

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

MÜLTİPL MYELOMLU HASTALARDA TANI ANINDAKİ
KEMİK İLİĞİ BİYOPSİSİNDE
CD68 VE CD163 İLE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
TAYİN EDİLEN DOKU MAKROFAJININ
PROGNOSTİK ÖNEMİ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Dr. ELİF SUYANI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. GÜLSAN TÜRKÖZ SUCAK

ANKARA
MAYIS 2012

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

MÜLTİPL MYELOMLU HASTALARDA TANI ANINDAKİ
KEMİK İLİĞİ BİYOPSİSİNDE
CD68 VE CD163 İLE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
TAYİN EDİLEN DOKU MAKROFAJININ
PROGNOSTİK ÖNEMİ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Dr. ELİF SUYANI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. GÜLSAN TÜRKÖZ SUCAK

ANKARA
MAYIS 2012

TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları Hematoloji eğitimim boyunca yakın destek ve ilgisini gördüğüm tüm hocalarıma, hematoloji bilim dalı çalışanlarına;

Çalışmamın her aşamasında destek olan ve yol gösteren tez danışmanım Prof. Dr. Gülsan SUCAK ve histopatolojik incelemeleri yapan Doç. Dr. Nalan AKYÜREK'e;

Tüm eğitimim ve çalışma hayatım boyunca bana verdikleri destek için aileme teşekkür ederim.

Dr. Elif Suyanı

İÇİNDEKİLER

Simgeler ve Kısaltmalar	iv
Şekiller	viii
Tablolar	ix
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mültipl Myelom	3
2.1.1. Tanım, Epidemiyoloji	3
2.1.2. Klinik, Tanı Ölçütleri	4
2.1.3. Evreleme, Prognoz	7
2.1.4. Tedavi	12
2.1.5. Yanıt Değerlendirmesi	13
2.1.6. Mültipl Myelom ve Mikroçevre	17
2.2. Tümör İlişkili Makrofajlar	20
2.2.1. Makrofajlar	20
2.2.2. Tümör İlişkili Makrofajlar	22
2.2.3. Tümör İlişkili Makrofajların Fonksiyonları	24

2.2.4. Tümör ilişkili makrofaj ve NF-κB yolağı ilişkisi	26
2.2.5. Tedavide makrofaj	27
2.2.6. Tümör ilişkili makrofajların histopatolojik olarak tespit edilmesi	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Hastalar	31
3.2. İmmunhistokimyasal olarak makrofajların tespit edilmesi	31
3.2.1. İmmunhistokimyasal boyama	32
3.2.2. CD68 ile immünhistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi	33
3.2.3. CD163 ile immünhistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi	34
3.3. Morfolojik değerlendirme	34
3.3.1. Barthl derecelendirmesi	34
3.3.2. Plazma hücre infiltrasyon patterni	35
3.4. İstatistiksel değerlendirme	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIşMA	55
6. SONUÇ	66
7. KAYNAKLAR	68

8. ÖZET	76
9. İNGİLİZCE ÖZET	77
10. ÖZGEÇMİŞ	78

SİMGELER VE KISALTMALAR

Alb	Albumin
Ca ⁺⁺	Kalsiyum
CD	Yüzey farklılaşma antijeni
CRAB	Hiperkalsemi, Renal yetmezlik, Anemi, Kemik lezyonu
CRP	C-reaktif protein
CSF-1	Koloni stimüle edici faktör 1
CXCL12	Stromal kaynaklı büyüme faktörü
DNA	Deoksiribonükleik asit
EGF	Epidermal büyüme faktörü
ESH	Eritrosit sedimentasyon hızı
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
Hb	Hemoglobin
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
HIF	Hipoksinin uyardığı faktör
IFN	İnterferon
Ig	İmmunglobulin

IGF	İnsulin benzeri büyüme faktörü
IL	İnterlökin
IL-1ra	İnterlökin reseptör antagonisti
IMiD	İmmunmodülatör ilaçlar
IMWG	Uluslararası myelom çalışma grubu
ISS	Uluslararası evreleme sistemi
İİF	İdrar immun fiksasyonu
iNO	İndükte edilebilir nitrik oksit sentaz
İSK	İlerlemesiz sağ kalım
Kre	Kreatinin
KY	Kısmi yanıt
LDH	Laktat dehidrogenaz
M	Monoklonal
MGUS	Anlamı belirsiz monoklonal gamopati
MM	Mütipl myelom
MMPs	Metalloproteinazlar
MP	Melfalan/prednizolon

MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
mRNA	Messenger ribonükleik asit
MVD	Mikrodamar yoğunluğu
OKHN	Otolog kök hücre nakli
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
SDF	Stromal kaynaklı büyüme faktörü
SHZO	Serbest hafif zincir oranı
SIF	Serum immunfiksasyon
SPE	Serum protein elektroforezi
TGF	Değiştirici büyüme faktörü
THZO	Total hafif zincir oranı
TİM	Tümör ilişkili makrofaj
TNF	Tümör nekroz faktörü
Treg	T regülatuar
TSK	Toplam sağ kalım
TY	Tam yanıt
VAD	Vinkristin/adriamisin/deksametazon

VEGF Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VGPR Çok iyi kısmi yanıt

ŞEKİLLER

- Şekil 1** CD68 negatif kemik iliği kesiti
- Şekil 2** CD68+ hücrelerin izlendiği kemik iliği kesiti
- Şekil 3** CD163 negatif kemik iliği kesiti
- Şekil 4** CD163+ hücrelerin izlendiği kemik iliği kesiti
- Şekil 5** Tüm hastaların Kaplan Meier sağ kalım eğrisi
- Şekil 6** CD163+ hücre sayısı ile CD68+ hücre sayısı arasındaki ilişki
- Şekil 7** Hastaların CD68+ hücre sayısına (≤ 1 ve > 1) göre Kaplan Meier sağ kalım eğrileri
- Şekil 8** Hastaların CD163+ hücre sayısına (≤ 7 ve > 7) göre Kaplan Meier sağ kalım eğrileri

TABLULAR

Tablo 1 Plazma hücre hastalıklarında tanı ölçütleri

Tablo 2 Durie-Salmon Evreleme Sistemi

Tablo 3 Uluslararası Evreleme sistemi

Tablo 4 FISH ve konvansiyonel sitogenetik kullanılarak yapılan MM risk değerlendirmesi

Tablo 5 Hastaların genel özellikleri

Tablo 6 Hastaların M protein özellikleri

Tablo 7 Hastaların kemik iliği biyopsi özellikleri

Tablo 8 Hastaların tedavi özellikleri

Tablo 9 Hastaların CD68+ hücre sayısına (≤ 1 ve > 1) göre özellikleri

Tablo 10 Hastaların CD68+ hücre sayısına (≤ 1 ve > 1) göre kemik iliği biyopsi özellikleri

Tablo 11 Hastaların CD163+ hücre sayısına (≤ 7 ve > 7) göre özellikleri

Tablo 12 Hastaların CD163+ hücre sayısına (≤ 7 ve > 7) göre kemik iliği biyopsi özellikleri

GİRİŞ

Mütipl myelom (MM), plazma hücrelerinin klonal olarak çoğalması sonucu oluşan ve standart kemoterapi protokolleri ile şifa sağlanamayan bir hastalıktır. Mütipl myelom, kötücül hematolojik hastalıkların yaklaşık olarak %10-15'ini oluşturmaktadır (1-4). Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı verilerine göre, Türkiye'de yıllık görülme insidansı %1,6 ile %1,8 arasında değişmektedir (5). Mütipl myelom hastaları sıklıkla halsizlik, kemik ağrıları ve tekrarlayan infeksiyonlar ile başvurmaktadır. Tanı anında hastalarda hiperkalsemi, böbrek fonksiyonlarında bozukluk, anemi ve litik kemik lezyonlarından bir veya daha fazlası bulunmaktadır (1,2). Mütipl myelom tanısı klinik bulguların yanı sıra kemik iliğinde en az %10 klonal plazma hücresi ya da dokuda plazmasitom varlığı ile serum ve/veya idrarda monoklonal (M) proteinin gösterilmesi ile konmaktadır.

Genetik mutasyonların plazma hücrelerine kötücül karakter kazandırması ile MM gelişmektedir. Kötücül plazma hücreleri kemik iliği mikroçevresinin de katkıları ile yaşamını devam ettirmekte ve çoğalmaktadır (6-8). Kemik iliği stromal hücreleri, myelom hücresinin yaşamasında mikroçevrenin en önemli komponenti olarak kabul edilmektedir (6,7,9). Kemik iliği stromal hücreleri; hematopoetik kök hücreler, fibroblastlar, osteoblastlar, osteoklastlar, kondroblastlar, endotelyal hücreler, T lenfositler, makrofajlar ve mast hücreleridir (9,10). Myelom hücresinin, kemik iliği stromal hücrelerine adezyonu sayesinde proliferasyonu ve yaşaması mümkün olmaktadır (6-8). Stromal hücrelerden biri olan makrofajların, myelom hücresinin ömrü ve kemoterapiye yanıtına etkisinin

incelendiği bir in vitro çalışmada; makrofajlarla kültüre edilen myelom hücrelerinin deksametazon ve melfalanın indüklediği apoptozisten korunduğu gösterilmiştir (11).

İnsan tümörlerinde lökositlerin de bulunduğu ilk kez Virchow tarafından 1963 yılında gösterilmiştir (12). Günümüzde, tümör dokusunda bulunan lökosit infiltrasyonunun büyük bir kısmını makrofajların oluşturduğu bilinmektedir (12-15). Birçok tümörde artmış tümör ilişkili makrofaj (TİM) infiltrasyonu ile kötü prognoz arasında bir ilişki gösterilmiştir (15-17). Tümör ilişkili makrofajlar; tümör hücrelerinin yaşamasını, çoğalmasını, migrasyonunu ve metastazını desteklemektedir (15,17,18). Tümör ilişkili makrofajlar tümörün büyümesi ve progresyonunda çok önemli bir yere sahip olan anjiogenez ve dokunun yeniden yapılandırmasında da etkin rol oynarlar (12-21).

Bu alışma ile MM tanısı alan hastaların tanı anı kemik iliği biyopsisinde makrofaj infiltrasyon derecesi ve bunun prognozdaki önemini saptamak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mültipl Myelom

2.1.1. Tanım, Epidemiyoloji

Mültipl myelom, plazma hücrelerinin klonal olarak çoğalması sonucu oluşan ve standart kemoterapi protokolleri ile şifa sağlanamayan bir hastalıktır. Mültipl myelom, kötücül hematolojik hastalıkların yaklaşık olarak %10-15'ini oluşturmaktadır (1-4). Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı verilerine göre, Türkiye'de yıllık görülme insidansı %1,6 ile %1,8 arasında değişmektedir (5). Ortanca görülme yaşı yaklaşık 66-70 yıl olup (1-4), hastaların sadece %2'si 40 yaşın altında bulunmaktadır (1,3).

Mültipl myelom postgerminal merkez B hücrelerinden köken alan plazma hücrelerinin, premalin proliferasyonu ile başlamaktadır (2,22). Çok basamaklı olarak gelişen genetik ve mikroçevre değişiklikleri ile bu hücreler kötücül bir dönüşüme uğramaktadır (2,22). Diğer post germinal B hücre malinitelerinde olduğu gibi, immunglobulin ağır zincir (IgH) lokusu (14q32) veya immunglobulin hafif zincir (IgL) lokusunu (kappa, 2p12, lamda 22q11) içeren translokasyonlara sıklıkla rastlanmaktadır (22). Mültipl myelom tanılı hastaların geriye dönük olarak elde edilen serumlarının büyük çoğunluğunda anlamı belirsiz monoklonal gamopati (MGUS) varlığı tespit edilmiştir (23-25). Dolayısıyla günümüzde MM'nin, premalin bir plazma hücre bozukluğu olan MGUS'tan geliştiği kabul edilmektedir (1,3,4,25). Anlamı belirsiz monoklonal gamopati, 50 yaş ve üzerinde

%1 ile %3,2 oranında görülmekle birlikte, MGUS'u olan her hastada MM gelişmemektedir (4,26-28). Anlamı belirsiz monoklonal gamopatiden, MM ve benzeri bir hastalığa dönüşüm riski yıllık %1'dir (4,25,26,27). Genetik değişiklikler, myelom kemik hastalığı sırasında ortaya çıkan sitokinler, anjiogenez ve infeksiyöz ajanlar MGUS'tan MM'ye dönüşümde suçlanmakta ancak dönüşüme tam olarak neyin sebep olduğu bilinmemektedir (1,22,25,27).

2.1.2. Klinik, Tanı Ölçütleri

Müльтиpl myelomlu hastalar sıklıkla halsizlik, kemik ağrıları ve tekrarlayan infeksiyonlar ile başvurmaktadır. Hastaların tanı anında, dörtte birinde hiperkalsemi (1), yaklaşık %20-50'sinde böbrek fonksiyonlarında bozukluk (1,2), %70'inde anemi (1,2) ve %80'inde konvansiyonel yöntemlerle görülebilen kemik lezyonları (1,2) tespit edilmektedir. Kısaca CRAB (hiperkalsemi, renal yetmezlik, anemi, kemik lezyonu) olarak tanımlanan ve son organ hasarı olarak da adlandırılan bu durumda;

- Hiperkalsemi: Serum kalsiyum (Ca^{++}) \geq 11.5 mg/dl

-Renal yetmezlik: Serum kreatinin (kre) $>$ 2 mg/dl

-Anemi: Normokrom, normositer anemi, hemoglobin (Hb) değeri alt limitin $>$ 2 g/dl altında veya Hb $<$ 10 g/dl

-Kemik lezyonu: Litik lezyon veya ağır osteoporoz veya patolojik fraktürler vardır.

Ek olarak bu bulguları açıklayabilecek başka bir sebep bulunmamalıdır (4,29).

Mütipl myelom tanısı için yukarıdaki klinik bulguların yanında kemik iliğinde en az %10 klonal plazma hücresi ya da dokuda plazmasitom varlığı ile serum ve/veya idrarda M proteinin gösterilmesi gerekmektedir. Ancak plazma hücre hastalıkları MGUS'tan MM ve plazmasitoma kadar değişen bir spektrum göstermektedir ve plazma hücre hastalıklarının tanısı ile ilgili ölçütler belirlenmiştir (Tablo 1) (30).

Uluslararası myelom çalışma grubu (IMWG) MM tanısında en az, tam kan sayımı, serum biyokimya testleri (serum elektrolitleri, Ca⁺⁺, albumin (alb), karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri), serum protein elektroforezi (SPE), serum immunfiksasyon (SIF), nefelometrik olarak immunglobulin (Ig) G, M ve A düzeyleri, serum serbest hafif zincirleri (SHZ), idrar analizi, 24 saatlik idrarda protein miktarı, β_2 mikroglobulin, laktat dehidrogenaz (LDH) düzeylerine bakılmasını ve kemik iliği biyopsisi, düz kemik grafileri, torakolomber magnetik rezonans görüntüleme (MRI), kemik iliğinden FISH ve sitogenetik inceleme yapılmasını önermektedir (31).

Tablo 1. Plazma hücre hastalıklarında tanı ölçütleri (30)

MGUS (3 ölçüt de olmalıdır)	1) Serum monoklonal protein < 3 g/dl 2) Klonal kemik iliği plazma hücre oranı < %10 3) Son organ hasarının olmaması
Yavaş Seyirli MM (Asemptomatik MM) (2 ölçüt de olmalıdır)	1) Serum monoklonal protein (IgG veya IgA) \geq 3 g/dl ve/veya kemik iliği klonal plazma hücre oranı \geq %10 2) Son organ hasarının olmaması
MM (3 ölçüt de olmalıdır)	1) Kemik iliğinde klonal plazma hücre oranı \geq %10 2) Serum ve/veya idrar M proteinin olması (non sekretuar myelom dışında) 3) Altta yatan plazma hücre proliferasyonuna bağlı oluşmuş olan son organ hasarı
Waldenström's Makroglobulinemisi (2 ölçüt de olmalıdır)	1) IgM monoklonal gamopati varlığı (M proteinin büyüklüğünden bağımsız) 2) Kemik iliğinde genellikle intertrabeküler alanda olan plazmasitoid veya plazma hücre diferansiyasyonu gösteren lenfositlerden oluşan lenfoplazmatik hücre infiltrasyonu (\geq %10) ve diğer lenfoproliferatif hastalıkları dışlayan immunfenotipik boyanma göstermesi (yüzey IgM +, CD5 +/-, CD10 -, CD19 +, CD20 +, CD23 -)
Soliter Plazmasitom (4 ölçüt de olmalıdır)	1) Kemik veya yumuşak dokuda biyopsi ile klonal plazma hücrelerden oluşan soliter lezyonun gösterilmesi 2) Normal kemik iliği (klonal plazma hücrelerin olmadığı) gösterilmesi 3) Normal kemik survey, spinal ve pelvik MRI (primer soliter lezyon dışında) 4) Son organ hasarının olmaması
Sistemik AL Amiloidoz (Tüm ölçütlerin olması gerekmektedir birlikte yaklaşık %2-3 hastada tüm ölçütler)	1) Amiloid ilişkili sistemik sendrom varlığı (böbrek, karaciğer, kalp, gastrointestinal veya periferik sinir tutulumu gibi) 2) Dokuda (yağ dokusu, kemik iliği veya organ biyopsisi) kongo kırmızısı ile amiloid boyanması 3) Amiloidin direk olarak incelenmesi ile amiloidin

sağlanmayabilir)	hafif zincir ilişkili olduğunun gösterilmesi (immunhistokimyasal boyama veya direk sekanslama gibi yöntemlerle) 4) Monoklonal plazma hücre proliferatif bozukluğunun gösterilmesi (serum veya idrar M proteini, anormal serum serbest zincir oranı, veya kemik iliğinde klonal plazma hücrelerin gösterilmesi)
POEMS sendromu	1) Monoklonal plazma hücre bozukluğunun olması 2) Periferik nöropati 3) Osteosklerotik kemik lezyonu, Castleman hastalığı, organomegali, endokrinopati (diabetes mellitus ve hipotiroidi dışındakiler), ödem, deri değişiklikleri, papilödem'den en az birinin olması

2.1.3. Evreleme, Prognoz

Mütipl myelomda evreleme ve risk değerlendirmesi tedavi stratejisi belirlemek açısından önemlidir. Mütipl myelom hastalarında ortanca sağ kalım 3 yıl iken son yıllarda geliştirilen yeni ajanlarla hastaların sağ kalımında belirgin iyileşmeler sağlanmıştır (1,2,4,32). Toplam sağ kalım (TSK) hastalığın evresi ile yakın ilişkilidir. 1975 yılından bu yana Durie-Salmon evrelemesi kullanılmakla birlikte (Tablo 2) (33), son yıllarda geliştirilmiş olan uluslararası evreleme sisteminin (ISS) (Tablo 3) (34) MM'da bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.

Yaş, Hb, hiperkalsemi, serum alb düzeyi, renal yetmezlik, M protein alt grubu, kemik iliği plazma hücre oranı prognostik öneme sahip olsalar da bağımsız birer risk faktörü oldukları gösterilememiştir (1,3).

