

**T.C.**  
**İstanbul Üniversitesi**  
**İstanbul Tıp Fakóltesi**  
**İç Hastalıkları Anabilim Dalı**  
**Hematoloji Bilim Dalı**

**YENİ TANI KONULMUŞ MULTİPL MYELOMLU HASTALARDA  
SERUM IL-6, IL-1beta,TNF-alfa, VEGF VE HGF DÜZEYLERİ İLE KLİNİK SEYİR  
İLİŞKİSİ**

**Hematoloji Yan Dal Uzmanlık Tezi**

**Tez Danışmanı:**  
**Prof. Dr. Sevgi KALAYOĞLU BEŞİŞİK**

**Uz. Dr. Naciye DEMİREL YILDIRIM**

**İstanbul-2009**

## ÖNSÖZ

Hematoloji yan dal eğitimim süresince bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocalarım; **Sn. Prof. Dr. Günçağ DİNÇOL**, **Sn. Prof. Dr. Yüksel PEKÇELEN**, **Sn. Prof. Dr. Tanju ATAMER**, **Sn. Prof. Dr. Deniz SARGIN**, **Sn. Prof. Dr. Meliha NALÇACI**, **Sn. Prof. Dr. Melih AKTAN**, **Sn. Prof. Dr. Sevgi KALAYOĞLU BEŞİŞİK**, **Sn. Doç. Dr. A. Selim YAVUZ**, **Sn. Doç. Dr. Reyhan DİZ KÜÇÜKKAYA**, **Sn. Doç. Dr. Mustafa N. YENEREL**'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bilgi, deneyim sevgi ve yardımlarını eksik etmeyen, emekli olmasından dolayı ihtisasımın son dönemlerinde daima eksikliğini hissettiğim **Sn. Uz. Dr. Hüseyin KESKİN**'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Patoloji ABD öğretim üyeleri **Sn. Prof. Dr. Mehmet AĞAN** ve **Sn. Prof. Dr. Öner DOĞAN** 'a bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemedikleri için teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum, **Sn Uz. Dr. Mesut AYRER**'e ve Tez çalışmamda büyük yardımları olan **Melek KOÇ**, **Özlem YILMAZ**'a ve ihtisasım süresince sıcak bir çalışma ortamını paylaştığım, tüm İTF Hematoloji BD klinik ve poliklinik çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Uz. Dr. Naciye DEMİREL YILDIRIM**

## **İÇİNDEKİLER**

|       |                      |       |
|-------|----------------------|-------|
| I.    | GİRİŞ ve AMAÇ .....  | 1-5   |
| II.   | GENEL BİLGİLER.....  | 6-21  |
| III.  | YÖNTEM ve GEREÇ..... | 22-24 |
| IV.   | BULGULAR.....        | 25-33 |
| V.    | TARTIŞMA.....        | 34-38 |
| VI.   | ÖZET.....            | 39-40 |
| VII.  | SUMMARY .....        | 41-42 |
| VIII. | KAYNAKLAR.....       | 43-48 |

## **KISALTMALAR**

|                                 |                                                    |
|---------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>PHD</b>                      | Plazma Hücre Diskrazileri                          |
| <b>MGUS</b>                     | Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance |
| <b>MM</b>                       | Multipl Myelom                                     |
| <b>WM</b>                       | Waldenström Makroglobulinemisi                     |
| <b>PCLI</b>                     | Plasma Cell Labelling Index                        |
| <b>CRP</b>                      | C-reaktif protein                                  |
| <b>PTHr-P</b>                   | Parathyroid hormone-related protein                |
| <b>HIV</b>                      | Human Immune Deficiency Virus                      |
| <b>HCV</b>                      | Hepatit C Virus                                    |
| <b>FISH</b>                     | Flourescent in-situ hybridisation                  |
| <b>IL-6</b>                     | Interleukine-6                                     |
| <b>IL-1</b>                     | Interleukine-1                                     |
| <b>VEGF</b>                     | Vascular Endothelial Growth Factor                 |
| <b>TNF</b>                      | Tumor Necrosis Factor                              |
| <b>IL-2</b>                     | Interleukine-2                                     |
| <b>MIP1-<math>\alpha</math></b> | Macrophage Inflamatuary Protein 1-alpha            |
| <b>LFA-1</b>                    | Leukocytes Function associated Antigen-1           |
| <b>VLA-4</b>                    | Very Late Antigen-4                                |
| <b>VCAM-1</b>                   | Vascular Cell Adhesion Molecule-1                  |
| <b>ICAM-1</b>                   | Intercellular Adhesion Molecule-1                  |
| <b>OAF</b>                      | Osteoclast Activating Factor                       |
| <b>STAT3</b>                    | Signal Transducer and Activator of Transcription 3 |
| <b>MAPK</b>                     | Mitogen-Activated Protein Kinase                   |
| <b>NF-kB</b>                    | Nuclear Factor-kB                                  |
| <b>IGF</b>                      | Insulin-like Growth Factor                         |
| <b>PI-3k</b>                    | Phosphotidil Inisitol-3 kinase                     |
| <b>bFGF</b>                     | Basic Fibroblast Growth Factor                     |

|                               |                                                |
|-------------------------------|------------------------------------------------|
| <b>HGF</b>                    | Hepatocyte growth factor                       |
| <b>JAK</b>                    | Janus Kinase                                   |
| <b>IL-1Ra</b>                 | Interleukin-1 Receptor antagonist              |
| <b>MHC</b>                    | Major Histocompatibility                       |
| <b>PDGF</b>                   | Platelet Derived Growth Factor                 |
| <b>TGF-<math>\beta</math></b> | Transforming Growth Factor                     |
| <b>HHV8</b>                   | Human Herpes Virus 8                           |
| <b>PEL</b>                    | Primary Effusion Lymphoma                      |
| <b>Flt-1</b>                  | Fms-like tyrosin kinase-1                      |
| <b>Flk-1</b>                  | Fetal Liver Kinase-1                           |
| <b>GM-CSF</b>                 | Granulocyte Monocyte-Colony Stimulating Factor |
| <b>SWOG</b>                   | Southwest Oncology Group                       |
| <b>ISS</b>                    | International Staging System                   |
| <b>LDH</b>                    | Lactate Dehydrogenase                          |
| <b>HLA</b>                    | Human Leukocyte Antigen                        |
| <b>ELISA</b>                  | Enzyme Linked Immunoassay                      |

## GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl myelom ( MM ) kemik iliğinde malign plazma hücrelerinin klonal çoğalması ile karakterize bir B hücre neoplazisidir. Tümör hücreleri proliferasyonu ve apoptozise karşı direnç gelişimi sonucu hastalık oluşmakta ve osteolitik kemik lezyonları, anemi, hiperkalsemi hipervizkosite, enfeksiyonlara eğilim ve böbrek fonksiyon bozukluğu gibi klinik-laboratuvar bozuklukları ile ortaya çıkmaktadır.(1,2,3,4) MM klinik seyri oldukça değişkendir; tüm yaşam süresi 10 yıldan daha fazla olan hafif tipler ile tüm yaşam süresi ancak bir kaç ay olabilen çoklu ilaç direnci ve kötü seyir gösteren hastalık tiplerini de içerebilir. Yaşam süresindeki bu değişkenlik, myelom hücre biyolojisi, mikroçevre etkileşimi ve konakla ilgili birçok faktöre bağlıdır. Hastalık seyrinin önceden belirlenebilmesi, prognostik faktörlerin kullanımı ile risk gruplarının daha iyi tanımlanabilmesi, hastalık patogenezinin daha kapsamlı anlaşılması ve hastalık biyolojik bilgisine göre yeni tedavi girişimlerinin standardize edilebilmesi için MM’lu hastaların sınıflandırılmaları gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Bu amaçla; çalışmamızda yeni tanı almış MM hastalarında tedavi başlanmadan ve sağlıklı kontrol grubunda, MM patogenezinde rolü olan sitokinlerden IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , VEGF ve HGF düzeyleri incelendi. Hastaların sitogenetik dışı prognostik faktörleri ile çalışmamız ile elde edilen serum sitokin düzeyleri arasında ilişki varlığı bakıldı. Serum sitokin düzeylerinin tanı konulması aşamasında klinik seyir ön kestiriminde belirteç olarak ileriye yönelik tedavi yaklaşımının belirlenmesinde yeri araştırıldı.

## GENEL BİLGİLER

### PLAZMA HÜCRE DİSKRAZİLERİ (MONOKLONAL GAMMOPATİLER)

Plazma hücre diskrazileri (PHD), aşırı immunglobulin (= antikor) yapımı ile karakterize malignitelerdir.(1) Bu hastalıklardaki malign hücreler plazma hücreleri ve plazmositoid lenfositler olup B lenfoid dizinin en olgunlaşmış hücreleridir. Normalde bu hücrelerin olgunlaşması sürecinde immunglobulin (Ig) molekülünü kodlayan genlerdeki DNA'nın yapısında bazı değişiklikler olur. Bu değişim ile doğada mevcut çok sayıdaki antijenden sadece birine karşı özgül antikor yapabilme yeteneğine sahip, çok sayıda plazma hücre klonu oluşur. PHD'de tek bir plazma hücresinin çoğalması söz konusudur; klonal çoğalma. Kontrolsüz çoğalma aşırı miktarda aynı tip antikorum yapılmasına yol açar. Bu antikorlar orjinal antikora göre genellikle hatalı üretilirler ve serumda ve/veya idrarda monoklonal M proteini olarak saptanırlar.(1,2) Her monoklonal M proteini (miyelom proteini, paraprotein) aynı sınıf ve alt sınıftan iki ağır polipeptid zincirine ve aynı tipte iki hafif polipeptid zincirine sahiptir. Ağır polipeptid zincirleri yunan harfleri ile gösterilmekte olup; IgG'de gamma, IgA'da alfa, IgM'de mü, IgD'de delta, IgE'de epsilon'nu gösterir. IgG'nin tesbit edilmiş dört alt sınıfı (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA'nın tesbit edilmiş iki alt sınıfı (IgA1, IgA2) vardır, diğerlerinin tespit edilmiş alt sınıfları yoktur, hafif zincir tipleri ise kappa ve lambda dır.(1)

PHD sınıflaması sıklık sırasına göre şöyledir: % 62; MGUS ( Monoclonal gammopathy of undetermined significance = önemi bilinmeyen monoklonal gammopati), %16; Multipl miyelom (MM), %8; Amiloidoz, % 4; Smoldering miyelom, %3; lenfoproliferatif hastalıklar, %3; Waldenström makroglobulinemisi (WM), %1; Soliter veya Ekstramedüller plazmositomlar, %3; diğer nedenler.(2) PHD'lerinin sınıflandırılması **Tablo-1**'de gösterilmiştir.(2)

MM'da görülen paraproteinler daha çok IgG, IgA, IgD, IgE veya immunglobulin hafif zincirleri olup IgM nadiren görülür. IgM tipi paraprotein WM'sinde ve diğer lenfoproliferatif hastalıklarda rastlanır.(1)

**Tablo-1. PHD'lerinin (= Monoklonal gammopatilerin ) sınıflandırılması**

---

**I. Önemi bilinmeyen monoklonal gammopati ( MGUS)**

- A. Benign ( IgG, IgA, IgD, IgM ve nadiren serbest hafif zincirler)
- B. İlişkili maligniteler veya monoklonal protein ürettikleri bilinmeyen diğer hastalıklar
- C. Biklonal gammopatiler
- D. İdyopatik Bence-Jones proteinürisi

**II. Malign monoklonal gammopatiler**

- A. Multipl Miyelom (IgG, IgA, IgD, IgE, IgM ve hafif zincirler)

- 1. Aşkar Multipl miyelom
- 2. “Smoldering” miyelom
- 3. Plazma hücreli lösemi
- 4. Sekrete etmeyen miyelom
- 5. Osteosklerotik miyelom
- 6. Kemiğin soliter plazmositomu
- 7. Ekstamedüller plazmositom
- 8. IgD Miyelomu

- B. Waldenström makroglobulinemisi ve diğer lenfoproliferatif hastalıklar

**III. Ağır zincir hastalıkları**

- A. Gamma-ağır zincir hastalığı
- B. Alfa- ağır zincir hastalığı
- C. Mü- ağır zincir hastalığı

**IV. Kriyoglobulinemi**

**V. Primer Amiloidoz**

---

\* **Kaynak:** Wintrobe's Clinical Hematology eleventh edition. p2566'dan modifiye edilerek alınmıştır.



### **MGUS (= ÖNEMİ BİLİNMEYEN MONOKLONAL GAMMOPATİ):**

MGUS; serumda 3 gr/dl'den az M proteini, idrarda bulunmayan veya hafif Bence-Jones proteinürisi, kemik iliğinde %10'nun altında plazma hücre oranı, anemi, hiperkalsemi, renal yetmezlik, kemik lezyonları ve kromozom anomalilerin yokluğu ile karakterize bir PHD'sidir.(2,3,4) MGUS'lu hastalarda plazma hücre labelling indeksi (PCLI) %0.2'den düşüktür, aynı zamanda serum  $\beta$ 2 mikroglobulin, C- reaktif proteini (CRP), Interlökin-6 (IL-6), Interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) seviyeleri ise genellikle normaldir.(2,3) Kyle RA. MGUS'lu hastaların 10 yıllık takiplerinde; hastaların %52'sinin başka nedenlerden dolayı öldüklerini, %22'sinin M protein miktarında artış olmaksızın stabil seyrettiğini, bir kısmında ise semptom olmaksızın M protein miktarında artış geliştiğini, %11'inin ise aşık MM'a dönüştüğünü bildirmiştir.(5) MGUS'lu hastalarda; M proteini yanı sıra, serum IL-6, IL-1 $\beta$ , PCLI'de artış gözlenirse hastalığın smoldering miyelom veya aşık miyelom'a dönüşme olasılığı yüksektir. O nedenle takiplerinin sıklaştırılması (3 ayda bir) önerilir.(2,4,6)

### **MULTİPL MYELOM**

MM, B hücrelerinden köken alan tek bir plazma hücre klonunun proliferasyonu sonucu gelişen malign bir hastalıktır.(2,3,4) Tüm malignitelerin %1'ini, hematolojik malignitelerin ise %10'unu oluşturur. Genellikle ileri yaşlarda; ortalama yaş erkeklerde 69, kadınlarda 71 olup 40 yaş altında görülme sıklığı; tüm vakaların %5'inden azını oluşturur.(3) Ülkemizde hala geniş bir insidens çalışması bulunmamaktadır. Avrupa ve Amerika'da genel toplumda görülme sıklığı 4/100.000 olup erkeklerde kadınlara nazaran daha sık görülmektedir. Yine siyahi toplumda görülme sıklığı beyazlara göre iki kat daha fazladır. Beyazlar içinde ise en az görülme sıklığı Asya kökenlilerdedir.(3,4)

### **ETYOLOJİK FAKTÖRLER**

MM'un etyolojisinde genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin rolü olduğu düşünülmektedir. Çevresel faktörlerin içinde; iyonizan radyasyona maruz kalmak, tarımla uğraşma, metal işlerinde çalışma, pestisidlere, benzene, aflotoksine, saç boyalarına maruziyet, bazı ilaçlar (phenytoin, propoxyphene, phenobarbital, diazepam, propranolol, ibuprofen, diet ilaçları, stimulan ve laksatifler) bilinmektedir. Sigara ve alkol kullanımı ile myelom arasında ilişki saptanmamıştır.(3,7) Yine kötü sosyo-ekonomik durumlar, obezitenin varlığı da myelom gelişim riskini artırmaktadır.(7,8) Kronik antijenik stimülasyona yol açan infeksiyöz ve inflamatuvar durumların (HIV, HCV, HHV8, otoimmün hastalıklar, bağ dokusu hastalıkları, alerjik hastalıklar), MGUS'un etyolojisinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. (7,8)

## **PATOGENEZ**

MM bir B hücre neoplazması olup, postgerminal merkez B lenfositlerinin plazmablastlara ve plazma hücrelerine dönüşümü sonrası aşamada klonal çoğalması sonucunda oluşur. Patogenezi tek bir moleküler kusur açıklamaz (4,7), çok sayıda onkogenik etkenler patogeneizde rol alır.(4)

## **MULTİPL MYELOMDA SİTOGENETİK**

MM gelişiminde birçok DNA bozukluklarından dolayı genetik yatkınlık önemlidir.(4) Myelom hastalarında sabit bir kromozomal değişiklik gösterilmemiştir. Hastaların %75'inde Ig ağır zincir lokusunun bulunduğu 14q<sup>32</sup> ile ilgili translokasyonlar, %25'nde 17. kromozomdaki P53 (=tumor supresor gen) geninin yapısal bozuklukları görülür.(4) Plazma hücrelerinin proliferasyon hızı düşüktür. Bununla ilişkili PCLI (= Proliferatif aktivitenin veya akım sitometresinde hücre siklusunda S- fazı analizi) düşük saptanır. O nedenle karyogram ile (Giemsa veya G-banding) kromozom değişikliklerinin saptanması vakaların ancak %30-50'sinde mümkün olur.(3,4) Buna karşılık metafazda hücre gereksinimi olmayan yöntemler FISH (=Flourescent in-situ hybridisation) ve çok renkli spektral karyotipleme yöntemi ile vakaların %90'ından fazlasında kromozom anomalisi tesbit edilir.(3,4) MM hastalarının %65'inde hiperdiploidi, %15'inde psödodiploidi, %20'sinde hipodiploidi görülür.(3) En yaygın görülen kromozom anormalikleri 3., 5., 7., 9., 11., 15. ve 19.cu kromozomların hiperdiploidisi (3,9), 8,13,14 ve X kromozomlarının hipodiploidisidir.(9)

