklanır.

Fetal hayatın 3. ayından 5. ayına kadar eritrosit yapımı dalak ve karaciğerin

görevidir. Fetal hayatın yarısından sonra ise esas kan yapıcı organ olan kemik iliği tarafından üretilir ve hayat boyunca kemik iliğinde eritrosit üretimi devam eder.

Eritrositlerin en önemli görevi yapılarındaki hemogloblin sayesinde oksijen ve karbondioksiti taşımaktır.

2.5.2. Lökositler (Akyuvarlar)

Organizmayı bakterilere, virüslere, parazitlere ve tümörlere karşı savunan, savunma sistemi elemanlarına lökosit denir. Pigmentleri olmadığı için lökositler beyaz kan hücreleri yani alyuvar olarak da adlandırılırlar. Lökositler eritrositlerin aksine çekirdekli ve büyük yapıdadırlar.

Lökositlerin üretimi kemik iliği, lenf bezleri, dalak, timus, bademcik gibi lenfoid organlarda gerçekleşmektedir.

En önemli görevleri vücuda giren mikroorganizmaları, ölü doku artıklarını, yabancı partikülleri ya fagosite ederek ya da ürettikleri antikorlarla ve duyarlı lenfositlerle harap ederek ortadan kaldırmaya çalışmaktır.

Lökositler sitoplazmalarında granül olup olmamasına göre; granülositler ve agranülositler olarak iki gruba ayrılır.

Granülositler; nötrofil, eozinofil ve bazofiller olmak üzere üç çeşit iken agranulositler; monositler ve lenfositler olmak üzere iki çeşittir.

2.5.3. Trombositler (Kan Pulcukları, Plateletler)

Kan hücrelerinin en küçüğüdür ve kemik iliğinde üretilirler. Trombositler yenilenme süresi yaklaşık olarak 4 gündür. En önemli görevleri kanamanın durdurulmasını sağlamaktır. Trombositler yaralanmış damar yapısı ile karşılaşınca yapıları değişime uğrar, yüzeylerinde ışınal çıkıntılar oluşur ve yapışkanlaşır. Bunun sonucunda yaralı damar bölgesinde bir araya toplanarak bir tıkaç oluştururlar ve damar duvarındaki deliği kan akımını engellemeden tıkarlar. Ayrıca pıhtılaşma mekanizmasını başlatan tromboplastin enzimini üretirler.

2.6. Engrafman

Engrafman (yamalanma), nakil sonrasında lenfohematopoietik hücrelerinin alıcıda yerleşmesi ve yeni kan hücrelerinin oluşmasıdır.

Engrafman sağlanması, nakil sonrası erken dönemde greft fonksiyonunun değerlendirilmesi için göstergedir ve aşağıdaki kriterlerin oluşması ile gerçekleşir:

- Nötrofil engrafmanı: Parçalı nötrofil sayısının ardışık 3 gün $>500/\text{mm}^3$ olduğu ilk gün.
- Trombosit engrafmanı: 7 gün trombosit desteği olmadan trombosit sayısının ardışık gün $>20\ 000/\text{mm}^3$ ve bunu izleyen günlerde $>50\ 000/\text{mm}^3$ olduğu ilk gün

Engrafman süresi; nakil sonrası 7-21 gün arasında değişmektedir. 21 günü aştığında “engrafman gecikmesi” 40 günü aştığında ise “engrafman başarısızlığı” olarak değerlendirilir (Ali ve ark, 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta grupları ve Onam Süreçleri

Çalışma için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. Her hastaya çalışmaya katılmayı kabul ettiğine dair bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatıldı. Diyabeti ve vücut kitle endeksi ≥ 30 olan hastalar incelemeye alınmadı. 25'i (%49) erkek, 26'sı (%51) kadın olmak üzere toplam 51 hasta değerlendirildi.

3.2. Kullanılan Kitler, Cihazlar ve Araçlar

ELISA testi için E-EL-H1822 katalog numaralı Human GLUT-1 ELISA Kiti kullanıldı. Kit özellikleri ve kit içeriği Elabscience ait web sitesinden alınmıştır.