Tablo 2. Durie-Salmon Evreleme Sistemi (33)

Evre	Ölçütler
Evre I	Kemik lezyonu sayısı \leq 1 Hb $>$ 10 g/dl Serum Ca ⁺⁺ $<$ 12 mg/dl Düşük M proteini (serum IgG $<$ 5 g/dl, IgA $<$ 3 g/dl; idrar M proteini $<$ 4000 mg/24 saat).
Evre II	Evre I ve III ölçütlerini karşılamayan
Evre III	Kemik lezyon sayısı $>$ 3 Hb $<$ 8,5 g/dl Ca ⁺⁺ $>$ 12mg/dl Yüksek M protein (serum IgG $>$ 7 g/dl, IgA $>$ 5 g/dl; idrar M proteini $>$ 12000 mg/ 24 saat).
Alt grupları	
A	Serum kre $<$ 2 mg/dl
B	Serum kre $>$ 2 mg/dl

Tablo 3. Uluslararası evreleme sistemi (34)

Evre	Ölçütler	Ortanca sağ kalım (ay)
Evre I	Serum β_2 mikroglobulin < 3,5 mg/L ve Alb \geq 3,5 g/dl	62
Evre II	Evre I ve III ölçütlerini karşılamayan	44
Evre III	Serum β_2 mikroglobulin \geq 5,5 mg/L	29

Müльтиpl Myelomda Tanımlanmış Bağımsız Risk Faktörleri:

1. Performans durumu
2. ISS'ye göre evre
3. Konvansiyonel sitogenetikte 13. kromozom delesyonu, hipodiploidi
4. FISH ile t(4;14), t(14;16), 17p delesyonu
5. LDH
6. Plazmablastik morfoloji
7. Plazma hücresi sentez döngüsüdür (1,35).

Son yıllarda, tanı sırasında kemik iliği örneğinden yapılan FISH ve konvansiyonel sitogenetik incelemeler hastanın risk değerlendirmesinde oldukça

önemli bir hale gelmiştir (2,3,4,35,36). Uluslararası myelom çalışma grubu yaptığı uzlaşma toplantısında, sitogenetik olarak hipodiploidi, 13q delesyonu, t(4;14), 17p delesyonunu, FISH ile yapılan incelemelerde t(4;14), t(14;16), ve 17p delesyonunu kötü prognostik faktör olarak kabul etmiştir. FISH ile saptanan 13q delesyonunu ise, ancak diğer anormallikler eşliğinde kötü bir prognostik faktör olarak kabul etmiştir. Kromozom 1 ile ilgili anormalliklerin kötü prognostik faktör olarak kabul edilmesi noktasında yeterli veri bulunmadığı kanaatine varılmış ve t(11;14) varlığını ise iyi bir prognostik gösterge olarak kabul etmemiştir (35). Mayo Kliniğinde ise yeni tanı konulan hastalarda riske uyarlanmış tedavi yaklaşımı doğrultusunda FISH ve konvansiyonel sitogenetik bulgulara göre risk değerlendirmesi geliştirilmiştir (Tablo 4) ve bu merkezde tedavi bu doğrultuda planlanmaktadır (37). Son yıllarda gen ifadenme profili, dizi karşılaştırmalı genomik hibridizasyon ve tek gen polimorfizmi gibi yöntemler risk değerlendirmesi açısından gündeme gelmiş, ancak henüz rutin kullanımda yer bulamamıştır (35,36,38).

Tablo 4. FISH ve konvansiyonel sitogenetik kullanılarak yapılan MM risk değerlendirmesi (37)

Standart risk <ul style="list-style-type: none">- Hiperdiploidi- t(11;14)- t(6;14)
Orta risk <ul style="list-style-type: none">- t(4;14)- Konvansiyonel sitogenetik yöntemi ile 13q delesyonu veya hipodiploidi
Kötü risk <ul style="list-style-type: none">- 17p delesyonu- t(14;16)- t(14;20)- Yüksek riskli gen ifadenme profili olması

Günümüzde, talidomid, lenalidomid ve bortezomib gibi etkili, yeni ajanların kullanıma girmesi ile tedavide önemli aşamalar kaydedilmiş ve tedaviye alınan yanıt da önemli bir prognostik belirleyici haline gelmiştir (3,4,39,40,41,42). Gerek indüksiyon tedavisi sonrası gerekse otolog kök hücre nakli (OKHN) sonrası hastalarda tam yanıt (TY) elde edilmesi ve bu yanıtın sürdürülmesi, uzun dönem sonuçları, TSK, ilerlemesiz sağ kalımı (İSK), olaysız sağ kalımı, etkileyen önemli belirleyicilerden olmuştur (39,40,42).

2.1.4. Tedavi

Müktipl myelom, hastaların yaklaşık %15'inde asemptomatik olup, bu hastaların tedavi edilmeksizin 3 ayda bir takipleri önerilmektedir (27). Tedavi gerektiren MM hastalarının TSK'ları, talidomid, bortezomib ve lenalidomid'in kullanıma girmesi ile belirgin olarak artmıştır (32,37,39,40). Müktipl myelom tedavisinde, indüksiyonda VAD (vinkristin, adiramisin ve deksametazon) yerine yeni kuşak ilaçların yer aldığı rejimlerin kullanılması ve sonrasında OKHN yapılması standart tedavi yöntemi olarak önerilmektedir (2,3,37,43,44). Otolog kök hücre nakli yapılamayan ileri yaş hastalarda hastanın genel durumu ve eşlik eden komorbiditelerine göre myelom ilaçlarında doz ayarlaması yapılması gerekmektedir (2,32). Mayo Kliniğinde MM hastalarında riske uyarlanmış tedavi uygulanmaktadır. Riske uyarlanmış tedavide, hastanın öncelikle risk durumunun (standart, orta veya yüksek riskli), ve nakil adayı olup olmadığının belirlenmesi ve tedavinin bundan sonra planlanması söz konusudur. Otolog kök hücre nakli adayı olan hastalarda: Standart riskli ise 4 kür lenalidomid/düşük doz deksametazon, OKHN ve sonrasında hasta TY ya da çok iyi kısmi yanıt (VGPR) değil ise lenalidomid idame ile devam edilmesi; orta riskli ise 4 kür bortezomib/siklofosfamid/deksametazon, OKHN (gerekirse 2. OKHN), sonrasında 2 yıl bortezomib idame ile devam edilmesi; yüksek riskli ise 4 kür bortezomib/lenalidomid/deksametazon, OKHN ve sonrasında bortezomib içeren bir idame tedavi ile devam edilmesi önerilmektedir. Otolog kök hücre nakli adayı olmayan hastalarda: Standart riskli ise 1 yıl lenalidomid/düşük doz deksametazon

verilmesini, sonrasında deksametazonun kesilerek hasta tolere ettiği sürece lenalidomid ile devam edilmesini; orta riskli ise 1 yıl bortezomib/siklofosfamid/deksametazon verilmesini, sonrasında 2 yıl bortezomib idame ile devam edilmesini; yüksek riskli ise 1 yıl bortezomib/lenalidomid/deksametazon verilmesini, sonrasında da bortezomib idame ile devam edilmesini önermektedir (37). Mayo Kliniğinin tedavi önerileri dışında genel olarak kabul gören yöntem hastaların OKHN adayı olup olmamasına göre tedavi planının düzenlenmesidir. Otolog kök hücre nakli adayı olan hastalara 2'li ilaç (bortezomib/deksametazon ya da lenalidomid/deksametazon) ya da 3'lü ilaç (bortezomib/deksametazon+ siklofosfamid ya da lenalidomid ya da talidomid) ile indüksiyon verilmesi önerilmektedir. Daha sonra ise OKHN ve ardından talidomid veya lenalidomid idamesi önerilmektedir. Otolog kök hücre nakli adayı olmayan hastalarda ise 2'li (bortezomib/deksametazon ya da lenalidomid/deksametazon) veya 3'lü (melfalan/prednizolon/talidomid ya da melfalan/prednizolon/bortezomib ya da melfalan/prednizolon/lenalidomid) kombinasyon tedavileri ile indüksiyon önerilmektedir (2,43).

2.1.5. Yanıt değerlendirmesi

Müльтиpl myelom hastalarında yeni ajanlar ile daha derin yanıtlar elde edilmeye başlanmıştır. Son yıllarda kullanılmaya başlanan moleküler ve akım sitometrik yöntemlerle bu yanıtları tespit etmek mümkün olmaktadır. Bu

gelişmeleri göz önüne alan IMWG, MM yanıt ölçütlerini yeniden düzenlemiştir (29,45). Buna göre:

Tam Yanıt:

- Serum ve idrar immunfiksasyonda monoklonal gamopati olmaması.
- Plazmasitom var ise kaybolması.
- Kemik iliğinde plazma hücre oranı < %5 olması.

Sıkı tam yanıt:

- Tam yanıt ölçütleri

ve

- Normal serum serbest hafif zincir oranı (SHZO) olması.
- Kemik iliğinde immunhistokimyasal veya immunfloresans ile klonal plazma hücresi saptanamaması.

Çok iyi kısmi yanıt:

- Serum veya idrar M proteininin SPE’de tespit edilememesine rağmen immunfloresan ile tespit edilmesi.

veya

- Serum M proteininde \geq %90 azalma ve idrarda M proteinin < 100 mg/24 saat olması.

Kısmi Yanıt:

- Serum M proteininde \geq %50 azalma ve 24 saatlik idrarda M proteininde \geq %90 azalma veya 24 saatlik idrarda M proteini < 200 mg olması.

Eğer serum ve idrar M proteini ölçülemiyor ise

-Serum serbest zincirlerin (hastalığa katılan ve katılmayan) düzeyleri arasındaki farkta

\geq %50 azalma olması.

Eğer hem serum ve idrar M protein hem de SHZ miktarı ölçülemiyor ise

-Kemik iliği plazma hücre oranında \geq %50 azalma olması (bazal plazma hücre oranının \geq %30 olması gerekir).

Bu ölçütlere ek olarak

-Eğer var ise plazmasitom boyutunda \geq %50 azalma olması.

Kararlı Hastalık:

Tam yanıt, VGPR, kısmi yanıt (KY) veya ilerleyici hastalığa uymayan durumlar.

İlerleyici Hastalık:

Aşağıdakilerden 1 veya daha fazlası olmalıdır

- Serum M proteininde \geq %25 artış (mutlak artış \geq 0,5 g/dl) olması.

- İdrar M komponentinde \geq %25 artış (mutlak artış \geq 200 mg/24 saat) olması.

- Ölçülebilir hastalığı olmayanlarda hastalığa dâhil olan veya olmayan SHZ arası farkta \geq %25 artış olması.

- SHZ düzeylerinde \geq %25 artış olması.

- Kemik iliği plazma hücre yüzdesinde \geq %25 artış olması.

- Yeni kemik lezyonu veya yeni plazmasitom veya kemik lezyonlarında artış veya

plazmasitom boyutlarında artış olması.

- Plazma hücre hastalığına bağlanan hiperkalsemi oluşması (düzeltilmiş $Ca^{++} > 11,5$ mg/L).

*Yeni bir tedaviye başlanmadan önce bütün yanıt kategorileri kemik iliği biyopsisi hariç ardışık 2 kez değerlendirilmelidir. Kemik iliği biyopsisi tekrara dâhil değildir.

**Klonal hücrelerin olup olmaması *kappa/lambda* oranı temel alınarak yapılır. Anormal bir *kappa/lambda* oranı için en az 100 hücre incelenmelidir. Anormal bir klon olduğunun söylenebilmesi için *kappa/lambda > 4:1 veya < 1:2* olmalıdır.

Bazı Özel Durumlarda Yanıt Ölçütleri

Yinelemiş myelom:

Önceden en az 1 kemoterapi rejimi almış; yinelemiş ve dirençli hastalık tanı ölçütlerine uymayan.

Dirençli ve yinelemiş miyelom:

Kurtarma tedavisinde iken hastalığın yinelemesi veya en son tedavi sonrası ilk 60 gün içinde ilerleyici hastalık olması.

Dirençli ve yinelemiş hastalarda Minör Yanıt:

-Serum M proteininde \geq %25, < %50 azalma ve 24 saatlik idrarda M proteininde %50-89 azalma, ancak halen > 200 mg/24 saat'in üzerinde olması.

- Plazmasitom var ise bazal büyüklüğüne göre %25-49 azalma olması.

Kemik lezyonlarının sayısı ve büyüklüğünde artış olmaması (kompresyon fraktürü yanıtı dışlamaz).

2.1.6. Mültipl Myelom ve Mikroçevre

Mültipl myelomda, genetik mutasyonlar sonucunda plazma hücreleri kötücül karakter kazanmaktadır. Kötücül karakterdeki plazma hücrelerinin yaşamını devam ettirebilmesi için kemik iliği mikroçevresinin de katkısı gerekmektedir (6-8). Kemik iliğinde yer alan ekstraselüler matriks ve stromal hücreler, myelom hücresinin büyümesi, yaşaması, migrasyonu ve ilaç direnci göstermesinde yardımcı olmaktadır (6,7). Myelom hücresinde, PI-3K/Akt, NF-kappaB, Ras/Raf/MAPK ve JAK/STAT3 gibi yollar proliferasyonu desteklerken, apoptozis karşıtı görev almaktadır (6,7,8,46). Bu yollar, myelom hücresi ekstraselüler matriks proteinlerine ve stromal hücrelere bağlandığında

devreye girmektedir. Bunun dışında kemik iliği mikroçevresinde yerel olarak üretilen sitokin ve büyüme faktörleri de bu yolları aktive etmektedir (7,8,46). İnterlökin (IL)-6, insulin benzeri büyüme faktörü (IGF), IL-1 α , IL-1 β , hepatosit büyüme faktörü (HGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), stromal kaynaklı büyüme faktörü (SDF-1, CXCL12 olarak da bilinir), tümör nekroz faktörü (TNF)- α ve Notch ailesi bu sitokin ve faktörlerden en iyi bilinenleridir (7, 8,46).

Kemik iliği stromal hücreleri, myelom hücresinin yaşamasında mikroçevrenin en önemli komponenti olarak kabul edilmektedir (6,7,9). Kemik iliği stromal hücreleri; hematopoetik kök hücreler, fibroblastlar, osteoblastlar, osteoklastlar, kondroblastlar, endotelyal hücreler, T lenfositler, makrofajlar ve mast hücreleridir (9,10). Myelom hücresinin kemik iliği stromal hücresine adezyonu; proliferasyonuna ve yaşamasına katkıda bulunmaktadır (6-8). Stromal hücreler bu desteği iki mekanizma ile sağlamaktadır: 1) Doğrudan integrinler aracılığı ile hücre-hücre adezyonu oluşmakta; bunun sonucunda myelom hücresinde hücre içi sinyal mekanizmaları aktive olmaktadır. 2) Hücre-hücre adezyonu sonucunda parakrin (stromal hücre kaynaklı) ve otokrin (myelom hücresi kaynaklı) sitokin ve büyüme faktörlerinin sekresyonu başlatılır (7,46). Stroma hücrelerinden birisi olan makrofajların, myelom hücresinin yaşamı ve kemoterapiye yanıtına da etkisi bulunmaktadır. Nitekim, bir in vitro çalışmada makrofajlarla kültüre edilen myelom hücrelerinin deksametazon ve melfalanın başlattığı apoptozisten korunduğu gösterilmiştir (11). Sağlıklı osteoklastlar ile

myelom hücreleri kültüre edildiklerinde myelom hücrelerinin canlılıklarının arttığı ve daha uzun süre yaşadıkları gösterilmiştir (47).

Kemik iliği mikroçevresi ile myelom hücre etkileşmesi sırasında ortaya çıkan önemli bir aşama da kemik iliği anjiogenezidir (9,48,49). Mikrodamar yoğunluğunun (MVD) MM hastalarında MGUS'a göre artmış olduğu gözlenmiştir (48,49). Ayrıca kemik iliği MVD artışı ile kötü prognozun ilişkili olduğu gösterilmiştir (48,50). Myelom hücreleri, anjiogenez için gerekli olan fibroblast büyüme faktörü (FGF) (9,48,51,52,53), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) (49,53), VEGF (9,48,51,53), HGF (49,51) gibi büyüme faktörleri, IL-6 (9,48), TNF- α (9,48,49,52) gibi sitokinleri ve ekstraselüler matriksi sindirmek için metalloproteinaz (38,39), ürokinaz tip plazaminojen aktivatör (48,49) gibi enzim ve inhibitörleri; doğrudan kendileri ürettikleri gibi, kemik iliği stromal hücrelerini uyararak da bu hücrelerin de anjiogenetik faktörler ve parçalayıcı enzimler üretmelerini sağlamaktadır.

Müльтиpl myelomda mikroçevrenin öneminin anlaşılması ile sadece myelom hücrelerini değil mikroçevreyi de hedef alan tedaviler gündeme gelmiştir. Doğrudan kemik iliği stromal hücrelerinin hedef alınması normal hematopoezi de etkileyebileceğinden, esas itibarıyla anormal olarak aktivasyon gösteren sinyal yolları ve büyüme faktörlerinin hedef alındığı tedaviler geliştirilmeye çalışılmıştır (8). Son yıllarda yoğun olarak kullanılan Bortezomib gibi proteozom inhibitörleri, immunomodülatör ilaçlar [IMiD (thalidomide ve lenalidomid)] myelom hücrelerinin yanı sıra mikroçevre üzerinde de etki göstermektedir.

Bortezimib NF- κ B yolağını inhibe ederken, IMiD anjiogenezi inhibe etmektedir (54,55). Her iki grup ilaç başka mekanizmalarla da etki göstermektedir. IMiD anjiogenezi inhibe etmenin yanı sıra; adezyon moleküllerini azaltarak myelom hücrelerinin stromal hücrelere ve ekstraselüler matriks proteinlere adezyonunu bozmakta, doğrudan apoptozisi başlatmakta ve sitokin sentezini azaltmakta ayrıca T ve NK hücrelerini myelom hücrelerine yanıt vermek üzere uyarmaktadır (54,55,56). Bortezomib de IMiD gibi sadece anjiogenezi inhibe etmekle kalmaz; adezyon moleküllerini azaltarak myelom hücrelerinin stromal hücrelere ve ekstrasellüler matriks proteinlere adezyonunu bozmakta, doğrudan apoptozisi başlatmakta ve sitokin sentezini azaltmaktadır (54,55) Myelom hücresi ve mikroçevre etkileşimini hedef alan bir çok yeni ilacın da in vitro ve klinik çalışmaları devam etmektedir. (8,55,57).

2.2. Tümör İlişkili Makrofajlar

2.2.1. Makrofajlar

İnsan tümörlerinde lökositlerin de bulunduğu ilk kez Virchow tarafından 1963 yılında gösterilmiştir (12). Günümüzde, tümör dokusunda bulunan lökosit infiltrasyonunun büyük bir kısmını makrofajların oluşturduğu bilinmektedir (12-15). Monositler makrofaja dönüşürken, dokudaki yerel özgül sinyaller arasındaki dengeye göre, 2 farklı fonksiyona sahip makrofaja (M1 ve M2) dönüşmektedir (13,16,18,19,20). İnterferon (IFN)- γ ile klasik olarak aktive olan M1 makrofajlar,

mikroorganizmaları ve tümör hücrelerini öldüren, fazla miktarlarda proinflamatuvar sitokinler salgılayan güçlü etkilere sahip hücrelerdir (13,15,16,17,18,21). İnterlökin-4, IL-10 ve IL-13 gibi sitokinler ve glukokortikoidler ile karşılaşan makrofajlar ise alternatif olarak M2 hücresine dönüşürler (13,15,17,18). İnterlökin-4 uyarısı ile aktive olan M2 makrofajlar çoğunlukla doku tamiri, dokunun yeniden şekillendirilmesi, immunregülasyon ve tümör hücrelerinin desteklenmesinde rol oynamaktadır (49,56). M1 ve M2 olarak polarize olan makrofajlar ürettikleri sitokin ve kemokinler ile fonksiyonları açısından da farklılıklar göstermektedir (15,18). M1 makrofajlar yüksek miktarda IL-12, IL-23 ve TNF- α üretirken, M2 makrofajlar IL-10, IL-1, reseptör antagonisti (IL-1ra) ve tip II decoy reseptörü üretmektedir (15,18,21). M1 makrofajlarda arginin metabolizması yüksek indükte edilebilir nitrik oksit sentaz (iNO) üretimi ile karakterize iken, M2 makrofajlarda ornitin ve poliamin üretimi ön plandadır (15,18).

