

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**KÖK HÜCRE VE REJENERATIF TIP YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**MULTİPL MİYELOM HASTALARINDA KEMOTERAPİ**  
**UYGULAMALARININ NOTCH SİNYAL YOLAĞI ÜZERİNE**  
**ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Oktay AŞICI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Kemal ERGİN**

**AYDIN-2019**

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT .....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Multipl Miyelom .....	4
2.2.1. Multipl Miyelom Tarihçesi.....	5
2.2.2. Multipl Miyelom Klinik Bulgular .....	8
2.2.3. Multipl Miyelom Tanısı ve Tanı Yöntemleri .....	8
2.2.4. Multipl Miyelomun Evreleri.....	12
2.2.5. Multipl Miyelom Tanı Kriterleri .....	14
2.2.6. Multipl Miyelom Tedavi .....	15
2.2. Notch Sinyal Yolağı .....	18
2.2.1. Notch Sinyal Yolağının Temel Bileşenleri.....	19
2.2.2. Notch Sinyal Yolağı Aktivasyonu.....	20
2.2.3. Multipl Miyelomda Notch Sinyal Yolağı Değişiklikleri.....	21
2.2.4. MM Hücrelerinde Notch Sinyallemesinin Homotipik ve Heterotipik Aktivasyonu .....	22
2.2.5. MM hücrelerinde Notch sinyallemesinin Bmsc aracılı heterotipik aktivasyonu .....	23

2.2.6. Notch Sinyallenmesinin MM ile İlişkili Kemik Hastalığı.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. Hasta Grupları ve Materyallerin Toplanması .....	26
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	26
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler.....	27
3.4. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması .....	27
3.5. Serum Notch1 Düzeyinin Belirlenmesi.....	28
3.6. Serum Notch2 Düzeyinin Belirlenmesi.....	31
3.7. Serum Jagged1 Düzeyinin Belirlenmesi.....	34
3.8. Serum Jagged2 Düzeyinin Belirlenmesi.....	37
4. BULGULAR .....	42
4.1. Multipl Miyelom Hastalarında Kemoterapi Uygulamalarının Notch1 Düzeyleri Üzerine Etkisi.....	42
4.2. Multipl Miyelom Hastalarında Kemoterapi Uygulamalarının Notch2 Düzeyleri Üzerine Etkisi.....	43
4.3. Multipl Miyelom Hastalarında Kemoterapi Uygulamalarının Jagged1 Düzeyleri Üzerine Etkisi.....	44
4.4. Multipl Miyelom Hastalarında Kemoterapi Uygulamalarının Jagged2 Düzeyleri Üzerine Etkisi.....	45
4.5. Multipl Miyelom Hastalarında Notch1, Notch2, Jagged1 ve Jagged2 Düzeylerinin Kemoterapi Öncesi Ve Sonrası Diğer Aylardaki Etkileşimi.....	46
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	50
KAYNAKLAR.....	51
EKLER .....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	68

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABD</b>	:Amerika birleşik devletleri
<b>ALB</b>	:Albumin
<b>ALL</b>	:Akut lenfoid lösemi
<b>AML</b>	:Akut miyeloid lösemi
<b>ASH</b>	:Amerika hematoloji topluluğu
<b>DSL</b>	: Delta, Serrate, Jagged
<b>EGF</b>	:Epidermal büyüme faktörü
<b>ERK</b>	:Ekstraselluler sinyal regüle eden kinaz
<b>FDA</b>	:Amerikan gıda ve ilaç dairesi
<b>FGFR</b>	:Fibroblast büyüme faktörü
<b>FLC</b>	:Serbest hafif zincir
<b>HD</b>	:Hiperdiploidi
<b>IG</b>	:İmmünoglobulin
<b>IGF</b>	:İnsülin benzeri büyüme faktörü
<b>IL3</b>	:İnterlökin-3
<b>IL6</b>	:İnterlökin-6
<b>IL7</b>	:İnterlökin-7
<b>MAFB</b>	: V-maf musculoaponeurotic fibrosarkom onkogen homolog B
<b>MGUS</b>	:Anlamı bilinmeyen monoklonal gammopati
<b>MM</b>	:Multipl miyelom
<b>NICD</b>	:Notch hücre içi bölge
<b>OBL</b>	:Osteoblast
<b>OCL</b>	:Osteoklast
<b>PCL</b>	:Plazma hücreli lösemi
<b>RANKL</b>	:NF-κB reseptör aktivatörü ligandı

<b>SMM</b>	:Smoldering multipl miyelom
<b>TNF</b>	:Tümör nekroz faktör
<b>TÜİK</b>	:Türkiye istatistik kurumu
<b>UPEP</b>	:İdrar protein elektroferaz
<b>VEGF</b>	:Vasküler endotel büyüme faktörü
<b>WM</b>	:Waldenström makroglubulinemisi



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Multipl miyelomun tarihçesi. ....	7
Şekil 2. MM'li hastaların serum protein elektroforezinin dansitometrede değerlendirilmesi. ....	9
Şekil 3. Sağlıklı ve MM'li hastaların serum elektroforezlerinin görüntüsü.....	9
Şekil 4. Biklonal gamopati durumunda elektroforez görüntüsü ve dansitometre ölçümü .....	10
Şekil 5. Multipl miyelom serum immünoфикsasyonuna örnek .....	10
Şekil 6. Dört klinik aşamada MM progresyonunun ve onkojenik olayların şematik gösterimi: MGUS, SMM, MM, PCL.....	12
Şekil 7. Notch reseptörleri ve DSL ligandları.....	21
Şekil 8. Notch yolağının temel çalışması. ....	22
Şekil 9. MM hücrelerinde Notch sinyallemesinin homotipik ve heterotipik aktivasyonu.....	24
Şekil 10. MM hücrelerinde Notch sinyallemesinin BMSC aracılı heterotipik aktivasyonu ....	25
Şekil 11. Notch hiperaktivasyonu .....	26
Şekil 12. ELISA okuyucusu.....	28
Şekil 13. ....	28
Şekil 14. Serum örnekleri.....	29
Şekil 15. Notch1 analizinde kullanılan standartların hazırlanması .....	30
Şekil 16. Notch1 kalibrasyon eğrisi .....	32
Şekil 17. Notch2 analizinde kullanılan standartların hazırlanması .....	33
Şekil 18. Notch2 kalibrasyon eğrisi .....	35
Şekil 19. Jagged1 analizinde kullanılan standartların hazırlanması.....	36
Şekil 20. Jagged1 kalibrasyon eğrisi .....	38
Şekil 21. Jagged2 analizinde kullanılan standartların hazırlanması.....	39
Şekil 22. Durdurma solüsyonundan önce jagged2 örnekleri.....	40
Şekil 23. Durdurma solüsyonundan sonra Jagged2 örneklerinde oluşan renk değişimi .....	41

<b>Şekil 24.</b> Jagged2 kalibrasyon eğrisi .....	41
<b>Şekil 25.</b> Multipl miyelom hastalarında kemoterapi uygulamalarının notch1 düzeyleri .....	42
<b>Şekil 26.</b> Multipl miyelom hastalarında kemoterapi uygulamalarının notch2 düzeyleri .....	43
<b>Şekil 27.</b> Multipl miyelom hastalarında kemoterapi uygulamalarının Jagged1 düzeyleri .....	44
<b>Şekil 28.</b> Multipl miyelom hastalarında kemoterapi uygulamalarının jagged2 düzeyleri .....	45



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Durie-Salmon Tanı Kriterleri .....	14
<b>Tablo 2.</b> Uluslararası Myelom Çalışma Grubu (IMWG) Aktif Multipl Miyelom, MGUS ve SMM Tanı Kriterleri .....	14
<b>Tablo 3.</b> Farklı türlerde Notch sinyal yolağı ile düzenlenen gelişimsel süreçlerin kapsamlı olmayan bir listesi. ....	18
<b>Tablo 4.</b> Notch sinyal yolağı çekirdek bileşenleri .....	19
<b>Tablo 5.</b> Multipl miyelomda notch sinyal yolağı değişiklikleri.....	22
<b>Tablo 6.</b> Notch1, Notch2, Jagged1 ve Jagged2 düzeylerinin kemoterapi öncesi ve tedavi süresince korelasyon analizi sonuçları.....	46

## ÖZET

### MULTİPL MİYELOM HASTALARINDA KEMOTERAPİ UYGULAMALARININ NOTCH SİNYAL YOLAĞI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

**AŞICI O. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök hücre ve Rejeneratif Tıp Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.**

Multipl Miyelom-Notch sinyal yolağı arasındaki ilişkinin belirlenmesi ve ilgili mekanizmalarının netleştirilmesi için yoğun çalışılan araştırma konularındandır. Yapılacak bu çalışma ile multiple myelom ve notch sinyal yolağı arasındaki ilişkiyi kemoterapi tedavisi boyunca belirlemek amaçlanmaktadır. Böylece bu çalışma ile hastaya uygulanması planlanan kemoterapi tedavi rejimi kombinasyonunu belirlemede ve tedavi süresince hekimlere yarar sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarının anlamlı çıkması halinde günümüzde uygulanan kanser direncine karşı yararlı olduğu düşünülen çoklu ilaç kombinasyonlarının tercih edilmesi eğilimini arttırması planlanmaktadır. Çalışma için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 10.08.2017 tarihinde onay alınmıştır. Çalışmada 04.12.2017-1.07.2019 tarihleri arasında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Hematoloji Polikliniği tarafınca multiple myelom tanısı konulan, kemoterapi tedavisine başlanılan hastalardan kemoterapi öncesi ve sonrası her ay olmak üzere 4 ay boyunca 5'er ml serum tüpüne kan alınmıştır. Çalışmamızda elde edilen; Notch1, Notch2, Jagged1, Jagged2'nin kemoterapi öncesi ve sonrası 4 ay boyunca ölçülen düzeyler SPSS analiz programına girilerek paired samples t test te değerlendirildiğinde sonuçlarımızın anlamsız çıktığı görülmüştür. Bunun nedenleri arasında N sayımızın (22) düşük olması, bağımlı değişken sayılarımızın çeşitli nedenlerden dolayı eşit olmadığı ve kontrol grubunun çalışmaya dahil edilmediği gösterilebilir. Notch1, Notch2, Jagged1, Jagged2 düzeylerin ortalamaları alındığında aylar arasındaki azalış ve artışlar fark edilmiştir. Sonuçlar korelasyon analizi ile değerlendirildiğinde bazı aylar arasındaki düzeylerde korelasyon anlamlı çıkmıştır. Ayrıca myelomun farklı alt tiplerine sahip hastalarda ayrı ayrı değerlendirme yapılarak daha spesifik sonuçlar elde edilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Jagged, kemoterapi, multipl miyelom, notch.

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CHEMOTHERAPY APPLICATIONS ON NOTCH SIGNAL ROAD IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

**AŞICI O. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences, Master's Thesis in Stem Cell and Regenerative Medicine Program, Aydın, 2019.**

Multiple Myeloma is one of the most researched topics to determine the relationship between Notch signaling pathway and clarify the related mechanisms. The aim of this study is to determine the relationship between multiple myeloma and notch signaling pathway throughout chemotherapy treatment. Thus, it is thought that this study will help physicians to determine the combination of chemotherapy treatment regimen planned to be administered to the patient and during treatment. If the results of the study are significant, it is planned to increase the tendency to use multiple drug combinations that are thought to be beneficial against cancer resistance applied today. Approval was obtained from Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee on 10.08.2017. In this study, between the dates 04.12.2017-1.07.2019, Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine Research and Application Hospital by the Hematology Polyclinic patients diagnosed with multiple myeloma and chemotherapy treatment was started before and after chemotherapy every month for 4 months, 5 ml of serum tube. Obtained in our study; When the levels of Notch1, Notch2, Jagged1, Jagged2 were measured for 4 months before and after chemotherapy by entering the SPSS analysis program, paired samples t test showed that our results were meaningless. The reason for this is that our N number (22) is low, our dependent variable numbers are not equal for various reasons and the control group is not included in the study. When the averages of Notch1, Notch2, Jagged1, Jagged2 levels are taken, decreases and increases are observed between the months. When the results were evaluated by correlation analysis, there was a significant correlation between the levels in some months. In addition, more specific results can be obtained by evaluating separately in patients with different subtypes of myeloma.

**Keywords:** Chemotherapy, Jagged, multipl miyelom, notch.

# 1. GİRİŞ

Biyolojik şekilleri oluşturabilme yeteneği çok hücreli yaşamın düzenli ve tekrarlanabilir gelişimi için anahtardır. Bu moleküler oluşum hücrelerin birbirlerinin kaderini ve davranışlarını etkilemesine izin veren hücre sinyalleşmesinin moleküler mekanizmalarıyla mümkün kılınmıştır (Eric, 2004). Hücre sinyalleşmesinin en önemli mekanizmalarından biri, Notch yolu olarak bilinen ve bir sinyalleme sistemini koordine eden bir transmembran reseptörü olan Notch tarafından sağlanmaktadır (Morgan, 1917). Notch hücre yüzeyinde hücre dışı sinyalleri alan ve çekirdekte gen ifadesini düzenleyen fonksiyonel bir proteindir.

Çok hücreli organizmaların embriyonik gelişimi için gerekli olan Notch yolu hücre farklılaşmasını, apoptozu, proliferasyonu ve morfogenezini düzenler (Lai, 2004). Özellikle memelilerde Notch vaskülojenenez, miyogenez, gliogenez, nörogenez ve hematopoez gibi çeşitli süreçleri düzenleyebilir. (Kopan ve Ilagan, 2009). Ayrıca Notch yolu aynı zamanda hücre farklılaşmasını (Lai, 2004) düzenleyerek, kök hücrelerin kendi kendini yenilemesini (Bigas ve ark, 2012) teşvik ederek ve doku gelişmesinde T ve B hücre soyları (Yin ve ark, 2010) ile bağlantılı hücre kaderi seçimini belirleyerek yetişkin dokuların homeostazında rol oynar. Notch sinyalleşmesinin bu önemli süreçlerin düzenlenmesindeki rolü, solid (göğüs kanseri, melanom, kolorektal kanser, glioblastoma, pankreatik kanser) (Mirandola ve ark, 2011) ve hematolojik tümörler (T-ALL, B-ALL, AML, B-CLL, MM) (Colombo ve ark, 2013) dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde Notch reseptörlerinin veya ligandlarının up regülasyonunun ortaya çıkışını açıklayabilir.

Notch ve kanseri birbirine bağlayan çok sayıda çalışma vardır. Yabancıl tip Notch reseptörlerinin, ligandlarının ve hedeflerin aşırı ekspresyonu giderek artan sayıda solid tümörlerde gözlenmektedir (Dang ve ark, 2000; Leethanakul ve ark, 2000). Benzer ekspresyon Hodgkin ve non-Hodgkin lenfoma, akut miyeloid lösemilerin alt kümeleri, B-hücresi kronik lenfoid lösemi ve MM gibi hematolojik malignitelerde ifade edilmiştir (Jundt ve ark, 2002; Hubmann ve ark, 2002; Tohda ve Nara, 2001).

Notch sinyalizasyonunun MM hücrelerinde aktivasyonu apoptozu inhibe etmiştir (Jundt ve ark; 2004). Bir başka çalışmada MM hücrelerinde Notch sinyalizasyonunun aktivasyonu apoptozun inhibisyonuyla sonuçlandı (Jia ve ark; 2004). Notch ligandlarından

Jagged 2'nin ekspresyonu MM hücrelerinde gözlemlendi. Bu aşırı ifade, interlökin-6 (IL-6), vasküler endotelial büyüme faktörü ve insülin benzeri büyüme faktörünün salgılanmasına neden olmuştur (Houde ve ark; 2004). Bu bilgiler Notch sinyalizasyonunun MM'nin hayatta kalması ve büyümesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Notch ligandları MM hücrelerinde tespit edilebilmesine rağmen bunlar kemik iliği stroması ve kemik iliği makrofajları tarafından eksprese edilir (Nefedova ve ark, 2004; Bertrand ve ark, 2000; Felli ve ark, 1999). Bu da p21'in up-regülasyonundan ve MM hücrelerinin kemoterapötiklere karşı duyarlılığının azalmasından kaynaklanan Notch aktivasyonu ve büyümenin durmasıyla sonuçlanır (Nefedova ve ark, 2004). Bu veriler tümör-stroma etkileşiminin Notch sinyalleme ve MM hücrelerinin kemoterapötik ilaçlara duyarlılığını modüle ettiğini göstermektedir.

Son yıllarda, miyelom hücrelerinin moleküler, sitogenetik ve genomik çalışmalarındaki önemli ilerlemeler MM patogenezinin anlaşılmasında, moleküler prognostik sınıflandırmanın ve yeni potansiyel terapötik hedeflerin tanımlanmasının temelini sağlayan önemli bir ilerlemeye olanak sağlamıştır. MM hem kromozom sayısı hem de yeniden düzenlemeleri içeren şiddetli bir genomik kararsızlık ile karakterizedir (Colombo ve ark, 2015).

MM hastalarının % 80'inden fazlasında hiperkalsemi, osteoporoz, kemik ağrısı, kemik kırıkları ve osteoklast aracılı kemik yıkımı nedeniyle kemik hastalığı görülür. Özellikle, hastaların % 70'ine kadar olanlarda yaşam kalitesi, morbidite ve mortalite ile ilişkili omurga kırıkları vardır (Borggrefe ve ark, 2015). Kemik erimesi sadece hastaların yaşam kalitesi için ilgili bir sorun değildir. Aynı zamanda tümörün büyümesini ve hayatta kalmayı desteklediği ve bunun sonucunda ilaç direncinin gelişmesine katkıda bulunduğundan dolayı bu hastalığın gelişiminde kritik bir adımı temsil etmektedir (Abe, 2011 ve Anderson ve ark, 2002).

Bununla birlikte, MM tedavisindeki son gelişmelere ve araştırma merkezlerinin multidisipliner çalışmalar geliştirilmesine rağmen edinilmiş ilaç direnci nedeniyle tam olarak tedavi edilememektedir. Ayrıca, tanı konan hastaların yaklaşık yüzde yirmisi, prognostik belirteçler tarafından tanımlanan tedavi başarısızlığı veya plazma hücreli lösemi olarak tedavi edilmesi nedeniyle yüksek risk altındadır (Mitsiades ve ark, 2007).

Kemoterapi uygulamalarında kullanılan ilk ilaca karşı hızlı bir direncin ortaya çıkması ve bunun daha sonra kullanılan yeni ilaçlara da kolaylıkla aktarılması günümüzde en önemli klinik problemlerden olup bu konuda prelinik deneysel araştırmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Yeni tedavi protokollerinin araştırılması, kemoterapilerin etkinliğini artırıcı

mekanizmaların bulunmasına ihtiyaç vardır. Bu araştırma etkin kemoterapi tedavisi sresinde Notch sinyal yolağının etkisinin azalmasından dolayı Notch düzeyinin tedavi etkinliğinin belirlenmesinde belirteç olarak kullanılabilmesi için fikir verebilir.

Multiple Myelom-Notch sinyal yolağı arasındaki ilişkinin belirlenmesi ve ilgili mekanizmalarının netleştirilmesi için yoğun çalışılan araştırma konularındandır. Yapılan literatür tarama çalışmalarımızda kemoterapi öncesi ve sonrası Notch düzeyine ilişkin karşılaştırılmalı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılacak bu çalışma ile multiple myelom ve notch sinyal yolağı arasındaki ilişkiyi belirleme amaçlanmaktadır. Böylece bu çalışma ile hastaya uygulanması planlanan kemoterapi tedavi rejimi kombinasyonunu belirlemede ve tedavi süresince hekimlere yarar sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarının anlamlı çıkması halinde günümüzde uygulanan kanser direncine karşı yararlı olduğu düşünülen çoklu ilaç kombinasyonlarının tercih edilmesi eğilimini arttırması planlanmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Multipl Miyelom

Plazma hücreleri farklılaşan B lenfosit hücrelerinin en son halidir. Multipl Miyelom kemik iliğindeki plazma hücrelerinin tek klonun proliferasyonudur ve kana veya idrara aşırı miktarda monoklonal Ig ya da Ig parçaları salınımı ile karakterize, hematolojik bir malignitedir (Kyle ve ark, 2003). Bu hücrelerin enerjilerini monoklonal immunoglobulin (M-protein, M-komponent, paraprotein) üretmeye harcadığı, diğer normal “poliklonal” immunoglobulinlerin üretiminin baskılandığı düşünülmektedir. M-proteini IgG, IgA, IgM, IgD ve IgE olarak bir ağır, kappa ( $\kappa$ ) ya da lambda ( $\lambda$ ) olarak bir hafif zincir sınıfı içermektedir. Plazma hücreleri normal şartlarda bölünemezler ve sınırlı bir yaşam döngüleri vardır (Özcan ve ark, 2012; Siegel ve ark, 2015).

Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde MM için risk faktörleri yaş, cinsiyet, etnik köken, ailede multipl miyelom ve/veya lenfohematopoetik kanser görülmesi, MGUS varlığı sayılabilir (Alexander ve ark, 2007; Sergeantanis ve ark, 2015).

MM etiyojisi bilinmeyen bir kanser türüdür ve tüm plazma hücresi hastalıkların %1'ini oluştururken, hematolojik kanserlerin ise %10'ünü temsil eder (Siegel ve ark, 2015). Batı ülkelerinde yıllık insidansı 5,6/100.000'dir. MM genel olarak yaşlı bireylerde görülür. Bu nedenle tanı konulan hastaların ortalama yaşı 70'dir (Anderson, 2001; Palumbo ve Anderson, 2011; Rajkumar ve ark, 2014). Bu hastaların %3 gibi düşük bir oranı da 40 yaşın altındadır. 65 yaş üstünde görülme riski ise 12-16 kat artmaktadır (Alexander ve ark, 2007; Sergeantanis ve ark, 2015). Yetişkinlerde kemik iliğinin aktif olduğu ve kemik iliğince zengin olan omurga, kafatası, pelvis, göğüs kafesi, omuz etkilenirken, eller, ayaklar, kolların ve bacakların alt bölgelerinde rastlanmaz (Moehring, 1982). Otuz yaş altındaki genç hastalara ise tanı konulmadan önce tüm klinik bulgular alanında yeterli deneyime sahip uzman hekimlerce değerlendirilmelidir (Phekoo ve ark, 2004).

MM tüm ırklarda ve tüm coğrafi bölgelerde ortaya çıkar (Cowan ve ark, 2018). İnsidans etnik kökene göre değişmektedir; Afro Amerikalılarda görülme sıklığı, beyazlardakinin 2-3 katıdır (Kyle ve ark, 2003; Waxman ve ark, 2010; Shirley ve ark, 2013). Buna karşılık, Japonya'dan ve Meksikalılardan gelen Asyalılarda risk daha düşüktür (Huang ve ark, 2007; Waxman ve ark, 2010; Shirley ve ark, 2013). MM erkeklerde

kadınlardan biraz daha sık görülür (yaklaşık 1.4: 1). MM gelişme riski vücut kitle indeksi ile artar (Lauby-Secretan ve ark, 2016; Kyrgiou ve ark, 2017; Islami ve ark, 2018). MM gelişme riski birinci derece yakınlarında iki veya daha fazla kişide görüldüğünde genetik yatkınlıktan dolayı 3,7 kat daha yüksektir (Bourguet ve ark, 1985; Lynch ve ark, 2001). MGUS'un varlığı söz konusu ise MM görülme riskinin 25,0 kat artırdığı bilinmektedir. MM görülme riskinin diyete bağlı olarak değiştiği, balık ve yeşil sebze tüketiminin az olduğu durumlarda 1,1-2,5 kat arttığı bildirilmiştir. AIDS varlığı da olası risk faktörleri arasında olup MM görülme olasılığını 4-12 kat arttırırken, herpes zoster enfeksiyonu 1,2-2,6 kat risk artışına neden olmaktadır (Alexander ve ark, 2007; Sergentanis ve ark, 2015). Diğer kanser türleri gibi sigara alkol kullanımının, radyasyona yada kanserojen etkisi olan pestisit, organik çözgenlere maruziyet risk artışına neden olmamaktadır (Sergentanis ve ark, 2015).

