

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**YENİ TANI MULTİPL MİYELOM HASTALARINDA SERUM İKAROS
PROTEİNİ SEVİYESİNİN BELİRLENMESİ VE PROGNOSTİK ÖNEMİ**

DR. NURİYE YILDIZ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

KOCAELİ, 2017

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**YENİ TANI MULTİPL MİYELOM HASTALARINDA SERUM İKAROS
PROTEİNİ SEVİYESİNİN BELİRLENMESİ VE PROGNOSTİK ÖNEMİ**

DR. NURİYE YILDIZ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ELİF BİRTAŞ ATEŞOĞLU

İÇ HASTALIKLARI ABD BAŞKANI: PROF. DR. SADETTİN HÜLAGÜ

ARAŞTIRMA PROJE NUMARASI: 2016/167

KOCAELİ, 2017

I.TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesi, çalışmanın planlanması ve sürdürülmesi, tezimin hazırlanmasında bana yardımlarını esirgemeyen ve bana yol gösteren uzmanlık eğitimim boyunca her zaman bana yardımcı olan bilgi ve tecrübelerimden faydalandığım değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Elif BİRTAŞ ATEŞOĞLU'na,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşan ve uzmanlık eğitimime büyük katkısı olan Kocaeli Üniversitesi Rektörü ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sadettin HÜLAGÜ'ye,

Eğitimime katkısı olan, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Dahili Bilimler Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Berrin ÇETİNARSLAN'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen, her zaman yol gösteren, bilgi ve tecrübelerini paylaşan, eğitimime katkıları olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görevli olan tüm değerli hocalarıma,

Tez hastalarımın seçimi ve örneklerin alınmasında, tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen, uzmanlık eğitimim boyunca her zaman bana yol gösteren Uzm. Dr. Esra Terzi DEMİRSOY'a,

Tez jürimde olmayı kabul eden ve desteklerini esirgemeyen Sayın Hocam Doç. Dr. Tayfur TOPTAŞ'a,

Ayrıca serolojik çalışma esnasında laboratuvar çalışmamızda desteğini gördüğüm Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD Başkanı Prof. Dr. Hale MARAL ve Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Elisa Laboratuvarı teknikeri Erdem YAŞARTÜRK'e,

Eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşarak eğitimime katkısı olan tüm uzmanlarıma ve uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, unutulmaz dostluklar kurduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Yaptığım her işte emeği ve desteği olan ve her zaman yanımda olan kıymetli AİLEME, TEŞEKKÜR EDERİM.

Nuriye YILDIZ

Kocaeli, 2017

II.İÇİNDEKİLER

I.TEŞEKKÜR.....	1
II.İÇİNDEKİLER.....	2-3
III.SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	4-8
IV.ŞEKİLLER DİZİNİ.....	9
V.TABLO DİZİNİ.....	10
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	11-12
2.GENEL BİLGİLER.....	13
2.1. PLAZMA HÜCRE DİSKRAZİLERİ.....	13
2.1.1.Multipl miyelom.....	14
2.1.1.1.Epidemiyoloji.....	14
2.1.1.2.Etyoloji.....	15
2.1.1.3.Multipl miyelomda patogenezi.....	15
2.1.1.4.Multipl miyelomda sitogenetik özellikler.....	16-17
2.1.1.5.Multipl miyelom ve kemik iliği mikroçevresi ilişkisi.....	17-20
2.1.1.6.Klinik özellikler.....	20-22
2.1.1.7.Laboratuvar bulguları.....	22-25
2.1.1.8.Tanı.....	25-28
2.1.1.9.Evleme.....	28-29
2.1.1.10.Multipl miyelomda prognostik faktörler.....	30-32
2.1.1.11.Uluslararası miyelom çalışma grubu (IMWG) yanıt kriterleri.....	32-35
2.1.1.12. Multipl miyelomda tedavi.....	35-36
2.1.1.12.1.Başlangıç tedavisi (indüksiyon).....	36
2.1.1.12.2.Yaşlı hastada tedavi.....	36
2.1.1.12.3.Yüksek riskli miyelomda tedavi.....	37
2.1.1.12.4.Otolog kök hücre nakli.....	37
2.1.1.12.5.Tandem nakil.....	37-38
2.1.1.12.6. Allojenik nakil.....	38
2.1.1.12.7.Posttransplant idame tedavisi.....	38
2.1.1.12.8.Standart doz kemoterapi sonrası idame tedavisi.....	38
2.1.1.12.9. Relaps gerçekleşen multipl miyelomda tedavi.....	38-39

2.1.1.13. Multipl miyelom tedavisinde kullanılan ilaçlar.....	40
2.1.1.13.1. İmmünmodülatör ilaçlar.....	40-42
2.1.1.13.2. Proteozom inhibitörleri.....	43-44
2.1.1.13.3. Korikosteroidler ve konvansiyonel tedavi ajanları.....	45
2.1.1.13.4. Bendamustin.....	45
2.1.1.13.5. Panobistat.....	45
2.1.1.13.6. Monoklonal antikolar.....	45-46
2.1.1.14. Destek tedavisi.....	46
2.1.1.14.1. Hiperkalsemi.....	46
2.1.1.14.2. Kemik lezyonları.....	46-47
2.1.1.14.3. Enfeksiyonlardan korunma.....	47
2.1.1.14.4. Hiperviskozite sendromu.....	47
2.1.1.14.5. Böbrek Yetmezliği.....	47
2.2. İKAROS PROTEİN AİLESİ.....	48-49
2.2.1. İkaros (İKZF1) geni.....	50
2.2.2. İkaros'un fizyolojik fonksiyonları.....	51-53
2.2.3. İkaros ve ilişkili hastalıklar.....	53-54
2.2.4. İkaros ve multipl miyelom.....	54-58
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	59
3.1. HASTA GRUPLARI.....	59-60
3.2. YÖNTEM.....	60
3.2.1. Serum İkaros protein düzeyi ölçüm metodu.....	60-61
3.3. İSTATİSTİKSEL İŞLEMLER.....	61
4. BULGULAR.....	62-73
5. TARTIŞMA.....	74-79
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	80
7. ÖZET.....	81-82
8. ABSTRACT.....	83-84
9. EKLER.....	85-89
10. KAYNAKÇA.....	90-100

III.SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A.B.D.: Amerika Birleşik Devletleri

ABD: Ana Bilim Dalı

Alb: Albümin

ALL: Akut lenfositik lösemi, akut lenfoblastik lösemi

amp 1q: 1q amplifikasyonu

AST: Aspartat aminotransferaz

BAP: Bilimsel Araştırma Projesi

bFGF: bazal fibroblast büyüme faktörü

BMSC: Kemik iliği stromal hücreler

BT: Bilgisayarlı tomografi

CAF: Kanser ilişkili fibroblast

CBM: Cereblon bağlayıcı molekül

CCL2: Kemokin (C-C motif) ligand 2

CRAB: hiperkalsemi, renal yetmezlik, anemi, kemik lezyonu

CRBN: Cereblon

CRBN-CRL4 : E3 ubiquitin ligaz kompleks

CRP: C-reaktif protein

CTLA4: Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein 4

CUL4 : Cullin 4A

CXCL12: Kemokin (C-X-C motif) ligand 12

CXCR4: Kemokin (C-X-C motif) reseptör 4

ÇİKY: Çok iyi kısmi yanıt

DDB1: Hasarlı protein DNA bağlanma bölgesi-1

del 13q : 13q delesyonu

del 17p: 17p delesyonu

DKK-1: Dickkopf WNT sinyal yolak inhibitör 1

DS: Durie Salmon

EF: Elektroforez

Elisa: Enzim ilişkili immünosorban yöntem (*enzyme linked immunosorbent assay*)

ER: Endoplazmik retikulum

ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı
FDA: *Food and Drug Administration*
FGFR3: Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 3
FISH: Floresan in situ hibridizasyon
FN: Fibronektin
GFR: Glomerüler filtrasyon hızı
Hb: Hemoglobin
HGF: Hepatosit Büyüme Faktörü
HIF-1 α : Hipoksi ilişkili faktör 1 α
HLA: Doku uygunluk antijeni (*Human Leucocyte Antigen*)
HRP: Horseradish peroksidaz
ICAM1: İntersellüler adhezyon molekülü 1
IFN- β : İnterferon- β
IFN- γ : İnterferon- γ
IGF-1: İnsülin büyüme faktörü-1 (*İnsulin growth factor-1*)
İKZF1 : İkaros
İKZF2: Helios
İKZF3: Aiolos
İKZF4: Eos
İKZF5: Pegasus
IL-1: İnterlökin -1
IL-2: İnterlökin-2
IL-6: İnterlökin-6
IL-10: İnterlökin -10
IMiDs: *Immunomodulatory drugs*
IMWG: Uluslararası Miyelom Çalışma Grubu (*International Myeloma Working Group*)
IRF4: İnterferon regülatör faktör 4
ISS: Uluslararası Evreleme Sistemi (*International Staging System*)
ITGB1: İntegrin β 1
ITGB2: İntegrin β 2
İg: İmmünglobulin
İgA: İmmünglobulin A

İgD: İmmünglobulin D
İgG:İmmüglobulin G
İgH: İmmünglobulin ağır zincir
İgM: İmmünglobulin M
İMİD: İmmünmodölatör ilaçlar
iv :intravenöz
JNK: c-JUN N-terminal kinaz
HOXA9: *Homeobox A9*
KML: Kronik miyeloid lösemi
KRD: Karfilzomib-lenalidomid-deksametazon
KT: Kemoterapi
KY: Kısmi yanıt
LDH: Laktat dehidrogenaz
MAPK: Mitojen aktive edici protein kinaz
MAPK1: Mitojen aktive edici protein kinaz 1
MDS: Miyelodisplastik sendrom
MDSC: Miyeloid derive edici supresör hücre
MGUS: Önemi belirsiz monoklonal gammopati (*Monoclonal Gammopathies of Undetermined Significance*)
MIP-1 α : İnflamatuar Makrofaj Protein-1 α
MM: Multipl miyelom
MPT: Melfalan-prednizon-talidomit
MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MTY: Mükemmel tam yanıt
MUC-1: Müsin-1
NA: Yanıt değerlendirilemedi
NF- κ B: Nükleer faktör kappa B
NK: Doğal öldürücü (*natural killer*)
OPG: Osteoprotegerin
OS: Genel sağ kalım
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDGF: Platelet derive edici büyüme faktörü

PD-1: Programlı hücre ölümü 1
PD-L1: Programlı hücre ölümü ligand 1
Pd: Pomalidomid-deksametazon
PET/BT: Pozitron Emisyon Tomografi/Bilgisayarlı Tomografi
PFS : Hastaliksız sağ kalım (*Progression free survival*)
pg : pikogram
PH: Progresif hastalık
Plt: Trombosit
POEMS: Polinöropati, organomegali, endokrinopati, monoklonal gammopati, deri değişiklikleri
PY: Parsiyel Yanıt
RANK: Reseptör Aktivatör Nükleer Kappa B
RANKL:Nükleer Faktör Kappa B Ligand Reseptör Aktivatörü
RBC: Eritrosit
Rd : Lenalidomid-deksametazon
R-ISS: Revize edilmiş Uluslararası Evrelem Sistemi
SH: Stabil Hastalık
SLAMF7: Lenfosit sinyal aktivasyon molekülü F7
SMM: Sessiz (asemptomatik) multipl miyelom (*Smoldering multipl myeloma*)
SPSS: *Statistical Practice for Social Sciences*
Roc1: Cullin 1 regülatörleri
T.C : Türkiye Cumhuriyeti
TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü β
TH17: Yardımcı T hücresi 17 (*T helper 17*)
TMB: Tetra metil benzidin
TNF- α : Tümör nekrozis faktör α
Treg: T regülatör hücre
TY: Tam yanıt
U/L: Ünite/litre
UV: Ultraviyole
VAD: Vinkristin-adriablastin-deksametazon
VCD: Bortezomib-siklofosfamid-deksametazon

VRD: Bortezomib –lenalidomid-deksametazon

VTD: Bortezomib-talidomid-deksametazon

VCAM1: Vasküler hücre adhezyon molekülü 1

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü (*Vascular endothelial growth factor*)

VEGFA: Vasküler endotelyal büyüme faktörü A

β 2MG: Beta 2 mikroglobulin

μ l: Mikrolitre

WBC: Lökosit



IV.ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Şekil altı yazısı</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil-1.	Multipl miyelom patogenezinde kemik iliği mikroçevresinin rolü.....	19
Şekil-2.	Periferik yaymada sitoplazması bazofilik, çekirdeği orta dış yerleşimli plazma hücresi.....	25
Şekil-3.	İkaros'un başlangıç yeri.....	48
Şekil-4.	İkaros'un N-terminal bölgesi (F1-F4) DNA bağlanma bölgesi ve C-terminal bölgesi.....	50
Şekil-5.	İkaros izoformları	51
Şekil-6.	IKZF1 ve IKZF3'ün proteozomal yıkımı.....	56
Şekil-7.	Lenalidomid etkisi.....	57
Şekil-8.	Multipl miyelom ve sağlıklı kontrol grubunun serum İkaros düzeylerinin karşılaştırılması.....	65
Şekil-9.	Serum İkaros düzeyi ile tam sağkalım ilişkisi analizi.....	72
Şekil-10.	Serum İkaros düzeyi ile progresyonsuz sağkalım ilişkisi analizi.....	73

V.TABLO DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Tablo üstü yazısı</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo-1.	Multipl miyelomlu hastalarda semptom ve bulguların sıklığı.....	20
Tablo-2.	Yeniden düzenlenmiş Uluslararası Miyelom Çalışma Grubu tanı kriterleri.....	27
Tablo-3.	Miyelom Tanımlayıcı Olaylar.....	28
Tablo-4.	Durie-Salmon evreleme sistemi.....	29
Tablo-5.	Uluslararası Evreleme Sistemi (Revised International Staging System)	29
Tablo-6.	Multipl miyelomda yüksek risk belirleyen faktörler.....	30
Tablo-7.	Multipl miyelomda risk belirleyen sitogenetik anomaliler.....	31
Tablo-8.	Multipl miyelom hastaları ve sağlıklı kontrollerin demografik özellikleri, klinik ve laboratuvar parametreleri.....	63-65
Tablo-9.	Hasta ve sağlıklı kontrol grubunun ortalama serum İkaros düzeylerinin demografik özellikler, klinik ve laboratuvar parametreleri yönünden karşılaştırılması.....	67-68
Tablo-10.	Serum İkaros düzeyi 17,98'den düşük ve yüksek olan multipl miyelom hastalarının laboratuvar parametrelerinin ve klinik özelliklerinin karşılaştırılması.....	69-71

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl miyelom kemik iliğinde monoklonal ağır ve/veya hafif zincir immünglobulin (M-protein) üreten plazma hücrelerinin klonal olarak çoğalmasıyla karakterize bir hematolojik malignitedir. Tümör hücreleri proliferasyonu ve apoptozise karşı direnç gelişimi sonucu hastalık oluşmakta osteolitik kemik lezyonları, böbrek fonksiyon bozukluğu, serum veya idrarda monoklonal protein ve anemi gibi klinik-laboratuvar bozukluklarıyla ortaya çıkmaktadır.^{1,2}

Multipl miyelom tüm malign hastalıkların %1'ini tüm hematolojik malignitelerin %10'unu oluşturur.³ Multipl miyelom esas olarak ileri yaş hastalığıdır. En sık görüldüğü yaş grubu 65-70'dir.⁴ Plazma hücreleri ile bu hücreler tarafından üretilen antikolar, lokal kemik iliği, kemik iliği mikroçevresi ve diğer organlar arasında karmaşık bir ilişki mevcuttur. Multipl miyelom patogeneğinde sinyal yolları, apoptotik mekanizmalar, kemik iliği mikroçevresi ve hücre siklusundaki anormallikler suçlanmaktadır. Bu konudaki temel bilgilerin artışı ve yeni ajanların geliştirilmesi (talidomid, lenalidomid ve pomalidomid gibi immünmodülatör ilaçlar) terapötik yanıt oranlarını arttırmış ve hasta sağ kalım oranlarını da uzatmıştır. Aynı zamanda bir talidomid bağlayıcı protein olan cereblon ekspresyonunun talidomidin immünmodülatör etkisi için gerekli olduğu saptanmış ve aynı zamanda bu molekülün pomalidomid ve lenalidomid içinde önemli bir hedef olduğu gösterilmiştir.^{5,6,7}

İkaros geni çinko parmak motifli DNA bağlayan protein ailesinin bir üyesi olan bir transkripsiyon faktörünü kodlar. Bu ailedeki proteinler kromatinlerin yeniden modellenmesi ile ilişkilidir. IKZF1 (İkaros) geni tarafından kodlanan İkaros çinko parmak proteini, lenfoid ve miyeloid hücre serilerinin gelişiminde önemli rol oynar. İkaros geni bulunmayan farelerle yapılan çalışmalarda hematopoetik kök hücre gelişiminde defektler, miyeloid hücrelerde eksiklik ve B hücre öncüllerinin gelişmediği görülmüştür.^{8,9} Son yapılan çalışmalarda multipl miyelom hastalarının tedavisinde kullanılan lenalidomidin İkaros ailesi transkripsiyon faktörlerinin iki üyesi olan IKZF1 (İkaros) ve IKZF3 (Aiolos) protein düzeylerinin kayda değer bir spesifikite ile azalttığı ve ubikinizasyonunu arttırdığı görülmüştür. Ayrıca hem IKZF1 hem de IKZF3'ün substrat adaptörü cereblona bağlandığını ve bu etkileşimin lenalidomid varlığında arttığı görülmüştür.⁷ Bu çalışmada amacımız, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Erişkin Hematoloji Polikliniği'nde

yeni tanı konan multipl miyelom hasta popülasyonunda serum İkaros proteini düzeyinin Elisa (enzim ilişkili immünosorban yöntem) yöntemi ile belirlemektir. Çalışmamızın en önemli katkısının klinik uygulamalar kısmında İkaros protein seviyesinin hastalık prognozundaki etkisi ve immünmodülatör tedavi alan hastaların tedaviye yanıt oranında tanı anındaki serum İkaros protein düzeyinin etkisi olup olmadığının araştırılmasıdır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. PLAZMA HÜCRE DİSKRAZİLERİ

İmmünglobulin salgılayan hücrelerin anormal çoğalması, kan veya idrarda monoklonal gammopatinin bulunması ile karakterize bir grup hastalığa plazma hücre diskrazisi denir. Kanda artış gösteren bu immünglobuline M protein denir. İmmünglobulinlerdeki aşırı artış nedeniyle bu hastalık grubu için monoklonal gammopati, disproteinemi veya paraproteinemi terimleri de kullanılır. En çok orta ve ileri yaş grubunda ortaya çıkar. Bu hastalıkların başlıcaları şunlardır:

I. Malign monoklonal gammopatiler

A. Multipl miyelom (IgG, IgA, IgD, IgE ve hafif zincir) ve tipleri

Sessiz multipl miyelom

Plazma hücre lösemisi

Nonsekretuar miyelom

Osteosklerotik miyelom (POEMS sendromu)

Soliter kemik plazmositoması

Ekstramedüller plazmositom

B. Waldenström makroglobulinemisi

II. Önemi belirsiz monoklonal gammopati (MGUS)

III. Ağır zincir hastalıkları (α , γ , μ)

Primer amiloidoz¹

2.1.1. Multipl miyelom

Multipl miyelom (MM), plazma hücrelerinin ve plazma hücresi öncülerinin malign proliferasyonu ile karakterize olan bir hematolojik kanser türüdür.² Tüm yetişkin malignitelerin %1'ini, hematolojik malignitelerin ise %10'unu kapsamaktadır.³ MM aşırı monoklonal immünoglobulin (IgG, IgA, IgD, IgE) veya Bence-Jones protein (serbest monoklonal κ veya λ hafif zinciri) yapımıyla kendini belli eden ve sıklıkla hiperkalsemi, anemi, böbrek hasarı, bakteriyel enfeksiyonlara karşı duyarlılığın artması ve yaygın olarak pelvis, omurga, kaburgalar ve kafatasında yaygın kemik lezyonlarıyla karakterizedir.¹⁰ MM tedaviye tam yanıt veren hastalar da dahil olmak üzere regresyon ve remisyonu takiben rezidüel miyelom hücrelerinden kaynaklanan birçok relaps gösteren bir paterne sahip olan henüz tam tedavisi olmayan bir hastalıktır. Konvansiyonel kemoterapi ile birlikte talidomid, lenalidomid, bortezomib, olog kök hücre nakli ve yeni geliştirilen anti-miyelom ajanlar tümör redüksiyonu ve supresyonuna yol açarak miyelom tedavisini önemli ölçüde etkilemektedir.^{11,12} Hastalık ilk kez 19. yüzyılın ortalarında tanımlanmıştır. İlk myelom hastası 1844 yılında Samuel Solly tarafından bildirilmiştir. Henry Bence Jones hastaların idrarında anormal bir protein tanımlamıştır.¹³

2.1.1.1. Epidemiyoloji

Multipl miyelom, A.B.D.'de yaklaşık olarak tüm malignitelerin %1'ini ve hematolojik malignitelerinden de %10'unu oluşturmaktadır.³ MM, tüm ırklarda ve tüm coğrafik bölgelerde görülür. İnsidans, etnik kökene göre değişiklik gösterir; Afrika kökenli Amerikalılarda ve Afrikalı siyahlarda beyazlardaki insidansın 2-3 katıdır.¹⁴ Erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmektedir ve bu oran yaklaşık olarak 1,4:1'dir. Mortalite hızları da erkeklerde kadınlardan ve siyahlarda beyazlardan daha yüksektir.¹⁵ MM yaşlı bireylerin hastalığıdır. Ortalama tanı yaşı 66'dır. Hastaların %10'u ve %2'si sırasıyla 50 ve 40 yaşlarından daha gençtir. Birinci derece akrabalarında MM olan bireylerde hastalık riski diğer bireylere göre 4 kat artmıştır.⁴

2.1.1.2. Etyoloji

Multipl miyelomun ortaya çıkış sebebi tam olarak bilinmemekle beraber genetik yatkınlık, çevresel ve mesleki faktörlerin etken olabileceği düşünülmektedir.^{11,12} Hastalığın miyelomlu akrabası olan bireylerde görülme riski dört kat artarken çoğu hastanın aile öyküsünde MM hastası olmadığı görülmüştür. Diğer plazma hücresi diskrazilerine sahip hastalarda MM gelişme riski oldukça yüksektir. İyonize radyasyon maruziyeti MM için en geçerli risk faktörlerindendir.¹³ Ayrıca egzoz dumanına, tarım ilaçlarına ve ağır metallere maruz kalan çalışanlarda da MM riskinin arttığı saptanmıştır. Metabolitleri kemik iliği toksinleri olarak bilinen benzen MM'un en olası etyolojik ajanlardan biridir.¹⁴

2.1.1.3. Multipl miyelomda patogenez

Günümüzde multipl miyelom patogenezinin tamamını açıklayan tek bir anormallik saptanmamıştır. Habis plazma hücreleri uzun yaşam süreli ve düşük üreme indeksli hücrelerdir. MM'da neoplazik transformasyonun olasılıkla B hücre gelişiminin geç aşamasında muhtemelen germinal merkezde plazmablast veya hafıza B hücresi aşamasında olduğu düşünülmektedir. Multipl miyelomun patogenezi sitokin salınımı, sitogenetik ve moleküler genetik özellikleri, kemik iliği mikroçevresi ve hücre siklusu üzerinde yapılan çalışmalarla açıklanmaya çalışılmıştır.³

MM patobiyojisi kompleks bir süreçtir ve plazma hücrelerinden kaynaklanan malign bir klonun çoğalması ile oluşur. MM patogenezi birbirini takip eden iki süreçten oluşur: 1) MGUS ortaya çıkışı 2) MGUS'tan MM'a progresyon.¹⁶ Genellikle MGUS başlatan olay bilinmese de MGUS sitogenetik anomalilerle birlikte dir. Bu anomalilerin çoğunun antijenik stimülasyona yanıt olarak ortaya çıkan anormal plazma hücre cevabından olduğu düşünülmektedir. Sonuçta monoklonal immünglobulin üreten plazma hücre klonu meydana gelir. Plazma hücre klonunda ek genetik anomaliler veya kemik iliği mikroçevresindeki değişikliklerin eklenmesiyle MGUS'tan MM'a ilerleme gerçekleşir. Bazı hastalarda asemptomatik ancak daha ileri bir premalign evre klinik olarak tespit edilir ki buna smoldering (sessiz) miyelom denir.¹⁷

2.1.1.4. Multipl miyelomda sitogenetik özellikler

Multipl miyelomda sitogenetik özellikler en önemli prognostik faktörlerden biridir. Konvansiyonel sitogenetik ve moleküler sitogenetik çalışmalarda pek çok tekrarlayan anomali bildirilmiştir.¹⁸ Ancak multipl miyelomlu hastalarda en önemli prognostik parametreler arasında sitogenetik anomaliler sayılmasına rağmen %50-70'inde normal karyotipler gözlenmekte, %20-50'sinde sayısal veya kromozomal anomaliler saptanmaktadır.¹²

En önemli kromozom anomalileri hipo ve hiperdiploidi karyotipler, kromozom 1 anomalileri, kromozom 13 anomalileri ve kromozom 14q32'deki IgH yeniden düzenlemeleridir.¹⁹

Multipl miyelom gelişimi ile sonuçlanan somatik mutasyonlar non-hiperdiploidi hastalık ve hiperdiploidi hastalık olarak ikiye ayrılır.¹⁹ Bu mutasyonlar sonucunda hücrelerin G1/S döngüsü ve siklin D geni transkripsiyonu regülasyonunda bozukluk olur.²⁰

Nonhiperdiploid olgular genelde 14. Kromozomun q32. bölgesinde lokalize olan ve t (4;14), t (11;14), t (14;16), t (14;20) içeren IgH genleri translokasyonları olarak karakterize edilir.²¹ Kromozom 14'deki IgH lokusunu (14q32) içeren translokasyonlar MM ve MGUS'un her ikisinde de ortak görülür. Bu nedenle erken patojenik olaylar olarak yorumlanır. Bu translokasyonlar IgH ekspresyonunu arttırıcı genler ile bir proto-onkogeni birleştirerek oluşan yeni yapıya normalde var olmayan bir özellik kazandırır. Bu özellik aslında büyüme ve yaşam sinyal yollarını aktifleyici ve apoptotik sinyalleri bozucu sonuçlara yol açan genetik bir lezyon olmasıdır.²²

Nonhiperdiploid olgular genelde hastalık progresyon riski yüksek ve kötü prognozla ilişkilidir.²³ Buna karşılık hiperdiploid olgularda genel olarak trizomili kromozom oranı fazla (özellikle 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 ve 21 nolu kromozomlar) fakat IgH translokasyonlarının oranı düşüktür.²⁴ Ayrıca refrakter hastalığa sahip olgularda ek olarak 13q delesyonu ve 1q21 kazanımı gibi ek sitogenetik anomaliler saptanmıştır.²⁵

Hiperdiploid karyotipe sahip olgular iyi prognostik gruba dahil edilmekle birlikte genetik olarak oldukça heterojendirler. İyi prognostik sınıfta bulunan hiperdiploid olgularda anomaliler arasında 13q delesyonu, 1q amplifikasyonu ve/veya IgH translokasyonları görülüyorsa kötü prognostik sınıfa dahil olmaktadır.^{26,27,28}

Miyelom oluşumunda diğer sık gerçekleşen genetik olaylar N-ras ve K-ras onkogenlerinin mutasyonlarıdır. K-ras mutasyonlu hastalar mutasyonu taşımayanlara göre daha kısa sağkalım gösterirler. Ras mutasyonları MM hastalarının %35-50'sinde görülürken MGUS vakalarında nadirdir. Bu durum bu mutasyonların sekonder bir genetik olay olduğunu yada MGUS'dan MM'a geçişte etken olabileceğini düşündürmektedir.^{29,30} Bunun aksine onkogenik yolların aktivasyonu ve p53 gibi tümör baskılayıcı genlerin mutasyonu MM'da nadir görülür. Bu olaylar çoğunlukla ilerlemiş hastalık yada ekstrasellüler bir belirtiyile ilişkilendirilir.³¹

Bu mutasyonlara ek olarak yeni yapılan çalışmalarda BRAF, FAM46C, DIS3, XPI1, IRF4 ve PRMD1 gibi transkripsiyon faktörleri ile MLL, MLL2, MLL3, UTX, MMSET, WHSC1L1 ve HOXA-9 gibi histon modifiye edici enzimlerde mutasyonlar saptanmıştır.²¹

MM'daki ortak genetik değişikliklerin asıl sonuçları hücre döngüsü regülasyonun bozulması ve apoptoz direnci kazanımıdır. Örneğin t (4:14) translokasyonu FGFR3 'ün aşırı ekspresyonuna dolayısıyla Ras/ mitojen aracılı protein kinaz (RAS/MAPK) yolağının uyarılmasına yol açar. Ras/MAPK yolağının aktivasyonu hücre döngüsünün ilerlemesine ve hücrel yaşamın devamına neden olur.^{6,19,26,27}

2.1.1.5. Multipl miyelom ve kemik iliği mikroçevresi ilişkisi

Multipl miyelomda genetik özelliklere ek olarak kemik iliği mikroçevresi de hastalık patogeneğinde önemli bir faktördür.³² Kemik iliği mikroçevresi hücrel ve hücrel olmayan kompartman olarak iki kategoride sınıflandırılır. Hücrel kompartman hematopoetik hücreler ve hematopoetik olmayan fibroblast/ kemik iliği stromal hücreler, endotelial hücreler, osteoklast ve osteoblastlardan oluşur. Hücrel olmayan kompartman ekstrasellüler matriks, sitokinler, büyüme faktörleri ve kemokinlerden oluşur.