Tablo 3. Kit özellikleri

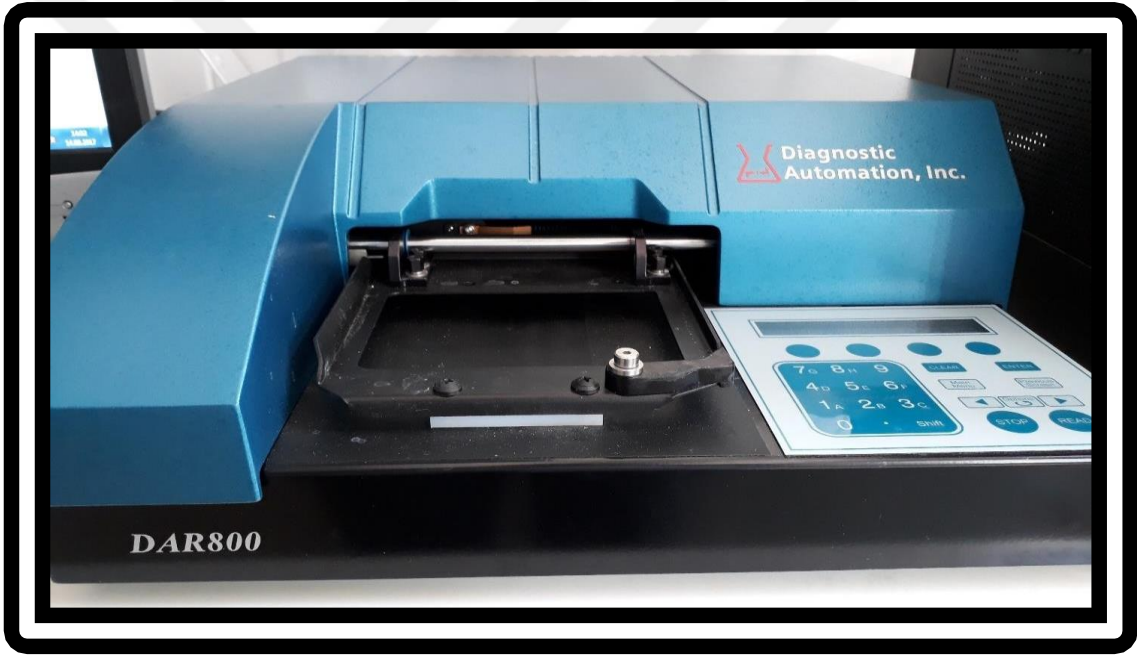
Test tipi	Sandviç ELISA
Çalışılabilir örnek sayısı	96
Test süresi	4.5 saat
Reaktivite	İnsan
Algılama Yöntemi	Renk ölçer
Algılama aralığı	0.16 - 10 ng / mL
Duyarlılık	0,10 ng / mL
Kuyucuk Başına Gereken Örnek Hacim	100 μ L
Örnek çeşitleri	Serum, plazma ve diğer biyolojik sıvılar

Tablo 4. Kit içeriği

Madde	Özellikler ve Miktar	Saklama Koşulları
Micro ELISA Plate (Dismountable)	8 wells \times 12 strips	-20°C, 6 months
Reference Standard	2 vials	
Concentrated Biotinylated Detection Ab (100 \times)	1 vial, 120 μ L	
Concentrated HRP Conjugate (100 \times)	1 vial, 120 μ L	-20°C(shading light), 6 months
Reference Standard & Sample Diluent	1 vial, 20 mL	4°C, 6 months
Biotinylated Detection Ab Diluent	1 vial, 14 mL	
HRP Conjugate Diluent	1 vial, 14 mL	
Concentrated Wash Buffer (25 \times)	1 vial, 30 mL	
Substrate Reagent	1 vial, 10 mL	4°C(shading light)
Stop Solution	1 vial, 10 mL	4°C
Plate Sealer	5 pieces	
Product Description	1 copy	
Certificate of Analysis	1 copy	

Kullanılan Cihazlar ve Diğer Malzemeler

- DAR 800 Absorbance Microplate Reader (ELISA testi için) (Resim 1)
- Yüksek hassasiyetli transfer pipeti ve tek kullanımlık pipet uçları (ELISA testi için) (Resim 2)
- İnkübatör (ELISA testi için)
- Distile su (ELISA testi için)
- Emici kağıt (ELISA testi için)
- Aferez cihazı (Örnek toplamak için)
- Biyokimya tüpleri (Örnek toplamak için)



Resim 1. DAR 800 Absorbance Microplate Reader (Fotoğraf Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama Laboratuvarı'ndan alınmıştır.)



Resim 2. Yüksek hassasiyetli transfer pipeti (Fotoğraf Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama Laboratuvarı'ndan alınmıştır.)

3.3. Yöntem

Kök Hücrelerin Toplanması

Bilgilendirilmiş gönüllü formunu imzalayarak çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan aferez kök hücre toplama yoluyla örnekler toplandı. Toplanan örneklerden elde edilen plazmalar biyokimya tüplerine aktarıldı ve steril koşullarda dondurularak -80 santigrat derecede ELISA testi için saklandı.

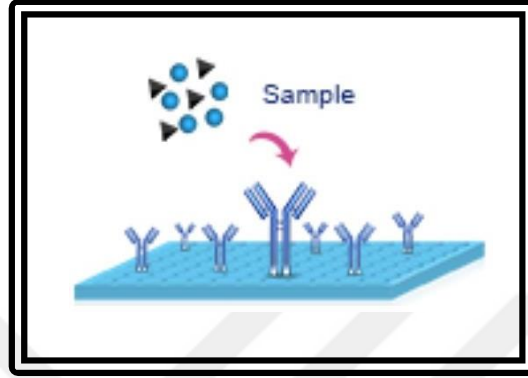
Aferez işlemi nedir?