M1 ve M2 makrofajlar etkileşim halinde buldukları T lenfositler açısından da farklılık göstermektedir (15,21). T_H1 lenfositleri IFN- γ salgılayarak M1 polarizasyonunu (15,21), M1 makrofajları aktive olduktan sonra IL-12, CXCL9 ve CXCL10 gibi bazı sitokin ve kemokinleri salgılayarak T_H1 hücrelerinin aktivasyonu ve bölgeye toplanmasını sağlamaktadır (21). M2 makrofaj polarizasyonu ise T_H2 hücrelerinin salgıladığı IL-4 ve IL-13 aracılığı ile oluşmaktadır (15,21). Aktive olan M2 makrofajlar da salgıladıkları CCL17, CCL22 ve CCL24 aracılığı ile T_H2 hücrelerinin bölgeye toplanmasını sağlayarak

yanıtı arttırmaktadırlar (21). Regülatuar T (Treg) hücreleri de makrofaj fonksiyonlarını önemli ölçüde etkilemektedir (21). İnsan monosit kültüründe $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg hücrelerinin monositleri M2 makrofajlara dönüştürdüğü gösterilmiştir (21). Bu makrofajlar artmış CD163, CD206 ve CCL18 ekspresyonu ile karakterize olup daha sonra CCL22 üreterek Treg için güçlü bir kemoatraktan etki göstermektedir (21).

2.2.2. Tümör İlişkili Makrofajlar

Tümör dokusunda yer alan tümör ilişkili makrofajlar (TİM) çoğunlukla M2 makrofaj yapısındadır (12-15). Tümör hücre ürünleri, ekstrasellüler matriks komponentleri, IL-10 ve kemokinler; makrofajları aktive ederek onları tümör koruyucu M2 makrofajlar haline dönüştürmektedir (13,15). Melanom, meme, over, kolorektal, pankreatik ve mesane kanseri gibi birçok tümörde artmış TİM infiltrasyonu ile kötü prognoz arasında bir ilişki gösterilmiştir (15-17). Tümör ilişkili makrofajlar genellikle tümör dokusunun damarsız, nekrotik ve hipoksik bölgelerini infiltre etmektedir (12,17,18).

Monositlerin dolaşımdan tümör dokusuna çekilerek burada TİM'e dönüşümünden kemokinler sorumlu tutulmaktadır (12,13,18). Monositlerin kan akımından çekilmesinden sorumlu tutulan kemokinler 4 gruba ayrılmaktadır: CXC, CC, C ve CXC3 (12). Bazı CC kemokinler (12,13,18), özellikle CCL2 (MCP-1 olarak da bilinir.) (12,18,16,20) ve CCL5 (RANTES) (12,20) özel olarak

monositlerin tümör bölgesine çekilmesinde ve aktivasyonunda görev yapmaktadır. CCL2 ve CCL5, tümör hücreleri (12,18), fibroblastlar, endotel hücreler, hatta TİM (12,18), tarafından üretilmekte olup tümör dokusunda bulunan TİM infiltrasyonu ile pozitif bir ilişim göstermektedir (12). CCL2 ve CCL5, monosit toplanmasında önemli olmakla birlikte bazı kanserlerde arttığı gösterilememiştir. Örneğin prostat kanserinde CCL2 mRNA sentezinin benin prostat hiperplazisine göre azaldığı gösterilmiştir (12). Ayrıca, TİM düşük oranda CXCR1 ve CXCR2 ve onların bağlandığı CXCL8 ifade etmektedir. CXCL8 ise tümör dokusu tarafından monositlerin bölgeye çekilmesinde rol oynamaktadır (12,18). Bunun dışında birçok değişik kemokinin (CXCL12, CXCL1, CXCL13, CCL5, CCL17, CCL22) neoplastik dokularda ve stromal hücrelerde varlığı tespit edilmiştir (18).

Kemokinlerin yanı sıra bazı sitokinler de monositlerin tümör dokusunda toplanmasında rol oynamaktadır. Bu sitokinler arasında yer alan koloni stimüle edici faktör 1 (CSF-1), monosit ve makrofaj olmak üzere pek çok hücreden salgılanıp; mononükleer hücre büyümesini, farklılaşmasını ve hücre yaşamını düzenlemektedir (12,18). Koloni stimüle edici faktör-1 ve reseptörünün ifadenmesinin değişik tümör dokularında arttığı gösterilmiştir. Koloni stimüle edici faktör-1 ifadenmesi ile TİM infiltrasyonu arasında güçlü bir ilişim olduğu gösterilmiştir (12,15).

Monositlerin tümör dokusunda toplanmasında önemli olan bir diğer sitokin VEGF'tir (12,18). Yakın zamanda VEGF ekspresyonu ile TİM infiltrasyonu arasında pozitif bir ilişim olduğu gösterilmiştir (17,18).

Daha az tanımlanmış olan endotelial monosit-aktive edici polipeptid II (EMAP II) mRNA'sı ve öncülünün birçok tümör dokusunda ifadenmesinin arttığı gösterilmiştir. Endotelial monosit aktive edici polipeptid II'nin üretilmesi, makrofajların apoptoz ve nekroz alanlarına toplanmasını sağlamaktadır (12).

Küçük vazojenik ve mitojenik peptid olan endotelin 1-3 değişik hücrelerden salgılanmaktadır. Bunlardan endotelin-1'in reseptörü monositlerde bulunup, kemoatraktan özelliğe sahiptir (12).

2.2.3. Tümör ilişkili makrofajların fonksiyonları

Tümör ilişkili makrofajlar; epidermal büyüme faktörü (EGF), IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler ve CXCL12 gibi kemokinler salgılayarak doğrudan tümör hücrelerinin yaşamasını, çoğalmasını, migrasyonunu ve metastazını desteklemektedir (15,17,18).

Tümör ilişkili makrofajların önemli fonksiyonları; tümör büyümesi ve ilerlemesinde çok önemli bir yere sahip olan anjiogenez ve dokunun yeniden yapılandırılmasındaki etkileridir (12,21). Tümör ilişkili makrofajlar genellikle tümör dokusunun avasküler, nekrotik ve hipoksik bölgelerini infiltre etmektedir (12,15,17,18,20). Hipoksinin uyardığı faktör (HIF)-2 α ve HIF-1 ifadenmesi TİM'de ve tümör hücrelerinde artarak bu hücreleri hipoksik strese karşı dayanıklı hale getirmektedir (15,19). Birçok kanserde MVD ile makrofaj infiltrasyonunun ilişim gösterdiği gözlenmiştir (15,58). Tümör ilişkili makrofajlar, kötücül

hücrenin proliferasyonunu, neoanjiogenezi, bağ dokusunun eritilmesi ve depolanmasını sağlayacak birçok büyüme faktörü üretmektedir (18,17). Epidermal büyüme faktörü (16,17,19,20,21), FGF (15,17,19,20), TGF (15,17,20), VEGF (15,16,19,20,21), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) (15,17,20) bu faktörler arasında yer almaktadır. Ayrıca ekstraselüler matriksi sindirmek için enzim ve inhibitörler üretirler. Bunlardan bazıları metalloproteinazlar (MMPs), plazmin, ürokinaz tip plazaminojen aktivatördür (15-19). Bütün bu mekanizmalar aracılığı ile bazal membran parçalanmakta; diğer ekstraselüler matriks elemanları yıkılmakta; yerel vasküler sistem stabilize olmakta; böylece endotelial hücrelerin migrasyonu ve proliferasyonu sağlanarak yeni damar yapıları meydana getirilmektedir. Ayrıca bu proteolitik aktivite, metastaz sırasında tümör hücrelerinin migrasyonuna ve damar dışına çıkmasına katkıda bulunmaktadır (15,19).

Tümör ilişkili makrofajlar prostaglandinler, IL-10 ve TGF- β salgılayarak efektör T hücre aktivasyonu ve proliferasyonunu inhibe ederken, Treg hücrelerini uyarmaktadır (17,18).

İnfeksiyon sırasında, makrofajlarda ferroportin sentezi azaltılıp ferritin sentezi artırılarak demir salınımı azaltılmaktadır. Bu şekilde demirin mikroorganizmalar tarafından kullanımı önlenmektedir (21,59). M2 makrofajlar ise ferroportin sentezini artırıp, ferritin sentezini azaltarak demir salınımı arttırmaktadır (21,59). Demir hücrede, oksijen transportunda, hücre solunumunda, DNA replikasyonunda ve hücre büyümesinde gerekli olan demir içeren

proteinlerde kullanılır (21,59). Tümör ilişkili makrofajlar yüzeyinde hem yakalayıcısı olarak bilinen CD163 reseptör aracılığı ile haptoglobin-hemoglobin kompleksini hücre içerisine alarak, tümör hücreleri için gerekli olan demir kaynağını oluşturmaktadır (21,59).

2.2.4. Tümör ilişkili makrofaj ve NF- κ B yolağı ilişkisi

NF- κ B yolağının aktivasyonu, mikrobiyal veya inflamatuvar uyarılara karşı makrofajların yanıt vermesinde (TNF-alfa, IL-1, IL-12 ve NO üretimi gibi) kritik öneme sahip olup, NF- κ B'nin aktive olması klasik M1 polarizasyonu ile sonuçlanmaktadır (13,60). Bunun için p50/p65 NF- κ B heterodimerleri inflamatuvar genlere bağlanarak, onarı aktif hale getirmektedir (60). Tümör ilişkili makrofajlarda ise NF- κ B aktivasyonu kusurlu olup, NF- κ B bağımlı inflamatuvar fonksiyonlar (NO üretimi, TNF- α , IL-1 ve IL-12 gibi sitokinlerin üretimi) yerine getirilememektedir (13,17,60). Tümör ilişkili makrofajlardaki kusurlu NF- κ B aktivite, P50 NF- κ B homodimerlerinin hücre içinde birikmesi sonucunda oluşmaktadır (61). P50'nin eksik olduğu farelerde ise, M1 makrofaja polarizasyon ve bununla ilişkili olarak inflamasyonda artış olduğu gösterilmiştir (61,62). Ayrıca NF- κ B yolağı TİM'de aktive edildiğinde, TİM'lerin tümörisidal bir fonksiyon kazanarak, tümör regresyonu sağladığı gösterilmiştir (63). Bütün bu çalışmalar, tümör tedavisinde TİM'de NF- κ B yolağını ciddi bir hedef haline getirmektedir

2.2.5. Tedavide makrofaj

Tümör ilişkili makrofajların; tümör hücrelerinin yaşaması, çoğalması, tümör dokusunun anjiogenezi ve yayılmasındaki rolü düşünülecek olursa, TİM'i hedef alacak olan tedaviler kanser tedavisine önemli bir katkı sağlayabilir. İn vitro ve in vivo çalışmalarda TİM'i hedef alan moleküller ile ilgili ümit veren çalışmalar vardır.

CCR1 ve CCR5; monositlerin kan akımından çekilerek TİM'e dönüşümünden sorumlu tutulan kemokinlerden biri olan CCL5'in reseptörüdür (12,20). Met-CCL5 ise CCR1 ve CCR5 antagonistidir (64). Met-CCL5, 410.4 kodlu tümör dokusu inoküle edilen farelere 5 gün intraperitoneal olarak verilmiş ve bunun sonucunda makrofaj infiltrasyonunda ve tümör dokusunda belirgin bir azalma olduğu gözlenmiştir (64).

Trabectedin, TİM'e doğrudan toksik olduğu, TİM'den CCL2 üretimini azalttığı ve monositlerin TİM'e farklılaşmasını inhibe ettiği gösterilmiş olan, denizde yaşayan Ecteinascidia turbinata kaynaklı doğal bir moleküldür (65). Tümör ilişkili makrofajlar üzerinden, etki eden trabectedinin in vivo olarak da yumuşak doku sarkomu, meme ve over kanseri gibi kanserlerde etkili olduğu gösterilmiştir (66).

Bu konuda en umut verici gelişme ise MM tedavisinde sıklıkla kullanılan bifosfonatların TİM üzerinde etkili olmalarıdır. Bifosfanatlar apoptozisi uyararak, tümör hücrelerinde proliferasyonu azaltmaktadır. Ayrıca tümör

hücrelerinin adezyon, migrasyon ve invazyonunu azaltıp, anjiogenezi azaltmaktadır. Bifosfonatların, tümör hücrelerinin yanı sıra makrofaj benzeri hücrelerde de proliferasyon, migrasyon ve invazyonu azalttığı bu hücrelerde de apoptozise sebep olduğu gösterilmiştir (67). Bazı deneysel çalışmalarda lipozomal klodranatın tek başına (68) ya da anti-VEGF antikorlar (69) ile birlikte kullanıldığında TİM'de ve dolayısıyla tümör dokusunda azalamaya sebep olduğu gösterilmiştir. Bifosfanatlar hücreler üzerindeki doğrudan toksitesi dışında, MMP-9, VEGF ve PDGF gibi anjiogenezde rol oynayan moleküllerin sentezini de azaltmaktadır (67). Ayrıca zoledronik asitin M2 makrofajları, M1 makrofajlara dönüştürerek tümör dokusunu azalttığı gösterilmiştir (67).

Makrofaj polarizasyon mekanizmasının anlaşılmasına başlanmasıyla, M2 TİM'lerin anti tümöral makrofaj tipine dönüşmesi gündeme gelmiştir (17). Toll-bezeri reseptör 9 ligandı CpG ve anti IL-10 reseptör antikorları ile tümör dokusunda M2'den M1'e polarizasyon sağlandığında, tümör dokusunda 16 saat gibi çok kısa bir sürede gerileme sağlandığı gösterilmiştir (70).

2.2.6. Tümör ilişkili makrofajların histopatolojik olarak tespit edilmesi

Monosit/makrofaj hücrelerin saptanabilmesi için birçok yüzey farklılaşma antijeni (CD)'ine karşı monoklonal antikor geliştirilmiştir. Ancak formolin ile fikse edilerek; parafin bloklama yapılan dokuda bu antikorların birçoğu çalışmamaktadır (71). Bu monoklonal antikorlardan en sık kullanılanı CD68'e

karşı oluşturulan monoklonal antikordur. Diğer yüzey antijenlerinden farklı olarak CD68 molekülü heterojen olup Y2/131, Y1/82A, EBM11, Ki-M6, KiM7, KP1 ve PG-M1 monoklonal antikoları tarafından tanınır (71,72). Parafin bloklama yapılan dokularda, PG-M1 monoklonal antikor sadece monosit/makrofaj sistemi hücrelerini boyarken, örneğin KP1 ve EBM11 monoklonal antikolar granülosit ve myeloid prekürsörleri de boyamaktadır (71,72). Dolayısıyla özgül ve güçlü bir boyama yapması ve örneklerin hazırlanması sırasında uygulanan işlemlerde çok hassas olmaması sebebi ile monosit/makrofaj sistemi hücrelerinin tespitinde C68'e karşı oluşturulan antikordardan PG-M1 monoklonal antikoru daha uygun bulunmaktadır (71).

Ancak PG-M1 monoklonal antikoru ile makrofajların boyanması özgül olmayıp, makrofajların alt gruplarının tespiti için başka moleküller gündeme gelmiştir (73). M2 makrofajlar için CD163 ifadenmesi oldukça özgül olup, in vitro olarak, monositler IFN- γ , TNF- α ve lipopolisakkarit gibi M1 makrofaj aktivasyonu sağlayan sitokinler ile inkübe edildiğinde CD163 ifadenmesinin azaldığı, IL-4, IL-10 ve G-CSF gibi M2 makrofaj polarizasyonu sağlayan sitokinler ile CD163 ifadenmesinin arttığı gözlenmiştir (74). CD163 transmembran bir protein olup hemoglobin-haptoglobin kompleksinin endositozundan sorumludur (75). Tümör ilişkili makrofajlar CD163 reseptör aracılığı ile haptoglobin-hemoglobin kompleksini hücre içerisine alarak, tümör hücreleri için gerekli olan demir için kaynak oluşturmaktadır (21,59). Parafinize

edilmiş dokularda da CD163'ün monosit/makrofaj sistemine özgül boyama yaptığı gösterilmiştir (73,75).

Multipl myelom patogenezinde mikroçevrenin ve anjiogenezin önemi ve TIM ile anjiogenez arasındaki ilişki göz önünde bulundurulur ise, MM'da TIM infiltrasyonu gerek patogeneizde gerekse prognozda önemli olabilir. Bu çalışma ile MM tanısı alan hastaların tanı anı kemik iliği biyopsisinde makrofaj infiltrasyon derecesini ve bunun prognozdaki önemini saptamak amaçlanmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı'nda Ocak 2000-Ocak 2011 yılları arasında MM tanısı alan hastaların verileri temel alınarak yapılmıştır. Patolojik incelemeler ise Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Hastalar

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı'nda tanı almış ve tanı anı kemik iliği biyopsi patoloji bloklarına ulaşılabilen toplam 68 MM hastası alındı. Hastaların demografik verileri, MM evresi, tanı sırasında bakılan SİF, İİF, Ig G, M ve A düzeyleri, serum total ve serbest hafif zincirleri, kemik iliği biyopsi plazma hücre oranları, kemik iliği amiloid varlığı, kemik iliği fibroz düzeyi, Hb, beyaz küre, platelet düzeyleri, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), Ca⁺⁺, LDH, β₂ mikroglobulin düzeyleri, kemik lezyonlarının durumu ve aldıkları tedaviler dosya bilgilerinden kaydedildi. Hastaların indüksiyon sırasında aldıkları tedaviye olan yanıtları IMWG kriterlerine göre değerlendirildi (29,45).

3.2. İmmunhistokimyasal olarak makrofajların tespit edilmesi

Müльтиpl myelom olgularında makrofaj infiltrasyonunu saptamak için kemik iliği biyopsilerinden hazırlanan kesitlerde CD68 ve CD163 ile immunhistokimyasal boyama yapılarak değerlendirme yapıldı. Bunun için CD68

(PG-M1 klonu, monoklonal, IgG1 izotipi, Abcam, UK) ve CD163 (10D6 klonu, monoklonal, Novocastra) antikorumu kullanıldı.

3.2.1. İmmunhistokimyasal boyama

Parafin bloklarda bulunan kemik iliği biyopsilerinden hazırlanan kesitler CD163 ve CD68 antikorumu ile boyanırken sırası ile aşağıdaki yöntemler uygulanmıştır:

1. Polizinli lam üzerine mikrotom (Leica, Germany) ile alınan 4 mikronluk kesitler, sırası ile 65°C'de 30 dakika ve ksilende 30 dakika bekletilerek deparafinize edildi.
2. Fiksasyon için %96'lık alkolde 20 dakika bekletildi.
3. Kesitler sırası ile çeşme suyu ve distile su ile yıkandı.
4. Antijen retrieval işlemi için sitrat buffer (pH=6) kullanıldı.
5. Endojen peroksidazın bloke edilmesi için %3'lük hidrojen peroksitte (H₂O₂) 15 dakika bekletildi. Ardından kesitler fosfat ile tamponlanmış salin (PBS) ile yıkandı.
6. Protein bloklama için non-immun protein bloklama serumunda 1 dakika tutuldu ve ardından kurulandı.