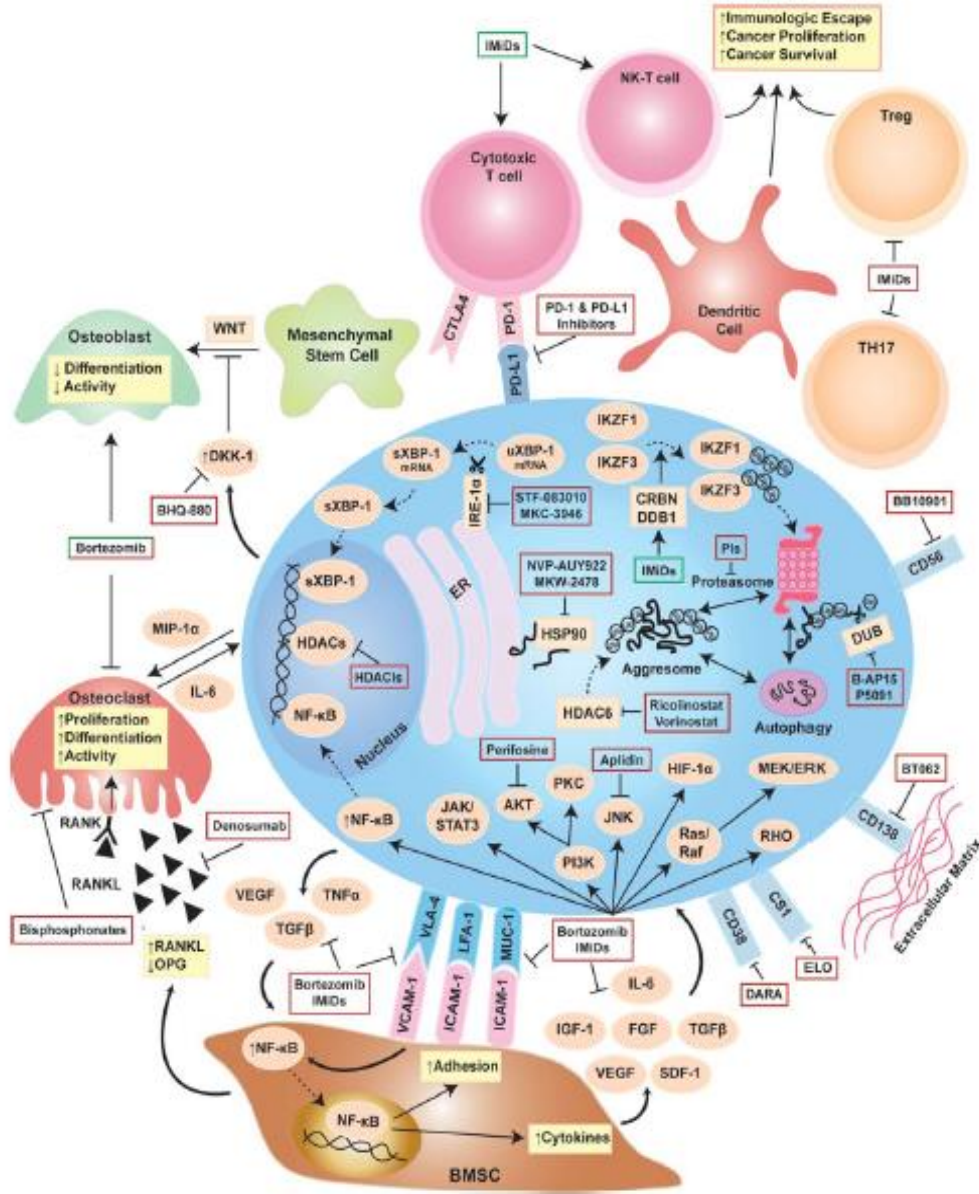
MM hücreleri kemik iliğine yerleşerek ekstrasellüler proteinlere ve kemik iliği stromal hücrelere adheze olurlar. Böylece hastalık progrese olarak kemik iliğinde yeni alanlara metastaz meydana gelmiş olur.³³

MM hücreleri ile kemik iliği stromal hücreler (BMSCs) arasındaki etkileşim ile NF-κB sinyal yolağı aktifleşir ve IL-6 sekresyonu artar. IL-6, MM hücrelerinden VEGF salınım ve sekresyonunu artırır.³⁴ Aynı zamanda MM hücreleri ve kemik iliği stromal hücreleri

arasındaki etkileşim Notch sinyal yolağı aracılığı ile de gerçekleşir. Notch sinyal yolağının aktivasyonu ve IL-6, VEGF, IGF-1 sekresyonuna bağı tümör hücreleri proliferer olur.³⁵

IL-6, hem normal hem de anormal plazma hücrelerinin büyümesini ve sağkalımını sağlayan sitokindir. IL-6 miyelom hücrelerinin sağkalımı için gereklidir. İn vitro çalışmalar IL-6 inhibisyonunun miyelom plazma hücre dizilerinin proliferasyonunu durdurduğunu göstermektedir. İn vivo IL-6 kemik iliğı mikroçevresinde üretilir ve plazma hücrelerini stimüle eder. Plazma hücrelerinin kemik iliğine adhezyonu da IL-6 sekresyonunu tetikler. Ayrıca NF-κB, IL-6 upregülasyonunu sağlar ve NF-κB yolağının bloke edilmesi IL-6 sekresyonunu bloke eder.³⁶ Reseptörüne bağlandıktan sonra IL-6, MEK/MAPK, JAK-STAT-3 ve PI3K/Akt sinyal yolaklarını aktive eder.³⁷ Klinik olarak yüksek IL-6 seviyesi MM hastalarında kötü prognozla ilişkilidir.

Aynı zamanda kemik iliğı mikroçevresinde tümör anjiyogenezinde rol alan VEGF, bFGF, anjiyopetin-1, TGF-β, PDGF, hepatosit büyüme faktörü, IL-1 gibi proanjiyogenik faktörler salınır. Bunlardan en önemlileri VEGF ve bFGF olmakla birlikte bunlar sayesinde MM hücrelerinin büyümesine ve hastalık progresyonuna neden olan neoanjiyogenez olmaktadır. Bunların bilinmesi ile MM tedavisinde anjiyogenezi inhibisyonu amaçlayan tedavi rejimleri ile ilgili klinik çalışmalar yapılmıştır ve bazıları tedavide kullanılmaya başlanmıştır.³⁸ MM hastalarının çoğunda kemik formasyonu ve kemik rezorpsiyonu arasındaki denge osteoklast aktivasyonu nedeniyle bozulmuştur. Bunun sonucunda hastalarda kemik destrüksiyonu ve osteolitik lezyonlar meydana gelmektedir.³⁹



Şekil-1. Multipl miyelom patogeneğinde kemik iliği mikroçevresinin rolü.⁴⁰

Osteoklast aktivasyonu NF-κB ligand (RANKL), makrofaj inflamatuvar protein 1a (MIP-1a), IL-3 ve IL-6 aktivasyonu nedeniyle oluşur.⁴¹ RANK ligand TNF ailesi üyesi olup osteoklastogenezde önemli rol oynar. RANK osteoklast hücreleri tarafından eksprese edilen transmembran sinyal reseptörüdür.⁴² MM vakalarının yaklaşık yarısı NF-κB aktivasyonu gösterir. Diğer rollerinin yanısıra NF-κB normal dokuda osteolitik aktiviteyi

düzenleyen transkripsiyon faktörü olarak etki eder. NF-κB yoğun ekspresyonu osteoblastik ve osteoklastik aktivitede dengesizliğe neden olur ve litik kemik lezyonları ile sonuçlanır.⁴³

Son yapılan çalışmalarda multipl miyelom hastalarının kemik iliği stromal hücrelerden eksozom salınımı olduğu da gösterilmiştir. Bu eksozomların mRNA aracılığı ile in vivo tümör büyümesinde katkıda bulunduğu tahmin edilmektedir.⁴⁴

2.1.1.6. Klinik özellikler

Multipl miyelom tanılı birçok hasta plazma hücrelerinin kemik veya diğer organlara infiltrasyonu ile ilişkili belirti veya bulgularla veya çok miktarda salgılanan hafif zincire bağlı böbrek hasarı gelişmesi sonucu bir sağlık merkezine başvurumaktadırlar. Miyelomda genellikle halsizlik, anemi, kemik ağrısı, patolojik kırıklar, böbrek yetersizliği, kanamalar, enfeksiyon, hiperviskozite sendromu bulguları, trombositopeni, hiperkalsemi ve periferik nöropati gibi semptomlar görülmektedir. Ayrıca hepatomegali, splenomegali, lenfadenopati, kilo kaybı ve ateş de görülebilir. Plazma hücre infiltrasyonuna bağlı plevral effüzyon daha nadir görülür. Tanı esnasında hastaların %7'sinde PET-BT ile ekstramedüller plazmositom saptanabilir.^{10,41}

Tablo-1. Multipl miyelomlu hastalarda semptom ve bulguların sıklığı.

Semptom ve bulgular	Hasta (%)
Serum veya idrarda M protein artışı	97
Litik lezyon, osteoporoz veya kırık	80
Hemoglobin < 12g/dl	75
Kemik ağrısı	66
Halsizlik	32
Kreatinin >2 mg /dl (böbrek yetmezliği)	20
Enfeksiyon ve kanama	<15
Kalsiyum >11 mg/dl	15

Anemi, olguların tanı anında %75'inde ve hastalık seyri sırasında da %97' sinde görülmektedir.¹ Genellikle anemi normositik-normokromik (hemoglobin ≤ 12 g/dl) özelliktedir. Miyelomda gelişen anemi birkaç nedene bağlı olarak oluşmaktadır. Kemik iliğinde normal hücreler yerine tümör hücrelerinin varlığı, tümör tarafından yapılan faktörler, böbrek hasarı ve hematopoez inhibisyonu ile ilişkilidir. Miyelom plazma hücreleri kemik iliğinde yol açtıkları yayılım ile eritropoezi daraltırken diğer taraftan interlökin-6 salınım yolu ile eritropoeze engel olurlar. Böbrek yetersizliği de söz konusu ise eritropoetin eksikliği de anemiye katkıda bulunur. Tedavi alan hastalarda aneminin gelişmesinde kemoterapi ve radyoterapinin neden olduğu kemik iliği baskılanması da başka bir etken olarak rol oynar. Ayrıca demir, vitamin B12, folik asit eksiklikleri ve otoimmün hemoliz, hipotiroidi gibi anemiye yol açan diğer nedenler de tabloya eklenmiş olabilir.⁴

Kemik ağrısı, sıklıkla sırt ve göğüste daha az sıklıkla ekstremitelerde olmaktadır ve tanı anında yaklaşık hastaların %66'sında görülmektedir.¹ Vertebra tutulumu sonucu boyda kısalık ve kaburgalarda gelişen plazmositoma bağlı büyüyen kostal lezyonlar veya yumuşak doku kitleleri görülebilir. Kemik tutulumu tanı ve prognostik değer taşıyan organ hasarını gösteren ve olgunun hayat kalitesini etkileyen bir özelliktir. Miyeloma bağlı osteolitik lezyonlar, kemik kırıkları ve osteopeni de gelişebilir. Bu lezyonlar en sık kafa kemikleri, vertebra, kaburga kemikleri, sternum, proksimal humerus ve femurda yer alır .

Böbrek yetmezliği, hastaların yaklaşık yarısında tanı anında kreatininde yükselme şeklinde görülmektedir (hastaların %20'sinde kreatinin > 2 mg/dl dir). Böbrek yetmezliği hastaneye ilk başvuru sebebi olabilir. Böbrek yetmezliği tanı ve prognostik değer taşıyan bir bulgudur.^{4,45} Böbrek yetmezliği gelişiminin en önemli iki nedeni miyelom böbreği (hafif zincir cast nefropatisi) ve hiperkalsemidir.⁴⁶ Miyelom böbreği, distal ve toplayıcı tübüllerde biriken monoklonal hafif zincirlerden oluşan geniş, mumsu, katmanlı silendir (cast)'lerin varlığı ile karakterizedir.⁴⁷ Ayrıca amiloidin glomerüler birikimi, hiperürisemi, çekilen kontrastlı filmler, tekrarlayan enfeksiyonlar, ağrı kontrolünde kullanılan non-steroid antiinflamatuvar ajanlar ve nadiren böbreğin miyelom hücreleri ile infiltrasyonu böbrek fonksiyon kaybına katkıda bulunabilmektedir.⁴⁸

Hiperkalsemi, bir seride tanı anında %28 oranında saptanmıştır ve %15 hastada da acil tedavi gerektiren ≥ 11 mg/dl serum kalsiyum düzeyleri olduğu belirlenmiştir.¹

Hiperkalsemiye bağlı olarak hastalarda anoreksi, bulantı, kusma, poliüri, polidipsi, konstipasyon, halsizlik, konfüzyon ve koma gibi semptomlar gelişebilmektedir.⁴

Miyelomlu olgularda artmış tromboz riski de söz konusudur. Artmış tromboz riskinin nedeni açık değildir. İleri yaş ve hareketsizlik gibi eşlik edici nedenler kolaylaştırıcı faktör olabilir.⁴⁹

Multipl miyelomda en sık görülen nöroloji bulgu torasik yada lumbosakral bölgede olan radikülopatidir. Bu semptom paravertebral plazmositomun sinir basısı veya kemik kırığına bağlı olabilir. Medulla spinalis basısı, radiküler tip ağrıya, dışkı ve idrar inkontinansına, paraplejiye neden olabilir. Ciddi bel ağrısı, alt ekstremitelerde kuvvet kaybı veya parestezisi, inkontinas veya mesane disfonksiyonu olan hastalar kalıcı hasar gelişmeden acil kemoterapi, radyoterapi veya nöroşirurjik müdahale gerekliliği açısından manyetik rezonans görüntüleme veya bilgisayarlı tomografi ile spinal kord basısı yönünden değerlendirilmelidir.^{50,51,52} İntrakranial plazmositomlar ve leptomeningeal miyelomatosis görülme sıklığı az olmakla birlikte, saptandığında tedaviye rağmen kötü prognoza neden olmaktadır.⁵² MM'da ayrıca nörolojik bulgu olarak hiperkalsemiye bağlı olarak letarji, halsizlik, depresyon, konfüzyon gözlenebilir. Hiperviskozite sonucu baş ağrısı, bitkinlik, görme bozuklukları, retinopati ortaya çıkabilir. Amiloid birikimi sonucu karpal tünel sendromu, sensorimotor mononöropati ya da polinöropatiler ortaya çıkabilir.⁵⁸

2.1.1.7.Laboratuvar bulguları

Serum ve idrar protein elektroforez yöntemi ile saptanabilen ve malign plazma hücreleri tarafından üretilen ve salgılanan monoklonal protein (M proteini) MM tanılı hastaların %97'sinde saptanır.⁴ Monoklonal protein tanı değeri taşıması yanında aynı zamanda tümör yükünü ölçen önemli bir laboratuvar bulgusudur.

M protein, protein elektroforezinde gamma bölgesinde çoğunlukla dar, sivri bir pik şeklinde veya agaroz jel elektroforezinde sınırları keskin bir band şeklinde görülür.

Serum immünofiksasyon, M protein varlığını ve tipini kesinleştirir. Malign plazma hücreleri immünglobulin ağır ve hafif zincirlerini veya sadece hafif zincirlerini

salgılayabilirler. Monoklonal hafif zincirler (Bence Jones proteinüri) serum elektroforezinde nadir bulunur ancak idrar elektroforezinde kolayca görünür.⁵⁰ Hastaların yaklaşık %3'ünde tanı esnasında serum yada idrar immünelektroforezde M proteinini tespit edilemez. Serum ve idrar immün elektroforezde monoklonal protein tespit edilemeyen %60 hastada serum serbest hafif zincir testinde monoklonal serbest hafif zincir tespit edilebilir.^{53,54} Bu test ile serum kappa ve lambda miktarı ve oranı tespit edilir.⁵⁵ Normal kappa/lambda serbest hafif zincir oranı 0,26-1,65'tir.

Serum ve idrar immünfiksasyon EF'de M proteinini olmayan veya serum serbest hafif zincir oranı normal olan hastalarda multipl miyelom tanısı mevcut ise non-sekretuar multipl miyelom olarak adlandırılır.⁵⁶ Bu hastalarda tanı kemik iliği biyopsisi ve görüntüleme tetkikleri ile saptanır.⁵⁷

Yaklaşık %5-10 hastada serum M protein seviyesi < 1g/dl veya 24 saatlik idrarda M protein seviyesi 200 mg olup oligo-sekretuar miyelom olarak adlandırılır. Bu hastalarda serum serbest hafif zincir seviyesi >10 mg/dl veya serum serbest hafif zincir oranı anormal olabilir. Aynı zamanda kemik iliği biyopsisi ve görüntüleme tetkikleri ile de tanı konabilir.⁵⁸

M protein tipleri yaklaşık olarak ,

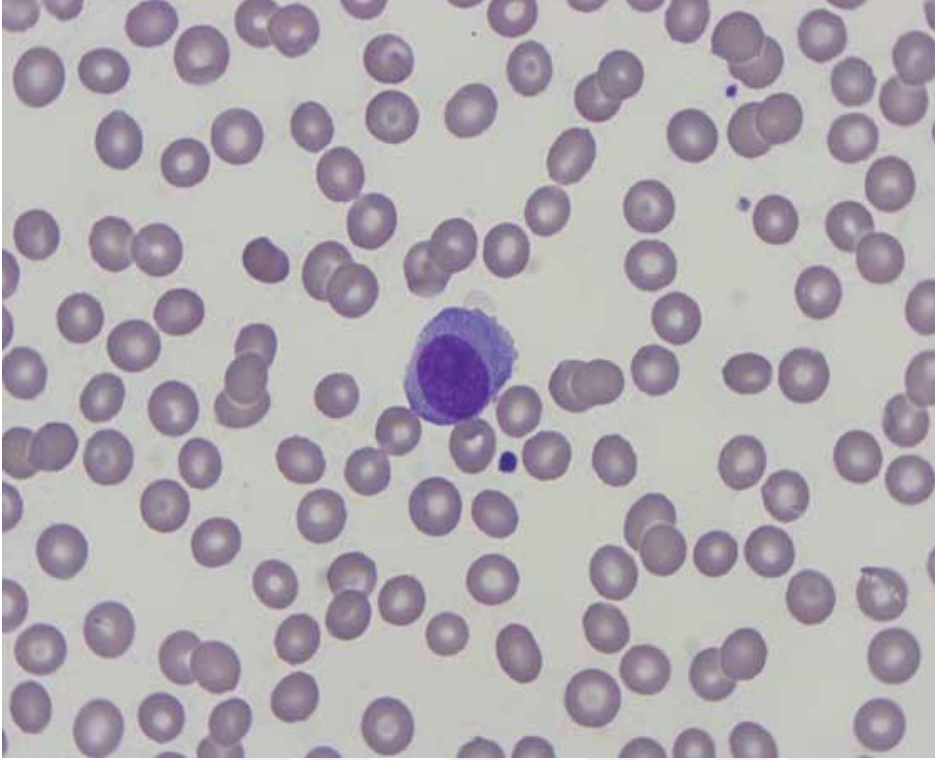
- IgG – % 50
- IgA – % 20
- Kappa veya lambda hafif zincir (Bence Jones) – % 20
- IgD – % 2
- IgM – %0.5
- Non -sekretuar– %2-3 olarak saptanmıştır.

Multipl miyelom şüphesinde istenecek genel tetkikler, kan sayımı, periferik yayma, sedimentasyon değeri, serum kalsiyum değeri, kreatinin, LDH, β 2 mikroglobulin, CRP,

protein elektroforezi, serum ve idrar immüfiksasyon protein elektroforezi, serum serbest hafif zincir oranı ve kemik iliği incelemesi (immüfenotip, konvansiyonel sitogenetik, FISH)'dir. Bunlara ek olarak osteolitik kemik lezyonlarını belirlemek için düşük doz tüm vücut bilgisayarlı tomografi, PET-CT (18 –FDG Pozitron–emisyon tomografisi) veya düz iskelet radyografisi gerekir. Tüm vücut ya da vertebra/pelvis manyetik rezonans görüntüleme (MRG) daha çok sinsi seyreden multipl miyelomdan şüphe edildiğinde fokal kemik iliği lezyonlarını tespit etmek için istenebilir. Aynı zamanda hastalarda spinal kord kompresyonunu dışlamak veya vertebroplasti yada kifoplasti gerekliliği açısından da MRG çekilebilir.⁶

Monoklonal proteinler serum viskozitesinde ve eritrosit sedimentasyon hızında artışa yol açarlar. Vakaların %84'ünde ESH>20 mm/saat ve 1/3'ünde ise ESH>100 mm/saattir.

Parçalanmış plazma hücrelerinden açığa çıkan laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi MM'da artmıştır ve prognostik değeri vardır. Serum β -2 mikroglobulin değeri, plazma hücreli neoplazmların aktivitesi ile orantılı olarak artar; böbrek yetersizliği ve tümör yüküyle ilgili bilgi verir. β -2 mikroglobulin tayininin MM tanısına katkısı azdır. Ancak sağkalımla en fazla ilişkili olan parametre olduğu saptanmıştır. Serum C-reaktif protein (CRP) konsantrasyonu miyelom hücreleri için önemli bir büyüme ve yaşam faktörü olan IL-6 aktivitesini yansıtır. Serumda M proteinin bulunmadığı, idrar ve/veya serumda sadece Bence-Jones proteinin saptandığı olgulara 'hafif zincir hastalığı' adı verilir. Bu olgularda serum total proteini genellikle artmamıştır ve böbrek bozuklukları sıktır. Periferik yaymada serum protein seviyesi artan hastalarda rulo görülebilir. Miyelomlu hastalarda periferik yaymada plazma hücreleri nadir görülür.⁴ Kemik iliği incelemesi MM'da tanı ve prognostik değeri taşıyan başka bir laboratuvar yöntemidir. Kemik iliğinde miyelom plazma hücrelerinin biyopsi ve aspirasyonla saptanması önemlidir. Plazma hücre oranı için kemik iliği biyopsisi öncelikle değerlendirilmeli, bu oran biyopsi materyalinden hesaplanabiliyor ise hesaplanmalıdır. Kemik iliği aspirasyonunda miyelom plazma hücreleri genellikle birarada, gruplaşmış, koyu bazofil sitoplazmalı, ekzantrik çekirdekli, çekirdek anomalileri (çift çekirdek) gösteren atipik plazma hücreleri ve/veya atipik plazmoblastlar şeklinde görülür.



Şekil-2.Periferik yaymada sitoplazması bazofilik, çekirdeği orta dış yerleşimli plazma hücresi ⁵⁹

Hastaların büyük çoğunda kemik iliğinde %10 veya daha fazla plazma hücre infiltrasyonu vardır ama MM fokal, yama tarzında infiltrasyon yapabildiği için hastaların %4'ünde %10'dan daha az infiltrasyon görülebilir. Miyelom plazma hücreleri CD38, CD 138 ve CD79a pozitifliği gösterirler. Normal plazma hücreleri CD19+ ve CD56- iken, miyelom hücreleri böyle değildir. Son dönem hastalıkta ve plazma hücreli lösemide CD56 pozitifliği kaybolur. Günümüzde prognoz belirlenmesinde ve tedavi seçiminde genetik özellikler de dikkate alınmaktadır. Bu konudaki en önemli inceleme interfazda yapılan floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniğidir. FISH ile del 17p, t(4;14) ,t (14;16) ,t (14;20) ,+ 1q veya del 1p anomalisi saptanan hastalar yüksek riskli hastalardır.⁶⁰

2.1.1.8. Tanı

Multipl miyelom tanısında anamnez, fizik muayene, laboratuvar ve görüntüleme tetkikleri önem taşımaktadır. MM'dan şüphe edilecek klinik bulgular:

- 1) Rutin direkt radyografi veya başka görüntüleme tetkikleri ile saptanan litik lezyonlarla birlikte kemik ağrısı,
- 2) Total serum protein düzeyi yüksekliği yada idrar yada serumda M protein varlığı,
- 3) Açıklanamayan anemi gibi maligniteyi destekleyen sistemik semptom ve bulgular,
- 4) Hiperkalsemi,
- 5) Açıklanamayan akut böbrek yetersizliği yada primer amiloidoza bağlı nefrotik sendrom

Multipl miyelom tanı kriterleri 2014 yılında Uluslararası Miyelom Çalışma Grubu (IMWG) tarafından revize edilmiştir.⁶¹ Bu revizyonda daha önce tedavi gerektiren miyelomu tanımlayan hiperkalsemi, böbrek yetmezliği, anemi, kemik hastalığı (CRAB bulguları)'na üç yeni belirteç kemik iliğinde %60'ın üzerinde klonal plazma hücre varlığı, serbest hafif zincir oranının 100'ün üzerinde olması ve tüm vücut manyetik rezonansta birden fazla 5 mm veya daha büyük odaksal lezyon varlığı eklenmiştir ve tedavi gerektiren miyelomu tanımlayan bulgular bütününe 'Miyelom tanımlayıcı olaylar'adı verilmiştir.⁶²

Tablo-2. Yeniden düzenlenmiş Uluslararası Miyelom Çalışma Grubu tanı kriterleri.⁶¹

Multipl Miyelom Tanımı
<p>≥ %10 klonal kemik iliği plazma hücre infiltrasyonu veya biyopsi ile ispatlı kemik veya yumuşak doku plazmositom varlığı ve aşağıdaki miyelom tanımlayıcı olaylardan bir veya birkaçı olması</p>
<p>Altta yatan plazma hücre hastalığına bağlı hedef organ hasarı (CRAB)</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Hiperkalsemi; serum kalsiyum >11 mg/dl✓ Böbrek yetersizliği; hesaplanmış veya ölçülmüş kreatinin klirensi <40 ml/dk veya serum kreatinin düzeyi > 2mg/dl✓ Anemi; Hemoglobün < 10 g/dl veya normal alt limitten 2g/dl'den daha fazla düşük olması✓ Kemik lezyonları; iskelet taraması, BT veya PET-BT'de bir veya daha fazla osteolitik lezyon olması
<p>Malignite belirteci olan aşağıdaki bulgulardan bir veya birkaçı olması</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Klonal kemik iliği plazma hücre oranı ≥%60✓ Serum serbest zincir oranı ≥100 (ilişkili hafif zincir ≥ 100 mg/L olmalı)✓ MRG'de >1 fokal lezyon olması (her lezyon 5 mm veya daha büyük olmalı)

Tablo-3. Miyelom Tanımlayıcı Olaylar.⁶⁰

SLİM KRİTERLERİ	CRAB belirti ve bulguları
(S) Kemik iliği klonal plazma hücre oranı >%60	(C)Artmış serum kalsiyum düzeyi: Serum kalsiyumun laboratuvar üst limitinin en az 1 mg/dl üzerinde olması veya serum kalsiyumunun 11 mg/dl' nin üzerinde olması
(Li) Etkilenen / etkilenmeyen serum serbest hafif zincir oranı >100*	(R)Böbrek yetmezliği : Kreatinin klirensinin 40 ml/dk' nın altında olması veya serum kreatinin 2 mg/dl nin üzerinde olması
(M) Tüm vücut MR'de birden fazla 5 mm veya daha büyük odaksal lezyon varlığı	(A)Anemi:Hemoglobin düzeyinin normalin alt limitinin en az 2 g/dl altında olması veya hemoglobin düzeyinin 10 g/dl'nin altında olması
	(B)Kemiklezyonları:Direkt grafide (MR) tüm vücut BT veya PET-BT'de bir veya daha fazla osteolitik lezyonun olması

*Etkilenen serbest hafif zincir düzeyi 10 mg/dl'nin üzerinde olmalıdır.