Türkiye'de TÜİK'in 2015 yılı verileri değerlendirildiğinde erkeklerde MM insidansı 2,5/100.000 iken kadınlarda ise 1,8/100.000'dir. MM'nin erkeklerde görülme insidansı kadınlara göre daha yüksektir. Ülkemizde MM'nin hem kadın (14,9/100.000) hemde erkekler (24/100.000) için insidansının en yüksek olduğu yaş aralığı 70-74'tür.

### **2.2.1. Multipl Miyelom Tarihçesi**

Sadece klinik tabloya dayanan ilk bildirilen multipl miyelom vakası, "Mollities ve fragilitas ossium" olarak 1844'te Londra'da seçkin bir cerrah olan Solly tarafından tanımlanmıştır. Hasta, Sarah Newbury, sırt ağrısı çeken 39 yaşındaki bir ev hanımıydı. Semptomların başlamasından 4 yıl sonra öldü ve postmortem muayenesinde kırmızı bir maddenin sternumun süngerimsi kısmının yerine her iki femurun yerini aldığını ortaya koydu (Solly, 1844 ve Ribatti, 2017).

Multipl miyelomun erken evresi olarak en bilinen vakası, hastalandığında 45 yaşında olan Londrada saygın bir tüccar olan Thomas Alexander McBean'dir (Kyle ve Steensma, 2011). Hastada yorgunluk belirtileri olduğu ve idrarın tarafından çamaşırlarında sertleşmeler meydana geldiği kaydedilmiştir. Çeşitli destekleyici ve palyatif tedavilere rağmen şikayetleri devam eden Mr. McBean 1845 yılında Harley Street danışmanı olan Dr. William Macintyre (c.1791-1857) tarafından muayene edilerek, idrar örneği alınmıştır. Alınan idrar örneğini şahsen inceleyen Dr. William Macintyre idrarın yüksek dansiteye sahip olduğunu, ısıtıldığında opaklaştığını, nitrik asit ilave edildiğinde ise köpürerek, kırmızımsı bir renk aldığını belirterek, St. George Hastanesi'nde kimyager olarak çalışan Henry Bence

Jones'tan hastanın idrar analizini yapmasını istemiştir (Macintyre, 1850; Kyle ve Steensma, 2011). Bence Jones, Macintyre'in bulgularını doğrulayarak, hasta idrarındaki proteinüri türünü tanımlanımıyarak, kemik yumuşlaması ile ilişkisini vurgulamış ve tanıdaki önemine ilk kez dikkat çekmiştir (Jones, 1847; Kyle ve Steensma, 2011). Fakat Bence Jones protein terimi ilk kez 1880 yılında kullanılmıştır (Fleischer, 1880). Bayne-Jones ve Wilson 1922'de iki grup Bence Jones proteini tanımlamıştır (Bayne ve Wilson, 1922). Geschickter ve Copeland report 1848-1928 yılları arasında literatürde bulunan 412 MM vakasını incelemişler, Patolojik kırık, Bence Jones proteinüri, anemi ve kronik böbrek hastalığının varlığını vurgulamışlardır (Kyle ve Rajkumar, 2008). Longsworth ve arkadaşları 1939'da MM çalışmalarında elektroforezi kullanmışlardır (Longsworth, 1939). Grabar ve Williams 1953'te, multipl miyelom tanısını kolaylaştıran immünoelektroforezi tanımlamışlardır. Korngold ve Lipari 1956 yılında Ouchterlony testini kullanarak, Bence Jones proteinini kappa ve lambda şeklinde farklı sınıflarını tanımladılar. Jan Waldenstrom 1961 yılında monoklonal ve poliklonal gamopatiler fikrini ortaya koydu ve monoklonal proteinlere sahip olanlarda multipl miyelom olduğu, ancak bazılarının olmadığına dikkat çekti (MGUS). Edelman ve Gally (1962) serumda IgG monoklonal proteininden hazırlanan hafif zincirinin ve aynı hastanın idrarından elde edilen Bence Jones proteininin birçok özelliği kadar benzer amino asit kompozisyonuna sahip olduğunu göstermiştir. Hafif zincirlerinin, Bence Jones proteini ile aynı ısı özelliklerine sahip olması, Henry Bence Jones'un çalışmasından 115 yıl sonra bu eşsiz proteinin kökeninin gizeminin çözülmesi neden olmuştur.

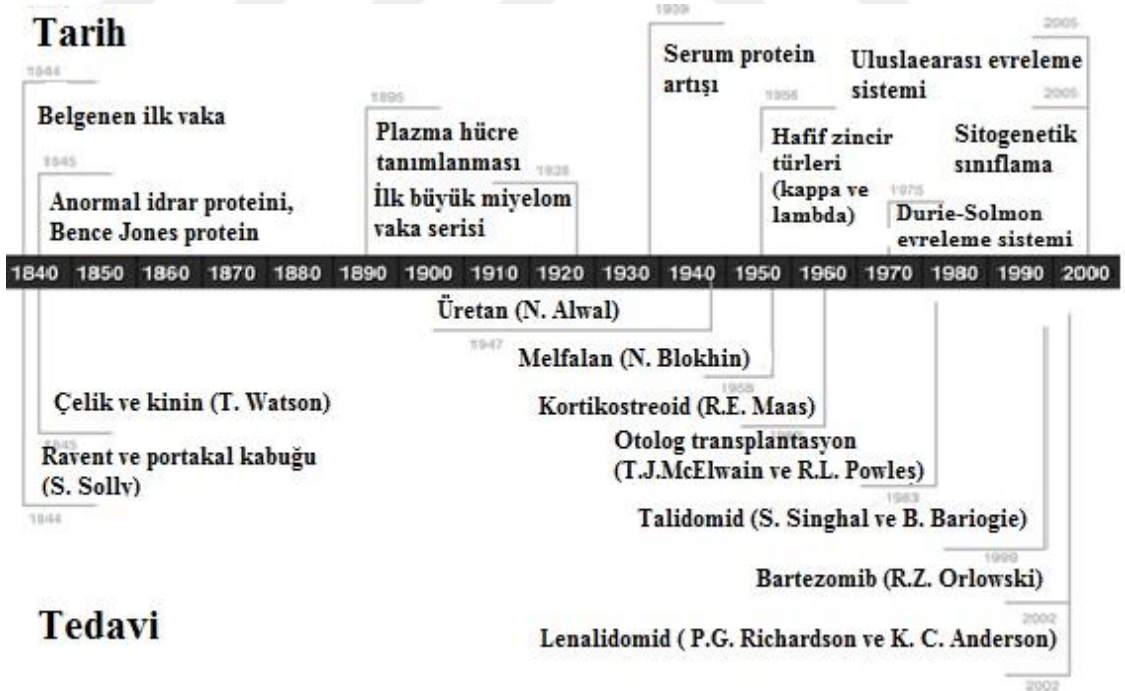
İlk miyelom hastası 1844 yılında Samuel Solley tarafından bildirilirken, multiple miyelom terimi ise 1873 yılında multiple tümörü olan hasta için Von Rustizky tarafından kullanılmıştır. Plazma hücresi terimi her ne kadar 1875 yılında Waldeyer tarafından tanımlansa da muhtemelen plazma hücreleri yerine doku mast hücreleri tanımladığı için plazma hücresini tanımlayan ilk kişi Nöroanatomist Ramon y Cajal'dır (Kyle ve Rajkumar, 2008).

MM ile ilgili ayrıntılı klinik araştırma kemik ağrısı, proteinüri ve anemisi olan 46 yaşındaki MM'lu hastada Dr. Otto Kahler tarafından 1889 yılında gerçekleştirilmiştir. MM bu nedenle "Kahler hastalığı" olarak da anılmaktadır (Dispenzieri ve ark, 2004).

Marschalko, 1895 yılında published the best description of plasma cells, which included blocked chromatin, eccentric position of the nucleus, a perinuclear pale area (hof), and a spherical or irregular cytoplasm. Wright (1900) multipl miyelom hücrelerinin plazma hücrelerinden yada plazma hücrelerine yakın bir soydan oluştuğunu düşündüğünü ifade etmiştir.

MM'da hiperproteinemi Perlzweig ve ark (1928) tarafından gösterilmiştir. 1929'da Arinkin'in kemik iliği aspirasyonuna başlaması multipl miyelomun tanısını arttırmıştır. Örneğin, Rosenthal ve Vogel 1938 yılında yayınladıkları çalışmalarında, 1916'dan 1935'e kadar New York Mount Sinai Hastanesinde yalnızca 3 multipl miyelom vakasının tanındığını, ancak sonraki 2,5 yılda 13 vakanın bulunduğunu bildirmiştir. Tiselius 1930 yılında yaptığı doktora tezinde elektroforez yöntemini kullanarak serum globülinlerin homojenliğini göstermiş ve gözlemlerini 1937 yılında serum globulinlerini alfa, beta ve gama olarak adlandırdığı 3 bileşene ayırmıştır. Sağlıklı insanlarda beş farklı çeşit ağır zincir (IgH) varken, iki farklı çeşit hafif zincir (IgL) bulunmaktadır. MM hastalarında ise bu izotiplerin (IgE hariç) herhangi birinde monoklonal immunoglobulinler (Ig) üretebilir. IFE serum (SPEP) ve idrar protein elektroforezinden (UPEP) daha hassastır ve düşük seviyede monoklonal Ig olan hastalarda bile saptanabilir (Şekil 1).

Son yıllarda, miyelom hücreleri ile ilgili sitogenetik ve genomik çalışmalardaki önemli moleküler gelişmeler MM patogenezinin anlaşılmasını, moleküler prognostik sınıflandırma için temel oluşturmayı ve yeni potansiyel terapötik hedeflerin tanımlanmasını sağlamıştır (Colombo ve ark, 2015).



Şekil 1. Multipl miyelomun tarihçesi (Kyle ve Rajkumar, 2008).

### 2.2.2. Multipl Miyelom Klinik Bulgular

MM oldukça zengin klinik bulgulara sahiptir. MM'li hastaların çoğu, plazma hücrelerinin kemiğe veya diğer organlara sızması veya aşırı M proteininden kaynaklanan böbrek hasarına bağlı belirti veya semptomlar gösterir. Örnek olarak 2003 yılında tek bir kurumda MM tanısı alan 1027 ardışık hastanın retrospektif analizi yapılmış ve klinik bulguları maddelendirilerek görülme sıklığı oranlanmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastaların %73'ünde anemi, %58'inde yüksek kreatinin, %32'sinde yorgunluk ve genel zayıflık, %28'inde hiperkalsemi, %24'ünde ise kilo kaybı (hastaların yarısı  $\geq 9$  kg kilo kaybı) görülmüştür (Kyle ve ark, 2003).

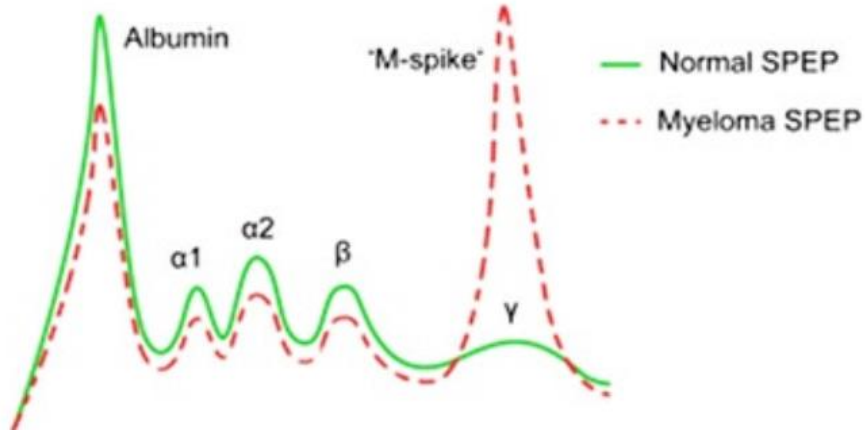
MM hastalarının % 80'inden fazlasında osteoklast aracılı kemik yıkımı nedeniyle hiperkalsemi, osteoporoz, genellikle sırt ve kaburgalarda görülen kemik ağrısı en sık görülen bulgulardır. Özellikle hastaların %70'inde yüksek yaşam kalitesi, morbidite ve mortalite ile ilişkili vertebral kırıklar vardır (Borggrefe ve ark, 2015). Kemik erimesi hastaların yaşam kalitesini etkilemenin yanı sıra tümörün büyümesini ve hayatta kalmayı desteklediği ve nihayetinde ilaç direncinin gelişmesine katkıda bulunduğundan, bu hastalığın gelişiminde kritik bir adımı temsil etmektedir (Anderson ve ark, 2002; Abe, 2011). Bunların dışında immün paralizin yol açtığı sık enfeksiyon meydana gelmesi ve ateş, homeostatik dengenin bozulması nedeniyle kanama eğiliminin artması diğer klinik bulgulardır. Ayrıca çok susama hissi, bulantı, kabızlık ve sık idrara çıkma da MM hastalarında görülen bulgular arasındadır (Aydın, 2005).

### 2.2.3. Multipl Miyelom Tanısı ve Tanı Yöntemleri

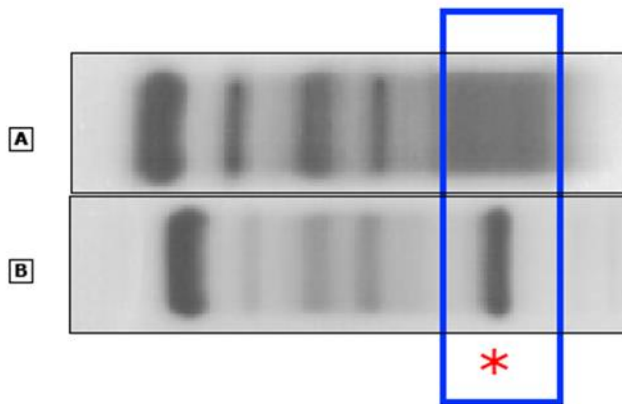
MM miyelom hücrelerinde üretilen ve kana/idrara salınan MM'li hastaların büyük çoğunluğunda (%97) sekrete olduğu bilinen monoklonal protein (M proteini) varlığı karakterizedir (Kyle, 1975; Kyle ve ark, 2003). Monoklonal protein bir immunoglobulindir ancak miyelom hücrelerinde üretiminden sorumlu genlerde meydana gelen mutasyon/mutasyonlardan dolayı normal bir immunoglobulin fonksiyonunu kaybetmiştir. M proteinin varlığı serum ve 24'lik saatlik idrarda protein elektroforezi ile saptanır. İmmünofiksasyon elektroforez ise daha duyarlı bir yöntemdir. Serum elektroforezi ile serum immunoglobulinlerin kantitatif ölçümü gerçekleştirilir. Böylece hastalık tanısı ve takibi

açısından önemli serum immünoglobulin (Ig) düzeyi, serum ve idrar hafif zincir miktarı, kappa/lamda oranları belirlenir (Kyle ve ark, 2003).

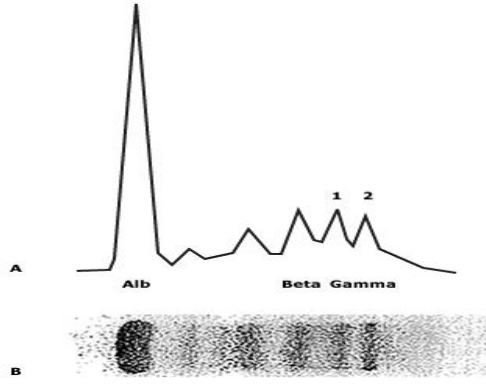
Sağlıklı insanlarda normal Ig'ler gamma bölgesinde geniş tabanlı ve düzensiz bir bant (Poliklonal bant) ve albumin,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  bölgesinde zirveler gözlenir. Aksine MM'li hastalarda ise elektroforez sonucu elde edilen monoklonal bant şeklinde görülen monoklonal gammopatinin dansitometrede okutulması sonucu  $\gamma$  bölgesinde aşırı Ig'nin göstergesi olan belirgin albümin (alb)inkine benzer M komponenti denilen dar ve yüksek pik (M pik, monoklonal bant) oluşur (Şekil 2) ve normal poliklonal gama bandında bir azalmaya sahiptir (Şekil 3) (Ribatti, 2017; Alshehri, 2019). Bu proteinler idrarda "Bence Jones Proteini" olarak gözlemlenir. Nadir de olsa iki M proteini (biklonal gamopati) bandına rastlanır (Şekil 4) (Rajkumar, 2019).



**Şekil 2.** MM'li hastaların serum protein elektroforezinin dansitometrede değerlendirilmesi (Ribatti, 2017).

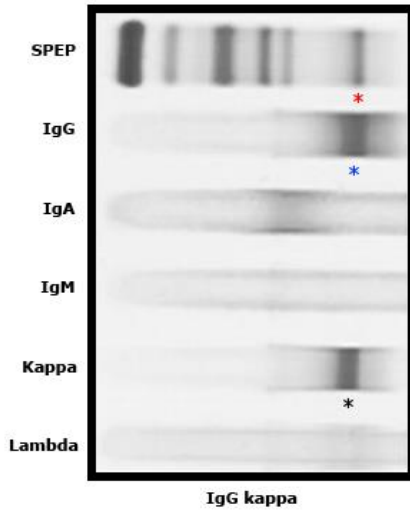


**Şekil 3.** Sağlıklı ve MM'li hastaların serum elektroforezlerinin görüntüsü A: sağlıklı B: MM'li hasta (Kyle ve Rajkumar, 2004).



**Şekil 4.** Biklonal gamopati durumunda elektroforez görüntüsü ve dansitometre ölçümü (Rajkumar, 2019) A: Dansitometrede verilerin değerlendirilmesi, B: Elektroforez görüntüsü

Monoklonal protein varlığı ile MM tanısı konulmada yararlanılmasının yanı sıra tümör yükünü ve tedavi yanıtını belirlemede yardımcı olan bir marker olarak kullanılmaktadır. Bu immunoglobulin proteininin tipine göre miyelomun farklı tip ve alt tipleri tanımlanmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu MM'de immunoglobulin proteinlerinin dağılımı değerlendirildiğinde %52 IgG oranı ile en sık görülen tipi MM'dir. IgA tipli MM %21,  $\kappa$  veya  $\lambda$  hafif zincirli (Bence Jones proteinleri) %16 oranında görülmektedir. Nadirde olsa IgD (%2), biklonal (%2), IgM (%0,5), IgE tipleri görülür (Kyle ve ark, 2003). Serum immünofiksasyonu ise M-proteinin varlığını doğrular ve tipini belirler (Şekil 5).



**Şekil 5.** Multipl miyelom serum immünofiksasyonuna örnek (Kyle ve Rajkumar, 2004). (\*) Sadece serum elektroforezinde ayrılmış bantlar gösterilmiş (\*); sadece antiserum IgG'ye tepki veren bant; (\*) IgG kappa monoklonal proteininin göstergesi olan kappa hafif zinciri

Hafif zincirli miyelom serum veya idrarda hafif zincir ile karakterizedir ve immüoglobulin ağır zincirinin ekspresyonu gerçekleşmez. Serum ve idrarda ölçülebilir M proteini yoktur. Bu hastalarda tanı serbest hafif zinciri (FLC) ve idrar proteini elektroforezi (UPEP) ve idrar immünofiksasyonundan yararlanılarak konulur (Larson ve ark, 2012). FLC'ler toplam protein düzeyini nadiren etkiler. Bu nedenle bu hastalarda serum toplam protein düzeyi normaldir. Serum FLC düzeyi ise  $\geq 10$  mg/dL bulunur. Bu gibi hastalarda FLC seviyeleri, her tedavi döngüsünde tümör yükünün belirlenmesi amacıyla kullanılır. Hafif zincirli miyelomda böbrek yetmezliği insidansı çok yüksektir. Çünkü başvuru sırasında bu hastaların yaklaşık üçte birinde serum kreatinin düzeyi  $\geq 2$  mg/dL (177 micromol/L)'dir (Appel ve ark, 2019; Rajkumar, 2019).

Hastaların bir bölümünde ise saptanamayacak kadar düşük miktarda M proteini ve FLC mevcut olduğunda kemik iliği ( $\geq 30$  plazma hücreleri) değerlendirmesi yapılır. Bu hastaların tümör yükü ve takibi periyodik iliği aspirasyonu ve biyopsisi ile yapılır (Cavo ve ark, 2017).

Bir kemik iliği aspiratı ve biyopsisi ile kemik iliğinde miyelom plazma hücrelerinin yüzdesinin belirlenmesi MM tanısında anahtar bir bileşendir (Rajkumar ve ark, 2014). Kemik iliği aspirasyonunda miyelom plazma hücreleri bir arada, gruplaşmış, koyu bazofil sitoplazmalı, ekzantrik çekirdekli, çekirdek anomalileri (çift çekirdek) gösteren atipik plazma hücreleri ve/veya atipik plazmoblastlar şeklinde görülür. Miyelom plazma hücreleri kemik iliğine tuttuğu için kemik iliğindeki plazma hücrelerinin sayısı artar. Plazma hücrelerinin sayısı normalde %1-2 iken multipl miyelomlu olgularda bu oran %10'un üzerine çıkar.

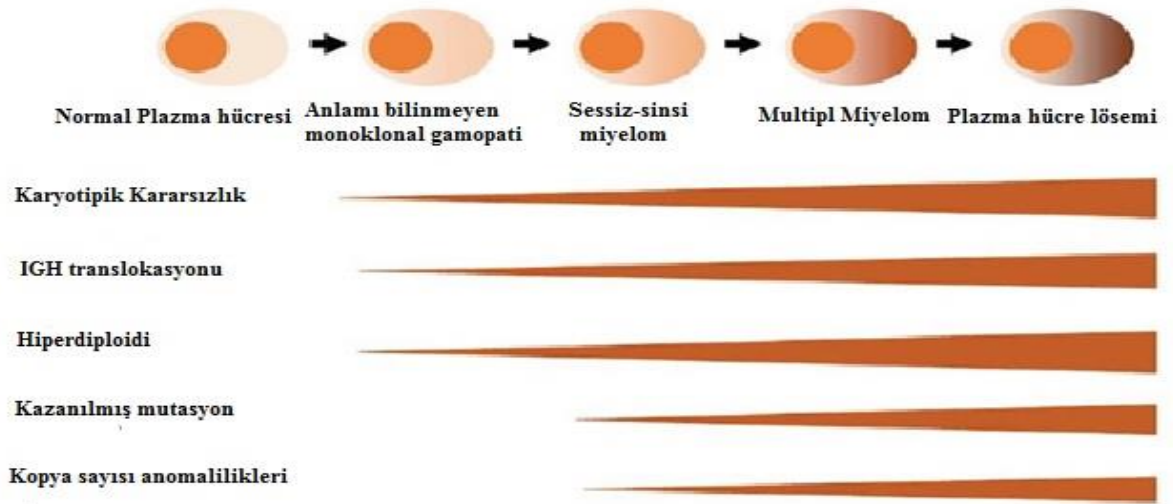
Miyelom olgularında, aspirasyon yaymalarındaki plazma hücrelerinin oranı %10'dan, %90'lara kadar büyük değişkenlik gösterebilmektedir. Miyelom plazma hücre morfolojisi farklılık gösterebilir. Aynı zamanda sitoplazmasında çok sayıda Ig inklüzyonu içeren "Mott" hücrelerinin neden olduğu üzüm salkımı benzeri hücreler veya "Russell" cisimcikleri olarak adlandırılan tekli inklüzyon cisimcikleri (Ig birikimleri) içeren plazma hücreleri saptanabilir (McKenna ve ark, 2008 ve Jaffe ve ark, 2011).