## **PATOGENEZDE KEMİK İLİĞİ MİKROÇEVRENİN ROLÜ**

Kemik iliğinin mikroçevresini; hücresel matriks proteinleri, kemik iliği stroma hücreleri, vasküler endotelial hücreler, osteoblastlar, osteoklastlar ve lenfositler oluşturur.(3,4,7) Kemik iliği mikroçevresini oluşturan hücreler ve myelom hücreleri arasında patolojik sinerjik bir ilişki vardır.(7) MM'da kemik iliği stroma hücreleri fazla miktarda IL-6 salgılar. IL-6 malign plazma hücrelerinin büyümesine, çoğalmasına ve bu hücrelerde IL-1 $\beta$ , VEGF (Vascular endotelial growth factor), MIP1 $\alpha$  (Macrophage inflammatory protein 1 alfa) salınımına yol açar. IL-1 $\beta$  ve MIP1 $\alpha$  ise osteoklastları aktive eder.(4,7)

Malign plazma hücreleri ile kemik iliği stroma hücreleri arasındaki ilişkiyi hücre adhezyon molekülleri sağlar.(3,4,7) Bu adhezyon moleküllerinden birisi CD56 (N – CAM)'dır. CD56, plazma hücrelerinin kemik iliğine yerleşmesinde (“homing”) önemli rol oynar ve MM'da plazma hücrelerinin çoğunda güçlü bir şekilde eksprese edilir.(3,7) Diğer hücre adhezyon molekülleri LFA-3 (leucocyte function associated antige -3), LFA-1 (CD11a), ve VLA-4 (Very late antigen-; Integrins  $\beta$ 1) plazma hücrelerini kemik iliğinde fibronektine bağlar ve uygun koşullar altında stroma hücrelerinin IL-6 salımına yol açar.(3,7)

Plazma hücrelerinin, kemik iliği stroma hücreleri ile VCAM-1 (vascular cellular adhesion molecule-1) ve  $\alpha 4\beta 1$  integrin yoluyla etkileşimi sonucu osteoklast aktive edici faktör (OAF) salınır. Bu sitokinin aşırı salınımı ağırlı litik kemik lezyonları, osteoporoz ve hiperkalsemiye yol açar.(9) Kemik iliği hücre dışı matriks proteinlerinden hyaluronan ve glikozaminoglikanlar plazma hücrelerinin proliferasyonunu ve sağkalımını sağlar.(7)

Endotelial mikrovasküler çevre de MM patogeneğinde plazma hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunda önemli bir faktör olan anjiogeneğinde rol oynar.(3,4,7)

### **PATOGENEĞDE SİTOKİNLERİN ROLÜ**

MM'da plazma hücreleri membran yüzeyinde bulunan reseptörlerle mikro çevreye bağılırlar. Bu reseptörler; IL-6, IL-15, IGF,  $\beta 1$  integrinler (VLA-4 ve VLA-5), CD38 ve CD40 dır.  $\beta 1$  integrinler reseptörleri fibronektini ve VCAM'ı, CD38 ise CD31'i bağlar.(3,7) Bu reseptörlerin aktivasyonu dört önemli hücre içi ileti yolunu aktive eder; STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3), Ras-MAPK (Ras-Mitogen activated protein kinase), Akt ve NF-Kb (Nuclear factor kB)'dir.(3,4,10)

STAT3; IL-6 ve IL-15 tarafından aktive edilir. STAT3 aktivasyonu hücre siklus düzenleyici protein P<sup>21</sup> ve Bcl-xl, Mcl-1 anti-apoptotik proteinlerin yapımını düzenler ayrıca cMyc gen transkripsiyonunu artırır.(3)

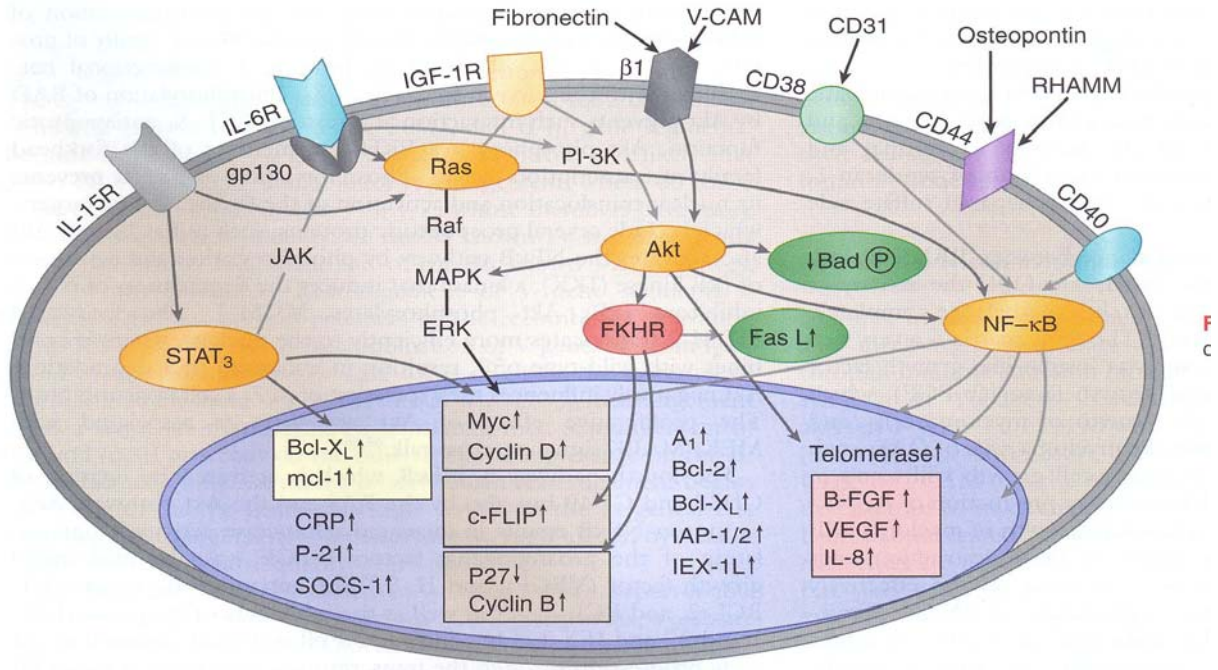
Ras-MAPK; IL-6, IGF (Insulin like growth factor), IL-15 tarafından aktiflenir. Ras-MAPK aktivasyonu myc, siklin D yapımını ve NF-kB sinyal yolunu aktive eder.

Akt yolu IGF, IL-6 tarafından aktiflenir. Akt yolu aktivasyonu halinde PI-3k (phosphotidil inisitol-3 kinase) yolu ile BAD fosforillenerek azalır, Fas-ligand artar. Bu yolun aktivasyonu plazma hücrelerinde ilaç direncini sağlar, plazma hücrelerinin apoptozunu önler.(3,7,10)

NF-kB yolu; CD38, CD40, Ras ve Akt yolu ile aktive olur. NF-kB aktivasyonu artmış telomerez aktivitesine yol açarak proangiogenik faktörlerden bFGF, VEGF, HGF ve IL-8 salınımını düzenler. Ayrıca anti-apoptotik faktörlerden A1, Bcl-2, Bcl-xl, IAP-1,2 (inhibitors of apoptosis-1, 2), Iex-1 yapımını düzenleyerek plazma hücrelerini apoptozdan korur, c-myc ve siklinD1 protoonkogenlerine direkt olarak bağlanır.(3)

Sonuç olarak dört sinyal yolunun aktivasyonu plazma hücrelerinde artmış proliferasyon, artmış anti-popitotik aktivite ve artmış angiogenik aktiviteye yol açar.(3,4)

Çalışmamız prognostik önemleri halen tartışmalı kabul edilen serum IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , VEGF ve HGF düzeyleri gibi laboratuvar verilerinin MM'da klinik seyir üzerindeki etkilerini ortaya koymak için planlanmıştır.



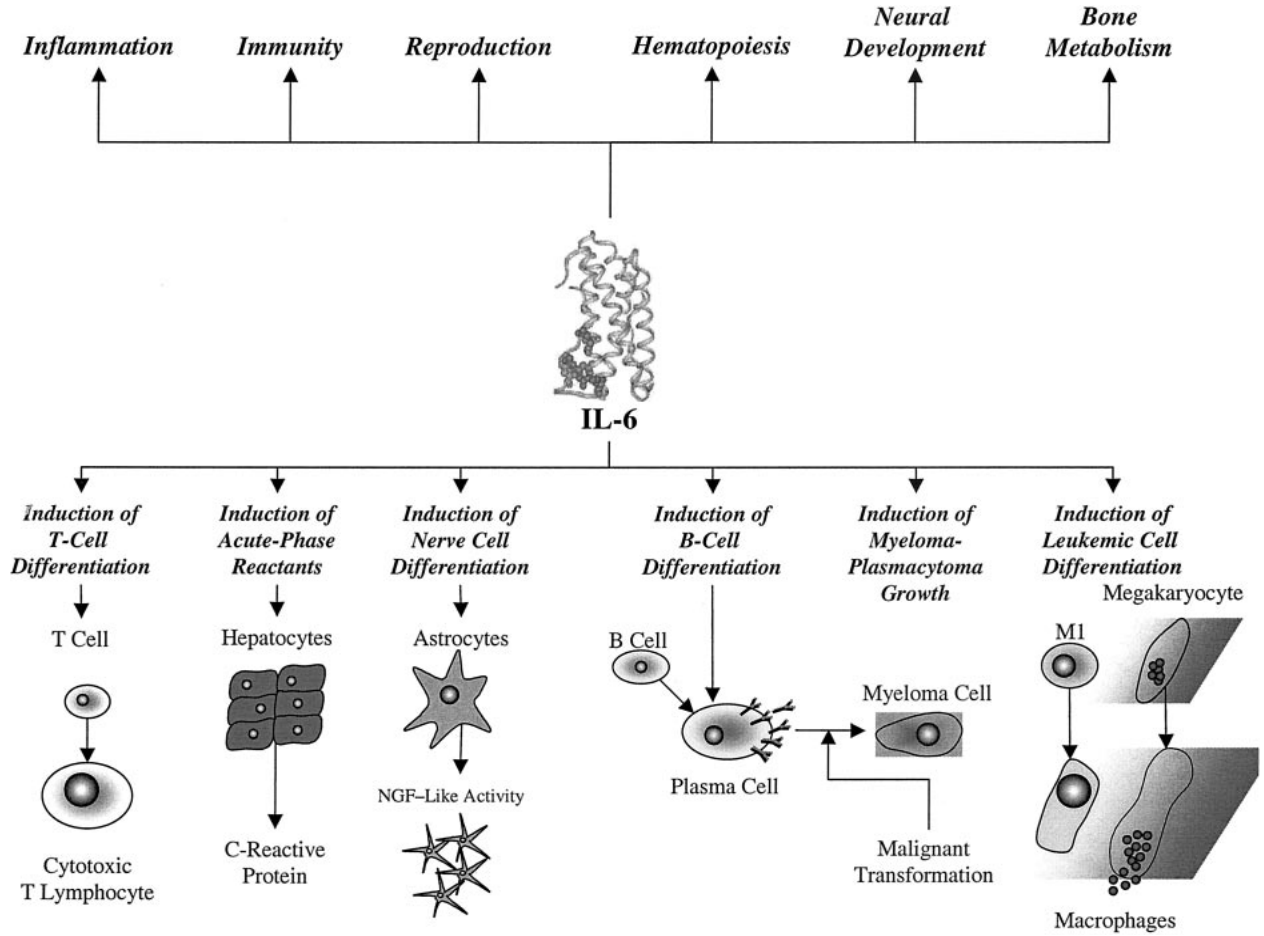
**Şekil-1.** Plazma hücresinin yaşam ve büyümesinin mekanizması (kaynak:Tricot G, Fassas A. Multiple Myeloma and other plasma cell disorders. In Hoffman R, Benz JR EJ, Shattil SJ,Furie B, Cohen HJ Silberstein LE, Mcglave P editors. Hematology Basic Principles and Practice. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, USA.2005;p1505)

## 1. İNTERLÖKİN-6 (IL-6)

IL-6, 21-28 kD ağırlığında tek bir protein zincirinden oluşan, 212 aminoasit içeren O- ve N- glikolizasyon ve fosforilasyon bölgeleri içeren bir polipeptiddir. Çok yönlü işleve sahip bir sitokin olarak hematopoezi, akut faz reaktanlarını, immun yanıtı düzenler ve konağın savunma mekanizmasında merkezi bir rol oynar. İnsan IL-6 geni 7.P<sup>21</sup> kromozomunda bulunur. IL-6; T ve B lenfositleri, monosit, fibroblast, keratinosit, endotelyal, mezengial, kemik iliği stroma hücreleri astrositler ve çeşitli tümör hücreleri tarafından üretilir. Normal koşullar altında hücrelerden salgılanmaz. Viral enfeksiyonlar, lipopolisakkaritler ve çeşitli sitokinlerin uyarısı ile salgılanır. Travma, enflamasyon, otoimmun hastalıklar ve çeşitli malignitelerde serum düzeyleri artar.(11,12,13) IL-6'nın fizyolojik etkileri **Şekil-2'**de bildirilmiştir.(13)

IL-6, B hücrelerinin büyüme faktörü veya hibridoma faktörü olarak da bilinir ve MM'de en önemli büyüme, çoğalma ve plazma hücre apoptozunu önleyen faktördür.(3,4,7,10,12) MM'de büyük miktarda kemik iliği stroma hücreleri tarafından

üretir, parakrin ve otokrin mekanizma ile plazma hücrelerini etkiler. Parakrin mekanizma plazma hücre yüzeyindeki CD40 veya IL-1 ile sağlanır.(7,10,12)



**Şekil -2.** IL-6'nın fizyolojik etkileri.(kaynak: Trikha M, Corringham R et al, Clinical Cancer Research, Vol. 9, October 15, 2003; p4654)

IL-6 hedef hücre yüzeyindeki özgül reseptörüne (IL-6R) bağlanır. IL-6R hemopoiyetin ailesinin bir üyesidir. İki işlevsel zincir içerir. 80 kD ağırlığındaki bir zincir IL-6 bağlayıcı molekül veya gp80 (glikoprotein 80) olarak IL-6'ya özgül olarak bağlanır. Diğer işlevsel zincir 130 kD ağırlığında gp130 sinyal iletili zincirdir. (12) IL-6 protein ailesinden IL-11, LIF (Leukemia inhibitory factor), oncostatin M, Cardiotrophin-1 ve Ciliary neurotrophic factor'de sinyal taşıyıcı molekül olarak gp130'a bağlanırlar.(10,12,13) Gp130'u sinyal taşıyıcı olarak kullanan bu sitokinler plazma hücrelerinin büyümesinde anahtar rol oynarlar.(3,10,12) IL-6, IL-6R bağlanarak hücre içine sinyal taşıyıcı protein gp130 ile mesajları iletir, bunun sonucunda ras/MAP kinase ve JAK/STAT sinyal yollarını uyarır, aktive STAT ve ras-MAPK yolları plazma hücre proliferasyonu için gereklidir.(3,4,7,10,12) JAK/STAT sinyal yollarından aktive olan Jak2 ve STAT3 ise Mcl-1, Bcl-xl, cMyc, siklinD1 gibi anti-apoptotik proteinlerin yapımını düzenler.(4,7,12) IL-6, Ras-NF-kB ile birlikte anti-apoptotik

proteinlerden Bcl2, Bcl-xl yapımını düzenler.(7) IL-6, PI3k/AKT sinyal yolu ile plazma hücrelerini deksametazona karşı korur. (3,7)

IL-6 plazma hücrelerinden VEGF, IL-1 $\beta$ , MIP1 $\alpha$ , üretimini düzenler. Dendritik hücrelerin antijen sunumunu önler ve immün yetmezliğe yol açar.(4)

MM'de serum IL-6 yüksekliği ile tümör yükü, kemik lezyonları ve myelom böbreğinin gelişimi arasında yakın ilişkisi olduğu bildirilmiştir.(12)

IL-6 yoluyla aktive olan STAT3 serum CRP seviyelerinin artmasından sorumludur. Serum CRP düzeyi yüksekliği MM'de kötü prognoz göstergesidir.(3)

## **2.İTERLÖKİN 1-B ( IL-1beta)**

IL-1 gen ailesinin üç üyesi vardır. Bunlar IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-1 reseptör antagonistidir. IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  agonist iken, IL-1Ra özgül bir reseptör antagonistidir.(14) IL-1'in iki reseptörü vardır. TipI reseptör (IL-1RI) sinyal iletir, tipII reseptör (IL-1RII) IL-1 bağlar ancak sinyal iletmez.(14) IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nın olgun hali 17 kD ağırlığında olup, oluşumu için özgül hücrel proteaz ( "IL-1 converting enzyme") enzimine ihtiyaç vardır.(14)