2.1.1.9.Evrelleme

Durie Salmon (DS) evrelemesi ve Uluslararası Evrelleme Sistemi (International Staging System-ISS) olmak üzere iki evrelleme sistemi bulunmaktadır. 1975'te tanımlanan tümör yükünü esas alarak evrelleme yapan DS evrelemesi 2006 yılında kemik lezyonlarını tekrar tanımlayacak şekilde revize edildi. Miyelom için en geniş kabul gören sistem olan

Uluslararası Skorlama Sistemi (ISS) yakın dönemde laktat dehidrogenaz (LDH), sitogenetik özellikleri de kapsayacak şekilde revize edilmiştir. (R-ISS).⁶

Tablo-4. Durie-Salmon evreleme sistemi .⁶

EVRE	KRİTERLER
I	Aşağıdakilerin hepsi <ul style="list-style-type: none"> • Hb >10 g/dl • Serum kalsiyum normal • Normal kemik tarama (osteoporoz da yok) • M komponent düzeyi düşük IgG < 5g/dl IgA < 3 g/dl İdrar hafif zinciri < 4 g/24 saat
II	I ve III'e uymayanlar
III	Aşağıdakilerden 1 veya daha fazlası <ul style="list-style-type: none"> • Hb < 8,5 g/dl • Serum kalsiyum artmış • Yaygın iskelet hasarı (>3 litik lezyon) ve majör kırıklar • M komponent düzeyi yüksek IgG > 7g/dl IgA > 5 g/dl İdrar hafif zinciri > 12 g/24 saat
A: Serum kreatinin <2 mg/dl B: Serum kreatinin > 2mg/dl	

Tablo-5. Uluslararası Evreleme Sistemi (Revised International Staging System).⁶

<p>Evre I: Serum β2 mikroglobulin <3,5 mg/l ve Serum albumin \geq 3,5 g/dl Yüksek riskli sitogenetik özellikler yok Serum LDH (laktat dehidrogenaz) değeri normal</p>
<p>Evre II: R-ISS evre 1 ve evre 3 kriterlerinin sağlanamaması</p>
<p>Evre III: Serum β2 mikroglobulin >5,5 mg/L, t(4;14), t(14;16) veya del (17p) varlığı veya serum LDH yüksekliği</p>

2.1.1.10. Multipl miyelomda prognostik faktörler

Bu evreleme sistemlerinin bazı hasta gruplarında prognoz tayininde yeterli olmaması nedeniyle hastalık seyrinin tahmininde yardımcı prognostik faktörler belirlenmiştir.⁶

Tablo-6. Multipl miyelomda yüksek risk belirleyen faktörler.⁶⁰

<p>Bağımsız faktörler</p> <ul style="list-style-type: none">-R-ISS evresi-Kötü prognostik etkileri bilinen sitogenetik anomalilerin varlığı-Yüksek LDH plazmablastik hücre morfolojisi-Artmış plazma hücre proliferasyon hızı-Tanıda böbrek fonksiyon bozukluğu-Yüksek sayıda (>400 hücre /mikrolitre) dolaşan plazma hücre sayısı *-İlik dışı hastalık(ekstramedüller plazmositom veya plazma hücreli lösemi)-Yanıtızsızlık durumu (optimal tedaviyi takiben gelişen nüksler)-Tedavi sonrası minimal kalıntı hastalık ve kötü sitogenetik (veya eklenen kötü sitogenetik özellikler)-İndüksiyon tedavisine yetersiz yanıt
<p>Hastaya özgül faktörler</p> <ul style="list-style-type: none">-Yaş-Komorbiditeler(kardiyak hastalıklar, Diabetes mellitus gibi)-Düşük performans durumu-Böbrek hastalığı

Tablo-7. Multipl miyelomda risk belirleyen sitogenetik anomaliler.⁶⁰

Kötü prognostik sitogenetik anomaliler	Kötü prognostik etkisi olmayan sitogenetik anomaliler (standart risk veya nötral etki)
<ul style="list-style-type: none">• Kompleks karyotipik anomali	<ul style="list-style-type: none">• t (6;14)
<ul style="list-style-type: none">• t (4;14) , t (14,16) t (14,20)	<ul style="list-style-type: none">• t (11;14)
<ul style="list-style-type: none">• del 13	<ul style="list-style-type: none">• 5q amplifikasyonu
<ul style="list-style-type: none">• del 17p	<ul style="list-style-type: none">• Hiperdiploidi
<ul style="list-style-type: none">• 1q amplifikasyonu (+kopya sayısı)	
<ul style="list-style-type: none">• 1p delesyonları	
<ul style="list-style-type: none">• Hipodiploidi	

Yaşlı hastalar ve performans durumu kötü olan hastalarda, enfeksiyon ve tromboz gelişim riski daha fazla olduğundan bu hasta grubunda yüksek doz kemoterapiden kaçınılır. Genç yaştaki MM hastalarında yüksek doz tedaviler mümkün olabileceği için yaş bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir.⁶³

CRP, hepatositlerden proinflamatuvar sitokinlere cevaben akut faz yanıtı olarak sekrete edilen ve üretimi IL-6 vasıtasıyla olup düzeyi serum IL-6 düzeyini yansıtan bir moleküldür. IL-6, MM patogeneğinde hücre içi ileti yollarını aktive ederek, plazma hücrelerinde proliferasyona anti-apoptotik aktivite ve anjiogenik aktiviteye yol açar. Bu nedenle CRP yüksekliği kötü prognostik gösterge olarak kabul edilir.

İdrarda hafif zincir atılımı fazla olanlarda prognoz kötü olup artan serum hafif zincir oranı akut böbrek yetersizliğinin habercisidir.⁶³ Anormal k/λ serbest hafif zincir oranı kötü prognoz belirteçidir.⁶⁴ Çevre kanında plazma hücresinin varlığı da kötü prognostik göstergedir.⁶³

Tümör yükü, renal fonksiyon ve tümörün proliferasyon hızı prognozu belirleyen en önemli üç parametredir. Tümör yükünü belirlemede DS evrelemesi ve β -2 mikroglobulin, proliferasyon hızının tespitinde ise plazma hücrelerinin morfolojik özellikleri, labelling

indeksi ve serum CRP düzeyleri en yararlı belirteçlerdir. Serum β -2 mikroglobulin düzeyi tümör yükü ve renal fonksiyon düzeyinde bilgi veren önemli bir prognostik faktördür.⁶⁵

Plazma hücresi labelling indeks plazma hücrelerinin proliferatif hızını gösteren ve hastalık progresyonu sırasında artan bir parametredir.⁶⁶ Serum LDH yüksekliği sıklıkla plazmoblastik morfoloji, ekstramedüller hastalık ve ek sitogenetik anomalilerle ilişkili olmakla birlikte kötü prognoz göstergedir.⁶⁷

Son yıllarda sitogenetik anomalilerin varlığı multipl miyelomda en önemli prognostik faktörlerden olduğu tespit edilmiştir. Anormal karyotip multipl miyelom hastalarının %30-50'sinde tespit edilmekle birlikte %35-63'ü relaps olmuş hastalarda %20-30 yeni tanı konan hastalarda görülür.⁶⁸ En sık görülen karyotip anomalileri trizomiler ve translokasyonlardır.⁶⁹

2.1.1.11.Uluslararası Miyelom Çalışma Grubu (IMWG) yanıt kriterleri

A-Mükemmel tam yanıt (MTY)

Tam yanıt kriterlerine ek olarak ;

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

*Klonal hücrelerin varlığı /yokluğu κ/λ oranına bağlıdır . İmmünohistokimya veya immünofloresans ile anormal κ/λ oranı bulmak için 100 plazma hücresi analiz edilmelidir. Anormal klonu gösteren κ/λ oranı $>4:1$ veya $<1:2$ 'dir.

B-Tam yanıt (TY)

- Serumda ve idrarda immünoyüksasyon negatif
- Kemik iliğinde plazma hücresi %5'in altında

- Yumuşak doku plazmositoları yok

C-Çok iyi kısmi yanıt (ÇİKY)

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

D-Parsiyel yanıt (PY)

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

E-Stabil (durağan) hastalık (SH)

- Tam remisyon, çok iyi kısmi yanıt, kısmi yanıt ve progresif hastalık kriterlerine uymayan hastalık

F-Hastalık progresyonu ve nüks

İlerleyici (progresif) hastalık

Elde edilmiş en derin yanıtla aşağıdakilerden herhangi birinde % 25 artış varlığı;

- Serum M-komponenti (mutlak artış $>0,5$ g/dl) ve /veya idrar M- komponenti (mutlak artış >200 mg / 24 saat)
- Sadece ölçülebilir serum ve idrar M –protein düzeyleri olmayan hastalar için; serbest hafif zincirleri arasındaki fark mutlak artış 10 mg /dl üzerinde olmalı
- Kemik iliği plazma hücre yüzdesi mutlak >10 olmalıdır
- Yeni kemik lezyonlarının veya yumuşak doku plazmositomlarının gelişmesi veya mevcut kemik lezyonlarının ve yumuşak doku plazmositomlarının boyutlarında artış olması
- Sadece proliferatif plazma hücre hastalığına bağlanabilen hiperkalsemi gelişmesi (düzeltilmiş serum kalsiyumu $>11,5$ mg/dl)

Klinik nüks

Aşağıdakilerden bir veya daha fazlasının varlığını gerektirir;

- Yeni yumuşak doku plazmositomu ve kemik lezyonlarının gelişmesi
- Var olan plazmositom veya kemik lezyonlarında belirgin artış. Belirgin artış ölçülebilir lezyonun seri olarak ölçülen yarı çapları toplamında en az % 50 (ve en az 1 cm) artış olarak tanımlanır.
- Hiperkalsemi ($>11,5$ mg/dl)

- Hemoglobinde 2 g/dl azalma
- Serum kreatininde 2 mg /dl veya fazla artış

Tam yanıtı hastada nüks

Aşağıdakilerden herhangi birisi:

- İmmünfiksasyon veya elektroforezde serum veya idrar M proteinin tekrar ortaya çıkması
- Kemik iliğinde % 5 plazma hücresinin saptanması
- Herhangi bir diğer progresyon belirtisinin (örn: yeni plazmositom ,litik kemik lezyonu veya hiperkalsemi) görülmesi.⁶⁰

2.1.1.12. Multipl miyelomda tedavi

Yeni tanı multipl miyelom hastasının tedavi aşamasında ilk bakılması gereken hastanın otolog kök hücre nakli adayı olup olmadığıdır. Son 10 yıl içinde transplanta uygun hastaların başlangıç (indüksiyon) tedavisinde önemli değişiklikler olmuştur. İmmünmodülatör ilaçların (İMİD) ve bortezomibin kullanıma girmesinden önce en sık kullanılan yaklaşımlar tek ajan deksametazon ve VAD (vinkristin, doksorubisin ve deksametazon) idi. İMİD ve bortezomib kombinasyonlarının önce deksametazon ile sonra VAD ile karşılaştırıldıkları çalışmalar daha yüksek yanıt oranları ve progresyonsuz sağkalım süreleri ortaya koymuştur. Yine yapılan ilk çalışmalar İMİD ve bortezomib tabanlı başlangıç tedavilerinin idare edilebilir bir toksisite ile kök hücre toplama kabiliyetini koruyarak erken mortaliteyi azalttığını göstermiştir.⁷⁰ Tedavinin en önemli safhaları başlangıç tedavisi, kemik iliği nakli (uygunsa), konsolidasyon/idame tedavisi ve relaps tedavisidir. Genel olarak transplant uygun hastalar yaklaşık 4 kür başlangıç tedavisi sonrası otolog kemik iliği nakli olurlar. İndüksiyon tedavisine iyi cevap veren standart

riske sahip hastalar hastanın tercihine göre geç otolog kemik iliği nakli için aday olabilirler. Bu tedavi stratejisinde 4 kür indüksiyon tedavisinden sonra kök hücreleri toplanıp gelecekte kullanılmak üzere dondurulur.⁷⁰

2.1.1.12.1. Başlangıç tedavisi (indüksiyon)

İlaç mevcudiyetine göre multipl miyelomda başlangıç tedavisi ülkeler arasında değişmektedir. Yeni tanı multipl miyelomda en fazla kullanılan rejimler lenalidomid ve deksametazon rejimi (Rd), bortezomib, lenalidomid ve deksametazon rejimi (VRD), bortezomib, talidomid ve deksametazon rejimi (VTD) ve bortezomib, siklofosamid ve deksametazon rejimi (VCD)'dir. Bu çalışmalara göre transplant uygun hastalar yada transplant uygun olmayan ancak performansı yüksek hastalarda başlangıç tedavisi olarak genel olarak VRD veya VTD tercih edilmeye başlandı. Düşük doz deksametazon (haftada 40 mg) toksisiteyi azaltmak için tüm rejimlerde tercih edilmeye başlandı (ör: Rd, VRD, VTD, VCD.).⁷¹ Benzer olarak bortezomibin haftalık subkutan kullanımı genel olarak tüm rejimlerde tercih edilmektedir. Çalışmalara göre bortezomibin haftada iki yerine haftada bir kullanımı ve intravenöz yerine subkutan kullanımının bortezomibin nörotoksitesini azalttığı gösterilmiştir.⁷² Yüksek doz deksametazon ve haftada iki kere bortezomib içeren rejimler daha çok hastalığı agresif seyreden hızlı cevap beklenen hastalarda tercih edilir (örn: akut böbrek yetmezliği, yaygın ekstremiteler hastalığı, plazma hücreli lösemi, kord kompresyonu).⁷²

2.1.1.12.2. Yaşlı hastada tedavi

75 yaş üstü ve düşükün hastalar genellikle üçlü tedavi rejimlerini tolere edemezler. Bu hastalarda özellikle standart riske sahip hastalarda Rd uygun bir tedavi seçeneği olabilir. Geniş randomize çalışmalarda Rd tedavisi melfalan, prednizon ve talidomide üstün bulunmuştur. Melfalan içeren rejimler diğer rejimler uygun olmadığı durumlarda tercih edilir. Rd ile tedavi edilen hastalarda toksisite olmadığı takdirde tedavinin progresyona kadar devam etmesi önerilir.⁷⁸

2.1.1.12.3. Yüksek riskli miyelomda tedavi

Karfilzomib, lenalidomid ve deksametazon içeren üçlü tedavi rejiminin faz 2 çalışmalarında tam yanıt ve minimal rezidüel hastalıkla sonuçlanan yüksek etkinliği kanıtlandı. Buna rağmen bu çalışmalar randomize değildi ve hastaların küçük bir bölümünde yan etki olarak kardiyak toksisite bildirildi. Ayrıca KRD tedavisi VRD'ye göre daha zahmetli ve pahalıdır. Bundan dolayı bu rejimi daha çok yüksek riskli hastalarda yada daha önceki kullanılan rejimler ile nüks olmuş hastalarda kullanımı önerilir.⁷¹

2.1.1.12.4. Otolog kök hücre nakli

Otolog kök hücre nakli multipl miyelom hastalarında tam yanıt oranlarını iyileştirmekte ve ortalama toplam sağkalımı yaklaşık 12 ay arttırmaktadır. Tedavi ile ilişkili mortalite yaklaşık %1-2 arasında olup transplanta uygunluk kriterleri yaş, performans durumu ve komorbidite varlığına göre değişir. A.B.D.'de yaş üst sınırı esnek olup, hastanın performans durumu iyi ise ve komorbiditeleri minimale 75 yaşına dek nakil uygulanabilmektedir. Buna karşın, diğer birçok ülkede transplant için yaş sınırı 65'dir. Otolog kök hücre naklinde hazırlayıcı rejim olarak 200 mg/m² melfalan kullanılır ve bunu takiben periferik kan kök hücrelerinin infüzyonu gerçekleştirilir.⁷¹

2.1.1.12.5. Tandem nakil

Tandem (çift) otolog kök hücre naklinde hastalar ilk prosedürden sonra ikinci otolog kök hücre nakli olurlar. Yapılan iki randomize çalışmada tandem naklin tek nakle göre tam sağkalımı arttırdığı görülmüştür. Ancak bu çalışmalar lenalidomid, bortezomib ve diğer yeni ajanlar kullanılmaya başlanmadan önce yapılmıştı. Ancak tandem otolog kök hücre nakli daha çok ilk nakil sonrası tam yanıt yada çok iyi kısmi yanıt alınamayan hastalarda uygulanabilmekle sınırlı idi. Modern indüksiyon rejimleri ile çoğu hastada ilk otolog kök hücre nakli sonrası çok iyi kısmi yanıt yada daha iyi tedavi yanıtı elde edilebilmektedir. Bu sonuçlara ulaşana dek genel olarak 65 yaş altı transplanta uygun hastalarda 2 transplanta yetecek kadar kök hücre toplanmaktadır. Burda amaç tandem nakil

yapmaktan ziyade relaps durumunda yapılacak ikinci nakle yetecek kök hücre saklamaktır.⁷¹

2.1.1.12.6. Allojenik nakil

Multipl miyelom hastalarının yaş, HLA uyumlu kardeşi verici olmaması, böbrek, pulmoner ve kardiyak işlevlerin yetersiz olması nedeni ile allojenik kemik iliği nakli çok fazla yapılmamaktadır. HLA uyumlu vericisi olmasına rağmen girişime bağlı mortalite %10-15 arasındadır.⁷¹

2.1.1.12.7. Posttransplant idame tedavisi

Posttransplant idame tedavisinde lenalidomid ve bortezomib ile ilgili çalışmalar umut verici görünmektedir. Genel olarak lenalidomid ile idame tedavisi standart riskli olan indüksiyonda lenalidomide iyi cevap veren ve nakil sonrası çok iyi kısmi yanıt elde edemeyen hastalarda önerilir. Orta yada yüksek riskli hastalarda daha çok bortezomib bazlı idame tedavileri tercih edilir.⁷¹

2.1.1.12.8. Standart doz kemoterapi sonrası idame tedavisi

Otolog kök hücre nakli olmayıp başlangıçta Rd tedavisi almış olan hastalarda hastalık progresyonuna kadar tedavinin devamı önerilmektedir. Standart riskli hastalara eğer indüksiyon tedavisi olarak üçlü tedavi rejimlerinden birini almışsa 12-18 ay sonra tedavinin kesilmesi önerilir. Orta yada yüksek riskli hastalar indüksiyon tedavisi olarak üçlü tedavi rejimlerinden birini almışsa bortezomib ile idame tedavisi önerilir.⁷¹

2.1.1.12.9. Relaps gerçekleşen multipl miyelomda tedavi

Relaps gerçekleşen multipl miyelomda tedavi karmaşık olmakla birlikte tedavi rejimi seçimi ilaca ulaşılabilirlik, önceki tedaviye yanıt oranı, transplanta uygunluk, agresif hastalık durumu tedavi sırasında yada tedavisiz dönemde relaps olup olmamasına göre değişir.⁷¹

Öncelikle tedavi seçimi yapmadan önce risk sınıflaması yapılmalıdır. Hastaların yaklaşık %20'si del 17p, t (4;14), t (14;16) , amp 1q gibi sitogenetik anomaliler ve ISS3, tanıda yüksek serum LDH, plazma hücreli lösemi gibi yüksek risk faktörlerine sahiptir.⁷³ Bu hastalara acil olarak üçlü tedavi rejimleri ile tedavi önerilmekle birlikte, orta yada düşük risk profili olan hastalara daha az yoğun rejimler yada monoterapi uygulanması önerilir.

Hastaların yaşı ve performans durumu da tedavi seçimini önemli oranda etkilemektedir. Önceki tedavi seçimi, tedaviye cevap oranı ve yan etkilerinin bilinmesi de önemlidir.⁷⁴ Hasta eğer daha önce otolog kök hücre nakli olmamışsa, idame tedavisi almadan nakil sonrası en az 18 ay remisyon süresi varsa, idame tedavisi ile nakil sonrası en az 36 ay remisyon süresi varsa ve hasta otolog kök hücre nakline uygunsa transplant tedavisi bu hastalarda göz önünde bulundurulmalıdır.

Son çalışmalar üçlü tedavi rejimlerinin kullanımını da desteklemekle birlikte agresif olmayan hastalarda Rd veya PD (pomalidomid+düşük doz deksametazon) gibi ikili rejimlerin kullanımını da desteklemektedir. Multipl miyelom remisyon ve relapslarla seyreden bir hastalık olup her remisyon dönemi bir öncekinden daha kısa sürmektedir. Çoğu rejim toksisite görülmediği takdirde progresyona kadar kullanılabilen olup, buna rağmen ciddi toksisite riskini en aza indirmek amacıyla bortezomib, karfilzomib ve alkilleyici ajanların plato safhasına kadar kullanılıp kesilmesi önerilir.⁶⁸

2.1.1.13. Multipl miyelom tedavisinde kullanılan ilaçlar

2.1.1.13.1. İmmünmodülatör ilaçlar

Plazma hücreleri ile bu hücreler tarafından üretilen antikorlar, lokal kemik iliği, kemik iliği mikroçevresi ve diğer organlar arasında karmaşık bir ilişkiler ağı mevcuttur. Multipl miyelom patogenezinde sinyal yolları, apoptotik mekanizmalar, kemik iliği mikroçevresi ve hücre siklusundaki anormallikler suçlanmaktadır.⁷⁵ Bu konudaki temel bilgilerin artışı ve yeni ajanların geliştirilmesi (talidomid, lenalidomid ve pomalidomid gibi immünmodülatör ilaçlar) terapötik yanıt oranlarını arttırmış ve hasta sağkalım oranlarını da uzatmıştır.

Direkt tümör üzerine olan etkilerinin yanında anjiyogenez ve osteoklastogenez engelleyerek kemik iliği mikroçevresini düzenleyen İMİD'ler, IL-2 ve IFN γ gibi sitokinlerin salınımını düzenleyerek miyelom hücrelerinin T ve NK hücreleri tarafından ölümünü sağlamaktadırlar. Aynı zamanda anjiyogenez uyarıcı IL-6 ve tümör nekroz faktör α (TNF α) gibi sitokinleri de azaltırlar. Bu grubun ilk üyesi sentetik glutamik asit derivativesi olan talidomiddir. Bunun ardından etkinliği daha yüksek ve güvenlik profili daha iyi olan talidomid analogu lenalidomid ve son olarak da pomalidomid geliştirilmiştir.^{76,77}

Aynı zamanda bir talidomid bağlayıcı protein olan cereblon ekspresyonunun talidomidin immünmodülatör etkisi için gerekli olduğu saptanmış ve aynı zamanda bu molekülün pomalidomid ve lenalidomid içinde önemli bir hedef olduğu gösterilmiştir.⁷⁸ Lenalidomid ve pomalidomid gibi ikinci jenerasyon İMİD'ler MM hücrelerinin bortezomib ve deksametazona duyarlılığını artırır. Aynı zamanda tümör baskılayıcı özellikleri de vardır. İlk jenerasyon İMİD olan talidomid, anjiyogenez inhibisyonu, plazma hücrelerinin apoptozisi, plazma hücrelerinden IL-6 ve VEGF sekresyonunun azaltılması nedeniyle hala MM tedavisinde kullanılmaktadır. Diğer İMİD'ler gibi talidomid de proteozom inhibitörleri ve kortikosteroidlerle kombine kullanılır.⁷⁹

1. Talidomid

Bu alanda ilk kullanılan ilaç talidomid olmuştur. Talidomid ve metabolitlerinin in vitro;

- Anjiyogenez inhibisyonu,
- Miyelom hücreleri ve mikroçevresinin adhezyon moleküllerinin düzenlenmesi,
- Sitokinlerin düzenlenmesi,
- Doğal öldürücü (NK) hücreleri etkileme,
- Ubikinizasyon ile IKZF1 (İkaros) ve IKZF3 (Aiolos) transkripsiyon faktörlerinin yıkımı,
- Miyelom hücrelerinin apoptozisi ve G1 aşamasında büyümelerinin durdurulması gibi etkilerinin olduğu gösterilmiştir.^{71,75}

Ciddi teratojenite riski vardır. Oral yoldan alınır.⁸⁰ Tek başına kullanımda başlangıç dozu 2x100 mg şeklindedir. Maksimum doz 800 mg/gün'dür.⁸¹ Hasta tolere edemezse veya progresyon gözlenirse tedavi kesilir. Talidomid kullanımına ilişkin yan etkiler fetal malformasyonlar, kabızlık, halsizlik, yorgunluk, somnolans, cilt problemleri ve duysal nöropatidir. Tromboza meyil talidomidin kombine kemoterapi (özellikle adriamisin) ile kullanıldığı vakalarda önemli bir problemdir. Düşük molekül ağırlıklı heparin trombozdan korunmada önerilir. Diğer hayatı tehdit eden yan etkiler arasında Stevens-Johnson sendromu ve hepatit sayılabilir.⁷⁵

2. Lenalidomid

Küçük molekülü bir talidomid derivesi olup aynı zamanda İMİD ailesinin bir üyesidir. Direkt sitokin ilişkili ve insan MM hücre dizilerine karşı immünmodülatuar etkilerinin düzenlenmesi açısından talidomidden daha potenttir. Lenalidomidin;

- Miyelom hücrelerinin apoptosizini indükleme,
- Sitokin ve kemik iliği stromal hücre kaynaklı ilaç direncini yenme,
- Anti-anjiyogenik etkiler,
- Ubikinizasyon ile IKZF1 (İkaros) ve IKZF3 (Aiolos) transkripsiyon faktörlerinin yıkımı gibi etkilerinin olduğu gösterilmiştir.^{71,75}

Talidomid gibi teratojeniktir. En sık rapor edilen şiddetli yan etkiler trombositopeni, nötropeni, spesifik olmayan pnömoni, döküntü, anemi, lökopeni, nöropati ve yorgunluktur. Daha az şiddette olmak üzere kaşıntı ve sıklıkla gastrointestinal yakınmalar yer alır.⁸² Sonuç olarak lenalidomidin deksametazonla kombine edilmesi relaps MM hastalarında en efektif tedavi rejimlerinden olmakla birlikte bortezomib, siklofosfamid ve diğer ajanlarla da kombine edilebilir. İndüksiyonda tam doz verilip devamında dozun azaltılması gereklidir.⁷⁹

3. Pomalidomid

İMİD ailesinin bir diğer üyesidir. Anti-anjiyogenik ve anti-miyelom etkinliğe sahiptir. Talidomide kıyasla daha etkili bir ajandır. İnterferon γ , IL-2 ve IL-10 up-regülasyonu, IL-6 down-regülasyonu yapmaktadır.⁸³ Relaps-refrakter (lenalidomid ve bortezomib tedavisine dirençli) MM hastalarında pomalidomid ve düşük doz deksametazon iyi tolere edilen ve etkili bir tedavi kombinasyonudur. Pomalidomidin optimal başlangıç dozu 4 mg olup, 28 günde bir, 1-21. Günler arasında uygulanır. Deksametazon ise 40 mg/hafta dozunda (>75 yaş hastalarda 20 mg/hafta) kullanılır.⁸⁴ Sonuç olarak pomalidomid daha önce lenalidomid ve bortezomib ile tedavi edilmiş olup relaps olan son dönem hastalarda kullanılabilen bir ajandır. İlacın hastalık progresyonu veya beklenmedik toksisite çıkıncaya kadar kullanımı önerilir.⁷⁹

2.1.1.13.2. Proteozom inhibitörleri

Ubikitin-proteozom sistemi, hücrenin protein dengesini sağlamak için hücre içi proteinleri parçalar ve tüm ökaryotik hücrelerde bulunur. Proteozom sistemi tarafından parçalanan proteinler, DNA onarımı, hücre siklusu, apoptosiz ve stres yanıtı da dahil pek çok hücre fonksiyonu düzenler. Kanser hücrelerinde de proteozom yolağı aktif olarak görev yapmaktadır.⁸⁵ Bu nedenle günümüzde kanser tedavisinde proteozomun fonksiyonunun bloke edilmesi güçlü bir strateji olmuştur.

