

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl Miyelom (MM), hematolojik malignitelerin %10-15'i, tüm malignitelerin ise %1'ini oluşturan multisistemik organ tutulumuyla seyreden 65 yaş üzeri popülasyonu etkileyen bir plazma hücreli neoplazidir. Hastalığa spesifik tedavi yöntemi olmayıp güncel tedaviler hastalık komplikasyonlarına yöneliktir.

Önemi belirsiz monoklonal gamopati (MGUS), yılda %1 oranında MM'a dönen asemptomatik öncül plazma hücreli neoplazidir. MGUS'tan MM'a progresyon aşamasında etiyopatogenez henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

MGUS ve MM'un sitogenetik patogeneze yönelik tıbbi literatürde çokça klinik ve preklinik çalışma mevcuttur. MGUS ve MM gelişiminde ve progresyonunda hematopoetik niş ortamı oldukça büyük bir öneme sahiptir. Son yıllarda nişe yönelik tedavi ajanları geliştirilmeye çalışılmaktadır [1, 2]. Özellikle de hastalığın en önemli komplikasyonlarından biri olarak görülen kemikteki litik lezyonlara yönelik tedavi rejimleri araştırma havuzunda önemli bir yer tutmaktadır [3].

Çalışmamızın amacı; kemik iliği biyopsileriyle MM ve MGUS tanısı alan olgularda, moleküler sitopatogeneze ve mikroçevrede etkili ajanlara yönelik uygulanan immünohistokimyasal belirteçlerin (CD138, Pan-RAS, MUM-1, CCL-3, DKK-1) MGUS'tan MM'ye progresyonda etkileri ve bu belirteçlerin klinik prognostik parametrelerle olan ilişkilerini araştırmaktır.

MM ve MGUS etiyopatogenezinde CD138 tanısal olarak kullanılan bir belirteç olup prognozla ilişkisi bilinmektedir [4]. MGUS'tan MM progresyonundaki olası rolü sebebiyle çalışmamıza dahil edilmiştir.

Pan-RAS, patogeneze önemi moleküler düzeyde çalışmalarda gösterilmesine karşın MGUS ve MM arasındaki farklılıkları immünohistokimyasal olarak gösterebilmek adına çalışmaya dahil edildi [5, 6]. CCL-3 ve DKK-1 ise MM'nin litik kemik lezyonlarıyla ilişkili iki belirteç olup tıbbi literatürdeki güncel verilerde, litik lezyon olmaksızın

MGUS aşamasında da tespit edilmiştir. Bu iki belirteç, MM'deki hastalık prognozuyla ilişkileri ve MGUS olgularındaki immünekspresyon durumlarının tayini amacıyla çalışmaya dahil edilmiştir. MM'de kötü prognozla ilişkili MUM-1 ise prognozla ilişkisi ve MGUS'tan MM'ye progresyonda olası ilişkisi nedeniyle çalışmamızda değerlendirilmektedir.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. İmmün Sistem

Canlılarda immün sistem, toksik maddelerden mikroorganizmalara kadar pek çok faktörün tanınmasında ve yok edilmesinde görevlidir. Bunun yanı sıra, inflamatuvar yanıt veya tümör oluşum sürecinde etkin hücreler de immün sistemde görevli hücrelerce tanınır [7].

İmmün yanıt iki formda icra edilir: Doğal immün yanıt ve edinsel immün yanıt. Doğal immün yanıt antijen sunan hücreler gereksiz oluşur ve hastalık yapıcı etkenlerin tanınıp gereken yanıt mekanizmasının oluşması sağlanarak, bu etkenler ortadan kaldırılmaya çalışılır. Doğal immün yanıtın bir diğer önemli fonksiyonu hasarlı hücrelerin ortadan kaldırılıp doku tamir mekanizmalarının aktifleştirilmesi ve edinsel immün sistemde görevli hücrelerin aktivasyonunu sağlamaktır. Doğal immün sistemi oluşturan bileşenler; fagositler (nötrofiller, monositler ve makrofajlar), dendritik hücreler, mast hücreleri, natural killer hücreleri, bazı T hücreleri (γδ T hücreleri, NK benzeri T hücreleri), epitelyal bariyerler ve moleküler bileşenlerdir [7].

Edinsel immün yanıt, mikroorganizma ya da mikroorganizma dışı patojenlerin her birine etkileşimde bulunma sıklığı arttıkça artan özelleşmişlikle immün yanıt oluşturabilme yeteneğindedir. Etkileşimde bulunduğu patojeni hatırlayarak, immün sistem için bellek oluşturma fonksiyonu üstlenir. Edinsel immün yanıt kendi içinde humoral ve hücreyel tip olarak ikiye ayrılır. Humoral immünitede, B lenfositlerce üretilen antikorlar görev alırlar. Ekstraselüler yerleşimli patojenlere karşı savunmada humoral antikorlar önemli rol oynamaktadır. Patojenle ilk karşılaşmanın gerçekleştiği mukozal bariyerlerde ve kandaki antijenlere karşı antikorlar aracılığıyla bu ajanların etkisizleştirilmesine çalışılmaktadır. Hücreyel immünite ise T lenfositlerle sağlanmaktadır. Humoral immünitede görevli antikorların ulaşamadığı hücre içi yerleşimli patojenlerle (virüs ve bazı bakteriler gibi) etkili olan T lenfositlerdir [8, 9].

## **2.2. Lenfoid Organ ve Dokular**

Lenfoid hücrelerin öncül formlarının fonksiyon kazanarak olgunlaştığı ve antijenlere karşı yanıtın gerçekleştiği bölgeler lenfoid doku olarak adlandırılmaktadır. Lenfositlerin farklılaşıp olgunlaştıkları bu alanların her birisinin özgül yapısı, mikro çevresi ve farklı görevleriyle eşsiz özellikleri mevcuttur.

İmmün yanıtın sorumlu hücrelerin farklılaştığı ve özelleştiği organlar primer lenfoid dokular iken; sekonder lenfoid dokular lenfoid organların işlevlerini gösterdikleri organlardır [8, 9].

Bu lenfoid organlardan humoral immunité ve plazmasitogenez açısından kemik iliğı ve lenf nodu özellikle önemlidir.

### **2.2.1. Kemik iliğı**

Kemik iliğı, uzun ve aksiyel kemiklerin merkezindeki, vasküler ağı zengin, hematopoietik kök hücreler ve lenfoid hücrelerin ortak öncüllerinden oluşan B lenfositlerin farklılaştığı bölgedir. Bir diğér görevi de sekonder lenfoid organlarda oluşan plazma hücreleri için depo görevi yapmaktadır [7].

### **2.2.2. Lenf nodu**

Lenf nodları, çevre organlardan gelen antijen ve kemokinlerin tutunabilecekleri stratejik bölgelere yerleşmiş dokulardır. Lenf nodu morfolojik olarak üç bölümde incelenmektedir: Korteks, parakorteks ve medulla. Korteks bölgesi primer lenfoid folliküllerin bulunduğu bölge olup çoğunlukla foliküler dendritik hücreler, B hücreleri ve makrofajlar hücresel elemanlarını oluşturmaktadır. Parakorteks, T hücreleri ve antijen sunan hücreleri içermektedir. Medulla bölgesi ise lenf nodunun iç kısmına denk gelen bölge olup B ve T lenfositler ve plazma hücreleri bu alanda görev yapmaktadır [7].

### 2.3. Hematopoetik Hücrelerin Embriyogenezi

Embriyogenez aşamasında hematopoetik kök hücreler ilk olarak yolk sac ve mezodermal yaprağın aorto-gonad-mezonefron seviyesinde oluşmaktadır. Bir sonraki aşamada bu hücreler karaciğer, dalak, timus ve omentumdaki hematopoetik alanlara göç ederek burada kolonize olurlar. Hematopoetik hücrelerin erişkinlik döneminde esas yerleşim yeri olan kemik iliğine göçü ve yerleşimine ise yuvalanma (homing) adı verilmektedir. Kemik iliğine göç eden bu hücreler farklı serilere farklılaşma özelliğine sahip olup, aynı zamanda hızlıca çoğalarak kendilerini yenileyebilmektedir. Yuvalanma sürecinde, çoğalma sürecinde hematopoezin düzenlenme sürecinde kök hücrelerin içinde bulundukları niş (niche) olarak adlandırılan mikroçevre çok büyük öneme sahiptir. Niş yapısında; T lenfosit ve makrofajlar, stromal hücreler ve bu hücrelerden salgılanan düzenleyici sitokinler arasında iletişim kurulabilmektedir [10].

### 2.4. B Hücrelerinin Gelişim Aşamaları

B lenfositler, antikor aracılı immün yanıttan sorumlu esas hücrelerdir. B lenfositler, antijenlerin özel epitoplarına karşı antikor olarak bilinen immünoglobulin (Ig) molekülleri sentezleyerek etki etmektedirler.

B lenfositler esas olarak kemik iliğinde üretilmektedirler. Kemik iliğinde üretilen B lenfosit prekürsörleri lenf noduna göç ederek çeşitli Ig gen modifikasyon aşamalarından geçtikten sonra matürasyon kazanmaktadırlar. Olgunlaşan B lenfositler, antikorların periferde antijenle etkileşimin gerçekleştiği esas bölge olan **BCR bölgelerini** de içeren primer IgD ve IgM antikorlarının sentez görevini üstlenmektedirler. BCR bölgesi aracılığıyla antijenle etkileşime geçen B lenfositler, sekonder lenfoid organlarda ikinci bir Ig gen modifikasyon aşamasına girmektedirler. Bu modifikasyon aşamaları, B lenfositlerin antijenlere olan afinitesini artırarak ve B lenfositlerinin sekonder IgA, IgG ve IgE antikorlarını eksprese etmelerini sağlamaktadır. [7].

#### 2.4.1. Pro-B ve Pre-B hücre

B lenfositlerin yüzey reseptörlerinin oluşum sürecinde Ig genlerinin joining (J) variable(V), diversity(D) bölgelerinde rastgele somatik rekombinasyonlar gerçekleşmektedir. B lenfositlerin gelişim aşamalarında, hematopoietik kök hücrelerden farklılaşan yüzey Ig sahibi olmayan B lenfosit progenitör hücresi *pro-B lenfosit* olarak adlandırılmaktadır. Pro-B hücrelerde, Recombination activating gene 1-2 (RAG-1 ve RAG-2) adı verilen proteinler ilk olarak bu aşamada sentez edilmektedir. RAG-1 ve RAG-2 proteinleri aracılığıyla Ig ağır zincirde somatik rekombinasyonlar (yeniden düzenlenim) gerçekleşmektedir. Somatik yeniden düzenlenim işleminde, Ig ağır zincir bölgesindeki variable (V), diversity (D) ve join (J) segmentlerinde ilk olarak D ve J segmenti arasında rekombinasyonu meydana gelir. Daha sonra V bölgesi ile DJ bölgesinin rekombinasyonu gerçekleşir ve VDJ ekzonu oluşur. Sonraki aşamalarda ise çok çeşitli posttranskripsiyonel modifikasyonlarla Ig ağır zincir ekspresyonu gerçekleşmektedir. Bir sonraki aşama immunoglobulin ağır zincir yeniden düzenlenimini gerçekleştirmiş prekürsör-B lenfosit aşamasıdır.