Klonal özellikte olmayan plazma hücreleri normal bir kemik iliğinin arterioller çevresine küçük gruplar halinde yerleşirler. Klonal plazma hücreleri miyelom olgularında ise interstisiyel alana yayılmış olabileceği gibi fokal nodüller ve/veya diffüz tabakalar halinde bulunabilirler. İliğin diffüz tutulumu ileri evrelerde görülen bir klinik bulgudur. MM da kemik iliğindeki plazma hücre morfolojisi, normal plazma hücrelerinden ayrılmayacak kadar matür görünümde olabileceği gibi atipik (pleomorfik, multinükleer) ve immatür

hücrelerden de oluşabilir. Pleomorfik/multinükleer hücrelerden oluşan, anaplastik morfoloji ile karakterli MM formlarına anaplastik veya plazmablastik MM adı verilmektedir (McKenna ve ark, 2008; Strand ve ark, 1984; Greipp ve ark, 1985).

#### 2.2.4. Multipl Miyelomun Evreleri

Plazma hücreli neoplazma bozuklukları, önemi belirsiz monoklonal gamopati (MGUS), Waldenström makroglobulinemisi (WM), amiloidoz ve multipl miyelom (MM) gibi çeşitli hastalıkları kapsar (Grogan ve ark, 2001). MM biyolojik ve klinik açıdan incelendiğinde oldukça heterojen bir neoplazidir fakat her hastada fark edilmese de ayırt edilebilen 4 klinik faz bulunur (Şekil 6). Kemik iliği içindeki küçük bir klonal popülasyon (<% 10) ile karakterize, asemptomatik, premalign bir faz olan önemi belirsiz monoklonal gamopati (MGUS) MM'den önce gerçekleşmektedir. Sessiz-sinsi myelom (SMM) asemptomatik olarak var olabilir veya hiperkalsemi, böbrek yetmezliği, anemi ve kemik hastalığını içeren organ işlevlerinin bozukluğu ile ilişkili olabilir. Her yıl MGUS'lu hastaların %1'i, SMM'li hastalarının ise %10'unun MM'ye ilerleme riski vardır (Kyle ve ark, 2010). Yapılan çalışmalarda MGUS ve SMM tanılı hastalarda hastalıkla ilişkili olmayan immünglobulin düzeylerindeki baskılanmanın semptomatik MM'ye ilerleme riskini arttırdığı gösterilmiştir (Cesena ve ark, 2002; Katzmann ve ark, 2013).



Şekil 6. Dört klinik aşamada MM progresyonunun ve onkojenik olayların şematik gösterimi: MGUS, SMM, MM, PCL (Colombo ve ark, 2015).

Plazma hücreli lösemi (PHL) MM'nin son aşamasıdır ve kanda lökositlerin differansial hücre sayımında 20'den fazla klonal plazma hücresi görünmesi ya da sirkülasyondaki klonal plazma hücrelerinin  $2 \times 10^9/L$ 'den fazla bulunması olarak tanımlanır. İmmünglobulin (Ig) sekrete eden, ağır zincir yapısında sınıf değişimi gösteren, maturasyon basamağının son aşamasındaki B hücrelerin (plazma hücreleri) klonal proliferasyonudur. Primer veya tedaviye cevap vermeyen MM'ye bağlı sekonder olarak gelişir. Aynı zamanda akut PHL olarak da adlandırılan çok nadir ratlanan primer PHL hızlı ilerleyen, ölümcül bir hastalıktır. (Albarracin ve Fonseca, 2011; Fernández ve ark, 2013; Gundesen ve ark, 2019).

MM, hem ploidi hem de yapısal düzenlemeleri içeren genomik dengesizlik ile karakterizedir. MM tümörlerinin yaklaşık yarısı, tek kromozomların trizomileri ile ilişkili hiperdiploid (HD) olarak tanımlanır (3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 ve 21 dahil). Geriye kalan tümörler hiperdiploid olarak adlandırılır ve IGH translokasyonlarının bir sonucu olarak CCND1 (11q13), CCND3 (6p21), MAF (16q23), MAFB (20q11) veya FGFR3 / MMSET (4p16.3) genlerinin yapısal aktivasyonu ile ilişkilidir. Genel olarak HD hastaları daha iyi prognoza sahiptir. Tüm exome / genom dizilemesine dayanan son veriler, MM'de, sıklıkla ERK yolunun (NRAS, KRAS veya BRAF) üyesini ve daha az ölçüde, DIS3 veya FAM46c gibi diğer genleri içeren heterojen bir gen mutasyonları modeli gösterir (Colombo ve ark, 2015).

MM hastalarında yüksek kemik lezyonları insidansı, malign plazma hücrelerinin osteoklastlar (OCL'ler) ve osteoblastlar (OBL'ler) arasındaki oranın, osteoklastlar lehine değişmesidir (Abe, 2011 ve Bataille ve ark, 1989). Bu etki, kemik iliği ile ilişkili DKK1, IL3, IL7 ve TGF- $\beta$  gibi anti-osteoblastojenik faktörlerin veya TNFa ve RANKL gibi pro-osteoklastojenik faktörlerin artmasına aracılık eder. MM hücreleri kemik hastalıklarını doğrudan veya dolaylı olarak uyarmada önemli bir rol oynarlar. MM hücreleri RANKL'ı bağımsız olarak üretebilir veya RANKL ve osteoklast farklılaşmasını destekleyen diğer çözünür faktörleri serbest bırakmak için çevreleyen kemik iliği hücrelerini uyarır. OCL'ler hastalık progresyonuna yol açan, MM hücresi proliferasyonunu ve sağkalımını doğrudan destekler ( Jurišić, 2002; Lai ve ark, 2004; Giuliani ve ark, 2004).

Bu nedenle, MM'de malign transformasyon, plazma hücre'lerin genetik ve epigenetik değişimlerinin yanı sıra kemik iliği mikroçevresine olan anormal etkileşimleri nedeniyle çok aşamalı bir süreci temsil etmektedir.

### 2.2.5. Multipl Miyelom Tanı Kriterleri

Kemik iliğinde plasma hücresi artışı ( $> \%10$ ), litik kemik lezyonlar ile serum ve/veya idrarda M-komponent varlığı klasik miyeloma triadını oluşturur. Yakın zamanda tanı kriterleri tam anlamıyla standardize edilmediğinden veya değişik kriterler kullanıldığından hastaların tanı ve evreleri kullanılan sisteme göre değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin MGUS, SSM ve kemik ya da ekstramedüller plasmositom vakaları da miyelom tanısı almaktadır. Bu nedenle Uluslararası Miyeloma Çalışma Grubu (International Myeloma Working Group/IMWG) 2003 yılında miyelom ve plasma hücre hastalıklarının tanı kriterlerini standardize etmiş ve bunu bir rapor halinde yayımlamıştır. Tabloda Durie Salmon tanı kriterleri gösterilmiştir (Durie ve ark, 2006).



**Tablo 1.** Durie-Salmon Tanı Kriterleri (Durie ve ark, 2006).

Majör kriterler	Minör kriterler
<ul style="list-style-type: none"><li>• Kemik iliğinde plazmositoz (&lt; %30)</li><li>• Biyopside plazmositoz</li><li>• M komponenti: Serum Ig G &gt; 3.5 g/dL, IgA &gt; 2g/dL veya</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Kemik iliğinde plazmositoz (%10-30)</li><li>• M komponent var, ancak daha düşük düzeyde</li><li>• Litik kemik lezyonları</li><li>• Azalmış normal Ig düzeyi (Normalin &lt; %50'si)</li></ul>
İdrarda Bence-Jones proteini > 1 g/24 saat	IgG < 0.6 g/dL veya IgA < 0.1 g/dL veya IgM < 0.5 g/dL

Tanı için; en az 1 major ve 1 minör ya da 3 minör kriter (ilk ikisi şart) gereklidir.

**Tablo 2.** Uluslararası Myelom Çalışma Grubu (IMWG) Aktif Multipl Miyelom, MGUS ve SMM Tanı Kriterleri (2003).

MM	
<ul style="list-style-type: none"><li>•Serum ve/veya idrarda M protein ve kemik iliğinde klonal plazma hücreleri ve/veya dökümanite edilmiş plazmasitom ve yandakilerden bir veya daha fazlası</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Hiperkalsemi (&gt;11.5 mg/dl - &gt;2.65 mmol/L)</li><li>•Renal yetersizlik ( kreatinin&gt;2 mg/dl – 177 mmol/L)</li><li>•Anemi (&lt;10 gr/dl ya da normalden 2 gr/dl düşük)</li><li>•Kemik hastalığı (litik lezyonlar ya da osteopeni)</li></ul>
MGUS	
<ul style="list-style-type: none"><li>•Serumda ve/ veya idrarda düşük düzeyde monoklonal protein (*)</li><li>•Kemik iliğinde klonal plazma hücre miktarı &lt; %10</li><li>•Serum Ca<sup>++</sup>, kreatinin ve hemoglobin düzeyleri normal kemik lezyonu yok (direkt graft ve/ veya diğer görüntüleme teknikleri ile)</li></ul>	Amiloidoz veya hafif zincir birikim hastalığına ait klinik ve laboratuvar bulguları yok.
Üçü de bulunmalıdır.	
(*) Serum IgG< 3 g/dl, IgA< 2 g/dl, idrar monoklonal kappa veya lambda <1 g/24 saat	
SMM	
<ul style="list-style-type: none"><li>•Serumda ve/ veya idrarda düşük düzeyde monoklonal protein</li><li>•Kemik iliğinde ve/ veya doku biyopsi örneğinde monoklonal plazma hücreleri</li><li>•MGUS, miyeloma ya da soliter plasmasitoma kriterlerine uymama</li></ul>	
(*) Bu kriterler Durie- Salmon evre IA miyelomu tanımlamaktadır.	

## 2.2.6. Multipl Miyelom Tedavi

1947-1962 Üretan, tek bir hastadaki gelişmelere dayanarak miyelomu tedavi etmek için kullanılır. Ancak ileriki çalışmalarda, üretan kullanımı ile kiraz ve kola aromalı bir şurup olan plasebo kullanımı arasında bir etkinlik olmadığı gösterilmiştir.

1957 - Harvard'daki ASH konferansının bir bölümü kök hücre nakli tartışmasına ayrılmıştır. Aynı yıl Thomas, kök hücre nakli yapılan 6 hastayı tedavi etmiştir (1 hastada miyelom vardı).

1957 - Talidomid bir Alman ilaç firması tarafından yatıştırıcı olarak tanıtıldı. 1960'a gelindiğinde 40'tan fazla ülkede satıldı ve hem sabahları hem de hamilelik mide bulantısı için bir tedavi olarak popüler hale geldi.

1958 - Melphalan ilk multipl miyelom hastasında kullanıldı.

1961 - Talidomid, Widukind Lenz tarafından ciddi doğum kusurlarına neden olduğu keşfedildi. 1961'nin sonunda, çoğu ülkede talidomid piyasadan çekilmiştir. Ancak yaklaşık 10.000 bebek etkilenmiştir. ABD, ilaç FDA tarafından onaylanmadığı için bu olaydan sorumlu tutulmamıştır.

1962 - Edelman ve Gally tarafından Bence Jones proteininin gizemi çözüldü; bu, hafif zincirlerin, Bence Jones proteininin aynı ısı özelliklerine sahip olduğunu gösterdi.

1962 - Prednisone multipl miyelom tedavisinde kullanıldı.

1962 - Talidomid'in anti-kanser kullanımı incelendi.

1964 - Talidomid cüzzamı tedavi etmek için kullanıldı.

1966 - Immonofiksasyon Wilson tarafından tanıtıldı.

1969 - Melphalan ve prednisone birleştirildi.

1974 - Carmustine, cyclophosphamide, melphalan, vincristine ve prednisone mm tedavisi için birleştirildi (Lee ve ark).

1975 - Durie-Salmon evreleme sistemi geliştirildi.

1979 - Thalidomide Behçet hastalığını tedavi etmek için kullanıldı.

1983 - McElwain ve Powles, plazma hücreli lösemili bir hastada otolog kemik iliği nakli yapıldığını bildirdi.

1987 – Barlogie kemoterapiye dirençli multipl miyelomlu 6 hastada melphalan ve total vücut ışınlamasını ardından otolog veya allojenik kemik iliği nakli seçeneğini kullandı. Daha sonra, Barlogie otolog transplantasyon (“total terapi”) kullanan ve miyelom için standart terapi olarak yüksek doz tedavi ve kök hücre kurtarılmasında büyük rol oynayan programlar geliştirdi.

1988 - Talidomid, graft-versus-host hastalığını tedavi etmek için kullanıldı.

1989 - Thalidomide, HIV tedavisinde kullanıldı.

1994 - D'Amato ilk kez talidomidinin antianjiyogenik özelliklerini tavşan kornea mikropocket testi ile açıkladı.

1997 - Talidomidinin bir anti-anjiyogenik ajan olarak kullanımına olan ilginin artmasına bağlı olarak Barlogie ve Arkansas Üniversitesi'ndeki meslektaşları bir miyelom hastasının eşini “ anti-anjiyogenik tedavi denemesi” kullanımını için ikna etti. Barlogie ile yapılan bir telefon görüşmesinde Talidomidi bu ortamda kullanma fikri anjiyogenez öncüsü

Folkman'dan geldi. Barlogie 84 hasta içeren bir deneme yaptı ve hastaların % 32'si yanıt verdi. Bu da 3 yıldan uzun bir süre miyelomlu hastalar için tek ajan aktivitesi olan ilk yeni ilaç oldu.

1999 - Proteazom inhibitörleri kanser hücreleri de dahil olmak üzere hücrelerdeki proteinleri parçalama yeteneğini engeller. Bu kanser hücrelerinin ölmesine neden olan ve potansiyel olarak kanserin ilerlemesini yavaşlatan proteinlerin birikmesine neden olur. Birçok proteazom inhibitörü geliştirildikten sonra, Adams ve arkadaşları proteazom yolunu spesifik bir şekilde inhibe eden birkaç boronik asit türevi bileşik tasarladı ve geliştirdi. Test için Bortezomib (Velcade) seçildi.

2002 - Robert Orlowski, babası Marian Orlowski'nin çalışmasını takiben (Sherwin Wilk ile ilk proteazom inhibitörünü geliştirdi), ilk klinik çalışmayı bortezomib (Velcade) ile yaptı.

2002 - Lenalidomid (bir talidomidin yeni nesil versiyonu, immünomodülatör ilaç olarak adlandırılır) Dana-Farber'de üretici tarafından test edildi. Ticari ismi Revlimid.

2003 - FDA Mayıs ayında bortezomib'i onayladı.

2005 - Greipp ve arkadaşları tarafından Uluslararası Evreleme Sistemi geliştirildi.

2006 - FDA bir önceki tedavide başarısız olan miyelom hastalarının tedavisi için lenalidomid/ deksametazonu onayladı.

Melfalan'ın keşfinden sonra, diğer sitotoksik ilaçlar ve farklı kombinasyonlar tedavide kullanılmakta olup bu tedaviler tüm yaşam süresi üzerine çok az iyileşme sağlamıştır. Halen, yaklaşık 40 yıl geçtiği halde miyelom hastalarının yaşam süresi 1970'li yıllardaki 3-4 yıldan pek farklı değildir. Hastalığın temel biyolojisinin anlaşılması ile son yıllarda etkili tedavi yöntemlerinde kayda değer ilerleme olmuştur. Bu alanda en önemli ilerlemelerden biri hastalığın altında yatan ve miyelomlu hastaların akıbetini etkileyen genetik heterojenitenin öneminin belirlenmesidir (16). (248639).

İmmünomodülatörler (örn. Talidomid ve lenalidomid) ve proteazom inhibitörleri (bortezomib) gibi yeni terapötik ajanların yanı sıra yüksek doz kemoterapi ve otolog kök hücre transplantasyonu 65 yaşına kadar olan MM hastalarda mevcut tedavi seçeneklerini oluşturur. Yeni terapötik ilaçlar ile kombine edilmiş konvansiyonel kemoterapi (melfalan gibi) genellikle 65 yaşından büyük veya uygun olmayan hastalarda uygulanır (Palumbo ve Anderson, 2011; Avigan ve Rosenblatt, 2014; Cavo ve ark, 2011).

Son zamanlarda, iki farklı yeni nesil ilaç grubu geliştirildi; bunlar arasında yeni proteazom inhibitörleri (carfilzomib, ixazomib and marizomib) ve monoklonal antikorlar, sinyal yolları ve kinazların spesifik inhibitörleri, deasetilaz inhibitörleri, özellikle Hsp90

inhibitörlerini aktive eden maddeler gibi yeni etki mekanizmalarına sahip ilaçlar yer alır (Palumbo ve ark, 2014). Günümüzde, MM hastalarının medyan genel sağkalımı 7-8 yıldır (Palumbo ve Anderson, 2011).

Bununla birlikte, hastaların tedavisindeki son gelişmelere ve araştırma merkezlerinin geliştirilmesine rağmen, MM esas olarak edinilmiş ilaç direnci nedeniyle tedavi edilememektedir (Mitsiades ve ark; 2007). Ayrıca, tanı konan hastaların yaklaşık yüzde yirmisi, prognostik belirteçler tarafından tanımlanan tedavi başarısızlığı veya plazma hücreli lösemi olarak tedavi edilmesi nedeniyle yüksek risk altındadır. Aşağıdaki kromozomal anormallikler olumsuz bir sonuçla ilişkilendirilmiştir: i) % 15 hastada t (4; 14) translokasyon, ki bu da FGFR3 (bir reseptör tirozin kinaz) ve multipl miyelom SET domainin (MMSET; transkripsiyonel bir çekirdek baskılayıcı olarak etki yapan bir histon metiltransferaz) ekspresyonunu bozar. ii) yaklaşık % 6 hastayı etkileyen t (14; 16) ve t (14; 20) translokasyonları, sırasıyla c-MAF ve MAFB onkojenlerinin yukarı regülasyonuna neden olur; Yeni teşhis edilen MM hastalarının % 10'unda görülen kromozom 17 (del17p) kısa kolunun silinmesi ve MM progresyonu ile birlikte artması, TP53'ün hücre döngüsü ve sağkalım kontrolündeki rolünü engellemesine neden olur; iv) başlangıçtaki hastaların yaklaşık % 40'ında bulunan ve PDZK1, CKS1B ve ADAR1 gen amplifikasyonu ile sonuçlanan kromozom 1'in uzun kolunun artması. PDZK1'in MM hücrelerine ilaç direnci kazandırdığı gösterilmiştir, buna karşın CSK1B, JAK / STAT3 ve MEK / ERK ile MM hücresi proliferasyonunu ve ilaç direncini artırır. ADAR1 RNA düzenleme, mikroRNA işleme ve RNA gen susturma teknikleri ile malign yeniden programlamaya yol açarak tümör progresyonunda önemli bir rol oynayabilir.

## 2.2. Notch Sinyal Yolağı

Notch, hücre hücreleri iletişimine aracılık eden ve bugüne kadar çalışılan canlı türlerindeki sinyalleşme zincirini koordine eden bir transmembran reseptörüdür (Eric, 2004). Notch kenarları “çentikli” kanatlarla karakterize edilen bir *Drosophila* suşunda 1919'da keşfedilmiştir (Grimwade ve ark, 1985). Notch, solucanlardan insanlara kadar çok sayıda canlıda gelişim ve moleküler paternleme için çok önemli bulunmuştur. (Morgan, 1917).

Notch sinyalleşmesi *Drosophila* kanat büyümesini destekler. CSL transkripsiyon faktörünün kaybı ve buna bağlı Notch oluşumundaki başarısızlık nedeni ile Su (H) mutant

klonlarında kanat kenarlarında başarısız olunmuştur. Mutan suş Delta'yı yanlış ifade etmiştir ve kanadın aşırı büyümesine neden olmuştur.

Notch'in, hücre kaderi, çoğalma ve hücre ölümü üzerindeki sayısız etkisi ile hayvan türlerin çoğunda dokuların gelişiminde rol oynadığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Notch farklılaşmayı engelleyebilir, geciktirebilir veya indükleyebilir ve apoptozu, hücre bölünmesini veya statik bir durumu çeşitli şekilde teşvik edebilir (Tablo 3).

**Tablo 3.** Farklı türlerde Notch sinyal yolağı ile düzenlenen gelişimsel süreçlerin kapsamlı olmayan bir listesi (Eric, 2004).

<i>C. elegans</i>	<i>D. Melanogaster</i>	Omurgalılar
<ul style="list-style-type: none"><li>•Erken blastomerin düzenlenmesi</li><li>•AC/VU kararlanmasının düzenlenmesi</li><li>•Vulval prekürsör kaderlenmenin düzenlenmesi</li><li>•Sağ ve sol asimetrisinin indüklenmesi</li><li>•Germline proliferasyonun indüklenmesi</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Nörogenezisin inhibisyonu</li><li>•Glikogenezin düzenlenmesi</li><li>•Kanat yerleşimi indüklenmesi</li><li>•Miyogenezisi ve kardiyogenezis</li><li>•Orta bağırsak inhibisyonu</li><li>•Mesozodermin indüksiyonu</li><li>•Kanat kenarı indüksiyonu</li><li>•Bacak segmentlerinin indüksiyonu</li><li>•Göz dorsaventralinin indüksiyonu</li><li>•Göz koni hücreleri indüksiyonu</li><li>•Hematopoezin düzenlenmesi</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Nörogenezisin inhibisyonu</li><li>•İç kulaktaki düzenlenmeler</li><li>•Non-nöral ektodermal türevlerinin inhibisyonu</li><li>•Sağ ve sol asimetrisinin indüklenme</li><li>•Uzuv gelişiminin düzenlenmesi</li><li>•Somatogenezinin düzenlenmesi</li><li>•Lenfopoezin düzenlenmesi</li><li>•Damar gelişimin düzenlenmesi</li><li>•Böbrek gelişiminin düzenlenmesi</li></ul>

### 2.2.1. Notch Sinyal Yolağının Temel Bileşenleri

Notch, liganlar aracılığıyla komşu hücreler ile homotipik iletişim kurarak hücrelerin farklılaşmasında ve çoğalmasında rol alan bir proteindir. Delta ve Jagged olmak üzere 2 Notch ligand ailesi tanımlanmıştır (Osborne ve Miele, 1999). Notch reseptör ailesinin Notch1-4 olmak üzere 4 tane üyesi vardır (Tablo 4). Her bir üye hücre dışı, zar geçişli ve hücre içi (ICN) alt birimlerden oluşan geniş, tek bir heterodimerik proteindir (Kopan ve Goate, 2000).