Hedef proteinler yıkılmadan önce 76 aminoasitten oluşan ubikitin ile işaretlenir. Ubikitin ile işaretlenmiş hedef protein hidroliz için 26S proteozoma yönlendirilir. Burada ubikitine proteinler küçük peptidlerine kadar parçalanır.⁸⁶

Bortezomib, MM'da hem NK-κB inhibisyonu hem de IL-6 ilişkili hücre büyümesi inhibisyonu ile apoptotik etki gösterirken aynı zamanda antianjiyogenik etkiye de sahiptir.⁸⁵ Bortezomib diğer eş zamanlı kullanılan ilaçların etkisini arttırmasından dolayı (örn: lenalidomid, deksametazon) bunlarla kombine olarak kullanımı tercih edilmektedir. Buna rağmen ilaç direnci veya periferik nöropati yapması ilacın dezavantajlarından. Bortezomib direnci ve yan etkisinden dolayı yeni proteozom inhibitörleri gelişmeye başladı (örn:oprozomib, iksazomib, marizomib ve delanzomib). Bunların çoğu genellikle bortezomib tedavisi sonrası relaps olmuş yada ilaca dirençli vakalarda kullanılmıştır.^{87,88}

1. Bortezomib

Bortezomib klinik kullanıma ilk giren proteozom inhibitörüdür. Proteozomun 20 S katalitik merkez ünitesini geri dönüşümlü inhibe eder. Faz I ve faz III çalışmalarla multipl miyelomdaki etkinliği kanıtlanmıştır.⁸⁷ 2003 yılında FDA tarafından multipl miyelomda tedavide onay alınırken, 2008'de ilk sırada kullanım onayını almıştır.⁸⁹

Bortezomib MM'da hem NK-κB inhibisyonu hem de IL-6 ilişkili hücre büyümesi inhibisyonu ile apoptotik etki gösterirken aynı zamanda antianjiyogenik etkiye de sahiptir.⁸⁵ Bortezomib diğer eş zamanlı kullanılan ilaçların etkisini arttırmasından dolayı (

örn:lenalidomid, deksametazon) bunlarla kombine olarak kullanımı tercih edilmektedir. Buna rağmen ilaç direnci veya periferik nöropati yapması ilacın dezavantajlarından. Sık görülen yan etkileri periferik nöropati, gastrointestinal yan etki ve geçici trombositopenidir. İlacın periferik nöropati yan etkisi tedavi kısıtlayıcı yan etkisidir.⁹⁰

Bortezomibin lenalidomidle birlikte kullanımının bortezomibin etki mekanizmasını arttırdığı görülmüştür.⁷⁹ Multipl miyelom hastalarında bortezomib sayesinde gerek hastaliksız sağkalım gerekse tüm sağkalımda anlamlı iyileşme sağlanmakla birlikte bazı multipl miyelom hastalarında yanıt alınamamaktadır. Bu hastalarda bortezomib direnci gösterilmiştir. Bortezomib direncine ait mekanizmaların çeşitliliği tanımlandıkça yeni ikinci jenerasyon proteozom inhibitörlerinin geliştirilmesine ihtiyaç doğmuştur.⁸⁶

2. Karfilzomib

İkinci jenerasyon proteozom inhibitörüdür. Bortezomibin aksine 20S kor ünite geri dönüşümsüz bağlanır. Daha önceden bortezomib ve bir immünomodülatör ajan olmak üzere en az iki kez tedavi almış ve tedavi sırasında yada tedavi biriminden sonra 60 gün içinde nüks etmiş multipl miyelom hastalarında kullanıma ilişkin 2012 yılında FDA onayını almıştır. İlk tedavi siklusunda tümör lizis oluşabilir. Bu nedenle hastaların iyi hidrate edilmesi, kan biyokimyalarının yakın izlemi önerilir. Bazı hastalarda özellikle ilk sikluslarda ateş, dispne gibi infüzyon reaksiyonları tanımlanmış olup, her karfilzomib öncesi 4mg deksametazon uygulaması yapılabileceği belirtilmiştir.⁹¹ Bortezomibe göre karfilzomibin nörotoksitesi daha az olmakla birlikte hastaların küçük bir bölümünde (%5) yan etki olarak kardiyak toksite bildirilmiştir.⁶

3. İksazomib

İksazomib yeni tanı konan MM hastalarının veya relaps refrakter MM hastalarının tedavisinde kullanılmaya başlanan oral bir proteozom inhibitörüdür. A.B.D.'de relaps MM hastalarının tedavisi için onay almıştır. Haftada bir kere oral kullanımı ve bortezomibe göre daha az nörotoksite olması avantajlarıdır. Ancak bortezomibe kıyasla daha fazla gastrointestinal yan etki bildirilmiştir.⁶

2.1.1.13.3. Kortikosteroidler ve konvansiyonel tedavi ajanları

Deksametazon haftalık 20-40 mg dozunda çoğu tedavi rejimine eklenmektedir. İlacın osteoporoz ve enfeksiyon gibi yan etkileri uzun süre kullanımını kısıtlamaktadır. Buna rağmen diğer tedavi rejimleri denenmiş ve başka seçenek olmayan hastalarda 20 mg gibi düşük doz deksametazonla tedavi devam edilebilir. Siklofosfamid de oral yada intravenöz uygulanabilen alkilleyici bir ajandır. Genel olarak VCD şeklinde bortezomib ile kombine edilebilir. Aynı zamanda lenalidomidle de kombine kullanılabilmekte olup haftalık 300 mg/m² gibi tek ajan olarak da kullanılabilir. Standart doz oral melfalan da ekonomik nedenler veya başka tedavi seçeneği olmayan hastalarda kullanılabilir.⁹²

2.1.1.13.4. Bendamustin

Bendamustin kronik lenfositik lösemi, B hücreli non-Hodgin lenfoma ve yeni tanı almış nöropati nedeniyle talidomid ve bortezomibi tolere edemeyen multipl miyelom hastalarının kullanılması için geliştirilmiş bi-alkilleyici bir ilaçtır. Yeni yapılan çalışmalarla bendamustinin talidomid, lenalidomid, deksametazon veya bortezomib-deksametazonla kombine kullanımının relaps multipl miyelom hastalarında da etkili olduğu görülmüştür.⁹³

2.1.1.13.5. Panobistat

Panobinostat 2015 yılında dirençli relaps multipl miyelom tedavisi için geliştirilen bir histon deasetilaz inhibitörüdür. Bu tedavi rejiminde yan etki olarak genellikle %25 oranında grade 3 diyare görülmüştür. Standart tedavi dozundan daha düşük dozda başlanması ve haftada 2 yerine haftada 1 kere subkutan uygulanması önerilir.⁶

2.1.1.13.6. Monoklonal antikolar

Relaps refrakter multipl miyelomda yeni geliştirilen CD38'i hedef alan iki monoklonal antikor (daratumumab ve SAR650984) umut vericidir. CD38, miyelom hücreleri tarafından eksprese edilen bir transmembran glikoproteindir. Faz 2 çalışmalarda

daratumumabın tek ajan olarak daha önce agresif tedavi olan relaps refrakter hastalarda kullanımı ile yaklaşık %30 yanıt oranı elde edildi. Bu cesaret verici çalışmalardan dolayı A.B.D.'de relaps refrakter MM hastalarında daratumumab kullanımı onay almıştır. Lenfosit sinyal aktivasyon molekülü F7 (SLAMF7)'ye bağlanan bir monoklonal antikor olan elotuzumab da relaps MM hastalarında etkili bulunmuştur. SLAMF7, hem NK hücreleri hem de MM hücrelerince eksprese edilir ve NK hücrelerinin aktivasyonunda rol oynar. Elotuzumab NK hücrelerinin aktivasyonunu artırarak tümör yükünü azaltır. Ancak elotuzumabın tek ajan olarak kullanılması etkisiz olduğundan daha çok Rd ile kombine kullanılmıştır. A.B.D.'de elotuzumab da relaps MM hastalarının tedavisinde kullanımı için onay almıştır.⁶

2.1.1.14. Destek tedavisi

2.1.1.14.1. Hiperkalsemi

Hiperkalsemi tedavisinin temeli hidrasyon, kortikosteroidler ve bifosfonatlardır (pamidronat veya zoledronik asit). 60-90 mg pamidronat (iv) 2-4 saatlik infüzyon yada 4 mg zoledronik asidin en az 15 dakikalık infüzyonu serum kalsiyum düzeyini 24-72 saat içinde normale getirmektedir. Refrakter vakalarda somon kalsitonin kullanılabilir.⁶

2.1.1.14.2. Kemik lezyonları

Destek tedavisinde bifosfonatların en önemli kullanımı kemik lezyonlarını önleme yada sayısını azaltmak üzerinedir.⁶ Bifosfonatlar osteoklast sayısını azaltarak kemik rezorpsiyonunu bloke eder ve kemik ağrısını azaltır. MM hastalarında osteoklast sayısının kemik iliği mezenkiminde arttığı, kemik ağrısı, hiperkalsemi ve artmış kemik kırıklarıyla sonuçlandığı bilinmektedir.⁹⁴ Kemik lezyonu olan MM hastalarında zoledronik asit yada pamidronatın ayda 1 kere 1-2 yıl kullanımı önerilmektedir. Osteolitik kemik lezyonları olan hastalarda lokal radyoterapi daha çok ekstramedüller tümör basısına bağlı spinal kord kompresyonu olan yada sistemik kemoterapiye ve analjeziklere dirençli kemik ağrısı olan hastalarda uygulanmalıdır. Bazı hastalarda cerrahi girişim gerekebilir.⁶

2.1.1.14.3.Enfeksiyonlardan korunma

Multipl miyelom hastalarının pnömokok ve influenza aşılarını yaptırmaları önerilir. Ciddi hipogammaglobulinemisi olan hastalarda ağır enfeksiyonlardan korunma için 3-4 haftada bir iv gammaglobulin uygulanması önerilir. Kemoterapi alan MM hastalarında profilaktik antibyoterapi kullanımı, randomize çalışmalarda anlamlı fayda elde edilmediği için henüz tartışmalı bir konudur. Genel olarak karfilzomib yada bortezomib tedavisi alan hastalarda herpes zoster aktivasyonundan korunmak amacıyla asiklovir tedavisi önerilir. Uzun dönem kortikosteroid tedavi alan hastalarda Pneumocystis jiroveci enfeksiyonun karşı profilaksi önerilir. Ancak immünomodülatör bir ajan (talidomid, lenalidomid) ile trimetoprim-sulfametoksazol kullanımı ciddi cilt toksisitesi yapabilir. Bu tür hastalarda Pneumocystis jiroveci enfeksiyonuna karşı levofloksasin gibi alternatif antibyotikler düşünülebilir.⁶

2.1.1.14.4.Hiperviskozite sendromu

Multipl miyelom hastalarının küçük bir bölümünde hiperviskozite sendromu gelişebilir. Bu hastalarda hiperviskozite semptomları gelişirse plazmaferez düşünülmeli ve uygulanmalıdır. Plazmaferez ile semptomlar hızlı bir şekilde düzelmektedir.⁶

2.1.1.14.5.Böbrek Yetmezliği

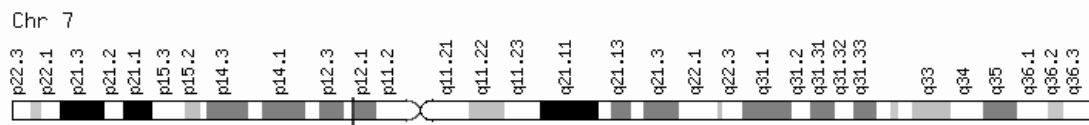
Multipl miyelom varlığında akut böbrek yemezliğinin en sık nedeni dolaşan serbest hafif zincirlere bağlı silendir nefropatisidir. Dolaşan hafif zincirlere bağlı silendir nefropatisi geliştiğinde serbest hafif zincir seviyesini azaltmak için acil tedavi gerekmektedir. Serbest hafif zincir seviyesini hızlı bir şekilde azaltmak için plazmaferez yada yüksek akımlı diyaliz ile tedavi önerilir. Tedavinin ilk haftasında serum serbest hafif zincir takibi ve serum kreatinin takibi önerilir.⁶

2.2. İKAROS PROTEİN AİLESİ

Hematopoez hücrel bir hiyerarşi sonucunda ortak öncül hücreden (pluripotent kök hücre) eritroid, miyeloid ve lenfoid dizi oluşumu ile devam eden bir süreçtir. Pluripotent kök hücrenin kaderini belirleyen çinko-parmak (zinc-finger) protein ailesinden olan İkaros normal hematopoetik hücrenin gelişiminde, lenfositlerin farklılaşmasında, immün sistemin düzenlenmesinde ve bazı özel fizyolojik süreçlerde önemli rol sahibidir.⁹⁵ Bu geniş protein ailesi 5 homolog genin alternatif eşleşme (alternatif splicing) ile oluşan izoformları içerir. Splicing, transkripsiyonla üretilen mRNA molekülünün intron bölgelerinin kırılıp ekson bölgelerinin yaklaştırılması işlemidir. Aile üyeleri arasında yerleşmiş olan protein-protein etkileşimleri sayesinde İkaros proteinlerinin fonksiyonel formları çok daha çeşitli olabilir. İkaros proteinlerinin karmaşık düzenleyici ağlardaki esas rolü henüz tam olarak bilinmese de biriken deneysel kanıtlar, İkaros'u hedef alan tedavi edici uygulamaların mümkün ve etkili olduğunu göstermektedir.⁹⁶

Çinko-parmak proteini ilk olarak *Xenopus laevis* türünde görülüp tanımlanmış küçük bir protein motif türüdür. İlk tanımlandığı türde parmak şeklinde görülmesi ve proteinin katlanmış halinin stabil kalabilmesi için bir veya daha fazla çinko iyonu ile bağ oluşturması gerekliliği nedenleri ile çinko-parmak motifi diye isimlendirilmiştir.⁹⁷

Çinko parmak proteini İkaros (IKZF1 olarak da adlandırılır) 7.kromozomun p12.2 kolunda IKZF1 geni tarafından kodlanır.⁹



Şekil-3. İkaros'un başlangıç yeri.⁹

İlk olarak 1992 yılında farelerde T lenfositlerinin maturasyonunda önemli rolü olan bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlandı.⁹⁵ Yirmi yıl içerisinde araştırmalar İkaros'un 4 homoloğu olduğunu gösterdi. Bunlar da İkaros gibi Yunan mitolojisinden esinlenerek Helios (IKZF2, IKZF2 tarafından 2q34'de kodlanır), Aiolos (IKZF3, IKZF3 tarafından 17q12-21.1'de kodlanır), Eos (IKZF4, IKZF4 tarafından 12q13.2'de kodlanır) ve Pegasus

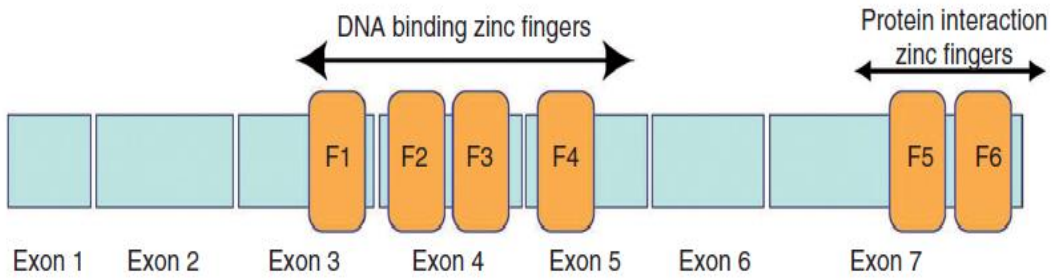
(IKZF5, IKZF5 tarafından 10q26.13'de kodlanır) olarak adlandırıldı.^{98,99,100} Ayrıca bu beş homolog genin alternatif eşleşmesi (splicing) sonucu birkaç farklı izoformları olduğu tespit edildi. İzofromların birbiri içerisinde ve diğer aile üyeleri ile etkileşimleri sayesinde değişik kombinasyonlarda birbirinden farklı birçok protein kompleksleri oluşturdukları görüldü.¹⁰¹

Bu protein ailesinin birçoğunda yüksek oranda korunmuş bir karboksil uç bulunmaktadır. Bunun karboksil ucunda bir çift C2H2 çinko-parmak dimer oluşturması protein-protein etkileşimine aracılık eder. İkaros proteinlerinin diğer özelliği ise N (amino)-terminal uç içermesidir. Bu bölge en fazla 4 çinko-parmak motifinden oluşur ve hedefledikleri DNA dizilerinin tanınmasında işe yarar. Proteinin N (amino) -terminal ucundaki çinko-parmak motifinin sayısındaki değişiklikler alternatif splicing nedeniyle olur. Çinko-parmak motifine sahip olmayan alternatif izoformlar, transkripsiyon aktivasyonuna dominant negatif etki gösterir. Herhangi bir multimer protein kompleksinin içindeki proteinlerin birinde meydana gelen bir mutasyon bu proteinin kompleks içindeki esas aktivitesini bozuyorsa buna dominant-negatif mutasyon denir.¹⁰² Bu kısa, patolojik DNA bağlamayan dominant negatif formlar fonksiyonel İkaros gruplarını inhibe ederler. Dominant negatif formların kemik iliği hücrelerinde overekspresyonu hematolojik malignitelerle ilişkilidir.¹⁰³

İkaros protein ailesi üyelerinin DNA dizileri yüksek oranda birbirine benzese de görev dağılımları farklıdır. İkaros, Helios ve Aiolos genellikle lenfoid hücreler ve onların öncülerinin gelişiminde önemli rol oynar. Ayrıca İkaros beyinde, İkaros ve Helios eritroid hücrelerde de tespit edilmiştir. Eos ve Pegasus ise tüm vücutta, özellikle iskelet kasları, karaciğer, beyin ve kalpte eksprese edilir. En fazla Eos ekspresyonu daha çok iskelet kaslarında tespit edilmiştir.^{93,104,105}

2.2.1. İkaros (IKZF1) geni

İKZF1 geni 6.2kb uzunluğunda olup 519 aminoasit kodlar ve 8 eksondan oluşur. Ekson 1 promotor bölge ile gen transkripsiyonun düzenler. Ekson 2, 3 ve 7 hakkında çok bilgi yoktur. Diğer eksonlar İkaros fonksiyonları için önem arzeder. Ekson 4-6 DNA bağlanması için gerekli olan dört N-terminal çinko parmak motiflerini kodlar. Ekson 8 İkaros ailesi üyelerinin dimerizasyonunda rol alan iki C-terminal çinko parmak motiflerini kodlar.^{106,107}

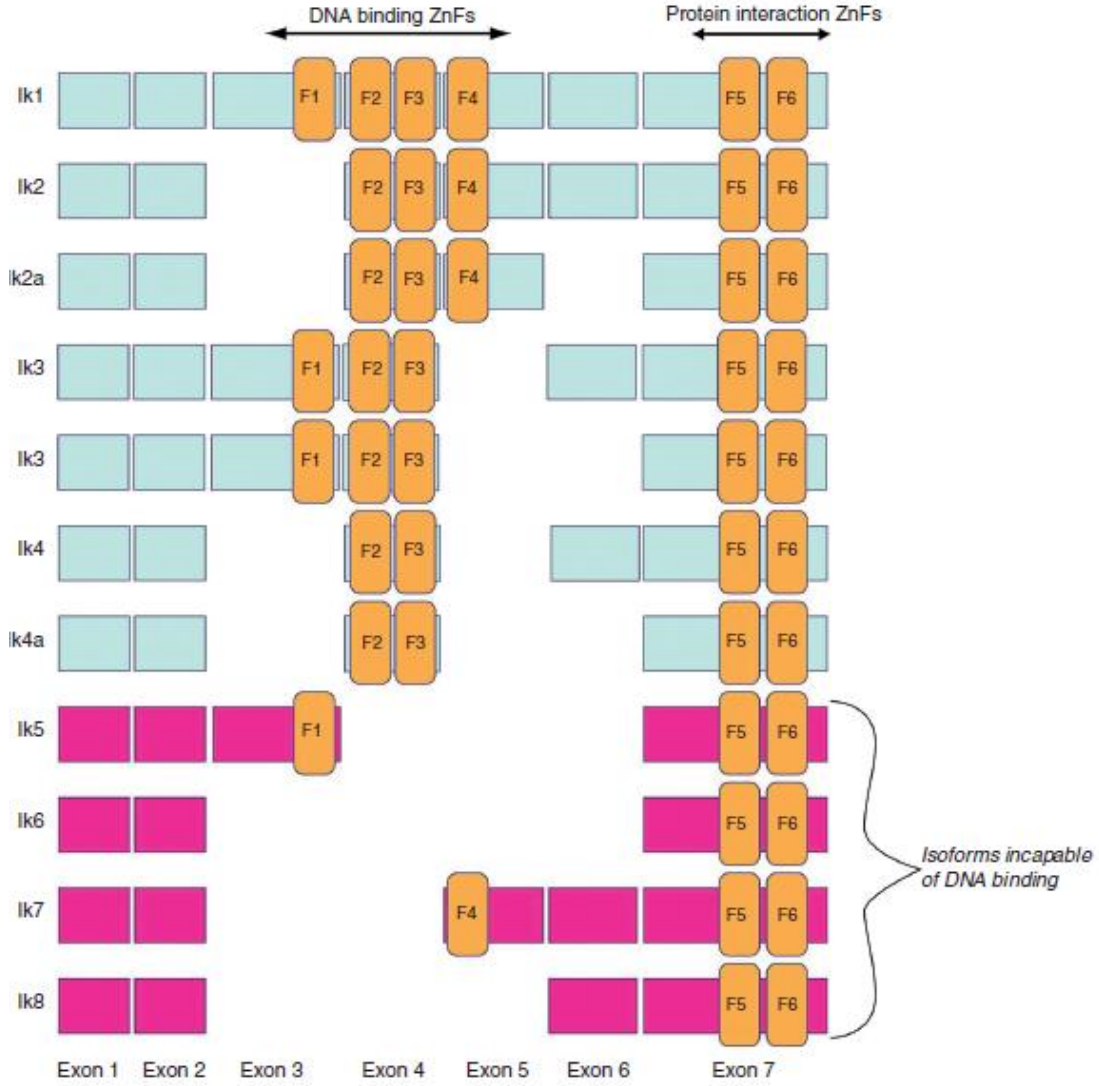


Şekil -4. İkaros'un N-terminal bölgesi (F1-F4) DNA bağlanma bölgesi ve C-terminal bölgesi (F5-F6) ⁸

İkaros geni çinko parmak motifli DNA bağlayan protein ailesinin bir üyesi olan bir transkripsiyon faktörünü kodlar. Bu ailedeki proteinler kromatinlerin yeniden modellenmesi ile ilişkilidir. Bu proteinlerin ekspresyonu (ifadesi) genel olarak fetal ve yetişkin lenfoid ve hematopoetik sistemle sınırlanmıştır. İkaros lenfosit gelişimi sırasındaki farklılaşmasında düzenleyici görev yapar. Birçok izofomu heterodimerleşme ve homodimerleşme için gerekli olan ikili çinko-parmak motifini taşır. Bu dimerleşme diğer proteinlerle etkileşimde anahtardır. Sınırlı sayıda izoformlar amino ucunda üçlü veya daha fazla sayıda çinko-parmak motifleri içerir ki bunlar hedeflenen genlerin promotor (başlatıcı) bölgedeki gerekli olan bir DNA dizisi elemanına yüksek affinite ile bağlanmayı sağlar. DNA bağlamayan izoformlar ağırlıklı olarak sitoplazmada bulunur ve bu izoformların dominant negatif faktörler olduğu düşünülür. Ayrıca dominant negatif izoformların normalden fazla ifadesinin B hücreli malign tümörleri ve akut lenfoblastik lösemi (ALL) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.¹⁰³

2.2.2. İkaros'un fizyolojik fonksiyonları

İkaros'un (İK1-İKZF1)'in alternatif splicing yolu ile oluşan en az 9 izoformu vardır (İK2, İK3, İK4, İK5, İK6, İK7, İK8, İK9 ve İK10). Bu alternatif splicing yolu ile oluşan çinko parmak proteinler promotor bölgelere bağlanıp hedef gen ekspresyonunu regüle ederler.



Şekil-5. İkaros izoformları. İkaros izoformları post-transkripsiyonel splicing sonucu oluşur. N-terminal çinko parmakları eksik izoformlar DNA bağlanma yeteneği yoktur. C-terminal çinko parmakları eksik izoformlar kararsız yapıdadır.⁸

İkaros normal hematopoez için gerekli olup aynı zamanda bir tümör supresör olarak bilinmektedir. İkaros hem gen ekspresyonunun aktive edilmesi hem de inhibe edilmesinde rol alır. İkaros'un aktivitesi DNA'ya bağlanma yeteneğine bağlıdır. İkaros DNA'ya içerdiği dört N-terminal çinko parmakları ile bağlanır. Çinko parmakların alternatif splicing veya kromozomal delesyonlarla kaybı DNA bağlanma affinitesi az olan İkaros izoformlarının oluşumu ile sonuçlanır. DNA'ya bağlı olmayan İkaros izoformları dominant negatif etki göstererek diğer İkaros izoformları ve İkaros ailesi üyelerinin (ör: Aiolos ve Helios) DNA'ya bağlanma affinitesini azaltırlar. İkaros'un kazein kinaz 2 ile fosforile edilmesi de İkaros'un DNA ile etkileşimini engellemektedir. İkaros'un DNA'ya bağlanma aktivitesi 4 yolla regüle edilebilir: 1) alternatif splicing 2) dominant negatif İkaros izoformlarının oluşarak diğer İkaros izoformlarının DNA bağlanma aktivitesini inhibe edilmesi 3) İkaros'un fosforile edilerek DNA bağlanma affinitesinin azaltılması 4) İkaros proteinleri stabilitesinde fosforilizasyon ilişkili değişikliklerdir.¹⁰⁶

İKZF1 genindeki amino ucundaki 3 tane çinko-parmak motifini kodladığı bilinen exon 4 ve 5'in delesyonu ile T ve B lenfositleri, natural killer hücreleri ve bunların öncül hücrelerinin oluşmadığı görülmüş. Fakat bu ikili delesyon eritroid, miyeloid ve bunların öncülerinin gelişimine herhangi bir etki etmemiş.¹⁰⁸ Heterozigot delesyonlarda ise lenfoid organlarda büyüme ve NK hücrelerinde kayıp görülmüş.¹⁰²

Sekizinci eksonun delesyonu karboksil ucundaki parmak motiflerinin yok olmasına ve transkripsiyon aktive edici domainin ikiye ayrılmasına sebep olmuş. Bu mutasyonun homozigot versiyonu ile doğan farelerde kusurlu lenfositler görülürken, fetal T lenfositleri, fetal ve yetişkin B lenfositleri ve bunların öncüleri oluşmamış.

Dördüncü ve altıncı eksondaki delesyonla proteinlerin sırasıyla birinci ve dördüncü çinko-parmak motifleri oluşmamış.¹⁰⁹ Ayrıca, transgenik farelerde, B hücrelerinin sayısında kontrol grubuna (normal organik fare) göre azalma görülmüş.