IL-1 (IL1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ); çeşitli hücre tiplerini etkileyen çok yönlü işleve sahip bir sitokindir. Enflamasyonda, hematopoezde, lenfosit aktivasyonunda önemli bir mediatör olarak görev yapar ve güçlü bir OAF'dir.(14) IL-1 her yerde bulunabilen bir sitokin olup keratinosit, Langerhans hücreleri, Kupffer hücreleri, fibroblastlar ve B lenfositlerini içeren pek çok hücre tarafından yapılır, sadece monositler / makrofajlar tarafından yapılmaz. Normal plazma hücrelerinde IL-1 $\beta$  bulunmaz.(15)

MM hücreleri tarafından üretildiği gösterilememiştir.(15) MM ve MGUS'ta %25 olguda anormal olarak eksprese edildiği bildirilmiştir.(16) Başlıca kemik iliği stroma hücreleri tarafından üretilir. IL-1 $\beta$ ; ICAM-1, VCAM-1 gibi çeşitli adhezyon moleküllerinin selüler sistemde ekspresyonunu artırır. MM hücrelerinin kemik iliğine yerleşmesini (homing) yönlendirir, MM hücrelerinde IL-6 salınımını uyarır, hücre büyümesini, osteoklastları ve kemik yıkımını aktive eder. (4) IL-1 $\beta$ 'nın upregülasyonu hastalığın patogeneğinde önemli rol oynar.(14,15,16,17,18)

## **3.TÜMÖR NEKROZ AKTÖRÜ- $\alpha$ (TNF $\alpha$ )**

TNF $\alpha$ ; monosit / makrofajlar tarafından üretilen kaşektin olarak da bilinen polipeptid yapısında bir sitokindir.(19,20) Kaşeksiden sorumlu lipoprotein lipaz aktivitesini inhibe ederek fiziksel zayıflamaya neden olur.(19,20)

TNF $\alpha$ 'nın yapımı endotoksinler ve lenfokinler tarafından düzenlenir. Çeşitli uyarılar (enfeksiyonlar, doku yaralanmaları) ile ilişkili dolaşımda bulunur. Gamma interferon TNF $\alpha$  yapımını artırır. TNF $\alpha$  ise MHC classI antijen, GM-CSF, ve IL-1 yapımını artırır.(21) Güçlü

bir pirojendir. Nötrofillerin aktivasyonu, vasküler endotelial hücrelerin uygun değişimi, diğer dokuların metabolik aktivitelerinin düzenlenmesini sağlar, immun sistem üzerine olan çeşitli etkilerinden dolayı birçok hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynar

MM'de TNF $\alpha$  malign plazma hücreleri ve kemik iliği stroma hücreleri tarafından üretilir.

TNF $\alpha$  NF-kB aktivasyonunu sağlar. NF-kB, MM hücreleri ve kemik iliği stroma hücreleri üzerindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve sitokin yapımını düzenler. NF-kB aktivitesi artışı MM hücrelerinin sağ kalımı artışı ile ilişkilidir.(4) Böylelikle TNF $\alpha$  aracılığı ile MM hücreleri üzerindeki CD49d (VLA-4), CD11a (LFA-1) gibi adezyon molekülleri ekspresyonu düzenlenir. MM hücrelerinin kemik iliği stroma hücrelerine bağlanmasını sağlayan CD106 (VCAM-1) ve CD54 (ICAM-1) salınımını düzenlenir. (3,4,22)

TNF $\alpha$ , IL-6 salınımını artırır, MM hücrelerinin sağ kalımını artırır, hücreleri apoptotik uyarılara karşı korur.(4)

TNF $\alpha$  ile OAF salınımı artar, ağırlı litik kemik lezyonları, osteoporoz ve hiperkalsemi gelişir. Kemik lezyonları olan hastalarda kemik lezyonu olmayan hastalara nazaran serum TNF $\alpha$  düzeyinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir.(3,4,9,22).

#### **4.VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)**

Anjiogenez; fizyolojik olarak embriyogenezis, ovulasyon ve yara iyileşmesi sırasında olduğu gibi, tümör ve metastaz gelişimi, diabetik retinopati, romatoid artrit ve doku iskemisi gibi patolojik olaylardan sonra da oluşmaktadır.(23) Anjiogenezisi uyaran büyüme faktörleri; direkt ve indirekt angiogenler veya angiogenik moleküller olarak iki gruba ayrılırlar. Direkt angiogenler; VEGF, bFGF, HGF, IL-8'dir. İndirekt angiogenler ise IL-6, TNF- $\alpha$ , Platelet-derived growth factor (PDGF) ve transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) olup direkt angiogenlerin parakrin uyarımını sağlayarak angiogenik etkilerini oluştururlar. (23)

VEGF; 40-45 kDa ağırlığında homodimerik yapıda, makrofaj, böbrek glomerul epitel hücreleri, mesangial hücreler, trombosit, keratinosit gibi normal hücreler ve çeşitli malign hücreler tarafından sekrete edilen protein yapısında bir moleküldür.(23,24)

VEGF geni 6. kromozom kısa kolundadır. Bu gen 8 exon 7 intron'a sahiptir.(25) Bu genin transkripsiyonu fizyolojik olarak hipoksi aracılı kontrol gen transkripsiyonu ile düzenlenir. VEGF mRNA'sının değişken şekilde uç-uca eklentisi ile beş farklı izoformu oluşur.(23,25) Aktif form disülfid bağ içeren homodimerlerdir. İçerdikleri amino asit sayısı ile ilişkili farklı uzunlukta ve monomer yapıda olan VEGF izoformları; VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 ve VEGF206'dır.(23,25,26) Bu farklı izoformlar içinde en yaygın olanı 46 kDa luk bir homodimer olan VEGF165'dir. VEGF-121'in diğer daha büyük izoformlardan

farkı heparine bağlanmayan tek izoform olmasıdır. VEGF121, VEGF165, VEGF189 eş zamanlı ve yaygın olarak bulunurken, VEGF145 izoformu daha az bulunur ve genellikle kadın üreme sistemi, böbrek ve penis hücreleri tarafından sekrete edilir. HHV8'in neden olduğu kaposi sarkomu ile ilişkili PEL ve prostat kansinomlarında yüksek seviyelerde bulunduğu bildirilmiştir.(26)

VEGF üç önemli reseptörü aktive eder

1. VEGFR-1 veya Fms-like tyrosin kinase-1 (Flt-1): primer olarak endotel hücrelerinde eksprese edilir. Ancak düz kas hücreleri ve monositlerde de bulunur.(23,25,27)

2. VEGFR-2 aynı zamanda KDR veya Fetal liver kinase-1 (Flk-1) olarak da bilinen bu reseptör embriyonik vaskülogenesiste, hematopoezde çok önemlidir. Embriyo dışında endotel hücreleri ve primitif hematopoetik kök hücrelerde de bulunur. Endotel hücrelerinin proliferasyonunda, farklılaşmasında ve vaskülogenesiste önemli rol oynar. VEGF'nin VEGFR-2 reseptörüne bağlanması tümörlerin metastaz ve büyümesine yol açan neovaskülarizasyon olayını başlatır.(23)

3. VEGFR-3; reseptör ailesinin en son tanımlanmış üyesi olup, Flt-4 olarakta bilinir. Bu reseptör belirgin olarak lenfatik kanalların içini kaplayan endotel hücrelerine etki eder.(23)

VEGF fizyolojik embriyonogenesis, doğum sonrası angiogenesiste ve malignitelerdeki yeni damar oluşumları (neovaskülarizasyon) esnasındaki vaskülogeneziste en önemli angiogenik faktördür.(23,28)

VEGF MM'da plazma hücrelerinden salgılanır. Kemik iliğı stroma hücreleri ve mikrovasküler endotel hücrelerinden IL-6 salınımını uyarır. IL-6, dönüşümlü olarak VEGF artmış ekspresyonunu ve sekresyonunu uyarır.(4,27,28,29) VEGF MAPK sinyal yolunu aktive ederek plazma hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu sağlar.(4) Plazma hücrelerinde ve kemik iliğı stroma hücrelerinde Bcl-2, Mcl-1 ve öteki anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonunu artırarak önemli sağ kalımı artırıcı rol oynar.(27) VEGF; osteoklast aktivasyonunu uyararak litik kemik lezyonlarından, dendritik hücrelerin antijen sunumunu önleyerek MM'da gelişen immün yetmezlikten sorumlu bir sitokindir.(4,30)

Solid tümörler ve hematolojik malignitelerde; tümör hücrelerinin büyümesi ve yayılması ile neovaskülarizasyon ilişkili bulunmuştur.VEGF; MM'daki neovaskülarizasyonda önemli rol oynamakla olmakla birlikte; plazma hücrelerinin büyümesinde, yaşamasında, migrasyonunda da düzenleyici bir rol oynamaktadır.(25,26,27,29)



## 5. HEPATOCYTE GROWTH FACTOR (HGF)

HGF; bir birine disülfid bağları ile bağlı olan iki ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) subunitten oluşur.  $\alpha$  subunit 69 kD ağırlığında 440 amino asitten,  $\beta$  subunit 34 kD ağırlığında 234 amino asitten oluşan bir polipeptid olup Scatter faktor olarak da adlandırılır.(31)

HGF çok yönlü bir sitokindir. Mitogen, motogen ve morfogin olarak işlev gösterir. Organogenez ve doku rejenerasyonunu sağlar.(32,33,34,35,36) HGF ilk kez hepatositlerin büyümesini sağlayan bir faktör olarak tesbit edilmiştir. Daha sonra çeşitli organların (pankreas  $\beta$  hücreleri, akciğer ve böbrek epitel hücreleri) epitel hücrelerinde, fibroblast, makrofaj, düz kas hücreleri gibi mezangial hücreler ve B hücrelerinde üretilen piletropik sitokin olduğu anlaşılmıştır.(37) HGF, kemik iliğinde stroma hücreleri tarafından üretilir ve hematopoezde rol alır.(3)

HGF reseptörü; transmembran tirozin kinaz, c-met protoonkogen tarafından kodlanır. c-met normal dokuda primer olarak epitelyal hücrelerden eksprese edilir ancak küçük bir bölümü kemik iliği hücrelerinde bulunur.(33,36,37)

HGF güçlü bir angiogenik faktördür. Aynı zamanda hücre proliferasyonuna, invazyonuna, hücre göçüne yol açarak tümörlerin büyüme ve yayılmasından sorumludur. Hepatoselüler kanser, adenokanser, meme, pankreas, akciğer kanserlerinde metastas ve tümör kitlesinin büyümesinden sorumludur. Ayrıca meme kanserlerinde Bclx üretimini artırarak apoptozu önlediği gösterilmiştir.(37)

HGF ve reseptörü, MM hücreleri tarafından eş zamanlı eksprese edilirler. Kemik iliği angiogenezinde artış malign plazma hücrelerinin çoğalmasına, invazyonuna, tümör yükünün artmasına neden olur.(33,34,35,36) Bu durum hastalık progresyonu ve prognozla ilişkilidir.(3)

### EVRELEME VE PROGNOZ

Prognozu belirlemede uzun yıllar Durie-Salmon evreleme sistemi (**Tablo-2**) kullanılmıştır.(7) Bu sistem MM hücre kütesinin ve böbrek işlevlerinin belirlenmesine dayanır.(7,38,39)

Kolay uygulanabilir olmasına rağmen, kemik lezyonlarının belirlenmesinde görülebilen farklılıklar uygulamada zorluklar doğurur. Ayrıca; plazma hücrelerinin çoğalma hızı, hastanın yaşı, performans durumu, kemik iliği plazma hücre infiltrasyonu oranı, serum  $\beta_2$  mikroglobulin, CRP (C-reaktif protein), serum albumin düzeyi, Ig tipi, kromozom anormallliği varlığı ve tedaviye alınan yanıt gibi prognozda önemi olan bazı özellikler değerlendirilmeye alınmamıştır.(7) Durie-Salmon evreleme sistemine göre düşük tümör yükü ve serum kreatin düzeyi 2mg/dl nin altında olan hastalarda beklenen ortalama yaşam süresi 5.5 yıl (3.5-10)

iken, tümör yükü yüksek olan ve böbrek yetersizliği olan hastaların beklenen yaşam süresi ortalama 15 ay (6ay-2yıl) olarak bildirilmektedir.(40)

**Tablo 2. Durie-Salmon evreleme sistemi\***

|                                                                      |                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Evre I:</b>                                                       | 1.Hemoglobin > 10 gr/dl                                                                |
| <b>Düşük tümör kütlesi</b>                                           | 2.Normal serum kalsiyum değeri ( < 12 mg/dl)                                           |
| <b>(plazma hücre sayısı &lt; 0.6x10<sup>12</sup> /m<sup>2</sup>)</b> | 3.Radyografide normal kemik yapısı (derece 0)** veya sadece soliter kemik plazmasitomu |
|                                                                      | 4.Düşük M proteini (IgG < 5gr/dl, IgA < 3 gr/dl, Bence-Jones <4gr/24h                  |
| <b>EvreII:</b>                                                       | EvreI ve EvreIII'e uymayan kriterler                                                   |
| <b>Ortada tümör kütlesi</b>                                          |                                                                                        |
| <b>(plazma hücre sayısı 0.6-1.2x10<sup>12</sup>/m<sup>2</sup>)</b>   |                                                                                        |
| <b>EvreIII:</b>                                                      | 1.Hemoglobin < 8.5 gr/dl                                                               |
| <b>Yüksek tümör kütlesi</b>                                          | 2. Serum kalsiyum değeri > 12 mg/dl                                                    |
| <b>(plazma hücre sayısı &gt;1.2x10<sup>12</sup>/m<sup>2</sup>)</b>   | 3.İleri derecede kemik lezyonları (derece3)                                            |
|                                                                      | 4.Yüksek serum M proteini ( IgG >7gr/dl, IgA >5gr/dl, Bence-Jones > /24h               |

**\*Kriterlerden sadece biri olması evreyi belirlemek için yeterlidir; Alt sınıflama yapılır;**

**A: Serum kreatinin < 2mg/dl, B: Serum kreatin ≥ 2mg/dl**

**\*\*Kemik lezyonlarının derecelendirilmesi:** Normal kemikler(0), Osteoporoz(1), litik kemik lezyonları(2), yaygın iskelet harabiyeti ve kırıklar(3)

**\*Kaynak:** Wintrobe's Clinical Hematology eleventh edition. p2613'den modifiye edilerek alınmıştır.

Giderek tanı sırasında yeni prognostik faktörlerin belirlenmesi ile yeni evreleme sistemleri geliştirilmiştir. SWOG (= Southwest Oncology Group) çalışması bunlardan biridir. Bu çalışmada β2 mikroglobulin ve albumin en önemli prognostik faktörler olarak kullanılmıştır.(38,41) SWOG çalışması yeni bir prognostik kriter getirmemekle birlikte uluslar arası evreleme sisteminin (International Staging System; ISS) yeni bir evreleme sistemi olarak gelişmesini sağlamıştır.(38) Bu sistem uluslararası myelom çalışma grubu tarafından tanı sırası 10750 vaka ile oluşturulmuştur. Hastaların sınıflandırması ve uygun tedavilerin belirlenebilmesi amacıyla β2 mikroglobulin, serum albumin, trombosit sayısı, serum kreatinin ve LDH miktarı, yaş gibi prognostik faktörleri univariate ve multivariate

analizlerle değerlendirilmiştir.(41) Bu kriterlere göre yapılan evreleme **Tablo-3**'de gösterilmiştir.(38,42)

ISS'de evrelere göre beklenen ortalama yaşam süreleri; EvreI'de ortalama 62 ay, EvreII'de ortalama 44 ay, EvreIII'de ise 29 ay olarak bildirilmiştir.(42)

**Tablo -3 Uluslar arası evreleme sisteminin (International Staging System; ISS)**

|                |                                                                                                         |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>EvreI</b>   | $\beta 2$ mikroglobulin $< 3.5$ mg/L, Albumin $\geq 3.5$ g/dl                                           |
| <b>EvreII</b>  | $\beta 2$ mikroglobulin $< 3.5$ mg/L, Albumin $< 3.5$ g/dl veya<br>$\beta 2$ mikroglobulin 3.5-5.5 mg/L |
| <b>EvreIII</b> | $\beta 2$ mikroglobulin $> 5.5$ mg/L                                                                    |

**Kaynak:** Williams Hematology seventh edition. P1514'den modifiye edilerek alınmıştır.

$\beta 2$  mikroglobulin 11.800 molekül ağırlıklı HLA sınıf I histokompatibilite antijeninin ağır zincirine kovalan olmadan bağlanan bir polipeptiddir.  $\beta 2$  mikroglobulinin serum düzeyi artması hücrel döngüyü gösterir. Normalde böbrek tarafından atılır. Böbrek yetersizliği olan olgularda serum  $\beta 2$  mikroglobulin artar. Serum  $\beta 2$  mikroglobulin düzeyi MM hastalarında önemli bir prognostik faktör olup; hem tümör yükünü hemde böbrek işlevini gösterir. Sekrete etmeyen MM'li hastalarda serum  $\beta 2$  mikroglobulin düzeyi prognozu göstermede yardımcı olmaz.(38,40,43)