Pro-B hücreler, morfolojik olarak nükleusları oval-yuvarlak şekilli ve bir/birkaç nükleollü bazofilik sitoplazmalı hücrelerdir. B lenfosit serisi yüzey işaretleyicilerinden olan CD19 ve CD10 yüzey molekülleri ekspresyonu ile diğer kök hücrelerden ayırt edilebilmektedir [7].

Prekürsör-B hücreler, morfolojik olarak lenfoblastlara kıyasla daha küçük, yuvarlak-oval hafif çentikli nükleuslu, birkaç nükleollü, lenfoblastlara göre daha bol ve bazofilik sitoplazmalı hücrelerdir [11].

#### **2.4.2. İmmatür B lenfosit**

Pre- B lenfositlerdeki immünglobulin  $\kappa$  hafif zincir rekombinasyonundan sonra yüzey reseptörü olarak IgM içeren lenfositler immatür B lenfosit olarak adlandırılmaktadır. İmmünoglobulin kappa hafif zincir gen bölgesinde V ve J adı verilen bölgeler bulunmakta olup bu bölgeler, rekombinasyon ile VJ ekzonunu oluşturmaktadırlar. Kappa hafif zincir rekombinasyonu doğru bir şekilde gerçekleştirilemeyen ve self-reaktif olarak bilinen hücrelerde  $\lambda$  hafif zincir rekombinasyonu gerçekleştirmektedirler. Bu özellik sayesinde hücreler  $\kappa$  veya  $\lambda$  hafif zincirden birisini taşıy hale gelirler [7].

#### **2.4.3. Hafıza B lenfosit**

Antijenle henüz karşılaşmamış olan matür naif B lenfositlerin BCR reseptörleri IgM+ IgD+ 'dir. Kemik iliğinde matürasyonunu tamamlayan naif B lenfositler sekonder lenfoid dokular olan dalak, lenf nodu, mukoza ilişkili lenfoid dokuya (MALT) göç ederler. Naif B lenfosit, lenf nodunda interfoliküler alana yerleşip T lenfositte bağlanır. Bu bağlanmanın uzun süreli ve güçlü bir bağlanma olması halinde, B lenfositler germinal merkez (GM) reaksiyonuna dahil olur. Bağlanma süresi kısa süreli olması durumunda B hücresi kısa ömürlü hafıza B hücresi yolağına dahil olur. Bu yolağın GM reaksiyonu gerçekleşen yoldan farklı somatik hipermutasyon aşamasının daha az oranda gerçekleşmesidir. Hafıza B lenfositte dönüşecek hücrelerin rastlantısal olarak seçildiği düşünülmektedir [7].

## 2.5. B Lenfositlerin Aktivasyonu ve Antikor Üretimi

B lenfositler, fetal dönemde karaciğerde sonraki dönemde ise kemik iliğindeki öncül hücrelerden gelişmektedir. B lenfositlerin gelişim sürecinde; immünglobulin genlerinde belirli bir sırayla rearranjman (yeniden düzenleme) ve ekspresyon izlenmesi, B lenfositlerin kontrol noktalarında seçilimi ve çoğalması aşamalarıyla B lenfosit rezervinin belirlenmesi gerçekleşmektedir. B lenfosit gelişim aşamalarındaki hücreler morfolojik olarak birbirlerinden ayırt edilebilir özellikte olmamakla birlikte, her bir aşamada özgül yüzey belirteçleri ve özgül immünoglobulin gen ekspresyonları gerçekleşmektedir [7].

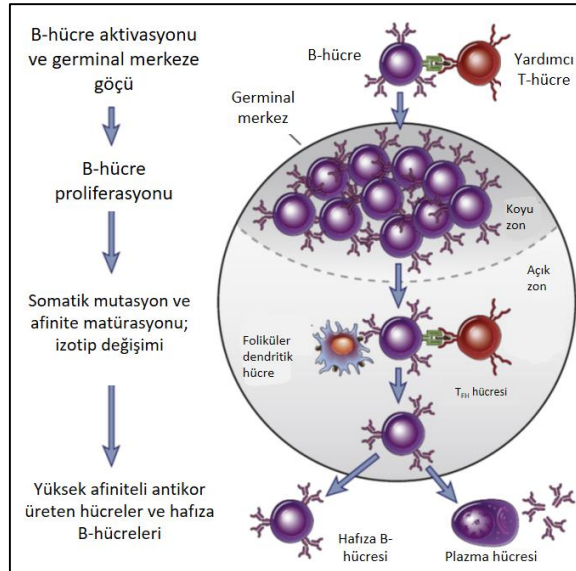
B lenfosit aktivasyonu T lenfosit bağımlı ve T lenfosit bağımsız yolak olarak iki şekilde gerçekleşmektedir.

Protein-dışı antijenlere (bazı lipidler, karbonhidratlar ve bazı nükleik asitler gibi) karşı, antijene özgül T hücre gereksiz antikor üretimi T-bağımsız antikor üretimi olarak adlandırılmaktadır. B lenfositler böyle bir antijenle karşılaşmaları halinde bir bölümü çoğalan immünoblastlara bir bölümü ise Ig M antikorunu üretme özelliğine sahip kısa ömürlü plazma hücrelerine farklılaşma yolunu izlemektedirler. T hücrelerden bağımsız B lenfosit yanıtında, üretilen antikorlar henüz Ig genlerinde somatik hipermutasyonlarını gerçekleştirmediklerinden antijene düşük afiniteyle bağlanmaktadır[7]. T lenfosit bağımsız yolak B hücre reseptörü (BCR) ile gerçekleşmektedir. BCR ile etkileşim gerçekleştiğinde aktivasyon sinyalinin gönderilebilmesi için en az iki BCR molekülünün antijenle non kovalent bağlanması gerekmektedir. BCR ilişkili sinyallerin iletiminden Ig alfa ve Ig beta olarak da bilinen CD79a ve CD79b sorumludur. Membran Ig M veya Ig D (BCR) CD79a ve CD79b birlikteliği BCR kompleksi olarak adlandırılmaktadır. Bu kompleks oluştuğundan sonra sinyal yolları fos, jun, NF-KB gibi sekiz farklı gen ifadesini aktive eden transkripsiyon faktörlerini aktive eder. Bu sayede B hücrelerin proliferasyonu, göçü ve apoptoza gidişi

gibi birçok basamak gerçekleşebilmektedir. B hücre aktivasyonu için antijen-BCR kompleksi sinyalden başka komplemanla ilişkili sinyal de gereklidir [7].

Protein bileşeni içeren antijenlere karşı antikor üretimi ise  $CD4^+$  yardımcı T lenfositler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Antijene özgül T lenfosit yanıtıyla gerçekleşen bu yanıt T hücre bağımlı yolak adı verilmektedir. Lenf nodunun parakortikal bölgesinde yerleşen naif B hücreler, özgül antijen ile karşılaşmaları halinde, primer folikül merkezlerine göç ederek folliküler dendritik hücreler ile birlikte germinal merkezleri oluştururlar. B lenfositler, **germinal merkez reaksiyonu** olarak adlandırılan

- 1- Proliferasyon,
- 2- İzotip değişimi,
- 3- Somatik hipermutasyon ve seleksiyon,
- 4- Diferansiyasyon adı verilen aşamalardan geçerek matürasyon kazanmaktadırlar. (Şekil 1) [7].



**Şekil 1.** Germinal merkezde B hücre aktivasyonu

### **2.5.1. Proliferasyon**

Sentroblastik hücreler, lenf nodunda germinal merkezin koyu zonunu oluşturan antijenle karşılaşmış B blastik hücrelerdir. Sentroblastlar oldukça hızlı çoğalabilme özelliklerini hücre siklusu inhibitörlerinin aktivelerini inhibe etmeleri, hücre siklusu aktivatörlerini ekspresyonu ve telomeraz özellikleri ile sağlamaktadırlar.

### **2.5.2. Somatik hipermutasyon**

Sentroblastik hücrelerin immünoglobulin V bölgelerindeki somatik hipermutasyonlar aracılığıyla antikor ilgisinde farklılıklar oluşturulabilmektedir. Bu sayede az sayıda öncül hücreden oldukça geniş çeşitlilikte antikor üretebilen B lenfosit havuzu oluşturulabilmektedir.

### **2.5.3. Seleksiyon ve izotip değişimi**

Olgunlaşan sentroblastlar, germinal merkezin açık zonunda sentrositlere dönüşmektedirler. Sentrositler, IgM ve IgD haricindeki antikorları **ağır zincir sınıf (izotip) değişimi** olarak adlandırılan aşama ile sentezleyebilir hale gelirler. Bu aşamada hangi antikoru üretileceğini ve üretim miktarını; antijenle daha önceden karşılaşılıp karşılaşmadığı, antijen tipi, T lenfositlerin eşlik edip etmediği gibi faktörler belirlemektedir.

### **2.5.4. Diferansiyasyon**

Sentrositler germinal merkezde seçim gerçekleşikten sonraki aşamada, post-germinal merkez farklılaşması ile plazma hücresi veya hafıza hücrelerine farklılaşmaktadırlar. BCL6 inaktivasyonu ve CD40-CD40L aktivasyonu bu süreçte görevlidir [7].

## 2.6. Plazma Hücreleri ve Hafıza B Hücrelerinin Farklılaşması

Plazma hücreleri, antijenle karşılaşmamış matür B lenfositlerin periferik kana geçtikten sonra, periferik lenfoid organlarda antijenle karşılaşp olgunlaşma gösterdikten sonraki antikor üretebilen son halleridir. B lenfositlerin terminal farklılaşması adı verilen bu aşama kemik iliğinde gerçekleşmektedir.

Sentrositlerden plazma hücrelerine kadar olan dönüşüm basamaklarında, antijen ve reseptör etkileşimi sonrası uyarılan transkripsiyon faktörleri olan interferon regulatory factor (IRF8) , CNC homolog 2, Paired Box Gene-5 (PAX5) gibi ve bunlara kıyasla daha düşük oranda Interferon Regulatory Factor- 4 ( IRF4) görev almaktadır.

Plazma hücreleri, kısa ömürlü plazmablast formunun plazma hücrelerine dönüşmesiyle oluşabildiği gibi germinal merkez B hücrelerinden de oluşabilmektedir. Germinal merkez B hücrelerinden plazma hücrelerine ve hafıza B hücrelerine dönüşüm süreci Bcl-6, PAX-5 ve B Lymphocyte-Induced Maturation Protein-1 (Blimp-1) gibi transkripsiyonel faktörler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bcl-6' nın germinal merkez B hücresi gelişim ve çoğalma sürecinde ayrıca B hücreli lenfoma patogenezinde de etkili olduğu bilinmektedir. Bcl-6 ve PAX-5 'in inaktivasyonun Blimp-1 üzerindeki baskılayıcı etki mekanizması aracılığıyla, germinal merkez B hücrelerinden plazma hücrelerine dönüşüm sürecinde gerekli olduğu bilinmektedir. Bunlara ek olarak Blimp-1, X-box-binding protein(XBP)-1 ve IRF-4 transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu artırarak da bu dönüşümü sağlamaktadır [7].

Plazmablastlar, kısa yaşam süreli hücreler olup erken antikor yanıtından sorumlu plazma hücrelerinin öncül formudur. Olgun B lenfosit belirteçlerini eksprese etmemektedirler (**Tablo 1**). Olgun plazma hücreleri, kısa ömürlü ve uzun ömürlü olarak ayrılmaktadır [12].