İkaros proteinleri hücre döngüsünün ilerlemesini, hücrenin hayatta kalmasını, immünglobulin sınıf değişimi sırasında izotip seçimini hedef genin ifadesini düzenleyerek kontrol ederler.^{106,110} Ayrıca bu protein hematopoetik kök hücrelerin yenilenmesinde rol alır ve kritik bir tümör baskılayıcısıdır.¹¹¹

Kemoterapi veya UV tedavisi sırasında İkaros proteininin erken apoptoz fazında, kaspaz aktivasyonu öncesinde proteozom sistemi tarafından yıkıma uğradığı görülmüştür.¹¹²

İkaros ağırlıklı olarak transkripsiyonel olarak sessiz genlerin yanında olan perisentromerik heterokromatine yerleşir.¹¹³ Bu durumun nedeninin İkaros'un hipermetile DNA bölgelerindeki histon deasetilaz kompleksleri ile etkileşim sonucu olduğu düşünülmektedir.¹¹⁴

2.2.3.İkaros ve ilişkili hastalıklar

İKZF-1 geni tarafından kodlanan İkaros çinko parmak proteini, lenfoid ve miyeloid hücre serilerinin gelişiminde önemli rol oynar.İkaros geni bulunmayan farelerle yapılan çalışmalarda hematopoetik kök hücre gelişiminde defektler, miyeloid hücrelerde eksiklik ve B hücre öncülerinin gelişmediği görülmüştür.^{104,115,116}

İkaros geninin lökosit gelişiminde önemi heterozigot İKZF1 mutasyonu olan yada artmış dominant negatif izoformların ekspresyonu olan farelerde T-hücre lenfoması geliştiği görülerek anlaşılmıştır.^{102,111} İkaros geninde haployetersizlik ve BCR-ABL1'in birlikte bulunması da transgenik farelerde pre-B hücreli ALL gelişiminde rol oynadığı görülmüştür.¹¹⁷

Ezzat ve arkadaşları¹¹⁸ 2006 yılında pitüiter tümör olan hastaların yarısında dominant negatif İK6 izoformu tespit etmiştir. Bu da İkaros'un normal fonksiyonun nöroendokrin sistem gelişiminde öneminin yanısıra anormal İKZF1 ekspresyonunu tümör gelişimi patogenezinde güçlü bir şekilde rol oynayabileceğini göstermektedir.¹¹⁸ Ayrıca İKZF1 geninin promotor bölgesinin hipermetilasyonu ile kolorektal adenokarsinom gelişimi arasında da ilişkili olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur.¹¹⁹

İkaros geninde delesyonlar, mutasyonlar, yeniden düzenleme ile ilgili translokasyonlara bağlı pre-B hücreli ALL, KML, diffüz büyük B hücreli lenfoma, MDS, T hücreli ALL, kolon, akciğer ve karaciğer kanseri gelişimi ile ilişkili olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Yetişkin ve pediatrik pre-B hücreli ALL (daha çok BCR-ABL pozitif subgrup), pediatrik AML ve daha az sıklıkta T hücreli ALL'de de İK6 izoformunun overekspresyonu gösterilmiştir.⁹ Nakayama ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptıkları bir çalışmada KML

hastalarının kemik iliği örneklerinde blast krizinde dominant negatif IK6 izoformunun overekspresyonu ve bazı vakalarda da IK1-4 izoformlarının azalmış ekspresyonu analiz edilmiştir.¹²⁰

Son yıllarda IKZF1'e yönelik olan ilginin artmasının nedeni IKZF1 delesyonlarının sadece pre-B hücreli ALL'de rekürren anomali olarak görülmesinden çok lökomogenezin arkasındaki mekanizma olma olasılığıdır.^{121,122} IKZF1 delesyonları BCR-ABL (+) pre-B hücreli ALL hastalarının %75'inde, KML blast krizi olan hastaların %60'ında, Down Sendromu ile ilişkili pre-B hücreli ALL hastalarının %30'unda ve genel olarak pre-B hücreli ALL hastalarında çocukların %15'inde yetişkinlerin %30'unda tespit edilmiştir. Pediatrik pre-B hücreli ALL'de IKZF1 delesyonlarının olması kötü prognoz ve yüksek relaps riski ile ilişkili bulunmuştur.⁹

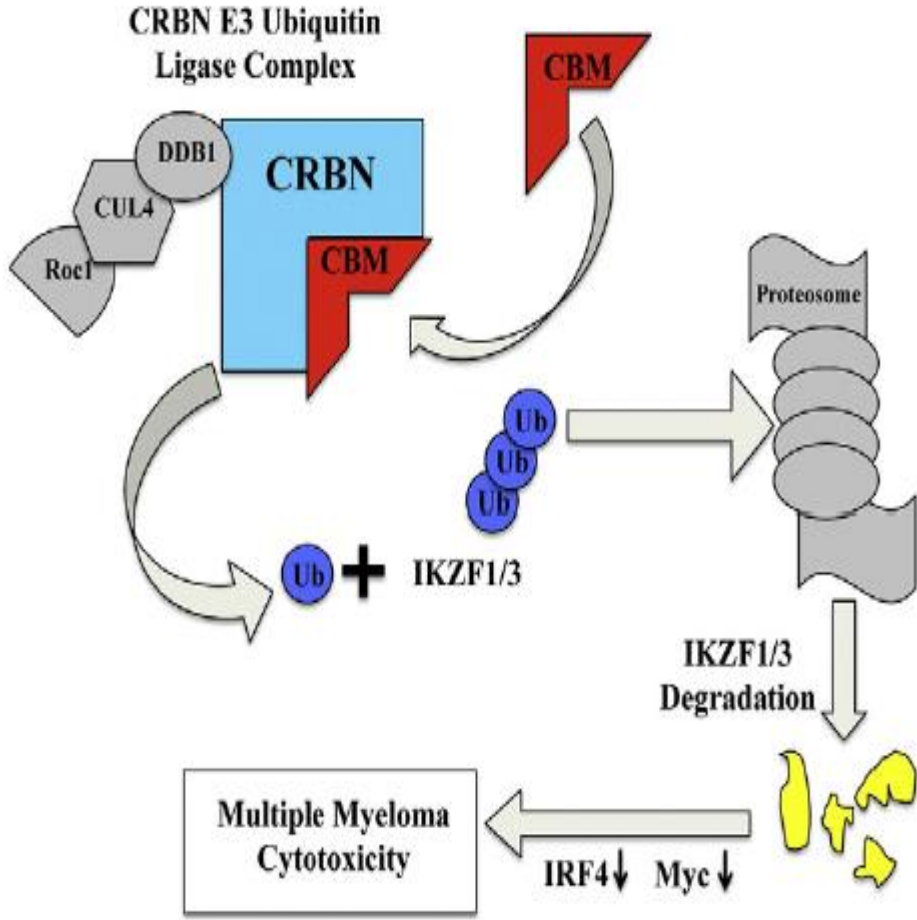
Son çalışmalarda İkaros (IKZF1) ve Aiolos (IKZF3) proteinlerinin lenalidomid gibi immünmodülatör ilaçlarla ve cereblon aracılığı ile ubikinizasyona uğradığı gösterilmiştir. Bunun sonucunda İMİD'lerin anti-miyelom etkisinde bu proteinlerin önemli rol oynadığı anlaşılmıştır.^{123,124}

2.2.4. İkaros ve multipl miyelom

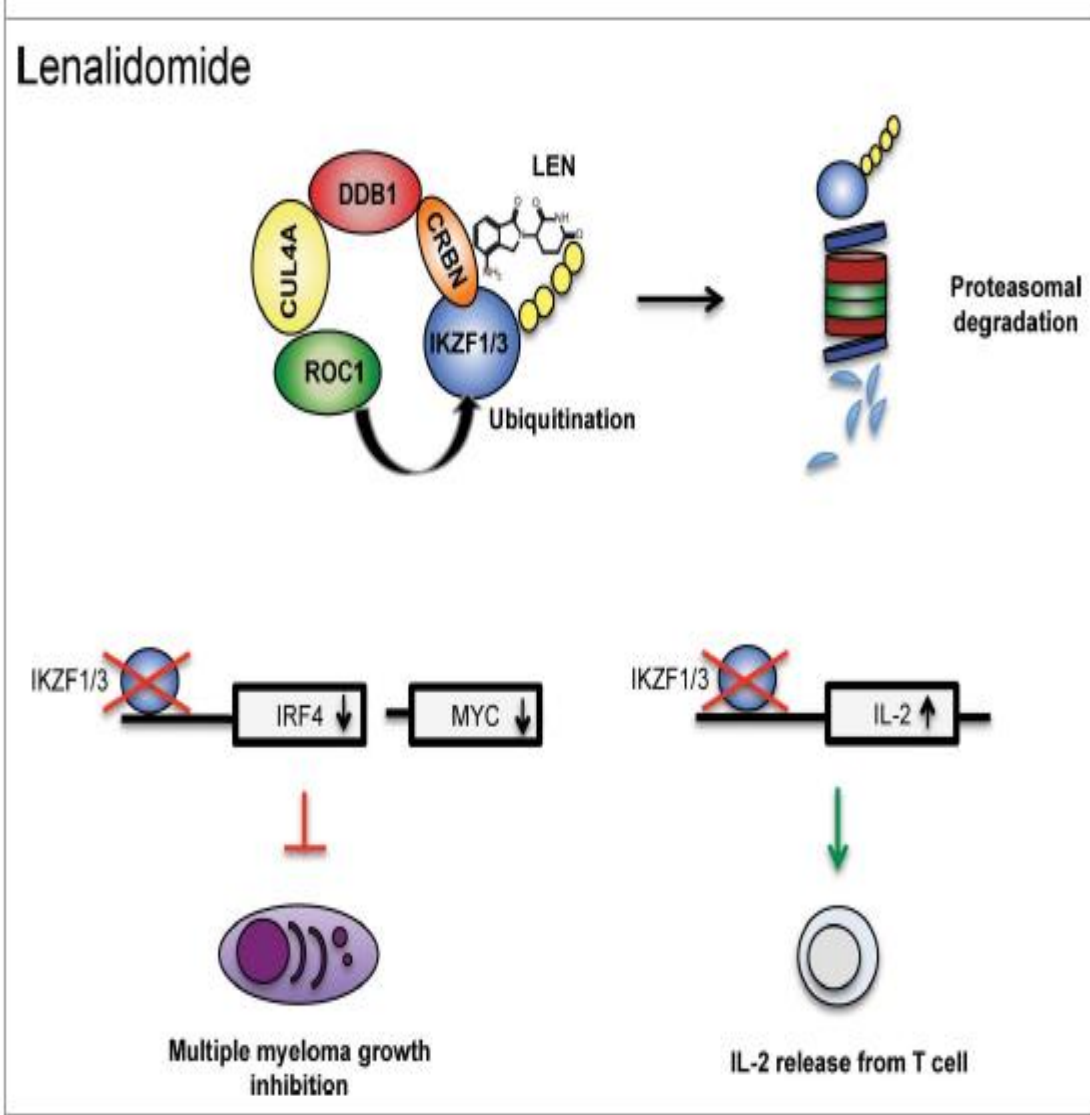
İmmünmodülatör ilaç sınıfında ilk ilaç olan talidomid 1950'li yıllarda gebe kadınlarda antiemetik olarak kullanılmış olup ciddi teratojeniteye sebep olmuştur. 1990'lı yıllarda talidomidin multipl miyelom hücrelerinin büyümesinin selektif inhibisyonu ve immün hücrelerin modülasyonu gibi ek özellikleri tanımlandı. Bunun sonucunda talidomid ve onun daha güçlü analogları olan lenalidomid ile pomalidomid multipl miyelom ve kromozom 5q delesyonu olan MDS tedavisinde kullanılmak için onaylanmıştır. Buna ek olarak talidomid ve analogları TNF- α salınımı inhibisyonu ve T hücrelerinden IL-2 ve IFN- γ salınımını arttırmaktadır. Bu etkilerinden dolayı bu ilaçlara immünmodülatör ilaçlar adı verilmiştir. Birkaç yıl sonra da talidomid ve analoglarının anjiyogenez inhibisyonu yaptığı tespit edilmiştir ve 1999 yılında multipl miyelom tedavisinde etkili olduğu belirtilmiştir.⁷ Bu etki mekanizmasının altında yatan sebep 2010 yılında cereblon (CRBN)

E3 ubiquitin ligazın İMİD'lerin hedefi olduğu tespit edilene kadar belirsiz kalmıştır. 2010 yılında İto ve arkadaşları talidomidin teratojenitesinden sorumlu olan ve talidomidin aynı zamanda hedefi de olan cereblon (CRBN) molekülünü tanımladı.^{125,126}

Cereblon (CRBN), Cullin 4A (CUL4), Cullin 1 regülatörleri (Roc1), hasarlı protein DNA bağlanma bölgesi-1 (DDB1)'i de içeren E3 ubiquitin ligaz kompleks (CRBN-CRL4)'inin üyesidir. Cereblon molekülü CRBN-CRL4 komplekse bazı proteinlerin ubiquinizasyon için toplanmasını sağlayan bir substrat adaptörü rolü oynar.¹²⁷ İto ve arkadaşlarının hayvan modellerinde yaptığı deneylerde talidomidin teratojenitesi için ilacın CRBN molekülüne bağlanması gerektiği ileri sürülmüştür. Daha sonraki çalışmalarda gösterilmiştir ki cereblon (CRBN), İMİD'lerin ortak hedefi olup bunların etkileşimi ile multipl miyelom hücrelerinin proliferasyonunun inhibisyonu ve T hücrelerinden IL-2 salınımı gerçekleşir.^{75,128} İMİD'lerin CRBN'ye bağlanması CRBN molekülünün çinko parmak protein ailesi üyeleri olan İkaros (IKZF1) ve Aiolos (IKZF3) transkripsiyon faktörlerine olan affinitesini artırır. Bunun sonucunda İkaros ve Aiolos proteinleri CRBN-CRL4 E3 ligaz ile hızlı bir şekilde ubiquinize edilerek proteozomal yıkıma uğrar. İMİD'lerin yokluğunda CRBN bu transkripsiyon faktörlerine bağlanmaz. Bunun sonucunda talidomid ve onun analoglarının multipl miyelom hücrelerinin gelişimini CRBN-CRL4 ubiquitin E3 ligaz yoluyla IKZF1 ve IKZF3 yıkımı sayesinde inhibe ettiği gösterilmiştir.^{7,123} IKZF1 ve IKZF3 lenfoid farklılaşma için gerekli olup inaktivasyonu sonucu lenfoid farklılaşmanın bloke olup ALL gelişimine yatkınlık geliştiği görülmüştür.¹⁰² Buna karşılık multipl miyelom hücreleri IKZF1 ve IKZF3'e bağımlıdır. Dominant negatif IKZF3 multipl miyelom hücrelerinin gelişimini inhibe eder. Aynı zamanda proteozomal yıkıma dirençli mutant IKZF1 ve IKZF3 lenalidomid tedavisinde dirence de neden olmaktadır.^{7,123} IRF4, multipl miyelom hücrelerini yaşamı için gerekli olan bir transkripsiyon faktörü olmakla birlikte aynı zamanda IKZF1 ve IKZF3'ün de hedefidir.^{123,129} IKZF1 ve IKZF3'ün yıkımı IRF4 ve MYC ekspresyonunu da azaltarak miyelom hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder.¹³⁰ T hücrelerinde IKZF1 ve IKZF3, IL-2 geninin transkripsiyonel represörleridir. IKZF1 ve IKZF3'ün yıkımı ile represör etki ortadan kalkarak T ve NK hücrelerinden IL-2 salınımı artar.^{124,7}



Şekil-6. IKZF1 ve IKZF3'ün proteozomal yıkımı. İmmünmodülatör ilaçlar diğer bir deyişle cereblon bağlayıcı moleküller CRBN'ye bağlanarak IKZF1 ve IKZF3'ün proteozomal yıkımına neden olurlar. Bunun sonucunda IRF4 ve myc downrelügasyonu ile ilişkili multipl miyelom sitotoksitesi gelişir.¹³¹



Şekil-7.Lenalidomid etkisi. IKZF1 ve IKZF3 transkripsiyon faktörleri aynı zamanda c-myc'in de aktivatörü olan ve miyelom hücrelerinin yaşamı için önemli olan IRF4'ü aktive ederler. IKZF1, IKZF3, IRF4 ve c-myc miyelom hücrelerinin gelişimi ve yaşamı için önemli transkripsiyon faktörleridir. IKZF1 ve IKZF3, IL-2 gen lokusunda repressör etki gösterirler. Lenalidomid, IKZF1 ve IKZF3'ü CRBN-CRL4 E3 ligaz aracılığı ile ubiquinizasyonunu sağlayarak proteozomal yıkıma uğratar. IKZF1 ve IKZF3'ün yıkımı sonucunda IRF4 ve c-myc transkripsiyonu azalarak miyelom hücrelerinin gelişimi engellenir ve T hücreleri üzerindeki repressör etki ortadan kalkarak IL-2 salınımı artar.⁷

Son zamanlarda yapılan çalışmalarla normal kemik iliğine sahip vakalara kıyasla multipl miyelom vakalarının kemik iliklerinde daha fazla IRF4 ekspresyonu bildirilmiştir. IRF4, CD147 ve IKZF3 ekspresyonu multipl miyelom hücrelerinde daha fazla iken CRBN ve IKZF1 ekspresyonu miyelom hücrelerine oranla kemik iliği stromal hücrelerde daha fazla görülmüştür. Bu çalışmalara göre kemik iliği stromal hücrelerde İkaros'un İMİD aktivitesini gösteren bir marker olarak kullanılabileceğine dair yayınlar ortaya çıkmıştır.¹³² Yapılan başka çalışmalarla da İkaros düzeyi ekspresyonu daha yüksek olan hastaların lenalidomid-deksametazon bazlı tedavilere daha iyi yanıt verdikleri düşük olanların ise daha az yanıt verdikleri görülmüştür.¹³³

Bu çalışmada amacımız, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Erişkin Hematoloji Polikliniği'nde yeni tanı konan multipl miyelom hasta popülasyonunda serum İkaros proteini düzeyinin Elisa (enzim ilişkili immünosorban yöntem) yöntemi ile belirlemektir. Çalışmamızın en önemli katkısının klinik uygulamalar kısmında İkaros protein seviyesinin hastalık prognozundaki etkisi ve immünmodülatör tedavi alan hastaların tedaviye yanıt oranında tanı anındaki serum İkaros protein düzeyinin etkisi olup olmadığının araştırılmasıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı'nda yapılmış olup Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 22.06.2016 tarih ve 2016/167 proje numarası ile onaylanmıştır. Çalışma için gerekli olan bütçe Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) tarafından karşılanmıştır.

3.1. HASTA GRUPLARI

Bu çalışmaya 15.06.2013 ve 01.09.2016 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD Hematoloji Bilim Dalı Polikliniği'ne başvurup multipl miyelom tanısı konan 57 hasta (35 erkek, 22 kadın) ve aynı tarihlerde Genel Dahiliye Polikliniği'ne başvuran 23 kişi (11 erkek, 12 kadın) sağlıklı kontrol grubuna dahil edilmiştir. Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı gruba çalışma hakkında bilgi verilip yazılı onam alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen gönüllü hasta grubunda aranan özellikler 18 yaş üzerinde olup daha önce kemoterapi veya radyoterapi almamış yeni tanı multipl miyelom hastası olmaktır. Çalışmaya dahil edilen sağlıklı gönüllülerde aranan özellikler 18 yaş üzerinde olup herhangi bir solid organ yada hematolojik kanser öyküsü olmaması ve herhangi bir sistemik hastalığının olmamasıdır. Yeni tanı multipl miyelom hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubundaki gönüllülerden serum İkaros (IKZF1) protein seviyesi için kan alınıp, numuneler santrifüj edilip -80°C'de saklanmıştır.

Hasta grubu gönüllülerden evreleme ve prognozu belirleme amaçlı tedavi öncesi istenmiş olan tam kan sayımı, serum immun elektroforez, Ig düzeyleri, LDH, β 2 mikroglobulin, CRP, sedimentasyon, albümin, kreatinin, AST, ALT, kalsiyum değerleri kaydedilmiştir. Genel Dahiliye Polikliniği'ne başvuran sağlıklı kontrol grubuna seçilmiş gönüllülerden Genel Dahiliye Polikliniği'nde rutin olarak istenen tam kan sayımı, kreatinin, kalsiyum, LDH, CRP, AST, ALT parametreleri kaydedilmiştir. Hem hasta hem de sağlıklı kontrol grubu gönüllüleri için sadece araştırmaya özel serum İkaros (IKZF1) protein düzeylerine bakılmıştır. Hastaların ve kontrol grubu gönüllülerin rutin biyokimyasal tetkikleri Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Merkez Biyokimya Laboratuvarında yapılmıştır. Hastaların ve kontrol grubu gönüllülerin serum

İkaros düzeyi ölçümü Elisa yöntemi ile Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Elisa Laboratuvarında yapılmıştır. Hastalar ISS'ye göre evrelendirilmiş, evreleme ve prognoz değerlendirmede kullanılan tanı anı ve takip değerleri dosyalarından elde edilmiştir. 01.09.2016 tarihine kadar izlendikten sonra bu tarihte toplanan verilerle analiz yapılmış hastaların her poliklinik girişlerinde muayene bulguları, laboratuvar tetkikleri, almış oldukları tedaviler ve bu tedavilerin sonuçları kaydedilmiştir. Hastaların %89,5'i birinci basamak olarak yeni nesil ajan olan bortezomib bazlı tedaviler almıştır. Hastaların takibi ile ilgili bilgilere de hastaların hematoloji dosyalarından elde edilmiştir. Sağlıklı kontrol grubundakilerin takip edilmesine ve tekrar kan alınmasına gerek duyulmamıştır. Ölen hastalar T.C. Sağlık Bakanlığı Ölüm Bildirim Sistemi, hasta poliklinik dosya kayıtları ve hasta yatış epikrizleri yardımı ile belirlenmiştir.

Tedaviye yanıt için IMWG kriterleri kullanılmıştır.

Yeni multipl miyelom tanısı almış olup herhangi bir tedavi başlanmış olan hastalar, multipl miyelom nedeniyle tedavisi devam edenler, daha önce hematolojik malignite yada solid organ malignitesi nedeni ile kemoterapi veya radyoterapi almış olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

3.2.YÖNTEM

Yeni tanı multipl miyelom hasta grubu ve sağlıklı kontrollerden onayları alınarak 3ml venöz kan alındı. Kanlar 1000 devirde 15 dakika santrifüj edildikten sonra -80°C ısıda en fazla 6 ay saklandı. Yeni tanı multipl miyelom hastalarından ve sağlıklı kontrol grubundan toplanan serumlar Human DNA-binding protein İkaros (IKZF1) (Medbio, Mybiosource ABD) (Katalog No:MBS920900) Elisa kitinde çalışılarak serum İkaros protein seviyeleri ölçüldü. Serum İkaros düzeyleri Alisei (İtalya) tam otomatik ELİSA cihazında ölçüldü.

3.2.1.Serum İkaros protein düzeyi ölçüm metodu

- 1) Çalışma günü -80°C ısıda saklanan serum örnekleri oda ısısında eritildi.
- 2) İkaros standart solüsyonu 8 noktadan oluşan bir standart eğri (0-2000 pg/ml) oluşturulmak üzere sulandırıldı.

- 3) İkaros standart solüsyonu örnek dilüent ile seri dilüsyon yapılarak hazırlandı.
- 4) 100'er µl'lik standart solüsyonu önceden İkaros antikorlu ile kaplanmış 96 kuyuluk plak üstündeki kuyulara eklendi ve 37°C'de 2 saat boyunca inkübe edildi.
- 5) Yıkama yapılmadan her kuyucuğa 100 µl Biotin ile konjuge edilmiş antikor eklendi ve 37°C'de 1 saat inkübe edildi.
- 6) Daha sonra 200 µl yıkama solüsyonu ile 2 kez yıkama yapıldı.
- 7) Yıkama sonrası 100 µl HRP-avidin konjugatı her kuyuya eklendi ve yine 37°C'de 1 saat inkübe edildi.
- 8) Plaktaki kuyular aspire edilip 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı.
- 9) Her kuyuya 90 µl TMB substrat eklendi ve 37°C'de 15-30 dakika ışıktan koruyarak inkübe edildi.
- 10) Daha sonra her kuyucuğa 50 µl sonlandırma (stop) solüsyonu eklendi.
- 11) Absorbans 450 nm'de ölçüldü.
- 12) İkaros (IKZF1) standart eğrileri kullanılarak serum örneklerinin İkaros konsantrasyonları hesaplandı.

3.3. İSTATİSTİKSEL İŞLEMLER

İstatistiksel analizler için "SPSS for Windows 20.0 versiyonu" kullanıldı. Hastalarda sürekli değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığı Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Veriler normal dağılıma uymadığı için non-parametrik testler kullanıldı. Hastalara ait ortanca değerler en düşük ve yüksek aralıklarla birlikte incelendi. Kategorik değerler için ki-kare testi kullanılırken, 2 gruptaki sayısal veriler Mann-Whitney U testi ve daha fazla kategorik değer içeren gruplardaki dağılımı normal olmayan veriler Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım süreleri hesaplanmasında Kaplan-Meier metodu ve Log-rank testi kullanıldı. Progresyonsuz sağkalım süresi tanı tarihinden progresyona kadar geçen süre, toplam sağkalım süresi tanı tarihinden hastanın kaybedilmesi veya takip süresinin sonlandırıldığı tarihe kadar geçen süre olarak kabul edildi. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya yeni tanı konmuş 57 multipl miyelom hastası 23 sağlıklı birey olmak üzere toplam 80 kişi dahil edildi. Çalışmaya katılan hastaların medyan yaş değeri 61 (37-81), sağlıklı kontrol grubunun medyan yaş değeri 59'dur (41-84). Yaş açısından sağlıklı kontrol ve hasta grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,509$). Hastaların %38,6'sı kadın, %61,4'ü erkektir. Sağlıklı kontrol grubunun %52,2'si kadın, %47,8'i erkektir. Cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,266$).

Populasyondaki multipl miyelom hastalarının %24,6'sı IgG kappa, %14'ü IgG lambda, %14'ü IgA kappa, %5,3 IgA lambda, %21,1'i hafif zincir kappa, %14'ü hafif zincir lambda, %7'si non-sekretuar miyelomdu. Çalışmamıza alınan hastaların ECOG performans skoru değerlendirildiğinde %63,1'i ECOG 0-1, %36,9'u ECOG 2-3 saptandı. ISS skoruna göre hastalara evreleme yapıldığında hastaların %19,3'ü ISS evre 1, %31,6'sı ISS evre 2, %49,1'i ISS evre 3 saptanmıştır.

Hasta ve kontrol gruplarından hemoglobün (Hb), lökosit değeri, lenfosit değeri, trombosit değeri, kreatinin, kalsiyum, LDH, albümin, CRP ve sedimentasyon çalışılmıştır. Hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında hastaların medyan Hb, kreatinin, kalsiyum, albümin, CRP, sedimentasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). Hasta ve sağlıklı kontrol grubunun lökosit, lenfosit, trombosit, LDH değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0,852$, $p=0,644$, $p=0,17$, $p=0,253$).

Hasta grubundan bakılan $\beta 2$ mikroglobulin medyan değeri 5,8 mg/l saptanmış olup kontrol grubunda bu değere bakılmamıştır. MM hastaları ve sağlıklı kontrollerin demografik özellikleri ve laboratuvar parametreleri açısından karşılaştırılmasına ait veriler Tablo 8'de gösterilmiştir.

Multipl miyelom hastaları kemik bulgularına göre değerlendirildiğinde hastaların %71,9'unun litik kemik lezyonlarına sahip olduğu, %12,3'ünde plazmositom saptandığı, %15,8'inde de kemik lezyonu olmadığı görüldü.

Çalışmaya katılan hastaların %89,5'i birinci sıra tedavi olarak bortezomib bazlı tedavi, %7'si konvansiyonel kemoterapi almıştır.

Hastaların birinci sıra tedavi yanıtları değerlendirildiğinde %19'unun tam yanıt,

%42'sinin çok iyi kısmi yanıt, %17'sinin parsiyel yanıt, %5'inin stabil yanıt verdiği görülmüş olup, %3'ünün progresyon gösterip %12'sinin de yanıtı değerlendirilememiştir.

Çalışmaya katılan hastaların %43,9'u ikinci sıra tedavi almıştır. İkinci sıra tedavi alan hastaların %88'i lenalidomid bazlı tedavi, %8'i bortezomib bazlı tedavi, %4'ü konvansiyonel kemoterapi almıştır. Lenalidomid bazlı tedavi alanların %76'sı relaps/refrakter hastalık nedeniyle, %24'ü otolog kemik iliği nakli sonrası idame tedavi olarak lenalidomid almıştır. Lenalidomid bazlı tedavi alanların %76'sının tedaviye yanıt (tam yanıt, çok iyi kısmi yanıt, parsiyel yanıt) verdiği, %26'sının da tedaviye yanıt (stabil yanıt, progresif hastalık) olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda yer alan hastaların çalışma süresi içerisinde %57,9'u kemik iliği nakli olup, %42,1'i nakil olmamıştır. Hastaların %40,5'i bir kez nakil, %14'ü tandem nakil, %3,4'ü iki kez nakil olmuştur. Tablo 8'de hastaların ilk ve ikinci nakil yanıtları gösterilmiştir.

Çalışmamızda yer alan hastaların % 35,1'inde relaps gelişmiş olup bunların yarısı nakil sonrası yarısı da kemoterapi sonrası relaps olmuştur. Tablo 8'de hasta ve kontrol grubunun çalıştığımız parametreler açısından kıyaslanması sunulmuştur.

Tablo-8. Multipl miyelom hastaları ve sağlıklı kontrollerin demografik özellikleri, klinik ve laboratuvar parametreleri.