Serum LDH düzeyi artışı MM'de kötü prognozu, ekstrapedüller tutulumu ve yüksek tümör kütlelerini gösterir. Yeni tanı konulmuş olgularda sadece %7-11'inde LDH değerleri yüksek bulunur.(7,38,40)

PCLI'inin %1-2 cut-off değerlerinin kötü prognozu gösterdiğini öne süren bazı çalışmaların yanı sıra artmış PCLI'in prognostik önemi olmadığını ancak tedavi cevabında kısa remisyon süresi ve kötü hastalık seyri göstergesi olabileceğini bildiren çalışmalar da vardır.(7,40)

Kemik iliğinde plazma hücrelerinin  $\geq$  %2 olgun olmayan plazma hücresi morfolojisi göstermesi halinde plazmablastik myelomdan bahsedilir.(40) Plazmablastik veya olgun olmayan plazma hücrelerinin varlığı bazı araştırmacılar tarafından kötü prognoz göstergesi olarak ileri sürülmüştür. Nitekim plazmablastik morfolojiye sahip MM'de serum LDH düzeyi, PCLI, sIL-6 R artmış, ekstrapedüller hastalık hali, ve yüksek oranda karyotipik anormalliklere rastlanır.(7,38,40)

CRP bir akut faz reaktanıdır. Plazma hücrelerinden IL-6, CRP sentezini stimüle eder. Yüksek serum CRP değeri invivo artmış IL-6 aktivitesini göstermesi nedeni ile kötü prognoz göstergesidir.(38,40)

Kötü prognozu gösteren sitogenetik anormallikler içinde hipodiploidi; hiperdiploididen çok daha kötü prognoza sahiptir.(7,40) Ayrıca 11.ve 13. kromozom anormallikleri, Ig gen bölgesindeki translokasyonlar (14q32) kötü prognozu gösterir.(4,40) 11. ve 13. kromozom anormalliği olmayan hastalarda prognoz iyi olup; standart tedavilerle uzun süren tam yanıt ve uzun süren hastalıksız yaşam süresi sağlanabilmektedir.(7) t(14;16) MM'lu hastaların yaklaşık %5 gibi az bir kısmında görülür ve kötü prognozu gösterir.(4,7) Yine t(4;14)'e sahip hastalarda da prognoz kötüdür. Öte yandan t(11;14)'e sahip hastalarda prognoz iyidir.(4,7,40,44)

Ras onkogen mutasyonları yeni tanı alan MM hastalarının %30-50'sinde bildirilmiştir. Rastlanma sıklığı ileri evre hastalık ve kısa ortalama yaşam süresi ile ilişkilidir. K-ras mutasyonuna sahip hastalarda beklenen sağ kalım 2 yıl iken, N-ras mutasyonuna sahip olanlarda beklenen sağ kalım 3-7 yıl olarak bildirilmiştir.(7,40)

Nokta mutasyonuna bağlı P53 gen inaktivasyonu tanı sırasında %5, plazma hücreli lösemi olgularının %20-40'ında tespit edilir. Kötü prognoz göstergesidir.(4,7)

Promotor bölge P16 metilasyonu (Met P16) da prognozla ilişkili bulunmuştur. Met P16, MGUS ve "Smoldering" myelomda nadir görülmesine rağmen ekstramedüller plazmositom ve ileri evre MM'de daha sıktır.(7,40)

#### **Diğer kötü prognostik faktörler;**

- Kemik iliği plazma hücrelerinin asit fosfataz ile azalmış boyanması, (7,40)
- Apoptotik indeks artışı,(7,40)
- Periferik kan labelling indeks ile ölçülen dolaşan plazma hücre sayısı artması,(7,40)
- Tanı sırasında CD4 (helperT) hücre sayısının düşük olması, (7,40)
- Plazma hücre membranında immunositokimyasal yöntemlerle gösterilebilen ilaç direnci ile ilişkili MDR1 (P glikoprotein) ekspresyonu ,(7,45)
- Kemik iliği mikrodamar yoğunluğu artışı
- Yaş MM'da hastalık seyrini etkiler,(40)
- sIL-6R, serum neopterin,  $\alpha$ 1 antitripsin, tip1 kollojenin C-terminal telopeptidi, serum kemik sialoproteini, vitamin B12 bağlayıcı protein, soluble CD56, soluble

Fc reseptör (CD16), soluble sindekan (CD38) ve serum timidin kinase düzeyi,(7,40)

**İyi prognoz göstergeleri;**

- IL-2 artışı,(40)
- Alojenik transplantasyon sonrası dolaşımdaki lenfosit sayısı yüksekliği erken graft versus tümör etkisi ve düşük nüks oranını gösterir.(7)

## **KLİNİK BULGULAR**

MM'da en yaygın klinik bulgu anemidir ve vakaların 2/3'ünde görülür. Anemi genellikle normokrom normositik olup bazen makrositik anemi de görülür.(3,7,38,46,47) Anemi; hematopoez azalması, kemik iliğinin plazma hücreleri ile infiltrasyonu, kemik iliği mikroçevre stroma hücreleri ve plazma hücrelerinden salınan sitokinlerin eritropoezi baskılaması veya eritroid apoptoza bağlı olarak gelişmektedir.(3,7,9,38,46,47) Ayrıca MM ile ilişkili gelişen böbrek yetersizliği nedeniyle anemi, paraprotein artışı ile ilişkili plazma hacmi artışına bağlı dilüsyonel anemi, paraprotein olumsuz etkileri ile trombosit işlev kusuru ya da pıhtılaşma faktör inhibisyonu nedeniyle gelişen kanamaya eğilim yoluyla kan kaybı anemisi de MM'daki anemiye katkıda bulunur.(3,7,9,38,46,47)

Hastaların %70'inden fazlasında kemik ağrıları vardır. Ağrı genellikle bölgeseldir. Bu bölgede şişlik de gözlenebilir. Kemik lezyonları özellikle kafa kemiklerinde, klavikulada, sternumda ve vertebralarda görülebilir. Ani başlayan bel ağrısı, parestezi ve parapleji bir vertebral çökme kırığı belirtisi olabilir, bu kırıklardan dolayı hastaların boylarında kısalma tesbit edilebilir.(7,38,46,47) Hastaların %75'inde radyolojik olarak kemik lezyonları çok tipik olarak; kenarları düzgün, yuvarlak zımba ile delinmiş gibi (= punched-out) litik lezyonlar olabileceği gibi, diffuz osteoporoz, osteopeni veya fraktür şeklinde görülebilir.(7,9,46) Kemik lezyonlarını göstermede direkt grafiler, kemik sintigrafisi, MR ve BT ve PET-CT kullanılır, Yeni oluşan litik lezyonları göstermede PET-CT, MR ve BT direkt grafilere daha üstündür.(48,49) En yaygın görülen kemik lezyonu diffuz osteopenidir.(3,7,9,38,46,47)

Kemik lezyonlarının bir sonucu olarak hastaların %18-30'unda hiperkalsemi görülür.(7,46) Ancak 1980'lerden beri hastalığın erken tanısından dolayı görülme sıklığı oldukça azalmıştır.(7) Hiperkalsemi; halsizlik, susama hissi, ağız kuruluğu, bulantı-kusma, kabızlık, konuşma güçlüğü ve komaya kadar değişen bilinç bozukluklarına yol açabilir.(3,7,9,38) Hiperkalsemi MM hücre kütlesi ile ilişkilidir. Kemik ağrılarının zorunlu kıldığı yatak istirahati, dehidratasyon, hiperkalsemiyi daha da artırabilir.(3,9)

MM'da sık enfeksiyon gelişir. En sık görülen patojenler *diplococcus Pnömoni*, *stafilokokus aereus*'tur. Son yıllarda Gr(-) organizmalar da enfeksiyon nedeni olarak görülmektedir.(46) MM'da enfeksiyonların nedeni; hipogammaglobulinemi, bozulmuş antikor cevabı, Ig'lerin yapısal bozukluğu, bozulmuş serum opsonin aktivitesi ve nötropenidir. Özellikle yüksek doz glikokortikoid içeren tedaviler ile de enfeksiyonlara eğilim artar.(3,7,38,46,47,50)

Vakaların ¼'ünde tanı esnasında serum kreatin değeri 1.7 mg/dl veya daha fazla bulunur.(46) Diyaliz ihtiyacı gösteren ciddi böbrek yetersizliği tüm vakaların %2-10'unda görülür.(50) Böbrek yetersizliğine yol açar nedenler çok çeşitlidir. 1) monoklonal hafif zincirlerin atılımı sırasında tubuluslarda (özellikle kappa hafif zincir) birikmesi; bu durumda kast böbreği olarak isimlendirilir.(3,7,9,38,46,50) 2) plazma hücre infiltrasyonu(3,7,46), 3) Hiperkalsemi nedeni ile iştahsızlık, bulantı, kusma ve poliüri nedeniyle gelişen dehidratasyon (3,7,9,38,46,50), 4) dehidrate hastalarda kontrast madde alımı, steroid dışı ağrı azaltıcı kullanımı, diğer ilaç toksisiteleri; bifosfanatlar, antibiyotikler, kemoterapötikler(3,9,46,50), 5) pyelonefrit, analjezikler(46,50), 6) amiloidoz.(3,7,9,38,46,50)

Amiloidoz vakaların %10-15'inde nefrotik sendrom, böbrek yetersizliği veya her iki komplikasyon ortaya çıkabilir.(50)

Hiperviskozite sendromu paraprotein artışı nedeni ile gelişen kapiller kan akışkanlığının bozulması ve ortaya çıkan klinik tabloyu kapsar. MM'da hiperviskozite sendromu vakaların %2-6'sından görülür.(51) IgA ve IgG (IgG3) tiplerinde daha sık görülür. Klinikte baş ağrısı, görme bozukluğu, nefes darlığı, şuur bulanıklığı gibi belirtiler yapar.(3,7,9,51) Serum viskozitesi ölçümü, fundoskopik muayenede retina venlerinin sosis tarzında genişlemesi ile tanı konur. Acil durumdur, tedavi plazmaferez yapılmasıdır.(3,7,9,46,50,51)

Nörolojik bulgular içerisinde en sık plazmositom dokusunun ya da kemik kırıklarının omurilik basısı ile ilişkili güç kaybına rastlanır.Tanı MR veya BT ile konulur. Tedavide bası bulgularının şiddetine göre cerrahi dekompresyon ve/veya steroid ile beraber basının bulunduğu bölgeye radyoterapi kullanılır.(3,7,9,50) Periferik nöropati MM'da nadiren görülür, genellikle amiloidoz ile ilişkili bulgudur. Plazma hücre infiltrasyonu ya da otoimmün patogeneze ile de gelişebilir. MM tedavisinde kullanılan ilaçların da periferik nöropatiye yol açıcı etkileri vardır.(3,7,9)

## YÖNTEM ve GEREÇ

*Çalışma grubu:* Çalışmamıza, 2005–2007 yılları arasında İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı polikliniğine başvuran, multiple myelom tanısı konulan ve henüz tedavi almamış kabul ve dışlanma ölçütlerine uyan hastalar alınmıştır (Tablo 4, 5).

**Tablo 4. Kabul edilme ölçütleri**

|                                         |
|-----------------------------------------|
| Yaş: 40-85                              |
| MM tanı kriterlerine göre tanı konulmuş |
| Takip ve tedaviyi kabul etmiş           |

**Tablo 5. Kabul edilmeme ölçütleri**

|                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Çalışmaya alınmadan önce herhangi bir tedavi görmüş olgular                                                                                                                                                                                                             |
| IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , VEGF, HGF serum düzeylerini etkileyebilecek malignite, akut veya kronik enfeksiyon, immun sistem aktivasyonuna yol açabilecek herhangi bir otoimmun, alerjik vb hastalığı olan ve/veya bununla ilgili tedavi görmekte olan olgular |
| Çalışmaya girmeyi kabul etmeyen hastalar                                                                                                                                                                                                                                |

*Kontrol grubu:* IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , VEGF, HGF'nin serum düzeylerini etkileyebilecek; herhangi bir malignite, akut veya kronik enfeksiyon, immun sistem aktivasyonuna yol açabilecek herhangi bir otoimmun, alerjik vb hastalığı olmayan ve/veya bununla ilgili tedavi görmeyen sağlıklı kişilerden oluşturuldu.

### Laboratuvar incelemeleri:

*Çalışma grubu:*

Kemik iliği aspirasyonu bazen kemik iliği biyopsisi,

İskelet sisteminin düz radyografik taranması,

Serum protein elektroforezi,

Serum BUN, kreatinin, albumin, kalsiyum, LDH,  $\beta$ 2 mikroglobulin, CRP düzeyi

Tam kan sayımı

MM tanısı ve evrelemesi Durie-Salmon kriterlerine göre yapıldı .

Prognostik faktör olarak  $\beta$ 2 mikroglobulin, CRP, serum albumin, ve LDH düzeyleri kullanıldı.

*Çalışma grubu ve kontrol grubu:*

### Serum sitokin düzeyleri

Tanı sırası ön koldan vacutainer ile kuru tüpe 10 cc venöz kan örneği alındı. 3000 devirde 15 dakika süreyle santrifuj edilerek serumları ayrıştırıldı. Elde edilen serum örnekleri -70 °C de saklandı. IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  VEGF, HGF ölçümleri tüm serum örneklerinden eş zamanlı çalışıldı.

IL-6 düzey tayini: "Enzyme Linked Immunoasay (ELISA)" kiti ile yapıldı (Human IL-6 ELISA, Diaclone, Fransa, katalog No:950030096). İki basamaklı sandwich enzim yöntemi kullanıldı. Kitte yer alan miktoplakların tüm kuyucukları monoklonal IL-6 antikorları ile kaplıdır. Standartlar, kontroller ve serumlar 100  $\mu$ l olacak şekilde kuyucuklara pipetlendi. 50  $\mu$ l Biotin ilave edildi, 1 saat oda ısısında inkübe edildikten sonra bağlanmayan antikorlar yıkanarak uzaklaştırıldı. Kuyucuklara Streptavidin-HRP hazırlandı 100  $\mu$ l dilue Streptavidin-HRP enzimi ilave edilerek oda ısısında 30 dak. İnkübe edildikten sonra yıkanarak bağlanmayan enzim uzaklaştırıldı, okumayı kolaylaştıran TMB solusyonu 100  $\mu$ l eklendikten sonra oda ısısında karanlıkta 15 dak. İnkübasyonun sonunda stop solusyonu eklenerek işlem sonlandırıldı. 450 nm renk yoğunluğunda 620 nm dalga boyunda (referans610-650nm) ELISA okuyucusunda okundu.

IL-1 $\beta$  tayini:, ELISA kiti ile yapıldı (IL-1 $\beta$  Diaclone, Fransa, katalog No:850006096). Kitte yer alan mikropalakların tüm kuyucukları monoklonal IL-1 $\beta$  antikorları ile kaplıdır. Standartlar, kontroller ve serumlar 100  $\mu$ l olacak şekilde kuyucuklara pipetlendi, 50  $\mu$ l dilue Biotin ilave edildi. 3 saat oda ısısında inkübe edildikten sonra bağlanmayan antikorlar yıkanarak uzaklaştırıldı, 100  $\mu$ l Streptavidin-HRP enzimi ilave edilerek oda ısısında 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası bağlanmayan enzim yıkanarak uzaklaştırıldı, 100  $\mu$ l okumayı kolaylaştıran TMB solusyonu ilave edildikten sonra 15 dak. karanlık ve oda ısısında inkübasyon sonrası stop solusyonu eklenerek işlem sonlandırıldı ve 450 nm ELISA okuyucusunda okunarak sonuçlar elde edildi.

TNF- $\alpha$  tayini, ELISA kiti ile yapıldı (Human TNF- $\alpha$  ELISA, Diaclone, Fransa, katalog No:950090096). Kitte yer alan mikropalakların kuyucuklarındaki monoklonal anti TNF- $\alpha$  antikorları üzerine serumlar, standartlar ve kontroller 100  $\mu$ l olacak şekilde kuyucuklara pipetlendi. 50  $\mu$ l Biotin ilave edildi, 3 saat oda ısısında inkübe edildikten sonra bağlanmayan antikorlar yıkanarak uzaklaştırıldı. Kuyucuklara 100  $\mu$ l dilue Streptavidin-HRP enzimi eklenerek oda ısısında 30 dak.inkübe edildikten sonra bağlanmayan enzim yıkanarak uzaklaştırıldı, okumayı kolaylaştıracı TMB solusyonundan100  $\mu$ l ilave edilerek oda ısısında ve karanlıkta 15 dak. İnkübe edilidi, ardından 100  $\mu$ l stop solusyonu ilave edilerek işlem



sonlandırıldı, 450 nm renk yoğunluğunda 620 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okunarak sonuçlar değerlendirildi.