Aferezde kan koldaki geniş bir damardan ya da bir merkezi venöz kateterden alınmaktadır. Çevre kanından kök hücrelerin toplanabilmesi için öncelikle kemik iliği içindeki kök hücrelerin çevre kanına çıkması gerekmektedir. Bunun için G-CSF (granülosit stimüle edici faktör) isimli bir ilaç uygulanır. G-CSF hastanede veya ayaktan uygulanabilmektedir. İlaç başladıktan 4 gün sonra kan sayımı ve kök hücre sayısı tayini yapılarak sonuçlar doğrultusunda yeterli kök hücre toplanabileceğinden emin olduğunda aferez işlemi ile kök hücreler toplanır. Aferez sırasında kişi herhangi bir ağrı ya da acı hissetmez ve kan alımı sonrası kısa süre içinde günlük yaşamına geri dönebilmektedir.

ELISA Testi

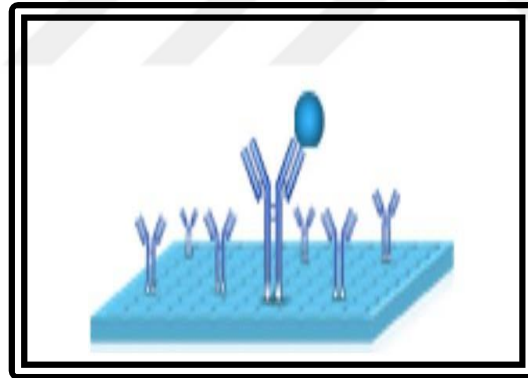
Bu çalışmada GLUT-1 testi için Human GLUT-1 (Glucose Transporter 1) ELISA Kit'i (katalog:E-EL-H1822); yöntem olarak ise Sandwich- ELISA yöntemi kullanıldı.

ELISA Protokolü Elabscience ait web sitesinden alınmıştır.



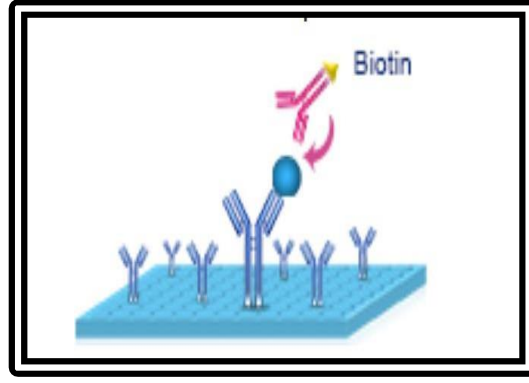
Resim 3. ELISA Protokolü

1)Her kuyucuğa örnek ya da standartlardan 100 μ L eklendi.



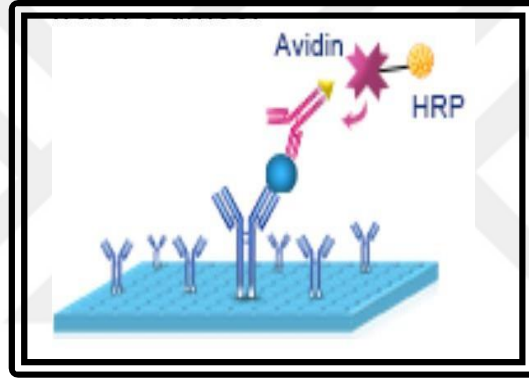
Resim 4. ELISA Protokolü

2)Daha sonra kuyucuklardaki örnek ve standartlar döküldü.



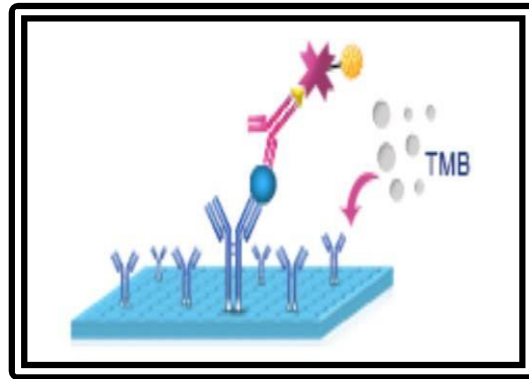
Resim 5. ELISA Protokolü

3)Her kuyucuğa 100 μ L Biotinylated Detection Ab eklendi. 37°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra aspire edildi ve 3 kez yıkama yapıldı.