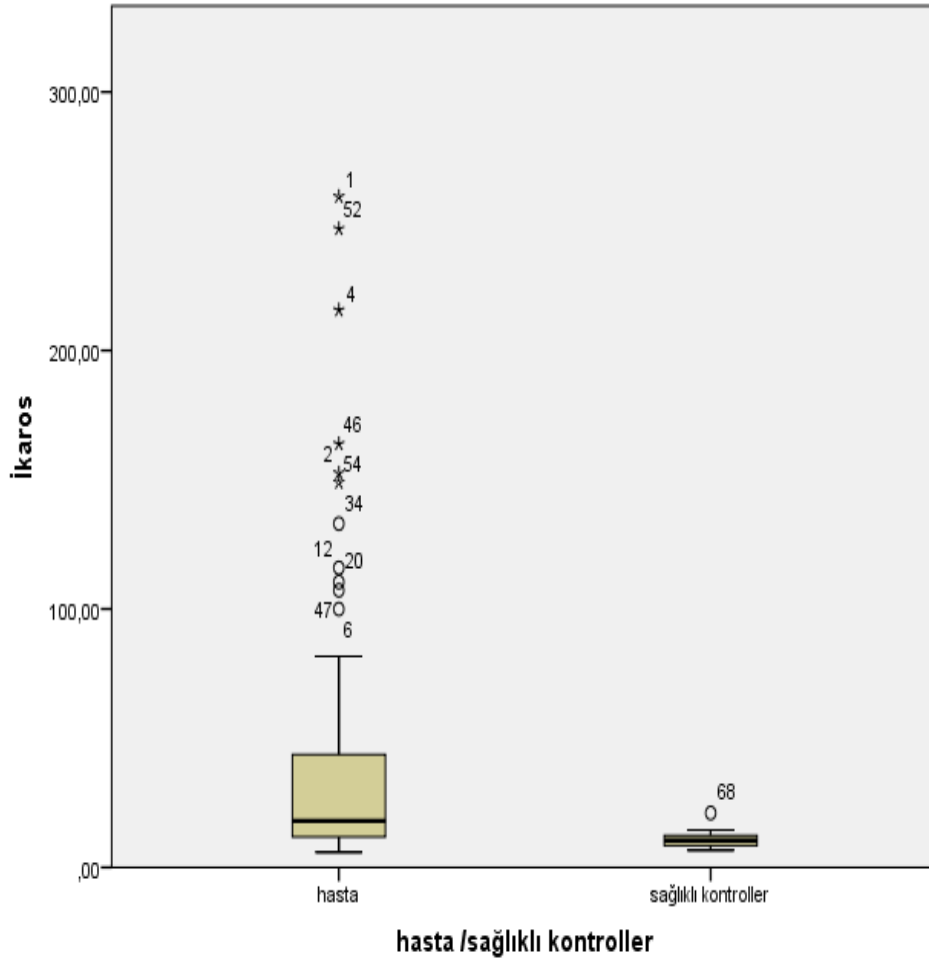
	Multipl miyelom	Sağlıklı kontrol	p değeri
Sayı	57	23	
Yaş, medyan(aralık)	61 (37-81)	59 (41-84)	0,509
Cinsiyet			
Kadın	22 (%38,6)	12 (%52,2)	0,266
Erkek	35 (%61,4)	11 (%47,8)	
Multipl miyelom tipi			
IgG kappa	14 (%24,6)		
IgG lambda	8 (%14)		
IgA kappa	8 (%14)		
Ig A lambda	3 (%5,3)		
Kappa hafif zincir	12 (%21,1)		
Lambda hafif zincir	8 (%14)		
Non-sekretuar	4 (%7)		
ECOG PS skoru			
0-1	36 (%63,1)		
>1	21 (%36,9)		
ISS			
1	11 (%19,3)		
2	18 (%31,6)		
3	28 (%49,1)		

Tablo-8. Devamı

	Multipl miyelom	Sağlıklı kontrol	p değeri
Hb (g/dl),medyan(aralık)	10,3 (7,33-15,6)	13,5(12,5-15,5)	0,001
WBC(x10 ⁶ /L),medyan(aralık)	6 640(3200-18 800)	6750(4310-9200)	0,852
Lenfosit(x10 ⁶ /L),medyan(aralık)	2310 (426-11 500)	2100 (1180-4960)	0,644
PLT(x10 ⁹ /L),medyan(aralık)	219 (58,8-481)	246 (142-351)	0,17
Kreatinin (mg/dL),medyan(aralık)	0,9 (0,54-10,6)	0,74 (0,59-0,93)	0,001
Kalsiyum(mg/dL), medyan(aralık)	9,7 (8,2-13)	9,3 (8,9-10,4)	0,006
Albümin(gr/dL), medyan(aralık)	3,51 (2-4,5)	4,38 (3,9-4,9)	0,001
β 2 mik.medyan(mg/L)(aralık)	5,8 (0,96-30)		
CRP(mg/dL), medyan(aralık)	0,72 (0,02-12,1)	0,15 (0,02-1,0)	0,001
LDH (U/L) ,medyan(aralık)	174 (73-520)	175 (125-222)	0,253
ESH(mm/saat),medyan(aralık)	48 (5-100)	10 (2-26)	0,001
Kemik lezyonu			
Litik	41 (%71,9)		
Plazmositom	7 (%12,3)		
Kemik lezyonu yok	9 (%15,8)		
1. sıra tedavi			
Bortezomib bazlı tedavi	51(%89,5)		
Konvansiyonel KT (VAD, MPT)	4 (%7)		
1. sıra tedaviye yanıt			
TY(tam yanıt)	11 (%19)		
ÇİKY(çok iyi kısmi yanıt)	24 (%42)		
PR(Parsiyel yanıt)	10 (%17)		
SD(Stabil hastalık)	3 (%5)		
PD (Progresyon)	2 (%3)		
NA (Yanıt değerlendirilemedi)	7 (%12)		
Hematopoetik kök hücre nakli			
Evet	33 (%57,9)		
Hayır	24 (%42,1)		
Hematopoetik kök hücre nakli tipi			
Nakil olmadı	24 (%42,1)		
1 kez nakil	23(%40,5)		
Tandem nakil	8 (%14)		
2 kez nakil	2 (%3,4)		
İlk nakil yanıt			
TY (Tam yanıt)	8 (%24)		
ÇİKY (Çok iyi kısmi yanıt)	17 (%51,5)		
PR (Parsiyel yanıt)	5 (%15,5)		
Oligoklonal yanıt	3 (%9)		
İkinci nakil yanıt			
TY	4 (%44,4)		
ÇİKY	4 (%44,4)		
Oligoklonal yanıt	1 (%11,1)		

Tablo-8. Devamı

	Multipl miyelom	Sağlıklı kontrol	p değeri
2.sıra tedavi			
Lenalidomid bazlı tedavi	22 (%88)		
Konvansiyonel KT	1 (%4)		
Bortezomib bazlı tedavi	2 (%8)		
Relaps olan hastalar	20 (%35,1)		
Kemik iliği nakli sonrası	10 (%17,55)		
Konvansiyonel terapi sonrası	10 (%17,55)		



Şekil-8. Multipl miyelom ve sağlıklı kontrol grubunun serum İkaros düzeylerinin karşılaştırılması. (p=0,001)

Multipl miyelom hastaları ve sağlıklı kontrollerin serum İkaros düzeylerine bakıldığında multipl miyelom hastalarının serum İkaros medyan değeri 17,98 (5,91-259,53) pg/ml saptanmış olup sağlıklı kontrollerin serum İkaros medyan değeri 10,41 (6,62-21,05) pg/ml saptandı. Serum İkaros düzeyleri kontrol grubuna göre hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulundu (**p=0,001**).

Çalışmaya katılan hastaların Ig tipi ile ortalama İkaros protein seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu görüldü (**p=0,04**). IgG tipi MM hastalarının serum İkaros seviyeleri diğer gruptakilere göre daha yüksek tespit edildi (tablo 9'a bakınız). Ayrıca ağır zincir tipi MM hastaları ile hafif zincir tipi MM hastaları arasındaki serum İkaros düzeyi istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu (**p=0,008**). Ağır zincir tipi MM olan hastaların serum İkaros medyan değeri 27,27 (8,52-259,53) pg/ml saptanırken hafif zincir tipi MM hastalarının serum İkaros medyan değeri 13,37 (5,91-247,06) pg/ml saptandı.

Çalışmaya katılan hastalardan serum kreatinin düzeyi 2 mg/dl'nin altında olanların serum medyan İkaros değeri kreatinin düzeyi 2 mg/dl ve üstünde olanlara göre daha yüksek bulundu. Kreatinin düzeyi 2 mg/dl'nin altında olanların serum medyan İkaros değeri 21,76 (8,04-259,53) pg/ml olup kreatinin düzeyi 2 mg/dl ve üstünde olanların serum medyan İkaros değeri 11,12 (5,91-215,61) pg/ml saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (**p=0,004**).

Çalışmada yer alan hastaların 47'sinde 13q delesyonu açısından genetik inceleme yapılmıştı. Bu hastalardan 13q delesyonu pozitif olanların serum İkaros medyan değeri 81,67 (20,82-163,87) pg/ml saptanmış olup 13q delesyonu negatif olanların ise serum İkaros medyan değeri 17,98 (6,86-259,53) pg/ml saptandı. 13q delesyonu ile serum İkaros seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu görüldü (**p=0,04**).

Çalışmaya katılan hastaların ve sağlıklı kontrol grubunun cinsiyete göre serum İkaros seviyelerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü (**p=0,902**, **p=0,316**).

65 yaş, ECOG performans skoru 2, ISS 2, hemoglobün 10 gr/dl, kalsiyum 12 mg/dl, CRP 0,5 mg/dl, β 2 mikroglobulin 3,5 mg/l, sedimentasyon 100 mm/saat, LDH 225 U/L, albümin 3,5 gr/dl sınır değerler olarak alındığında grupların serum İkaros seviyeleri arasında anlamlı fark olmadığı görüldü (**p>0,05**). Bunun dışında 50 hastanın p53 mutasyon analizi daha önce bakılmıştı, p53 mutasyonu varlığı ile serum İkaros seviyesi arasında anlamlı fark olmadığı saptandı (**p=0,251**). Ayrıca 47 hastanın IgH translokasyonuna

bakılmış olup, IgH translokasyonu varlığı ile serum İkaros seviyesi arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,330).

Tablo-9. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunun ortalama serum İkaros düzeylerinin demografik özellikler, klinik ve laboratuvar parametreleri yönünden karşılaştırılması.

	Hasta grubu		Sağlıklı kontrol grubu	
	İkaros	p değeri	İkaros	p değeri
Cinsiyet		0,902		0,316
Kadın	16,32(8,04-259,53)		11(6,62-21,05)	
Erkek	17,98(5,91-215,61)		9,47(6,86-12,47)	
<65 yaş	21,31(8,04-259,53)	0,16		
>65 yaş	13,48(5,91-215,61)			
Ig tipi		0,04		
Ig G kappa	40,78(11,59-259,53)			
Ig G lambda	28,15(10,41-247,06)			
Ig A kappa	24,84(8,52-115,91)			
Ig A lambda	14,43(14,43-17,03)			
Kappa hafif zincir	11(6,86-110,41)			
Lambda hafif zincir	18(5,91-215,61)			
Non-sekretuar	11,83(8,04-12,54)			
Ağır zincir	27,27(8,52-259,53)	0,008		
Hafif zincir	13,37(5,91-215,61)			
ECOG PS skoru		0,175		
0-1	19,52(8,04-259,53)			
>1	13,48(5,91-247,06)			
ISS		0,151		
1-2	18,69(8,04-247,06)			
3	13,84(5,91-259,53)			
Kreatinin <2	21,76 (8,04-259,53)	0,004		
Kreatinin ≥2	11,12 (5,91-215,61)			
Kalsiyum < 12	18,21 (5,91-259,53)	0,61		
Kalsiyum ≥ 12	15,97 (6,86-152,56)			
Hb ≤ 10	15,73 (5,91-247,06)	0,66		
Hb > 10	18,21(6,86-259,53)			

Tablo-9. Devamı

	Hasta grubu İkaros	p değeri		
B2 mik <3,5 B2 mik>3,5	18,45(8,04-148,90) 14,43(5,91-259,53)	0,600		
Albumin <3,5 Albumin>3,5	24,63(5,91-152,56) 14,43(6,86-259,53)	0,294		
CRP normal CRP yüksek	21,31(8,04-163,87) 13,48(5,91-259,53)	0,210		
LDH normal LDH yüksek	17,98(5,91-259,53) 18,93(6,86-215,61)	0,911		
ESH<100 ESH>100	16,21(5,91-259,53) 28,15(8,52-247,06)	0,120		
Kemik lezyonu var/yok Kemik lezyonu var Kemik lezyonu yok	16,21(5,91-259,53) 27,27(8,52-133,02)	0,669		
p 53 p 53 + p 53 -	25,28(11,12- 247,06) 17,38(5,91-259,53)	0,261		
13 q 13 q + 13 q -	81,67(20,82- 163,87) 17,98(6,86-259,53)	0,04		
Ig H Ig H + Ig H -	14,43(6,86-107,21) 21,17(7,10-259,53)	0,330		
Yanıt 0-1 TY,ÇİKY 0 PY,stabil,progresyon 1	18,69(6,86-259,53) 32,31(5,91-247,06)	0,626		
Relaps Relaps yapan Relaps yapmayan	25,52(5,91-259,53) 14,43(6,86-148,90)	0,126		
Kemik lezyonu Litik lezyon Plazmositom Kemik lezyonu yok	14,43(5,91-259,53) 37,83(7,1-115,91) 27,27(8,52-133,02)	0,805		

(Not: LDH normal değeri: 135-225 U/L ,LDH > 225 U/L yüksek ; CRP < 0.5 mg/dl normal , CRP > 0,5mg/dl yüksek)

Multipl miyelom hastalarının serum İkaros medyan değeri olan 17,98 pg/ml sınır değer olarak alınarak altgrup analizleri yapıldı. Serum İkaros düzeyi 17,98'den düşük olan hastalarda β 2 mikroglobulin medyan değeri 9,58 mg/l saptanmışken serum İkaros düzeyi 17,98'den yüksek olan hastaların β 2 mikroglobulin medyan değeri 4,55 mg/l saptandı ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı (**p=0,018**). Serum İkaros düzeyi ile multipl miyelom zincir tipi arasında da ilişki tespit edildi. Serum İkaros düzeyi 17,98'den yüksek olanların %85'inin ağır zincir tip MM olduğu, serum İkaros düzeyi 17,98'den düşük olanların ise sadece %48,5'nin ağır zincir MM olduğu, %51,5'nin hafif zincir MM olduğu görüldü (**p=0,008**). Ayrıca serum İkaros düzeyi 17,98'den yüksek olanların %82,4'ü IgG tipi MM idi (**p=0,049**).

Serum İkaros düzeyi 17,98'den düşük olanların % 86,7'sinin kreatinin düzeyleri 2 mg/dl ve üstünde olup İkaros düzeyi 17,98'den yüksek olanların %13,3'ünün kreatinin düzeyi 2 mg/dl'nin altındadır ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (**p=0,028**).

Serum İkaros düzeyi 17,98'den düşük olanların %69,4'ü lenalidomid tedavisi almamıştır. Serum İkaros düzeyi 17,98'den yüksek olanların %57,1'i lenalidomid tedavisi almıştır (**p=0,048**). Serum İkaros düzeyi 17,98'den yüksek olanların %83,3'ü lenalidomid tedavisine yanıt vermiş olup %16,7'si tedaviye yanıt vermemiştir.

Tablo-10.Serum İkaros düzeyi 17,98'den düşük ve yüksek olan multipl miyelom hastalarının laboratuvar parametrelerinin ve klinik özelliklerinin karşılaştırılması.

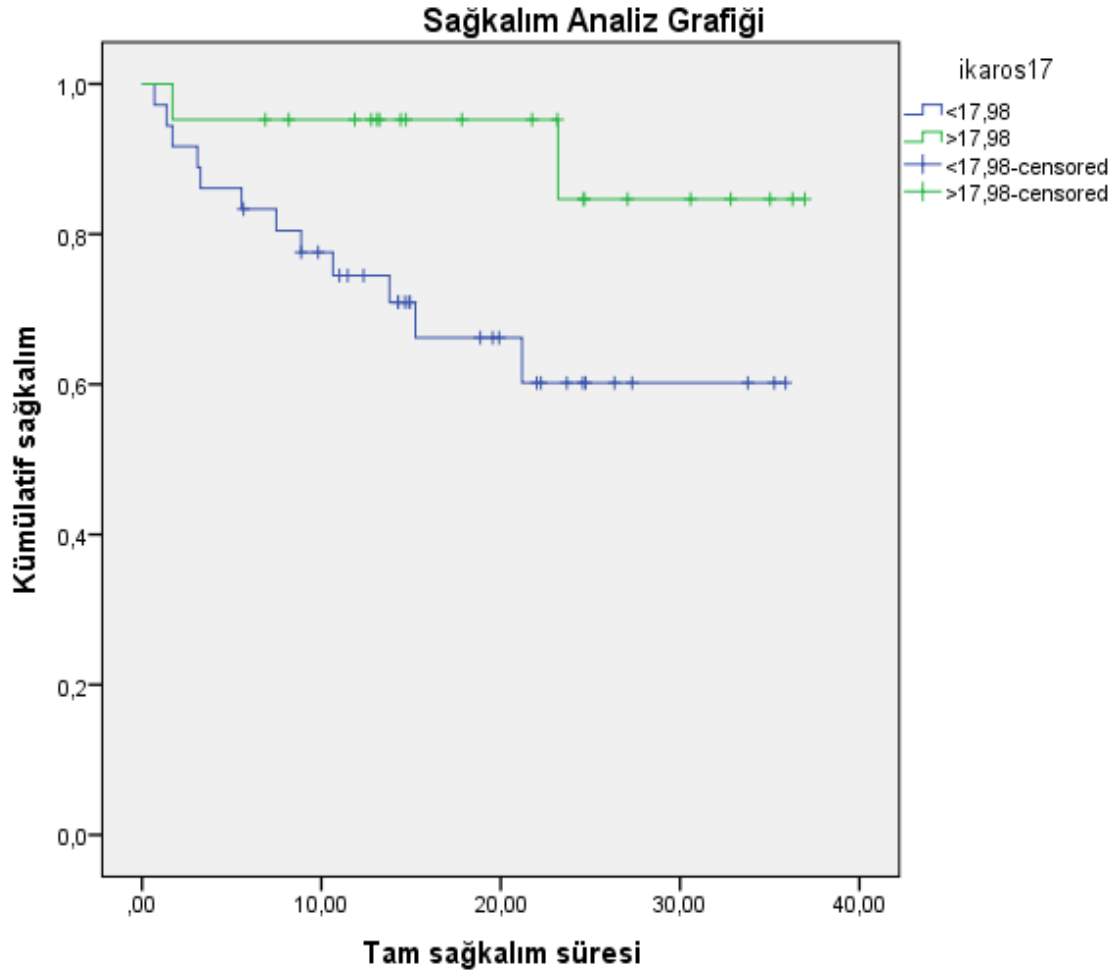
	İkaros <17,98 olan grup	İkaros>17,98 olan grup	p değeri
Yaş ortalaması	64 (37-77)	58 (44-81)	0,062
Lenfosit	2625 (426-11 500)	2060 (596-4870)	0,098
Kreatinin	0,96 (0,54-10,60)	0,88 (0,54-5,0)	0,250
Kreatinin<1,2 Kreatinin>1,2	%63,9 %36,1	%66,7 %33,3	0,832
Kreatinin <2 Kreatinin \geq 2	%54,8 %86,7	%45,2 %13,3	0,028
Kalsiyum	9,6 (8,6-13,0)	9,9 (8,2-12,7)	0,579
Kalsiyum <11 Kalsiyum>11	%75 %25	%76,2 %23,8	0,92

Tablo-10.devamı

	İkaros <17,98 olan grup	İkaros>17,98 olan grup	p değeri
Kalsiyum <12 Kalsiyum ≥12	%61,2 %75	%38,8 %25	0,45
Hb ≤ 10 Hb > 10	%73,1 %54,8	%26,9 %45,2	0,15
β2 mikroglobulin	9,58 (0,96-30)	4,55(2,5-10)	0,018
β2<3,5 β2>3,5	%22,2 %77,8	%38,1 %61,9	0,198
LDH	169,5(73-520)	197(192-392)	0,264
LDH normal LDH yüksek	%69,4 %30,6	%66,7 %33,3	0,828
Albümin	3,55(2,0-4,5)	3,42(2,09-4,35)	0,432
Alb. <3,5 Alb.>3,5	%41,7 %58,3	%52,4 %42,6	0,433
ESH<30 ESH>30 ESH<100 ESH>100	10(%27,8) 26(%72,2) 31(%86,1) 5(%13,9)	8(%38,1) 13(%61,9) 17(%81) 4(%19)	0,419 0,712
Kemik lezyon Kemik lezyon + Kemik lezyon -	%88,9 %11,1	%76,2 %23,8	0,266
Monoklonal Ig tipi (n/%)			
IgA IgG	8 (%50) 8(%50)	3(%17,6) 14(%82,4)	0,049
Ağır zincir Hafif zincir	16(%48,5) 17(%51,5)	17(%85) 3(%15)	0,008
p 53 mutasyonu p 53 mut.+ p 53 mut.-	6(%20) 24(%80)	6(%30) 14(%70)	0,506
q 13 mut. q 13 mut+ q 13 mut-	2(%7,1) 26(%92,9)	3(%15,8) 16(%84,2)	0,381
Ig H rearrangement Ig H + Ig H -	7(%25) 21(%75)	2(%10,5) 17(%89,5)	0,278
ISS evresi Evre I-II Evre III	%41,7(15) %58,3(21)	%66,7(14) %33,3(7)	0,069
1.Sıra yanıt CR/VGPR PR/Stabil/Progres.	20(%69) 9(%31)	15(%75) 5 (%25)	0,646

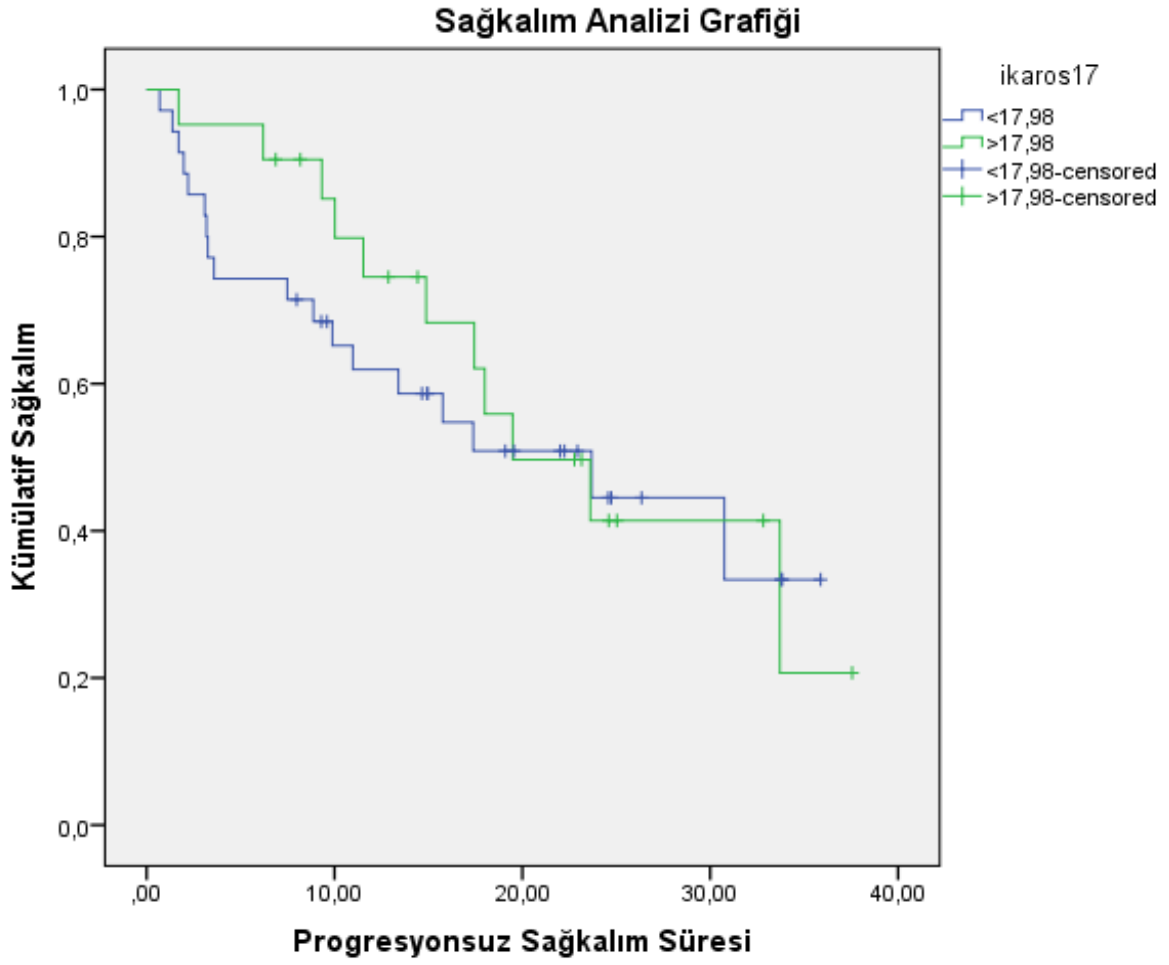
Tablo-10. Devamı

	İkaros <17,98 olan grup	İkaros>17,98 olan grup	p değeri
Lenalidomid alan	11(%30,6)	12(%57,1)	
Lenalidomid almayan	25(%69,4)	9(%42,9)	0,048
Lenalidomide yanıt TY/ÇİKY/PY Stabil/Progres.	7 (%63,6) 4 (%36,4)	10(%83,3) 2(%16,7)	0,283
Relaps Relaps+ Relaps -	10(%27,8) 26 (%72,2)	10(%47,6) 11(%52,4)	0,130
Bortezomib yanıt TY ,ÇİKY, PY Stabil, progresyon	32 (%88,9) 4(%11,1)	19(%90,5) 2(%9,5)	0,85



Şekil-9. Serum İkaros düzeyi ile tam sağkalım ilişkisi analizi.

Multipl miyelom hastalarının serum İkaros medyan değeri olan 17,98 pg/ml sınır değer olarak alınarak sağkalım analizi yapıldı. Serum İkaros değeri 17,98 pg/ml'den yüksek olanların sağkalımının daha iyi olduğu görüldü (**p=0,04**). Serum İkaros seviyesi 17,98 pg/ml'den düşük olanların 2 yıllık tam sağ kalımı %60 iken serum İkaros seviyesi 17,98 pg/ml'den yüksek olanların 2 yıllık tam sağkalımı %84 bulunmuştur.



Şekil-10. Serum İkaros düzeyi ile progressyonsuz sağkalım ilişkisi analizi.

Multipl miyelom hastalarının medyan İkaros değeri olan 17,98 pg/ml'ye göre progressyonsuz sağkalım grafiği incelendiğinde istatistiksel olarak iki grup arasında (İkaros <17,98 pg/ml , İkaros>17,98 pg/ml) anlamlı bir fark bulunmadı (p= 0,692).