7. Primer antikor olan CD163 ve CD68 kesitlere, kapatacak şekilde damlatıldı (Her iki antikor ayrı lamlara damlatıldı). Oda sıcaklığında 2 saat bekletildi. Ardından kesitler PBS ile yıkandı.
8. Bağlayıcı (sekonder) antikor ile oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Ardından kesitler PBS ile yıkandı.
9. Streptavidin-biyotin kompleksi uygulanarak 30 dakika bekletildi. Ardından kesitler PBS ile yıkandı.
10. Renk vererek görüntüyü sağlamak amacı ile AEC ile 10 dakika süre ile inkübasyon yapıldı. Ardından kesitler distile su ile yıkandı.
11. Mayer's hematoksilen ile zemin boyası yapıldı.
12. Kesitler PBS yıkanarak havada kurutuldu.
13. Su bazlı kapatıcı ile kapatıldı.

3.2.2. CD68 ile immünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi:

Mikroskop ile 40'lık büyütmede 5 alan değerlendirildi. Her alanda CD68 ile pozitif boyanan hücreler tek tek sayılarak ortalaması alındı. (Şekil 1-2)

3.2.3. CD163 ile immünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi:

Mikroskop ile 40'lık büyütmede 5 alan değerlendirildi. Her alanda CD163 ile pozitif boyanan hücreler tek tek sayılarak ortalaması alındı. (Şekil 3-4)

3.3. Morfolojik değerlendirme

Plazma hücre histolojik tipi ve plazma hücre infiltrasyon patterni, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyalı preparatlarda derecelendirilmiştir.

3.3.1. Barthl derecelendirmesi

1. Düşük dereceli:

Marshalko: Bazofilik sitoplazmalı, ekzantrik yerleşimli araba tekerleğine benzer kromatin patternine sahip, perinükleer halolu ve az sayıda belirsiz nükleollü nükleus içeren; az mitotik figür gösteren, primer interstisyel infiltrasyon patterni ile karakterli hücrelerdir.

Küçük hücreli: Marshalko'dan küçük çapta, yuvarlak lenfosit benzeri nükleuslu, dar bazofilik sitoplazmalı hücrelerdir

2. Orta dereceli:

Çentikli: Küçük perinükleer halo içeren, değişik büyüklükte çentikli nükleuslu, yüksek nükleus/sitoplazma oranına sahip hücrelerdir.

Polimorfoz: Sellüler ve nükleer polimorfizm gösteren, %25 oranda santral yerleşimli belirgin nükleol içeren hücrelerdir.

Asenkron: Nükleus-sitoplazma matürasyonunun senkron olmadığı, geniş bazofilik sitoplazmalı, >%50 hücrede santral yerleşimli belirgin nükleol içeren, belirgin perinükleer halo ile karakterli nüklusa sahip hücrelerdir.

3. Yüksek dereceli:

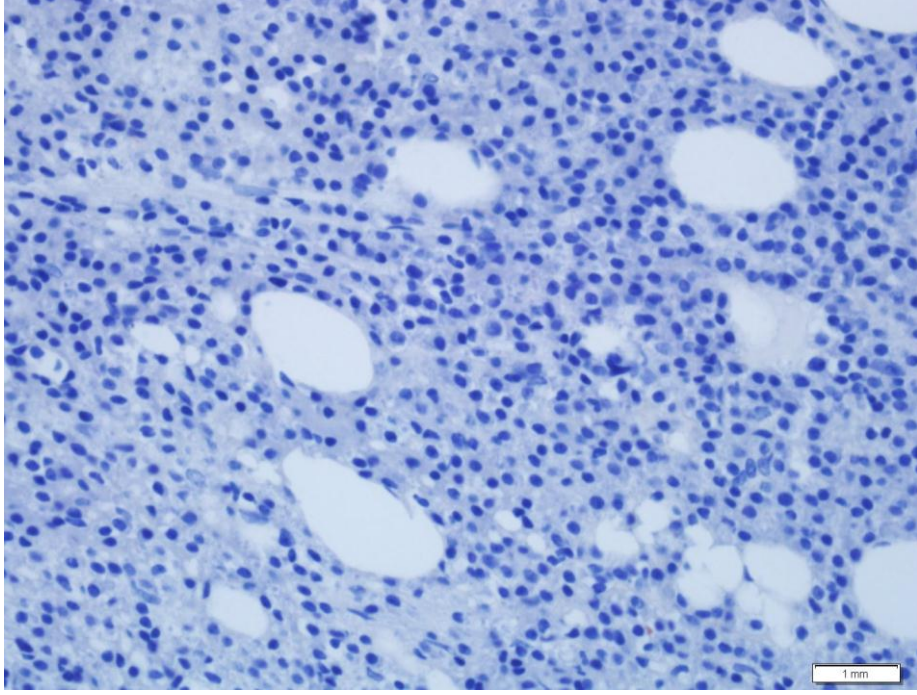
Blastik: Orta derecede bazofilik sitoplazmalı, santral yerleşimli belirgin nükleol ve belirsiz perinükleer halo içeren büyük nükleuslu hücrelerdir. (76)

3.3.2. Plazma hücre infiltrasyon patterni

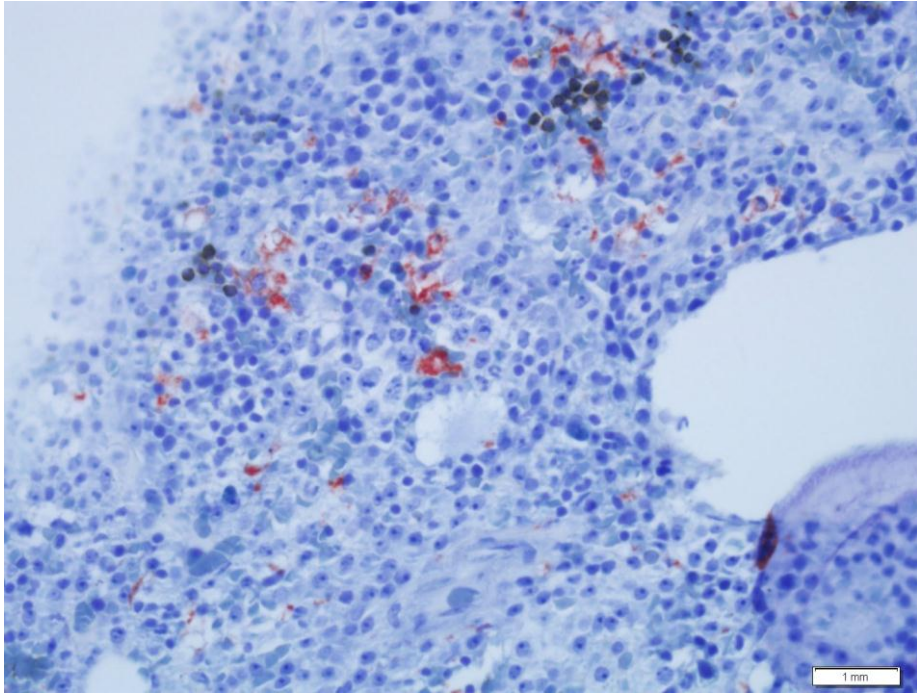
1. Düşük dereceli infiltrasyon patterni: Plazma hücre infiltrasyonu, interstisyel veya interstisyel tabakalar halinde bulunur.

2. Orta dereceli infiltrasyon: Plazma hücre infiltrasyonu, interstisyel nodüler veya nodüler olarak izlenir.

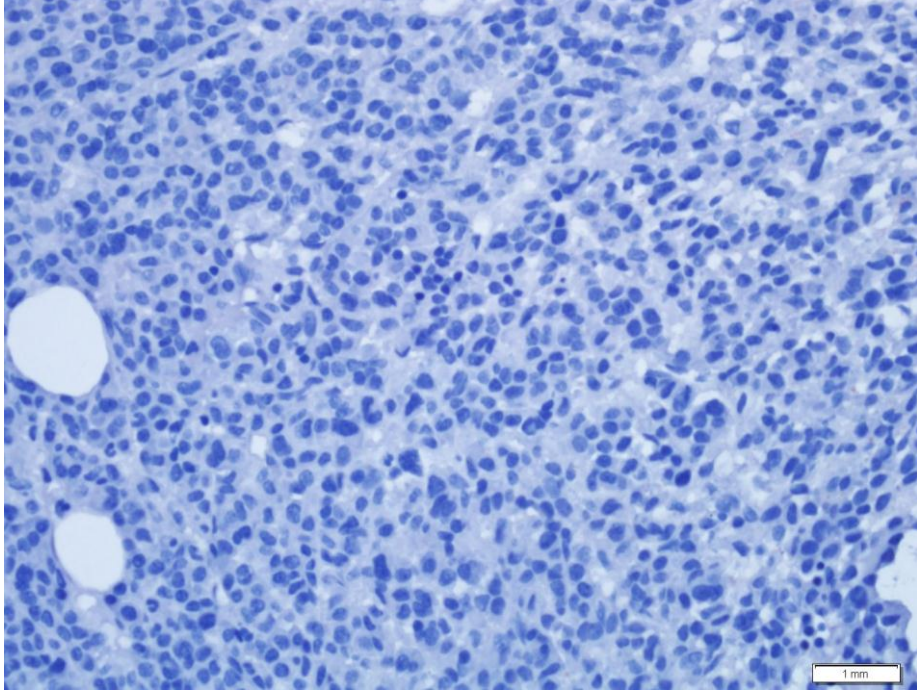
3. Yüksek dereceli infiltrasyon patterni: Plazma hücre infiltrasyonu sarkomatöz veya diffüz infiltrasyon patterni gösterir. (76)



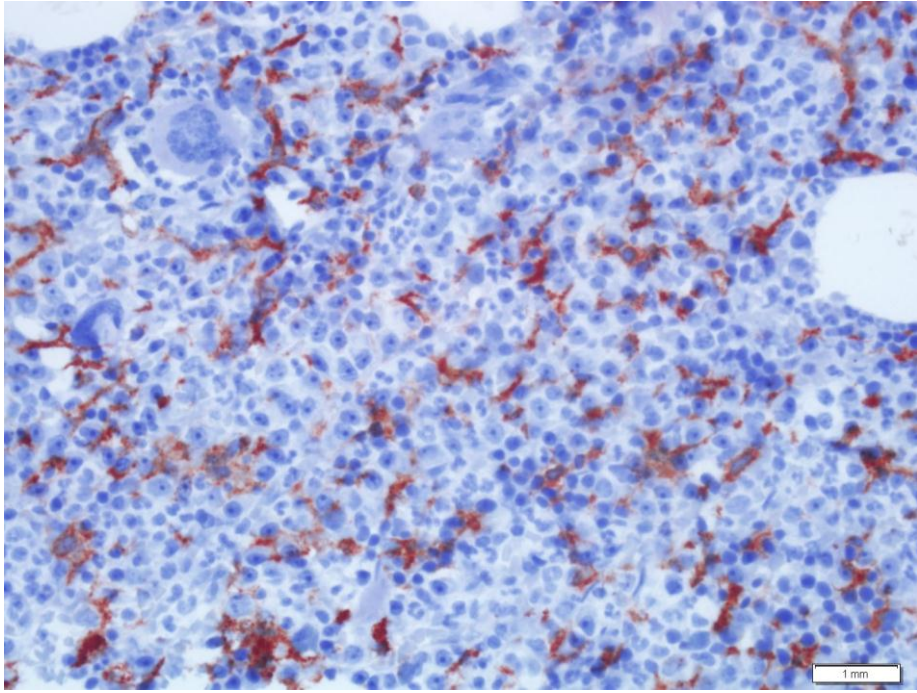
Şekil 1. CD68 negatif kemik iliği kesiti, (x400)



Şekil 2. CD68+ hücrelerin izlendiği kemik iliği kesiti, (x400)



Şekil 3. CD163 negatif kemik iliği kesiti, (x400)



Şekil 4. CD163+ hücrelerin izlendiği kemik iliği kesiti, (x400)

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada elde edilen veriler, SPSS 15 istatistik programında değerlendirilmiştir. Hasta gruplarının karakteristikleri için tanımlayıcı istatistik yapılmıştır. Kategorik değerler ki kare, kategorik olmayan değerler ise Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. CD68+ hücre sayısı ve CD163+ hücre sayısı arasındaki ilgileşimi tespit etmek için Spearman korelasyon analizi yapıldı. Tanı anından son vizit tarihine kadar geçen süre izlem süresi olarak belirlendi. Toplam ve 6 yıllık sağ kalım olasılığının hesaplanması için Kaplan Meier yöntemi kullanıldı. Sağ kalım analizinde gruplar arası farkın belirlenmesi için log-rank analizi yapıldı. CD68 ve CD163 pozitif hücre sayısının sağ kalıma etkisinin araştırılması için Cox-regresyon analizi kullanıldı. P değerinde 0.05 anlamlılık değeri olarak kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya toplam 68 MM tanılı hasta alındı. Hastaların ortanca yaşı 60 (min-maks, 40-84) olup, 36'si erkek, 32'si kadın idi. Durie- Salmon evreleme sistemine göre tanı anı 8 (%12) hasta evre IA, 8 (%12) hasta evre IIA, 1 (%1,5) hasta evre IIB, 40 (%58,5) hasta evre IIIA ve 11 (%16) hasta evre IIIB idi. ISS evreleme sistemine göre ise 25 (%48) hasta evre I, 13 (%25) hasta evre II ve 14 (%27) hasta evre III olarak değerlendirildi. Hastaların tanı anı ortanca serum alb düzeyi 3,9 (min-maks, 1,6-6,7) mg/dl, ortanca β -2 mikroglobulin düzeyi 2,04 mg/dl (min-maks, 0,1-38,1), ortanca Hb düzeyi 9,2 g/dl (min-maks, 6-16,6), ortanca Ca^{++} düzeyi 9,1 mg/dl (min-maks, 7,6-13), ortanca LDH düzeyi 169 IU (min-maks, 55-566), ortanca ESH düzeyi 85 mm/st (min-maks, 10-150) olarak bulundu. Kırk iki (%62 hastanın litik lezyonu ve 18 (%27) hastanın plazmasitomu vardı. Çalışmaya alınan hastaların genel özellikleri Tablo 5'te özetlenmiştir.

Salgılanan M protein tipine göre, 22 (%32) hasta IgG *kappa*, 23 (%33) hasta IgG *lambda*, 1 (%1,5) hasta IgM *lambda*, 7 (%10) hasta IgA *kappa*, 5 (%8) hasta IgA *lambda*, 1 (%1,5) hasta IgD *lambda*, 5 (%8) hasta *kappa* hafif zincir ve 4 (%6) hasta *lambda* hafif zincir tipinde myelom olarak değerlendirildi. Kırk sekiz (%71) hastanın total hafif zincir (total *kappa*/total *lambda* oranı (THZO) ve 46 (%68) hastanın SHZO'su anormal bulundu. Hastaların M protein özellikleri Tablo 6'da özetlenmiştir.

Hastaların kemik iliği biyopsisindeki ortanca plazma hücre oranı %60 (min-maks, %10-%100) olarak saptandı. Otuzdört (%50) hastanın kemik iliğinde

fibrozis, 3 hastanın (%4) kemik iliğinde ise amiloid tutulumu tespit edildi. Bartl derecelendirmesine göre 26 (%38,5) hasta düşük dereceli, 39 (%57) hasta orta dereceli, 2 (%3) hasta yüksek dereceli; kemik iliği paternine göre ise 22 (%32,5) hasta düşük dereceli, 15 (%22) hasta orta dereceli ve 30 (%44) hasta yüksek dereceli olarak değerlendirildi. Hastaların kemik iliği biyopsi özellikleri Tablo 7'de özetlenmiştir.

Tablo 5: Hastaların genel özellikleri

Hasta sayısı	n= 68
Ortanca yaş yıl (min-max)	60 (40-84)
Cinsiyet (erkek/kadın)	36/32
Durie-Salmon evrelemesi	
Evre IA	8 (%12)
Evre IIA	8 (%12)
Evre IIB	1 (%1,5)
Evre IIIA	40 (%58,5)
Evre IIIB	11 (%16)
ISS evrelemesi	
Evre I	25 (%37)
Evre II	13 (%19)
Evre III	14 (%21)
Bilinmeyen	16 (%23)
Ortanca alb (mg/dl), (min-maks)	3,9 (1,6-6,7)

Ortanca β_2 mikroglobulin (mg/dl), (min-maks)	2,04 (0,1-38,1)
Ortanca Hb, g/dl, (min-maks)	9,2 (6-16,6)
≥ 10.5 g/dl	24 (%35)
< 10.5 g/dl	44 (%65)
Ortanca kre, mg/dl, (min-maks)	1,12 (0,6-12,4)
≥ 2 mg/dl	12 (%18)
< 2 mg/dl	56 (%82)
Ortanca Ca ⁺⁺ , mg/dl, (min-maks)	9,1 (7,6-13)
≥ 11.5 mg/dl	8 (%12)
< 11.5 mg/dl	59 (%85,5)
Bilinmeyen	1 (%1,5)
LDH, (IU/dl) (min-maks)	169 (55-566)
Normal	54 (%80)
Yüksek	7 (%10)
Bilinmeyen	7 (%10)
ESH	85 (10-150)
Litik lezyon	
Var	42 (%62)
Yok	24 (%35)
Bilinmeyen	2 (%3)
Plazmasitom	
Var	18 (%27)
Yok	49 (%71,5)
Bilinmeyen	1 (%1,5)

Tablo 6: Hastaların M protein özellikleri

MM alttipi	n (%)
IgG- <i>kappa</i>	22 (%32)
IgG- <i>lambda</i>	23 (%33)
IgM- <i>lambda</i>	1 (%1,5)
IgA- <i>kappa</i>	7 (%10)
IgA- <i>lambda</i>	5 (%8)
IgD- <i>lambda</i>	1 (%1,5)
Serbest <i>kappa</i>	5 (%8)
Serbest <i>lambda</i>	4 (%6)
THZO	
Normal	7 (%10)
Anormal	48 (%71)
Bilinmeyen	13 (%19)
SHZO	
Normal	4 (%6)
Anormal	46 (%68)
Bilinmeyen	18 (%26)

Tablo 7: Hastaların kemik iliği biyopsi özellikleri

Kemik iliği biyopsi plazma hücre oranı	% 60 (% 10-% 100)
Fibrozis	
Var	34 (%50)
Yok	30 (%44)
Bilinmeyen	4 (%6)
Amiloid	
Var	3 (%4)
Yok	65 (%96)
Bartl derecelendirmesi	
Düşük dereceli	26 (%38,5)
Orta dereceli	39 (%57)
Yüksek dereceli	2 (%3)
Bilinmeyen	1 (%1,5)
Kemik iliği tutulum patterni	
Düşük dereceli	22 (%32,5)
Orta dereceli	15 (%22)
Yüksek dereceli	30 (%44)
Bilinmeyen	1 (%1,5)

İndüksiyon tedavisi olarak 37 (%54) hasta VAD (vinkristin/adraimisin/deksametazon), 10 (%15) hasta MP (melfelan/prednizolon), 11 (%16) hasta talidomid tabanlı bir tedavi, 5 (%7) hasta bortezomib tabanlı bir tedavi, 1 (%2) hasta lenalidomid tabanlı bir rejim almışken, 4 (%6) hasta tedavisiz izlenmekteydi. Yirmi sekiz (%44) hastanın indüksiyon tedavisine yanıtı (TY ya da