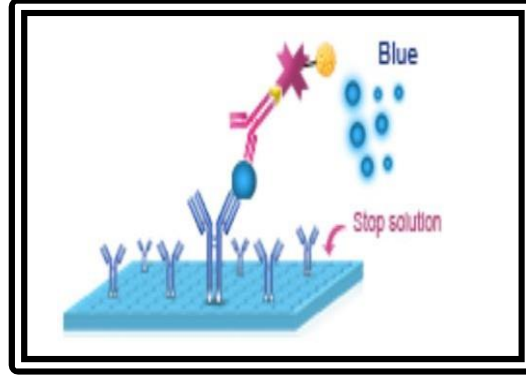
Resim 6. ELISA Protokolü

4)Sonrasında kuyucaklara100 μ L HRP Conjugate eklendi. 37°C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra aspire edildi ve 5 kez yıkama işlemi yapıldı.



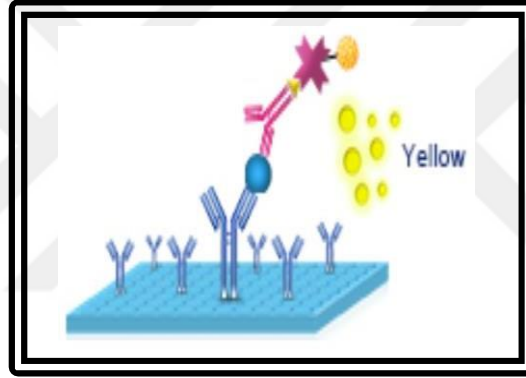
Resim 7. ELISA Protokolü

5) 90 μL substrat reaktifi eklendi. 37 $^{\circ}\text{C}$ 15 dakika inkübe edildi.



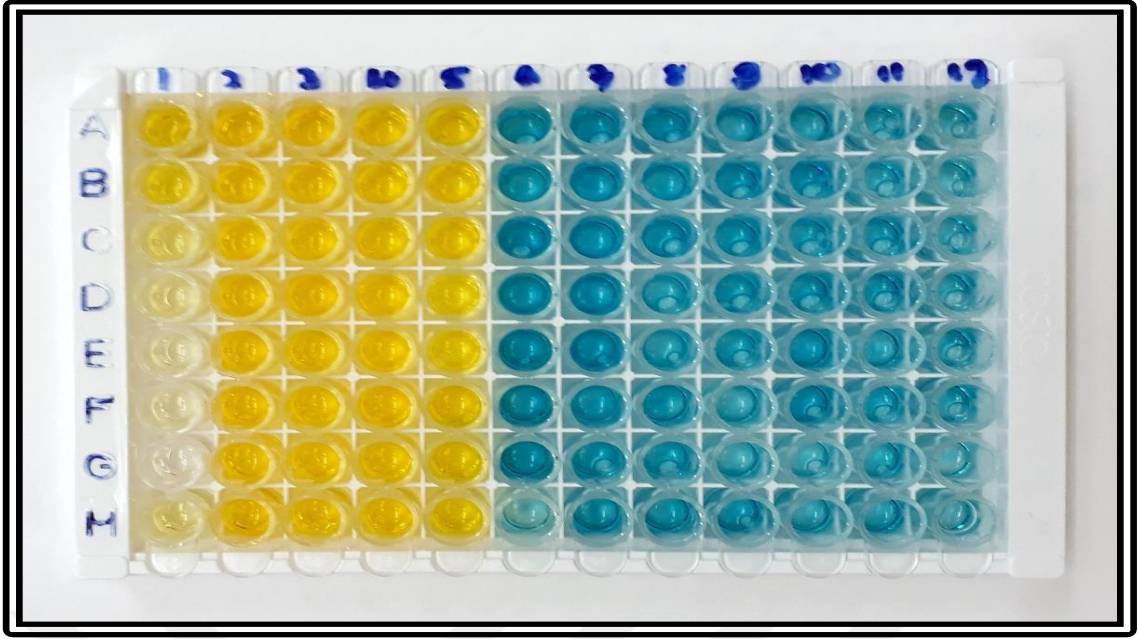
Resim 8. ELISA Protokolü

6) 50 μL stop solution eklendi.