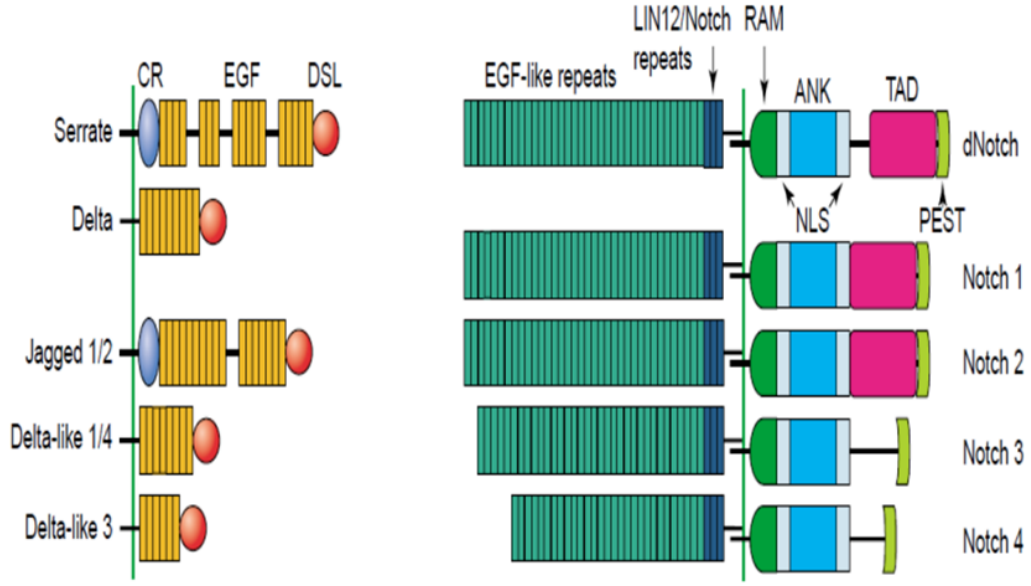
Sineklerde Notch, nörojenik mutantların en önemli bir üyesidir. Bunlar epidermiste dikkate değer bir miktarda nöron ürettikleri için adlandırılmıştır (Poulson, 1945; Lehmann ve ark, 1983). Nematodların hücre hatlarını ve germ-line çoğalmasını etkileyen mutasyonlar tarafından tanımlanan iki homolog (L<sub>1</sub>n-12 ve GLP-1) vardır. L<sub>1</sub>n-12/glp-1 çifti mutanı, solucandaki Notch aktivitesinin tam kaybı ile oluşturan bir agregat fenotipini görüntüler. Bu fenotip solucanlarda küçük bir 'lin ve GLP' veya 'LAG' mutantlarının karakteristiğidir (Lambie ve Kimble, 1991). Notch sinyal yolağının temel bileşenleri; Notch reseptörü, DSL

(Delta ve Serrate Benzeri) Ligandlar ve CSL (omurgalılarda CBF1/RBPJK-kappa, Drosophila'da Su(H), C. elegans'ta Lag 1) DNA bağlayıcı proteinlerdir. Notch reseptörünün ligandları Delta benzeri liganlar (DLL1, DLL3 ve DLL4) ve Serrate Benzeri liganlar (JAG1 ve JAG2) olmak üzere iki gruba ayrılır (Tablo 4).

**Tablo 4.** Notch sinyal yolağı çekirdek bileşenleri

Temel Bileşenler	<i>C. elegans</i>	<i>D. melanogaster</i>	Memeliler
Ligand	LAG-2 APX-1 ARG-2	Delta	Delta-like (DLL1) Delta-like (DLL2) Delta-like (DLL3) Jagged 1 ( JAG1) Jagged 2 (JAG2)
Receptör (Notch)	F16B12.2	Notch	Notch1 Notch2 Notch3 Notch4
Transkripsiyon Faktörü (CSL)	LIN-12 GLP-1 LAG-1	Suppressor of Hairless [Su(H) ]	CBF1/RPBJk/RPBL

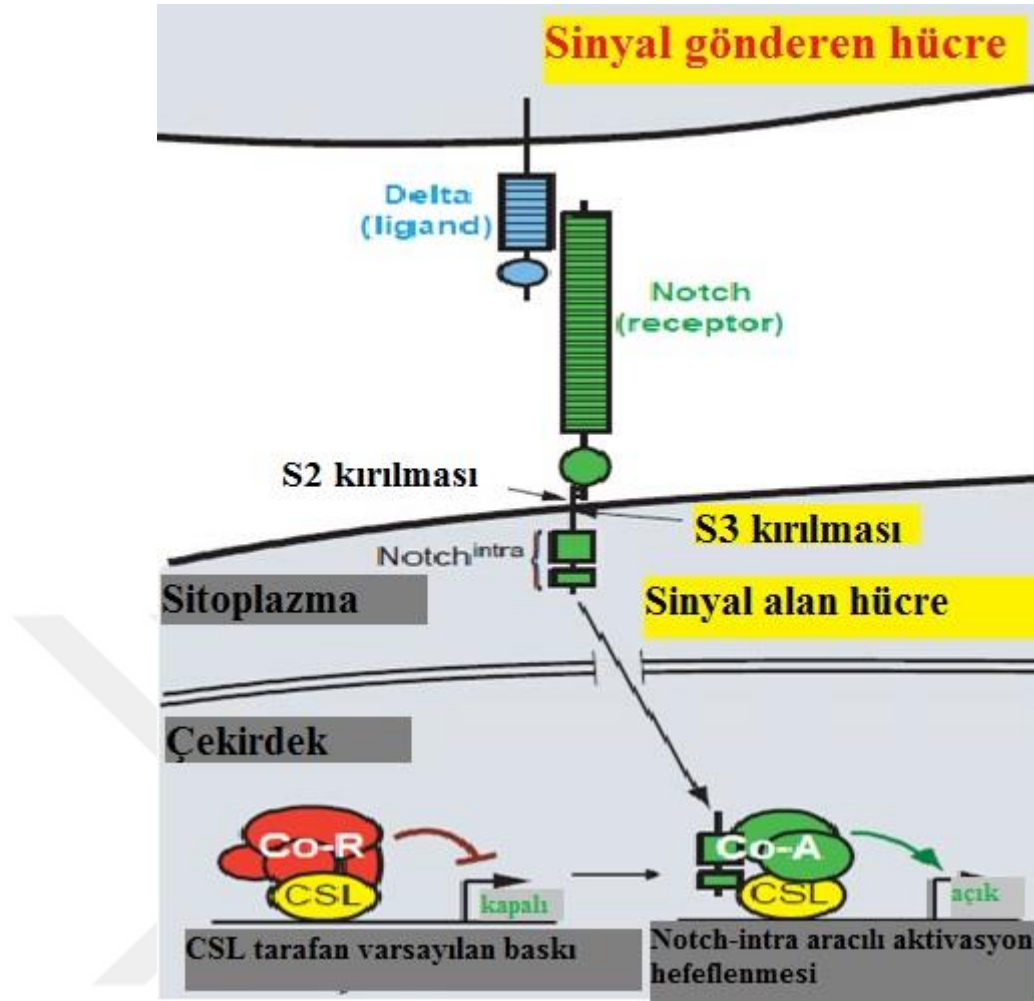
Notch reseptörü hücre içi, hücre dışı ve zara gömülü kısımlar olmak üzere üç kısımdan oluşur. Her bir üyesinde farklı sayıda tekrar içeren ekstraselüler bölge 36 ardışık EGF (Epidermal Growth Factor) benzeri tekrar ve 3 sisteince zengin LIN 12 tekrarı içerir. EGF tekrarları Notch reseptörünün ligandlarla bağlanmayı sağlar. Notch reseptörünün hücre içi kısmına Notch hücre içi bölge (Notch Intraselüler Domain: NICD) de denir. Hücre içi bölgede; 6 ardışık ankirin tekrarı, RAM 23 bölgesi, bir glutamin zengin bölge (opa) ve prolin, glutamat, serin ve treonince zengin PEST bölgesi bulunur (Şekil 7). RAM 23 domaini ve ankirin tekrarları Notch reseptörünün nükleustaki transkripsiyon faktörleri ile bağlantısını güçlendirir



Şekil 7. Notch reseptörleri ve DSL ligandları (Dallman ve ark, 2005).

### 2.2.2. Notch Sinyal Yolağı Aktivasyonu

Notch'in ligandı ile aktivasyonu Notch'un iki proteolitik bölünmesini (S2 ve S3) tetikler. S3 bölünmesi, çekirdeğe transloke olan Notch hücre içi domainini (Notch-intra) serbest bırakır. Notch-intra CSL'yi aktive eder. CSL co-represör kompleksi Notch-intra hedef gen aktivasyonuna aracılık eden Notch-intra (Co-A, yeşil simgeler) içeren bir ko-aktivatör kompleksi ile yer değiştirmiştir. Nükleer Notch-intra'nın yokluğunda, CSL, Notch hedef genlerin transkripsiyonunu aktif olarak baskılayan bir ortak baskılayıcı kompleksi (Co-R, kırmızı ikonlar) ile ilişkilendirir.



Şekil 8. Notch yolağının temel çalışması (Eric C.L. 2004).

### 2.2.3. Multipl Miyelomda Notch Sinyal Yolağı Değişiklikleri

MM'da hem reseptörlerin hem de ligandların aşırı ekspresyonu Notch yolağında düzensizliğine neden olur (Tablo 5). Özellikle immünohistokimyasal analizler Notch1, Notch2 ve Jagged1'in, neoplastik olmayan seviyelere kıyasla birincil MM hücrelerinde yüksek oranda eksprese olduğunu ortaya çıkarmıştır. (Jundt ve ark, 2004) Ayrıca, Notch1 ve Jagged1 ekspresyonunun artışı MGUS'den MM'ye hastalık ilerlemesi üzerine rapor edildi (Skrtic ve ark, 2010). MM hastalarında (yaklaşık % 6) t (14; 16) (q32; q23) ve t (14; 20) (q32; q11) translokasyonlarını taşıyan grupta NOTCH2 gen ekspresyon seviyeleri ve aktivitesinin arttığı bildirilmiştir. Bu translokasyonlar, NOTCH2 transkripsiyonundan sorumlu iki transkripsiyon faktörünün (sırasıyla C-MAF ve MAFB) aktivasyonu ile sonuçlanır (Van Stralen ve ark, 2009). Jagged2 deregülasyonu, MM ekspresyonunda iyi

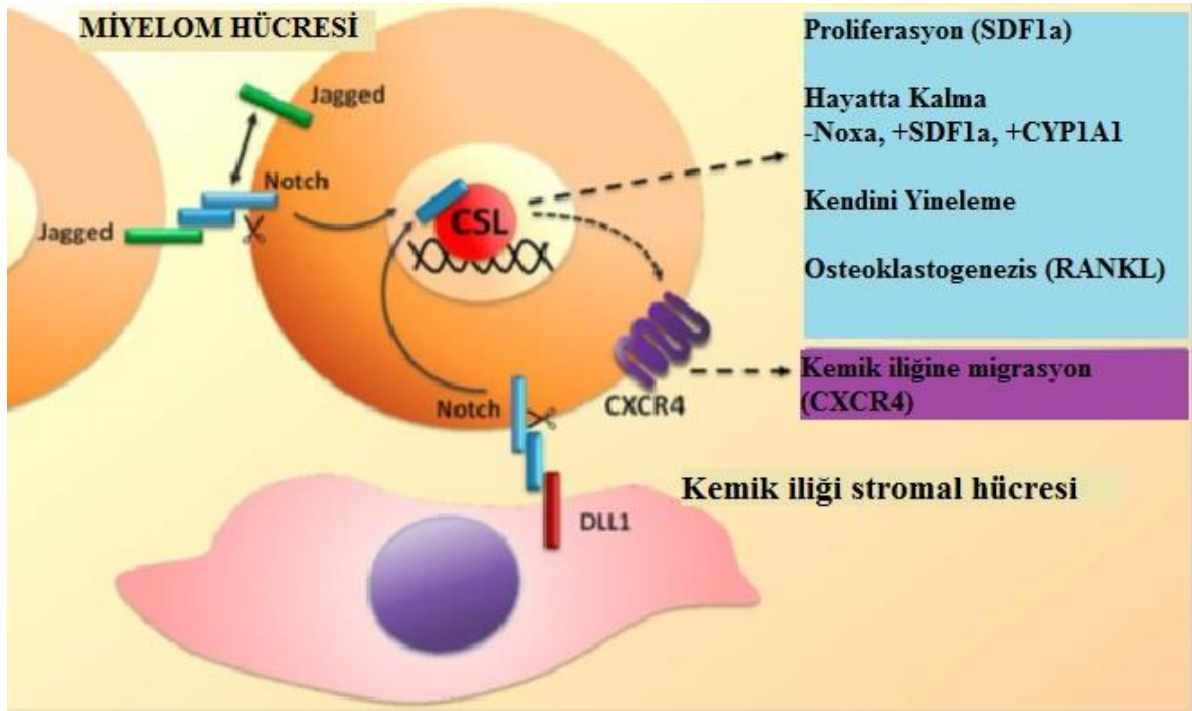
huyulu MGUS fazında meydana gelen erken bir olay olduğu için MM patogenezinde daha önemli bir adım gibi görünmektedir. Jagged2 disregülasyonunda yer alan mekanizmalar karmaşıktır ve Jagged2 promoter hipometilasyonunu (Houde ve ark, 2004), Skeletrofin'in anormal ekspresyonunu, Jagged2 aktivitesi için gerekli olan bir Ubiquitin-ligazını ve Jagged2 promoter asetilasyonu (Takeuchi ve ark, 2005) ile sonuçlanan ve transkripsiyona neden olan SMRT / NCoR2 çekirdek baskılayıcısının kaybını içerir (Ghoshal ve ark, 2009).

**Tablo 5.** Multipl miyelomda notch sinyal yolağı değişiklikleri

Deregülasyon Türü	Faz	Mekanizma
Notch1/Jagged1 ekspresyonu	MGUS tan MM ilerleme	Bilinmeyen
Notch2 aşırı ekspresyonu	MM	(14; 16) (q32; q23) ve t (14; 20) (q32; q11) nedeniyle MAF genleri ile transaktivasyon
Jagged2 aşırı ekspresyonu	MGUS tan beri	Skeletrofin'in anormal ekspresyonunu, Jagged2 aktivitesi için gerekli olan bir Ubiquitin-ligazını ve Jagged2 promoter asetilasyonu ile sonuçlanan ve transkripsiyona neden olan SMRT / NCoR2 çekirdek baskılayıcısının kaybını içerir
Hes5 aşırı ekspresyonu	MM (LB alt grubu)	Bilinmeyen
Notch yolu üyelerinin artmış kopyası	MM (HY alt grubu)	Mekanizma:kromozom trizomisi

#### 2.2.4. MM Hücrelerinde Notch Sinyallemesinin Homotipik ve Heterotipik Aktivasyonu

MM hücrelerindeki Notch sinyalleme çevredeki kemik iliği hücrelerinin yüzey membranında ifade edilen Notch ligandları tarafından da aktive edilebilir (Şekil 9). Xu ve arkadaşları kemik iliği stromal hücrelerin DLL1 ifade ettiğini ve MM hücrelerinde Notch2 ile birleşebildiğini göstermiştir. Notch2 aktivasyonu bortezomib karşı tedaviye direncin gelişmesine katkıda bulunan CYP1A1'in (sitokrom P450, aile 1, alt aile A, polipeptit 1) artmasına neden olmuştur (Xu ve ark, 2012). İn vivo MM modelinde Notch-bloke edici ajan ve bortezomib ile combine tedavi genel sağkalımda belirgin bir iyileşme ile sonuçlanan bortezomib'e karşı duyarlılığı arttırmıştır (Colombo ve ark, 2015).

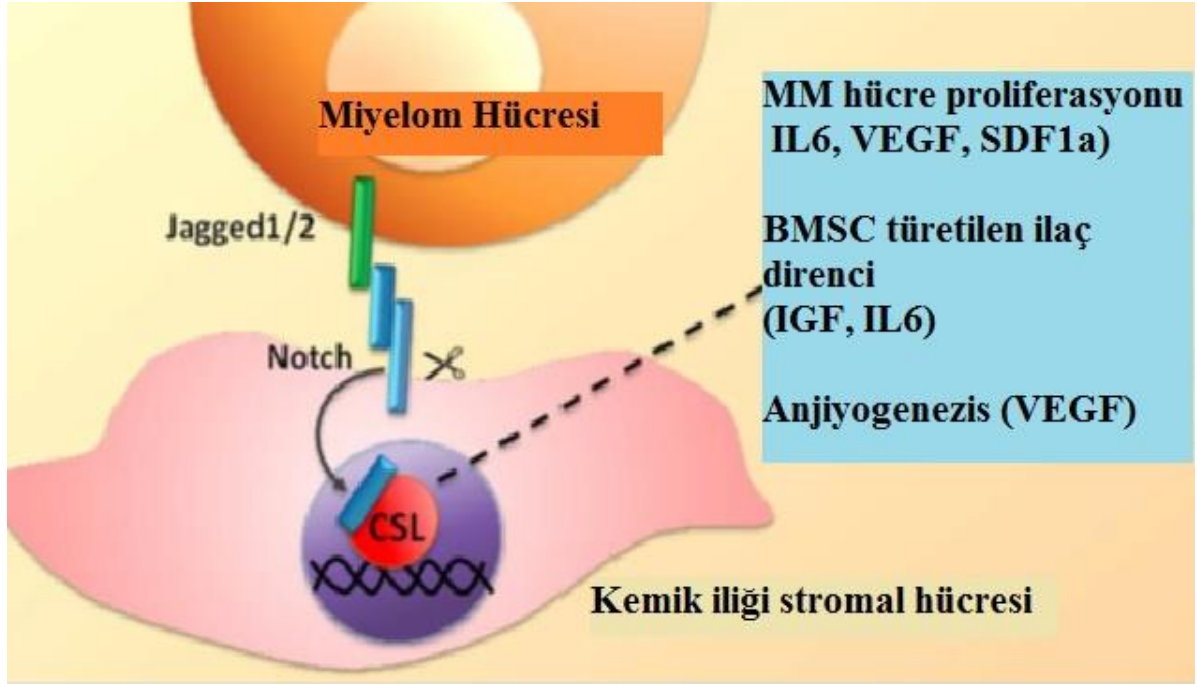


**Şekil 9.** MM hücrelerinde Notch sinyalleşmesinin homotipik ve heterotipik aktivasyonu (Colombo ve ark, 2015).

### 2.2.5. MM hücrelerinde Notch sinyalleşmesinin Bmsc aracılı heterotipik aktivasyonu

MM'deki Notch reseptörleri ve ligandlar disregülasyonunun ikinci ve önemli bir sonucu, MM hücrelerinin kemik iliği nişini şekillendirebilme yeteneği ile ilgilidir (Şekil 10). Jagged2, kemik iliği stromal hücrelerden interlökin 6 (IL6), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1) dahil olmak üzere çözünabilir faktörlerin salınımını artırır (Houde ve ark, 2004). IL6, in vitro olarak deksametazona (Liu ve ark, 2013) karşı direncin geliştirilmesinde rol oynayan MM hücreleri (Anderson ve Carrasco, 2011) için ana büyüme faktörüdür. Anti-IL6 monoklonal antikor olan Siltuximab'ın, refrakter (tedaviye cevap vermeyen ya da inatçı) MM hastaları üzerinde faz 2 klinik denemesinde tek başına veya deksametazon ile kombinasyonu ümit verici sonuçlar verdiği doğrulanmaktadır (Voorhees ve ark, 2013). VEGF, neo-anjiyogenezin Liu ve ark, 2014) yanı sıra, MM hücre büyümesini (Podar ve ark, 2001) sağlayarak tümör yükünü ve MM'nin ilerlemesini doğrudan ve dolaylı olarak teşvik eder (Giuliani ve ark, 2011). IGF1,

MM hücresinde hayatta kalmayı ve bortezomib direncinin gelişimini destekler (Kuhn ve arki 2012).



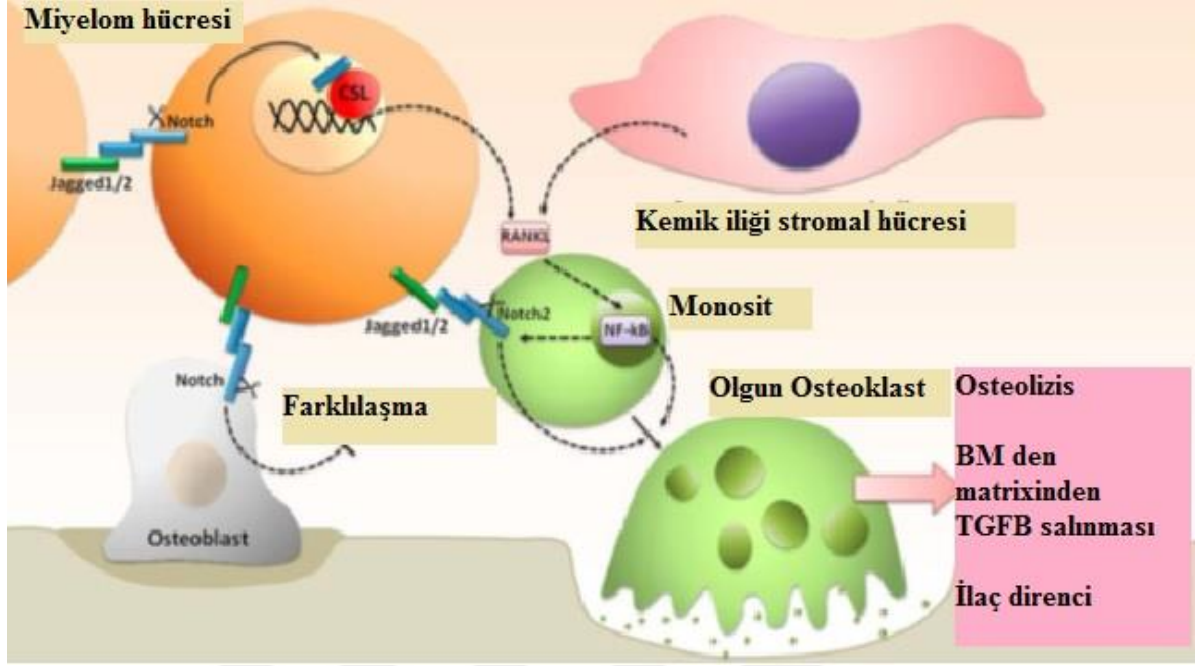
**Şekil 10.** MM hücrelerinde Notch sinyallemesinin BMSC aracılı heterotipik aktivasyonu (Colombo ve ark, 2015).