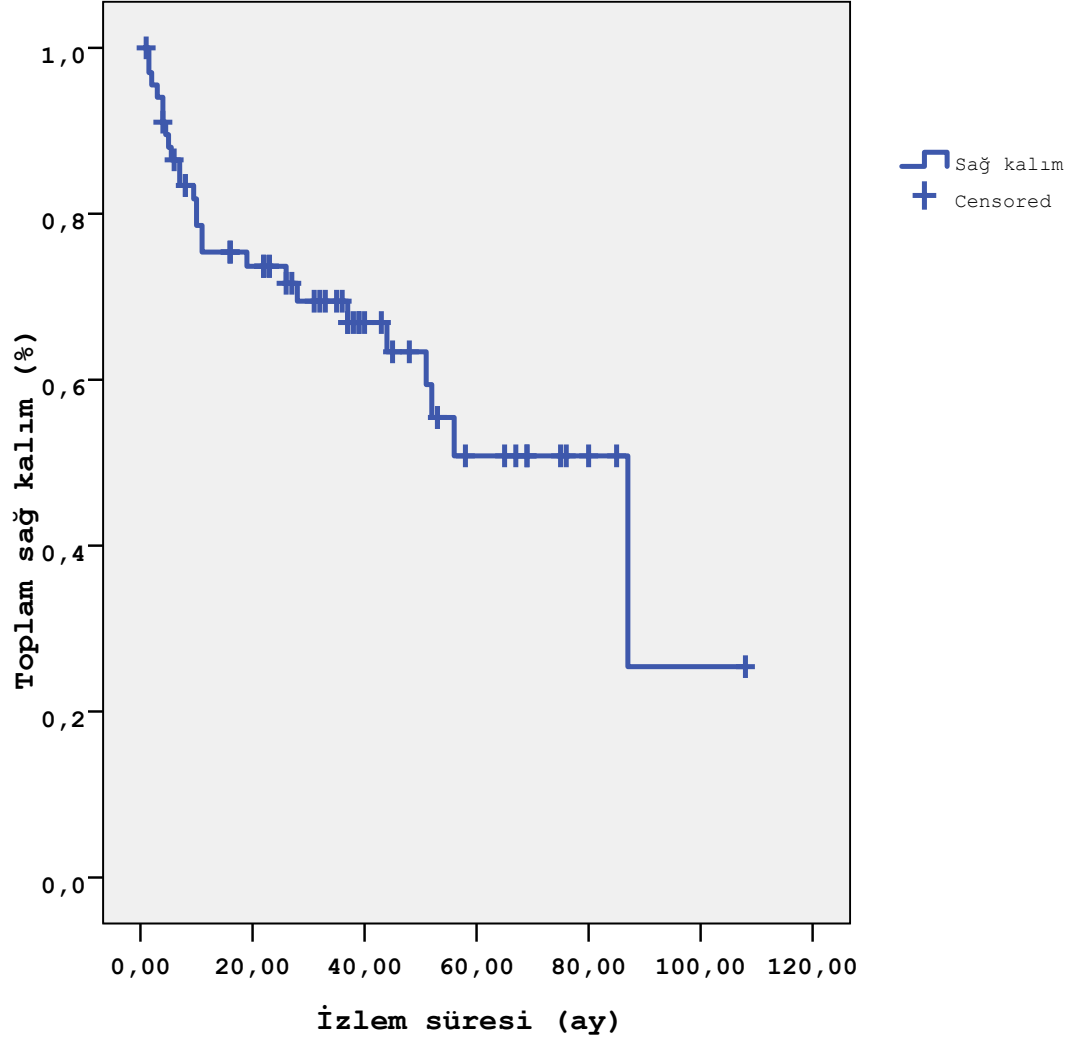
KY) var iken 31(%48) hastanın yanıtı yoktu. 5 (%8) hastada ise yanıt değerlendirmesi yapılamamıştı. Hastaların tedavi özellikleri Tablo 8’de özetlenmiştir

Tablo 8: Hastaların tedavi özellikleri

İndüksiyon tedavisi	n (%)
VAD	37 (%54)
MP	10 (%15)
Talidomid tabanlı rejimler	11 (%16)
Bortezomib tabanlı rejimler	5 (%7)
Lenalidomid tabanlı rejimler	1 (%2)
Tedavisiz izlem	4 (%6)
İndüksiyon tedavisine yanıt	n (%)
Yanıt var (TY veya KY)	28 (%44)
Yanıtsız	31 (%48)
Yanıt değerlendirmesi yapılamayanlar	5 (%8)

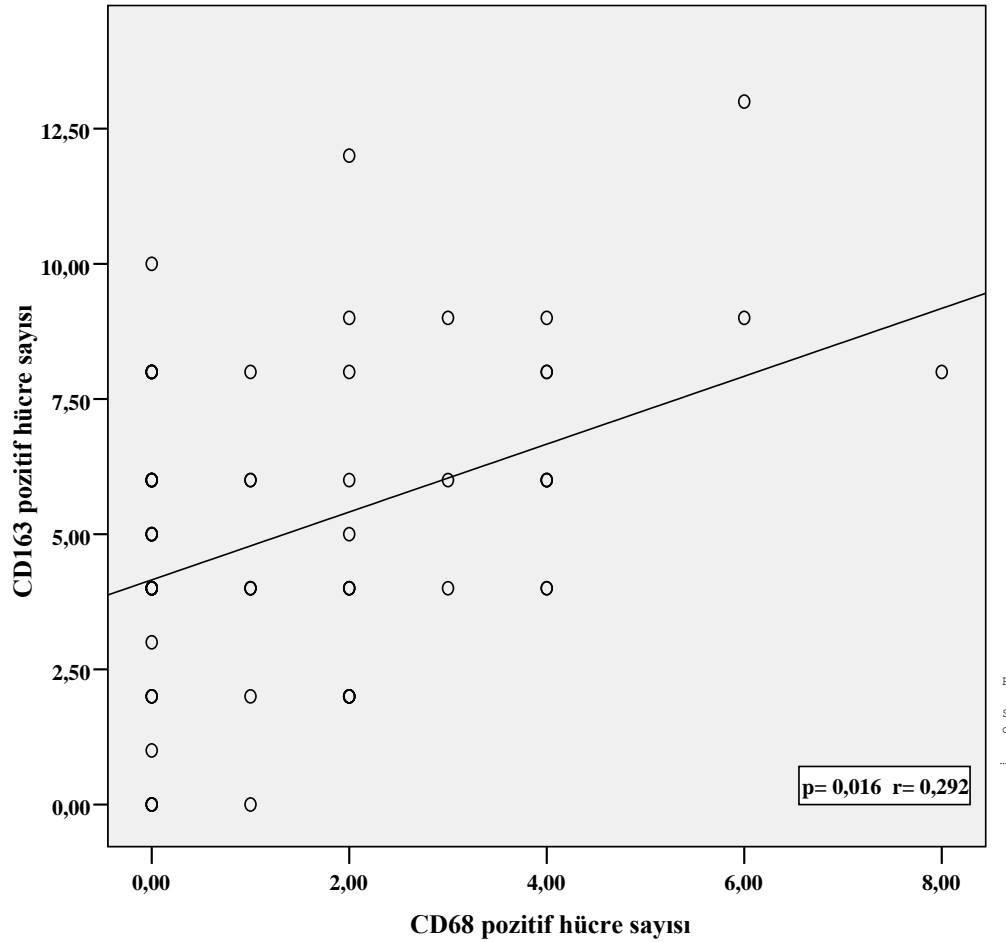
Kohortun ortanca 26,5 (min-maks, 1-108) aylık takip süresinde, 25 (%37) hasta eks olmuştu ve bu takip süresi sonunda toplam sağ kalım olasılığı %25 (Şekil 5) olarak bulundu. Ölen 19 (%76) hastada ölüm sebebi hastalık ilişkili, 1 (%4) hastada serbrovasküler olay ilişkili olarak bulundu. Dört (%16) hastanın 1.

kür kemoterapi sırasında, 1 hastanın ise 2. kür kemoterapi sırasında öldüğü saptandı.



Şekil 5. Tüm hastaların Kaplan Meier sağ kalım eğrisi

Hastaların CD68+ hücre sayısı ortanca 1 (min-maks, 0-8) ve CD163+ hücre sayısı ortanca 5 (min-maks, 0-13) olarak tespit edildi. CD68+ hücre sayısı ile CD163+ hücre sayısının ilgileşim gösterdiği saptandı (Şekil 6) ($p=0,016$). Ancak CD68+ ve CD163+ hücre sayısı kemik iliği biyopsi özellikleri (Barthl pattern, kemik iliği biyopsi plazma hücre oranı, kemik iliği fibroz derecesi), ISS evresi, yaş, cinsiyet ile ilgileşim göstermedi.



Şekil 6. CD163+ hücre sayısı ile CD68+ hücre sayısı arasındaki ilgileşim

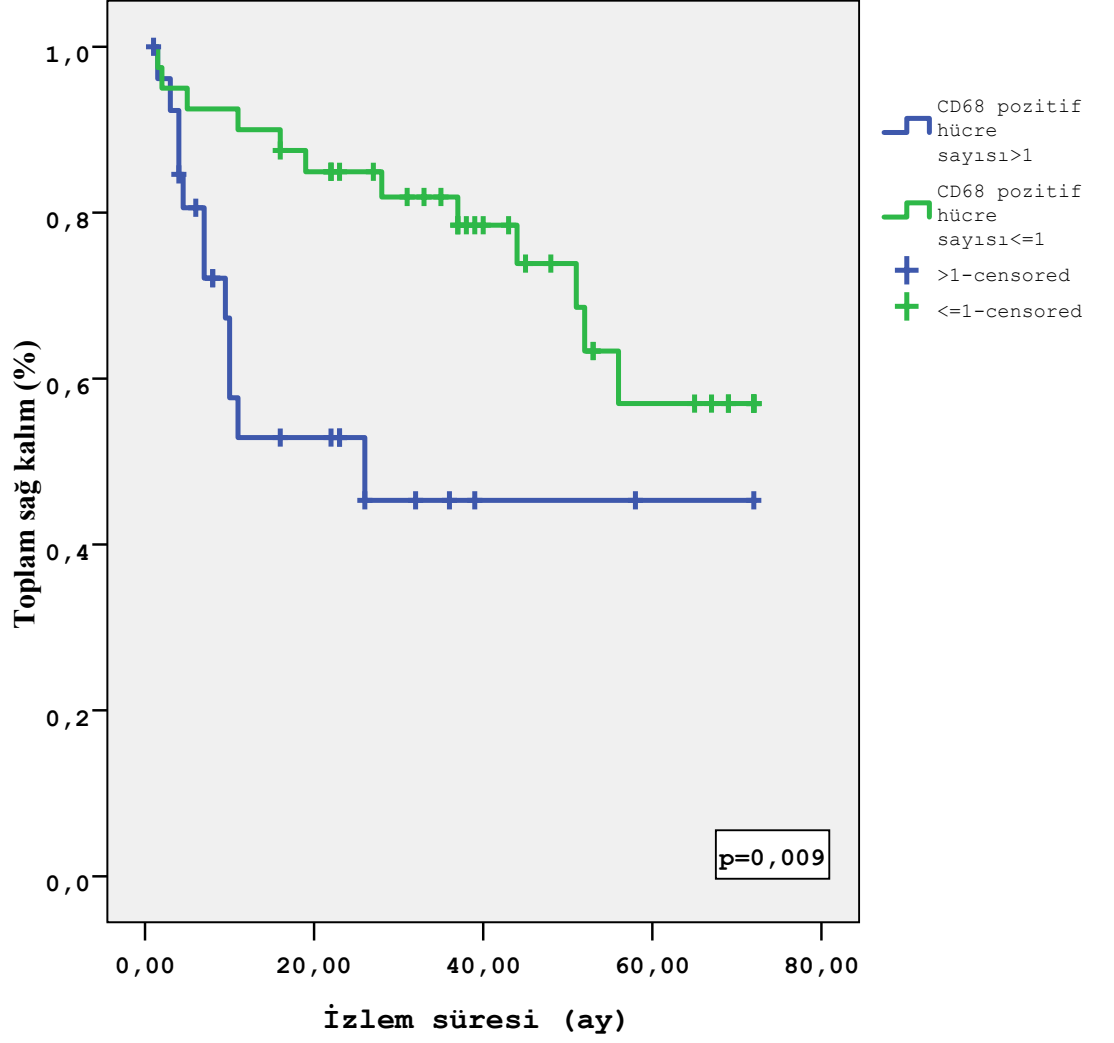
Ortanca CD68+ hücre sayısı kesim noktası olarak alınarak analiz yapıldı. 27 (%40) hastanın CD68+ hücre sayısı >1 , 40 (%60) hastanın ≤ 1 idi. CD68+ hücre sayısı > 1 ve ≤ 1 olan hastalar karşılaştırıldığında yaş, cinsiyet, ISS evrelemesi, indüksiyonda aldıkları kemoterapi rejimleri, indüksiyon tedavisine alınan yanıtlar, THZO, SHZO (Tablo 9) ve kemik iliği patolojik özellikleri (Tablo 10) açısından fark yoktu ($p > 0,5$). Ortanca sağ kalım CD68+ hücre sayısı >1 olan hastalarda 10 (min-maks, 1-75) ay, ≤ 1 olan hastalarda 38,5 (min-maks, 1,5-108) olarak bulundu ($p < 0,001$). 6 yıllık toplam sağ kalım olasılığı CD68+ hücre sayısı >1 olan hastalarda %45 iken CD68+ hücre sayısı ≤ 1 olan hastalarda %57 olarak bulundu ($p=0,009$) (Şekil 7). Tek değişkenli ve yaş, cinsiyet, ISS evre, indüksiyon tedavisi, indüksiyon tedavisine yanıt ile çok değişkenli analiz yapıldığında CD68+ hücre sayısının 6 yıllık sağ kalım üzerindeki etkisinin anlamlılığını koruduğu saptandı ($p=0,014$ v.s. $p= 0,036$).

Tablo 9: Hastaların CD68+ hücre sayısına (≤ 1 ve > 1) göre özellikleri

	CD68+ hücre sayısı ≤ 1 n=40	CD68+ hücre sayısı > 1 n=27	P
Yaş	59 (42-79)	60 (40-84)	0,263
Cinsiyet (E/K)	19/21	16/11	0,455
ISS evrelemesi			
Evre I	15 (48)	9 (45)	0,946
Evre II	8 (26)	5 (25)	
Evre III	8 (26)	6 (30)	
İndüksiyon tedavisi			
VAD	25 (62,5)	12 (44,5)	0,208
MP	4 (10)	5 (18,5)	
Talidomid tabanlı rejimler	6 (15)	5 (18,5)	
Bortezomib tabanlı rejimler	1 (2,5)	4 (15)	
Lenalidomid tabanlı rejimler	1 (2,5)	-	
Tedavisiz izlem	3 (7,5)	1 (3,5)	
İndüksiyon tedavisine yanıt			
Yanıt var (TY veya KY)	19 (54)	8 (35)	0,184
Yanıtsız	16 (46)	15 (65)	
THZO			
Normal	5 (17)	2 (8)	0,443
Anormal	25 (83)	22 (92)	
SHZO			
Normal	4 (14)	-	0,125
Anormal	24 (86)	21 (100)	

Tablo 10: Hastaların CD68+ hücre sayısına (≤ 1 ve > 1) göre kemik iliği biyopsi özellikleri

	CD68+ hücre sayısı ≤ 1	CD68+ hücre sayısı > 1	P
Kemik iliği biyopsi hücre oranı	60 (10-95)	70 (15-100)	0,285
Fibroz			
Var	17 (47)	17 (63)	0,307
Yok	19 (53)	10 (37)	
Amiloid			
Var	2 (5)	1 (4)	1
Yok	38 (95)	26 (96)	
Bartl derecelendirmesi			
Derece 1	15 (37,5)	10 (38)	
Derece 2	24 (60)	15 (58)	0,945
Derece 3	1 (2,5)	1 (4)	
Pattern			
Derece 1	14 (35)	7 (27)	
Derece 2	6 (15)	9 (34)	0,178
Derece 3	20 (50)	10 (39)	



Şekil 7. Hastaların CD68+ hücre sayısına (≤ 1 ve > 1) göre Kaplan Meier sağ kalım eğrileri

Ortanca CD163+ hücre sayısı kesim noktası olan 5 değeri esas alınarak analiz yapıldı. 30 (%44) hastanın CD163+ hücre sayısı >5 , 38 (%56) hastanın ≤ 5 idi. Ortanca sağ kalım CD163+ hücre sayısı >5 olan hastalarda 21 (min-maks, 1-80) ay, ≤ 5 olan hastalarda 31,5 (min-maks, 4-108) olarak bulundu ($p=0,132$). 6 yıllık toplam sağ kalım olasılığı CD163+ hücre sayısı >5 olan hastalarda %35 iken CD163+ hücre sayısı ≤ 5 olan hastalarda %60 olarak bulundu ($p=0,086$).

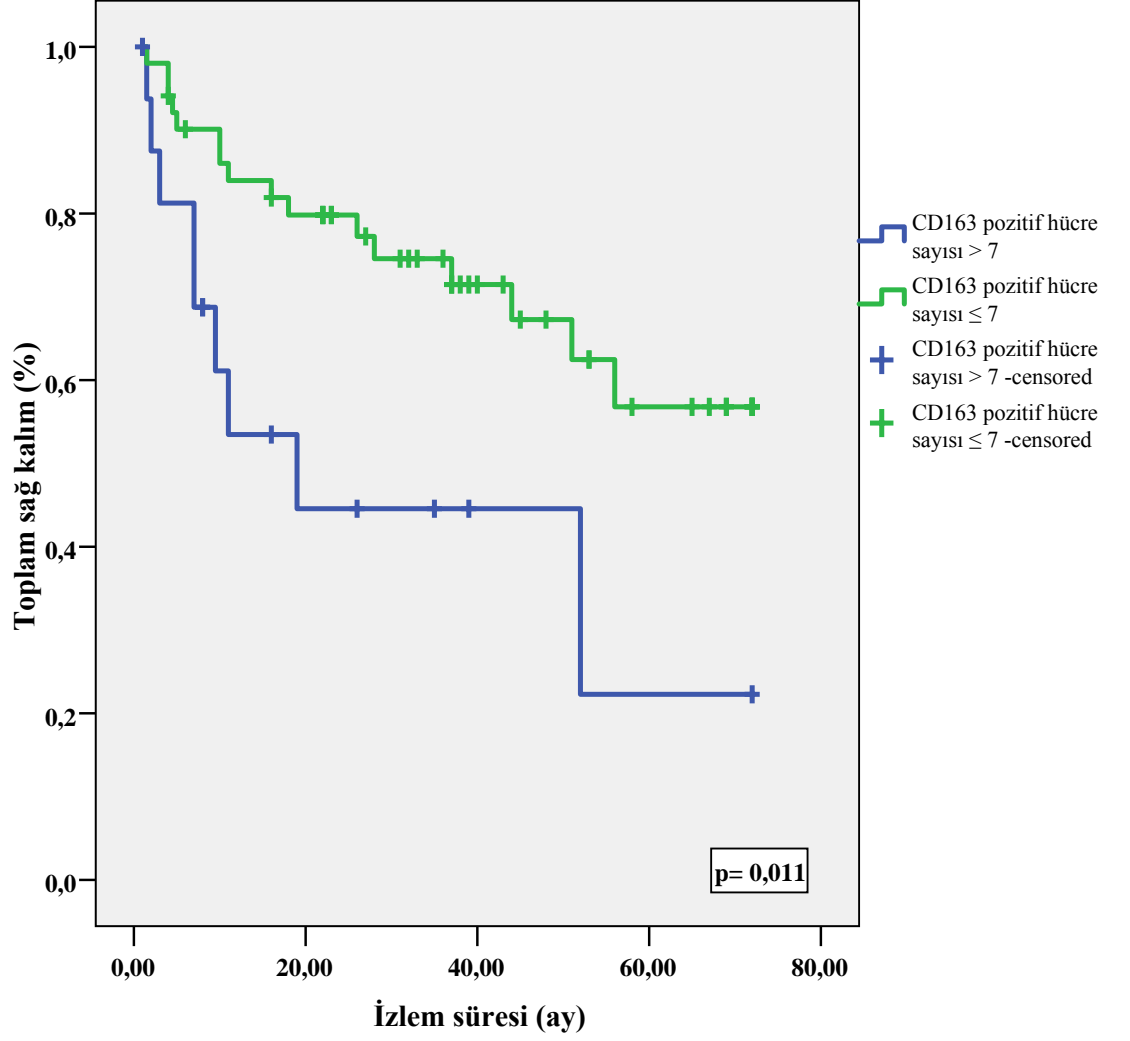
Kesim noktası olarak 7 değeri esas alınarak yapılan analizde CD163+ hücre sayısı >7 olan hasta sayısı 17 (%25), ≤ 7 olan hasta sayısı 51 (%75) olarak bulundu. CD163+ hücre sayısı > 7 ve ≤ 7 olan hastalar karşılaştırıldığında cinsiyet, ISS evrelemesi, indüksiyonda aldıkları kemoterapi rejimleri, indüksiyon tedavisine alınan yanıtlar, THZO, SHZO (Tablo 11) ve kemik iliği patolojik özellikleri (Tablo 12) açısından fark yoktu ($p > 0,5$). Ancak CD163+ hücre sayısı >7 olan hastaların yaşları daha büyük bulundu ($p=0,036$). Ortanca sağ kalım CD163+ hücre sayısı >7 olan hastalarda 9,5 (min-maks, 1-75) ay, ≤ 7 olan hastalarda 33 (min-maks, 1,5-108) olarak bulundu ($p=0,005$). 6 yıllık toplam sağ kalım olasılığı CD163+ hücre sayısı >7 olan hastalarda %22 iken CD163+ hücre sayısı ≤ 7 olan hastalarda %57 olarak bulundu (Şekil 8) ($p=0,011$). Tek değişkenli analizde CD163+ hücre sayısı anlamlılığını koruduğu izlendi ($p=0,015$). Çok değişkenli analizde CD163+ hücre sayısı ve yaş, cinsiyet, ISS evrelemesi, indüksiyon tedavisi ve/veya indüksiyon tedavisine yanıtta bağımsız olarak 6 yıllık sağ kalım üzerindeki etkili olduğu bulundu ($p= 0.039$).