Resim 9. ELISA Protokolü

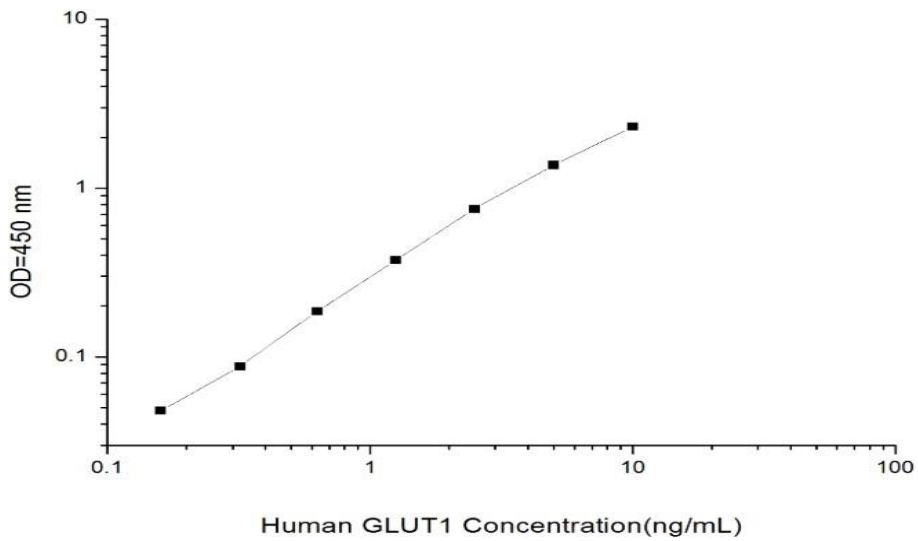
7) Stop solution eklendikten sonra örneklerde renk değişimi gözlemlendi (Resim1).



Resim 10. Stop solution eklendikten sonra örneklerde oluşan renk değişimi

Sonuçlar DAR 800 Absorbance Microplate Reader cihazında optik yoğunluk (OD) 450 nm \pm 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Standart eğrinin optik yoğunluk değerleri, gerçek tahlil performansının koşullarına (örneğin, pipetleme tekniği, yıkama tekniği veya sıcaklık etkileri) göre değişebileceğinden, her bir test için standart bir eğri oluşturmalıdır. Tipik standart eğri aşağıdaki gibidir (Şekil 2).



Şekil 2. GLUT-1'e ait tipik standart eğri (Elabscience ait web sitesinden alınmıştır.)

3.4. İstatistik Analiz

Hastaların rutin tıbbi değerlendirme ve izlem amaçlı yapılmış temel laboratuvar incelemeleri, raporları hastane otomasyon sisteminden ve hastaların hastanede kayıtlı dosyalarından elde edildi. Tüm bunlardan yola çıkılarak hastalara ait tüm veriler SPSS for Windows versiyon 19.0 modülüne girilerek istatistiksel analiz yapıldı.

SPSS modülüne girilen veriler;

- Cinsiyet
- Yaş
- Boy
- Kilo
- Hastalık alt tipleri
- Kan şekeri düzeyleri
- GLUT-1 düzeyleri
- Engrafman süreleri
- CD34 miktarları

4. BULGULAR

Hastaların tümünde vücut kitle endeksi 30'un altındaydı. Bu yüzden 51 hastanın tümü değerlendirilmeye alındı. Hastaların yaş, cinsiyet, boy ve kilo değerleri Tablo 5 ve 6'da gösterildi. 25'i (%49) erkek, 26'sı (%51) kadın olmak üzere toplam 51 hasta değerlendirildi. Yaş ortalaması 58 ± 9 (min.32- max.75) yıl olarak saptandı.

Tablo 5. Cinsiyet değerleri

	Frekans	Yüzde (%)	Kümülatif Yüzde
Erkek	25	49,0	49,0
Kadın	26	51,0	100,0
Total	51	100,0	

Tablo 6. Yaş, boy, kilo değerleri

	Yaş	Boy	Kilo
Geçerli veri (N)	51	51	51
Eksik veri(N)	0	0	0
Ortalama	58,0196	162,4902	73,4510
Standart sapma	9,41380	7,89778	11,04412

Hastaların 31'inin (%60.8) IgG kappa, 6'sının (%11.8) IgA lambda, 6'sının (%11.8) kappa hafif zincir, 5'inin (%9.8) IgG lambda, 3'ünün (%5.9) IgA kappa alt tipine sahip olduğu tespit edildi. (Tablo 7) Olguların 26'sı (%51) tam remisyonda; 25'i (%49) ise çok iyi kısmi yanıtta idi.

Tablo 7. Hastalık alt tipleri

Hastalık alt tipi	Hasta Sayısı (N)	Yüzde (%)
IgG kappa	31	60,8
IgA lambda	6	11,8
Kappa hafif zincir,	6	11,8
IgG lambda	5	9,8
IgA kappa	3	5,9
Total	51	100,0

Kan şekeri ortalaması 105 ± 12 mg/dl (min. 79- max.135) olarak saptandı. Ortalama GLUT-1 düzeyi ise 7.3 ± 2.3 ng/mL (min. 3.48- max.13.87) idi. Ortalama nötrofil ve trombosit yamalanma süreleri; nötrofil yamalanma süresi 15.6 ± 4.1 (min.8- max.22) gün olarak saptandı. Trombosit yamalanma süresi ise 18.6 ± 5.2 (min.11- max.30) gündü.