### 2.2.6. Notch Sinyallenmesinin MM ile İlişkili Kemik Hastalığı

MM'de Notch sinyallemesinin düzensizliği aynı zamanda OCL'ler ve OBL'ler arasındaki dengesizliğe katkıda bulunarak MM ile ilişkili kemik hastalığında da rol oynar (Şekil 11). MM hücrelerinde yüksek Notch sinyallemesi major osteoklastojenik çözünebilir faktör RANKL'ın salınımını uyarır. MM hücre kaynaklı Notch ligandları (Jagged1 ve 2), kemik iliği stromal hücrelerde Notch sinyallemesini aktive ederek RANKL salgısını güçlendirir. RANKL, OCL progenitörleri üzerinde RANK ile birleşir. Böylece osteoklastojenik NF-kB yolağını aktive eder ki bu da Notch2 ekspresyonunu teşvik ederek osteoklastojenik Notch sinyalini uyarır. MM hücre türevli Jagged ligandları, Notch2 ile etkileşime girerek OCL progenitörlerinde Notch sinyalini daha da artırır. Özellikle, Jagged1 / Jagged2'yi susturma bu tür etkileri geri alabilir (Colombo ve ark, 2014).

MM'deki Notch hiperaktivitesi osteoblast gelişimini etkileyebilir. Zanotti ve arkadaşları (2008) transgenik farelerde selektif Notch aktivasyonunun osteoblast progenitörlerinde farklılaşmasını engellediğini göstermiştir. Bu, MM hücre kaynaklı Notch

ligandlarının, osteoblast progenitörlerinin farklılaşmasını engelleyen Notch aktivitesini uyararak osteoblast'ların azalmasından sorumlu olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 11. Notch hiperaktivasyonu (Colombo ve ark, 2015).

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Hasta Grupları ve Materyallerin Toplanması

Çalışma için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 10.08.2017 tarihinde onay alınmıştır. Çalışmaya katılan her hastaya bilgi verildiğine ve çalışmaya katılmayı kabul ettiğine dair bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatılmıştır. Çalışma süresince kullanılan kimyasal ve sarf malzemeler Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) TPF-18027 numaralı proje kapsamında sağlanmıştır. Çalışmada 04.12.2017-1.07.2019 tarihleri arasında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Hematoloji Polikliniği tarafınca multiple myelom tanısı konulan, kemoterapi tedavisine başlanılan hastalardan kemoterapi öncesi ve sonrası aylarda kemoterapi sonrası olacak şekilde 5'er ml serum tüpüne kan alınmıştır.

Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri ilk kez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Hematoloji Polikliniğince MM tanısı alması yada başka bir dış merkezde tanısı konmuş fakat kemoterapi süreci başlamamış ve 18 yaş üzerinde olmasıdır. Çalışmadan çıkarılma kriteri ise sadece hastanın gönüllü olup olmadığıdır. çalışmamıza katılmayı kabul ettikten sonra, çalışmanın her aşamasında hasta istediği zaman çıkabilir ve bu durumda her hangi bir prosedür yoktur.

### 3.2. Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde bulunan santirfüj, -80 °C derin dondurucu, kullanıldı. ELISA analizleri için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda bulunan ELISA okuyucusu (Optic IvyMen system, 20100-C, İspanya) (Şekil 12), ELISA plaka inkübatörü kullanıldı.



**Şekil 12.** ELISA okuyucusu (Optic IvyMen system, 20100-C, İspanya).

### **3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler**

Analizler için serum, plazma, doku homojenatı diğer biyolojik sıvılar ve hücre kültürleri için uygun insan spesifik ticari ELISA test kiti (Bioassay Technology Laboratory, Çin) kullanıldı (Şekil 13).



**Şekil 13.** Bioassay elisa kiti

### **3.4. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması**

İlk kez multiple myelom tanısı konulan hastalardan serum tüpüne alınan kan örnekleri 30 dakika oda sıcaklığında örneklerin pıhtılaşması için bekleddikten sonra 3000 RPM'de 15

dakika santrifüjlendi. Elde edilen serum örnekleri (Şekil 14) aliyatlanarak, kayıt altına alındı ve analizler yapıncaya kadar -80 °C’de saklandı.



**Şekil 14.** Serum örnekleri

### **3.5. Serum Notch1 Düzeyinin Belirlenmesi**

Alınan serum örneklerindeki Notch1 düzeyleri serum, plazma, doku homojenatı diğer biyolojik sıvılar ve hücre kültürleri için uygun insan spesifik ticari ELISA test kiti (Bioassay Technology Laboratory, Çin) kullanılarak belirlendi. Notch 1’in ELISA yöntemi ile analizi, kantitatif sandviç-enzim immünoassay prensibine dayanır. Bu analizde insan Notch1 antikoru ile kaplı ticari plaka kullanıldı. Analiz edilecek örneğin içinde bulunan Notch1 plakada kaplı bulunan antikorlara bağlandı. Ardından biyotin ile konjuge antikor ilave edilerek örnekte bulunan Notch1’lere bağlanması sağlandı. Streptavidin-HRP ilavesi edilerek oluşan antikor-antijen konjugatına bağlanması için inkübe edildi. Yıkama işleminin ile reaksiyon ortamında bulunan bağlanmayan Streptavidin-HRP uzaklaştırıldı. Substrat solüsyonun ilave edilmesi ile örnekte ne kadar Notch1 varsa düzeyine paralel olarak renk oluşur. Reaksiyonun asidik durdurma solüsyonu ilave edilerek inkübasyon süresi sonunda durdurulması ile oluşan sarı rengin optik dansitesi (O.D.) 450 nm’de ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak ölçüldü.

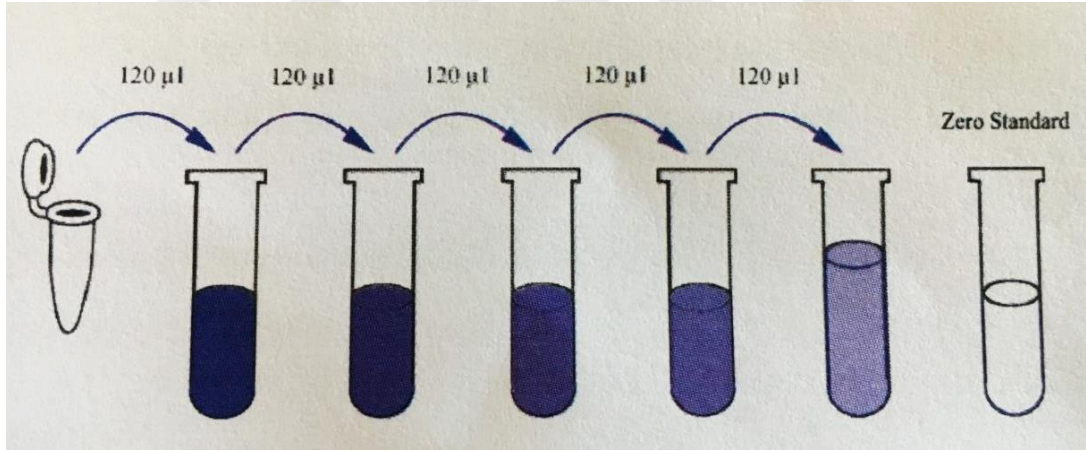
#### **Kitin içinden çıkan ayıraçlar:**

1. İnsan Notch1 antikorları ile kaplı ELISA plakası
2. Notch1 standart solüsyonu (192 ng/ml)
3. Standart dilüsyon tamponu

4. Streptavidin-HRP solusyonu (1x)
5. Asidik durdurma solusyonu (1x)
6. Substrat solusyonu A (1x)
7. Substrat solusyonu B (1x)
8. Konsantre yıkama tamponu (25X)
9. Biotin ile konjuge Notch1 antikoru

**Hazırlık:**

1. Tüm örnekler ve ayıraçlar oda ısısına getirildi.
2. Standartların hazırlanışı: kullanıma hazır 192 ng/ml konsantrasyonunda olan standart solüsyonundan 120 µl alınarak aynı miktarda standart dilüenti ile seyreltilti. Elde edilen standart ana stok (96 ng/ml) şeklinde kullanılarak bundan 1:2 oranında dilüsyonlar ile 48 ng/ml, 24 ng/ml, 12 ng/ml ve 6 ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler elde edildi. Standart dilüenti zero standart olarak (0 ng/ml) hazırlandı (Şekil 15).



Standart	Standart	Standart	Standart	Standart	Standart
Konsant.	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
192 ng/ml	96 ng/ml	48 ng/ml	24 ng/ml	12 ng/ml	6 ng/ml

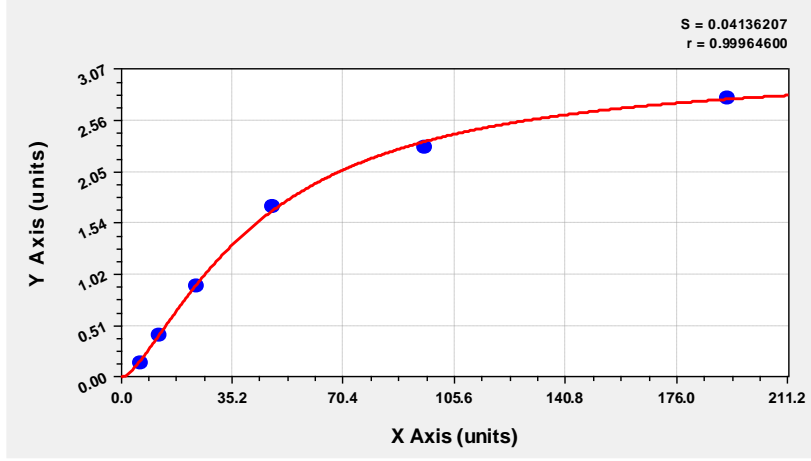
**Şekil 15.** Notch1 analizinde kullanılan standartların hazırlanması

### **Yapılışı:**

1. Analize başlamadan önce gerekli solüsyonlar ve standartlar hazırlandı.
2. Standartların ve örneklerin konulacağı kuyucuklar belirlendi.
3. Kaplı ELİSA mikrolakasına hazırlanan 96 ng/ml; 48 ng/ml; 24 ng/ml; 12 ng/ml; 6 ng/ml standart solüsyonlarından 50 µl çift tekrarlı olmak üzere ilave edildi.
4. Serum örneklerinden örnek kuyucuklarına 40 µl pipetlenerek üzerlerine 10 µl biotin ile konjuge Notch1 antikoruna ilave edildi.
5. Zero standart hariç hazırlanan tüm standart ve örneklere 50 µl Streptavidin-HRP solüsyonu ilave edilerek mikrolakaya düşük devirde çalkalandı.
6. ELİSA mikrolakasının üzeri kapatılarak 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
7. İnkübasyonun ardından tüm kuyucuklar bağlanmayan antikorları uzaklaştırmak için 5 defa 350 µl yıkama tamponu (1x) ile 1 dakikaya kadar çalkalanarak manuel yıkandı. Bu aşamada ELİSA mikrolakasının kurumamasına özen gösterildi.
8. Tüm kuyucuklara 50 µl substrat solüsyonu A ve 50 µl substrat solüsyonu B ilave edilerek, ELİSA mikrolakasının üzeri kapatıldı ve 37°C'de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi.
9. Her kuyucuğa inkübasyonun ardından 50 µl reaksiyonu durdurma solüsyonu ilave edilerek, kuyucuklardaki mavi rengin sarıya dönüşmesi takip edildi.
10. Oluşan rengin optik dansitesi 450 nm'de ELISA okuyucusunda ölçüldü.

### **Hesaplanması:**

Bütün örneklerin ve standartların absorbansı ELISA okuyucusunda belirlendikten kaydedildi. Standartların O.D. ile curve expert 1.4 programı kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlandı ve örneklerin konsantrasyonu (ng/ml) elde edilen eğriden yararlanılarak belirlendi (Şekil 16). Standart grafiğinden elde edilen sonuçlar sulandırma faktörü dikkate alınarak hesaplandı.



**Şekil 16.** Notch1 kalibrasyon eğrisi

### 3.6. Serum Notch2 Düzeyinin Belirlenmesi

Hastalardan alınan serum örneklerindeki Notch2 düzeyleri insan spesifik ticari ELISA test kiti (Bioassay Technology Laboratory, Çin) kullanılarak belirlendi. Notch2'nin analizinde kantitatif sandviç-enzim immünoassay prensibine dayanan ELISA yönteminden yararlanıldı. Analizde ticari olarak satın alınan insan Notch2 antikoruna ile kaplı ELISA mikropłaka kullanılır. Örneklerdeki Notch2 plakada kaplı bulunan antikorlara bağlanması için inkübe edilir. Ardından biyotin ile konjuge antikor örnekte bulunan Notch2'lere bağlanır. Streptavidin-HRP ilavesi edilerek oluşan antikor-antijen konjugatına bağlanması için inkübe edilir. Reaksiyon ortamında bulunan bağlanmayan Streptavidin-HRP'nin uzaklaştırılması için yıkama işlemi gerçekleştirilir. Ardından substrat solüsyonunun ilave edilmesi ile örnekte bulunan Notch2 düzeyi kadar renk meydana gelir. Asidik durdurma solüsyonu ilave edilerek substratın enzim tarafından dönüşümü durdurulur. Oluşan sarı rengin optik dansitesi (O.D.) 450 nm'de spektrofotometrik ölçüm yöntemine dayalı ELISA okuyucusunda elde edilir.

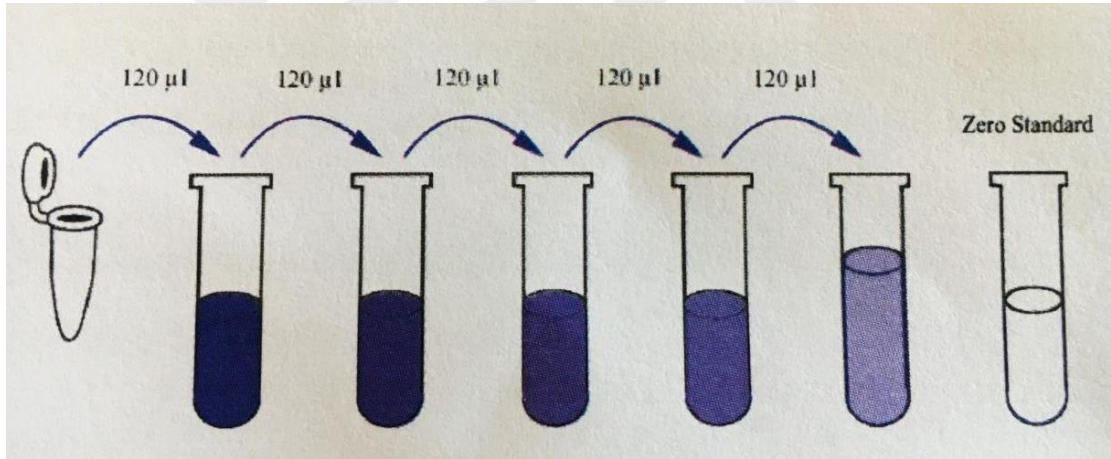
#### **Kitin içinden çıkan ayraçlar:**

1. İnsan Notch2 antikorları ile kaplı ELISA plakası
2. Notch2 standart solüsyonu (128 ng/ml)
3. Standart dilüsyon tamponu
4. Streptavidin-HRP solüsyonu (1x)

5. Asidik durdurma solusyonu (1x)
6. Substrat solusyonu A (1x)
7. Substrat solusyonu B (1x)
8. Konsantre yıkama tamponu (25X)
9. Biotin ile konjuge Notch2 antikorunu

#### **Hazırlık:**

1. Tüm örnekler ve ayıraçlar oda ısına getirildi.
2. Standartların hazırlanışı: kullanıma hazır 128 ng/ml konsantrasyonunda olan standart solüsyonundan 120 µl alınarak aynı miktarda standart dilüenti ile seyreltildi. Elde edilen standart ana stok (64 ng/ml) şeklinde kullanılarak bundan 1:2 oranında dilüsyonlar ile 32 ng/ml, 16 ng/ml, 8 ng/ml ve 4 ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler elde edildi. Standart dilüenti zero standart olarak (0 ng/ml) hazırlandı (Şekil 17).



Standart	Standart	Standart	Standart	Standart	Standart
Konsant.	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
128 ng/ml	64 ng/ml	32 ng/ml	16 ng/ml	8 ng/ml	4 ng/ml

**Şekil 17.** Notch2 analizinde kullanılan standartların hazırlanması

## **Yapılışı:**

1. Analize başlamadan önce gerekli solüsyonlar ve standartlar hazırlandı. ELISA mikrolakasına standartların ve örneklerin konulacağı kuyucuklar ayarlandı.
2. Kaplı ELISA mikrolakasına hazırlanan 64 ng/ml; 32 ng/ml; 16 ng/ml; 8 ng/ml; 4 ng/ml standart solüsyonlarından 50 µl çift tekrarlı olmak üzere ilave edildi.
3. Örneklerinden kuyucuklara 40 µl pipetlenerek üzerlerine 10 µl biotin ile konjuge Notch2 antikoru ilave edildi.
4. Zero standart (0 ng/ml ) hariç hazırlanan tüm standart ve örneklere 50 µl Streptavidin-HRP solüsyonu ilave edilerek, orbital bir şekilde karıştırıldı.
5. ELISA mikrolakasının üzeri kapatılarak 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
6. İnkübasyonun ardından standart ve örnekler bağlanmayan antikoları uzaklaştırmak için 5 defa 350 µl yıkama tamponu (1x) ile 1 dakikaya kadar çalkalanarak manuel yıkandı.
7. Yıkama işlemi esnasında ELISA mikrolakasının kurumamasına özen gösterildi.
8. Tüm kuyucuklara 50 µl substrat solüsyonu A ve 50 µl substrat solüsyonu B ilave edilerek, ELISA mikrolakasının üzeri kapatıldı.
9. Substratların enzim tarafından dönüşüme uğratılması için ELISA mikrolakası 37°C'de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi.
10. Her kuyucuğa inkübasyonun ardından 50 µl reaksiyonu durdurma solüsyonu ilave edilerek, kuyucuklardaki mavi rengin sarıya dönüşmesi takip edildi.
11. Oluşan rengin optik dansitesi 450 nm'de ELISA okuyucusunda ölçüldü.

## **Hesaplanması:**

Bütün örneklerin ve standartların absorbansı ELISA okuyucusunda belirlendikten kaydedildi. Standartların O.D. ile curve expert 1.4 programı kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlandı ve örneklerin içerdiği Notch2 proteinin konsantrasyonu (ng/ml) elde edilen eğriden yararlanılarak belirlendi (Şekil 18). Standart grafiğinden elde edilen sonuçlar sulandırma faktörü dikkate alınarak hesaplandı.

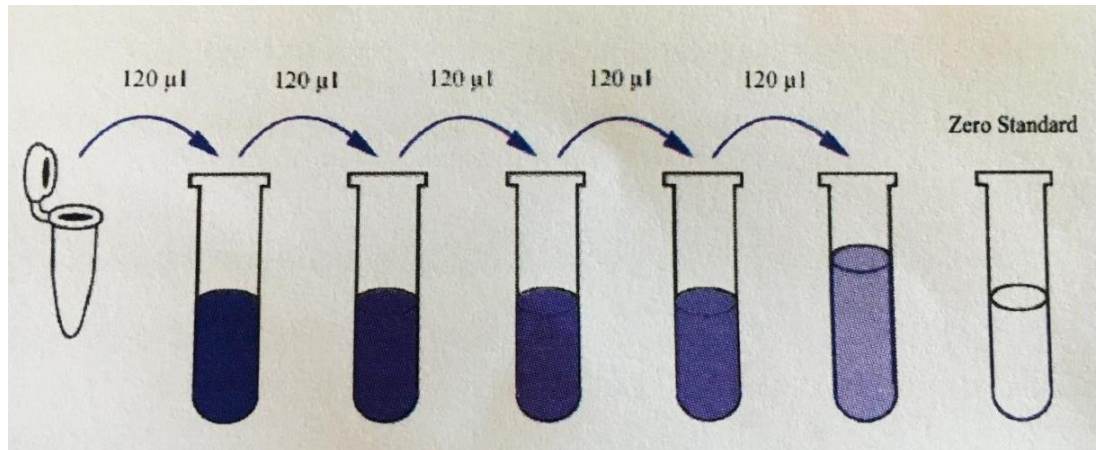


### Kitin içinden çıkan ayıraçlar:

1. İnsan Jagged1 antikorları ile kaplı ELISA plakası
2. Jagged1 standart solusyonu (48 ng/ml)
3. Standart dilusyon tamponu
4. Streptavidin-HRP solusyonu (1x)
5. Asidik durdurma solusyonu (1x)
6. Substrat solusyonu A (1x)
7. Substrat solusyonu B (1x)
8. Konsantre yıkama tamponu (25X)
9. Biotin ile konjuge Jagged1 antikor

### Hazırlık:

1. Tüm örnekler ve ayıraçlar oda ısısına getirildi.
2. Standartların hazırlanışı: kullanıma hazır 48 ng/ml konsantrasyonunda olan standart solüsyonundan 120 µl alınarak aynı miktarda standart dilüenti ile seyreltildi. Elde edilen standart ana stok (24 ng/ml) şeklinde kullanılarak bundan 1:2 oranında dilusyonlar ile 12 ng/ml, 6 ng/ml, 3 ng/ml ve 1,5 ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler elde edildi. Standart dilüenti zero standart olarak (0 ng/ml) hazırlandı (Şekil 19).



Standart	Standart	Standart	Standart	Standart	Standart
Konsant.	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
48 ng/ml	24 ng/ml	12 ng/ml	6 ng/ml	3 ng/ml	1,5 ng/ml

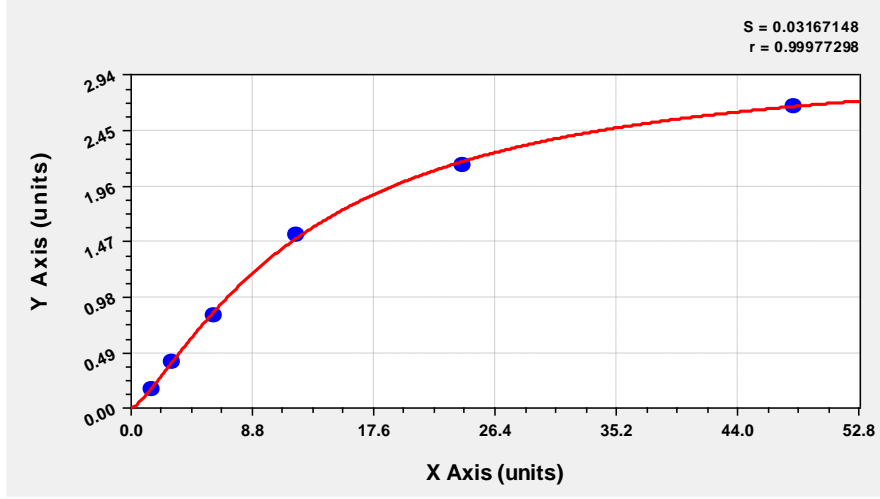
Şekil 19. Jagged1 analizinde kullanılan standartların hazırlanması.