5. TARTIŞMA

Multipl miyelom (MM), plazma hücrelerinin ve plazma hücresi öncülerinin malign proliferasyonu ile karakterize olan bir hematolojik kanser türüdür.² Multipl miyelom patogeneğinde sinyal yolları, apoptotik mekanizmalar, kemik iliği mikroçevresi ve hücre siklusundaki anormallikler suçlanmaktadır. Bu konudaki temel bilgilerin artışı ve yeni ajanların geliştirilmesi (talidomid, lenalidomid ve pomalidomid gibi immünmodülatör ilaçlar) terapötik yanıt oranlarını arttırmış ve hasta sağ kalım oranlarını da uzatmıştır.⁴⁰ Aynı zamanda bir talidomid bağlayıcı protein olan cereblon ekspresyonunun talidomidin immünmodülatör etkisi için gerekli olduğu saptanmış ve aynı zamanda bu molekülün pomalidomid ve lenalidomid içinde önemli bir hedef olduğu gösterilmiştir. Bu etkileşim sonucunda İkaros (IKZF1) ve Aiolos (IKZF3) transkripsiyon faktörlerinin proteozomal yıkımının gerçekleştiği gösterilmiştir. İkaros ve Aiolos'un yıkımı ile multipl miyelom hücrelerinin sağkalımı için gerekli olan IRF4 ve c-myc ekspresyonunun da azaldığı ve sonuç olarak miyelom hücrelerinin çoğalmasının engellendiği görülmüştür.^{7,123}

IKZF1 geni tarafından kodlanan İkaros çinko parmak proteini, lenfoid ve miyeloid hücre serilerinin gelişiminde önemli rol oynar. İkaros geninde delesyonlar, mutasyonlar, yeniden düzenleme ile ilgili translokasyonlara bağlı pre-B hücreli ALL, KML, diffüz büyük B hücreli lenfoma, MDS, T hücreli ALL gelişimi ile ilişkili olduğuna dair çalışmalar mevcuttur.⁹ IKZF1 ve IKZF3 kromatin yeniden düzenlenmesinde ve lenfosit gelişiminin regülasyonunda rol oynayan İkaros çinko parmak proteini üyeleridir.¹⁰⁵ Aynı zamanda bu transkripsiyon faktörleri B hücre aktivasyonu ve farklılaşmasında rol oynar.¹⁰⁰ İn vitro yapılan çalışmalarda İkaros ve Aiolos'un multipl miyelom hücrelerinin proliferasyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir.^{7,123}

Bu çalışmada amacımız yeni tanı MM hastalarında serum İkaros seviyesinin prognostik önemini belirlemek ve klinik verilerle karşılaştırmaktır. Bu sebepten Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda tanı konan multipl miyelom hastalarının tanı sırasında alınan serum örneklerinde serum İkaros seviyelerini ELİSA yöntemi ile belirleyip, serum İkaros seviyelerine göre hastaların tedavi yanıtını ve sağkalımı değerlendirdik. Literatürde MM hastalarında serum İkaros seviyesini ELİSA yöntemi ile

belirleyip, prognostik önemini gösteren başka bir çalışma yoktur ve çalışmamız bu konuda yapılmış ilk çalışmadır. Çalışmamızda 23 gönüllü sağlıklı kontrol ve 57 gönüllü yeni tanı multipl miyelom hastasının serum İkaros seviyeleri belirlendi. Hastaların %61,4'ü erkek, %38,6'sı kadındı. Erkek/kadın oranı 1,6 olup hastaların medyan yaş değeri 61'di. Çalışmalarda erkek/kadın oranı 1,4 olup medyan yaş değeri 66 olarak bildirilmektedir.^{9,10} Çalışmamızdaki multipl miyelom hastalarının %24,6'sı IgG kappa, %14'ü IgG lambda, %14'ü IgA kappa, %5,3 IgA lambda, %21,1'i hafif zincir kappa, %14'ü hafif zincir lambda, %7'si non-sekretuvar miyelom olarak saptandı. Yani %38,6'sı IgG, %19,3'ü IgA, %35,1'i hafif zincir, %7'si non-sekretuvar miyelomdu. Çalışmalarda Ig tiplerine göre miyelom hastalarının insidansına bakıldığında %50 IgG, %20 IgA, %20 hafif zincir, %2,3 non-sekretuvar, %2 IgD, %0,5 IgM tipi miyelom hastası oldukları görülmüştür.⁵⁸ Buna göre çalışmamızdaki hasta popülasyonunda en sık IgG miyelomu saptanmış olup onu %21,1 gibi oranla hafif zincir kappa miyelomu takip etmiştir. Hafif zincir tipi ve non-sekretuvar miyelom insidansı literatürdeki çalışmalara göre bizim çalışmamızda daha fazla saptanmış olup, IgG tipi miyelom insidansı da %38,6 olup diğer çalışmalardan daha düşüktür.⁵⁸

Çalışmamızın sonucuna göre multipl miyelom hasta grubunun serum İkaros seviyeleri sağlıklı kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. Multipl miyelom hastalarının serum İkaros medyan değeri 17,98 pg/ml saptanmış olup sağlıklı kontrollerin serum İkaros medyan değeri 10,41 pg/ml saptanmıştır. Serum İkaros düzeyleri kontrol grubuna göre hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (**p=0,001**). MM hastalarında serum İkaros seviyesini gösteren literatürde başka bir çalışma yoktur. Ancak, Bjorklund ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kemik iliğinden alınan örneklerde MM hastalarına ait plazma hücreleri ve normal plazma hücrelerinin içindeki İkaros seviyesi karşılaştırılmış ve İkaros (IKZF1), Aiolos (IKZF3), c-myc ve IRF4 transkripsiyon faktör düzeyleri multipl miyelom hücresi içeren örneklerde normal plazma hücrelerine göre yüksek saptanmıştır.¹³⁰ Ayrıca Bolomsky ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da IKZF1 ve CRBN düzeyleri multipl miyelom kemik iliği stromal hücrelerde yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada 44 hasta retrospektif gen analizi için çalışmaya dahil edilmiştir. İkaros protein ekspresyonları flow sitometri yöntemi ile belirlenmiştir.¹³² Zhu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hücre serilerinde İkaros (IKZF1) ve Aiolos (IKZF3) gen ekspresyon düzeyi değişik

malignitelerle karşılaştırılmış olup daha çok multipl miyelomu da içeren hematolojik malignitelerde daha yüksek saptanmıştır.¹³³

Çalışmamıza katılan multipl miyelom hastalarının serum İkaros medyan değeri olan 17,98 pg/ml sınır değer olarak alınarak sağkalım analizi yapıldı ve bunun sonucunda serum İkaros değeri 17,98 pg/ml'den yüksek olanların sağkalımının daha iyi olduğu görüldü (**p=0,04**). Serum İkaros seviyesi 17,98 pg/ml'den düşük olanların 2 yıllık tam sağ kalımı %60 iken serum İkaros seviyesi 17,98 pg/ml'den yüksek olanların 2 yıllık tam sağkalımı %84 bulunmuştur. Çalışmamızın sonucuna göre serum İkaros seviyesi yüksekliği multipl miyelom için sağkalım açısından olumlu prognostik faktördür. Bunun sebebinin de hastaların lenalidomid gibi immünmodülatör ajanlarla tedavi edilmiş olması olabileceği kanaatindeyiz. Bolomsky ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kemik iliği mikroçevresindeki hücrelerde IKZF1 ekspresyonu yüksek olan hastaların daha iyi ortalama tam sağkalıma sahip olduğu vurgulanmıştır. Çalışmada tüm hastalara lenalidomid-deksametazon tedavisi uygulanmıştır.¹³² Zhu ve arkadaşlarının çalışmasında IKZF1 ekspresyonunun İMİD tedavisi sonrası tam sağkalımı olumlu etkilediği görülmüştür. IKZF1 ekspresyon düzeyi multipl miyelom hastalarının medyan değeri sınır değer olarak alındığında düşük olan hastaların medyan tam sağkalımı 7,3 ay olup daha yüksek olanların medyan tam sağ kalım süresi 27,2 ay tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (**p=0,04**). Aynı zamanda Zhu ve arkadaşlarının çalışmasında düşük IKZF1 düzeyi olan hastaların daha kısa ortalama progresyonsuz sağkalıma sahip olup (4,9 ay) yüksek olanların daha uzun ortalama progresyonsuz sağkalıma (7,3 ay) sahip olduğu görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.¹³³ Bizim çalışmamızda da multipl miyelom hastalarının medyan İkaros değeri 17,98 pg/ml sınır değer olarak alındığında iki grup arasında progresyonsuz sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (**p=0,692**). Bizim çalışmamızda serum İkaros protein düzeyine Elisa yöntemi ile bakılmış olup Zhu ve arkadaşlarının çalışmasında İkaros (IKZF1) gen ekspresyon düzeyi Flow sitometri ve Western Blot analizi ile bakılmıştır.

Bizim çalışmamızda 17 hasta relaps veya refrakter hastalık nedeniyle birinci basamak tedavi sonrası lenalidomid tedavisi aldı. 6 hasta olog kemik iliği nakli sonrası idame lenalidomid tedavisi aldı. Lenalidomid tedavisi verilen hastalardan serum İkaros düzeyi 17,98 pg/ml'den düşük olanların % 63,6'sı, serum İkaros düzeyi 17,98 pg/ml'den yüksek olanların %83,3'ü tedaviye yanıt vermiştir. Zhu ve arkadaşlarının çalışmasına toplam 70

relaps/refrakter multipl miyelom hastası dahil edilmiştir. Bunların yarısına 28 günde bir 2 mg/gün pomalidomid ve haftalık 40 mg deksametazon diğer yarısına 28 günde bir 4 mg/gün pomalidomid ve haftalık 40 mg deksametazon vermişlerdir. Bu 70 hastanın 44'ünde tedavi öncesi gen ekspresyon profili başarılı bir şekilde analiz edilmiştir. Yaptıkları çalışmada düşük IKZF1 gen ekspresyonu olan hastaların pomalidomid ve deksametazon tedavisine daha az yanıt verdikleri görülmüştür. Aynı zamanda proteomik analiz yapılarak miyelom hücre serilerinde lenalidomidin etkisini değerlendirmişlerdir. Lenalidomid tedavisinden 3 saat sonra IKZF1 ve IKZF3'ün CRBN (cereblon) molekülüne bağlandığını ve bunun sonucunda IKZF1 ve IKZF3'ün hızlı bir şekilde yıkıma uğradığı görülmüştür. Western blot yöntemi ile de lenalidomid tedavisine yanıt veren multipl miyelom serilerinde IKZF1 düzeyi yeterli miktarda saptanmış olup, düşük IKZF1 düzeyi olanlarda tedaviye direnç geliştiği görülmüştür. IKZF1 düzeyi düşüklüğünü açıklamak için 69 multipl miyelom hücre serisinde IKZF1/3 mutasyon analizi yapmışlardır. 69 multipl miyelom hücre serisinden 6'sında mutasyon tespit edilmiştir ve bunların İMİD tedavisine dirençli düşük IKZF1 düzeyi ile karakterize olduğu görülmüştür.¹³³ İto ve arkadaşlarının hayvan modellerinde yaptığı deneylerde talidomidin teratojenitesi için ilacın CRBN molekülüne bağlanması gerektiği ileri sürülmüştür.¹²⁸ Daha sonraki çalışmalar da göstermiştir ki cereblon, İMİD'lerin ortak hedefi olup bunların etkileşimi ile multipl miyelom hücrelerin proliferasyonunun inhibisyonu ve T hücrelerinden IL-2 salınımı gerçekleşir. İMİD'lerin CRBN'ye bağlanması CRBN molekülünün çinko parmak protein ailesi üyeleri olan İkaros (IKZF1) ve Aiolos (IKZF3) transkripsiyon faktörlerine olan affinitesini artırır. Bunun sonucunda İkaros ve Aiolos proteinleri CRBN-CRL4 E3 ligaz ile hızlı bir şekilde ubiquitine edilerek proteozomal yıkıma uğrar.⁷

Çalışmamızda yer alan hastaların %89,5'i aynı zamanda birinci sıra tedavi olarak bortezomib bazlı tedavi almış olup, bunların da %41,2'si ikinci sıra tedavi olarak lenalidomid bazlı tedavi almıştır. Bolomsky ve arkadaşlarının çalışmasında sadece lenalidomid bazlı tedavi alanlar çalışmaya dahil edilmiştir.¹³² Zhu ve arkadaşlarının çalışmasında IKZF1 ekspresyonu düşük olan bortezomib tedavisi alan hastaların ortalama tam sağkalımı pomalidomid alanlara göre daha iyi olduğu görülmüştür. Aynı zamanda lenalidomide dirençli olan IKZF1 ekspresyonu düşük olan hastaların bortezomibe yanıtlı oldukları da saptanmıştır.¹³³ Bizim çalışmamızda da serum İkaros düzeyi 17,98 pg/ml'den düşük olanların % 88,9'u ve serum İkaros düzeyi 17,98 pg/ml'den yüksek olanların

%90,5'i bortezomib tedavisine yanıt vermiştir. Ancak bizim çalışmamızda sadece tanı anında tedavi öncesi serum İkaros değerlerine bakılmış olup Zhu ve arkadaşlarının çalışmasında hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrası IKZF1 gen ekspresyonlarına bakılmıştır. Zhu ve arkadaşlarının çalışmasında IKZF1 gen ekspresyonu düzeyi düşük olan hastaların İMİD tedavisi sonucunda kötü prognoz ve daha kısa ortalama tam sağkalıma sahip olduğu gösterilmiştir.¹³³ Bunların sonucunda sadece İkaros ekspresyonu yüksek olan immün hücrelere sahip olan hastaların lenalidomid-deksametazon bazlı terapilerden daha iyi fayda gördükleri anlamı çıkabilmektedir.

Çalışmamıza katılan hastalarda serum kreatinin düzeyi 2 mg/dl'nin altında olanların serum medyan İkaros değeri kreatinin düzeyi 2 mg/dl ve üstünde olanlara göre daha yüksektir. Kreatinin düzeyi 2 mg/dl'nin altında olanların serum medyan İkaros değeri 21,76 (8,04-259,53) pg/ml olup kreatinin düzeyi 2 mg/dl ve üstünde olanların serum medyan İkaros değeri 11,12 (5,91-215,61) pg/ml saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (**p=0,004**). Ayrıca serum İkaros düzeyi 17,98 pg/ml'den düşük olanların % 86,7'sinin kreatinin düzeyleri 2 mg/dl ve üstünde olup İkaros düzeyi 17,98 pg/ml'den yüksek olanların %13,3'ünün kreatinin düzeyi 2 mg/dl'nin altında saptandı ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (**p=0,028**). Kreatinin düzeyi artışı multipl miyelomda kötü prognoz göstergesi olup aynı zamanda multipl miyelom evrelemesinde de kullanılmaktadır.^{10,44} İkaros seviyesi ile kreatinin seviyesi arasında tespit edilen ilişki, böbrek yetmezliği olan MM hastalarında İkaros seviyesinin daha düşük olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda β 2 mikroglobulin düzeyleri İkaros düzeyi düşük olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (**p=0,018**). İkaros düzeyi ile β 2 mikroglobulin düzeyleri arasındaki ilişkiyi gösteren literatürde başka bir çalışma bulunamamıştır. β 2 mikroglobulin düzeyi artışı multipl miyelomda kötü prognozu göstermekte olup bizim çalışmamızda da serum İkaros düzeyi düşük olanların prognozu daha kötüdür.^{58,65}

Çalışmaya katılan hastaların Ig tipi ile ortalama İkaros protein seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı (**p=0,04**). IgG tipi multipl miyelom hastalarının serum İkaros seviyeleri diğer gruptakilere göre daha yüksek bulundu. Ayrıca ağır zincir MM hastaları ile hafif zincir MM hastaları arasında serum İkaros düzeyi istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu (**p=0,008**). Ağır zincir tipi MM hastalarının medyan serum İkaros değeri 27,27 (8,52-259,53) pg/ml saptanıp hafif zincir tipi MM hastalarının medyan İkaros

değeri 13,37 (5,91-215,61) pg/ml saptandı. Ağır zincir tipi MM hastalarının serum İkaros değeri daha yüksek saptanmıştır. Hafif zincir tipi multipl miyelomun prognozu ağır zincire göre daha kötüdür.¹³⁴

Çalışmamızda yer alan hastaların 13q delesyonu pozitif olanların serum İkaros medyan değeri 81,67 pg/ml saptanmış olup 13q delesyonu negatif olanların ise serum İkaros medyan değeri 17,98 pg/ml saptandı. 13q delesyonu ile serum İkaros seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu (**p=0,04**). 13q delesyonu olan hastalar bortezomib tedavisinden fayda görmekte-dirler ve 13q delesyonu olan hastaların bortezomib tedavisi ile prognozu 13q delesyonu olmayanlara göre daha iyidir.¹³⁵ Bizim çalışmamızda da hastaların %89,5'i birinci sıra tedavi olarak bortezomib bazlı tedaviler almıştır.

İkaros düzeyinin immünmodülatör tedaviler için potansiyel bir prognostik faktör olabileceği ancak hasta sayısının az olması, hastaların daha önce bortezomib bazlı tedavi almış olması ve sadece tanı anında tedavi öncesi serum İkaros seviyesine bakılmış olması çalışmanın kısıtlayıcı faktörleridir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak MM hastalarında serum İkaros seviyesinin prognostik önemini gösteren ilk çalışma olan bu çalışmamızda multipl miyelom hasta grubunun serum İkaros seviyeleri sağlıklı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca MM hastalarımızda serum İkaros seviyesinin medyan değeri olan 17,98 pg/ml sınır değer olarak alındığında serum İkaros düzeyi yüksek olan hastaların tam sağkalımının düşük olanlara göre daha iyi olduğu saptandı. Serum İkaros seviyesi düşük olan hastalarda MM'da kötü prognostik faktör kabul edilen kreatinin yüksekliği ve β 2 mikroglobulin yüksekliği daha sık görülmekte idi. Çalışmaya katılan hastalarımızdan serum İkaros düzeyi daha yüksek olanların lenalidomid bazlı tedavilere daha iyi yanıt verdiği görüldü ve bortezomib bazlı tedavi yanıtı açısından serum İkaros seviyesinin etken olmadığı görüldü. Buna göre serum İkaros düzeyi hastaların immünmodülatör bazlı tedavi seçiminde önemli bir biyobelirteç olabilir. Ancak bunun kanıtlanması ve klinik uygulamalara geçebilmesi için daha fazla sayıda hasta içeren başka prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

Giriş: Multipl miyelom (MM), malign klonal plazma hücrelerinin kemik iliği ve/veya ekstremiteler bölgelerinde proliferasyonu ile karakterize bir hematolojik hastalıktır. Multipl miyelom tedavisinde immünmodülatör ajanlar (IMiD) ve yeni nesil ilaçların geliştirilmesiyle terapötik yanıt ve sağkalım oranları artmıştır.

İkaros (IKZF1), lenfoid ve miyeloid hücrelerin gelişimi ve farklılaşmasından sorumlu olan çinko-parmak ailesine ait bir transkripsiyon faktörüdür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda İkaros (IKZF1) ve yine çinko-parmak proteini ailesine ait olan Aiolos (IKZF3)'un CRBN-ubikitin ligazın substratı olduğu ve immünmodülatör ilaçlarla bunların CRBN'ye bağlanıp proteozomal yıkıma uğradığı ve bunun sonucu olarak multipl miyelom hücrelerinin çoğalmasının engellendiğini gösterilmiştir. Aynı zamanda bu transkripsiyon faktörleri B hücre gelişimi, aktivasyonu ve farklılaşmasında rol oynar. İn vitro yapılan çalışmalarda İkaros ve Aiolos'un multipl miyelom hücrelerinin proliferasyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir. İkaros ve Aiolos'un yıkımı ile multipl miyelom hücrelerinin sağkalımı için gerekli olan IRF4 ve c-myc ekspresyonunun da azaldığı ve sonuç olarak miyelom hücrelerinin çoğalmasının engellendiği görülmüştür. Lenalidomid gibi immünmodülatör ilaçlar, IKZF1 ve IKZF3'ü CRBN-CRL4 E3 ligaz aracılığı ile ubiquitinasyonu sağlayarak proteozomal yıkıma uğratır.

Literatürde MM hastalarında serum İkaros seviyelerinin prognostik önemini gösteren bir çalışma yoktur. Bu çalışmada yeni tanı multipl miyelom hastalarının serum İkaros seviyelerini belirlemeyi, sağlıklı popülasyonla karşılaştırmayı ve tedavi yanıtı ve sağkalım üzerine etkisini belirlemeyi hedefledik.

Yöntemler: Çalışmaya Haziran 2013 ve Eylül 2016 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Erişkin Hematoloji Polikliniği'nde multipl miyelom tanısı konan 57 olgu (22 kadın, 35 erkek) ve 23 sağlıklı birey (12 kadın, 11 erkek) dahil edildi. Serum İkaros (IKZF1) proteini seviyesi ölçümü için Elisa yöntemi kullanıldı.

Bulgular: Yeni tanı multipl miyelom hastalarında kontrol grubuna göre serum İkaros seviyesi anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,001$). Çalışmaya katılan hastalardan serum İkaros düzeyi yüksek olan hastaların tam sağkalımının düşük olanlara göre daha iyi olduğu saptandı ($p=0,04$). Çalışmaya katılan hastalarda serum kreatinin düzeyi 2 mg/dl'nin altında

olanların serum medyan İkaros değeri kreatinin düzeyi 2 mg/dl ve üstünde olanlara göre anlamlı olarak daha yüksek saptandı (**p=0,004**). IgG tipi MM hastalarının serum İkaros seviyeleri diğer gruptakilere göre daha yüksek tespit edildi (**p=0,04**). Ayrıca ağır zincir tipi MM olan hastaların serum İkaros medyan değeri hafif zincir tipi MM olanlara göre daha yüksek saptandı (**p=0,008**). 13q delesyonu olan hastaların serum İkaros medyan değeri 13q delesyonu olmayanlara göre daha yüksek saptandı (**p=0,04**). Çalışmamızda β 2 mikroglobulin düzeyleri İkaros düzeyi medyan değer olan 17,98 pg/ml'den düşük olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek tespit edildi (**p=0,018**).

Sonuç: Multipl miyelom remisyon ve relapslarla giden genellikle tam kür sağlanamayan bir plazma hücre hastalığıdır. Dolayısıyla hastaların tedavisi çok iyi planlanmalıdır. Yeni geliştirilen proteozom inhibitörleri ve immünmodülatör ilaçlar hastalık sağkalımını olumlu yönde etkilemiştir. Ancak zaman içinde gelişen ilaç direnci ve hastalık tekrarı hala önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu yüzden hangi hastaya hangi tedavinin daha uygun olabileceğine yönelik biyolojik belirteç arayışı devam etmektedir. İkaros ekspresyonu yüksek olan hastaların immünmodülatör ilaçlara daha iyi yanıt verdikleri, düşük olanların daha az yanıt verdiklerini gösteren çalışmalar vardır. Bizim çalışmamızda da serum İkaros düzeyi daha düşük olan hastaların MM açısından önemli kötü prognostik belirteçler olarak kabul edilen prognostik faktörleri taşıdıkları, sağkalımlarının daha kötü olduğunu ve lenalidomid tedavisine daha az yanıt verdiklerini gördük. Buna göre serum İkaros düzeyi hastaların immünmodülatör bazlı tedavi seçiminde önemli bir biyobelirteç olabilir. Ancak bunun kanıtlanması ve klinik uygulamalara geçebilmesi için daha fazla sayıda hasta içeren başka prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: İkaros, multipl miyelom, immünmodülatör ilaçlar, lenalidomid

8. ABSTRACT

Multiple myeloma (MM) is a hematologic disorder which is characterized by a proliferation of malignant, monoclonal plasma cells in bone marrow and/or extramedullary sites. The introduction of novel drugs and immunomodulatory drugs (IMiDs) has improved responses and prolonged patient survival in multiple myeloma.

Ikaros (IKZF1) is the member of a family of zinc finger transcription factors which is required for differentiation and proliferation of lymphoid and myeloid cells during early hematopoiesis. Recent studies have shown that Ikaros (IKZF1) and one of the other member of zinc-finger protein family which is known as Aiolos (IKZF3) are substrates of CRBN ubiquitin ligase. IMiDs cause increased binding of IKZF1 and IKZF3 to CRBN and promotes their ubiquitination and degradation. Degradation of Ikaros and Aiolos induces inhibition of proliferation in multiple myeloma cells. Both of these transcriptional factors are essential in B cell development, activation and differentiation. Ikaros and Aiolos are also essential for the proliferation of MM lines in vitro. Proteasomal degradation of Ikaros and Aiolos causes to downregulation of IRF4 and c-myc which are essential transcription factors for the survival of multiple myeloma cells. IMiDs such as lenalidomid, induce the ubiquitination of IKZF1 and IKZF3 by CRBN-CRL4 E3 ubiquitin ligase. In this study, we searched for the serum Ikaros protein levels in newly diagnosed multiple myeloma patients and healthy controls. Our aim was to demonstrate the prognostic role of serum Ikaros protein levels in newly diagnosed multiple myeloma patients in terms of survival and response to therapy. There are no other studies concerning the serum Ikaros levels in MM patients

Method: 57 newly diagnosed multiple myeloma patients (22 female, 35 male) who were diagnosed in Kocaeli University Hospital Hematology Department and 23 healthy controls (12 female, 11 male) were included in this study. Serum Ikaros protein levels were measured by Elisa method.

Results: Serum Ikaros levels of newly diagnosed multiple myeloma patients were higher than healthy controls ($p=0,001$). Patients who had high serum Ikaros protein levels also had much better OS than patients which had low serum Ikaros protein levels ($p=0,04$). Serum Ikaros levels of patients whose serum creatinine levels were less than 2 mg/dl were

higher than patients whose serum creatinine levels were more than 2 mg/dl ($p=0,004$). Serum İkaros protein levels were higher in patients having IgG subtype MM ($p=0,04$). Moreover heavy chain type MM patients had higher serum İkaros protein levels than light chain MM patients ($p=0,008$). Serum İkaros protein levels were higher in patients which have 13q deletions compare than patients without 13q deletions ($p=0,04$). In our study patients whose serum İkaros protein levels were lower than 17,98 pg/ml were characterized with higher $\beta 2$ microglobulin levels ($p=0,018$).

Conclusion: Multiple myeloma is a disease which is characterized with relapses and remissions and is still incurable. So to make a decision about the treatment is very important. The introduction of novel drugs and immunomodulatory drugs (IMiDs) has improved responses and prolonged patient survival in multiple myeloma. But the relapses and refractory diseases are still an important problem in multiple myeloma. So identifying a biological marker about a treatment modality is extremely important. Recent studies suggest that patients with high İkaros expression have better response to IMiDs than patients with low İkaros expression but in all of these studies the methods of İkaros expression were very time-consuming and expensive. In this study for the first time we demonstrated the prognostic role of serum İkaros levels in terms of both survival and response to treatment with ELISA which is a quite inexpensive and easy method. We found that patients with low serum İkaros protein levels had poor prognostic factors, short survival and worse response to IMiDs. So that serum İkaros protein levels might be a candidate surrogate marker for personalized treatment decision with IMiD-based therapies. However more prospective studies enrolling higher numbers of patients are needed.

Key Words: İkaros, multiple myeloma, immunomodulatory drugs, lenalidomid

9.EKLER

1.EK

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU: (Hasta grubu)

Çalışmanın adı: Yeni tanı multipl miyelom hastalarında serum İkaros protein seviyesinin belirlenmesi ve prognostik önemi

Araştırmacıların adları, kurumları ve iletişim numaraları. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.B.D da uzmanlık tezi olarak Doç. Dr. Elif Birtaş ATEŞOĞLU danışmanlığında yürütülmektedir.

Doç.Dr. Elif BİRTAŞ ATEŞOĞLU ,Kocaeli Üniv. Tıp Fak. Hematoloji A.B.D

Dr. Nuriye YILDIZ ,Kocaeli Üniv.Tıp Fak. İç Hastalıkları A.B.D

Araştırma amacının anlaşılır ve özet açıklaması:

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir. Lütfen biraz zaman ayırın ve aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun, isterseniz başkalarıyla tartışın. Açık olmayan bir bölüm varsa ya da daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız lütfen bizi arayın. Ancak araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

Araştırmanın amacı yeni tanı konan multipl miyelom hastalarında serum İKAROS seviyesinin belirlenmesi ve prognozla ilişkisinin araştırılmasıdır.

Neden ben seçildim? Yeni tanı daha önce kemoterapi veya radyoterapi almamış multipl miyelom hastası olduğunuz için (hasta grubu)

Araştırmaya katılmak / bir kez katıldıktan sonra sonuna kadar devam etmek zorunda mıyım?

Çalışma gönüllülük esasına bağlı olarak yürütülecektir ve tek görüşme yeterlidir. Tekrar gelmeniz gerekmemektedir. Çalışmaya katılıp katılmamanız tedavinizi yahut sağlık durumunuzu etkilemez. Araştırmaya katıldıktan sonra istediğiniz araştırmadan çekilme hakkına sahipsiniz. Veriler tek kişide toplanacak ve bireylere birer numara verilecek.Verilerin üstünde bireyin ismi değil o kişiye verilen numara yazacak. Bütün veriler araştırmacıda saklanacaktır.

Katılmayı kabul edersem bana ne yapılacak?Bir defaya mahsus 3 ml kan alınacaktır.

Araştırmaya katılmanın olası dezavantajları ve riskleri nelerdir? Çalışmaya katılmanızın herhangi bir risk yahut dezavantajı yoktur.

Araştırmaya katılmanın olası yararları nelerdir? *Araştırmaya katılmanın size hemen dönecek bir faydası bulunmamakla beraber, araştırma sonuçlarımızın gelecekteki hastalara, kuruma, topluma veya bilime multipl miyelom hastalığının prognozunu etkileyecek faktörlerin tespit edilmesi umulmaktadır.*

Araştırma masrafları: Araştırmaya katılanlara herhangi bir maddi yük yüklenmemektedir.

Araştırmada ters giden bir şey olursa? Çalışmada hiçbir şekilde durumunuzun kötüye gitmesine neden olacak herhangi girişim, işlem, tedavi yapılmayacaktır. Çalışmamıza dahil olmak size ek bir olumsuzluk yaratamayacaktır.

Kimlik bilgilerim ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak? Veriler tek kişide toplanacak ve bireylere birer numara verilecek. Verilerin üstünde bireyin ismi değil o kişiye verilen numara yazacak. Bütün veriler araştırmacıda saklanacaktır.

Araştırma sonunda bana bilgi verilecek mi? Araştırma sırasında ve sonunda elde edilen bilgiler isteğiniz halinde sizinle paylaşılacaktır.

Araştırma sonuçlarına ne olacak? Sonuçlar akademik bir yazı olarak akademik çevrelerle paylaşılacaktır.

Daha ayrıntılı bilgi için,

Dr. Nuriye YILDIZ [_Kocaeli Ünv. Tıp Fak. İç Hastalıkları A.B.D](#)

Çalışmaya katıldığınız için teşekkür ederim.

İAEK onayı: 22.06.2016 tarihinde İAEK tarafından 2016/167 proje numarasıyla onaylanmıştır.

Araştırmaya katılımınızla ilgili herhangi bir şikâyetiniz varsa Kurula Etik Kurul raportörü Yrd. Doç. Dr. Aslıhan Akpınar (Tel: 02623037450) vasıtasıyla ulaşabilirsiniz. Her tür şikâyetiniz gizlilikle değerlendirilecek, araştırılacak ve sonuç hakkında tarafınıza bilgi verilecektir.

2.EK

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU: (Sağlıklı kontrol grubu)

Çalışmanın adı: Yeni tanı multipl miyelom hastalarında serum İkaros protein seviyesinin belirlenmesi ve prognostik önemi

Araştırmacıların adları, kurumları ve iletişim numaraları. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.B.D da uzmanlık tezi olarak Doç. Dr. Elif Birtaş ATEŞOĞLU danışmanlığında yürütülmektedir.

Doç.Dr. Elif BİRTAŞ ATEŞOĞLU ,Kocaeli Üniv. Tıp Fak. Hematoloji A.B.D

Dr. Nuriye YILDIZ ,Kocaeli Üniv.Tıp Fak. İç Hastalıkları A.B.D

Araştırma amacının anlaşılır ve özet açıklaması:

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir. Lütfen biraz zaman ayırın ve aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun, isterseniz başkalarıyla tartışın. Açık olmayan bir bölüm varsa ya da daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız lütfen bizi arayın. Ancak araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

Araştırmanın amacı yeni tanı konan multipl miyelom hastalarında serum İKAROS seviyesinin belirlenmesi ve prognozla ilişkisinin araştırılmasıdır.