Plazma hücrelerinin kısa ömürlü alt tipi T hücre bağımsız immün yanıtta görevlidir. Lenf nodunun interfoliküler alanında antijenle karşılaşan naif B lenfositler yanıt olarak kısa ömürlü plazma hücrelerine dönüşürler. Uzun ömürlü alt tip ise, izotip değişimi geçirmiş ve Ig G üretebilen formudur.

Lenf nodunda medullada lokalize olup bir kısmı da kemik iliğine göç etmektedirler bu süreçte yüzey immunoglobulinlerini, pan-B antijenleri, PAX-5 ifadelerini yitirip BLIMP1, XBP1, IRF4 (MUM1), CD38 ve CD138 gibi belirteçleri ifade eder hale gelmektedirler [7].

Plazma hücreleri morfolojik olarak ekzantrik nükleusa sahip golgi organı ve düz endoplazmik retikulumca zengin ve sitoplazmaları belirgin hücrelerdir [7] :

**Tablo 1.** Plazma hücresi matürasyon aşamaları ve özellikleri.

| Plazma hücresi matürasyon aşamaları ve özellikleri |                  |                                   |                        |                      |
|----------------------------------------------------|------------------|-----------------------------------|------------------------|----------------------|
|                                                    | Naif B hücre     | Plazmablast                       | İmmatür plazma hücresi | Olgun plazma hücresi |
| Yaşam süresi                                       | ++               | +                                 | +                      | ++++                 |
| Proliferasyon                                      | -                | ++                                | -                      | -                    |
| CD38,CD138 ve CXCR4 ekspresyonları                 | -                | +                                 | ++                     | +++                  |
| CD19,CD20 ve CD45 ekspresyonları                   | +++              | ++                                | +/-                    | +/-                  |
| BLIMP1 ekspresyonu                                 | -                | +                                 | +                      | +                    |
| İzotip                                             | IgM,IgD          | Hepsi                             | IgG=IgM>IgA            | IgG>IGA>IgM          |
| Yerleşim yeri                                      | Lenfoid organlar | Lenfoid organlar ve periferik kan | Lenfoid organlar       | Kemik iliği          |

## 2.7. Antikor Yapısı ve Görevleri

İmmünoglobulin molekülü, iki eş ağır zincir ( $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\delta$  veya  $\epsilon$ ) ve iki eş hafif zincirden oluşan ( $\kappa$  veya  $\lambda$ ) ve bu polipeptid özellikteki yapıların birbirlerine disülfid bağları ile non-kovalent olarak tutunarak Y şeklinde bağlandığı bir glikoproteindir. Y şeklindeki yapının terminal bölgesinde yer alan ve antijen bağlamakla sorumlu olan Fab bölgesi, Y'nin kuyruk bölgesinde bulunan ve yüzey belirteçleri için bağlanma bölgesi görevi üstlenen bölge ise Fc bölgesi olarak bilinmektedir.

Hafif zincir (HZ)  $V_H D J_H$  ekzonu tarafından kodlanan bir değişken bölgeye (VL) bir de sabit bölgeye (CL) sahipken; bir ağır zincir (AZ) ise, bir değişken ve üç veya dört sabit bölgeden oluşmaktadır.

Antikorların isimlendirilmesinde ağır ve hafif zincirlerin sabit bölgelerindeki değişimler sonucu farklı izotip gruplarının oluşumu baz alınmaktadır.  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\delta$  veya  $\epsilon$  olarak bilinen beş farklı ağır zincir ve iki farklı hafif zincir ( $\kappa$  ve  $\lambda$ ) izotipi vardır. İmmünoglobulinlerin görevlerini ağır zincir efektör bölgeleri belirlediğinden, ağır zincir izotipine göre isimlendirme yapılmaktadır (IgG, IgA, IgM, IgD ve IgE gibi) [12].

## 2.8. Plazma Hücrelerinin Kemik İliği Nişiyle ve Mikroçevreyle Etkileşimi

Kemik iliği nişi, hematopoetik hücrelerin, olgunlaşmalarını, çoğalmalarını ve göçlerini sağlayan hücresel, ekstraselüler matriks ve çözünebilir faktörlerden oluşan bir ortamdır. Nişi oluşturan hücresel bileşenler, endotel hücreleri, osteoklastlar, osteositler, adipositler, nöronal hücreler, mezenkimal kök hücreler (MKH) veya diğer adıyla mezenkimal kök ve progenitör hücreler, retiküler hücreler, makrofajlar ve megakaryositlerdir [13].

Hematopoetik niş ortamının, hematolojik neoplazilerin gelişiminde etkin rol oynaması, niş ortamının doğasını anlayabilmek adına bu konuyla ilgili güncel çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda nişin, dalağın perivasküler alanında ve kemik iliğinde bulunduğu kanıtlanmıştır [1].

Kemik iliği nişini oluşturan hücreler hematopoetik (HKH), parankimal (PKH) ve mezenkimal kökenli hücreler (MKH) olarak sınıflandırılmaktadır [1].

Osteoblastik niş, kemik iliğinin iç yüzünde yerleşmiş olup osteoblastlar ve HKH arasındaki sitokinlerle gerçekleşen etkileşimle var olabilmektedir.

Kemik iliği mikroçevresinden ayrılmaları halinde plazma hücreleri buna ani hücresel ölüm şeklinde yanıt vermektedirler. Plazma hücrelerinin ömürlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada kemik iliğindeki kemokinlere ve kemik iliği nişinde yaşamayı sağlayan tropik faktörlere karşı duyarlılığın fazla olduğu hücrelerin plazma hücrelerine dönüşebildikleri doğrulanmıştır [14].

## 2.9. Neoplastik Plazmasitlerde Kemik İliği Nişiyi ve Mikroçevreyle Etkileşim

Multipl Miyelom (MM) patogeneğinde miyelom hücreleri, nişin mezenkimal bileşenini oluşturan multipotent MKH'lerle etkileşim halindedir. Miyelom hücrelerinin mezenkimal bileşenle olan etkileşimi sonucu; adezyon, göç, çoğalma ve yaşam süresinin belirlenmesi için etkileşim gerçekleşmektedir. Bu etkileşim sonucu, Interlökin-6 (IL-6), İnsülin Growth Faktör-1 (IGF1), C-X-C motif kemokin 12 (CXCL12) gibi antiapoptotik veya büyüme faktörleri salınımı gerçekleşmektedir. Bu sayede miyelom hücreleri mikroçevreye tutunarak ölümsüzlük kazanmakta ve çoğalabilmektedir [15].

Miyelom hücrelerinin immün sisteme ait CD4+ ve CD25+ T hücreleri tarafından tanınmasını engelleyen mekanizmada da yine MM - MKH etkileşimi rol almaktadır. Bu mekanizmanın özellikle de Önemi Belirsiz Monoklonal Gamopati (MGUS) 'tan MM gelişim aşamasında T helper 17 (Th17) hücreleri aracılığıyla miyelom hücrelerine karşı immüntolerans gelişiminin sağlanmasıyla gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu çalışmalar, plazma hücreli neoplazilerde tümör mikroçevresine yönelik immünoterapötik ilaç geliştirme çalışmalarına referans oluşturmaktadırlar [2].

Tümör mikroçevresinde araştırmalara kaynak sağlayan bir diğer alan ise ekstraselüler matrikstir. Syndecan 1 olarak bilinen CD138'in de miyelom hücrelerince salgılanan ve mikroçevrede, tümör büyümesinde ve yayılımında etkili olduğu ve kötü prognozla ilişkisi bilinmektedir [1].

MKH'lerinin bir diğer farklılaşma basamağı ise kemik üreten osteoblastlara ve osteositlere dönüşüm basamağıdır. Bu basamakta, paratiroid hormonu, glikokortikoidler, östrojen gibi hormonal uyarım da etkilidir. Hormonal uyarımın yanı sıra parakrin etki, Tümör Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ve Bone morphogenetic protein (BMPs) gibi ajanlar da etkilidir [2].

## **2.10. Plazma Hücreli Neoplaziler ve Sınıflandırılması**

Plazma hücreli neoplaziler (PHN), immunoglobulin sekrete eden ve sınıf değişimini tamamlamış B lenfositlerin yol açtığı hastalık grubudur.

PHN'ler, morfolojik olarak, normal plazma hücrelerinden plazmablastik hücrelere kadar her aşamadaki hücreyi içerebilecek geniş bir spektrumda izlenebilmektedir. Klinik olarak, elektroforez yöntemiyle monoklonal serum immunoglobulinlerinin "spike"larının (diğer isimleriyle paraproteinemi, M spike) kanıtlanması tanısal açıdan önemlidir.

2017 yılında son güncellemesi yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) hematolojik maligniteler sınıflama sistemine göre, Non- IgM plazma hücreli neoplaziler beş ana başlıkta toplanmıştır. Bunlar:

- 1-** Önemi belirsiz monoklonal gammopati (MGUS) ,
- 2-** Multipl Miyelom (MM) ,
- 3-** Plazmositom,
- 4-** Monoklonal immunoglobulin depo hastalıkları,
- 5-** Paraneoplastik sendromlarla ilişkili PHN'lerdir (POEMS sendromu, TEMPI sendromu) [\[11\]](#).

## 2.11. Multipl Miyelom

### 2.11.1. Epidemiyoloji ve etiyopatogenezi

Multipl miyelom hematolojik malignitelerin %10-15'ini, tüm malignitelerin ise %1'ini oluşturan ve dünya genelinde her yıl yaklaşık 86.000 yeni hastanın tespit edildiği bir hastalıktır. Hastaların %60'ı tanılarını 60 yaş üzeri almaktadır. Dünya genelinde dağılımına bakıldığında en çok Avustralya, Kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Avrupa'da görülmektedir [16].

MM etiyolojisine dair yapılan çalışmalarda genetik polimorfizm, kronik antijenik maruziyet (romatoid artrit vb romatolojik bazı hastalıklar), siyah ırk, beslenme alışkanlıkları, obezite, saç boyaları maruziyeti, viral enfeksiyonlar gibi faktörlerle artmış ilişkisi kanıtlanmıştır [17, 18].

MM etiyopatogeneziine dair çalışmalar son yıllarda oldukça yoğunlaşmıştır. Moleküler etiyopatolojisinin aydınlatılması tedavisine yönelik ajanların geliştirilmesinde de önemlidir [2]. MM patogeneziinde plazma hücrelerinin çoğalabilmesini sağlayan ana büyüme faktörü ve antiapoptotik faktör IL-6' dır. IL-6 esas olarak kemik iliği nişinden salgılanmaktadır. Miyelom hücrelerince salgılanan Tümör Nekrozis Faktörü-alfa (TNF-a), IGF, Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) gibi sitokinler stromal hücrelerin IL-6 salgılamasını sağlar. Miyelom hücreleri anjiogenezi sağlamak üzere VEGF salgılayarak endotel proliferasyonunu da sağlar. Endotel hücreleri de IL-6 salgılayarak miyelom hücrelerinin ölümsüzlük kazanmalarına katkı sağlamaktadır [19, 20].