Tablo 11: Hastaların CD163+ hücre sayısına (≤ 7 ve > 7) göre özellikleri

	CD163+ hücre sayısı ≤ 7 n=51	CD163+ hücre sayısı > 7 n= 17	P
Yaş	59 (42-77)	64 (40-84)	0,039
Cinsiyet (E/K)	24/27	12/5	0,16
ISS evrelemsi			
Evre I	22 (56)	3 (23)	0,066
Evre II	7 (18)	6 (46)	
Evre III	10 (26)	4 (31)	
İndüksiyon tedavisi			
VAD	30 (58)	7 (40)	0,442
MP	7 (14)	3 (18)	
Talidomid tabanlı rejimler	5 (10)	6 (36)	
Bortezomib tabanlı rejimler	5 (10)	-	
Lenalidomid tabanlı rejimler	1 (2)	-	
Tedavisiz izlem	3 (6)	1 (6)	
İndüksiyon tedavisine yanıt			
Yanıt var (TY veya KY)	25 (54)	3 (23)	0,062
Yanıtsız	21 (46)	10 (77)	
THZO			
Normal	6 (14)	1 (8)	1
Anormal	37 (86)	11 (92)	
SHZO			
Normal	3 (8)	1 (9)	1
Anormal	36 (92)	10 (91)	

Tablo 12: Hastaların CD163+ hücre sayısına (≤ 7 ve > 7) göre kemik iliği biyopsi özellikleri

	CD163+ hücre sayısı ≤ 7 n=51	CD163+ hücre sayısı > 7 n=17	p
Kemik iliği biyopsi plazma hücre oranı	60 (10-100)	70 (20-100)	0,275
Fibroz			0,777
Var	24 (51)	10 (59)	
Yok	23 (49)	7 (41)	
Amiloid			0,568
Var	3 (6)	-	
Yok	48 (94)	17 (100)	
Bartl derecelendirmesi			0,461
Derece 1	18 (35)	8 (50)	
Derece 2	31 (61)	8 (50)	
Derece 3	2 (4)	-	
Pattern			0,958
Derece 1	17 (33)	5 (31)	
Derece 2	11 (22)	4 (25)	
Derece 3	23 (45)	7 (44)	



Şekil 8. Hastaların CD163+ hücre sayısına (≤ 7 ve > 7) göre Kaplan Meier sağ kalım eğrileri

5. TARTIŞMA

Multipl myelomda; yaş, Hb, hiperkalsemi, serum alb düzeyi, renal yetmezlik, M protein alt grubu, kemik iliği plazma hücre oranı gibi faktörlerin prognostik önemi gösterilmiş olmakla birlikte, bunlar bağımsız risk faktörleri değildir (1,3). Hastanın performans durumu, ISS'ye göre evre, konvansiyonel sitogenetikte 13. kromozom delesyonu, hipodiploidi, FISH ile t(4;14), t(14;16), 17p delesyonu, LDH, plazmablastik morfoloji, plazma hücresi sentez döngüsü ise MM'da tanımlanmış bağımsız risk faktörleridir (1,35). Multipl myelomda risk değerlendirmesi tedavi stratejisi belirlemek açısından önemlidir. Son yıllarda, hastaların tedavi planı sırasında, risk durumları da göz önünde bulundurulmaktadır. Örneğin, Mayo Kliniğinde yeni tanı konulan hastalarda riske uyarlanmış tedavi yaklaşımı doğrultusunda, FISH ve konvansiyonel sitogenetik bulgulara göre risk değerlendirmesi geliştirilmiştir (Tablo 4) ve tedavi bu doğrultuda yapılmaktadır (37).

Makrofajlar CD34+ kemik iliği öncül hücrelerinden gelişmektedir. Kan dolaşımında monosit olarak adlandırılan bu hücreler, inflamasyon durumunda dokuya geçerek makrofaj adını almaktadır. Tümör ilişkili makrofajlar ise tümör dokusuna göç eden M2 yapısındaki makrofajlara verilen isimdir (12-15). Tümör ilişkili makrofajlar, tümör hücrelerinin yaşamasını, çoğalmasını, migrasyonunu ve metastazını desteklemektedir (15,17,18). Tümör dokusu, 2 mm'nin üzerine çıktığında, tümörün beslenmesi için basit difüzyon yeterli olmayıp ek kan akımı desteğine ve yeni damar oluşumuna ihtiyaç duymaktadır (67). Tümör ilişkili

makrofajlar da anjiogenez için gerekli olan bağ dokusunun eritilmesi ve depolanmasını sağlayacak birçok büyüme faktörü (17,18), enzim ve inhibitörler üretirler (15-19). Dolayısıyla TİM tümör büyümesi ve ilerlemesinde çok önemli bir yere sahip olan neoanjiogenez ve dokunun yeniden yapılandırılmasında önemli bir rol oynamaktadır (12-21). Pek çok kanser türünde MVD ile makrofaj infiltrasyonunun ilgileşim gösterdiği (15,58), bunun yanı sıra artmış TİM infiltrasyonu ile kötü prognoz arasında da bir ilişki olduğu gösterilmiştir (15,16,17). Mültipl myelomda, kötücül plazma hücrelerinin yaşamını devam ettirebilmesi için kemik iliği mikroçevresinin de katkısı olduğu gösterilmiştir (6-8). Kemik iliğinde yer alan ekstraselüler matriks ve stromal hücreler, myelom hücresinin büyümesi, yaşaması, migrasyonu ve ilaç direnci geliştirmesinde yardımcı olmaktadır (6,7). Kemik iliği stromal hücreleri, myelom hücresinin yaşamasında mikroçevrenin en önemli komponenti olarak kabul edilmektedir (6,7,9). Stromal hücrelerden biri olan makrofajların, myelom hücrelerini spontan, deksametazon ve melfalan kaynaklı apoptozisten koruduğu gösterilmiştir (11). Bu çalışma ile MM tanısı alan hastaların tanı anı kemik iliği biyopsisinde makrofaj infiltrasyon derecesi ve prognostik önemini saptamak amaçlanmıştır.

Çalışmamızda CD68+ hücre sayısı ile CD163+ hücre sayısının ilgileşim gösterdiği, ancak beklenenin aksine ortanca CD68+ hücre sayısının, ortanca CD163+ hücre sayısından daha az olduğu bulundu (1 v.s. 5). Tümör ilişkili makrofaj infiltrasyonunun MM hastalarında prognostik rolü bakımından hem CD68 pozitif hücre sayısının (> 1 v.s. ≤ 1), hem de CD163 pozitif hücre sayısının

(> 7 v.s. ≤ 7) 6 yıllık TSK'da yaş, cinsiyet, ISS evre, indüksiyon tedavisi, indüksiyon tedavisine yanıtta bağımsız bir risk faktörü olduğu bulundu.

CD68, pan-makrofaj bir molekül olup M1 ve M2 ayrımı olmaksızın tüm makrofajlarda, CD163 ise sadece M2 makrofajlarda ifadelanmaktadır (71-74). Dolayısıyla bizim sonuçlarımızın aksine; CD68+ hücre sayısının, CD163+ hücre sayısından daha fazla olması beklenmektedir. Anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyama yapılarak TİM infiltrasyonu araştırılan çalışmaların önemli bir kısmında da çalışmamıza benzer şekilde, CD163+ hücre sayısının CD68+ hücre sayısından daha fazla olduğu bulunmuştur. Brokhorst ve ark. 43 uveal melanomlu hastanın doku örneklerini, aynı anda anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikor ile boyamış ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyanan alanların anti CD68 monoklonal antikorlar ile boyanan alanlardan daha fazla olduğunu göstermiştir (77). Zaki ve ark. da aynı anda anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikor ile boyama yaparak Hodgkin lenfoma (HL) hastalarında TİM infiltrasyonunu incelemiş ve CD163+ hücre sayısının CD68+ hücre sayısından daha fazla olduğunu bulmuştur (78). Benzer şekilde Wada ve ark. 101 difüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) hastasında aynı anda anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikor ile boyama yaptıklarında CD163+ hücre sayısının CD68+ hücre sayısından daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (79). Kamper ve ark. ise HL hastalarında TİM'i değerlendirmek için, sunulan bu tez çalışmasında olduğu gibi, anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorları ayrı ayrı kullanarak boyama yapmış ve CD163+ alanların CD68+ alanlara göre daha

fazla olduğunu gözlemlemiştir (80). Harris ve ark. ise TİM tespitinde kullanılan anti CD68 (KP1) ve anti CD163 monoklonal antikorların dokudaki boyanma özelliklerini 44 HL hastasının doku örneklerinde incelemek için; ayrı kesitlerde anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyama yapmış; anti CD68 ile anti CD163 monoklonal antikor ile boyanma paternlerini karşılaştırmıştır. Reed Sternberg hücrelerinden zengin alanlarda makrofaj infiltrasyonunu derecelendirmiştir. Dokuların anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyanma düzeyinin anti CD68 monoklonal antikorlar ile boyanmasına göre daha düşük olduğu ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyamanın yapıldığı örneklerde zeminin daha temiz olduğu izlenmiştir. Ayrıca anti CD68 monoklonal antikorlar ile boyanmanın aynı dokuda bile farklılık gösterdiği ve aynı dokuda hem 1. derece hem de 3. derece seviyede boyanmanın olduğu görülmüştür. Bunun aksine anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyanmanın daha az değişkenlik gösterdiği saptanmıştır (81). Parafin dokularda KP1 monoklonal antikorlar granülosit ve myeloid öncül hücreleri de boyamaktadır (71,72), dolayısıyla Harris ve ark.'nın yaptığı çalışmada KP1 kullanıldığı için zeminde diğer inflamatuvar hücrelerin de boyanmış olma olasılığı bulunmaktadır. Çalışmamızda, özgül ve güçlü bir boyama yapması ve örneklerin hazırlanması sırasında uygulanan işlemlerde çok hassas olmaması sebebi ile monosit/makrofaj sistemi hücrelerinin tespitinde daha uygun bulunan PG-M1 antikorunu kullanılmıştır. Fallini ve ark. anti CD68 monoklonal antikorların kemik iliği makrofajlarını güçlü bir şekilde boyadığını göstermiş (71) olsalar da, anti CD68 monoklonal antikorların fikse ve dekalsifiye edilen kemik iliği biyopsisinde kullanımı ile ilgili yeterli çalışma

bulunmamaktadır. IL-10 ile karşılaşan makrofajlar M2 makrofaja dönüşmektedir (13,15,17,18). Múltiple myelomda IL-10 düzeyinin arttığı düşünülecek olur ise (82,83), myelomlu hastalarda IL-10 sekresyonundaki artış CD163 ifadenmesini, dolayısıyla CD163+ hücre sayısını arttırmış ve bu sırada CD 68 ifadenmesini de azaltmış olabilir. CD163 monoklonal antikorlar ile bazı dendritik hücreler de boyanmaktadır (78,79). Çalışmamızda TİM'de ifadelenen CD206 ve CD204 (78) için boyama yapılmamıştır. CD163+ hücrelerin hepsinin TİM olduğunu söylemek iddialı olacaktır. Bu çalışma ile dekalsifiye edildikten sonra parafinize edilmiş ve bazıları 10 yıl öncesine ait MM kemik iliği biyopsileri anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyanarak TİM infiltrasyon derecesi ilk kez araştırılmıştır. Anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyamanın TİM infiltrasyonunu göstermekdeki etkisinin başka çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Klinik olarak TİM ile tümör prognozu arasındaki ilişki ilk kez meme kanserinde incelenmiştir (84). Meme kanserinde artmış TİM'in artmış anjiogenez ile birlikte olduğu ve bunun sonucunda kötü bir prognostik faktör olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (84,85). Ancak yakın zamanda 1322 meme kanseri hastasının incelendiği bir çalışmada, tek değişkenli analizde artmış CD68+ hücre sayısı kötü TSK ve kısalmış hastalıklı sağ kalım ile ilişkili bulunmuşken, çok değişkenli analizde bu ilişkinin devam etmediği saptanmıştır (86). Benzer şekilde akciğer adeno kanseri (87), prostat kanseri (88,89), hepatoselüler kanser (90,91) ve mesane kanserinde (92), yüksek CD68+ hücre sayısının önemli bir olumsuz

prognostik gösterge olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmaların tam tersine, Forsell ve ark. ise 446 kolon kanseri örneğinde anti CD68 monoklonal antikorlar ile boyama yapmış ve yüksek CD68+ hücre infiltrasyonu olan hastalarda TSK'nın uzadığını gözlemlemiştir (93). Bu çelişkili sonuç, çalışmada sadece anti CD68 monoklonal antikorlar ile boyama yapılmasından kaynaklanmış olabilir. Çünkü CD68 hem M1 hem de M2 makrofajlarda ifadelenmekte olup, CD68 pozitif hücre infiltrasyonu, tümörisidal etkiye sahip olan M1 makrofajlarından ibaret olabilir. Bizim çalışmamızda bu tip bir karışıklığa sebep olmamak için anti CD68 monoklonal antikorlar yanı sıra anti CD163 monoklonal antikorlar ile de boyama yapılarak TİM değerlendirmesi yapıldı. Ancak yine de M1 makrofaj ve dendritik hücre ayrımının yapılabilmesi için anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile eş zamanlı boyama yapmak ve anti CD206 veya anti CD204 monoklonal antikorlar ile de boyama yapmak daha belirleyici olabilirdi.

Kurahara ve ark 76 pankreas kanseri hastasında makrofaj infiltrasyonunun prognostik önemini incelemiş ve bunun için anti CD68 monoklonal antikorların yanı sıra anti CD163 ve anti CD204 monoklonal antikorlar ile de boyama yapmıştır. CD68+ hücre sayısının 5 yıllık sağ kalımda etkili olmadığı saptanırken, CD163 ve CD204+ hücre sayısının 5 yıllık TSK üzerinde olumsuz etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (94). Bu çalışmada, çalışmamızdan farklı olarak anti CD163 monoklonal antikorlar yanı sıra anti CD204 monoklonal antikorlar ile de boyama yapılmış olması dendritik hücrelerin ayrılması bakımından önemlidir. Lee ve ark leiomyosarkomlu hastalarda anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile

makrofaj infiltrasyonunu incelemiş ve jinekolojik olmayan leiomyosarkomlarda CD68+ ve CD163+ hücre infiltrasyonunun negatif bir prognoz belirleyicisi olduğunu saptarken, jinekolojik leiomyosarkomlarda aynı etkiyi gösterememiştir (95).

Uveal melanomlu hastalarda da aynı anda anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyama yapılarak TİM'in olası prognostik etkisi değerlendirilmiştir (77,96). Brokhorst ve ark. 43 uveal melanomlu hastada, CD68+/CD163+ pozitif hücre sayısının fazla olduğu hastalarda MVD'nin anlamlı yüksek olduğunu saptamışlardır. Ayrıca hem CD68+, hem de CD68+/CD163+ hücre sayısının yüksek olmasının TSK üzerinde olumsuz etkisi olduğunu ancak çok değişkenli analizde bu etkinin kaybolduğunu saptamışlardır (77). Benzer şekilde Herwig ve ark. da 43 uveal melanomlu hastada düşük CD68+ ve CD68+/CD163+ hücrelerin daha iyi TSK ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir ancak CD163+ hücre sayısı ile birlikte böyle bir sonuç bildirmemişlerdir (96).