Neden ben seçildim? Herhangi solid/hematolojik kanser ve sistemik hastalığınız olmadığı için

Araştırmaya katılmak / bir kez katıldıktan sonra sonuna kadar devam etmek zorunda mıyım?

Çalışma gönüllülük esasına bağlı olarak yürütülecektir ve tek görüşme yeterlidir. Tekrar gelmeniz gerekmemektedir. Çalışmaya katılıp katılmamanız tedavinizi yahut sağlık durumunuzu etkilemez. Araştırmaya katıldıktan sonra istediğiniz araştırmadan çekilme hakkına sahipsiniz. Veriler tek kişide toplanacak ve bireylere birer numara verilecek.Verilerin üstünde bireyin ismi değil o kişiye verilen numara yazacak. Bütün veriler araştırmacıda saklanacaktır.

Katılmayı kabul edersem bana ne yapılacak?Bir defaya mahsus 3 ml kan alınacaktır.

Araştırmaya katılmanın olası dezavantajları ve riskleri nelerdir? Çalışmaya katılmanızın herhangi bir risk yahut dezavantajı yoktur.

Araştırmaya katılmanın olası yararları nelerdir?

Araştırmaya katılmanın size hemen dönecek bir faydası bulunmamakla beraber, araştırma sonuçlarımızın gelecekteki hastalara, kuruma, topluma veya bilime multipl miyelom hastalığının prognozunu etkileyecek faktörlerin tespit edilmesi umulmaktadır.

Araştırma masrafları: Araştırmaya katılanlara herhangi bir maddi yük yüklenmemektedir.

Araştırmada ters giden bir şey olursa? Çalışmada hiçbir şekilde durumunuzun kötüye gitmesine neden olacak herhangi girişim, işlem, tedavi yapılmayacaktır. Çalışmamıza dahil olmak size ek bir olumsuzluk yaratamayacaktır.

Kimlik bilgilerim ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak? Veriler tek kişide toplanacak ve bireylere birer numara verilecek. Verilerin üstünde bireyin ismi değil o kişiye verilen numara yazacak. Bütün veriler araştırmacıda saklanacaktır.

Araştırma sonunda bana bilgi verilecek mi? Araştırma sırasında ve sonunda elde edilen bilgiler isteğiniz halinde sizinle paylaşılacaktır.

Araştırma sonuçlarına ne olacak? Sonuçlar akademik bir yazı olarak akademik çevrelerle paylaşılacaktır.

Daha ayrıntılı bilgi için,

Dr. Nuriye YILDIZ [_Kocaeli Üniv. Tıp Fak. İç Hastalıkları A.B.D](#)

Çalışmaya katıldığınız için teşekkür ederim.

İAEK onayı: 22.06.2016 tarihinde İAEK tarafından 2016/167 proje numarasıyla onaylanmıştır.

Araştırmaya katılımınızla ilgili herhangi bir şikâyetiniz varsa Kurula Etik Kurul raportörü Yrd. Doç. Dr. Aslıhan Akpınar (Tel: 02623037450) vasıtasıyla ulaşabilirsiniz. Her tür şikâyetiniz gizlilikle değerlendirilecek, araştırılacak ve sonuç hakkında tarafınıza bilgi verilecektir.

3. EK

ONAM FORMU

1. Araştırmanın Adı: Yeni tanı multipl miyelom hastalarında serum İKAROS protein seviyesinin belirlenmesi ve prognostik önemi

	Evet	Hayır
Gönüllü Bilgilendirme Formunu okudunuz mu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma projesi size sözlü olarak da anlatıldı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Size araştırmayla ilgili soru sorma, tartışma fırsatı tanındı mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sorduğunuz tüm sorulara tatmin edici yanıtlar alabildiniz mi?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma hakkında yeterli bilgi aldınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Herhangi bir zamanda herhangi bir nedenle ya da neden göstermeksizin araştırmadan çekilme hakkına sahip olduğunuzu anladınız mı?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırma sonuçlarının uygun bir yolla yayınlanacağına katılıyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Araştırmada elde edilen biyolojik örneklerin madde 6'da belirtilen şartlarda gelecekte de kullanılmasına onay veriyor musunuz?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Yukarıdaki soruların yanıtları size kim tarafından açıklandı?		
Gönüllü	Araştırmacı	
İmza:	İmza:	
Tarih:	Tarih:	

10. KAYNAKÇA

1. Chng, W. J. *et al.* IMWG consensus on risk stratification in multiple myeloma. *Leukemia* **28**, (2014).
2. Angtuaco, E. J. C., Fassas, A. B. T., Walker, R. & Sethi, R. Radiology Multiple Myeloma : Clinical. *Radiology* **231**, 11–23 (2004).
3. Sirohi, B. & Powles, R. Multiple Myeloma. *Lancet* **363**, 875–87 (2004).
4. Kyle, R. A. *et al.* Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin. Proc.* **78**, 21–33 (2003).
5. Bianchi, G. & Anderson, K. C. Understanding Biology to Tackle the Disease: Multiple Myeloma From Bench to Bedside, and Back. *Ca Cancer J Clin* **64**, 423–444 (2014).
6. Rajkumar, S. V. & Kumar, S. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin. Proc.* **91**, 101–119 (2016).
7. Kronke, J., Hurst, S. N. & Ebert, B. L. Lenalidomide induces degradation of IKZF1 and IKZF3. *Oncoimmunology* **3**, e941742 (2014).
8. Davis, K. L. Ikaros: master of hematopoiesis, agent of leukemia. *Ther. Adv. Hematol.* **2**, 359–368 (2011).
9. Olsson, L. & Johansson, B. Ikaros and leukaemia. *Br. J. Haematol.* **169**, 479–491 (2015).
10. Kyle, R. A. & Rajkumar, S. V. Multiple Myeloma. *N. Engl. J. Med.* **351**, 1860–1873 (2004).
11. Ander, K. Targeted therapy of multiple myeloma based upon tumor microenvironmental interactions. *Exp Hematol* **35**, 155–162 (2007).
12. Catley, L., Tai, Y., Chouhan, D. & Anderson, K. Perspectives for combination therapy to overcome drug resistant multiple myeloma. *Drug Resist Updat.* **8**, 205–218 (2005).
13. Kyle, R. A. & Steensma, D. P. History of multiple myeloma. *Recent results cancer Res. Fortschritte der Krebsforsch. Prog. dans les Rech. sur le cancer* **183**, 3–23 (2011).
14. Jiegel, R., Miller, K. & Jemal, A. Cancer Statistics. *Cancer J Clin.* **65**, 5 (2015).
15. Smith, A., Howell, D. & Patmore, R. Incidence of hematological malignancy by

- subtype. *Br J Cancer* **105**, 1684 (2011).
16. Landgren, O. *et al.* Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: A prospective study. *Blood* **113**, 5412–5417 (2009).
 17. Fairfield, H., Falank, C., Avery, L. & Reagan, M. R. Multiple myeloma in the marrow: Pathogenesis and treatments. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1364**, 32–51 (2016).
 18. Fonseca, R. & San Miguel, J. Prognostic Factors and Staging in Multiple Myeloma. *Hematology/Oncology Clinics of North America* **21**, 1115–1140 (2007).
 19. Chng, W. J. *et al.* Prognostic factors for hyperdiploid-myeloma: effects of chromosome 13 deletions and IgH translocations. *Leukemia* **20**, 807–13 (2006).
 20. Furukawa, Y. & Kikuchi, J. Molecular pathogenesis of multiple myeloma. *International Journal of Clinical Oncology* **20**, 413–422 (2015).
 21. Bergsagel, P. L. *et al.* Decoding the pathophysiology and the genetics of multiple myeloma to identify new therapeutic targets. *J. Clin. Oncol.* **23**, 2997 (2013).
 22. Chng, W. J. & Fonseca, R. Centrosomes and myeloma; aneuploidy and proliferation. *Environmental and Molecular Mutagenesis* **50**, 697–707 (2009).
 23. Pawlyn, C. *et al.* Coexistent hyperdiploidy does not abrogate poor prognosis in myeloma with adverse cytogenetics and may precede IGH translocations. *Blood* **125**, 831–840 (2015).
 24. Alexander, D. D. *et al.* Multiple myeloma: A review of the epidemiologic literature. *International Journal of Cancer* **120**, 40–61 (2007).
 25. Walker, B. A. *et al.* A compendium of myeloma-associated chromosomal copy number abnormalities and their prognostic value. *Blood* **116**, (2010).
 26. Hideshima, T., Bergsagel, P. L., Kuehl, W. M. & Anderson, K. C. Advances in biology of multiple myeloma: Clinical applications. *Blood* **104**, 607–618 (2004).
 27. Kuehl, W. M. & Bergsagel, P. L. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. *Nat. Rev. Cancer* **2**, 175–187 (2002).
 28. Cherng N. R.; Kuebler, J. P.; Lee, E. T.; Solanki, D., N. C. . A. PROGNOSTIC FACTORS IN MULTIPLE-MYELOMA. *Cancer* **67**, 3150–3156 (1991).
 29. Chng, W. J., Glebov, O., Bergsagel, P. L. & Kuehl, W. M. Genetic events in the pathogenesis of multiple myeloma. *Best Practice and Research: Clinical Haematology* **20**, 571–596 (2007).

30. Pratt, G. Molecular aspects of multiple myeloma. *Mol. Pathol.* **55**, 273–83 (2002).
31. Bommert, K., Bargou, R. C. & Stühmer, T. Signalling and survival pathways in multiple myeloma. *Eur. J. Cancer* **42**, 1574–1580 (2006).
32. Korde, N., Kristinsson, S. Y. & Landgren, O. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering multiple myeloma (SMM): Novel biological insights and development of early treatment strategies. *Blood* **117**, 5573–5581 (2011).
33. Ghobrial, I. M. Myeloma as a model for the process of metastasis: Implications for therapy. *Blood* **120**, 20–30 (2012).
34. Kumar, S. *et al.* Expression of VEGF and its receptors by myeloma cells. *Leukemia* **17**, 2025–2031 (2003).
35. Radtke, F. & Raj, K. The role of Notch in tumorigenesis: oncogene or tumour suppressor? *Nat. Rev. Cancer* **3**, 756–767 (2003).
36. Chauhan, D. *et al.* Interleukin-6 inhibits Fas-induced apoptosis and stress-activated protein kinase activation in multiple myeloma cells. *Blood* **89**, 227–234 (1997).
37. Hideshima, T., Mitsiades, C., Tonon, G., Richardson, P. G. & Anderson, K. C. Understanding multiple myeloma pathogenesis in the bone marrow to identify new therapeutic targets. *Nat. Rev. Cancer* **7**, 585–598 (2007).
38. Giuliani, N., Storti, P., Bolzoni, M., Palma, B. D. & Bonomini, S. Angiogenesis and multiple myeloma. *Cancer Microenvironment* **4**, 325–337 (2011).
39. Bataille, R. *et al.* Mechanisms of bone destruction in multiple myeloma: the importance of an unbalanced process in determining the severity of lytic bone disease. *J. Clin. Oncol.* **7**, 1909–1914 (1989).
40. Giada, B. & Kenneth, C. A. Understanding biology to tackle the disease: Multiple myeloma from bench to bedside, and back. *CA. Cancer J. Clin.* **64**, 422–444 (2014).
41. Roodman, G. D. Pathogenesis of myeloma bone disease. *Journal of Cellular Biochemistry* **109**, 283–291 (2010).
42. Ehrlich, L. A. & Roodman, G. D. The role of immune cells and inflammatory cytokines in Paget’s disease and multiple myeloma. *Immunol. Rev.* **208**, 252–66 (2005).
43. Demchenko, Y. N. *et al.* Classical and/or alternative NF-kappaB pathway activation in multiple myeloma. *Blood* **115**, 3541–52 (2010).

44. Roccaro, A. M. *et al.* Stroma-derived exosomes mediate oncogenesis in multiple myeloma. *Blood* **118**, (2011).
45. Kyle, R. A. Multiple myeloma: review of 869 cases. *Mayo Clin. Proc.* **50**, 29–40 (1975).
46. Hutchison, C. A. *et al.* The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. *Nat Rev Nephrol* **8**, 43–51 (2011).
47. Winearls, C. G. Acute myeloma kidney. *Kidney Int.* **48**, 1347–1361 (1995).
48. Bladé, J. *et al.* Renal failure in multiple myeloma: presenting features and predictors of outcome in 94 patients from a single institution. *Arch. Intern. Med.* **158**, 1889–93 (1998).
49. Catovsky, D., Ikoku, N. B., Pitney, W. R. & Galton, D. a. Thromboembolic complications in myelomatosis. *Br. Med. J.* **3**, 438–439 (1970).
50. Fassas, A. B. T. *et al.* Myeloma of the central nervous system: Association with high-risk chromosomal abnormalities, plasmablastic morphology and extramedullary manifestations. *Br. J. Haematol.* **117**, 103–108 (2002).
51. Schluterman, K. O., Fassas, A. B.-T., Van Hemert, R. L. & Harik, S. I. Multiple myeloma invasion of the central nervous system. *Arch. Neurol.* **61**, 1423–1429 (2004).
52. Chamberlain, M. C. & Glantz, M. Myelomatous meningitis. *Cancer* **112**, 1562–1567 (2008).
53. Drayson, M. *et al.* Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* **97**, 2900–2902 (2001).
54. Singhal, S. *et al.* The relationship between the serum free light chain assay and serum immunofixation electrophoresis, and the definition of concordant and discordant free light chain ratios. *Blood* **114**, 38–39 (2009).
55. Katzmann, J. A., Abraham, R. S., Dispenzieri, A., Lust, J. a & Kyle, R. A. Diagnostic performance of quantitative kappa and lambda free light chain assays in clinical practice. *Clin. Chem.* **51**, 878–881 (2005).
56. Dimopoulos, M. A., Kastiris, E. & Terpos, E. Non-secretory myeloma: one, two, or more entities? *Oncology (Williston Park)*. **27**, 930–2 (2013).
57. Chawla, S. S. *et al.* Clinical course and prognosis of non-secretory multiple

- myeloma. *Eur. J. Haematol.* **95**, 57–64 (2015).
58. Larson, D. R., Kyle, R. A. & Rajkumar, S. V. Prevalance and monitoring of oligosecretory myeloma. *N. Engl. J. Med.* **367**, 580 (2012).
59. Hematolojiatlası.com.
60. Derneği, T. H. *Ulusal Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2016 Multipl Miyelom Tanı ve Tedavi.* (2016).
61. Rajkumar, S. V. *et al.* International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The Lancet Oncology* **15**, e538–e548 (2014).
62. Rajkumar, S. V. Myeloma today: Disease definitions and treatment advances. *Am. J. Hematol.* **91**, 90–100 (2016).
63. Kyrtsolis, M. C., Maltezas, D., Tzenou, T., Koulieris, E. & Bradwell, A. R. Staging Systems and Prognostic Factors as a Guide to Therapeutic Decisions in Multiple Myeloma. *Semin. Hematol.* **46**, 110–117 (2009).
64. Dispenzieri, A. *et al.* Absolute values of immunoglobulin free light chains are prognostic in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* **107**, 3378–3383 (2006).
65. Durie, B. *et al.* Prognostic value of pretreatment serum beta 2 microglobulin in myeloma: a Southwest Oncology Group Study. *Blood* **75**, 823–830 (1990).
66. Drewinko, B., Alexanian, R., Boyer, H., Barlogie, B. & Rubinow, S. I. The growth fraction of human myeloma cells. *Blood* **57**, 333–8 (1981).
67. Dimopoulos, M. A., Barlogie, B., Smith, T. L. & Alexanian, R. High serum lactate dehydrogenase level as a marker for drug resistance and short survival in multiple myeloma. *Ann. Intern. Med.* **115**, 931–5 (1991).
68. Sawyer, J. R., Waldron, J. a, Jagannath, S. & Barlogie, B. Cytogenetic findings in 200 patients with multiple myeloma. *Cancer Genet.* **82**, 41–49 (1995).
69. Tricot, G. *et al.* Poor prognosis in multiple myeloma is associated only with partial or complete deletions of chromosome 13 or abnormalities involving 11q and not with other karyotype abnormalities. *Blood* **86**, 4250–4256 (1995).
70. Ludwig, H. *et al.* Current multiple myeloma treatment strategies with novel agents: a European perspective. *Oncologist* **15**, 6–25 (2010).
71. Rajkumar S., S. V. . K. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin. Proc.* **91**, 101–119 (2016).

72. Mateos, M. V *et al.* BORTEZOMIB (VELCADE)-MELPHALAN-PREDNISON (VMP) VERSUS VELCADE-THALIDOMIDE-PREDNISON (VTP) IN ELDERLY UNTREATED MULTIPLE MYELOMA (MM) PATIENTS [Abstract No. 0471]. *Haematologica* **94**, 190 ST-BORTEZOMIB (VELCADE)-MELPHALAN-PREDNISON (2009).
73. Mikhael, J. R. *et al.* Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: Updated mayo stratification of myeloma and risk-adapted therapy (msmart) consensus guidelines 2013. *Mayo Clin. Proc.* **88**, (2013).
74. Ludwig, H. & Sonneveld, P. Disease control in patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma: what is the optimal duration of therapy? *Leuk. Res.* **36 Suppl 1**, S27-34 (2012).
75. Greer, J. P. *et al.* *Wintrobe's Clinical Hematology*. (Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams&Wilkins, 2014).
76. Teo, S. Properties of thalidomide and its analogues: implications for anticancer therapy. *AAPS J* **7**, 14–9 (2005).
77. Davies, F. E. *et al.* Thalidomide and immunomodulatory derivatives augment natural killer cell cytotoxicity in multiple myeloma. *Blood* **98**, 210–216 (2001).
78. Zhu, Y. X. *et al.* Cereblon expression is required for the antimyeloma activity of lenalidomide and pomalidomide. in *Blood* **118**, 4771–4779 (2011).
79. Sonneveld, P. & Broijl, A. Treatment of relapsed and refractory multiple myeloma. *Haematologica* **101**, 396–406 (2016).
80. Tosi, P. *et al.* Thalidomide alone or in combination with dexamethasone in patients with advanced, relapsed or refractory multiple myeloma and renal failure. *Eur. J. Haematol.* **73**, 98–103 (2004).
81. Singhal, S. *et al.* Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* **341**, 1565–1571 (1999).
82. Richardson, P. G. *et al.* Immunomodulatory drug CC-5013 overcomes drug resistance and is well tolerated in patients with relapsed multiple myeloma. *Blood* **100**, 3063–3067 (2002).
83. Schey, S. A. *et al.* Phase I study of an immunomodulatory thalidomide analog, CC-4047, in relapsed or refractory multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.* **22**, 3269–3276 (2004).

84. Dimopoulos, M. *et al.* Expert panel consensus statement on the optimal use of pomalidomide in relapsed and refractory multiple myeloma. *Leukemia* **28**, 1573–1585 (2014).
85. Rajkumar, S. V, Richardson, P. G., Hideshima, T. & Anderson, K. Proteasome inhibition as a novel therapeutic target in human cancer. *J. Clin. Oncol.* **23**, 630–9 (2005).
86. P, D. & Linder, S. Proteasome deubiquitinases as novel targets for cancer therapy. *Int. J. Biochem Cell Biol* **44**, 1729–38 (2012).
87. Richardson, P. G. *et al.* A Phase 2 Study of Bortezomib in Relapsed, Refractory Myeloma. *N. Engl. J. Med.* **348**, 2609–2617 (2003).
88. Siegel, D. S. *et al.* A phase 2 study of single-agent carfilzomib (PX-171-003-A1) in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood* **120**, 2817–2825 (2012).
89. Kane, R. C. *et al.* Bortezomib for the treatment of mantle cell lymphoma. *Clin. Cancer Res.* **13**, 5291–5294 (2007).
90. Richardson, P. G. *et al.* Extended follow-up of a phase 3 trial in relapsed multiple myeloma : final time-to-event results of the APEX trial Brief report Extended follow-up of a phase 3 trial in relapsed multiple myeloma : final time-to-event results of the APEX trial. *Group* **110**, 3557–3560 (2009).
91. KORTUEM, K., STEWART, K. Carfilzomib. *Blood* **121**, 893–897 (2013).
92. Rodon, P., Hulin, C. & Pegourie, B. Phase 2 study of bendamustine, bortezomib and dexamethasone as second-line treatment : the Intergroupe Francophone du Myelome 2009-01 trial. *Haematologica* **100**, 56–59 (2015).
93. Lentzsch, S. *et al.* Combination of bendamustine, lenalidomide, and dexamethasone (BLD) in patients with relapsed or refractory multiple myeloma is feasible and highly effective: Results of phase 1/2 open-label, dose escalation study. *Blood* **119**, 4608–4613 (2012).
94. Averbuch, S. D. New bisphosphonates in the treatment of bone metastases. *Cancer* **72**, 3443–3452 (1993).
95. Georgopoulos, K., Moore, D. D. & Derfler, B. Ikaros, an early lymphoid-specific transcription factor and a putative mediator for T cell commitment. *Science* **258**, 808–12 (1992).

96. Yoshida, T. & Georgopoulos, K. Ikaros fingers on lymphocyte differentiation. *International journal of hematology* **100**, 220–229 (2014).
97. Finerty, P. J. & Bass, B. L. A Xenopus zinc finger protein that specifically binds dsRNA and RNA-DNA hybrids. *J. Mol. Biol.* **271**, 195–208 (1997).
98. Kaufmann, C. *et al.* A complex network of regulatory elements in Ikaros and their activity during hemo-lymphopoiesis. *EMBO J.* **22**, 2211–2223 (2003).
99. Kelley, C. M. *et al.* Helios, a novel dimerization partner of Ikaros expressed in the earliest hematopoietic progenitors. *Curr. Biol.* **8**, 508–515 (1998).
100. Morgan, B. *et al.* Aiolos, a lymphoid restricted transcription factor that interacts with Ikaros to regulate lymphocyte differentiation. *EMBO J.* **16**, 2004–2013 (1997).
101. Ronni, T. *et al.* Human Ikaros function in activated T cells is regulated by coordinated expression of its largest isoforms. *J. Biol. Chem.* **282**, 2538–2547 (2007).
102. Winandy, S., Wu, P. & Georgopoulos, K. A dominant mutation in the Ikaros gene leads to rapid development of leukemia and lymphoma. *Cell* **83**, 289–299 (1995).
103. Li, Z., Perez-Casellas, L. A., Savic, A., Song, C. & Dovat, S. Ikaros isoforms: The saga continues. *World J. Biol. Chem.* **2**, 140–5 (2011).
104. John, L. B. & Ward, A. C. The Ikaros gene family: Transcriptional regulators of hematopoiesis and immunity. *Molecular Immunology* **48**, 1272–1278 (2011).
105. Schmitt, C. *et al.* Aiolos and Ikaros: Regulators of lymphocyte development, homeostasis and lymphoproliferation. *Apoptosis* **7**, 277–284 (2002).
106. Francis, O. L., Payne, J. L., Su, R.-J. & Payne, K. J. Regulator of myeloid differentiation and function: The secret life of Ikaros. *World J. Biol. Chem.* **2**, 119–25 (2011).
107. Payne, K. J. *et al.* Ikaros isoform x is selectively expressed in myeloid differentiation. *J. Immunol.* **170**, 3091–3098 (2003).
108. Georgopoulos, K. *et al.* The ikaros gene is required for the development of all lymphoid lineages. *Cell* **79**, 143–156 (1994).
109. Schjerven, H. *et al.* Selective regulation of lymphopoiesis and leukemogenesis by individual zinc fingers of Ikaros. *Nat. Immunol.* **14**, 1073–83 (2013).
110. Sellars, M., Reina-San-Martin, B., Kastner, P. & Chan, S. Ikaros controls isotype selection during immunoglobulin class switch recombination. *J. Exp. Med.* **206**,

- 1073–87 (2009).
111. Kathrein, K. L., Lorenz, R., Innes, A. M., Griffiths, E. & Winandy, S. Ikaros Induces Quiescence and T-Cell Differentiation in a Leukemia Cell Line. *Mol. Cell. Biol.* **25**, 1645–1654 (2005).
 112. He, L. C. *et al.* Ikaros is degraded by proteasome-dependent mechanism in the early phase of apoptosis induction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **406**, 430–434 (2011).
 113. Brown, K. E. *et al.* Association of transcriptionally silent genes with Ikaros complexes at centromeric heterochromatin. *Cell* **91**, 845–854 (1997).
 114. Nan, X. *et al.* Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* **393**, 386–389 (1998).
 115. Papathanasiou, P. *et al.* Widespread failure of hematolymphoid differentiation caused by a recessive niche-filling allele of the ikaros transcription factor. *Immunity* **19**, 131–144 (2003).
 116. Lopez, R. A., Schoetz, S., DeAngelis, K., O’Neill, D. & Bank, A. Multiple hematopoietic defects and delayed globin switching in Ikaros null mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 602–607 (2002).
 117. Virely, C. *et al.* Haploinsufficiency of the IKZF1 (IKAROS) tumor suppressor gene cooperates with BCR-ABL in a transgenic model of acute lymphoblastic leukemia. *Leuk. Off. J. Leuk. Soc. Am. Leuk. Res. Fund, U.K* **24**, 1200–1204 (2010).
 118. Ezzat, S. *et al.* An essential role for the hematopoietic transcription factor Ikaros in hypothalamic-pituitary-mediated somatic growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 2214–2219 (2006).
 119. Javierre, B. M. *et al.* Long-range epigenetic silencing associates with deregulation of Ikaros targets in colorectal cancer cells. *Mol. Cancer Res.* **9**, 1139–1151 (2011).
 120. Nakayama, H. *et al.* Decreases in Ikaros activity correlate with blast crisis in patients with chronic myelogenous leukemia. *Cancer Res.* **59**, 3931–3934 (1999).
 121. Kuiper, R. P. *et al.* High-resolution genomic profiling of childhood ALL reveals novel recurrent genetic lesions affecting pathways involved in lymphocyte differentiation and cell cycle progression. *Leukemia* **21**, 1258–1266 (2007).
 122. Mullighan, C. G. *et al.* Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* **446**, 758–764 (2007).

123. Lu, G. *et al.* The Myeloma Drug Lenalidomide Promotes the Cereblon-Dependent Destruction of Ikaros Proteins. *Science (80-.)*. **343**, 305–309 (2014).
124. Kronke, J. *et al.* Lenalidomide Causes Selective Degradation of IKZF1 and IKZF3 in Multiple Myeloma Cells. *Science (80-.)*. **343**, 301–305 (2014).
125. Ito, T., Ando, H. & Handa, H. Discovery of the target for immunomodulatory drugs (IMiDs). *Rinsho. Ketsueki*. **57**, 556–62 (2016).
126. Gandhi, A. K. *et al.* Immunomodulatory agents lenalidomide and pomalidomide co-stimulate T cells by inducing degradation of T cell repressors Ikaros and Aiolos via modulation of the E3 ubiquitin ligase complex CRL4CRBN. *Br. J. Haematol.* **164**, 811–821 (2014).
127. Gandhi, A. K. *et al.* Measuring cereblon as a biomarker of response or resistance to lenalidomide and pomalidomide requires use of standardized reagents and understanding of gene complexity. *Br. J. Haematol.* **164**, 233–244 (2014).
128. Ito, T. *et al.* Identification of a Primary Target of Thalidomide Teratogenicity. *Science (80-.)*. **327**, 1345–1350 (2010).
129. Shaffer, A. L. *et al.* IRF4 addiction in multiple myeloma. *Nature* **454**, 226–231 (2008).
130. Bjorklund, C. C. *et al.* Rate of CRL4(CRBN) substrate Ikaros and Aiolos degradation underlies differential activity of lenalidomide and pomalidomide in multiple myeloma cells by regulation of c-Myc and IRF4. *Blood Cancer J.* **5**, e354 (2015).
131. Kortüm, K. M., Zhu, Y. X., Shi, C. X., Jedlowski, P. & Stewart, A. K. Cereblon binding molecules in multiple myeloma. *Blood Rev.* **29**, 329–334 (2015).
132. Bolomsky, A. *et al.* IKAROS expression in distinct bone marrow cell populations as a candidate biomarker for outcome with lenalidomide-dexamethasone therapy in multiple myeloma. *Am. J. Hematol.* **92**, 269–278 (2017).
133. Zhu, Y. X. *et al.* Identification of cereblon-binding proteins and relationship with response and survival after IMiDs in multiple myeloma. *Blood* **124**, 536–545 (2014).
134. Mohan, M. *et al.* Clinical characteristics and prognostic factors in multiple myeloma patients with light chain deposition disease. *Am. J. Hematol.* (2017).
doi:10.1002/ajh.24756

135. Sagaster, V. *et al.* Bortezomib in relapsed multiple myeloma: response rates and duration of response are independent of a chromosome 13q-deletion. *Leukemia* **21**, 164–168 (2007).