VEGF tayini; ELISA kiti ile yapıldı (Human VEGF-A ELISA, Diaclone, Fransa, katalog No:650080096). Kite yer alan mikropiplakların tüm kuyucukları insan VEGF-A poliklonal antikorla kaplıdır. Serumlar, standartlar ve kontroller kuyucuklara pipetlendi. Birinci inkübasyon için 50 µl Biotin konuldu ve 2 saat oda ısısında bekletildi. Bağlanmayan antikorlar yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra, 100 µl dilue Streptavidin-HRP enzimi ilave edilerek 1 saat oda ısısında bekletildi, ardından yıkanarak bağlanmayan enzimler uzaklaştırıldı, 100 µl TMB solusyonu ilave edilerek 20 dak. Oda ısısında inkübe edilerek 100 µl stop solusyonu ile işlem sonlandırıldı, 450 nm ELISA okuyucusunda ölçülerek sonuçlar elde edildi.

HGF tayini; ELISA kiti ile yapıldı (Human HGF, Biosource, Belçika, katalog No: KAC2212/KAC2211). Kite yer alan mikropiplakların tüm kuyucukları insan HGF monoklonal antikorla kaplıdır. Serumlar, standartlar ve kontroller kuyucuklara 50 µl pipetlendi. Birinci inkübasyon için 150 µl inkübasyon buffer konulduktan sonra oda ısısında 3 saat bekletildi, ardından bağlanmayan antikorlar yıkanarak uzaklaştırıldı, sonra Biotin solusyonu 100 µl ilave edilerek oda ısısında 1 saatlik inkübasyonun ardından tekrar yıkandı. 100 µl Streptavidin-HRP solusyonu ilavesi ile 30 dak. oda ısısında inkübe edildikten sonra yıkanarak bağlanmayan enzim uzaklaştırıldı, 100 µl stabilize kromojen ile 30 dak. oda ısısındaki inkübasyonun sonunda 100 µl stop solusyonu eklenerek işlem sonlandırıldı ve 450 nm ELISA okuyucusunda okunarak ölçümler yapıldı.

### ***İstatistiksel incelemeler***

Serum sitokin düzeyleri, evre ve prognostik faktörler ilişkisi araştırıldı.

İzlem süresi ve tahmini sağ kalım süresi belirlendi.

Sağ kalım ve sitokin düzeyi ilişkisi araştırıldı.

Hastalar kemik lezyonları derecesine göre gruplandırıldı ve serum sitokin düzeyi ve kemik lezyonlarının derecesine göre ilişki araştırıldı.

Böbrek yetmezliği ile sitokin düzey ilişkisi araştırıldı. Böbrek yetmezliğine katkısı olan sitokinler araştırıldı.

Çalışmanın etik kurul onayı İstanbul Üniversitesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

Sonuçlar Ki-Kare analizi, bağımsız gruplarda t testi, Pearson korelasyon analizi, non-parametrik Kruskal-Wallis testi, non-parametrik Mann-Whitney ve Kaplan-Meier testi ile değerlendirildi. Bu çalışma %95 güven düzeyinde yürütülmüş;  $p \leq 0,05$  olan test sonuçları anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmamıza, 2005–2007 yılları arasında İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Hematoloji BD polikliniğine başvuran, MM tanısı konulmuş ve henüz tedavi almamış 21 kadın 41 erkek toplam 62 hasta alındı. Kontrol grubu 12 erkek 9 kadın toplam 21 kişiden oluşturuldu. Çalışma ve kontrol grubunun genel özellikleri **Tablo–6**'da gösterilmiştir.

**Tablo 6.Çalışma ve kontrol grubunun genel özellikleri**

|                             | Çalışma Grubu<br>n (%)             | Kontrol Grubu<br>n (%)            |
|-----------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| Yaş                         |                                    |                                   |
| ≤ 60                        | 23 (%37,1)                         | 11 (%52,4)                        |
| >60                         | 39 (%62,9)                         | 10 (%47,6)                        |
| Yaş ortalaması (SD, median) | 64,34<br>(SD=12,08, median 66,50 ) | 61,38<br>(SD=10,72, median 60,00) |
| Cinsiyet                    |                                    |                                   |
| Kadın                       | 21 (%33,9)                         | 9 (%42,9)                         |
| Erkek                       | 41 (%66,1)                         | 12 (%57,1)                        |

Çalışma ve kontrol grubu **yaş** ortalaması istatistiksel farklı bulunmadı ( $t=0,99$  ;  $p=0,322$ ).

Çalışma ve kontrol grubu **cinsiyet** dağılımı açısından homojen olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $\chi^2=0,55$  ;  $p=0,459$ ).

**Tablo 7.Çalışma grubunu oluşturan MM'lu olguların genel özellikleri**

|                                                         | Normal<br>n (%) |
|---------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>Kemik lezyonları</b>                                 |                 |
| Derece 0: Normal kemik yapısı                           | 20 (%32,3)      |
| Derece 1: Diffuz osteoporoz veya osteopeni              | 10 (%16,1)      |
| Derece 2: litik kemik lezyonları                        | 16 (%25,8)      |
| Derece 3:Yaygın iskelet harabiyeti veya fraktür varlığı | 16 (%25,8)      |
| <b>Evre (Durie -Salmon kriterlerine göre)</b>           |                 |
| EvreI                                                   | 11 (%17,7)      |
| EvreII                                                  | 11 (%17,7)      |
| EvreIII                                                 | 34 (%54,8)      |

|                  |            |
|------------------|------------|
| MGUS             | 6 (%9,7)   |
| <b>Sağ kalım</b> |            |
| Sağ              | 56 (%90,3) |
| Exitus           | 6 (%9,7)   |

Hastaların çoğu ileri evrede idi (**Tablo 7**). M protein tipine göre en sık IgG tipi paraproteinemi saptandı. Dağılım oranları; %66,1 (41 hasta) IgG, %19,4 (12 hasta) IgA, % 1,6 (1 hasta) IgD, %1,6 (1 hasta) IgM ve %11,3 (7 hasta) hafif zincir tipi hastalığa sahipti.

**Tablo 8.Çalışma grubunu oluşturan MM'lu olguların genel özellikleri**

|                                                       | Normal<br>n (%) | Yüksek<br>n (%) | Düşük<br>n (%) |
|-------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|----------------|
| <b>Serum LDH düzeyi</b>                               | 50 (%80,6)      | 12 (%19,4)      |                |
| <b>Serum CRP düzeyi</b>                               | 31 (%50,0)      | 31(%50,0)       |                |
| <b>Serum <math>\beta</math>2 mikroglobulin düzeyi</b> | 17 (%27,4)      | 45 (%72,6)      |                |
| <b>Serum albumin düzeyi</b>                           | 39 (%62,9)      | 23 (%37,1)      |                |
| <b>Serum kreatinin düzeyi</b>                         | 14 (%22,6)      | 48 (%77,4)      |                |

Evre A (serum kreatininin <2 mg/dl) sahip hasta sayısı 48 (%77,4), Evre B (serum kreatininin  $\geq$  2 mg/dl) sahip hasta sayısı 14( %22,6) bulundu.

**Tablo 9. Sitokin düzeyleri**

| GRUP    |                | IL-6    | IL-1beta | TNF-alfa | VEGF   | HGF    |
|---------|----------------|---------|----------|----------|--------|--------|
| çalışma | Mean           | 56,866  | 3,865    | 4,611    | 23,810 | 16,071 |
|         | Std. Deviation | 107,296 | 11,610   | 8,039    | 20,933 | 3,591  |
|         | Median         | 10,200  | 1,800    | 1,450    | 13,650 | 15,850 |
|         | N              | 62      | 62       | 62       | 62     | 62     |
| kontrol | Mean           | 2,971   | 1,157    | 1,024    | 26,457 | 16,195 |
|         | Std. Deviation | 2,941   | 0,598    | 0,758    | 11,705 | 2,814  |
|         | Median         | 1,800   | 1,100    | 0,600    | 23,200 | 16,000 |
|         | N              | 21      | 21       | 21       | 21     | 21     |
| Total   | Mean           | 43,230  | 3,180    | 3,704    | 24,480 | 16,102 |
|         | Std. Deviation | 95,508  | 10,088   | 7,119    | 18,993 | 3,396  |
|         | Median         | 7,200   | 1,600    | 1,300    | 15,500 | 15,900 |
|         | N              | 83      | 83       | 83       | 83     | 83     |

**Serum IL-6** düzeyi, çalışma grubunda ortalama 56,866 pg/ml (SD=107,296; median 10,20), kontrol grubunda 2,971 pg/ml (SD=2,941; median 1,80) bulundu. Çalışma grubunun serum

IL-6 düzeyleri belirgin derecede yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $t=3,95$ ;  $p=0,0005$ ). (tablo-9)

**Serum IL-1 $\beta$**  düzeyi, çalışma grubunun ortalama 3,865 pg/ml (SD=11,610 ; median 1,80), kontrol grubunda ortalama 1,157 pg/ml (SD=0,598; median 1,10) olup; iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $t= 1,06$ ;  $p=0,291$ ). (tablo-9)

**Serum TNF- $\alpha$**  düzeyi çalışma grubunda ortalama 4,611 pg/ml (SD=8,039; median 1,450), kontrol grubunda ortalama 1,024 pg/ml (SD=0,758; median 0,60) olup; çalışma grubunda TNF- $\alpha$  değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $t=3,47$ ;  $p=0,001$ ). (tablo-9)

**Serum VEGF** düzeyi, çalışma grubunda ortalama 23,840 pg/ml (SD=20,933, median 13,650), kontrol grubunda 26,457 pg/ml ( SD=11,705; median 23,20) olarak bulundu. Kontrol ve çalışma grupları arasında VEGF değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $t=0,72$ ;  $p=0,475$ ). (tablo-9)

**Serum HGF düzeyi** çalışma grubunun ortalama 16,071 pg/ml (SD=3,591; median 15,80), kontrol grubunun serum HGF düzeyi ortalama 16,195 pg/ml (SD=2,814; median 16,00) olarak bulundu ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $t=0,14$ ;  $p=0,886$ )

**Tablo-10. Evre sitokin düzeyi ilişkisi**

| EVRE  |                | IL-6    | IL-1beta | TNF-alfa | VEGF   | HGF    |
|-------|----------------|---------|----------|----------|--------|--------|
| EI    | Mean           | 24,545  | 1,936    | 3,355    | 18,018 | 15,845 |
|       | Std. Deviation | 46,205  | 0,944    | 7,127    | 17,378 | 3,078  |
|       | Median         | 9,900   | 1,700    | 1,300    | 10,800 | 15,500 |
|       | N              | 11      | 11       | 11       | 11     | 11     |
| EII   | Mean           | 71,882  | 2,373    | 8,200    | 24,836 | 16,364 |
|       | Std. Deviation | 143,036 | 2,441    | 10,779   | 19,528 | 3,364  |
|       | Median         | 4,500   | 1,500    | 1,300    | 15,300 | 17,100 |
|       | N              | 11      | 11       | 11       | 11     | 11     |
| EIII  | Mean           | 71,794  | 5,312    | 3,844    | 27,906 | 15,912 |
|       | Std. Deviation | 115,204 | 15,562   | 7,300    | 23,138 | 3,448  |
|       | Median         | 21,550  | 1,950    | 1,700    | 15,600 | 15,850 |
|       | N              | 34      | 34       | 34       | 34     | 34     |
| MGUS  | Mean           | 4,000   | 1,933    | 4,683    | 9,333  | 16,850 |
|       | Std. Deviation | 2,224   | 0,728    | 8,177    | 1,992  | 6,010  |
|       | Median         | 3,550   | 2,000    | 1,600    | 9,800  | 15,800 |
|       | N              | 6       | 6        | 6        | 6      | 6      |
| Total | Mean           | 56,866  | 3,865    | 4,611    | 23,810 | 16,071 |
|       | Std. Deviation | 107,296 | 11,610   | 8,039    | 20,933 | 3,591  |
|       | Median         | 10,200  | 1,800    | 1,450    | 13,650 | 15,850 |
|       | N              | 62      | 62       | 62       | 62     | 62     |

Çalışma grubunda serum IL-6 değerleri evrelere göre karşılaştırıldığında EI 'de serum IL-6 ortalama değeri 24,545 pg/ml (SD=46,205; median 9,90), EII'de 71,882 pg/ml (SD=143,036; median 4,50), EIII'de ortalama değeri 71,794 pg/ml (SD=115,204; median 21,550), MGUS'da ortalama değeri 4,00 pg/ml (SD=2,224; median 3,550) olup en az bir grubun istatistiksel olarak farklılık gösterdiği görüldü ( $\chi^2=13,34$ ;  $p=0,004$ ), fark saptanan grup MGUS ile EvreIII arasında olup, EvreIII serum IL-6 düzeyleri MGUS'a göre anlamlı derecede yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p=0,001$ ). Diğer evreler arasında istatistiksel anlamda fark tesbit edilmemiş olsa da evre arttıkça serum IL-6 düzeylerinde belirgin bir artış dikkati çekti. (tablo-10)

Çalışma grubu, serum IL- $\beta$  düzeyleri, evrelere göre karşılaştırıldığında; evreler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $\chi^2=0,20$ ;  $p=0,977$ ). (tablo-10)

Çalışma grubu, serum TNF- $\alpha$  değerleri, evrelere göre karşılaştırıldığında; evreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $\chi^2=0,66$ ;  $p=0,883$ ). (tablo-10)

Çalışma grubunda serum HGF düzeyleri evrelere göre karşılaştırıldığında; evreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmedi ( $\chi^2=0,42$ ;  $p=0,935$ ). (tablo-10)

Çalışma grubunun serum VEGF düzeyleri evrelere göre karşılaştırıldığında; EI 'de serum VEGF ortalama değeri 18,018 pg/ml (SD=17,378; median 10,800), EII'de 24,836 pg/ml (SD=19,528; median 15,300), EIII'de ortalama değeri 27,906 pg/ml (SD=23,138; median 15,600), MGUS'da ortalama değeri 9,333 pg/ml (SD=1,992; median 9,800) olup en az bir grubun istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği görüldü ( $\chi^2=11,19$ ;  $p=0,011$ ), fark saptanan gruplar MGUS ile EvreII ve MGUS ile EIII arasında görüldü. EII serum VEGF düzeyleri MGUS'a göre oldukça yüksek bulundu ve iki evre arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p=0,0005$ ), EvreIII serum VEGF düzeyleri MGUS'a göre anlamlı derecede yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p=0,005$ ). Diğer evreler arasında istatistiksel anlamda fark tesbit edilmemiş olsa da evre arttıkça serum VEGF değerlerinde belirgin düzeyde bir artış dikkati çekmektedir. (tablo-10)

Çalışma grubu serum sitokin düzeyleri bilinen prognostik faktörlerden serum  $\beta 2$  mikroglobulin, CRP, serum albumin ve serum LDH düzeyleri arasında korelasyon araştırıldığında; çalışma grubu serum sitokin düzeyleri ile serum  $\beta 2$  mikroglobulin arasında sadece VEGF ile korelasyon saptanmıştır ( $r = 0,366$ ;  $p=0,003$ ). VEGF artarken serum  $\beta 2$  mikroglobulin düzeyi de artmış bulunmuştur.

Çalışma grubu serum sitokin düzeyleri ile serum CRP arasında korelasyon araştırıldığında; serum CRP ile serum IL-6 ( $r = 0,415$ ;  $p=0,001$ ) ve VEGF ( $r = 0,510$ ;  $p=0,0005$ ) arasında pozitif korelasyon izlendi. CRP ile serum HGF ( $r = -0,358$ ;  $p=0,004$ ) arasında ise negatif korelasyon saptandı. Serum CRP seviyeleri artarken serum IL-6 ve VEGF düzeyleri artmış, serum HGF ise azalmış bulundu.

Çalışma grubunda; serum LDH, serum kalsiyum, M protein ve hemoglobin değerleri ile serum sitokin değerleri arasında korelasyon saptanmadı. Ancak kemik iliği plazma hücre oranı ile IL-1 $\beta$  ( $r = 0,0360$ ;  $p=0,004$ ) arasında korelasyon saptandı.

Serum albumin değerleri ile serum IL-6 ( $r = -0,257$ ;  $p=0,044$ ) ve VEGF ( $r = -0,305$ ;  $p=0,016$ ) arasında negatif korelasyon saptandı. Serum albumin miktarı azalırken serum IL-6 ve serum VEGF miktarı artmış bulundu.

Serum kreatinin değerleri ile serum IL-6 ( $r = 0,440$ ;  $p=0,0005$ ), serum VEGF ( $r = 0,524$ ;  $p=0,0005$ ) değerleri arasında pozitif, serum HGF ( $r = -0,262$ ;  $p=0,040$ ) değerleri arasında ise

negatif korelasyon saptanmış olup; serum kreatinin miktarı artarken, serum IL-6 ve VEGF düzeyleri artmış, HGF ise azalmış bulundu.