### **Yapılışı:**

1. Analize başlamadan önce gerekli solüsyonlar ve standartlar hazırlandı. Mikroplakada standartların ve örneklerin konulacağı kuyucuklar belirlendi.
2. Standartlar için belirlenen kuyucuklara hazırlanan 64 ng/ml; 32 ng/ml; 16 ng/ml; 8 ng/ml; 4 ng/ml standart solüsyonlarından 50 µl çift tekrarlı olmak üzere ilave edildi.
3. Serum örnekleri için belirlenen kuyucuklara ise 40 µl örneklerden, 10 µl biotin ile konjuge Jagged 1 antikoruna pipetlendi.
4. Sadece standart dilüenti içeren zero standartın dışında hazırlanan tüm kuyucuklara 50 µl Streptavidin-HRP solüsyonu ilave edilerek, çalkalandı.
5. ELİSA mikrolakasının üzeri kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Ardından bağlanmayan antikorları ve fazla Streptavidin-HRP solüsyonunu uzaklaştırmak için yıkama işlemi gerçekleştirildi.
6. Yıkama işlemi 5 defa 350 µl yıkama tamponu (1x) ile 1 dakikaya kadar çalkalanarak, ELİSA mikrolakasının kurumamasına özen göstererek manuel yapıldı.
7. Tüm kuyucuklara 50 µl substrat solüsyonu A ve 50 µl substrat solüsyonu B ilave edilerek, 37°C'de 10 dakika karanlıkta inkübasyon gerçekleştirildi.
8. Antikor-antijen kompleksine bağlı bulunan Streptavidin-HRP enzim solüsyonunun substratı dönüşüme uğratmasını durdurmak amacıyla tüm kuyucuklara 50 µl asidik reaksiyonu durdurma solüsyonu ilave edildi.
9. Kuyucuklardaki mavi rengin sarıya dönüşmesi takip edildi.
10. Serum örneklerindeki Jagged1 ile doğru orantılı bir şekilde oluşan sarı rengin optik dansitesi 450 nm'de ELISA okuyucusunda ölçüldü.

### **Hesaplanması:**

Analiz sonu elde edilen standartların O.D. değerleri ile curve expert 1.4 programı kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlandı. Her örnek için Jagged-1 proteinin konsantrasyonu elde edilen standart grafiğinden yararlanarak ng/ml olarak belirlendi (Şekil 20). Elde edilen sonuçlar sulandırma faktörü dikkate alınarak hesaplandı.



**Şekil 20.** Jagged1 kalibrasyon eğrisi

### 3.8. Serum Jagged2 Düzeyinin Belirlenmesi

Örneklerdeki Jagged2 proteinin ng/L cinsinden miktarının tayininde kantitatif sandviç-enzim immünoassay prensibine dayanan insan spesifik ticari ELISA test kiti (Bioassay Technology Laboratory, Çin) kullanıldı. Kitin içinden çıkan insan Jagged2 antikoru ile kaplı ELISA mikroplakasına, örneklerdeki Jagged2'nin plakada kaplı bulunan antikorlara bağlanması için inkübe edildi. Oluşan komplekse biyotin ile konjuge antikorun bağlanması için inkübe edildi. Ardından Streptavidin-HRP ilave edilerek, bağlanmayanların uzaklaştırılması için yıkama işlemi gerçekleştirildi. Jagged2 düzeyini belirleyebilmek için ortama substrat solüsyonundan ilave edildi. Streptavidin-HRP tarafından substratlar dönüşüme uğratarak örnekte bulunan Jagged2 düzeyi kadar mavi renk meydana geldi. Asidik durdurma solüsyonu ilave edilerek, reaksiyon ortamında sarı renk meydana geldi. Oluşan renkoptik dansitesi (O.D.) 450 nm'de spektrofotometrik ölçüm yöntemine dayalı ELISA okuyucusunda elde edildi.

#### **Kitin içinden çıkan ayıraçlar:**

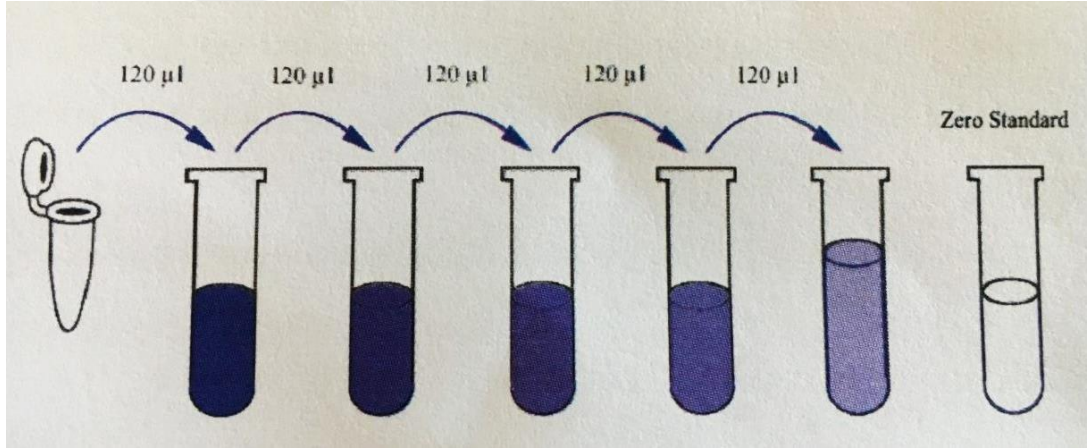
1. İnsan Jagged2 antikorları ile kaplı ELISA plakası
2. Jagged2 standart solüsyonu (960 ng/L)
3. Standart dilüsyon tamponu
4. Streptavidin-HRP solüsyonu (1x)
5. Asidik durdurma solüsyonu (1x)

6. Substrat solusyonu A (1x)
7. Substrat solusyonu B (1x)
8. Konsantre yıkama tamponu (25X)
9. Biotin ile konjuge Jagged2 antikorunu

### Hazırlık:

1. Tüm örnekler ve ayıraçlar oda ısısına getirildi.

2. Standartların hazırlanışı: kullanıma hazır 960 ng/L konsantrasyonunda olan standart solüsyonundan 120 µl alınarak aynı miktarda standart dilüenti ile seyreltildi. Elde edilen standart ana stok (480 ng/L) şeklinde kullanılarak bundan 1:2 oranında dilüsyonlar ile 240 ng/L, 120 ng/L, 60 ng/L ve 30 ng/L konsantrasyonlarında standart çözeltiler elde edildi. Standart dilüenti zero standart olarak (0 ng/ml) hazırlandı (Şekil 21).



Standart	Standart	Standart	Standart	Standart	Standart
Konsant.	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
960 ng/L	480 ng/L	240 ng/L	120 ng/L	60 ng/L	30 ng/L

Şekil

### 21. Jagged2 analizinde kullanılan standartların hazırlanması

#### Yapılışı:

1. Analize başlamadan önce gerekli solüsyonlar ve standartlar hazırlandı.
2. Mikropalakada standartların ve örneklerin konulacağı kuyucuklar belirlendi.

3. Hazırlanan 480 ng/L; 240 ng/L; 120 ng/L; 60 ng/L; 30 ng/L standart solüsyonlarından 50 µl çift tekrarlı olmak üzere ilave edildi.

4. Serum örnekleri için belirlenen kuyucuklara ise 40 µl örneklerden pipetlenerek üzarlerine 10 µl biotin ile konjuge Jagged-2 antikoru ilave edildi.

5. Sadece standart dilüenti içeren zero standartın dışında hazırlanan tüm kuyucuklara 50 µl Streptavidin-HRP solüsyonu ilave edilerek, çalkalandı. 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

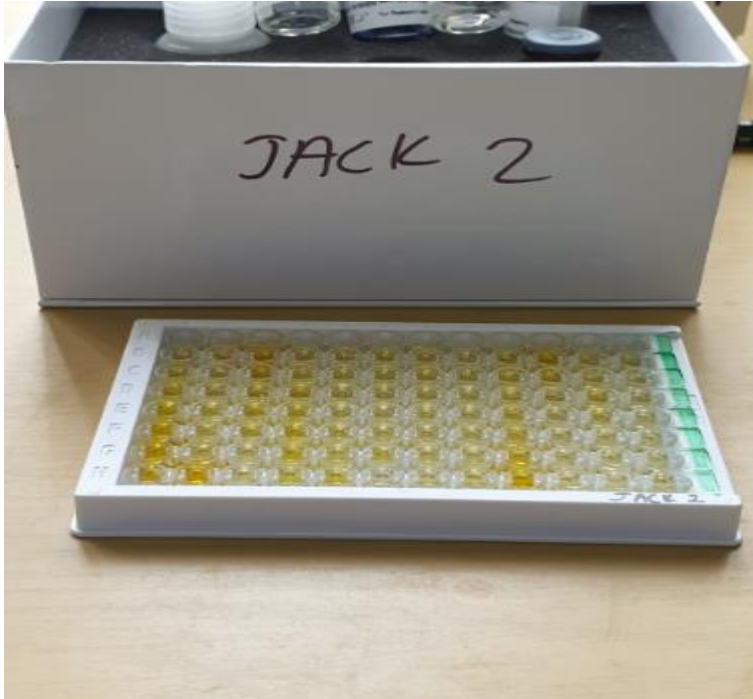
6. İnkübasyonun ardından bağlanmayan antikoları ve fazla Streptavidin-HRP solüsyonunu uzaklaştırmak için 5 defa 350 µl yıkama tamponu (1x) ile 1 dakikaya kadar çalkalanarak yıkama işlemi gerçekleştirildi.

7. Tüm kuyucuklara 50 µl substrat solüsyonu A ve 50 µl substrat solüsyonu B ilave edildi (Şekil 22).

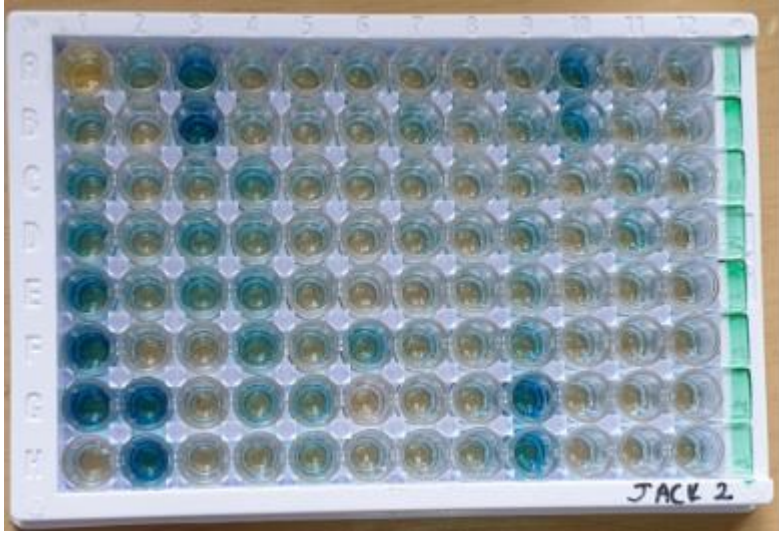
8. Substrat solüsyonlarının ilave edilmesinden sonra 37°C'de 10 dakika karanlıkta inkübasyon gerçekleştirildi.

9. İnkübasyon süresinin sonunda tüm kuyucuklara 50 µl asidik reaksiyonu durdurma solüsyonu ilave edildi (Şekil 23).

10. Serum örneklerindeki Jagged-2 ile doğru orantılı bir şekilde oluşan sarı rengin optik dansitesi 450 nm'de ELISA okuyucusunda ölçüldü.



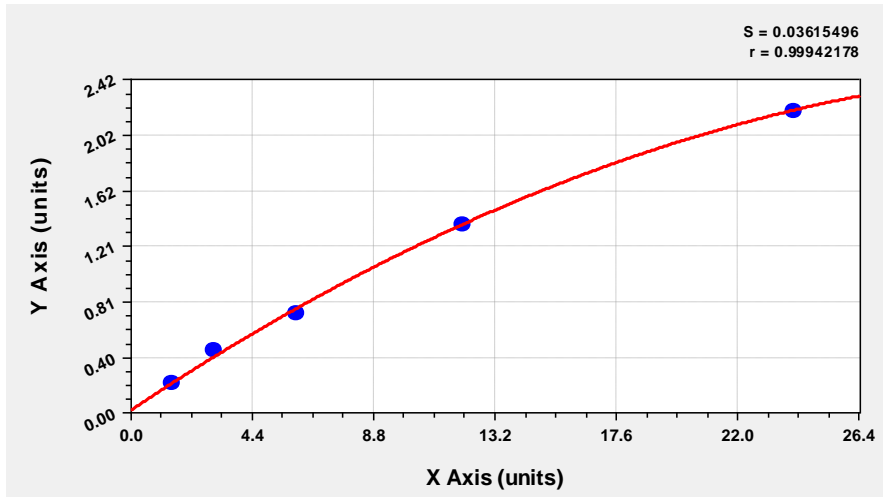
**Şekil 22.** Durdurma solüsyonundan önce jagged2 örnekleri



Şekil 23. Durdurma solüsyonundan sonra Jagged2 örneklerinde oluşan renk değişimi

#### Hesaplanması:

Analiz sonu elde edilen standartların O.D. değerleri ile curve expert 1.4 programı kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlandı. Her örnek için Jagged-2 proteinin konsantrasyonu elde edilen standart grafiğinden yararlanılarak ng/ml olarak belirlendi (Şekil 24). Elde edilen sonuçlar sulandırma faktörü dikkate alınarak hesaplandı.

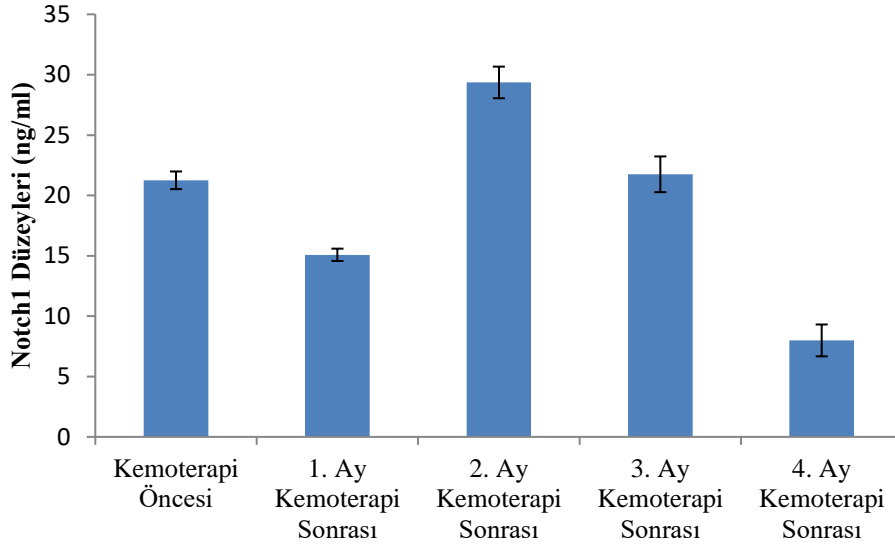


Şekil 24. Jagged2 kalibrasyon eğrisi

## 4. BULGULAR

### 4.1. Multipl Miyelom Hastalarında Kemoterapi Uygulamalarının Notch1 Düzeyleri Üzerine Etkisi

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine başvuran yeni tanı almış 22 hastanın kemoterapi uygulamaları öncesi ve her ay uygulanan kemoterapi sonrasındaki notch1 düzeyleri ELİSA yöntemi ile belirlendi. Elde edilen veriler Şekil 25’de verildi.



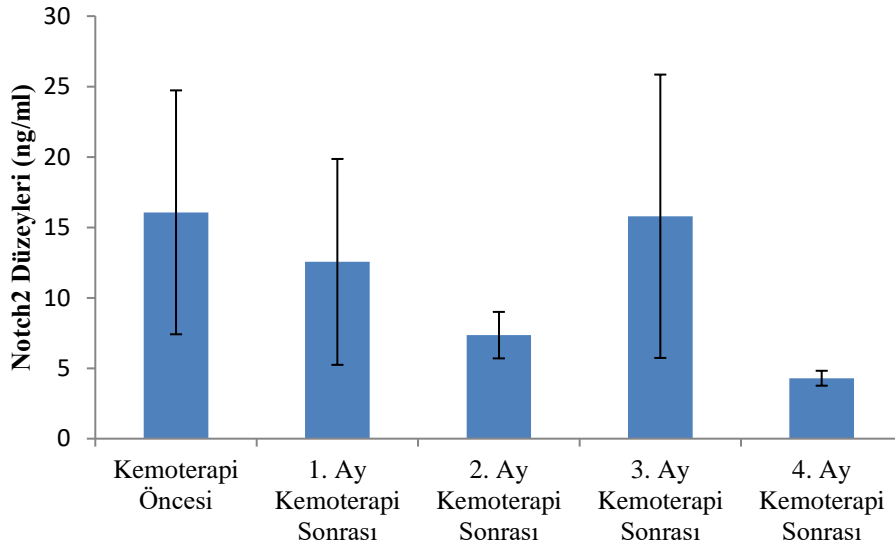
**Şekil 25.** Multipl miyelom hastalarında kemoterapi uygulamalarının notch1 düzeyleri

Hastalardan alınan örneklerde kemoterapi öncesi notch1 düzeyleri 21,25 ng/ml’dir. Hastalardan kemoterapi tedavi sonrası alınan örneklerde 1. ay notch1 düzeyleri 15,08, 2. ay notch1 düzeyleri 29,36, 3. ay notch1 düzeyleri 27,75 ve 4. ay notch1 düzeyleri 7,99 bulundu. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde kemoterapi öncesi notch1 düzeyleri uygulanan kemoterapi tedavisi sonrasındaki 1.ay notch düzeyleri ile karşılaştırıldığında sonuçlar azalmış gibi görünse de istatikselsel olarak anlamsızdır. Hastalardan kemoterapi tedavisi sonrasındaki 2. ayda alınan örneklerdeki notch1 düzeyleri 1. aydaki notch1 düzeylerine göre artmış gibi görünse de istatikselsel olarak anlamsızdır. 2. aydan sonra notch1

düzeyleri düşme eğilimindedir. 3. ay notch1 düzeyi 2. ay notch1 düzeyine göre ve 4. ay notch1 düzeyi 3. ay notch1 düzeyine göre değerlendirildiğinde sonuçlar istatistiksel olarak anlamsızdır.

#### 4.2. Multipl Miyelom Hastalarında Kemoterapi Uygulamalarının Notch2 Düzeyleri Üzerine Etkisi

Hastanemize başvuran yeni tanı almış 22 hastanın kemoterapi uygulamaları öncesi ve her ay uygulanan kemoterapi sonrasındaki notch2 düzeyleri ELİSA yöntemi ile belirlendi. Elde edilen veriler Şekil 26'da verildi.



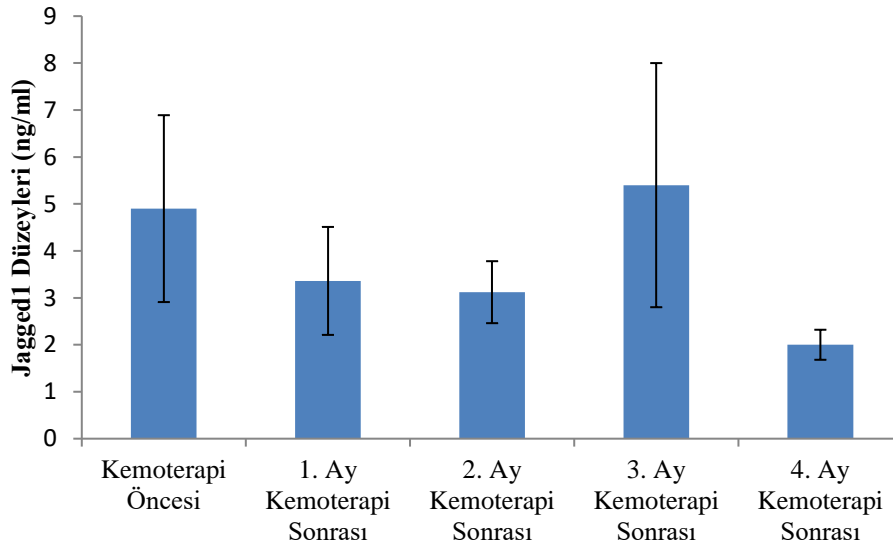
**Şekil 26.** Multipl miyelom hastalarında kemoterapi uygulamalarının notch2 düzeyleri

Hastalardan alınan örneklerde kemoterapi öncesi notch2 düzeyleri 16,07 ng/ml' dir. Hastalardan kemoterapi tedavi sonrası alınan örneklerde 1. ay notch2 düzeyleri 12,55, 2. ay notch2 düzeyleri 7,35, 3. ay notch2 düzeyleri 15,79 ve 4. ay notch2 düzeyleri 4,29 bulundu. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde kemoterapi öncesi notch2 düzeyleri uygulanan kemoterapi tedavisi sonrasındaki 1.ay notch düzeyleri ile karşılaştırıldığında sonuçlar azalmış gibi görünse de istatistiksel olarak anlamsızdır. Hastalardan kemoterapi tedavisi sonrasındaki 2. ayda alınan örneklerdeki notch2 düzeyleri 1. aydaki notch2 düzeylerine göre düşmüşse de istatistiksel olarak anlamsızdır. 3. ayda notch2 düzeyleri artmıştır fakat istatistiksel

olarak anlamsız çıkmıştır. 4. ay notch2 düzeyi 3. ay notch2 düzeyine göre değerlendirildiğinde sonuçlar istatistiksel olarak anlamsızdır.

### 4.3. Multipl Miyelom Hastalarında Kemoterapi Uygulamalarının Jagged1 Düzeyleri Üzerine Etkisi

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine başvuran yeni tanı almış 22 hastanın kemoterapi uygulamaları öncesi ve her ay uygulanan kemoterapi sonrasındaki Jagged1 düzeyleri ELİSA yöntemi ile belirlendi. Elde edilen veriler Şekil 27’de verildi.



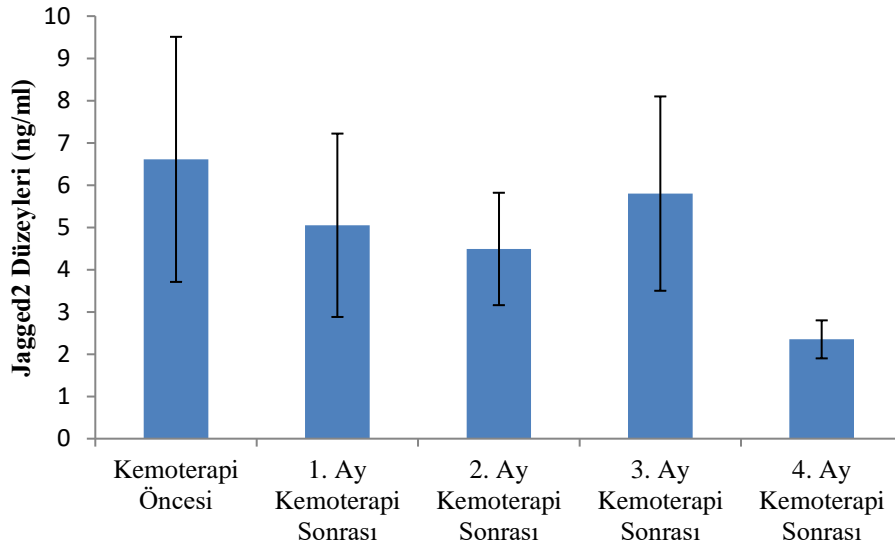
Şekil 27. Multipl miyelom hastalarında kemoterapi uygulamalarının Jagged1 düzeyleri

Hastalardan alınan örneklerde kemoterapi öncesi Jagged1 düzeyleri 4,90 ng/ml’ dir. Hastalardan kemoterapi tedavi sonrası alınan örneklerde 1. ay Jagged1 düzeyleri 3,36, 2. ay Jagged1 düzeyleri 3,12, 3. ay Jagged1 düzeyleri 5,40 ve 4. ay Jagged1 düzeyleri 2,0 bulundu. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde kemoterapi öncesi Jagged1 düzeyleri uygulanan kemoterapi tedavisi sonrasındaki 1.ay notch düzeyleri ile, 2. ay Jagged1 düzeyleri 1. ay Jagged1 düzeyleri ile karşılaştırıldığında sonuçlar azalmış gibi görünse de istatistiksel olarak anlamsızdır. Hastalardan kemoterapi tedavisi sonrasındaki 3. ayda alınan örneklerdeki Jagged1 düzeyleri 2. aydaki Jagged1 düzeylerine göre artmıştır ve fakat istatistiksel olarak anlamsızdır. Tedavi sürecinin 3. Ayında ise notch2 düzeyleri artmıştır fakat

istatistiksel olarak anlamsız çıkmıştır. 4. ay Jagged1 düzeyi 3. ay notch2 düzeyine göre değerlendirildiğinde sonuçlar istatistiksel olarak anlamsızdır.