MM'a bağlı kemik lezyonlarının gelişiminde osteoblastik kemik yapımının azaltarak düzenlenmesi'(down regülasyon) ile osteoklastik aktivitenin artırarak düzenlenmesi ('up regülasyon) rol oynamaktadır. Osteoblastik hücrelerin membranlarında bulunan CD56/NCAM moleküllerinin

miyelom hücrelerinin sekrete ettikleri ya da membranlarında bulunan CD56 molekülüne bağlanması sonucu osteoblastik yeni kemik yapımı durmaktadır. Bir diğer mekanizma ise MM hücrelerinden sekrete edilen Dickkopf-1 (DKK1) 'in osteoblastik farklılaşmayı inhibe etmesidir [19]. DKK-1, osteoklastik aktiviteyi artırırken, tümör nekroz faktörü ilişkili aktivasyon-indüklenmiş sitokin (TRANCE) ve onun reseptörü olan osteoprotegerin aksına müdahale etmektedir [21].

### **2.11.2. Sitogenetik**

MM, germinal merkezden ayrılan hafıza B lenfositlerde ve plazmablastlarda görülmektedir. Onkogenezi sürecini başlatan mutasyonların, somatik hafıza B lenfositlerinde/plazmablastlarda oluşuktan sonra bu hücrelerin kemik iliğine göç ederek ikinci mutasyonu kazanmalarıyla gerçekleştiği düşünülmektedir [22, 23].

Kemik iliği biyopsilerinde, Floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle çalışılan biyopsilerden elde edilen sonuçlara dayanarak olguların yaklaşık %40'ında **trizomi** izlenen plazma hücreli mutasyonlar varken kalanının çoğunu da **IgH gen translokasyonları** oluşturmaktadır. Bazı olgularda iki grup mutasyonun birlikteliği de görülebilmektedir. Bu mutasyonlar MM öncülü olarak kabul edilen MGUS'ta da görülebilmektedir. Primer sitogenetik anomalilere hastalığın seyri sırasında 1q kazanımı, del(1p), del(17p), RAS mutasyonları, MYC translokasyonu gibi sekonder ve tersiyer mutasyonlar da eşlik edebilmektedir [24]. Bu anomalilerin hastalık seyri, prognoz ve tedavi ile ilişkili oldukları kanıtlanmıştır [24-26]. MM etiyopatogenezinin sorumlu sitogenetik anomaliler Tablo 2'de görülmektedir [26, 27].

**Tablo 2.** MM'un primer moleküler sitogenetik sınıflaması [26, 27].

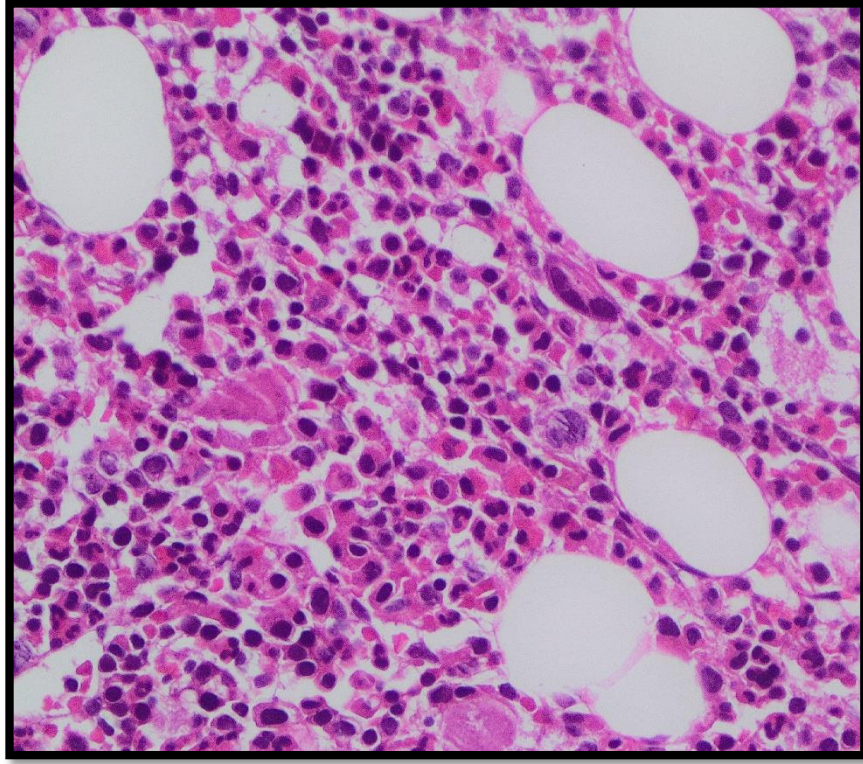
| Subtip                                                                                                                                                                                                 | Etkilenen gen/kromozom                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Hiperdiploidi gösteren MM (%42)</b>                                                                                                                                                                 | Tek kromozomları ilgilendiren (1,13) hariç tekrarlayan trizomiler                 |
| <b>Non-Hiperdiploid (IgH transloke) MM (%30)</b><br>-t(11,14) (q13;q32) (%15)<br>-t(4,14) (p16;q32) (%6)<br>-t(14,16) (q32;q23) (%4)<br>-t(14,20) (q32;q11) (<%1)<br>-Diğer IgH translokasyonları (%5) | -CCN D1 geni (siklinD1)<br>-FGFR3 ve MMSET<br>-c-MAF<br>-MAFB<br>-CCN D3, t(6,14) |
| <b>Kombine IgH translokasyonları ve trizomiler (%15)</b>                                                                                                                                               | Aynı olguda hem IgH translokasyonu hem de trizomi varlığında                      |
| <b>İzole monozomi 14 (%4.5)</b>                                                                                                                                                                        | 14q32 kromozomunda monozomi                                                       |
| <b>IgH transloke ,trizomi ve izole monozomi 14 olmayanlar (%5.5)</b>                                                                                                                                   |                                                                                   |

### **2.11.3. Histomorfolojik ve immunohistokimyasal özellikleri**

Patolojik değerlendirme için dekalsifikasyon işlemine tabii tutulan kemik iliği biyopsileri, kemik iliği aspirasyon biyopsilerinden daha çok tercih edilmektedir. Kemik iliği aspirasyon biyopsileri ise, uygun koşullar sağlanabilirse FISH için ideal yöntem olarak kabul edilmektedir [28].

Kemik iliği biyopsileri klonal plazma hücreleri infiltrasyonunu göstermek açısından önemlidir. MM olgularına ait kemik iliği biyopsilerinde egzantrik yerleşimli nukleusu, belirgin eozinofilik sitoplazmasıyla tanınabilen atipik plazma hücre oranı çoğunlukla %10'un üzerindedir (Şekil 2).

Kemik iliğinde normal plazma hücreleri arterioller çevresinde gruplar halinde yerleşim göstermekte iken; MM'da klonal olarak infiltrasyon gösteren plazma hücreleri interstisyel alanda fokal, nodüler ya da diffüz tabakalar halinde dağılım göstermektedir. Diffüz tutulum genellikle hastalığın ilerleyen evrelerinde beklenen bir durumdur [29, 30].



**Şekil 2.** MM kemik iliği biyopsisinde atipik plazma hücreli infiltrasyon  
H&E x200

Kemik iliği biyopsilerinde immünohistokimyanın kullanımı gerek tanıda gerekse tedavi yanıtını değerlendirmede oldukça önemlidir. Normal plazma hücrelerinin; CD138, CD38 ve CD79a immün belirteçleri ile boyanmaları beklenirken CD19 ve CD56 immün belirteçleri ile boyanmamaları gerekmektedir. Miyelom hücreleri ise CD138, CD38, CD79a, MUM-1, CD56, CD19 immün belirteçleri ile boyanmaktadır. İnfiltrasyon paterninin tespiti için plazma hücre belirteci olan CD138 ya da MUM1 immünohistokimyasal olarak kullanılabilir [31-33].

Miyelom hücreleri, monoklonal özellikte sitoplazmik immunoglobulin içermekte ve bu immunoglobulinlerin yapısında bulunan kappa ve lambda hafif zincirlerin varlığına dayanarak klonalite tespit edilebilmektedir. Miyelom hücreleri morfolojik olarak, normal plazma hücrelerinden ayrımı güçlükle sağlanabilecek kadar olağan morfolojide olabileceği gibi atipik ve pleomorfik morfoloji de sergileyebilmektedirler [34].

#### **2.11.4. Akım (Flow) sitometrik inceleme**

Akım sitometrik incelemeyle; periferik kan örneği, kemik iliği aspirasyon materyali ve biyopsisi gibi materyaller lazer ışığı ile aydınlatılan hazneden geçirildikten sonra, hücrelerin ışığın önünden geçerken verdikleri sinyaller toplanarak hücrelerin başta immünofenotipik özellikleri gibi özelliklerinin elde edilebilir hale geldiği inceleme yöntemidir [35].

#### **2.11.5. Protein elektroforezi**

Serum total protein ve albümini taramada ilk aşamada Serum Protein Elektroforezi (SPE) yönteminden yararlanılmaktadır. SPE yönteminin duyarlılığının düşük olması sebebiyle immünfiksasyon (IFE) yöntemi daha sıklıkla tercih edilmektedir. IFE yönteminde immunoglobulinlerin izotipleri de yüksek duyarlılıkla saptanabilmektedir.

Plazma hücreli neoplazilerde hastanın idrar ya da kanında protein elektroforezinde keskin sınırlı bir band olarak görülen monoklonal immunglobulinlere M proteini denir. Bu immunglobulinler neoplastik plazma hücrelerince üretilir. M proteini monoklonal spike, paraprotein, M spike olarak da isimlendirilmektedir [11].

Plazma hücreli neoplazilerde, immunoglobulin molekülüne bağlı ağır ve hafif zincirler intakt bir şekilde salgılanıyor olmalarına rağmen, henüz mekanizması tam aydınlatılamayan sebeplerle ağır zincire bağlanması gereken hafif zincir düzeyinin artmış olduğu ve bunun da serbest hafif zincir (free light chain (FLC)) düzeyinin artışıyla kliniğe yansıdığı bilinmektedir. Normalde FLC'ler proksimal tübülde reabsorbe edilmekte olup serumda serbest kappa ve serbest lambda düzeyleri belli oranlarda saptanmaktadır. FLC artışının ve  $\kappa/\lambda$  oranının MGUS ve asemptomatik miyelomun MM'a dönüşümünde artmış progresyon riskiyle ilişkili olduğu bilinmektedir [36].

İmmunoglobulinlerin bir diğer saptanma yöntemi ise idrar elektroforeziyle saptanma yöntemidir. Bu yöntemde 24 saatlik idrar toplanması gerekliliği,

yöntemin uygulanabilirlik oranını düşürmektedir. Serum FLC oranının, idrar elektroforezi yönteminden daha duyarlı olduğu kanıtlanırsa da idrar elektroforezi yöntemine ilk tanıda halen başvurulmaktadır [37].

#### **2.11.6. Klinik bulguları ve risk sınıflandırma sistemi ve prognoz tayini**

Multipl Miyelom (MM) tüm kanserlerin %1'ini ve hematolojik neoplazilerin %10'unu oluşturmaktadır. Tanı anında ortalama yaş 66'dır [38]. MM olgularının klinik başvuruları çoğunlukla **CRAB** olarak kısaltılan **hiperkalsemi, renal yetmezlik, anemi** ve **kemik lezyonları**yla olmaktadır. Hiperkalsemi, MM'un yol açtığı litik lezyonlar ve osteoporozis nedeniyle görülmektedir. Renal yetmezliğe bağlı proteinürinin sebebi, monoklonal hafif zincirlerin tübül epitelinde yarattığı hasardır. Aneminin sebebi, kemik iliğini atipik plazma hücrelerinin infiltre etmesidir. Bunlar dışındaki diğer klinik yansımalar; anormal kanama, nörolojik bulgular, periferik nöropati, enfeksiyonlara yatkınlık gibi bulgular olabilmektedir [38].