Çalışma grubu kemik lezyon derecesi ile serum IL-6 düzeyi karşılaştırıldığında en az bir grubun istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği görüldü ( $\chi^2= 12,75$ ;  $p= 0,005$ ), fark saptanan gruplar derece 0 ile derece 2, derece 0 ile derece 3 ve derece 1 ile derece 3 arasında olup serum IL-6 düzeyi derece 0'da ortalama 33,380 (SD=82,302; median 5,400); derece 2'de 44,044 (SD=89,565; median 16,150) bulundu, bu iki grup arasında serum IL-6 düzeyleri belirgin derecede farklı olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p=0,032$ ), serum IL-6 düzeyi derece 0'da ortalama 33,380 (SD=82,302; median 5,400); derece 3'de 127,350 (SD=150,243; median 51,800) bulundu, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p=0,004$ ) aynı zamanda derece 1'de serum IL-6 düzeyi ortalama 11,580 (SD=10,405; median 7,800), derece 3'de ortalama 127,350 (SD=150,243; median 51,800) bulundu bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p=0,008$ ). (tablo-11)

**Tablo-11. Çalışma grubu serum sitokin düzeyleri ve kemik lezyonu ilişkisi**

| Kemik lezyonları derecesi |                | IL-6    | IL-1beta | TNF-alfa | VEGF   | HGF    |
|---------------------------|----------------|---------|----------|----------|--------|--------|
| 0                         | Mean           | 33,380  | 1,640    | 3,145    | 18,140 | 15,965 |
|                           | Std. Deviation | 82,302  | 0,795    | 6,845    | 17,416 | 4,187  |
|                           | Median         | 5,400   | 1,400    | 0,650    | 12,100 | 15,400 |
|                           | N              | 20      | 20       | 20       | 20     | 20     |
| 1                         | Mean           | 11,580  | 2,120    | 3,510    | 16,010 | 16,000 |
|                           | Std. Deviation | 10,405  | 0,998    | 7,045    | 11,813 | 1,132  |
|                           | Median         | 7,800   | 1,850    | 1,350    | 11,400 | 16,050 |
|                           | N              | 10      | 10       | 10       | 10     | 10     |
| 2                         | Mean           | 44,044  | 3,413    | 6,175    | 17,806 | 16,769 |
|                           | Std. Deviation | 89,565  | 3,816    | 8,643    | 12,435 | 4,021  |
|                           | Median         | 16,150  | 2,000    | 1,850    | 14,250 | 16,650 |
|                           | N              | 16      | 16       | 16       | 16     | 16     |
| 3                         | Mean           | 127,350 | 8,188    | 5,569    | 41,775 | 15,550 |
|                           | Std. Deviation | 150,243 | 22,437   | 9,576    | 26,331 | 3,533  |
|                           | Median         | 51,800  | 2,100    | 1,800    | 54,900 | 16,150 |
|                           | N              | 16      | 16       | 16       | 16     | 16     |

|       |                |         |        |       |        |        |
|-------|----------------|---------|--------|-------|--------|--------|
| Total | Mean           | 56,866  | 3,865  | 4,611 | 23,810 | 16,071 |
|       | Std. Deviation | 107,296 | 11,610 | 8,039 | 20,933 | 3,591  |
|       | Median         | 10,200  | 1,800  | 1,450 | 13,650 | 15,850 |
|       | N              | 62      | 62     | 62    | 62     | 62     |

Çalışma grubu kemik lezyon derecesi ile serum IL-1 $\beta$  düzeyi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $\chi^2=3,12$ ;  $p=0,373$ ), ancak kemik lezyonları dereceleri arasında, derece arttıkça serum IL-1 $\beta$  düzeyi artıyor, en fazla artış derece 3 lezyonlarına sahip hastalarda gözlenmektedir. (tablo-11)

Çalışma grubu kemik lezyon derecesi ile serum TNF- $\alpha$  düzeyi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $\chi^2=6,23$ ;  $p=0,101$ ), ancak derece 0 ve derece 1'e sahip hastalara göre derece 2 ve derece 3 lezyonlarına sahip hastalarda ortalama değerler daha yüksek bulundu.(tablo -11)

Çalışma grubu kemik lezyon derecesi ile serum HGF düzeyi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $\chi^2=0,73$ ;  $p=0,806$ ).

Çalışma grubu kemik lezyon derecesi ile serum VEGF düzeyi karşılaştırıldığında en az bir grubun istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği görüldü ( $\chi^2= 10,22$ ;  $p= 0,017$ ), fark saptanan gruplar derece 0 ile derece3, derece1 ile derece 3 ve derece 2 ile derece 3 arasında olup serum VEGF düzeyi derece 0'da ortalama 18,140 (SD=17,416; median 12,100); derece 3'de 41,775 (SD=26,331;median 54,900) bulundu, bu iki grup arasında serum VEGF düzeyleri belirgin derecede farklı olup ististiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p=0,009$ ), serum VEGF düzeyi derece 1'de ortalama 16,010 (SD=11,813; median 11,400); derece 3'de 41,775 (SD=26,331; median 54,900 ) bulundu , bu iki grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p=0,020$ ) aynı şekilde derece2'de serum VEGF düzeyi ortalama 17,806 (SD=12,435; median 14,250), derece 3'de ortalama 41,775 (SD=26,331; median 54,900) bulundu bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tesbit edildi ( $p=0,016$ ). (tablo-11)

Çalışma grubu kendi içinde alt evrelere (kreatinin<2 mg/dl = EA, kreatinin  $\geq$  2 mg/dl=EB ) göre serum IL-6 değerleri karşılaştırıldığında evre A'da serum IL-6 düzeyi ortalama 31,807 pg/ml (SD=66,796; median 9,800), evre B'de serum IL-6 düzeyi ortalama 154,700 pg/ml (SD=162,233; median 62,550) bulundu ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $t=2,76$ ;  $p=0,015$ ). Evre B olan hastalarda serum IL-6 düzeyleri, evre A hastalarına göre oldukça yüksekti. (tablo-12)



Çalışma grubu kendi içinde alt evrelere göre serum VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında evre A'da serum VEGF ortalama değeri 19,710 pg/ml (SD=17,755; median12,750); evre B'de serum VEGF düzeyi ortalama 42,314 pg/ml (SD= 23,250; median 48,000) saptandı iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (t=3,33; p=0,04) Evre B olan hastalarda serum VEGF düzeyleri bariz şekilde yüksekti. (tablo-12)

**Tablo 12. Çalışma grubu kendi içinde alt evrelere göre sitokin düzeyi**

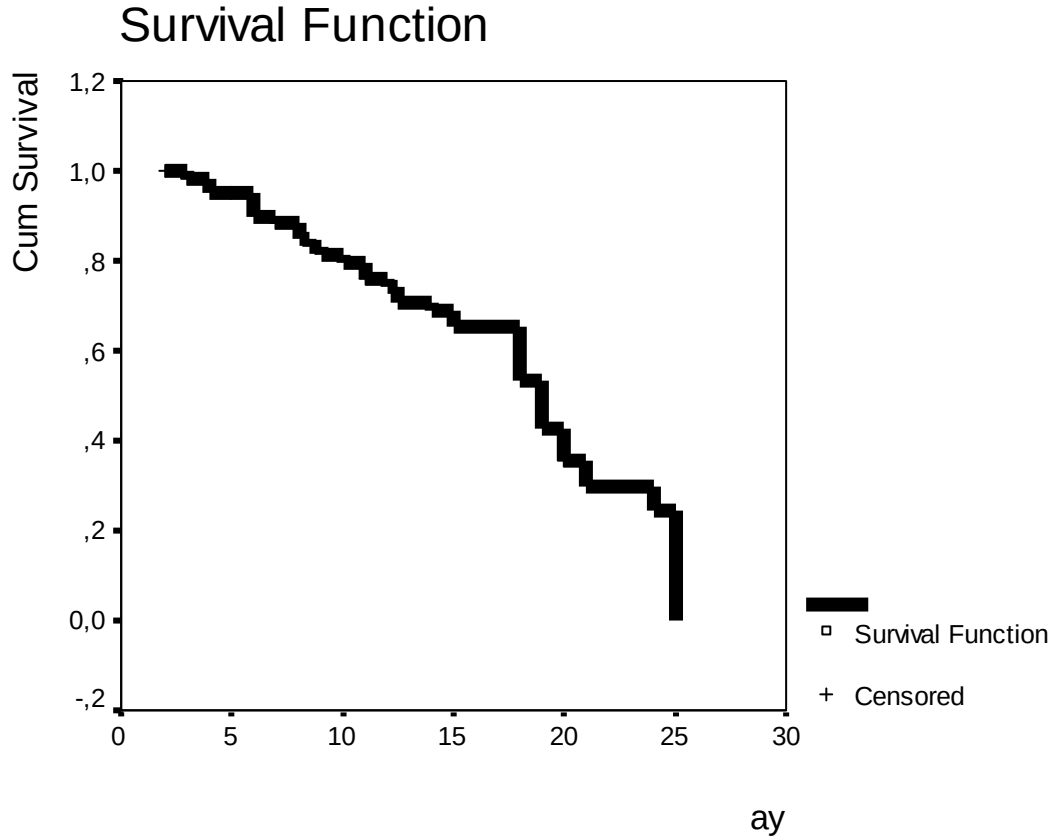
| EVRE   |                | IL-6    | IL-1beta | TNF-alfa | VEGF   | HGF    |
|--------|----------------|---------|----------|----------|--------|--------|
| EVRE A | Mean           | 31,807  | 2,090    | 3,648    | 19,710 | 16,257 |
|        | Std. Deviation | 66,796  | 1,781    | 6,764    | 17,755 | 3,060  |
|        | Median         | 9,800   | 1,700    | 1,400    | 12,750 | 15,750 |
|        | N              | 42      | 42       | 42       | 42     | 42     |
| EVRE B | Mean           | 154,700 | 10,014   | 7,471    | 42,314 | 15,179 |
|        | Std. Deviation | 162,233 | 23,867   | 11,018   | 23,250 | 3,982  |
|        | Median         | 62,550  | 2,350    | 1,750    | 48,000 | 16,150 |
|        | N              | 14      | 14       | 14       | 14     | 14     |
| Total  | Mean           | 62,530  | 4,071    | 4,604    | 25,361 | 15,988 |
|        | Std. Deviation | 111,491 | 12,206   | 8,099    | 21,455 | 3,309  |
|        | Median         | 11,150  | 1,800    | 1,450    | 15,250 | 15,850 |
|        | N              | 56      | 56       | 56       | 56     | 56     |

Çalışma grubu kendi içinde alt evrelere göre serum IL-1 $\beta$ , serum TNF- $\alpha$ , serum HGF düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı; sırasıyla (t=1,24; p=0,236), (t=1,22; p=0,238), (t=1,06; p=0,295). Ancak IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  düzeyleri evre A'ya göre evre B'de oldukça yüksek bulundu.

Çalışma grubunun; sağ kalım süresi ortalama 17,4 ay (median 19 ay) olup tüm hastaların izlem süresi 25 aydır, bu izlem süresi içinde 62 hastanın 6 tanesi kaybedildi, sağ kalan hastalarla, kaybedilen hastalar arasında serum sitokin düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı; ancak ex grubunda her ne kadar vaka sayısı küçük olsada sitokin değerleri arasında serum IL-6, IL-1  $\beta$  ve VEGF değerleri sağ kalan gruba göre dikkat çekici düzeyde yüksek bulundu.

**Tablo 13. Sağ kalan ve ölen hastalarda serum sitokin düzeyi ilişkisi**

| Sağ kalım durumu |                | IL-6    | IL-1beta | TNF-alfa | VEGF   | HGF    |
|------------------|----------------|---------|----------|----------|--------|--------|
| Ölü              | Mean           | 77,367  | 5,250    | 4,133    | 29,867 | 14,783 |
|                  | Std. Deviation | 133,979 | 5,077    | 7,115    | 25,869 | 3,945  |
|                  | Median         | 32,550  | 3,050    | 1,400    | 17,050 | 14,000 |
|                  | N              | 6       | 6        | 6        | 6      | 6      |
| Sag              | Mean           | 54,670  | 3,716    | 4,663    | 23,161 | 16,209 |
|                  | Std. Deviation | 105,288 | 12,121   | 8,188    | 20,512 | 3,562  |
|                  | Median         | 9,950   | 1,750    | 1,450    | 13,650 | 16,000 |
|                  | N              | 56      | 56       | 56       | 56     | 56     |
| Total            | Mean           | 56,866  | 3,865    | 4,611    | 23,810 | 16,071 |
|                  | Std. Deviation | 107,296 | 11,610   | 8,039    | 20,933 | 3,591  |
|                  | Median         | 10,200  | 1,800    | 1,450    | 13,650 | 15,850 |
|                  | N              | 62      | 62       | 62       | 62     | 62     |



**grafik-1. Sağ kalım ve ortalama izlem süresi eğrisi**

## TARTIŞMA

Multiple myelom; monoklonal plazma hücrelerinin klonal artışı ile ortaya çıkan malign, bir hastalıktır. Plazma hücreleri, monoklonal protein olarak isimlendirilen tek tip Ig üretirler.(2,3,4,7,9,10,13,18,26,33,52)

Kemik iliği stroma hücreleri ve myelom hücreleri MM patogenezinde önemli bir role sahip çeşitli proinflamatuvar ve proangiogenik sitokinleri salgırlar. Bu proinflamatuvar sitokinlerden, IL-6; PI-3k (phosphotidil inisitol-3 kinase) sinyal ve hücre dışı sinyali ile yönetilen kinaz yolunu aktive ederek myelom hücreleri için önemli bir büyüme ve yaşam faktörüdür.(3,4,7,10,12,18) IL-6 plazma hücrelerinden VEGF, IL-1 $\beta$ , MIP1 $\alpha$ , üretimini düzenler; dendritik hücrelerin antijen sunumunu inhibe ederek immun yetmezlikten de sorumlu bir sitokindir.(4) Myelom hastalarında; IL-6'nın artmış serum seviyeleri ile tümör yükü, kemik lezyonları, hipoalbuminemi, anemi ve myelom böbreğinin gelişimi arasında yakın ilişki olduğu bilinmektedir.(12,38,40) Diğer proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 $\beta$  güçlü bir osteoklast aktive edici faktördür (OAF). Adezyon moleküllerinin ekspresyonunu sağlarken, aynı zamanda parakrin mekanizma ile IL-6 salınımını uyarır. TNF- $\alpha$ 'da IL-1 $\beta$ 'ya benzer şekilde kemik rezorbsiyonlarına yol açan güçlü bir proinflamatuvar sitokindir. TNF- $\alpha$  ile kemik iliği stroma hücreleri ile plazma hücreleri vasküler adezyon molekülleri yoluyla hücreden hücreye etkileşir; OAF salınımı artar. MM'deki litik kemik lezyonları, osteoporoz ve hiperkalsemi gelişir.(4,9,14,15,16,17,18)

Angiogenezis kanserlerin büyümesinde, progresyonunda ve metastazlarında önemlidir. MM'da angiogenik faktörler aşırı ekspresedir. Bu angiogenik sitokinlerin etkisi ile oluşan kemik iliği neovaskülarizasyonu hastalık aktivitesi ve kötü prognoz ile ilişkilidir.(23,34,35,52,53,54) Anjiogenezi sitümüle eden büyüme faktörleri; direkt ve indirekt angiogenler veya angiogenik moleküller olarak iki gruba ayrılırlar. Direkt angiogenler; IL-8, VEGF, bFGF, HGF'dir. İndirekt angiogenler ise direkt angiogenlerin parakrin situmulasyonunu sağlayarak angiogenik etkilerini oluştururlar, bunlar IL-6, TNF- $\alpha$ , Platelet-derived growth factor (PDGF) ve transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) dır.(23)

Çalışmamızda yeni tanı almış MM hastalarında ve sağlıklı kontrol grubunda, IL-6, IL-1 $\beta$  , TNF- $\alpha$ , VEGF, HGF düzeylerini inceledik. Klinik seyir ve laboratuvar verileri ile tanı sırasında elde edilen serum sitokin düzeyleri arasında ilişki varlığını araştırdık.

Çalışmamızda MM olgularının tanı aşamasında özellikle serum IL-6, TNF- $\alpha$  düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gözlemledik.

Literatürlerde aksi verilerin bildirilmesine rağmen (33,34,36,52,53 ) aynı anlamlı farkı VEGF, HGF ve IL-1 $\beta$  arasında saptayamadık.

MGUS ve EIII ile serum IL-6 artışı istatistiksel anlamlı bulundu. Bu durum IL-6 artışı ile tümör yükü fazlalığı dolayısı ile ileri evreye geçiş ile uyumlu bir bulgu idi.

Aleksandrakis MG ve arkadaşlarının yeni tanı almış 47 MM'lu hasta grubunda yapmış oldukları benzer bir çalışmada serum IL-6 konsantrasyonlarını bizim çalışmamızda olduğu gibi hastalığın çeşitli evreleri ile karşılaştırdıklarında; EI ile EIII arasında anlamlı fark bulmuşlar, yine çalışma grubunda serum IL-6 değerlerini, kontrol grubuna nazaran yüksek bulmuşlardır.(36) Yine aynı araştırmacıların yapmış oldukları başka bir çalışmada ise 46 yeni tanı MM hastalarında sIL-6r seviyelerinin kontrol grubuna göre çalışma grubunda serum sIL-6r seviyelerini oldukça yüksek bulmuşlar. Çalışma grubunda ayrıca EI'e göre EII ve EIII'de anlamlı derecelerde yüksek bulmuşlardır. Araştırmacılar yüksek serum sIL-6r'nin ileri evre hastalık ve kötü prognoz göstergesi olduğunu bildirmişler.(52) Çalışmamız sonuçları Aleksandrakis MG ve ark.ın sonuçlarına benzerdir.