#### 4.4. Multipl Miyelom Hastalarında Kemoterapi Uygulamalarının Jagged2 Düzeyleri Üzerine Etkisi

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine başvuran yeni tanı almış 22 hastanın kemoterapi uygulamaları öncesi ve her ay uygulanan kemoterapi sonrasındaki jagged2 düzeyleri ELİSA yöntemi ile belirlendi. Elde edilen veriler Şekil 28'de verildi.



Şekil 28. Multipl miyelom hastalarında kemoterapi uygulamalarının jagged2 düzeyleri

Hastalardan alınan örneklerde kemoterapi öncesi Jagged2 düzeyleri 6,61 ng/ml' dir. Hastalardan kemoterapi tedavi sonrası alınan örneklerde 1. ay Jagged2 düzeyleri 5,05 2. ay Jagged2 düzeyleri 4,49, 3. ay jagged2 düzeyleri 5,85 ve 4. ay Jagged2 düzeyleri 2,35 bulundu. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde kemoterapi öncesi Jagged2 düzeyleri uygulanan kemoterapi tedavisi sonrasındaki 1.ay Jagged2 düzeyleri ile, 2. ay Jagged2 düzeyleri 1. ay Jagged1 düzeyleri ile karşılaştırıldığında sonuçlar azalmış gibi görünse de istatistiksel olarak anlamsızdır. Hastalardan kemoterapi tedavisi sonrasındaki 3. ayda alınan örneklerdeki Jagged1 düzeyleri 2. aydaki Jagged2 düzeylerine göre artmıştır ve fakat istatistiksel olarak anlamsızdır. 3. ayda notch2 düzeyleri artmıştır fakat istatistiksel olarak

anlamsız çıkmıştır. 4. ay Jagged2 düzeyi 3. ay notch2 düzeyine göre değerlendirildiğinde sonuçlar istatistiksel olarak anlamsızdır.

#### 4.5. Multipl Miyelom Hastalarında Notch1, Notch2, Jagged1 Ve Jagged2 Düzeylerinin Kemoterapi Öncesi Ve Sonrası Diğer Aylardaki Etkileşimi

**Tablo 6.** Notch1, Notch2, Jagged1 ve Jagged2 düzeylerinin kemoterapi öncesi ve tedavi süresince korelasyon analizi sonuçları

Parametre	Örnek sayısı	Korelasyon	Sig.
Notch1 kemoterapi önce & Notch1 birinci ay	22	,925	,000
Notch1 birinci ay & Notch1 ikinci ay	20	,422	,064
Notch1 ikinci ay & Notch1 üçüncü ay	16	,147	,586
Notch1 üçüncü ay & Notch1 dördüncü ay	9	,862	,003
Notch2 kemoterapi önce & Notch2 birinci ay	22	,958	,000
Notch2 birinci ay & Notch2 ikinci ay	20	,654	,002
Notch2 ikinci ay & Notch2 üçüncü ay	16	,635	,008
Notch2 üçüncü ay & Notch2 dördüncü ay	10	,656	,039
Jagged1 kemoterapi önce & Jagged1 birinci ay	22	,937	,000
Jagged1 birinci ay & Jagged1 ikinci ay	20	,915	,000
Jagged1 ikinci ay & Jagged1 üçüncü ay	15	,850	,000
Jagged1 üçüncü ay & Jagged1 dördüncü ay	9	,669	,049
Jagged2 kemoterapi önce & Jagged2 birinci ay	22	,848	,000
Jagged2 birinci ay & Jagged2 ikinci ay	20	,899	,000
Jagged2 ikinci ay & Jagged2 üçüncü ay	16	,906	,000
Jagged2 üçüncü ay & Jagged2 dördüncü ay	9	,865	,003

## 5. TARTIŞMA

Düzenlenmemiş Notch sinyal yolağı MM'nin patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır (Leong ve Karsal, 2006). Memeli Notch ailesinin bir üyesi olan Notch1 hematopoezde önemli rol oynayan tip I transmembran reseptörü ve transkripsiyonel düzenleyicidir. Notch sinyallemesi, hematopietik kök hücrelerin kendi kendini yenilemesinde, hematopietik kök hücrelerden T hücre farklılaşmasının düzenlenmesinde,  $\alpha\beta$  T hücre gelişiminin düzenlenmesinde ve B hücresi gelişiminde rol oynayan kritik bir faktördür (Milner ve Bigas, 1999; Artavanis ve ark, 1999). Ligandın bitişik bir reseptöre bağlanması, Notch1'in yapısal değişikliğini indükler. Notch1'e benzer şekilde Jagged1, bir transmembran tip I proteindir ve Memeli Notch ligand DSL'sinin (Delta, Serrate, Jagged) bir üyesidir. Jagged1 bağlanmadığı durumlarda Notch1 reseptörü inaktiftir (Milner ve Bigas, 1999; Artavanis ve ark, 1999). T hücreli akut lenfoblastik lösemi / lenfoma alt grubunun gelişiminde aktif Notch1 reseptörü olduğu saptanmıştır (Leong ve Karsal, 2006). O zamandan beri birçok solid ve hematopietik neoplazide Notch sinyalizasyonunun rolü bulunmuştur.

MM'li hastalarda tümör plazma hücresinde Notch1 ve Jagged1'in ekspresyonu görülmüştür. Her ikisi de neoplastik CD138 miyelom hücrelerinde yüksek derecede eksprese edildi. Sağlıklı donörlerin kemik iliği kaynaklı izole plazma CD38<sup>+++</sup> / CD19<sup>++</sup> hücrelerinde düşük ekspresyon veya immünohistokimyasal boyanma bulunmamaktadır (Jundt ve Probsting, 2004).

Notch sinyal yolağının inhibisyonu umut verici bir terapötik strateji olabileceğini düşünülmektedir. Son yıllarda araştırmacılar MM'de Notch aktivasyonunu açıkladılar (Nefedova ve ark, 2004). Başka bir çalışmada, MM hücrelerinde Notch sinyalizasyonunun aktivasyonu apoptozu inhibe etmiştir (Jia ve ark, 2004). Bir başka çalışmada, MM hücrelerinde Notch sinyalizasyonunun aktivasyonu, apoptozun inhibisyonuyla sonuçlandı. Notch ligandının Jagged 2'nin ekspresyonu MM hücrelerinde gözlemlendi. Bu aşın ifade, interlökin-6 (IL-6), vasküler endotelial büyüme faktörü ve insülin benzeri büyüme faktörünün salgılanmasına neden olmuştur (Houde ve ark, 2004). Bu bilgiler, Notch sinyalizasyonunun MM'nin hayatta kalması ve büyümesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Notch ligandları MM hücrelerinde tespit edilebilmesine rağmen, bunlar en fazla BMS ve BM makrofajları tarafından eksprese edilir. Bu da, p21'in up-regülasyonundan

ve MM hücrelerinin kemoterapötiklere karşı duyarlılığının azalmasından kaynaklanan Notch aktivasyonu ve büyümenin durmasıyla sonuçlanır (Nefedova ve ark, 2003; Li ve ark, 1998; Bertrand ve ark, 2000; Felli ve ark, 1998). Nefedova ve arkadaşları (2017) ilk defa Notch sinyalizasyonunun farmakolojik inhibisyonunun MM'de kemoterapötiklerin etkisini artırabildiğini göstermiştir. MM hücreleri öncelikli olarak kemik iliği mikro çevre bileşenleri ile etkileşime giren kemik iliği stromasında bulunur. Tümör hücrelerinin mikro çevre ile etkileşimi habis hücrelerin büyüme, hayatta kalma ve kemoterapi üzerine derin bir etkisi olduğu fikrini desteklemektedir ( Nefedova ve ark, 2003; Damiano ve ark, 1999; . Damiano ve ark, 2001; Hazlehurst ve, Dalton, 2001). Tümör hücrelerinin direnci BMS'ye yapışmaları ile kemoterapiye bağlanabilir. Veriler Notch sinyalizasyonunun engellenmesinin BMS aracılığındaki de yeni ilaç direncini tersine çevirdiğini ve MM hücrelerini kemoterapötiklere duyarlı hale getirmiştir ( Nefedova ve ark, 2017).

Kanser kök hücrenin kendini yenilemesinde Notch sinyallemesinin bir başka önemli rolü olduğu bildirilmiştir (Takabe ve ark, 2015). MM kök hücrelerinin (MMSC'ler) ilaç direnci, tümör dormansi ve nüks için belirli MMSC işaretlerinin tanımlanması konusunda araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Gerçekten de, MMSC'lerin B hücrelerinden kaynaklanıp kaynaklanmadığı ve bu nedenle CD138-CD19 + CD20 + hücreleri olarak ya da CD138 + popülasyonunda bulunabilen olgun plazma hücrelerinden türetildikleri hala tartışılmaktadır. (Yata K, Yacob, 2004). MMSC ile çalışılmasının kesin belirteçlerin olmaması nedeni ile zorlaşsa da MMSC'lerde Notch sinyallemesinin fonksiyonel rolü analizler temelinde açıklanmıştır (Xu ve ark, 2012; Chiron ve ark, 2012). Chiron ve arkadaşları Jagged2'nin MM hücresinin kendini yenilemesi için kritik olduğunu ve MM hücre dizilerinin klonojenik büyümesinin Jagged2 ekspresyonu ile korelasyon gösterdiğini, diğer taraftan da klonojenik ve in vivo büyümenin Jagged2 susturulması ile bozulduğunu gösterdiğini bildirmiştir Chiron ve ark, 2012).

MM'de Notch sinyallemesini inhibe etmeye yönelik bir terapötik yaklaşım, azalmış MM hücre proliferasyonu (Nefedova ve ark 2008), köklülük (Xu ve ark, 2012 ve Chiron ve ark, 2012) , migrasyon ve Kemik İliği infiltrasyonu (Mirondola ve ark, 2013), MM ile ilişkili kemik hastalığı (Colombo ve ark, 2014; Zanotti ve ark, 2008; Schwarzer ve ark, 2014) ve farmakolojik tedavilere artmış duyarlılık dahil olmak üzere Notch sinyalleme inhibisyonunun sonuçlarının daha önce ayrıntılı in vitro ve in vivo kanıtlarına dayanır.

Bildirildiği üzere, MM'de tanımlanan Notch sinyal değişiklikleri, reseptörler ve ligandlar dahil olmak üzere Notch yolu elemanlarının artan bir ifadesi ile sonuçlanmaktadır

(Takeuchi ve ark, 2005). Ayrıca, Notch1 ve Jagged1 ekspresyonunun artışı, MGUS'den MM'ye hastalık ilerlemesi üzerine rapor edilmiştir (Skrtic ve ark, 2010).



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde edilen; Notch1, Notch2, Jagged1, Jagged2'nin kemoterapi öncesi ve sonrası 4 ay boyunca ölçülen düzeyler SPSS analiz programında paired samples t test te değerlendirildiğinde sonuçlarımızın anlamsız çıktığı görülmüştür. Bunun nedenleri arasında N sayımızın (22) düşük olması, bağımlı değişken sayılarımızın çeşitli nedenlerden dolayı eşit olmadığı ve kontrol grubunun çalışmaya dahil edilmediği gösterilebilir.

Notch1, Notch2, Jagged1, Jagged2 düzeylerin ortalamaları alındığında aylar arasındaki azalış ve artışlar fark edilmiştir. Sonuçlar korelasyon analizi ile değerlendirildiğinde bazı aylar arasındaki düzeylerde korelasyon anlamlı çıkmıştır. Ayrıca myelomun farklı alt tiplerine sahip hastalarda ayrı ayrı değerlendirme yapılarak daha spesifik sonuçlar elde edilebilir.

Hem Notch1-Notch2 hem de Jagged1-Jagged2 ekspresyonu plazma hücresinde daha karmaşık değişikliklere neden olabileceğinden ve belirli bir süre bu düzeylerin daha büyük bir hasta serisinde doğrulandığında MM evreleri için potansiyel belirteçler olabileceğini düşündürmektedir.

Diğer taraftan, MM'de Notch sinyallemesinin kritik rolüne rağmen, geniş genetik heterojenite, anti-Notch tedavisine farklı hassasiyetleri olan MM alt tiplerine neden olabilir. MM hücreleri anti-Notch tedavisine karşı muhtemel direnç geliştirir. Aşağı doğru Notch mediyatörlerinde veya epigenetik mekanizmalarda meydana gelen mutasyonların neden olduğu GSI-direnci, T-ALL'da iyi tanımlanmıştır (Hales ve ark, 2014; O'Neil ve ark, 2007; Knoechel ve ark, 2014), ancak bugüne kadar MM hücrelerinde bildirilmemiştir.

Tümör-stroma etkileşimi bağlamında Notch sinyallemesi MM hücrelerinin kemoterapötik ilaçlara duyarlılığını modüle ettiğini göstermektedir. Sonuçlarımızdaki aylar arasındaki notch yolağı elemanlarındaki değişiklikler bunu destekler niteliktedir.

## KAYNAKLAR

- Abe M.** Targeting the interplay between myeloma cells and the bone marrow microenvironment in myeloma. *International Journal of Hematology* 2011, 94, 334-343.
- Albarracin F, Fonseca R.** Plasma cell leukemia. *Blood Reviews* 2011, 25, 107-112.
- Alexander DD, Mink PJ, Adami HO, Cole P, Mandel JS, Oken MM, Trichopoulos D.** Multiple myeloma: a review of the epidemiologic literature. *International Journal of Cancer* 2007, 12, 40-61.
- Anderson K.** Plasma cell tumors. In: Bast RJ, Kufe D, Pollack R. *Cancer Medicine* 2001, 2066-2085.
- Anderson KC, Carrasco RD.** Pathogenesis of myeloma. *Annual Reviews Pathology* 2011, 6, 249-274.
- Anderson KC, Shaughnessy JD, Barlogie B, Harousseau JL, Roodman GD.** Multiple Myeloma. Hematology. *American Society of Hematology. Education Program* 2002, 214-240.
- Arinkin MI.** Die intravitale Untersuchungsmethodik des Knochenmarks. *Folia Haematologica* 1929, 38, 233-240.
- Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ.** Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 1999, 284, 770-776.
- Avigan D, Rosenblatt J.** Current treatment for multiple myeloma. *New England Journal of Medicine* 2014, 371, 961-962.
- Bataille R, Chappard D, Marcelli C, Dessauw P, Sany J, Baldet P, Alexandre C.** Mechanisms of bone destruction in multiple myeloma: the importance of an unbalanced process in determining the severity of lytic bone disease. *Journal of Clinical Oncology* 1989, 7, 1909-1914.
- Bayne Jones S, Wilson DW.** Immunological reactions of Bence-Jones proteins. II. Differences between Bence-Jones proteins from various sources *Bull John Hopkins Hosp*, 1922.
- Bertrand FE, Eckfeldt CE, Lysholm AS, LeBien TW.** Notch-1 and Notch-2 exhibit unique patterns of expression in human B-lineage cells. *Leukemia* 2000, 14, 2095-2102.
- Bigas A, D'Altri T, Espinosa L.** The Notch pathway in hematopoietic stem cells. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 2012, 360, 1-18.
- Borggreve J, Giravent S, Thomsen F, Pena J, Campbell G, Wulff A, Günther A, Heller M, Glüer CC.** Association of QCT bone mineral density and bone structure with vertebral

fractures in patients with multiple myeloma. *Journal of Bone and Mineral Research* 2015, 30, 1329-1337.

**Cavo M, Rajkumar SV, Palumbo A, Moreau P, Orłowski R, Bladé J, Sezer O, Ludwig H, Dimopoulos MA, Attal M, Sonneveld P, Boccadoro M, Anderson KC, Richardson PG, Bensinger W, Johnsen HE, Kroeger N, Gahrton G, Bergsagel PL, Vesole DH, Einsele H, Jagannath S, Niesvizky R, Durie BG, San Miguel J, Lonial S.** International Myeloma Working Group consensus approach to the treatment of multiple myeloma patients who are candidates for autologous stem cell transplantation. *Blood* 2011, 117, 6063-6073.

**Cavo M, Terpos E, Nanni C, Moreau P, Lentzsch S, Zweegman S, Hillengass J, Engelhardt M, Usmani SZ, Vesole DH, San-Miguel J, Kumar SK, Richardson PG, Mikhael JR, da Costa F, Dimopoulos MA, Zingaretti C, Abildgaard N, Goldschmidt H, Orłowski RZ, Chng WJ, Einsele H, Lonial S, Barlogie B, Anderson KC, Rajkumar SV, Durie BGM, Zamagni E.** Role of 18F-FDG PET/CT in the diagnosis and management of multiple myeloma and other plasma cell disorders: a consensus statement by the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncology* 2017, 18, 206-217.

**Cesana C, Klersy C, Barbarano L, Nosari AM, Crugnola M, Pungolino E.** Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology* 2002, 20, 1625-1634.

**Chiron D, Maiga S, Descamps G, Moreau P, Le Gouill S, Marionneau S, Ouiller T, Moreaux J, Klein B, Bataille R, Amiot M, Pellat-Deceunynck C.** Critical role of the NOTCH ligand JAG2 in self-renewal of myeloma cells. *Blood Cells, Molecules and Diseases* 2012, 48, 247-253.

**Colombo M, Mirandola L, Platonova N, Apicella L, Basile A, Figueroa AJ, Cobos E, Chiriva-Internati M, Chiaramonte R.** Notch-directed microenvironment reprogramming in myeloma: a single path to multiple outcomes. *Leukemia* 2013, 27, 1009-1018.

**Colombo M, Galletti S, Garavelli S, Platonova N, Paoli A, Basile A, Taiana E, Neri A, Chiaramonte R.** Notch signaling deregulation in multiple myeloma: A rational molecular target. *Oncotarget* 2015, 6, 29.

**Dallman, M. J, Smith, E, Benson, R. A, Lamb J. R.** Notch: control of lymphocyte differentiation in the periphery. *Current opinion in immunology* 2005, 17, 259-266.

**Damiano JS, Cress AE, Hazlehurst LA, Shtil AA, Dalton WS.** Cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR): role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines. *Blood* 1999, 93, 1658-1667.

**Damiano JS, Hazlehurst LA, Dalton WS.** Cell adhesion-mediated drug resistance (CAM-DR) protects the K562 chronic myelogenous leukemia cell line from apoptosis induced by BCR/ABL inhibition, cytotoxic drugs, and gamma-irradiation. *Leukemia* 2001, 15, 1232-1239.

**Dang TP, Gazdar AF, Virmani AK, Sepetavec T, Hande KR, Minna JD, Roberts JR, Carbone DP.** Chromosome 19 translocation, overexpression of Notch3, and human lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2000, 92, 1355-1357.

**Dispenzieri A, Lacy MQ, Greipp PR.** Multiple Myeloma. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B (Eds). *Wintröbe's Clinical Hematology* 2004, 11, 2583-2637.

**Durie BGM, Harousseau JL, Miguel JS, Blade J, Barlogie B, Anderson K, Gertz M, Dimopoulos M, Westin J, Sonneveld P, Ludwig H, Gahrton G, Beksac M, Crowley J, Belch A, Boccadaro M, Turesson I, Joshua D, Vesole D, Kyle R, Alexanian R, Tricot G, Attal M, Merlini G, Powles R, Richardson P, Shimizu K, Tosi P, Morgan G, Rajkumar SV.** International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006, 20, 1467-1473.

**Edelman GM, Gally JA.** The nature of Bence-Jones proteins: chemical similarities to polypeptide chains of myeloma globulins and normal gamma-globulins. *The Journal of Experimental Medicine* 1962, 116, 207-227.

**Eric C.** Notch signaling: control of cell communication and cell fate. *Development* 131, 965-973.

**Felli MP, Maroder M, Mitsiadis TA, Campese AF, Bellavia D, Vacca A, Mann RS, Frati L, Lendahl U, Gulino A, Screpanti I.** Expression pattern of notch1, 2 and 3 and Jagged1 and 2 in lymphoid and stromal thymus components: distinct ligand-receptor interactions in intrathymic T cell development. *International Immunology* 1999, 11, 1017-1025.

**Fernández de LC, Kyle RA, Durie BG, Ludwig H, Usmani S, Vesole DH, Hajek R, San Miguel JF, Sezer O, Sonneveld P, Kumar SK, Mahindra A, Comenzo R, Palumbo A, Mazumber A, Anderson KC, Richardson PG, Badros AZ, Caers J, Cavo M, LeLeu X, Dimopoulos MA, Chim CS, Schots R, Noeul A, Fantl D, Mellqvist UH, Landgren O, Chanan-Khan A, Moreau P, Fonseca R, Merlini G, Lahuerta JJ, Bladé J, Orłowski RZ, Shah JJ.** Plasma cell leukemia: consensus statement on diagnostic requirements, response criteria and treatment recommendations by the International Myeloma Working Group. *Leukemia* 2013, 27, 780-791.

**Fleischer R.** Ueber das Vorkommen des sogenannten Bence Jones'schen Eiweisskörpers im normalen Knochenmark. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicine* 1880, 80(3), 482-489.

**Ghoshal P, Nganga AJ, Moran-Giupati J, Szafranek A, Johnson TR, Bigelow AJ, Houde CM, Avet-Loiseau H, Smiraglia DJ, Ersing N, Chanan-Khan AA, Coignet LJ.** Loss of the SMRT/NCOR2 corepressor correlates with JAG2 overexpression in multiple myeloma. *Cancer Research* 2009, 69(10), 4380-4387.

**Giuliani N, Colla S, Rizzoli V.** New insight in the mechanism of osteoclast activation and formation in multiple myeloma: focus on the receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL). *Experimental Hematology* 2004, 32, 685-691.

**Giuliani N, Storti P, Bolzoni M, Palma BD, Bonomini S.** Angiogenesis and Multiple Myeloma. *Cancer Microenvironment* 2011, 4, 325-337.

**Grabar P, Williams CA.** Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin. *Biochimica Et Biophysica Acta* 1953, 10, 193-194.

**Greipp PR, Raymond NM, Kyle RA, O'Fallon WM.** Multiple myeloma: significance of plasmablastic subtype in morphological classification. *Blood* 1985, 65, 305-310.