MM geniş spektrumlu bir hastalık olup tedavi gerektiren semptomatik formu ve tedavi gerektirmeyen Smoldering (Asemptomatik) Miyelom (SMM) formu bulunmaktadır. SMM'nin tedavi edilmediği takdirde 2 yıllık süreçte %80 oranında semptomatik forma dönüştüğü bildirilmektedir [39].

MM tanısı klinik, radyolojik ve patolojik bulguların bir arada değerlendirilmesi sonrası konabilmektedir. Laboratuvar bulguları için kreatinin, kreatinin klirensi,  $\beta$ 2-mikroglobulin, Laktat dehidrojenaz (LDH), serum ve/veya idrar protein elektroforezi (albümin, M-protein), 24 saatlik idrar total proteini gibi biyokimyasal sonuçlarla, iskelet taraması ve gerek görülürse Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) gibi taramalar yapılmalıdır [17].

International Myeloma Working Group (IMWG) adlı grup tarafından, MM tanı kriterleri oluşturulmuş olup WHO Classification of Tumours of Haematopoietic

and Lymphoid Tissues (2017) referans kitabında bu kriterler yer almakta olup şu şekilde sıralanmıştır [11, 40]:

**1-** Kemik iliği biyopsisinde kappa ya da lambda monoklonalitesi doğrulanmış plazma hücresi oranı %10'a eşit ve üzerinde olmalı veya

**2-** Biyopsiyle doğrulanmış kemik kaynaklı veya ekstramedüller plazmasitom varlığında ve aşağıda sıralanan 2015 yılından önce son organ hasarı olarak bilinen **CRAB** olarak da adlandırılan aşağıda sıralanan bir ve birden fazla unsurun eşlik ettiği görülmeli:

-Hiperkalsemi: Serum kalsiyum düzeyinin laboratuvar üst limitinin en az 1 mg/dl üzerinde olması veya 11mg/dl'nin üzerinde olması

-Renal yetmezlik: Kreatinin klirensinin 40 mg/dl'nin altında olması veya serum kreatinin düzeyinin 2mg/dl'nin üzerinde olması

-Anemi: Hemoglobin düzeyinin laboratuvar referans değerinin 2mg/dl altında veya 10mg/dl'nin altında olması

-Kemik lezyonlarının varlığı: Direkt grafi (DG), Manyetik Rezonans (MR) veya Pozitron Emisyon Tomografisinde (PET) bir ya da daha fazla osteolitik lezyonun varlığı

2015 yılında "International Myeloma Working Group (IMWG)" un oluşturduğu revize kriterlerle, son organ hasarının eşlik edip etmediğine bakılmaksızın semptomatik hastalık varlığı tedaviye başlamayı gerekli kılar hale gelmiştir. Mevcut CRAB kriterlerine **SLiM** olarak kısaltılan kriterler olan;

**-(S)** Kemik iliği klonal plazma hücre oranının %60'dan fazla olması

**-(Li)** Etkilenen/Etkilenmeyen serum serbest hafif zincir oranının 100'den fazla olması

**-(M)** Tüm vücut MR değerlendirmesinde birden fazla 5 mm veya daha büyük odaksal lezyon varlığı

kriterleri de eklenerek MM tanı kriterleri “Miyelom Tanımlayıcı Unsurlar” (Myeloma Defining Events) olarak revize edilmiştir. Tüm bunlarla birlikte MM tanısı:

**1-** Kemik iliği biyopsisinde kappa ya da lambda monoklonalitesi doğrulanmış plazma hücresi oranı  $\geq 10\%$  veya

**2-** Kemik kaynaklı veya ekstramedüller plazmasitom varlığı

yani sıra Miyelom Tanımlayıcı Olay varlığıyla yani;

- En az bir CRAB belirti ve bulgusunun olması veya

- En az bir SLiM bulgusunun olması ile veriebilmektedir.

MM hastalık prognozunu ve son organ hasarının öngörülebilirliğini sağlamak adına tarihsel olarak birçok MM risk skorlama sistemleri geliştirilmiştir.

Bunlardan en çok kabul göreni **Uluslararası Sınıflama Sistemi (ISS)**'dir. Bu sisteme göre ortanca sağkalım süreleri evre 1 için 62 ay; evre 2 için 44 ay; evre 3 için ise 29 aydır ISS evrelerine ait kriterler Tablo 3'te gösterilmektedir [17, 41].

**Tablo 3.** Multipl Miyelom Uluslararası Sınıflama Sistemi (ISS) evre kriterleri.

|                       |                                                                                                                         |
|-----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ISS EVRE<br/>1</b> | Serum $\beta 2$ -mikroglobulin düzeyi $< 3.5 \text{ mg/L}$ veya serum albümin düzeyi $\geq 3.5 \text{ g/dl}$ olmalıdır. |
| <b>ISS EVRE<br/>2</b> | ISS evreleme sistemi evre 1 ve 3 'ün kriterlerinin sağlanamamış olması                                                  |
| <b>ISS EVRE<br/>3</b> | Serum $\beta 2$ -mikroglobulin düzeyi $\geq 5.5 \text{ mg/L}$                                                           |

Son yıllarda yapılan çalışmalarla MM'un moleküler patogenezinin de aydınlatılmasıyla birlikte uygulanan moleküler analizlerin prognozla

ilişkilerinin gösterilmesiyle birlikte Tablo 4'te de görülebileceği gibi

**Güncellenmiş Uluslararası Sınıflama Sistemi (R-ISS)** dizayn edilmiştir [42].

IMWG'a göre interfaz FISH ile sitogenetik inceleme için minimal panel olarak t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), del(17p13) paneli değerlendirilmeli gerekirse ek olarak t(11;14)(q13;q32), del 13, ploid kategorisi, kromozom 1 anomalileri algoritmaya dahil edildikten sonra R-ISS bulguları değerlendirilmelidir.

**Tablo 4. Güncellenmiş Uluslararası Sınıflama Sistemi (R-ISS) kriterleri.**

|                         |                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>R-ISS<br/>EVRE 1</b> | Serum $\beta$ 2-mikroglobulin düzeyi <3.5 mg/L<br>Serum albümin düzeyi $\geq$ 3.5 g/dl<br>Laktat dehidrojenaz (LDH) düzeyi üst sınırın altında<br>FISH'te yüksek risk sitogenetik anomali yok   |
| <b>R-ISS<br/>EVRE 2</b> | ISS evreleme sistemi evre 1 ve 3 'ün kriterleri yok                                                                                                                                             |
| <b>R-ISS<br/>EVRE 3</b> | Serum $\beta$ 2-mikroglobulin düzeyi $\geq$ 5.5 mg/L<br>Serum albümin düzeyi $\leq$ 3.5 g/dl<br>LDH düzeyi üst sınırın üzerinde<br>FISH'te del 17p varlığı ve/veya t(4;14) ve/veya t(14;16) var |

#### **2.11.7. Tedavi ve tedavi yanıtının değerlendirilmesi**

Multipl Miyelomun asemptomatik formu olan Asemptomatik Miyelom formu, yavaş olarak yıllar sonra MM'a progresyon gösterebilmektedir. Bu grubun tedavi prensibi sistematik tedavi ve hastalık komplikasyonlarına yönelik destek tedavisidir.

MM tedavisinde öncelikli yaklaşım 65 yaş altı hastalarda; otolog kök hücre nakli (OKHN) ve yüksek doz kemoteropatik ajan kullanımudur.

OKHN'nin hastalık remisyon oranlarını artırmanın yanı sıra, progresyonsuz sağkalım sürelerini uzattığı bilinmektedir [43].

Geçtiğimiz 10 yıllık süreçte OKHN'ye uygun hastaların indüksiyon tedavilerinde yeni gelişmeler elde edilmiştir. Vinkristin, doksorubisin ve deksametazon (VAD) protokolünün yerini yeni nesil ajanlar almıştır. Yeni nesil ajanlardan bortezomib, bir proteozom inhibitörü olup, özellikle kombine tedavilerde prognoza önemli etkileri kanıtlanmıştır [44].

### **2.11.8. Multipl Miyelomda hastalık progresyonu ve nüksün değerlendirilmesi**

#### **2.11.8.1. Klinik Nüks**

Tedavi altındaki MM'un klinik nüks olarak tanımlanabilmesi için aşağıdaki özelliklerden bir veya daha fazlasının varlığını gerektirmektedir:

- 1- Hastalıkla ilişkili olabilecek organ fonksiyon bozukluğu
- 2- Takipte olan plazmasitom ve kemik lezyonlarının boyutunda artış.
- 3- Serum kreatininde 2 mg/dL veya fazla artış
- 4- Hemoglobinde 2 g/dl'den fazla azalma
- 5- Hiperkalsemi (>11,5 mg/dL)

#### **2.11.8.2. İlerleyici (Progresif ) Hastalık**

Tedavi altındaki MM'un ilerleyici hastalık olarak tanımlanabilmesi için hastaların takipleri sırasında izlenen en derin yanıtla karşılaştırıldığında aşağıda sıralanan durumlardan herhangi birinde %25 artış gereklidir:

- 1- Serum M-komponenti ve/veya (mutlak artış  $\geq 0,5$  g/dL)
- 2- İdrar M-komponenti ve/veya (mutlak artış  $\geq 200$  mg/24 saat)
- 3- Serum ve idrar M-protein düzeyleri takip edilemeyen hasta grubu için; serbest hafif zincirleri arasındaki farkın 10 mg/dL üzerinde olması
- 4- Kemik iliği biyopsisinde plazma hücre yüzdesi mutlak surette %10'un üzerinde olmalıdır.
- 5- Yeni gelişen kemik lezyonları veya plazmasitomların (yumuşak doku) gelişmesi veya bilinen lezyonların boyutunda artış
- 6- PHN ile açıklanan hiperkalsemi gelişmesi (serum kalsiyumu  $> 11,5$  mg/dL)

#### **2.11.8.3. Tam yanıtlı hastada nüks**

Tedaviye tam yanıt veren hastalarda klinik takip sırasında aşağıdakilerden herhangi birisinin saptanması durumunda tam yanıtlı hastada nüks olarak kabul edilmelidir:

- 1- Takiplerde M proteini varlığı saptanması
- 2- Kemik iliği biyopsisinde %5'ten fazla monoklonal plazma hücre infiltrasyonu
- 3- Diğer ilerleyici hastalık bulgularından (Yeni gelişen plazmasitom, litik kemik lezyonu vb ) herhangi birinin varlığının saptanması [\[45\]](#).

## 2.12. Önemi belirsiz monoklonal gamopati (MGUS)

### 2.12.1. Epidemiyoloji ve etiyopatogenez

MGUS, ilk olarak 1960'lı yıllarda Waldenström tarafından benign bir monoklonal immüoglobulin proliferasyonu olarak tanımlanan bir hastalık iken; 1978 yılında Kyle, bu olguların MM, hafif zincir amiloidoz ve Waldenström makroglobulinemisine dönüşebilme olasılıklarının belirgin şekilde artmış olması nedeniyle MGUS terminolojisini kullanmayı uygun görmüştür [46].

MGUS, toplumda ortalama 50 yaş üzeri popülasyonun yaklaşık %4'ünü etkilemektedir. MGUS tanılı olguların MM'a dönüşme riski yılda yaklaşık %1'dir [47].