GLUT-1 toplanan üründe değerlendirildi. Nötrofil yamalanması süresi ile GLUT-1 seviyesi arasında pozitif yönde (p:0,004) ilişki bulundu. Bu pozitif yöndeki ilişki tam yanıt ve çok iyi kısmi yanıt gösteren hastalarda ayrı ayrı değerlendirildiğinde çok iyi kısmi yanıt hastalarda korelasyonun (p:0.0000) daha belirgin olduğu saptandı. Bu durum CD 34 miktarından bağımsızdı. Trombosit yamalanma süresi ile GLUT-1 seviyesi arasında korelasyon tespit edilmedi (Tablo 8).

Eritrositlerle ilgili herhangi bir engrafman tanımı bulunamadığı için eritrositlerin GLUT-1 ile ilişkisi tanımlamadı.

Tablo 8. Engrafman süreleri ve GLUT-1 düzeyi arasındaki ilişki

Parametre	Değer	GLUT-1 ile korelasyon
Nötrofil engrafmanı, gün	15.6±4.1	Pozitif, p:0.004
Trombosit engrafmanı, gün	18.6±5.2	Negatif

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada diyabeti ve vücut kitle endeksi ≥ 30 olan hastaların incelemeye alınmamış olması sonuçların etkilenmesini önlemiştir.

Çalışmamızda bazı metodolojik kısıtlılıklar bulunmaktadır. Bunlar örnek sayımızın az olması ve kontrol grubumuzun bulunmamasıdır. Kontrol gruplarının da içinde bulunduğu daha büyük hasta popülasyonu ile yapılacak çalışmalar ile sonuçlar doğrulanmalı ve ileri çalışmalarla pozitif yönde bulunan ilişkilerin ne şekilde gerçekleştiğine dair ipuçları araştırılmalıdır. Ayrıca myelomun farklı alt tiplerine sahip hastalarda ayrı ayrı değerlendirme yapılarak daha spesifik sonuçlar elde edilebilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında GLUT-1'in malign hastalıklarda ifade edilmesinden yola çıkarak otolog nakil yapılan hastaların GLUT 1 düzeylerinin, nakilden sonra lökosit, trombosit, eritrosit engrafman sürelerine olan etkisi araştırılmıştır.

Trasnsplantasyon öncesi çok iyi kısmi yanıtli myelom hastalarında GLUT-1 düzeyi yüksek olmakta ve bu hastalarda transplantasyon sonrası nötrofil yamalanması gecikmektedir. Buna karşılık tam yanıtli myelom hastalarında ise GLUT-1 düzeyi düşük olup transplantasyon sonrası nötrofil yamalanması daha erken olmaktadır. Hem tam yanıtli hem de çok iyi kısmi yanıtli myelom hastalarında trombosit yamalanma süresi ile GLUT-1 düzeyi arasında ise bir ilişki bulunmamaktadır. Bu da GLUT-1 düzeyinin trombosit yamalanma süresine pozitif ya da negatif yönde bir etkisinin bulunmadığını göstermektedir. Eritrositlerle ilgili herhangi bir engrafman tanımı bulunmadığı için eritrositlerin GLUT-1 ile ilişkisi tanımlanamamıştır.

KAYNAKLAR

- Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS:** Quantitation of antigen. In: Cellular and Molecular Immunology, 3rd edition, Philadelphia: WB Saunders Company, 1997: 59-60.
- Alexanian R, Bonnet J, Gehan E, Haut A, Hewlett J, Lane M, Monto R, Wilson H.** Combination chemotherapy for multiple myeloma. *Cancer* 1972; 30:382-389.
- Ali MY, Oyama Y, Monreal J, et al.** Reassessing the definition of myeloid engraftment after autotransplantation: it is not necessary to see $0.5 \times 10^9/l$ neutrophils on 3 consecutive days to define myeloid recovery. *Bone Marrow Transplant.* 2002; 30(11):749-52
- Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, et al;** Intergroupe Francais du Myelome. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *N Engl J Med.* 1996; 335 (2):91-97.
- Augustin R.,** "The protein family of glucose transport facilitators: it's not only about glucose after all," *IUBMB Life,* 2010; 315–333.
- Blade J, Samson D, Reece D, Apperley J, Björkstrand B, Gahrton G, Gertz M, Giralt S, Jagannath S, Vesole D.** Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. *Br J Haematol* 1998; 102:1115-1123.
- Brown R, Wahl R.** Overexpression of Glut- 1 Glucose Transporter in Human Breast Cancer 1993; 72:2979-85
- Coleman EA, Senner JW, Edwards BK.** Does multiple myeloma incidence vary by geographic area *J Ark Med Soc* 2008; 105:89-91
- Coligan JE, Kruisbeek AM, Margulies DH, Shevach EM, Strober W.** Antibody Detection and Preparation. In: *Current Protocols in Immunology.* Vol 1., New York: John Wiley & Sons, 1994: 2.1.1-2.1.4.
- Çağırğan S,** Hematopoetik Kök Hücre Mobilizasyonu. *Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences.* 2015; Cilt:1, Sayı:19, Syf:64–70
- Davies FE, Forsyth PD, Rawstron AC, et al.** The impact of attaining a minimal disease state after high dose melphalan and autologous transplantation for multiple myeloma, *Br J Haematol* 2001; 112: 814–819.