**Grimwade BG, Muskavitch MA, Welshons WJ, Yedvobnick B, Artavanis-Tsakonas S.** The molecular genetics of the Notch locus in *Drosophila melanogaster*. *Developmental Biology* 1985, 107, 503-519.

**Grogan TM, Van Camp B, Kyle RA, Muller-Hermelink HK, Harris NL.** Plasma cell neoplasms. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, editors. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, IARC Press; 2001.

**Hales EC, Taub JW, Matherly LH.** New insights into Notch1 regulation of the PI3K-AKT-mTOR1 signaling axis: targeted therapy of  $\gamma$ -secretase inhibitor resistant T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cell Signaling* 2014, 26, 149-161.

**Hazlehurst LA, Dalton WS.** Mechanisms associated with cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR) in hematopoietic malignancies. *Cancer and Metastasis Reviews* 2001, 20, 43-50.

**Houde C, Li Y, Song L, Barton K, Zhang Q, Godwin J, Nand S, Toor A, Alkan S, Smadja NV, Avet-Loiseau H, Lima CS, Miele L, Coignet LJ.** Overexpression of the NOTCH ligand JAG2 in malignant plasma cells from multiple myeloma patients and cell lines. *Blood* 2004, 104, 3697-3704.

**Huang SY, Yao M, Tang JL, Lee WC, Tsay W, Cheng AL, Wang CH, Chen YC, Shen MC, Tien HF.** Epidemiology of multiple myeloma in Taiwan: increasing incidence for the past 25 years and higher prevalence of extramedullary myeloma in patients younger than 55 years. *Cancer* 2007, 110, 896.

**Hubmann R, Schwarzmeier JD, Shehata M, Hilgarth M, Duechler M, Dettke M, Berger R.** Notch2 is involved in the overexpression of CD23 in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002, 99, 3742-3747.

**International Myeloma Working Group** . Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *British Journal of Haematology* 2003, 121, 749–757.

**Islami F, Goding Sauer A, Gapstur SM, Jemal A.** Proportion of Cancer Cases Attributable to Excess Body Weight by US State. *JAMA Oncology* 2018, 2011-2015.

**Jaffe ES, Harris NL, Vardiman JW, Campo E, Arber DA eds.** *Hematopathology* 2011, USA.

**Jia XX, Lu ZZ, Wang H, et al.** Suppressive effect of Notch signal activation on apoptosis of multiple myeloma cells. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2004,12, 335-339.

**Jones HB.** Papers on Chemical Pathology: Prefaced by the Gulstonian Lectures, read at the Royal College of Physicians, *The Lancet* 1846, 50, 511-4.

**Jundt F, Anagnostopoulos I, Forster R, Mathas S, Stein H, Dörken B.** Activated Notch1 signaling promotes tumor cell proliferation and survival in Hodgkin and anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2002, 99, 3398-3403.

**Jundt F, Probsting KS, Anagnostopoulos I, Muehlinghaus G, Chatterjee M, Mathas S, Bargou RC, Manz R, Stein H, Dörken B.** Jagged1-induced Notch signaling drives proliferation of multiple myeloma cells. *Blood* 2004, 103, 3511-3515.

**Jurišić V M.** Correlation of sera TNF- $\alpha$  with percentage of bone marrow plasma cells, LDH,  $\beta$ 2-microglobulin, and clinical stage in multiple myeloma. *Medicine Oncology* 2002, 19, 133–139.

**Katzmann JA, Clark R, Kyle RA, Larson DR, Therneau TM, Melton 3rd LJ, Benson JT, Colby CL, Dispenzieri A, Landgren O, Kumar S, Bradwell AR, Cerhan JR, Rajkumar SV.** Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS. *Leukemia* 2013, 27, 208–212.

**Knoechel B, Roderick JE, Williamson KE, Zhu J, Lohr JG, Cotton MJ, Gillespie SM3 Fernandez D5, Ku M6 Wang H7, Piccioni F8 Silver SJ8, Jain M.** An epigenetic mechanism of resistance to targeted therapy in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Nature Genetics* 2014;

**Kopan R, Goate A.** A common enzyme connects notch signaling and Alzheimer's disease. *Genes & Development* 2000, 14, 2799-2806.

**Kopan R, Ilagan MX.** The canonical Notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism. *Cell* 2009, 137, 216- 233.

**Korngold L, Lipari R.** Multiple-myeloma proteins“ III. The antigenic relationship of Bence Jones proteins to normal gamma-globulin and multiple-myeloma serum proteins. *Cancer* 1956, 9, 262–272.

**Kuhn DJ, Berkova Z, Jones RJ, Woessner R, Bjorklund CC, Ma W, Davis RE, Lin P, Wang H, Madden TL, Wei C, Baladandayuthapani V, Wang M, , Thomas SK, Shah JJ, Weber DM, Orlowski RZ.** Targeting the insulin-like growth factor-1 receptor to overcome bortezomib resistance in preclinical models of multiple myeloma. *Blood* 2012, 120, 3260–3270.

**Kyle R.A, Steensma DP. History of Multiple Myeloma.** In: Moehler T., Goldschmidt H. Multiple Myeloma. Recent Results in Cancer Research 2011, 183, Springer, Berlin, Heidelberg.

**Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV, Landgren O, Blade J, Merlini G, Kröger N, Einsele H, Vesole DH, Dimopoulos M, San Miguel J, Avet-Loiseau H, Hajek R, Chen WM, Anderson KC, Ludwig H, Sonneveld P, Pavlovsky S, Palumbo A, Richardson PG, Barlogie B, Greipp P, Vescio R, Turesson I, Westin J, Boccadoro M; International Myeloma Working Group.** Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 2010, 24, 1121–1127.

**Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Fonseca R, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak ME, Therneau TM, Greipp PR.** Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings* 2003, 78-21.

**Kyle RA, Rajkumar SV.** Plasma cell disorders. In: Cecil textbook of medicine, 22nd ed, Goldman L, Ausiello DA (Eds), WB Saunders, Philadelphia 2004, 1184.

**Kyle RA.** Multiple myeloma: review of 869 cases. *Mayo Clinic Proceedings* 1975, 50, 29-40.

**Kyle RA1, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, Fonseca R, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak ME, Therneau TM, Greipp PR.** Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings* 2003, 78(1), 21-33.

**Kyrgiou M, Kalliala I, Markozannes G, Gunter MJ, Paraskeva E, Gabra H, Martin-Hirsch P, Tsilidis KK.** Adiposity and cancer at major anatomical sites: umbrella review of the literature. *British Medical Journal* 2017, 356-477.

**Lai EC.** Notch signaling: control of cell communication and cell fate. *Development* 2004; 131, 965–973.

**Lai FP, Cole-Sinclair M, Cheng WJ, Quinn JM, Gillespie MT, Sentry JW, Schneider HG.** Myeloma cells can directly contribute to the pool of RANKL in bone by passing the classic stromal and osteoblast pathway of osteoclast stimulation. *British Journal Haematology* 2004, 126, 192–201.

**Lambie EJ, Kimble J.** Two homologous regulatory genes, *lin-12* and *glp-1*, have overlapping functions. *Development* 1991, 112, 231-240.

**Larson D, Kyle RA, Rajkumar SV.** Prevalence and monitoring of oligosecretory myeloma. *The New England Journal of Medicine* 2012, 367-580.

**Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, Grosse Y, Bianchini F, Straif K; International Agency for Research on Cancer Handbook Working Group.** Body Fatness and Cancer--Viewpoint of the IARC Working Group. *The New England Journal of Medicine* 2016, 375-794.

**Leethanakul C, Patel V, Gillespie J, Pallente M, Ensley JF, Koontongkaew S, Liotta LA, Emmert-Buck M, Gutkind JS.** Distinct pattern of expression of differentiation and growth-related genes in squamous cell carcinomas of the head and neck revealed by the use of laser capture microdissection and cDNA arrays. *Oncogene* 2000, 19, 3220-3224.

**Lehmann, R., Jiménez, F., Dietrich, U. and Campos-Ortega, J.** On the phenotype and development of mutants of early neurogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Wilhelm Roux's archives of developmental biology* 1983, 192, 62-74.

**Leong KG, Karsan A.** Recent insights into the role of Notch signaling in tumorigenesis. *Blood* 2006, 107, 2223-33.

**Li L, Milner LA, Deng Y, Iwata M, Banta A, Graf L, Marcovina S, Friedman C, Trask BJ, Hood L, Torok-Storb B.** The human homolog of rat *Jagged1* expressed by marrow stroma inhibits differentiation of 32D cells through interaction with Notch1. *Immunity* 1998, 8, 43-55.

**Liu T, Fei Z, Gangavarapu KJ, Agbenowu S, Bhushan A, Lai JC, Daniels CK, Cao S.** Interleukin-6 and JAK2/STAT3 signaling mediate the reversion of dexamethasone resistance after dexamethasone withdrawal in 7TD1 multiple myeloma cells. *Leukemia Research* 2013, 37, 1322-1328.

**Liu Z, Fan F, Wang A, Zheng S, Lu Y.** Dll4-Notch signaling in regulation of tumor angiogenesis. *Journal Cancer Res Clinical Oncology* 2014, 140, 525-536.

**Longsworth LG.** Electrophoretic patterns of normal and pathological human blood serum and plasma. *Journal of Experimental Medicine* 1939, 70, 399-413.

**Lynch HT, Sanger WG, Pirruccello S, Quinn-Laquer B, Weisenburger DD.** Familial multiple myeloma: a family study and review of the literature. *Journal of the National Cancer Institute* 2001, 93, 1479.

**Macintyre W** Case of Mollities and Fragilitas Ossium, accompanied with urine strongly charged with animal matter. *Medico-Chirurgical Transactions* 1850, 33, 211-32

**McKenna RW , Kyle RA , Kuehl WM , et al .** Plasma cell neoplasms . In: Swerdlow SH , Campo E , Harris NL eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues . Lyon, France: IARC; 2008, 200-213.

**Milner LA, Bigas A.** Notch as a mediator of cell fate determination in hematopoiesis: evidence and speculation. *Blood* 1999, 93, 2431-48.

**Mirandola L, Apicella L, Colombo M, Yu Y, Berta DG, Platonova N, Lazzari E, Lancellotti M, Bulfamante G, Cobos E, Chiriva-Internati M, Chiaramonte R.** Anti-Notch treatment prevents multiple myeloma cells localization to the bone marrow via the chemokine system CXCR4/SDF-1. *Leukemia*. 2013, 27, 1558–1566.

**Mirandola L, Comi P, Cobos E, Kast WM, ChirivaInternati M, Chiaramonte R.** Notch-ing from T-cell to B-cell lymphoid malignancies. *Cancer Letters* 2011, 308, 1–13.

**Mitsiades CS, McMillin DW, Klippel S, Hideshima T, Chauhan D, Richardson PG, Munshi NC, Anderson KC.** The role of the bone marrow microenvironment in the pathophysiology of myeloma and its significance in the development of more effective therapies. *Hematology/Oncology Clinics of North America* 2007, 21,1007–1034.

**Moehring HD.** Nonsecretory Myeloma. A case report. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1982, 171, 196-201.

**Morgan, T. H.** The theory of the gene. *Am. Nat.* 1917, 51, 513-544.

**Nefedova Y, Cheng P, Alsina M, Dalton W, Gabrilovich D.** Involvement of Notch-1 signaling in bone marrow stroma-mediated de novo drug resistance of myeloma and other malignant lymphoid cell lines. *Blood* 2004,103, 3503-3510.

**Nefedova Y, Landowski TH, Dalton WS.** Bone marrow stromal-derived soluble factors and direct cell contact contribute to de novo drug resistance of myeloma cells by distinct mechanisms. *Leukemia* 2003, 17, 1175-1182.

**Nefedova Y, Sullivan DM, Bolick SC, Dalton WS, Gabrilovich DI, Nefedova Y.** Inhibition of Notch signaling induces apoptosis of myeloma cells and enhances sensitivity to chemotherapy. *Blood* 2008, 111, 2220–2229.

**Nefedova Y, Daniel M, Sullivan Sophia C, Bolick, William S. Dalton,Dmitry I. Gabrilovich.** Inhibition of Notch signaling induces apoptosis of myeloma cells and enhances sensitivity to chemotherapy. *Neoplasia* 2017,

**O’Neil J, Grim J, Strack P, Rao S, Tibbitts D, Winter C, Hardwick J, Welcker M, Meijerink JP, Pieters R, Draetta G, Sears R, Clurman BE.** FBW7 mutations in leukemic cells mediate NOTCH pathway activation and resistance to gamma-secretase inhibitors. *Journal of Experimental Medicine* 2007, 204, 1813–1824.

**Osborne B, Miele L.** Notch and the immune system. *Immunity* 1999, 11, 653-663.

**Palumbo A, Anderson K.** Multiple myeloma. *N Engl J Med.*2011; 364:1046–1060.

**Palumbo A, Rajkumar SV, San Miguel JF, Larocca A, Niesvizky R, Morgan G, Landgren O, Hajek R, Einsele H, Anderson KC, Dimopoulos MA, Richardson PG, Cavo M, Spencer A, Stewart AK, Shimizu K, Lonial S, Sonneveld P, Durie BG, Moreau P, Orłowski RZ.** International Myeloma Working Group consensus statement for the management, treatment, and supportive care of patients with myeloma not eligible for standard autologous stem-cell transplantation. *Journal of Clinical Oncology* 2014, 32, 587–600.

**Perlzweig WA, Delrue G, Geschicter C.** Hyperproteinemia associated with multiple myelomas: report of an unusual case. *JAMA* 1928, 90, 755–757.

**Phekoo KJ, Schey SA, Richards MA, Bevan DH, Bell S, Gillett D, Møller H.** A population study to define the incidence and survival of multiple myeloma in a National Health Service Region in UK. *British Journal of Haematology* 2004, 127(3), 299–304.

**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, 98, 428–435.

**Poulson, D.** Chromosomal control of embryogenesis in *Drosophila*. *Am. Nat.* 1945, 79, 340–363.

**Pui JC, Allman D, Xu L, DeRocco S, Karnell FG, Bakkour S, Lee JY, Kadesch T, Hardy RR, Aster JC, Pear WS.** Notch1 expression in early lymphopoiesis influences B versus T lineage determination. *Immunity* 1999, 11, 299–308.

**Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, Kumar S, Hillengass J, Kastritis E, Richardson P, Landgren O, Paiva B, Dispenzieri A, Weiss B, LeLeu X, Zweegman S, Lonial S, Rosinol L, Zamagni E, Jagannath S, Sezer O, Kristinsson SY, Caers J, Usmani SZ, Lahuerta JJ, Johnsen HE, Beksac M, Cavo M, Goldschmidt H, Terpos E, Kyle RA, Anderson KC, Durie BG, Miguel JF.** International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncology* 2014, 15, 538–548.

**Ribatti D.** A historical perspective on milestones in multiple myeloma research. Review article. *Journal of Hematology* 2017.

**Robert A. Kyle, S. Vincent.** Multiple myeloma. *Blood* 2008, 111(6): 2962–2972.

**Rosenthal N, Vogel P.** Value of the sternal puncture in the diagnosis of multiple myeloma. *Journal of the Mount Sinai Hospital* 1938, 4, 1001–1019.

**Schwarzer R, Nickel N, Godau J, Willie BM, Duda GN, Cirovic B, Leutz A, Manz R, Bogen B, Dörken B, Jundt F.** Notch pathway inhibition controls myeloma bone disease in the murine MOPC315.BM model. *Blood Cancer Journal* 2014, 4, 217.

**Sergentanis TN, Zagouri F, Tsilimidos G, Tsagianni A, Tseliou M, Dimopoulos MA, Psaltopoulou T (2015)** Risk Factors for Multiple Myeloma: A Systematic Review of MetaAnalyses. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia* 2015, 15, 563-77.

**Shirley MH, Sayeed S, Barnes I, Finlayson A, Ali R.** Incidence of haematological malignancies by ethnic group in England, 2001-7. *British Journal Haematology* 2013, 163-465.

**Siegel RL, Miller KD, Jemal A.** Cancer statistics. *A Cancer Journal for Clinicians* 2015, 65, 5–29.

**Skrtic A, Korac P, Kristo DR, Ajdukovic Stojisavljevic R, Ivankovic D, Dominis M.** Immunohistochemical analysis of NOTCH1 and JAGGED1 expression in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Human Pathology* 2010, 41, 1702–10.

**Solly S.** Remarks on the pathology of mollities ossium. With cases. *Journal of the Royal Society of Medicine* 1844, 27, 435-461.

**Strand WR, Banks PM, Kyle RA.** Anaplastic plasma cell myeloma and immunoblastic lymphoma. Clinical, pathologic, and immunologic comparison. *The American Journal of Medicine* 1984,76, 861-867.

**Takebe N, Miele L, Harris PJ, Jeong W, Bando H, Kahn M, Yang SX, Ivy SP.** Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: clinical update. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2015, 12, 445–464.

**Takeuchi T, Adachi Y, Ohtsuki Y.** Skeletrophin, a novel ubiquitin ligase to the intracellular region of Jagged-2, is aberrantly expressed in multiple myeloma. *The American Journal of Pathology* 2005, 166, 1817–1826.

**Tiselius A. A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures.** *Transactions of the Faraday Society* 1937, 33-524.

**Tohda S, Nara N.** Expression of Notch1 and Jagged1 proteins in acute myeloid leukemia cells. *Leukemia & Lymphoma* 2001, 42, 467-472.

**Van Stralen E, van de Wetering M, Agnelli L, Neri A, Clevers HC, Bast BJ.** Identification of primary MAFB target genes in multiple myeloma. *Experimental Hematology* 2009, 37, 78–86.

**Voorhees PM, Manges RF, Sonneveld P, Jagannath S, Somlo G, Krishnan A, Lentzsch S, Frank RC, Zweegman S, Wijermans PW, Orłowski RZ, Kranenburg B, Hall B, Casneuf T, Qin X, van de Velde H, Xie H, Thomas SK.** A phase 2 multicentre study of siltuximab, an antiinterleukin-6 monoclonal antibody, in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *British Journal Haematology* 2013, 161, 357–366.

**Waldenström J.** Studies on conditions associated with disturbed gamma globulin formation (gammopathies). *Harvey Lecture* 1961, 56, 211–231.

**Waldeyer W.** Ueber bindegewebszellen. *Arch Microbiol Anatomium* 1875, 11, 176–194.

**Waxman AJ, Mink PJ, Devesa SS, Anderson WF, Weiss BM, Kristinsson SY, McGlynn KA, Landgren O.** Racial disparities in incidence and outcome in multiple myeloma: a population-based study. *Blood* 2010, 116, 5501.

**Wright JH.** A case of multiple myeloma. *Transactions of the Association of American Physicians* 1900, 15, 137–147.

**Xu D, Hu J, Xu S, De Bruyne E, Menu E, Van Camp B, Vanderkerken K, Van Valckenborgh E.** Dll1/Notch activation accelerates multiple myeloma disease development by promoting CD138+ MM-cell proliferation. *Leukemia* 2012, 26, 1402–1405.

**Yata K, Yaccoby S.** The SCID-rab model: a novel in vivo system for primary human myeloma demonstrating growth of CD138-expressing malignant cells. *Leukemia* 2004, 18, 1891–1897.

**Yin L, Velazquez OC, Liu ZJ.** Notch signaling: emerging molecular targets for cancer therapy. *Biochemical Pharmacology* 2010, 80, 690–701.

**Zanotti S, Smerdel-Ramoya A, Stadmeier L, Durant D, Radtke F, Canalis E.** Notch inhibits osteoblast differentiation and causes osteopenia. *Endocrinology* 2008, 149, 3890–3899.

# EKLER

## Ek 1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 11/08/2017-E.44729

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

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

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

Sayı : 53043469-050.04.04  
Konu : Kararlar

Sayın Prof.Dr. Kemal ERGİN  
Öğretim Üyesi

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 10.08.2017 tarihinde yapılan olağan toplantısında çalışmanızla ilgili alınan 16 nolu karar aşağıda sunulmuştur.  
Bilgilerinize sunarım.

**e-İmzalıdır**  
Doç.Dr. Tolga ÜNÜVAR  
Kurul Başkan Yardımcısı

**KARAR 16**

Protokol No : 2017/1222  
Sorumlu Yürütücü : Prof.Dr.Kemal ERGİN  
Histoloji ve Embriyoloji AD

Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Kemal ERGİN'in "Multipl myelom hastalarında kemoterapi uygulamalarının Notch sinyal yolu üzerine etkisinin araştırılması" konulu yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde (ADÜBAP başvuru onay belgesinin dosyaya konulmak üzere gelmesi şartıyla) gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.

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

Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Kampüsü Tıp Fakültesi Merkez Kampüsü Kepez  
Mevki 09010 Efeler/Aydın  
Telefon No: 0256 225 31 66 / 4506 Faks No: 0256 212 31 69  
E-Posta: goetik@adu.edu.tr İnternet Adresi:  
http://www.akademik.adu.edu.tr/fakulte/med/

Bilgi İçin: Nesli Yıldız  
Urvan: Memur









## ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : AŞICI, OKTAY  
Uyruk : Türkiye Cumhuriyeti  
Doğum Yeri ve Tarihi : Aydın 05.05.1984  
Telefon : 0555 6644486  
E-mail : asc\_aydin@hotmail.com  
Yabancı Dil : İngilizce

### EĞİTİM

<u>Derece</u>	<u>Kurum</u>	<u>Mezuniyet tarihi</u>
Y. Lisans	ADÜ	devam
Y. Lisans	ADÜ	2013
Lisans	Pamukkale Üniversitesi	2010

### İŞ DENEYİMİ

<u>Yıl</u>	<u>Kurum</u>	<u>Unvan</u>
2010- Devam Ediyor	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi	Biyolog

### AKADEMİK YAYINLAR

**Bolaman Z, Yavaşoğlu İ, Aşıcı O, Karadaş A, Kadıköylü G.** AKUT MYELOİD LÖSEMİLİ HASTALARDA HİPERLÖKOSİTOZDA LÖKOFEREZ: TEK MERKEZ DENEYİMİ. 43. Ulusal Hematoloji Kongresi 1-4 Kasım, 2017, Antalya, Poster-092, Referans no: 243.

**Yavaşoğlu İ, Karadaş A, Aşıcı O, Ömürlü İK, Turgutkaya A, Bolaman Z, Kadıköylü G.** VERİCİ TROMBOSİT AFEREZİ DEĞERLENDİRİLMESİ: 9747 İŞLEMİN İRDELENMESİ. 43. Ulusal Hematoloji Kongresi 1-4 Kasım, 2017, Antalya, TP-40, Referans no: 249.

**Yavaşoğlu İ, Akkaya E, Aşıcı O, Fırat O, Ergin F, Yılmaz M, Kadıköylü G, Bolaman Z.** MYELOM'DA GLUT-1 DÜZEYİNİN LÖKOSİT VE TROMBOSİT YAMALANMA

SÜRESİNE ETKİSİNİN PROSPEKTİF ÇOK MERKEZLİ DEĞERLENDİRMESİ. 43.  
Ulusal Hematoloji Kongresi 1-4 Kasım, 2017, Antalya, TP-45, Referans no: 289.

**Yavaşoğlu İ, Turgutkaya A, Aşıcı O, Gökhan S, Bolaman Z.** Increase of CD33  
expression in multiple myeloma estimates short survival. Eurasian Hematology Congress,  
17-20 Ekim, İstanbul, 2018, 61p.