MGUS'un etiyopatogenezi aydınlatılamamış olmakla birlikte bazı faktörlerle artmış insidansı saptanmıştır. Bunlar; yaş, erkek cinsiyet, siyah ırk, pestisid ve boya maddesi maruziyeti, kronik antijenik uyarının eşlik ettiği bazı romatolojik hastalıklar, genetik yatkınlık gibi faktörlerdir [48].

### 2.12.2. Sitogenetik

MGUS'un, kronik antijenik uyarı maruziyeti sonrası gelişen anormal antijenik yanıt sonucu gelişen bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Beklenmeyen antijenik yanıtta "Toll-like" reseptörlerin aberan ekspresyonu ya da IL-6 gibi sitokinlerin anormal salınımı eşlik etmektedir [49]. Bunun yanı sıra MM'da izlenen monozomi 13, del(13q14), 14q32 translokasyonları ve anöploidi gibi genetik özellikler MGUS'ta da daha az sıklıkla da olsa, saptanmıştır. Mutasyonların üzerine eklenmiş kronik antijen uyarımının MGUS gelişiminde etkili olduğu teorisi benimsenmektedir [47].

MGUS'a ait mutasyonlar incelendiğinde birincil mutasyonlar olarak tanımlanabilecek hiperdiploidi ve Ig-H translokasyonları (14q32) şeklinde mutasyonlar mevcuttur. Olguların, %40'ında hiperdiploid (14q32 bölgesinde Ig-H non-transloke), yaklaşık %50'sinde ise non-hiperdiploid (14q32 bölgesinde Ig-H transloke ) özellikler izlendiği görülmüştür. Hiperdiploid olgulardaki kromozomal trizomiler MM'dakilere benzer özelliktedir. Ig-H transloke olanlarda translokasyonlar beş kromozom lokusundan birinde yer almaktadır:

- 1- 11q13 (CCND1 –SiklinD1 geni)
- 2- 6p21 (CCND3 –Siklin D3 geni)
- 3- 4p16 (FGFR-3 ve MMSET)
- 4- 16q23 (c-maf)
- 5- 20q11 (maf B)

Tüm bu genetik özellikleriyle birlikte değerlendirildiğinde MGUS olgularının klinik özellikleriyle birlikte değerlendirilmesi ve hastalığın prognozunu değerlendirilmesi açısından hastalık alt gruplarının ayrı ayrı incelenmesi önem teşkil etmektedir [23].

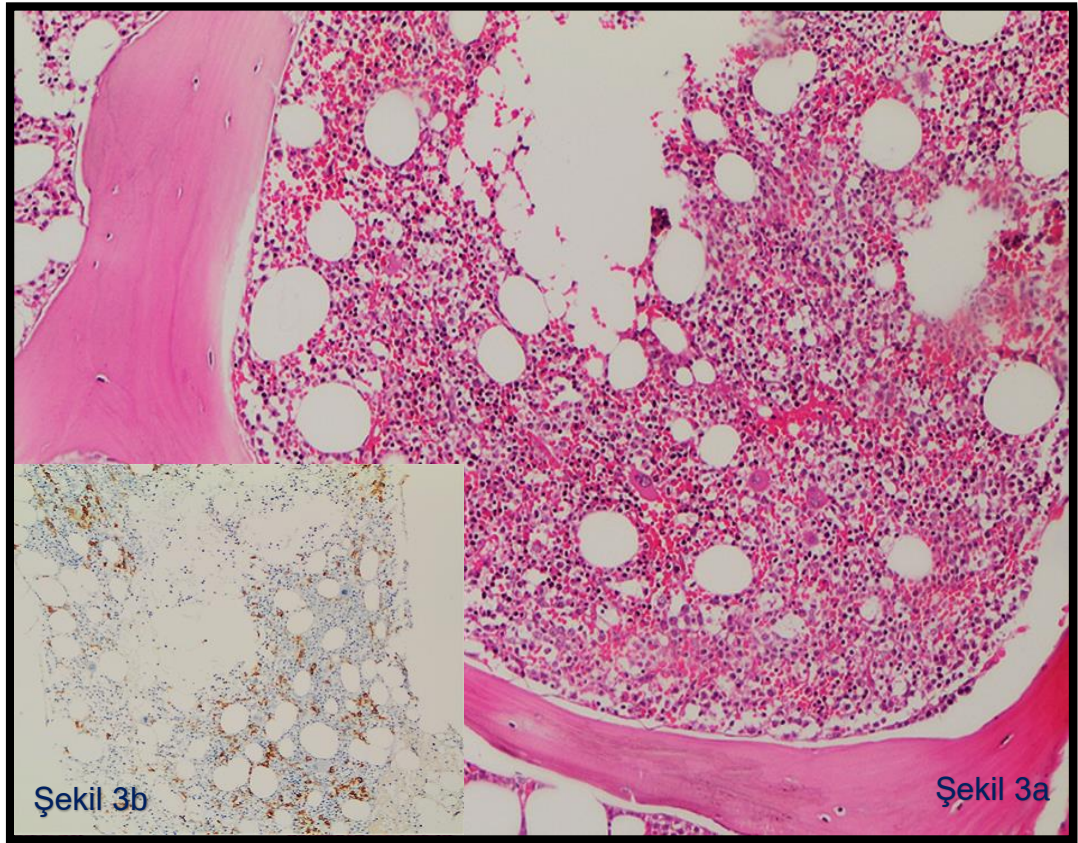
13q delesyonu Non-IgM MGUS'ların %30-40'ında görülmekte iken MM'un %50'sinde görülmektedir. N-RAS mutasyonları MGUS'ta %7'lerde görülmekteyken MM'da bu oran %15-20'dir. K-RAS mutasyonu MGUS'ta saptanmazken MM'un %15-20'sinde saptanmaktadır [5, 50].

### **2.12.3 Histomorfolojik ve immunohistokimyasal özellikleri**

MGUS, kemik iliği biyopsilerinde özgün morfolojik bulgulara sahip olmamakla birlikte %10'dan az monoklonalite gösteren plazma hücrelerinin agregatlar yapması ile tanı alabilmektedir. İnfiltrasyonu oluşturan plazma hücreleri çoğunlukla matür görünümde sitoplazmik inklüzyon ve nükleol belirginliği izlenebilen hücrelerdir (Şekil 3a) [11].

MGUS histomorfolojik ve sitogenetik özellikleri esas alınarak üç alt tipte değerlendirilmektedir:

- 1- Non-IgM MGUS
- 2- IgM MGUS
- 3- Hafif zincir MGUS



**Şekil 3a.** MGUS'ta kemik iliği biyopsisinde atipik plazma hücreli infiltrasyon H&E x40

**Şekil 3b.** MGUS'ta kemik iliği biyopsisinde atipik plazma hücreli infiltrasyonda  
CD138 ile %6 oranında immünekspresyon H&E x40

IgM MGUS genellikle lenfoid/lenfoplazmasitik iken; non-IgM MGUS ise genellikle plazmasitik morfolojidedir [14].

İmmunohistokimyasal olarak da plazma hücre infiltrasyonu MM' ye benzer özellikleriyle doğrulanabilmektedir (Şekil 3b). Monoklonaliteyi gösterebilmek her zaman mümkün olamadığından akım sitometrik inceleme ile birlikte yorumlanması önerilmektedir [35].

#### **2.12.4. Klinik bulguları, tanı kriterleri ve risk sınıflandırma sistemiyle prognoz tayini**

MGUS klinik olarak herhangi bir bulgu vermeksizin genellikle insidental olarak saptanmaktadır [14].

2010 yılında International Myeloma Working Group (IMWG) tarafından 2003 yılında belirlenen MGUS tanı kriterleri yeniden düzenlenmiştir. Bu kriterler Tablo 4'te görülmektedir [27, 51, 52].

**Tablo 4.** IMWG 2010 Non-IgM MGUS tanı kriterleri.

|                                                             |
|-------------------------------------------------------------|
| Serum M proteinin 3 g/dl'den az olması                      |
| Kemik iliğinde %10'dan az monoklonal plazma hücresi varlığı |
| MM ile ilişkili organ hasarının dışlanması                  |

MGUS tanısı verebilmek için bu kriterlere ek olarak, diğer plazma hücreli neoplaziler ve lenfoproliferatif hastalıkların mutlak şekilde dışlanma şartı bulunmaktadır [51, 52].

MGUS üç ana alt grupta değerlendirilmekte olup bu grupların klinik ve prognostik özellikleri şu şekilde değerlendirilebilir [41, 53] :

##### **1-Non- Ig M MGUS (Plazma hücreli MGUS)**

Serum IgG (%69), IgA (%11), biklonal (%3) ya da daha az olmakla birlikte IgD ve IgE M proteini düzeyinin 3 g/dL altında olduğu ve kemik iliği biyopsisinde <%10 klonal plazma hücreli infiltrasyonun varlığına CRAB gibi son organ hasarının ve amiloidozun eşlik etmediğinin kanıtlanmasıyla tanı verilebilmektedir. MM'a veya amiloidoza yılda %1 oranında ilerleyebilmektedir [54].

### 2-Ig M MGUS (Lenfoid/lenfhistiositik MGUS)

MGUS ana tanı kriterlerine ek olarak, histomorfolojik olarak CD19+, CD20+, CD23+, CD5+/-, IgM+, CD10- immün profili sergileyen lenfoid/lenfhistiositik morfolojide bir infiltrasyon mevcuttur. Yılda %1.5 oranında WM ve diğer lenfomalara progresyon beklenmektedir [54].

### 3-Hafif zincir MGUS

MGUS tanı kriterlerinin yanı sıra anormal serbest kappa / serbest lambda hafif zincir oranı (FLC) (Kappa MGUS için >1.65, lambda MGUS için <0.26) ve immünfiksasyon elektroforezde ağır zincir ekspresyonu olmaması ile tanı koyulmaktadır. Yılda %1'den az oranda hafif zincir miyeloma progresyon gösterebilmektedir.

Klinik takipler sırasında MGUS'un, genellikle M proteininde artışın ve klinik olarak progresyonun izlenmediği bir seyir izlediği ancak bazı durumlarda MM, soliter plazmasitom ve primer amiloidoza dönüşebildiği izlenmiştir. Bu doğrultuda hastalık progresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülen parametrelerle ilişkili klinik çalışma referans niteliğindedir. Bunlardan ilki IMWG 2010 kılavuzuna da referans kabul edilen Mayo Klinik risk modeli kriterleri Tablo 5'te gösterilmektedir [48, 54, 55].