Durie BGM, Salmon SE, A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival, *Cancer* 1975; 36: 842–854.

Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine, Seventeenth Edition, US, The McGraw- Hill Companies, Inc, 2008, 1073-1078.

Hemminki K, Li X, Czene K. Familial risk of cancer: data for clinical counseling and cancer genetics. *Int J Cancer* 2004; 108:109-114.

Hendry RM, Hermann JE. Immobilization of antibodies on nylon for use in enzyme-linked immunoassay. *J Immunol Methods* 1984; 67: 21.

Ibberson M, Riederer B.M, Uldry M, Guhl B, Roth J, Thorens B. Immunolocalization of GLUT1 in the testis and to specific brain areas and vasopressin-containing neurons. *Endocrinology*. 2002; 143(1):276–284.

Joost, H.G. and Thorens, B. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Mol. Membr. Biol*, 2001; 18, 247–256.

Joost, H.G., Bell, G.I, Best, J.D, Birnbaum, M.J, Charron, M.J, Chen, Y.T., Doege, H, James, D.E, Lodish, H.F, Moley, K.H, Moley, J.F, Mueckler, M, Rogers, S, Schurmann, A, Seino and Thorens, B. Nomenclature of the GLUT/SLC2A family of sugar/polyol transport facilitators. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*, 2002; 282, E974–E976.

Kristensen P, Andersen A, Irgens LM, Laake P, Bye AS. Incidence and risk factors of cancer among men and women in Norwegian agriculture. *Scand J Work Environ Health* 1996; 2:14-26

Kumar A, Loughran T, Alsina M, Durie BG, Djulbegovic B. Management of multiple myeloma: a systematic review and critical appraisal of published studies. *Lancet Oncol*. 2003; 4(5):293-304

Kumar SK, Mikhael JR, Buadi FK, Dingli D, et al. Management of Newly Diagnosed Symptomatic Myeloma: Updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted therapy (MSMART) Guidelines. *Mayo Clin Proc* 2009; 84: 1095-1110.

Kyle RA. History of multiple myeloma. In: Neoplastic Diseases of the Blood, 3rd edition. New York: Churchill Livingstone, 1996.

Kyle RA. History of multiple myeloma. In: Neoplastic Diseases of the Blood, 2nd edition. New York: Churchill Livingstone, 1991; 325-32.

Lewis EB. Leukemia, multiple myeloma, and aplastic anemia in American radiologists. Science 1963;142:1492-1494.

Ludwig H, Beksac M, Blade J et al. Current multiple myeloma treatment strategies with novel agents: a European perspective. Oncologist 2010;15(1):6-25.

McBrayer S, Cheng J, Singhal, S, Krett N, Rosen S, Shanmugam M. Multiple myeloma exhibits novel dependence on GLUT4, GLUT8, and GLUT11: implications for glucose transporter-directed therapy. Blood. 2012;119(20):4686-4697

Medina R.A. and Owen G.I., "Glucose transporters: expression, regulation and cancer," Biological Research, vol. 35, no. 1, 2002, pp. 9–26.

Morgan GJ, Davies FE, Linet M. Myeloma aetiology and epidemiology. Biomed Pharmacother 2002; 56:223-234.

Mueckler M, Caruso C, Baldwin SA, Panico M, Blench I, Morris HR, Allard WJ, Lienhard GE, Lodish HF, "Sequence and structure of a human glucose transporter". Science, 1985; 229 (4717): 941–5.

Oken MM, Kyle RA, Greipp PR, Kay NE, Tsiatis A, et al. Complete remission induction with combined VBMCP chemotherapy and interferon (rIFN alfa 2B) in patients with multiple myeloma. Leuk Lymphoma 1996; 20:447-452.

Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, Lokhorst HM, et al. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group, 2015; 33(26):2863-9.

Raab MS, Podar K, Breitkreutz I, Richardson PG et al. Multiple myeloma. Lancet, 2009; 374(9686):324-39

Roodman G, Irene M. Ghobrial, Angelo Vacca, Karin Vanderkerken et al. Myeloma microenvironment. Clin Lymphoma Myeloma, 2009; 9(2):25-32.

Seidner G, Alvarez MG, Yeh JI, O'Driscoll KR, et al. "GLUT-1 deficiency syndrome caused by haploinsufficiency of the blood-brain barrier hexose carrier". *Nature Genetics*. 1998; 18 (2): 188–91.