Orhan Sezer ve arkadaşlarının çalışmasında ise yeni tanı almış MM hastalarının, serum IL-6 düzeylerinin kontrol grubu ayrıca MM hastalık evreleri ile ilişkili anlamlı fark bildirmemişlerdir.(35) Ancak başka bir çalışmada yeni tanı MM hastalarında IL-6 ile hastalık evreleri arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir.(55)

Yapmış olduğumuz çalışmada serum IL-6 düzeyi ile bilinen prognostik faktörlerden serum  $\beta$ 2 mikroglobulin, CRP, serum albumin ve serum LDH düzeyleri arasında korelasyon araştırıldığı da; serum  $\beta$ 2 mikroglobulin ve LDH arasında korelasyon bulunmamıştır. Serum IL-6 ile CRP arasında pozitif korelasyon, serum albumin düzeyleri ile negatif korelasyon gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi farklı çalışmalarda da serum  $\beta$ 2 mikroglobulin ile IL-6 arasında bir korelasyon gösterilememiştir.(56) Çalışmamıza benzer şekilde serum albumin seviyeleri ile negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiş,(41) serum IL-6 ile serum CRP düzeyleri arasında ise güçlü pozitif korelasyon bildirilmiştir.(18,36) Serum albumini; IL-6'nın, karaciğer fonksiyonunun ve hastanın beslenme durumunun indirekt bir göstergesidir. Serum CRP invivo IL-6 aktivitesini gösterdiği için artmış düzeyleri kötü prognoz göstergesidir.(38,40,57)

Çalışmamızda MM olgularının tanı aşamasında serum VEGF düzeylerinin daha önce bildirilmiş çalışmaların aksine sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olmadığını gözlemledik.(34,52,53) Serum VEGF düzeyleri ile hastalık evreleri arasında yapılan karşılaştırmada EI, EII, EIII arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Ancak MGUS, EvreII ve MGUS ile EIII arasında istatistiksel anlamda fark görüldü. Diğer

evreler arasında istatistiksel anlamda fark tesbit edilmemiş olsa da evre arttıkça serum VEGF değerlerinde belirgin düzeyde bir artış dikkati çekmektedir. Yüksek VEGF düzeylerinin ileri evre hastalık ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.(23) Aleksandrakis MG ve arkadaşlarının yeni tanı almış 42 MM'lu hasta grubunda yapmış oldukları başka bir çalışmada ise serum VEGF düzeyleri bizim çalışmamıza benzer şekilde; ileri hastalık evresinde (EIII hastalarında EI ve EII'ye göre) anlamlı derecede yüksek bulmuşlar.(53) Araştırmacıların başka bir çalışmasında 46 yeni tanılı MM hastalarında VEGF seviyelerini ileri evre hastalarda (EI ve EII hastalarına nazaran EIII) oldukça yüksek bulunmuştur.(52) Ayrıca serum VEGF düzeyleri ile önemli prognostik faktörlerden; serum  $\beta 2$  mikroglobulin, serum CRP ve LDH düzeyleri arasında korelasyon saptanmıştır.(52) Başka bir çalışmada ise serum VEGF ile serum  $\beta 2$  mikroglobulin, serum CRP ile güçlü pozitif korelasyon, serum albumin düzeyleri ile ise negatif korelasyon gözlemlenmiştir.(53) Bizde çalışmamızda serum VEGF düzeyleri ile serum  $\beta 2$  mikroglobulin, serum CRP düzeyleri arasında güçlü pozitif korelasyon, serum albumin düzeyleri ile ise negatif korelasyon gözlemledik. Tsuyoshi Iwasaki ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada ise yeni tanı almış 52 MM hastalarında serum HGF ve serum VEGF düzeylerine bakılmış, bu angiogenik faktörlerden VEGF ile MM'un hastalık evreleri ve prognostik kriterler (serum  $\beta 2$  mikroglobulin, serum CRP ve LDH, serum albumin) arasında korelasyon saptamamışlardır.(34) Yine başka bir çalışmada ise VEGF ile CRP, serum  $\beta 2$  mikroglobulin ve trombosit sayısı arasında korelasyon bildirilmiştir.(28)

Çalışmamızda; çalışma grubunu kemik lezyonlarının derecelerine göre gruplandırıp sitokin ilişkisini araştırdığımızda, kemik lezyonlarının dereceleri ile serum IL-6, VEGF arasında istatistiksel olarak anlamlı yükseklikler saptadık, derece arttıkça bu iki sitokin düzeylerinin artmış olduğunu gördük bu nedenle bu iki sitokinin direkt olarak kemik lezyon gelişiminde önemli olduğunu düşünmekteyiz. Diğer sitokinlerden IL-1 $\beta$  , TNF- $\alpha$  ile kemik lezyonları arasında istatistiksel anlamda fark saptayamamış olsak ta literatür bilgileri ile uyumlu olarak kemik lezyon derecesi arttıkça bunların düzeylerinde belirgin artış gözledik, HGF'de ise böyle bir artış göremedik. Yüksek serum VEGF'nun yaygın osteolitik destrüksiyonla ilişkili olduğu(53) ve IL-6 ile birbirlerine sinerjik etki yaptıklarını düşünmekteyiz. VEGF in vitro olarak osteoklast aktivasyonunu (osteoclastic bone-resorbing activity) ve osteoklast kemotaksisini stimüle ederek(28) litik kemik lezyonlarının oluşumuna katkıda bulunduğu daha önceki çalışmalarda da bildirilmektedir.(28,30,58)

Yaptığımız çalışmada; yeni tanı MM olgularından oluşan çalışma grubu kendi içinde böbrek yetmezliğine sahip hastalarla (serum kreatinin  $\geq 2$  mg/dl=Evre B), böbrek yetmezliğine sahip olmayan hastalar (serum kreatinin  $< 2$  mg/dl = Evre A) olarak iki gruba ayrıldı. Bu iki

grup arasında serum sitokin düzeyleri ile ilişki araştırıldığında; serum IL-6 ve serum VEGF düzeyleri arasında ilişki saptandı. Evre B hastalarında serum IL-6 ve serum VEGF düzeyleri ile Evre A hastalarındaki düzeyler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Ancak böylesi bir ilişkiyi diğer serum sitokinleri (IL-1 $\beta$ , serum TNF- $\alpha$ , serum HGF) ile saptayamadık. Aynı zamanda serum IL-6 ve serum VEGF değerleri ile serum kreatinin değerleri arasında pozitif korelasyon saptadık. Literatür gözden geçirildiğinde; renal yetmezliğe sahip MM hastalarında direkt serum sitokin ilişkisini araştıran çalışmalar oldukça azdı. Fakat IL-6 ile myelom böbreğinin gelişimi arasında yakın ilişki olduğu bilinmektedir.(12,40,59) Ursnaska –Zubkiewicz’in yapmış olduğu bir çalışmada, 17 yeni tanı, 19 progresif toplam 36 MM hastasında tedaviden önce serum TNF- $\alpha$ , IL-6 ve sIL-6R düzeylerini çalışma grubunda, sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlar. Çalışma grubu içinde ise renal yetmezliğe sahip hastaların serum IL-6 ve sIL-6R seviyelerini renal yetmezliğe sahip olmayan hastalara göre istatistiksel anlamda oldukça yüksek bulunduğu, bu değerlerin tedavi sonunda önemli derecede azaldığını bildirilmiştir.(60) Ursnaska – Zubkiewicz ve arkadaşlarının 34 (17 yeni tanı,17 progresif hastalık) MM hasta üzerinde serum VEGF düzeylerinin klinik önemini araştırdıkları başka bir çalışmada; serum VEGF düzeylerini sağlıklı kontrol grubuna göre çalışma grubunda, aynı şekilde EIII hastalarında EII hastalarına göre anlamlı bir şekilde yüksek bulmuşlar.Bu çalışmada renal yetmezliğe sahip hasta grubunda ( kreatinin> 2 mg/dl ), renal yetmezliğe sahip olmayan hasta grubuna göre serum VEGF seviyelerini istatistiksel anlamda yüksek bulunduğu bildirildi. Ayrıca hiperviskosite bulgularına sahip hastalarla, hiperviskosite bulgularına sahip olmayan hastalar arasında da serum VEGF seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmış. Bu çalışmanın sonucunda; yüksek serum VEGF düzeylerinin ilerlemiş hastalık, ilerlemiş klinik durum ve kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmektedir.(61)

Shen JK ve arkadaşlarının MM’da serum IL-6 ve serum VEGF düzeylerinin klinik önemini araştırdıkları bir çalışmada; VEGF ile kreatinin, IL-6 ile CRP ve kalsiyum arasında korelasyon bulunduğunu, serum IL-6 kemik lezyonuna sahip hastalarda lezyon derecelerine göre anlamlı düzeylerde yüksek bulunduğunu, ayrıca her iki sitokin ile hastalık evreleri arasında anlamlı ilişki saptandığı bildirilmektedir.(62)

Sonuç olarak yeni tanı konulan MM hastalarında tanı esnasında yüksek serum IL-6 ve VEGF düzeyleri ile ileri evre hastalık arasında pozitif ilişki bulunduğunu, serum IL-6’nın; serum CRP ve serum albumin düzeyleri ile, serum VEGF’un; serum  $\beta$ 2 mikroglobulin, serum CRP ve serum albumin düzeyleri ile olan korelasyondan dolayı önemli birer bağımsız prognostik faktör bulunduğunu, MM hastalarında yüksek serum IL-6 ve VEGF seviyelerinin bu hastalarda

böbrek yetmezliğinin patogeneğinde ve ileri evre kemik lezyonlarının gelişiminde önemli bir rol oynadığını düşünmekteyiz. Sitokinlerin sağ kalım üzerine etkilerini belirlemek için izlem süresinin yeterli olmadığını düşünmemize rağmen yüksek serum IL-6, IL-1B, VEGF düzeylerinin sağ kalımı olumsuz etkilediğini düşünmekteyiz bu hasta grubunun 3 ve 5 yıllık sağ kalım oranları ortaya konulduğunda ulaştığımız sonuçların daha da destekleneceğini düşünüyoruz.

## ÖZET

Multipl myelom ( MM ) kemik iliğinde malign plazma hücrelerinin klonal çoğalması ile karakterize bir B hücre neoplazisidir. Tümör hücreleri proliferasyonu ve apoptoza karşı direnç gelişimi sonucu hastalık oluşmakta ve osteolitik kemik lezyonları, anemi, hiperkalsemi hiperviskosite, enfeksiyonlara eğilim ve böbrek fonksiyon bozukluğu gibi klinik-laboratuvar bozuklukları ile ortaya çıkmaktadır. MM klinik seyri oldukça değişkendir; tüm yaşam süresi 10 yıldan daha fazla olan hafif tipler ile tüm yaşam süresi ancak bir kaç ay olabilen çoklu ilaç direnci ve kötü seyir gösteren hastalık tiplerini de içerebilir. Yaşam süresindeki bu değişkenlik, myelom hücre biyolojisi, mikroçevre etkileşimi ve konakla ilgili birçok faktöre bağlıdır. Hastalık seyrinin önceden belirlenebilmesi, prognostik faktörlerin kullanımı ile risk gruplarının daha iyi tanımlanabilmesi, hastalık patogenezinin daha kapsamlı anlaşılması ve hastalık biyolojik bilgisine göre yeni tedavi girişimlerinin standardize edilebilmesi için MM'lu hastaların sınıflandırılmaları gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Bizde çalışmamızda yeni tanı almış MM hastalarında ve sağlıklı kontrol grubunda, IL-6, IL-1 $\beta$  , TNF- $\alpha$ , VEGF, HGF düzeylerini inceledik. Klinik seyir, laboratuvar verileri ve hastaların sitogenetik dışı prognostik faktörleri ile çalışmamız sırasında elde edilen serum sitokin düzeyleri arasında ilişki varlığını araştırdık. Serum sitokin düzeylerinin tanı aşamasında klinik seyir ön kestiriminde belirteç olarak ileriye yönelik tedavi yaklaşımının belirlenmesindeki yerini araştırdık.

Bu amaçla 2005–2007 yılları arasında Hematoloji polikliniğimize başvuran, MM tanısı konulmuş ve henüz tedavi almamış 21 kadın 41 erkek toplam 62 hasta çalışmaya alındı. Kontrol grubu ise 12 erkek 9 kadın toplam 21 kişiden oluştu.

Çalışmamızda MM olgularının tanı aşamasında özellikle serum IL-6, TNF- $\alpha$  düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gözlemledik. Literatürlerdeki verilerin aksine aynı anlamlı farkı VEGF, HGF ve IL-1 $\beta$  arasında saptayamadık.

MGUS ve EIII ile serum IL-6 artışı istatistiksel anlamlı bulundu. Bu durum IL-6 artışı ile tümör yükü fazlalığı dolayısı ile ileri evreye geçiş ile uyumlu bir bulgu idi.

Yapmış olduğumuz çalışmada serum IL-6 düzeyi ile bilinen prognostik faktörlerden serum  $\beta$ 2 mikroglobulin, CRP, serum albumin ve serum LDH düzeyleri arasında korelasyon araştırıldığı da; serum IL-6 ile CRP arasında pozitif korelasyon, serum albumin düzeyleri ile negatif korelasyon gözlemlenmiştir. Serum VEGF düzeyleri ile hastalık evreleri arasında yapılan karşılaştırmada EI, EII, EIII arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.



Ancak MGUS, EvreII ve MGUS ile EIII arasında istatistiksel anlamda fark görüldü. Diğer evreler arasında istatistiksel anlamda fark tesbit edilmemiş olsa da evre arttıkça serum VEGF değerlerinde belirgin düzeyde bir artış dikkati çekmektedir. çalışmamızda serum VEGF düzeyleri ile serum  $\beta 2$  mikroglobulin, serum CRP düzeyleri arasında güçlü pozitif korelasyon, serum albumin düzeyleri ile ise negatif korelasyon gözlemledik

Çalışmamızda; çalışma grubunu kemik lezyonlarının derecelerine göre gruplandırıp sitokin ilişkisini araştırdığımızda, kemik lezyonlarının dereceleri ile serum IL-6, VEGF arasında istatistiksel olarak anlamlı yükseklikler saptadık, derece arttıkça bu iki sitokin düzeylerinin artmış olduğunu gördük bu nedenle bu iki sitokinin direkt olarak kemik lezyon gelişiminde önemli olduğunu düşünmekteyiz. Çalışma grubu kendi içinde alt evrelere göre karşılaştırıldığında; serum IL-6 ve serum VEGF düzeyleri arasında ilişki saptandı. Evre B hastalarında serum IL-6 ve serum VEGF düzeyleri ile Evre A hastalarındaki düzeyler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Ancak böylesi bir ilişkiyi diğer serum sitokinleri ( IL-1 $\beta$ , serum TNF- $\alpha$ , serum HGF) ile saptayamadık. Aynı zamanda serum IL-6 ve serum VEGF değerleri ile serum kreatinin değerleri arasında pozitif korelasyon saptadık

Sonuç olarak yeni tanı konulan MM hastalarında tanı esnasında yüksek serum IL-6 ve VEGF düzeyleri ile ileri evre hastalık arasında pozitif ilişki olduğunu, serum IL-6'nın; serum CRP ve serum albumin düzeyleri ile, serum VEGF'un; serum  $\beta 2$  mikroglobulin, serum CRP ve serum albumin düzeyleri ile olan korelasyondan dolayı önemli birer bağımsız prognostik faktör olduğunu, MM hastalarında yüksek serum IL-6 ve VEGF seviyelerinin bu hastalarda böbrek yetmezliğinin patogenezinde ve ileri evre kemiklezyonlarının gelişiminde önemli bir rol oynadığını düşünmekteyiz. Sitokinlerin sağ kalım üzerine etkilerini belirlemek için izlem süresinin yeterli olmadığını düşünmemize rağmen yüksek serum IL-6, IL-1B, VEGF düzeylerinin sağ kalımı olumsuz etkilediğini düşünmekteyiz bu hasta grubunun 3 ve 5 yıllık sağ kalım oranları ortaya konulduğunda ulaştığımız sonuçların daha da destekleneceğini düşünüyoruz.

## SUMMARY

Multiple myeloma (MM) is a B-cell neoplasm characterized by clonal proliferation of malignant plasma cells in the bone marrow. The disease results from the proliferation of tumor cells and development of resistance to apoptosis, and it manifests with clinical-laboratory disorders such as osteolytic bone lesions, anemia, hypercalcemia, hyperviscosity, predisposition to infections and renal function impairment. The clinical course of MM is quite variable; it may include mild types involving a survival of more than 10 years, and disease types that exhibit a multi-drug resistance and a poor clinical course involving a survival of only a few months. The variability in this life span depends on many factors including myeloma cell biology, microenvironmental interaction and host-related factors. Patients with MM have to be classified for pre-determination of the disease course, better definition of risk groups by use of prognostic factors, more comprehensive understanding of disease pathogenesis and standardization of new treatment modalities by the biological disease data.