Mayo Klinik modeli 20 yıllık takiplere dayanarak olguları Tablo 6'da görülebilen risk gruplarına ayırmakta ve takip protokolü belirlemektedir [56]. Bu risk skrolama sistemini oluşturan parametreler şu şekilde özetlenebilir:

**Tablo 5. MGUS Mayo Klinik risk modeli.**

|                                                    |
|----------------------------------------------------|
| Non-IgG izotipi (IgA ya da IgM)                    |
| Serum M protein düzeyinin 1.5 g/dL üzerinde olması |
| Serbest hafif zincir oranı (FLC) <0.26 ya da >1.65 |

**Tablo 6.** MGUS Mayo klinik risk modeline göre önerilen takip ve izlem şeması.

|                             | Sınıflama                                                          | Takip ve izlem                                                                                                                                              |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Risk faktörü olmayan</b> | Düşük riskli MGUS<br>(20 yılda %5'ten az<br>progresyon)            | İki-üç yıl sürecek şekilde<br>serum protein<br>elektroforezini 6 ay<br>aralıklarla takip etmek<br>eğer normale biyopsi ya<br>da iskelet taraması            |
| <b>1 risk faktörü</b>       | Düşük-orta riskli<br>MGUS<br>(20 yılda %21<br>oranında ilerleme)   | -FISH ve kemik iliği<br>biyopsisi<br>-Waldenstrom<br>makroglobulinemisini<br>dışlamak için BT<br>-LDH, $\beta$ 2-mikroglobulin,<br>C reaktif protein ölçümü |
| <b>2 risk faktörü</b>       | Yüksek- orta riskli<br>MGUS<br>(20 yılda %37<br>oranında ilerleme) |                                                                                                                                                             |
| <b>3 risk faktörü</b>       | Yüksek riskli<br>MGUS<br>(20 yılda %58<br>oranında ilerleme)       |                                                                                                                                                             |

Olgular; yukarıdakilerde özellik bulunmaması halinde altı ayda bir tam kan sayımı, serum protein elektroforezi, kreatininle ömür boyu takip edilmektedir.

### 2.13. Önemi Belirsiz Monoklonal Gamopatiden Multipl Miyelom Gelişim Süreci

Tümör patogenezi için neoplastik süreçlerin çoğunun preneoplastik bir süreç sonrası geliştiği bilinmektedir. MM'un de novo bir neoplastik süreç mi olduğu, yoksa MGUS gibi bir preneoplastik süreçten progresyon sonrası mı geliştiği yapılan çalışmalarla net olarak aydınlatılamamıştır [57].

Güncel sitogenetik analizlerin MM ve MGUS'ta benzer olması progresyonla ilgili belirsizliğin aydınlatılamamasına sebep olmaktadır [57].

MGUS evresinde genomik kompleks özellikler ve intraklonal heterojenite varlığı tespit edilmiştir. Bu konuda ileri sürülen teori " Big Bang" olarak tanımlanan patogenezin erken döneminde oluşan ve halen net olarak bilinmeyen sitogenetik anomalinin takibinde gerçekleşen klonal çoğalma sürecidir. MGUS ve asemptomatik MM evrelerinde tümör mikroçevresi ve mikroçevre ile etkileşimler MM'ye dönüşebilme potansiyelini belirlemektedir. Bu hipotezin desteği olarak da pre-MGUS evresinde, MGUS ve Asemptomatik Miyelom evreleriyle karşılaştırıldığında daha az karmaşık genetik özellikleri barındırmasıdır [57].

MGUS'dan MM gelişimine kadar olan süreçteki moleküler patogenezi temel olarak üç aşamada incelenebilir. İlk aşamada IgH translokasyonu, hiperdiploidi ve 13. kromozomda delesyon MGUS ve MM olgularında ortak olarak görülen sitogenetik anomalilerdir [23]. İkinci fazda yani MGUS'tan MM'a progresyon aşamasında ise myc overekspresyonu, RAS mutasyonu ve del 13 t(11,14) izlenmektedir. MM'un progresyon aşaması olan üçüncü fazda ise diğer faktörler olan artmış proliferasyon ve artmış genetik instabiliteye, kemik iliği mikroçevresinden bağımsız otonomi kazanma özelliği de eklenmektedir. Bu özellikleri sağlayan mutasyonlar ise myc rearanjmanı, NFkB yolağının aktiflenmesi, p53 mutasyonu ve delesyonu ve p18 ya da Retinoblastom-1 inaktivasyonudur [57].

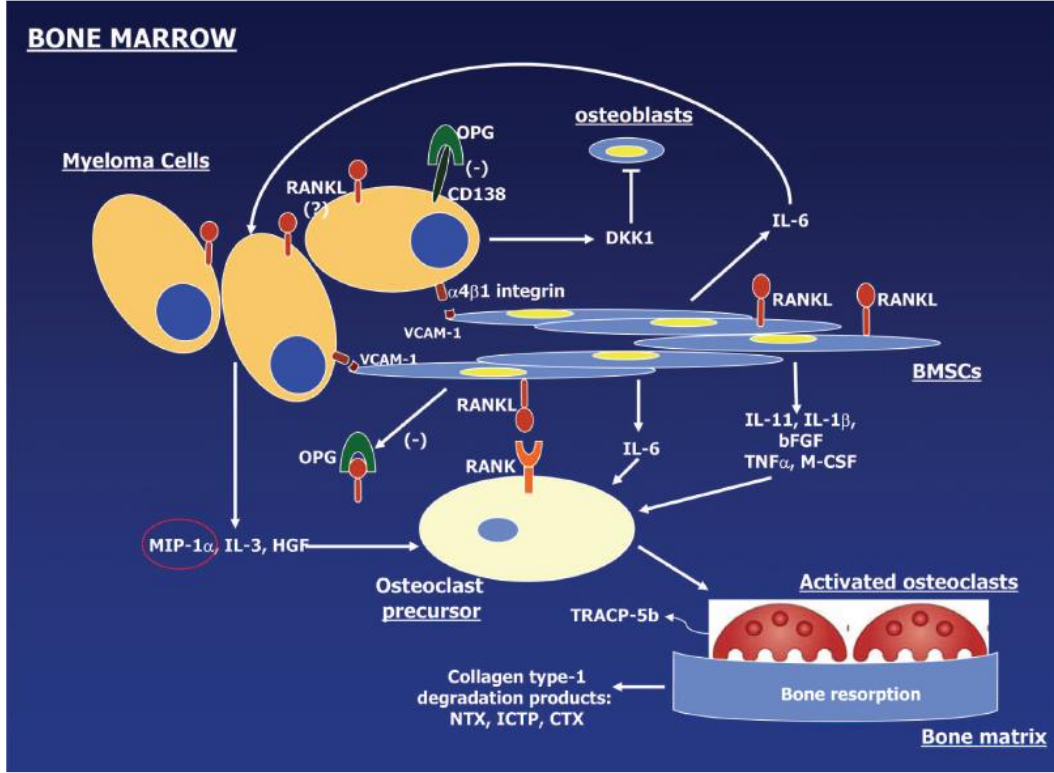
Bunların dışında çalışma düzeyinde oldukça fazla mutasyon tespit edilmekle birlikte klinik özellikler ile birleştirildiğinde bazı mutasyonlara sahip olanların progresyon göstermediği de tespit edilmiştir. Bu durum tümör mikroçevresinin ve mikroçevre ile olan etkileşimin patogeneze olan önemini öne çıkarmaktadır [2, 20, 23, 58, 59].

## **2.14. Önemi Belirsiz Monoklonal Gamopatiden Multipl Miyelom Gelişim Patogenezinde Etkili Belirteçler ve Patogeneze İlişkili Mekanizmaları**

### **2.14.1. Kemokin ligand 3 (CCL-3) / Makrofaj İnflamatuar Protein (MIP-1 $\alpha$ )**

Kemokin ligand 3 (CCL-3) veya Makrofaj İnflamatuar Protein (MIP-1 $\alpha$ ), miyelom hücrelerince salgılanan ve Kemik iliği kaynaklı kök hücre (Bone Marrow Stem Cell-BMSC), osteoklastlar ve osteoblastlar üzerinde reseptörü bulunan ve MM ilişkili kemik hasarından sorumlu tutulan kemokinlerden biridir [55, 60]. CCL-3 kemotaktik özelliği sayesinde hücre-hücre füzyonu sağlayarak multinükleer osteoklastik hücre öncüllerini ortama çağırır. Osteoklastogenezi indüklemenin yanı sıra, osteoblastik aktivitede sorumlu bazı moleküllerin sentezini de down regülasyon mekanizmasıyla inhibe etmektedir. CCL-3'ün, MM patogenezinde önemli yer tutan bir diğer fonksiyonu ise miyelom hücrelerinin kemik iliği nişinde yuvalanmasında rol almasıdır [3, 20, 61]. Bu reseptörlerin; BMSC, osteoblastlar, osteoklastlar ve miyelom hücreleri ve kemik iliği nişindeki etkileşim şeması Şekil 4'te gösterilmektedir [62].

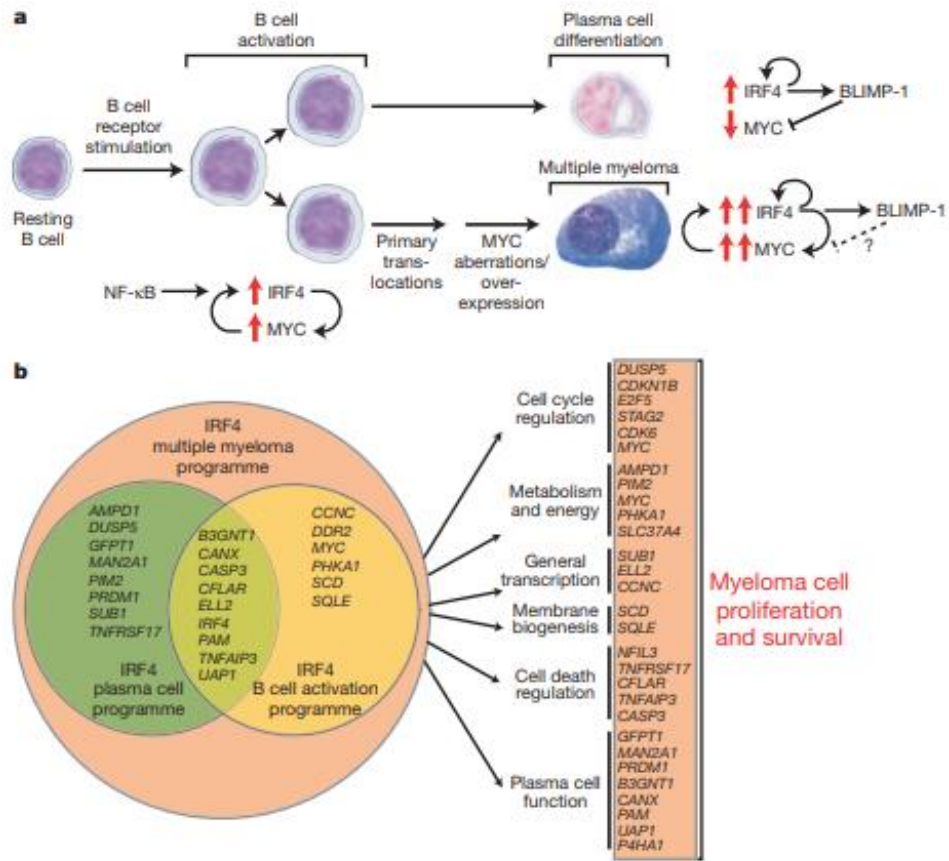
CCL-3'ün kemik lezyonları yanı sıra, fosfatidilinositol 3-kinaz/AKT (PI3-K) ve Mitojen-aktif protein kinaz (MAPK) yolları üzerinden apoptozisten kaçış, kemotaksis, proliferasyon üzerine etkisinin de olduğu gösterilmiştir [63].