Sirohi B, Powles R, Mehta J ve ark. Complete remission rate and outcome after 63 intensive treatment of 177 patients under 75 years of age with IgG myeloma defining a circumscribed disease entity with a new staging system, *Br J Haematol* 1999; 107: 656–666.

Tavani A, Pregnolato A, Negri E, Franceschi S, Serraino D, Carbone A, La Vecchia C. Diet and risk of lymphoid neoplasms and soft tissue sarcomas. *Nutr Cancer* 1997; 27:256-260

Uldry M, Thorens B. "The SLC2 family of facilitated hexose and polyol transporters". *Pflügers Archiv*, 2004; 447 (5): 480–9

WEB_1. (2018) Türk Hematoloji Derneği web site. http://thd.org.tr/THD_Halk/?sayfa=miyelom (09.03.2018)

WEB_2.(2018) Elabscience web site. <https://www.elabscience.com/PDF/Cate61/E-EL-H1822-Elabscience.pdf> (29.04.2018)

WEB_3.(2018) Elabscience web site. [https://www.elabscience.com/p-human_glut1\(glucose_transporter_1\)_elisa_kit-19330.html](https://www.elabscience.com/p-human_glut1(glucose_transporter_1)_elisa_kit-19330.html) (30.04.2018)

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 14/04/2017-E.22700



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 53043469-050.04.04
Konu : Kararlar

Sayın Prof.Dr. İrfan YAVAŞOĞLU
Öğretim Üyesi

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 13.04.2017 tarihinde yapılan olağan toplantısında çalışmanızla ilgili alınan 18 nolu karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize sunarım.

e-imzalıdır

Prof.Dr. Mustafa Selim ÖZKÖK
Başkan

KARAR 18

Protokol No : 2017/1049
Sorumlu Yürütücü : Prof.Dr. İrfan YAVAŞOĞLU
İç Hastalıkları AD

Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD /Hematoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. İrfan YAVAŞOĞLU'nun "**Otolog nakil yapılan multipl myelomalı hastalarda GLUT 1 düzeyinin lökosit, trombosit, eritrosit engrafman süresine etkisi**" başlıklı klinik araştırmasının 05.01.2017 tarihli kurul kararında eksiklikler saptanmıştı. 04.04.2017 tarihli gelen dilekçesi ve ekleri dosya halinde görüşüldü.

Sonuçta klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde) gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Yine sorumlu araştırmacıya; Form 2'nin 14.1.'in son bölümünde taahhüt edilen çalışma bittikten sonra nihai raporun, [Sonuç Raporu (web'te), BGOF (Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu-gönüllüler tarafından bizzat kendilerinin kendi adı-soyadını yazması ve imzalamasının sağlanması ile adreslerinin eksiksiz olarak formlara yazılmasına dikkat edilmelidir.) ve ORF (Olgu Rapor Formu/Anket)] gönderilmesi gerektiğinin hatırlatılmasına ve sorumlu yürütücülerinin bu hususa özen göstermesi gerektiğinin bir kez daha vurgulanmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Ek 2. Olgu Rapor Formu

Araştırmanın niteliğine göre araştırmacı tarafından hazırlanacaktır
(Olgu Rapor Formu/Veri Takip Raporu).
(Form 9)

YAŞ:

CİNSİYET:

KAN ŞEKERİ DÜZEYİ:

OTOLOG NAKİL ÖNCESİ GLUT 1 DÜZEYİ:

ERİTROSİT YAMALANMA GÜNÜ:

LÖKOSİT YAMALANMA GÜNÜ:

TROMBOSİT YAMALANMA GÜNÜ:

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : AKKAYA Eylem
Uyruk : TC
Doğum yeri ve tarihi : 01.10.1994
Telefon :
E-mail : akkayaaeylem@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

<u>Derece</u>	<u>Kurum</u>	<u>Mezuniyet tarihi:</u>
Y. Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi	-
Lisans	Bartın Üniversitesi	2016

BURSLAR ve ÖDÜLLER:

İŞ DENEYİMİ

<u>Yıl</u>	<u>Yer/Kurum</u>	<u>Ünvanı</u>
------------	------------------	---------------

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

2. PROJELER

3. BİLDİRİLER

A. Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

The Effect Of GLUT-1 Levels On Leukocyte And Thrombocyte Engraftment In Myeloma Patients At Autologous Stem Cell Transplantation, 44th EBMT Annual Meeting, Lisbon, Portugal, 2018

B. Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Myelom'da GLUT-1 Düzeyinin Lökosit ve Trombosit Yamalanma Süresine Etkisinin Prospektif Çok Merkezli Değerlendirilmesi", 43. Ulusal Hematoloji Kongresi, Antalya, 2017