In the current trial, IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , VEGF, HGF levels were investigated in patients newly diagnosed with MM and the healthy control group. The presence of any correlation between the clinical course, laboratory data and the non-cytogenetic prognostic factors of patients, and the serum cytokine levels obtained during our trial was investigated. The role of serum cytokine levels as markers in determining future treatment modality for prediction of the clinical course at the time of diagnosis was investigated. For this purpose, a total of 62 patients (21 females and 41 males) diagnosed with MM, who presented to our Hematology outpatient clinic between 2005 and 2007 were enrolled in the trial. The control group consisted of a total of 21 individuals (12 males and 9 females). In our trial, cases with MM were particularly detected to have significantly higher serum IL-6, TNF- $\alpha$  levels compared to the healthy control group. In contrast to the literature data, the same significant difference was not detected for VEGF, HGF, IL-1 $\beta$  levels. MGUS and EIII and serum IL-6 increase were statistically significant. This was a finding consistent with progression to advanced stage due to IL-6 increase and tumor overload. The investigation of a correlation between serum IL-6 level and the established prognostic factors, serum  $\beta$ 2 microglobulin, CRP, serum albumin and serum LDH levels revealed a positive and negative correlation respectively between serum IL-6, and CRP and serum albumin levels. The comparison between serum VEGF levels and the disease stages detected no statistically significant difference between EI, EII and EIII. However, there was a statistically significant difference between MGUS, Stage II and MGUS and EIII. Although no statistically significant difference was detected between the

other stages, a marked increase in VEGF values was noticeable as the stage increased. In the current trial, a positive strong correlation between VEGF values and serum  $\beta 2$  microglobulin and serum CRP levels was detected while a negative correlation was detected between VEGF values and serum albumin levels.

In the current trial, the investigation of the association between the cytokine levels and the grade of bone lesions in the study group revealed a statistically significant highness between the grade of the bone lesions and serum IL-6, VEGF; the levels of these two cytokines were detected to be increased as the grade increased and therefore, we believe that these two cytokines are directly effective in development of bone lesions. Intra-group comparison of the study group by sub-stages detected an association between serum IL-6 and serum VEGF levels. A statistically significant difference was detected between stage A and stage B patients with respect to serum IL-6 and serum VEGF levels. However, such a correlation was not detected for other serum cytokines (IL-1 $\beta$ , serum TNF- $\alpha$ , serum HGF). In addition, a positive correlation was detected between serum IL-6 and serum VEGF values and serum creatinine levels.

In conclusion, we believe that at the time of diagnosis, there's a positive correlation between high serum IL-6 and VEGF levels and advanced-stage disease, serum IL-6 and serum VEGF are important independent prognostic factors due to their respective correlation with serum CRP and serum albumin levels, and serum  $\beta 2$  microglobulin, serum CRP and serum albumin levels in patients newly diagnosed with MM, and that high serum IL-6 and VEGF levels play an important role in the pathogenesis of renal failure and development of advanced-stage bone lesions in MM patients. Although we believe that the duration of monitoring is not enough to determine the effects of cytokines on survival, high serum IL-6, IL-1B, VEGF levels affect survival rates adversely; we think that the results we achieved might be further supported when the 3- and 5-year survival rates are demonstrated.

## KAYNAKLAR

1. Greipp PR, Fonseca R. Plasma cell Dyscrasias. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B editors. Wintrobe's clinical hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA. 2004; 2555-2564
2. Kyle RA, Rajkumar SV, Lust JA. Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Smoldering Multiple Myeloma. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B editors. Wintrobe's clinical hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA. 2004; 2565-2581
3. Tricot G, Fassas A. Multiple Myeloma and other plasma cell disorders. In Hoffman R, Benz JR EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, Mcglave P editors. Hematology Basic Principles and Practice. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, USA. 2005; 1501-1535.
4. Sirohi B, Powles R. Multiple myeloma. The Lancet. 2004 Mar 13; 363:875-887.
5. Kyle RA. Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Solitary plasmacythoma: Implications for progression to overt multiple myeloma. Hematol. Oncol. Clin North Am. 1997 Feb; 11(1):71-87
6. Cesena C, Klersy C, Barbarano L et al. Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. J Clin Oncol 2002; 20:1625-1634
7. Dispenzieri A, Lacy MQ, Greipp PR. Multiple Myeloma. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B editors. Wintrobe's clinical hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA. 2004; 2583-2635
8. De Roos AJ, Baris D, Weiss N, Herrinton LJ. Multiple Myeloma. Cancer Epidemiology and prevention, 3rd edition, Oxford University Press, Newyork, 2006; 919-945
9. George ED, Sadosky R. Multiple Myeloma: Recognition and Management. Am Fam physician. 1999 Apr 1; 59(7):1885-1994
10. Abroun S, Ishikawa H, Tsuyama N, Liu S, Li FJ, Otsuyama K, Zheng X, Obata M, Kawano MM. Receptor synergy of interleukin-6(IL-6) and insulin-like growth factor-I that highly express IL-6 receptor  $\alpha$  myeloma cells. Blood, 2004 Mar; 103(6):2291-2298
11. Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of Interleukin 6. Immunol Today. 1990 Dec; 11(12):443-449
12. Jelinek DF. Mechanisms of myeloma cell growth control. Hematol Oncol Clin North Am. 1999 Dec; 13(6):1145-1157

- 13.** Trikha M, Corringham R, Klein B, Rossi JF. Targeted anti-interleukin-6 monoclonal antibody therapy for cancer: a review of the rationale and clinical evidence. *Clin Cancer Res.* 2003 Oct 15;9(13):4653-65
- 14.** Lust JA, Donovan KA. The role of interleukin-1beta in the pathogenesis of multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1999 Dec;13(6):1117-1125
- 15.** Yamamoto I, Kawano M, Sone T, Iwato K, Tanaka H, Ishikawa H, Kitamura N, Lee K, Shigeno C, Konishi J et al. Production of interleukin 1 beta, a potent bone resorbing cytokine, by cultured human myeloma cells. *Cancer Res.* 1989 Aug 1;49(15):4242-4246.
- 16.** Donovan KA, Lacy MQ, Gertz MA, Lust JA. IL-1beta expression in IgM monoclonal gammopathy and its relationship to multiple myeloma. *Leukemia.* 2002 Mar;16(3):382-5.
- 17.** Lacy MQ, Donovan KA, Heimbach JK, Ahmann GJ, Lust JA. Comparison of interleukin-1 beta expression by in situ hybridization in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma. *Blood.* 1999 Jan 1;93(1):300-305.
- 18.** Kuku I, Bayraktar MR, Kaya E, Erkurt MA, Bayraktar N, Cikim K, Aydogdu I. Serum proinflammatory mediators at different periods of therapy in patients with multiple myeloma. *Mediators Inflamm.* 2005 Aug 14;2005(3):171-174.
- 19.** Beutler B, Cerami A. Cachectin (tumor necrosis factor): a macrophage hormone governing cellular metabolism and inflammatory response. *Endocr Rev.* 1988 Feb;9(1):57-66.
- 20.** Maury CP. Tumour necrosis factor--an overview. *Acta Med Scand.* 1986;220(5):387-394
- 21.** Smith MR, Munger WE, Kung HF, Takacs L, Durum SK. Direct evidence for an intracellular role for tumor necrosis factor-alpha 1. Microinjection of tumor necrosis factor kills target cells. *J Immunol.* 1990 Jan 1;144(1):162-169
- 22.** Hideshima T, Chauhan D, Schlossman R, Richardson P, Anderson KC. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiology of human multiple myeloma: therapeutic applications. *Oncogene.* 2001 Jul 27;20(33):4519-4527.
- 23.** List AF. Vascular endothelial growth factor signaling pathway as an emerging target in hematologic malignancies. *Oncologist.* 2001;6 Suppl 5:24-31.
- 24.** Bellamy WT, Richter L, Frutiger Y, Grogan TM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in hematopoietic malignancies. *Cancer Res.* 1999 Feb 1;59(3):728-33.
- 25.** Giles FJ. The vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway: a therapeutic target in patients with hematologic malignancies. *Oncologist.* 2001;6 Suppl 5:32-9.
- 26.** Podar K, Tai YT, Davies FE, Lentzsch S, Sattler M, Hideshima T, Lin BK, Gupta D, Shima Y, Chauhan D, Mitsiades C, Raje N, Richardson P, Anderson KC.

- Vascular endothelial growth factor triggers signaling cascades mediating multiple myeloma cell growth and migration. *Blood*. 2001 Jul 15;98(2):428-35.
- 27.** Kimlinger T, Kline M, Kumar S, Lust J, Witzig T, Rajkumar SV. Differential expression of vascular endothelial growth factors and their receptors in multiple myeloma. *Haematologica*. 2006 Aug;91(8):1033-40.
- 28.** Di Raimondo F, Azzaro MP, Palumbo G, Bagnato S, Giustolisi G, Floridia P, Sortino G, Giustolisi R. Angiogenic factors in multiple myeloma: higher levels in bone marrow than in peripheral blood. *Haematologica*. 2000 Aug;85(8):800-5.
- 29.** Dankbar B, Padró T, Leo R, Feldmann B, Kropff M, Mesters RM, Serve H, Berdel WE, Kienast J. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood*. 2000 Apr 15;95(8):2630-6.
- 30.** Ribas C, Colleoni GW, Silva MR, Carrezo MJ, Bordin JO. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor immunoexpression in the context of adverse standard prognostic factors in multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2004 Nov;73(5):311-7.
- 31.** Gohda E, Nakamura S, Yamamoto I, Minowada J. Hepatocyte growth factor--pleiotropic cytokine produced by human leukemia cells. *Leuk Lymphoma*. 1995 Oct;19(3-4):197-205.
- 32.** Wader KF, Fagerli UM, Holt RU, Stordal B, Borset M, Sundan A, Waage A. Elevated serum concentrations of activated hepatocyte growth factor activator in patients with multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2008 Nov;81(5):380-383.
- 33.** Seidel C, Borset M, Tureson I, Abildgaard N, Sundan A, Waage A. Elevated serum concentrations of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma. *Blood*. 1998 Feb;91(3):806-812.
- 34.** Iwasaki T, Hamano T, Ogata A, Hashimoto N, Kitano M, Kakishita E. Clinical significance of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2002 Mar;116(4):796-802.
- 35.** Sezer O, Jakob C, Eucker J, Niemöller K, Gatz F, Wernecke K, Possinger K. Serum levels of the angiogenic cytokines basic fibroblast growth factor (bFGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and hepatocyte growth factor (HGF) in multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2001 Feb;66(2):83-8.
- 36.** Alexandrakis MG, Passam FH, Sfiridaki A, Kandidaki E, Roussou P, Kyriakou DS. Elevated serum concentration of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma: correlation with markers of disease activity. *Am J Hematol*. 2003 Apr;72(4):229-33.
- 37.** Borset M, Hjorth-Hansen H, Seidel C, Sundan A, Waage A. Hepatocyte growth factor and its receptor c-met in multiple myeloma. *Blood*. 1996 Nov 15;88(10):3998-4004.

- 38.** Barlogie B, Shaughnessy J, Epstein J, Sanderson R, Anaissie E, Walker R, Tricot G. Plasma cell myeloma. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. Editors. Williams Hematology. Seventh edition, Mc Graw-Hill companies, USA. 2006; pp:1501-33.
- 39.** Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*. 1975 Sep;36(3):842-54.
- 40.** Rajkumar SV, Greipp PR. Prognostic factors in multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1999 Dec;13(6):1295-314.
- 41.** Child JA, Crawford SM, Norfolk DR, O'Quigley J, Scarffe JH, Struthers LP. Evaluation of serum beta 2-microglobulin as a prognostic indicator in myelomatosis. *Br J Cancer*. 1983 Jan;47(1):111-4.
- 42.** Greipp PR, San Miguel J, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, Boccadoro M, Child JA, Avet-Loiseau H, Kyle RA, Lahuerta JJ, Ludwig H, Morgan G, Powles R, Shimizu K, Shustik C, Sonneveld P, Tosi P, Turesson I, Westin J. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2005 May 20;23(15):3412-20.
- 43.** Rajkumar SV, Fonseca R, Lacy MQ, Witzig TE, Lust JA, Greipp PR, Therneau TM, Kyle RA, Litzow MR, Gertz MA. Beta2-microglobulin and bone marrow plasma cell involvement predict complete responders among patients undergoing blood cell transplantation for myeloma. *Bone Marrow Transplant*. 1999 Jun;23(12):1261-6.
- 44.** Depil S, Leleu X, Micol JB, Berthon C, Laï JL, Bauters F, Quesnel B, Facon T. Abnormal cytogenetics and significant bone marrow plasmacytosis are predictive of early progression and short survival in patients with low tumor mass asymptomatic multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2004 Dec;45(12):2481-4.
- 45.** Grogan TM, Spier CM, Salmon SE, Matzner M, Rybski J, Weinstein RS, Scheper RJ, Dalton WS. P-glycoprotein expression in human plasma cell myeloma: correlation with prior chemotherapy. *Blood*. 1993 Jan 15;81(2):490-5.
- 46.** Kyle RA. Multiple Myeloma: An Overview in 1996. *Oncologist*. 1996;1(5):315-23.
- 47.** Longo DL. Plasma cell disorders. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 14th edition. McGraw-Hill Companies, New York, USA. 1998: pp.712-18.
- 48.** Mulligan ME. Myeloma update. *Semin Musculoskelet Radiol*. 2007 Sep;11(3):231-9.
- 49.** Ozaki S. Imaging techniques in multiple myeloma. *Nippon Rinsho*. 2007 Dec;65(12):2261-7. Abstract.

- 50.** San Miguel JF, Bladé Creixenti J, García-Sanz R. Treatment of multiple myeloma. *Haematologica*. 1999 Jan;84(1):36-58.
- 51.** Mehta J, Singhal S. Hyperviscosity syndrome in plasma cell dyscrasias. *Semin Thromb Hemost*. 2003 Oct;29(5):467-71.
- 52.** Alexandrakis MG, Passam FH, Boula A, Christophoridou A, Aloizos G, Roussou P, Kyriakou DS. Relationship between circulating serum soluble interleukin-6 receptor and the angiogenic cytokines basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in multiple myeloma. *Ann Hematol*. 2003 Jan;82(1):19-23.
- 53.** Alexandrakis MG, Sfiridaki A, Miyakis S, Pappa C, Kandidaki E, Alegakis A, Margioris AN. Relationship between serum levels of vascular endothelial growth factor, hepatocyte growth factor and matrix metalloproteinase-9 with biochemical markers of bone disease in multiple myeloma. *Clin Chim Acta*. 2007 Apr;379(1-2):31-5.
- 54.** Jakob C, Sterz J, Zavrski I, Heider U, Kleeberg L, Fleissner C, Kaiser M, Sezer O. Angiogenesis in multiple myeloma. *Eur J Cancer*. 2006 Jul;42(11):1581-90.
- 55.** Alexandrakis MG, Passam FH, Kyriakou DS, Christophoridou AV, Perisinakis K, Hatzivasili A, Foudoulakis A, Castanas E. Serum level of interleukin-16 in multiple myeloma patients and its relationship to disease activity. *Am J Hematol*. 2004 Feb;75(2):101-6.
- 56.** Turesson I, Abildgaard N, Ahlgren T, Dahl I, Holmberg E, Hjorth M, Nielsen JL, Odén A, Seidel C, Waage A, Westin J, Wislöf F. Prognostic evaluation in multiple myeloma: an analysis of the impact of new prognostic factors. *Br J Haematol*. 1999 Sep;106(4):1005-12.
- 57.** Bataille R, Boccadoro M, Klein B, Durie B, Pileri A. C-reactive protein and beta-2 microglobulin produce a simple and powerful myeloma staging system. *Blood*. 1992 Aug 1;80(3):733-7.
- 58.** Podar K, Anderson KC. The pathophysiologic role of VEGF in hematologic malignancies: therapeutic implications. *Blood*. 2005 Feb 15;105(4):1383-95.
- 59.** Şengül Ş, Batuman V. Renal involvement in multiple myeloma: new insight into mechanisms. *Turk. J. Haematol*. 2004;21(2): 59-70.
- 60.** Usnarska-Zubkiewicz L. Level of interleukin-6 (IL-6), soluble interleukin-6 receptors (sIL-6R) and tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in untreated and progressing multiple myeloma *Pol Arch Med Wewn*. 1998 Jan;99(1):30-7. Abstract
- 61.** Usnarska-Zubkiewicz L, Mazur G, Wróbel T, Poreba M, Kuliczowski K. Expression of serum vascular endothelial growth factor correlates with clinical outcome in multiple myeloma. *Pol Arch Med Wewn*. 2003 Jul;110(1):719-24. Abstract



**62.** Shen JK, Dong LH, Qi H, Zhang GS. Clinical significance of serum vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in multiple myeloma. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2005 Feb;30(1):68-71.