Tümör ilişkili makrofaj infiltrasyonunun prognoz üzerine etkileri son yıllarda hematolojik kötücül hastalıklarda da incelenmeye başlanmış ve bu konuda özellikle HL üzerine yoğunlaşmıştır (78,97,98,99,100). İlk geniş çaplı araştırma Steidl ve ark. tarafından yapılmış ve anti CD68 monoklonal antikorlar ile boyama yapılarak, 166 HL hastasında TİM infiltrasyonu incelenmiştir. CD68+ hücre infiltrasyonunun ilerlemesiz ve hastaliksız sağ kalım üzerinde olumsuz etkisi olduğu saptanmış ancak sadece hastaliksız sağ kalım üzerindeki etkisi çok değişkenli analizde anlamlılığını korumuştur. CD68+ hücre skorlamasında,

skorun yüksek olduğu hastalarda 10 yıllık sağ kalım olasılığının da daha düşük olduğu görülmüştür.(97). Tzankov ve ark. ise 105 HL hastasında CD68+ hücre sayısı ile TSK arasında prognostik bir ilişki saptarken, aynı ilişkiyi hastalığa özel sağ kalım ve İSK ile gösterememiştir (98). Zaki ve ark. da HL'da TİM'in prognostik önemini aynı anda anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyama yaparak incelemiştir; CD68+/CD163+ hücre sayısının TSK üzerinde olumsuz prognostik bir faktör olarak bulunurken, sadece CD68+ olan hücre sayısı ile benzer bir ilişki saptayamamıştır (78). Sanchez-Espiridon ve ark. 2 farklı coğrafik bölgeden hasta grubu oluşturup, anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile boyama yaparak TİM'in prognostik etkisini incelemiştir. CD68+ hücre sayısı ile hastalığa özgül sağ kalım arasında ilişki sadece bir hasta grubunda bulunurken diğer grupta böyle bir ilişki gösterilememiştir (99). Kamper ve ark. ise HL hastalarında TİM'i değerlendirmek için anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar kullanmış; tek değişkenli analizde CD68 ve CD163 ifadenmesini kötü TSK ve olaysız sağ kalım ile ilişkili bulunurken, çok değişkenli analizde sadece CD68 ifadenmesinin TSK üzerinde belirleyici değerini koruduğunu göstermiştir (80). Bu çalışmaların aksine, son dönemde Azambuja ve ark 265 HL hastasında yaptıkları çalışmada, hem CD68+ hem de CD163+ hücre infiltrasyonunun İSK ya da hastalığa özgü sağ kalımla bir ilişkisi olmadığını göstermiştir. Ancak bu kohortta yer alan hastaların ABVD'ye yanıt oranı %88 ve hastalığa özgül 5 yıllık sağ kalımları %91 olup, iyi bir prognostik grubu oluşturdukları dikkati çekmektedir (100). Tümör ilişkili makrofajın prognostik öneminin incelendiği bir diğer lenfoma da folliküler lenfomadır. Canioni ve ark. anti CD68 monoklonal

antikorlar kullanarak yaptıkları çalışmada folliküler lenfomalı hastalarda intrafolliküler artmış TİM'in olaysız sağ kalımda olumsuz etkisini göstermiş ancak bu etkinin Rituksimab kullanılan hastalarda kaybolduğunu tespit etmiştir (101). Andjelic ve ark. 50 folliküler lenfomalı hastada yaptıkları çalışmada CD68+ hücre sayısının (≥ 10) bağımsız bir risk faktörü olduğunu saptamıştır (102). Difüz büyük B hücreli lenfomada ise Wada ve ark. artmış CD68+/CD163+ hücre sayısının bağımsız kötü bir prognostik faktör olduğunu saptarken (79), Hasselblom ve ark. CD68+ hücre sayısı ile TSK ve İSK arasında bir ilişki bulamamıştır (103). Hasselbaum ve ark.'nın yaptığı çalışmada yalnız anti CD68/KP1 monoklonal antikorlar kullanılmış olup, bu boyama ile diğer myeloid hücreler de boyanmaktadır. Dolayısıyla bu çalışmaya dayanarak TİM'in DBBHL'da prognoz değerlendirmede etkisiz olduğunu söylemek uygun olmayacaktır. Çalışmamızda anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile ayrı ayrı boyama yapılmış ve her ikisinin de 6 yıllık TSK'da prognostik bir öneme sahip olduğu görülmüştür. Anti CD68 monoklonal antikor olarak, sadece monosit/makrofaj sistemine bağlanan ve myeloid öncüllere bağlanmayan PG-M1 kullanılmıştır. Dolayısıyla CD68 pozitifliği monosit/makrofaj sistemine özgül bir boyama olmuştur. Ancak maksimum CD68+ hücre sayısının 8 ve ortanca sayının 1 olduğu göz önünde bulundurulur ise, MM'da CD68 ifadenmesinin azaldığı ya da dekalsifiye edilerek uzun süre beklemiş kemik iliği parafin örneklerde anti CD68 monoklonal antikorlar ile boyamanın etkin olmadığı iddia edilebilir.

CD163+ hücre sayısının, pankreas kanserinde (94) ve akciğer adeno kanserinde (87) lenfatik invazyon; folliküler lenfomada yeni damar oluşumu (104); meme kanseri (84,85) ve mesane kanserinde (92) ise MVD ile ilişkim gösterdiği saptanmıştır. Meme kanserinde, kanser hücrelerinde CD163 ifadelenmesi incelendiğinde; kanser hücrelerinde artmış CD163 ifadelenmesinin uzak metastaz oluşumunda ve TSK üzerinde olumsuz etkisi olduğu gösterilmiştir (105). Benzer şekilde rektum kanserinde da kanser hücrelerinde artmış CD163 ifadelenmesinin yerel hastalık yinelenmesi riskini arttırdığı ve bu hastalarda TSK'nın azaldığı saptanmıştır Aynı çalışmada CD163 ifadelenmesi ile apoptoz arasında ters bir ilişki olduğu saptanmış buna bağlı olarak CD163 pozitif hücrelerin radyoterapiye daha dirençli olabileceği düşünülmüştür (106). Bizim çalışmamızda TİM ve anjiogenez arasındaki ilişki incelenmedi ancak MM'da anjiogenezin önemi göz önünde bulundurulduğunda, CD163+ ve CD68+ hücrelerin anjiogenez aracılığı ile tümör oluşumunu desteklediği iddia edilebilir.

Steidl ve ark. HL hastalarında TİM infiltrasyonu ile primer ve sekonder tedavi yanıtlarının ilişkili olduğunu göstermiştir (95). Ancak bizim çalışmamızda indüksiyon tedavisine yanıt ile CD163+ ya da CD68+ pozitif hücre sayısı arasında bir ilişki bulunamadı.

Tümör ilişkili makrofaj ve hastalık evresi ile ilgili çelişkili veriler mevcuttur. Hodgkin lenfoma (97,78) ve kolon (93) kanserinde artmış TİM sayısı yüksek evreli hastalarda bulunurken, prostat kanserinde ise düşük evrelerde artmış TİM'in olduğu gösterilmiştir (89). Bizim çalışmamızda prognostik öneme sahip

olan ISS evresi ile CD163+ ve CD68+ hücre sayısı arasında bir ilişki bulunamamıştır. Bu durum, ISS'nin HL ve kolon kanseri evrelemesi gibi patolojik bir evreleme olmayıp, klinik bir evreleme olması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda anti CD68 ve anti CD163 monoklonal antikorlar ile ayrı ayrı boyama yapılarak MM kemik iliği biyopsi örneklerinde TİM infiltrasyonu incelenmiştir. Hem CD68+ hem de CD163+ hücre sayısının 6 yıllık sağ kalımda prognostik önemi olduğu gösterilmiştir. CD68+ hücre sayısının CD163+ hücre sayısından daha düşük olması ve tüm kohortta ortanca CD68+ hücre sayısının 1 olması, CD68 ile ilgili sonuçların tekrar irdelenmesini, başka çalışmalar yapılmasını gerektirmektedir. CD163+ hücre sayısının etkisi ise göz ardı edilemeyecek düzeydedir. Dolayısıyla kolay bakılabilir olması da göz önünde bulundurulur ise CD163 ifadenmesi yeni tanı MM hastalarında prognostik bir belirteç olarak kullanılabilir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmanın sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

1. Hastaların CD68+ hücre sayısı ortanca 1 (min-maks, 0-8) ve CD163+ hücre sayısı ortanca 5 (min-maks, 0-13) olarak bulundu. CD68+ hücre sayısı ile CD163+ hücre sayısının ilişim gösterdiği saptandı ($p=0,016$).
2. CD68 ve CD163+ hücre sayısı kemik iliği biyopsi özellikleri (Barthl, pattern, kemik iliği biyopsi plazma hücre oranı, kemik iliği fibroz derecesi), ISS evresi, yaş, cinsiyet ile ilişim göstermiyordu.
3. Ortanca sağ kalım CD68+ hücre sayısı >1 olan hastalarda 10 (min-maks, 1-75) ay, ≤ 1 olan hastalarda 38,5 (min-maks, 1,5-108) olarak bulundu ($p<0,001$). 6 yıllık toplam sağ kalım olasılığı CD68+ hücre sayısı >1 olan hastalarda %45 iken CD68+ hücre sayısı ≤ 1 olan hastalarda %57 olarak bulundu ($p=0,009$) (şekil). Çok değişkenli analizde CD68+ hücre sayısının, yaş, cinsiyet, ISS evre, indüksiyon tedavisi, indüksiyon tedavisine yanıtta bağımsız olarak 6 yıllık sağ kalım üzerinde etkili olduğu saptandı.
4. Ortanca sağ kalım CD163+ hücre sayısı >7 olan hastalarda 9,5 (min-maks, 1-75) ay, ≤ 7 olan hastalarda 33 (min-maks, 1,5-108) olarak bulundu ($p=0,006$). 6 yıllık toplam sağ kalım olasılığı CD163+ hücre sayısı >7 olan hastalarda %22 iken CD163+ hücre sayısı ≤ 7 olan hastalarda %57 olarak bulundu ($p=0,011$). Çok değişkenli analizde CD163+ hücre sayısının, yaş, cinsiyet, ISS evrelemesi, indüksiyon tedavisi ve/veya indüksiyon

tedavisine yanıtta bağımsız olarak 6 yıllık sağ kalım üzerindeki etkili olduğu bulundu ($p= 0.037$).

7. KAYNAKLAR

1. Rajkumar SV, Kyle RA. Multiple myeloma: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc* 2005;80:1371-82.
2. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N Engl J Med* 2011;364:1046-60.
3. Bladé J, Cibeira MT, Fernández de Larrea C, Rosiñol L. Multiple myeloma. *Ann Oncol* 2010;21 Suppl 7:313-9.
4. Rajkumar SV Multiple myeloma: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2011;86:57-65.
5. <http://www.kanser.gov.tr/folders/file/8iL-2006-son.pdf>
6. Podar K, Chauhan D, Anderson KC. Bone marrow microenvironment and the identification of new targets for myeloma therapy. *Leukemia* 2009;23:10-24.
7. Mitsiades CS, Mitsiades NS, Munshi NC, Richardson PG, Anderson KC. The role of the bone microenvironment in the pathophysiology and therapeutic management of multiple myeloma: interplay of growth factors, their receptors and stromal interactions. *Eur J Cancer* 2006;42:1564-73.
8. Mitsiades CS, Mitsiades NS, Richardson PG, Munshi NC, Anderson KC. Multiple myeloma: a prototypic disease model for the characterization and therapeutic targeting of interactions between tumor cells and their local microenvironment. *J Cell Biochem* 2007;101:950-68.
9. Ribatti D, Nico B, Vacca A. Importance of the bone marrow microenvironment in inducing the angiogenic response in multiple myeloma. *Oncogene* 2006;25:4257-66.
10. Hideshima T, Mitsiades C, Tonon G, Richardson PG, Anderson KC. Understanding multiple myeloma pathogenesis in the bone marrow to identify new therapeutic targets. *Nat Rev Cancer* 2007;7:585-98.
11. Zheng Y, Cai Z, Wang S, Zhang X, Qian J, Hong S, et al. Macrophages are an abundant component of myeloma microenvironment and protect myeloma cells from chemotherapy drug-induced apoptosis. *Blood* 2009;114:3625-8.
12. Murdoch C, Giannoudis A, Lewis CE. Mechanisms regulating the recruitment of macrophages into hypoxic areas of tumors and other ischemic tissues. *Blood* 2004;104:2224-34.
13. Mantovani A, Sica A. Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. *Curr Opin Immunol* 2010;22:231-7.
14. Mantovani A. B cells and macrophages in cancer: yin and yang. *Nat Med* 2011;17:285-6.
15. Allavena P, Sica A, Solinas G, Porta C, Mantovani A. The inflammatory micro-environment in tumor progression: the role of tumor-associated macrophages. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;66:1-9.
16. Ruffell B, Affara NI, Coussens LM. Differential macrophage programming in the tumor microenvironment. *Trends Immunol* 2012;33:119-26.

17. Sica A, Larghi P, Mancino A, Rubino L, Porta C, Totaro MG, et al. Macrophage polarization in tumour progression. *Semin Cancer Biol* 2008;18:349-55.
18. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002;23:549-55.
19. Crowther M, Brown NJ, Bishop ET, Lewis CE. Microenvironmental influence on macrophage regulation of angiogenesis in wounds and malignant tumors. *J Leukoc Biol* 2001;70:478-90.
20. Ribatti D, Nico B, Crivellato E, Vacca A. Macrophages and tumor angiogenesis. *Leukemia* 2007;21:2085-9.
21. Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol* 2010;11:889-96.
22. Chng WJ, Glebov O, Bergsagel PL, Kuehl WM. Genetic events in the pathogenesis of multiple myeloma. *Best Pract Res Clin Haematol* 2007;20:571-96.
23. Weiss BM, Abadie J, Verma P, Howard RS, Kuehl WM. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood* 2009;113:5418-22.
24. Landgren O, Kyle RA, Pfeiffer RM, Katzmann JA, Caporaso NE, Hayes RB, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood* 2009;113:5412-7.
25. Bladé J, Rosiñol L, Cibeira MT, de Larrea CF. Pathogenesis and progression of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia* 2008;22:1651-7.
26. Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV, Landgren O, Blade J, Merlini G, et al; International Myeloma Working Group. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 2010;24:1121-7.
27. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2007;21:1093-113.
28. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2006;354:1362-9.
29. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, et al; International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20:1467-73.
30. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia* 2009;23:3-9
31. Dimopoulos M, Kyle R, Fermand JP, Rajkumar SV, San Miguel J, Chanan-Khan A, et al; International Myeloma Workshop Consensus Panel

3. Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. *Blood* 2011;117:4701-5.
32. Palumbo A, Bringhen S, Ludwig H, Dimopoulos MA, Bladé J, Mateos MV, et al. Personalized therapy in multiple myeloma according to patient age and vulnerability: a report of the European Myeloma Network (EMN). *Blood* 2011;118:4519-29.
33. Durie BG, 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
34. Greipp PR, San Miguel J, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2005;23:3412-20.
35. Munshi NC, Anderson KC, Bergsagel PL, Shaughnessy J, Palumbo A, Durie B, et al; International Myeloma Workshop Consensus Panel 2. Consensus recommendations for risk stratification in multiple myeloma: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 2. *Blood* 2011;117:4696-700.
36. Kapoor P, Rajkumar SV. Update on risk stratification and treatment of newly diagnosed multiple myeloma. *Int J Hematol* 2011;94:310-20.
37. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2012 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2012;87:78-88.
38. Sawyer JR. The prognostic significance of cytogenetics and molecular profiling in multiple myeloma. *Cancer Genet* 2011;204:3-12.
39. Chanan-Khan AA, Giralt S. Importance of achieving a complete response in multiple myeloma, and the impact of novel agents. *J Clin Oncol* 2010;28:2612-24.
40. Durie BG. Role of new treatment approaches in defining treatment goals in multiple myeloma--the ultimate goal is extended survival. *Cancer Treat Rev* 2010;36 Suppl 2:18-23.
41. Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H. The role of complete response in multiple myeloma. *Blood* 2009;114:3139-46.
42. Tan D, Lao Z, Loh Y, Ng HJ, Chuah C, Wong GC, et al. Attainment of at least a very good partial response after induction treatment is an important surrogate of longer survival for multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:1625-30.
43. Bird JM, Owen RG, D'Sa S, Snowden JA, Pratt G, Ashcroft J, et al; Haemato-oncology Task Force of British Committee for Standards in Haematology (BCSH) and UK Myeloma Forum. Guidelines for the diagnosis and management of multiple myeloma 2011. *Br J Haematol* 2011;154:32-75.
44. Gay F, Palumbo A. Management of older patients with multiple myeloma. *Blood Rev* 2011;25:65-73.
45. Rajkumar SV, Harousseau JL, Durie B, Anderson KC, Dimopoulos M, Kyle R, et al; International Myeloma Workshop Consensus Panel 1.

- Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* 2011;117:4691-5.
46. van de Donk NW, Lokhorst HM, Bloem AC. Growth factors and antiapoptotic signaling pathways in multiple myeloma. *Leukemia* 2005;19:2177-85.
 47. Yaccoby S, Wezeman MJ, Henderson A, Cottler-Fox M, Yi Q, Barlogie B, et al. Cancer and the microenvironment: myeloma-osteoclast interactions as a model. *Cancer Res* 2004;64:2016-23.
 48. Jakob C, Sterz J, Zavrski I, Heider U, Kleeberg L, Fleissner C, et al. Angiogenesis in multiple myeloma. *Eur J Cancer* 2006;42:1581-90.
 49. Vacca A, Ribatti D. Bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20:193-9.
 50. Rajkumar SV, Leong T, Roche PC, Fonseca R, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Prognostic value of bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2000;6:3111-6.
 51. Di Raimondo F, Azzaro MP, Palumbo G, Bagnato S, Giustolisi G, Florida P, et al. Angiogenic factors in multiple myeloma: higher levels in bone marrow than in peripheral blood. *Haematologica* 2000;85:800-5.
 52. Bisping G, Leo R, Wenning D, Dankbar B, Padró T, Kropff M, et al. Paracrine interactions of basic fibroblast growth factor and interleukin-6 in multiple myeloma. *Blood* 2003;101:2775-83.
 53. Ribatti D, Vacca A. The role of microenvironment in tumor angiogenesis. *Genes Nutr* 2008;3:29-34.
 54. Anderson KC. Targeted therapy of multiple myeloma based upon tumor-microenvironmental interactions. *Exp Hematol* 2007;35(4 Suppl 1):155-62.
 55. Anderson KC. New insights into therapeutic targets in myeloma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;2011:184-90.
 56. Quach H, Ritchie D, Stewart AK, Neeson P, Harrison S, Smyth MJ, et al. Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDS) in multiple myeloma. *Leukemia* 2010;24:22-32.
 57. van de Donk NW, Kamps S, Mutis T, Lokhorst HM. Monoclonal antibody-based therapy as a new treatment strategy in multiple myeloma. *Leukemia* 2012;26:199-213.
 58. Chen JJ, Lin YC, Yao PL, Yuan A, Chen HY, Shun CT, et al. Tumor-associated macrophages: the double-edged sword in cancer progression. *J Clin Oncol* 2005;23:953-64.
 59. Cairo G, Recalcati S, Mantovani A, Locati M. Iron trafficking and metabolism in macrophages: contribution to the polarized phenotype. *Trends Immunol* 2011;32:241-7.
 60. Hagemann T, Biswas SK, Lawrence T, Sica A, Lewis CE. Regulation of macrophage function in tumors: the multifaceted role of NF-kappaB. *Blood* 2009;113:3139-46.

61. Saccani A, Schioppa T, Porta C, Biswas SK, Nebuloni M, Vago L, et al. p50 nuclear factor-kappaB overexpression in tumor-associated macrophages inhibits M1 inflammatory responses and antitumor resistance. *Cancer Res* 2006;66:11432-40.
62. Porta C, Rimoldi M, Raes G, Brys L, Ghezzi P, Di Liberto D, et al. Tolerance and M2 (alternative) macrophage polarization are related processes orchestrated by p50 nuclear factor kappaB. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:14978-83.
63. Hagemann T, Lawrence T, McNeish I, Charles KA, Kulbe H, Thompson RG, et al. "Re-educating" tumor-associated macrophages by targeting NF-kappaB. *J Exp Med* 2008;205:1261-8.
64. Robinson SC, Scott KA, Wilson JL, Thompson RG, Proudfoot AE, Balkwill FR. A chemokine receptor antagonist inhibits experimental breast tumor growth. *Cancer Res* 2003;63:8360-5.
65. Allavena P, Signorelli M, Chieppa M, Erba E, Bianchi G, Marchesi F, et al. Anti-inflammatory properties of the novel antitumor agent yondelis (trabectedin): inhibition of macrophage differentiation and cytokine production. *Cancer Res* 2005;65:2964-71.
66. Ganjoo KN, Patel SR. Trabectedin: an anticancer drug from the sea. *Expert Opin Pharmacother* 2009;10:2735-43.
67. Rogers TL, Holen I. Tumour macrophages as potential targets of bisphosphonates. *J Transl Med* 2011;9:177.
68. Miselis NR, Wu ZJ, Van Rooijen N, Kane AB. Targeting tumor-associated macrophages in an orthotopic murine model of diffuse malignant mesothelioma. *Mol Cancer Ther* 2008;7:788-99.
69. Zeisberger SM, Odermatt B, Marty C, Zehnder-Fjällman AH, Ballmer-Hofer K, Schwendener RA. Clodronate-liposome-mediated depletion of tumour-associated macrophages: a new and highly effective antiangiogenic therapy approach. *Br J Cancer* 2006;95:272-81.
70. Guiducci C, Vicari AP, Sangaletti S, Trinchieri G, Colombo MP. Redirecting in vivo elicited tumor infiltrating macrophages and dendritic cells towards tumor rejection. *Cancer Res* 2005;65:3437-46.
71. Falini B, Flenghi L, Pileri S, Gambacorta M, Bigerna B, Durkop H, Eitelbach F, Thiele J, Pacini R, Cavaliere A, et al. PG-M1: a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule. *Am J Pathol* 1993;142:1359-72.
72. Pulford KA, Rigney EM, Micklem KJ, Jones M, Stross WP, Gatter KC, Mason DY. KP1: a new monoclonal antibody that detects a monocyte/macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections. *J Clin Pathol* 1989;42:414-21.
73. Lau SK, Chu PG, Weiss LM. CD163: a specific marker of macrophages in paraffin-embedded tissue samples. *Am J Clin Pathol* 2004;122:794-801.
74. Buechler C, Ritter M, Orsó E, Langmann T, Klucken J, Schmitz G. Regulation of scavenger receptor CD163 expression in human monocytes

- and macrophages by pro- and antiinflammatory stimuli. *J Leukoc Biol* 2000;67:97-103.
75. Nguyen TT, Schwartz EJ, West RB, Warnke RA, Arber DA, Natkunam Y. Expression of CD163 (hemoglobin scavenger receptor) in normal tissues, lymphomas, carcinomas, and sarcomas is largely restricted to the monocyte/macrophage lineage. *Am J Surg Pathol* 2005;29:617-24.
 76. Bartl R, Frisch B, Fateh-Moghadam A, Kettner G, Jaeger K, Sommerfeld W. Histologic classification and staging of multiple myeloma. A retrospective and prospective study of 674 cases. *Am J Clin Pathol* 1987;87:342-55.
 77. Bronkhorst IH, Ly LV, Jordanova ES, Vrolijk J, Versluis M, Luyten GP, Jager MJ. Detection of M2-macrophages in uveal melanoma and relation with survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:643-50.
 78. Zaki MA, Wada N, Ikeda J, Shibayama H, Hashimoto K, Yamagami T, et al. Prognostic implication of types of tumor-associated macrophages in Hodgkin lymphoma. *Virchows Arch* 2011;459:361-6.
 79. Wada N, Zaki MA, Hori Y, Hashimoto K, Tsukaguchi M, Tatsumi Y, et al; Osaka Lymphoma Study Group. Tumour-associated macrophages in diffuse large B-cell lymphoma: a study of the Osaka Lymphoma Study Group. *Histopathology* 2012;60:313-9.
 80. Kamper P, Bendix K, Hamilton-Dutoit S, Honoré B, Nyengaard JR, d'Amore F. Tumor-infiltrating macrophages correlate with adverse prognosis and Epstein-Barr virus status in classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2011;96:269-76.
 81. Harris JA, Jain S, Ren Q, Zarineh A, Liu C, Ibrahim S. CD163 versus CD68 in tumor associated macrophages of classical hodgkin lymphoma. *Diagn Pathol* 2012;7:12.
 82. Pappa C, Miyakis S, Tsirakis G, Sfiridaki A, Alegakis A, Kafousi M, et al. Serum levels of interleukin-15 and interleukin-10 and their correlation with proliferating cell nuclear antigen in multiple myeloma. *Cytokine* 2007;37:171-5.
 83. Urbańska-Ryś H, Wiersbowska A, Stepień H, Robak T. Relationship between circulating interleukin-10 (IL-10) with interleukin-6 (IL-6) type cytokines (IL-6, interleukin-11 (IL-11), oncostatin M (OSM)) and soluble interleukin-6 (IL-6) receptor (sIL-6R) in patients with multiple myeloma. *Eur Cytokine Netw* 2000;11:443-51.
 84. Ch'ng ES, Jaafar H, Tuan Sharif SE. Breast Tumor Angiogenesis and Tumor-Associated Macrophages: Histopathologist's Perspective. *Patholog Res Int* 2011;2011:572706.
 85. Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, Greenall M, Clarke J, Harris AL. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res* 1996;56:4625-9.
 86. Mahmoud SM, Lee AH, Paish EC, Macmillan RD, Ellis IO, Green AR. Tumour-infiltrating macrophages and clinical outcome in breast cancer. *J Clin Pathol* 2012;65:159-63.

87. Zhang B, Yao G, Zhang Y, Gao J, Yang B, Rao Z, Gao J. M2-polarized tumor-associated macrophages are associated with poor prognoses resulting from accelerated lymphangiogenesis in lung adenocarcinoma. *Clinics (Sao Paulo)* 2011;66:1879-86.
88. Nonomura N, Takayama H, Nakayama M, Nakai Y, Kawashima A, Mukai M, et al. Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU Int* 2011;107:1918-22.
89. Shimura S, Yang G, Ebara S, Wheeler TM, Frolov A, Thompson TC. Reduced infiltration of tumor-associated macrophages in human prostate cancer: association with cancer progression. *Cancer Res* 2000;60:5857-61.
90. Shirabe K, Mano Y, Muto J, Matono R, Motomura T, Toshima T, et al. Role of tumor-associated macrophages in the progression of hepatocellular carcinoma. *Surg Today* 2012;42:1-7.
91. Ding T, Xu J, Wang F, Shi M, Zhang Y, Li SP, Zheng L. High tumor-infiltrating macrophage density predicts poor prognosis in patients with primary hepatocellular carcinoma after resection. *Hum Pathol* 2009;40:381-9.
92. Hanada T, Nakagawa M, Emoto A, Nomura T, Nasu N, Nomura Y. Prognostic value of tumor-associated macrophage count in human bladder cancer. *Int J Urol* 2000;7:263-9.
93. Forssell J, Oberg A, Henriksson ML, Stenling R, Jung A, Palmqvist R. High macrophage infiltration along the tumor front correlates with improved survival in colon cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:1472-9.
94. Kurahara H, Shinchi H, Mataka Y, Maemura K, Noma H, Kubo F, et al. Significance of M2-polarized tumor-associated macrophage in pancreatic cancer. *J Surg Res* 2011;167:211-9.
95. Lee CH, Espinosa I, Vrijaldenhoven S, Subramanian S, Montgomery KD, Zhu S, et al. Prognostic significance of macrophage infiltration in leiomyosarcomas. *Clin Cancer Res* 2008;14:1423-30.
96. Herwig MC, Grossniklaus HE. Role of macrophages in uveal melanoma. *Expert Rev Ophthalmol* 2011;6:405-407.
97. Steidl C, Lee T, Shah SP, Farinha P, Han G, Nayar T, et al. Tumor-associated macrophages and survival in classic Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2010;362:875-85.
98. Tzankov A, Matter MS, Dirnhofer S. Refined prognostic role of CD68-positive tumor macrophages in the context of the cellular microenvironment of classical Hodgkin lymphoma. *Pathobiology* 2010;77:301-8.
99. Sanchez-Espiridion B, Martin-Moreno AM, Montalban C, Medeiros LJ, Vega F, Younes A, et al. Immunohistochemical markers for tumor associated macrophages and survival in advanced classical Hodgkin lymphoma. *Haematologica* 2012 Feb 7.
100. Azambuja D, Natkunam Y, Biasoli I, Lossos IS, Anderson MW, et al. Lack of association of tumor-associated macrophages with clinical

outcome in patients with classical Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*. 2012;23:736-42.

101. Canioni D, Salles G, Mounier N, Brousse N, Keuppens M, Morchhauser F, et al. High numbers of tumor-associated macrophages have an adverse prognostic value that can be circumvented by rituximab in patients with follicular lymphoma enrolled onto the GELA-GOELAMS FL-2000 trial. *J Clin Oncol* 2008;26:440-6.
102. Andjelic B, Mihaljevic B, Todorovic M, Bila J, Jakovic L, Jovanovic MP. The number of lymphoma-associated macrophages in tumor tissue is an independent prognostic factor in patients with follicular lymphoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012;20:41-6.
103. Hasselblom S, Hansson U, Sigurdardottir M, Nilsson-Ehle H, Ridell B, Andersson PO. Expression of CD68+ tumor-associated macrophages in patients with diffuse large B-cell lymphoma and its relation to prognosis. *Pathol Int* 2008;58:529-32.
104. Clear AJ, Lee AM, Calaminici M, Ramsay AG, Morris KJ, Hallam S, et al. Increased angiogenic sprouting in poor prognosis FL is associated with elevated numbers of CD163+ macrophages within the immediate sprouting microenvironment. *Blood* 2010;115:5053-6.
105. Shabo I, Stål O, Olsson H, Doré S, Svanvik J. Breast cancer expression of CD163, a macrophage scavenger receptor, is related to early distant recurrence and reduced patient survival. *Int J Cancer* 2008;123:780-6.
106. Shabo I, Olsson H, Sun XF, Svanvik J. Expression of the macrophage antigen CD163 in rectal cancer cells is associated with early local recurrence and reduced survival time. *Int J Cancer* 2009;125:1826-31.

8. ÖZET

Kemik iliğinde yer alan stromal hücreler, myelom hücresinin büyümesi, yaşaması, migrasyonu ve ilaç direnci geliştirmesinde de önemli bir role sahiptir.. Tümör ilişkili makrofajların (TİM); tümör hücrelerinin yaşaması, çoğalması, yeni damar oluşumu ve yayılmasındaki önemli rolü vardır. Bu çerçevede MM patogenezi ve prognozunda TİM infiltrasyonu önemli rol oynayabilir. Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı'nda tanı almış toplam 68 MM hastası alındı. Hastaların ortanca yaşı 60 (min-maks, 40-84) olup, 36'si erkek, 32'si kadın idi. Makrofaj infiltrasyonunu saptamak için tanı anı kemik iliği biyopsilerinde anti CD68 ve CD163 monoklonal antikolar ile immunhistokimyasal boyama yapılarak değerlendirme yapıldı. Hastaların CD68+ hücre sayısı ortanca 1 (min-maks, 0-8) ve CD163+ hücre sayısı ortanca 5 (min-maks, 0-13) olarak saptandı. CD163+ hücre sayısı > 7 olan hasta sayısı 17 (%25), ≤ 7 olan hasta sayısı 51 (%75) olarak bulundu. Ortanca sağ kalım CD163+ hücre sayısı > 7 olan hastalarda 9,5 (min-maks, 1-75) ay, ≤ 7 olan hastalarda 33 (min-maks, 1,5-108) olarak bulundu (p=0,005). Altı yıllık toplam sağ kalım olasılığı CD163+ hücre sayısı > 7 olan hastalarda %22 iken CD163+ hücre sayısı ≤ 7 olan hastalarda %57 olarak bulundu (p=0,011). Tek ve çok değişkenli analizde CD163+ hücre sayısının 6 yıllık sağ kalım üzerinde anlamlı olarak etkili olduğu saptandı (p=0,015 v.s. 0,039). Kolay uygulanabilir bir yöntem olması da göz önünde bulundurulur ise immunhistokimyasal olarak CD163 ifadelenenmesinin saptanması yeni tanı MM hastalarında prognostik bir belirteç olarak kullanılabilir.

9. İNGİLİZCE ÖZET (The Impact of Tumor Associated Macrophages on Multiple Myeloma Prognosis)

Bone marrow stromal cells support the growth, survival, migration and drug resistance of myeloma cells. Tumor associated macrophages (TAM) are also known to support the survival and proliferation of tumor cells, and neo-angiogenesis in the tumor tissues. In this respect, we investigated whether TAM might have a role in pathogenesis and prognosis of MM. Sixty-eight patients who were diagnosed with MM at Gazi University Faculty of Medicine, Department of Hematology from January 2000 through January 2011 were included in this study. Median age of the patients was 60 (range, 40-84) years with 36 males and 32 females. Immunohistochemical staining using anti CD63 and anti CD163 monoclonal antibodies were performed on paraffin embedded tissue blocks were analysed retrospectively for the assessment of TAM. Median CD68+ cell number was found to be 1 (range, 0-8) and median CD163+ cell number was found to be 5 (range, 0-13). Seventeen (25%) of the patients had > 7 CD163+ cells and 51 (75%) had ≤ 7 CD163+ cells. Median survival of the patients was 9.5 (range, 1-75) months in patients with > 7 CD163+ cells and 33 (range, 1.5-108) months in patients with ≤ 7 CD163+ cells ($p=0.005$). The probability of overall survival at 6 years was 22% in patients with > 7 CD163+ cells and 57% in patients with ≤ 7 CD163+ cells ($p=0,011$). In univariate and multivariate analysis, CD163+ cell number had an impact on 6 year survival ($p=0,015$ v.s. 0,039). CD163 expression could be used as a prognostic marker in newly diagnosed patients.

ÖZGEÇMİŞ:

ADI: Elif
SOYADI: Suyanı
DOĞUM YERİ: Adana
DOĞUM YILI: 12.02.1977
MESLEĞİ: Tıp doktoru
ÜNVANI: Uzman Doktor
YABANCI DİL: İngilizce
E-POSTA: elifsuyani@hotmail.com

ÜYE OLDUĞU BİLİMSEL KURULUŞLAR: Türk Hematoloji Derneği

EĞİTİM:

1995-2001 Hacettepe Üniversitesi Tıp fakültesi (Diploma)

2002- 2006 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları
Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimi

2008- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hematoloji
Bilim Dalında yan dal araştırma görevlisi

YAYINLAR:

Yurt İçi Yayınlar:

1) Demirci H, **Suyani E**, Karakoç A, Baloş Törüner F, Ayvaz G, Yetkin İ, Çakır N, Arslan M. Erişkinde nadir bir santral diabetes insipidus sebebi: Langerhans hücreli histiositoz ve literatürün değerlendirilmesi. Endokrinolojide Yönelişler 2006; 15 (2): 59-63.

2) Değer SM, Mutluay R, **Suyani E**, Derici Ü, Tekeli L, Ayerden Ebinç F, Koç E, Altok Reis K, Erten Y, Bali M, Arınoy T, Sindel Ş. Periton Diyalizi ile İlişkili Enfeksiyonların Önlenmesinde Çıkış Yerine Siprofloksasin ve Mupirosin Uygulanmasının Karşılaştırılması (The Comparison of Ciprofloxacin and Mupirocin Applications to Exit Site for Prevention of Periton Dialysis-Related Infections. Turkish Clinics J Nephrol 2009; 4: 11-16

Yurt Dışı Yayınlar:

1) Guz G, Colak B, Hizel K, **Suyani E**, Sindel S Peritonitis due to Lactococcus lactis in a CAPD patient. Scand J Infect Dis. 2006; 38(8): 698-9.

2) Demirci H, **Suyani E**, Ugurlu B, Karakoc A, Arslan M. The use of both long acting and short acting insulin analogues in a type 1 diabetic pregnant patient: review of the literature. Case Rep Clin Pract Rev 2006; 7:254-257

3) Demirci H, **Suyani E**, Karakoc A, Toruner FB, Yetkin I, Ayvaz G, Taneri F, Cakir N, Arslan M. A Longstanding Hungry Bone Syndrome. Endocrinologist 2007; 17(1):10-12,

4) **Suyani E**, Ozturk MA, Deger SM, Demirag MD, Goker B, Haznedaroglu S. Decreased bone mineral density in adult familial Mediterranean fever patients: a pilot study. Clin Rheumatol. 2008; 27: 1171-1175.

5) **Suyani E**, Derici UB, Sahin T, Ofluoglu E, Pasaoglu H, Erdem O, Barit G, Reis KA, Erten Y, Arınoy T, Sindel S. Effects of everolimus on cytokines,

oxidative stress, and renal histology in ischemia-reperfusion injury of the kidney. *Ren Fail* 2009;31(8):698-703.

6) Sucak G, **Suyani E**, Ozkurt Z, Yeğın Z, Aki Z, Yagci M. Abnormal protein bands in patients with multiple myeloma after haematopoietic stem cell transplantation: does it have a prognostic significance? *Hematol Oncol*. 2010 Feb 12. [Epub ahead of print]

7) Ozkurt ZN, Yegin ZA, **Suyani E**, Aki SZ, Acar K, Yagci M, Sucak GT. Factors affecting stem cell mobilization for autologous hematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Apher*. 2010;25(5):280-6.

8) **Suyani E**, Akı SZ, Yegin ZA, Ozkurt ZN, Altındal S, Akyürek N, Yağcı M, Sucak GT. The impact of bone marrow fibrosis on the outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant Proc*. 2010 Sep;42(7):2713-9.

9) **Suyani E**, Sucak GT, Akı ŞZ, Yeğın ZA, Özkurt ZN, Yağcı M. Gemcitabine and vinorelbine combination is effective in both as a salvage and mobilization regimen in relapsed or refractory Hodgkin lymphoma prior to ASCT. *Ann Hematol*. 2011 Jun;90(6):685-91. Epub 2010 Nov 12.

10) **Suyani E**, Aki Z, Güzel Ö, Altındal S, Senol E, Sucak G. H1N1 infection in a cohort of hematopoietic stem cell transplant recipients: prompt antiviral therapy might be life saving. *Transpl Infect Dis*. 2011 Apr;13(2):208-12.

11) Sucak GT, Özkurt ZN, **Suyani E**, Yaşar DG, Akdemir ÖÜ, Aki Z, Yeğın ZA, Yağcı M, Kapucu ÖL. Early post-transplantation positron emission tomography in patients with Hodgkin lymphoma is an independent prognostic factor with an impact on overall survival. *Ann Hematol*. 2011 Nov;90(11):1329-36.

12) **Suyani E**, Yağcı M, Sucak GT. Complete remission with a combination of lenalidomide, cyclophosphamide and prednisolone in a patient with incomplete POEMS syndrome. *Acta Haematol*. 2011;126(4):199-201.

13) Akı SZ, Paşaoğlu H, Yeğın ZA, **Suyani E**, Demirtaş CY, Ozkurt ZN, Yağcı M, Sucak GT. Impact of prohepcidin levels and iron parameters on early post-transplantation toxicities. *Hematology*. 2011 Sep;16(5):284-90.

- 14) Mirza EI, Mutluay R, **Suyani E**, Okyay GU, Akyurek N, Aki SZ, Derici U, Arinsoy T. Posttransplant lymphoproliferative disorder with lung involvement in a renal transplant recipient. *Exp Clin Transplant*. 2011 Dec;9(6):425-8.
- 15) Sucak GT, **Suyani E**, Baysal NA, Altındal S, Çakar MK, Akı ŞZ, Yeğın ZA, Şanlıer N The role of body mass index and other body composition parameters in early post-transplant complications in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation with busulfan-cyclophosphamide conditioning. *Int J Hematol*. 2012 Jan;95(1):95-101.
- 16) **Suyani E**, Sucak GT, Erten Y, Cakar MK, Ulusal G, Yağcı M, Haznedar R. Evaluation of multiple myeloma patients presenting with renal failure in a university hospital in the year 2010. *Ren Fail*. 2012;34(2):257-62.
- 17) **Suyani E**, Altındal S, Akı SZ, Sucak GT. Does fludarabine increase the incidence of sinusoidal obstruction syndrome when combined with Bu/Cy during conditioning? *Clin Transplant*. 2012 Mar;26(2):E85-6.