**Şekil 4.** MM patogenezinde CCL-3 ve diğer faktörlerle ilişkisi [62].

### 2.14.2. Multipl Miyelom Onkogeni (MUM-1) / Interferon regülatör faktör-4 (IRF-4)

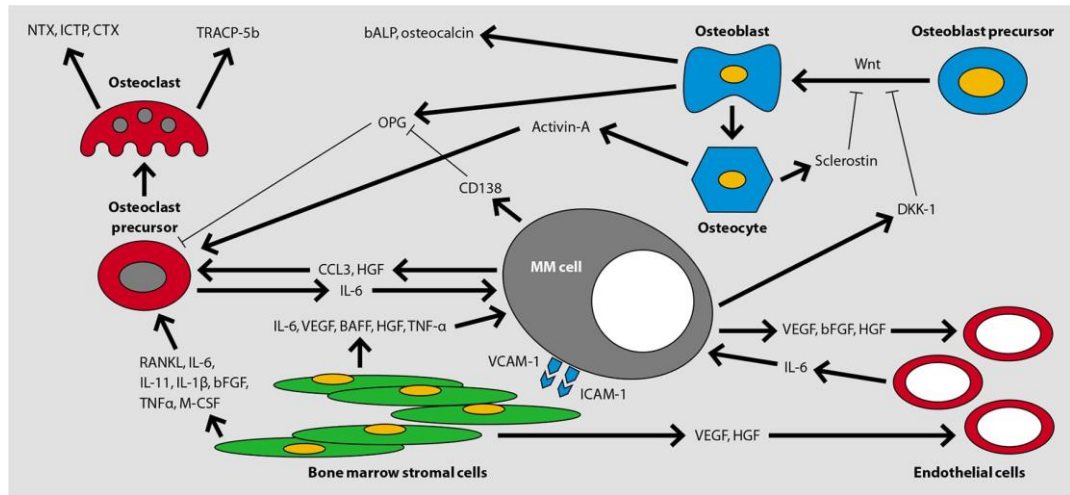
Multipl Miyelom Onkogeni (MUM-1) / Interferon regülatör faktör-4 (IRF-4), interferon regülatör ailesine ait bir gen olup plazma hücresi farklılaşması aşamalarının germinal merkez, sentrosit-foliküler dendritik hücre etkileşim basamağında görevlidir. Multipl Miyelom ve öncül formlarının gelişiminde, tümör mikroçevresinde önemli rol oynayan T helper (Th17) hücrelerinin farklılaşmasında ve IL17 salgılanmasında etkin rol oynamaktadır. İleri evre MM'larda artmış IRF-4 immünekspresyonunun olduğu yönünde çalışmalar mevcuttur [64, 65]. MUM-1 'in MM patogenezinde ilişkin görevleri Şekil 5'te görülebilir [66].



Şekil 5. MM patogenezinde MUM-1'in etki mekanizması [66].

### 2.14.3. The Dickkopf Gen-1 (DKK-1) proteini

Tümör ile mikroçevre ilişkisinde önemli yer tutan sitokinlerden bir de Dickkopf gen-1 (DKK-1)'dir. DKK-1, Wingless Integrated (WNT-1) olarak bilinen hücre sinyal ileti yolağını antagonize ederek osteoblastogenezi inhibe etmektedir. Yine benzer mekanizmayla MM'da, BMSC'lerin matür osteoblastlara dönüşmesini önler. İleri evre MM olgularında DKK-1 sitokini aracılıklı hastalığa bağlı kemik komplikasyonlarının artması, DKK-1 immünohistokimyasal belirtecinin hastalık prognozu tayininde önemli bir belirteç olarak kullanılabileceği fikrini akla getirmektedir [20, 61]. DKK-1'in kemik iliği mikroçevresi ile ilişkisi Şekil 6'da gösterilmiştir [67].



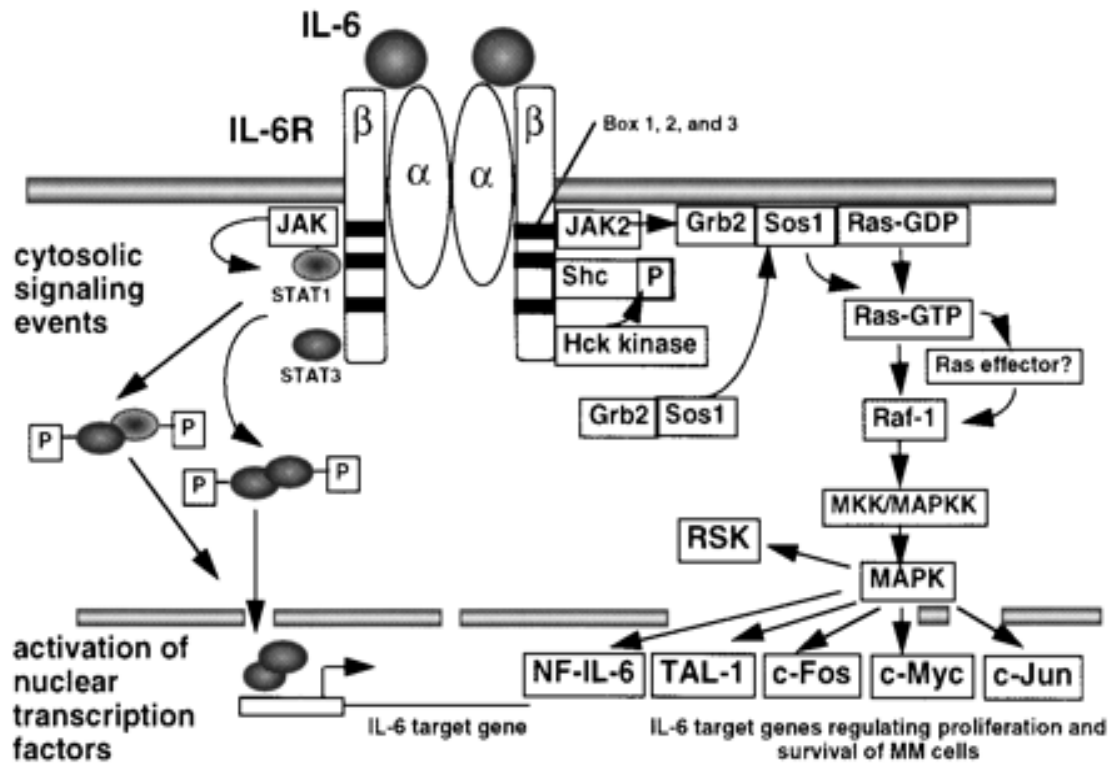
**Şekil 6.** MM patogenezinde DKK-1'in etki mekanizması [67].

DKK-1'in farklı tümörlere farklı mekanizmalarla etki ettiği bilinmektedir. Hepatoselüler karsinom ve osteosarkomda artmış ekspresyonu saptanmaktayken, malign melanomda azalmış ekspresyon saptanmıştır [68].

Feng ve ark. güncel çalışmalarında, DKK-1 antagonisti kullanarak, IL-6 düzeylerinin azaldığını, B-katenin seviyelerinin ise arttığını ve MM hücrelerinin çoğalmasının bu sayede arttığını göstermişlerdir [69]. Palma ve ark.'nın çalışmalarında ise SMM olgularının MM'a progresyonunda artmış DKK-1 seviyesinin etkili olabileceği bildirilmiştir [70].

#### 2.14.4. Pan-RAS

K-RAS, N-RAS, H-RAS birçok epitelyal kanserle ilişkili olduğu gibi MM'da %9-30 oranında görülebilmektedir. Bu oran MGUS ve diğer MM öncülü hastalıklarda görülmekle birlikte MGUS'ta MM'ye daha az oranda görülmesi ve MM'da mutasyonun varlığında hastalığın daha ağır bir seyir izlemesi dikkat çekicidir. RAS geninin miyelom patogenezinde ilişkisini açıklayan teorilerden biri, miyelom hücrelerinin büyümelerinin IL-6 bağımlı olduğu ve IL-6 parakrin salgısı sayesinde RAS yolağının aktifleterek miyelom hücrelerinin mikroçevreye adapte hale geldiğidir [49]. Miyelom patogenezinde RAS alt tiplerinin mutasyonları çalışmalarda farklı oranlarda saptanmıştır [50, 71]. Patogeneizde etkili RAS aracılığıyla gerçekleşen aşamalar Şekil 7'de gösterilmektedir [72].



Şekil 7. MM patogenezinde RAS'ın etki mekanizması [72].

## **3.GEREÇ VE YÖNTEM**

### **3.1. Olgu Seçimi**

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda Ocak 2011 ile Mart 2018 tarihleri arasında “Multipl Myelom ve Önemi Belirsiz Monoklonal Gamopati” tanısı almış 443 olguya ait remisyon ve/veya nüks değerlendirme biyopsileri değerlendirilerek olgulara ait ilk tanı biyopsilerine erişildi. Sağkalım bilgilerine erişilebilen ve sitogenetik incelemenin de yapıldığı MM'a ait 94 olgu, MGUS'a ait 20 olguya ait kemik iliği biyopsileri çalışmaya dahil edildi.

### **3.2. Etik Kurul**

Projemiz, 09.2018.277 sayılı protokol ile Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Projemiz; SAG-C-TUP-090518-0227 proje numarası ile Marmara Üniversitesi BAPKO'nun (Bilimsel Araştırma ve Projeler Komisyonu) finansal desteği ile gerçekleştirilmiştir.

### 3.3. Klinik Veriler

MM olguları, hastanemiz Hematoloji Kliniği'nce düzenli takipli olup, hasta takip dosyalarında hastalara ait klinik-radyolojik ve biyokimyasal veriler kaydedildi. MM vakalarının hasta dosyalarından, hastalara ait tanı esnasındaki ISS evreleri, R-ISS evreleri, tanı anındaki biyokimyasal tanısal ve prognostik belirteçlere ait veriler ve sitogenetik analizlere dair verilere ulaşıldı. Hasta dosyalarında, olgulara ait hastanemiz Genetik Laboratuvarı'nda ya da dış merkeze ait genetik laboratuvarlardaki sitogenetik anomali değerlendirme raporları kaydedildi. Sitogenetik anomali incelemesi yapılmayan olgular çalışmadan dışlandı. Hastalık progresyon verileri hasta dosyalarından edinildi. Multipl Miyelomda progresyonsuz sağkalım değerlendirmesinde biyopsinin alındığı tarihten, klinik seyrinde ilerleyici hastalık, klinik nüks, tam yanıtli hastada nüks gelişen veya ölüm gerçekleşen tarihe kadar olan zaman aralığı ay olarak değerlendirildi. Multipl Miyelom ve MGUS olguları için, genel sağkalım (overall survival) değerlendirmesinde tanı aldıkları tarihten son takip tarihi veya ölüm tarihine kadar olan süreler alındı.

Sağkalım bilgilerine T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ölüm Bildirim Sistemi'nden erişildi. Bu sistemde ölüm sebebi belirtilmediğinden herhangi bir sebepten oluşan ölümler "exitus" olarak kayıt edildi ve sağ kalım analizleri buna göre yapılarak genel sağkalım hesaplandı.

### 3.4. Sitogenetik İnceleme

Sitogenetik incelemeler, dış merkez kaynaklı genetik laboratuvarında ve Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Her iki laboratuvar da, FISH yöntemiyle standart olarak t(4;14)(p16;q32), t(11;14)(p13;q32), t(14;16)(q32;q23), 17p13.1 delesyonu, 13q14.3 delesyonu ve monozomiler değerlendirilmektedir.

### 3.5. İmmünohistokimyasal Yöntem

Olgulara ait kemik iliği biyopsileri, Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) solüsyonunda ortalama üç saat dekalsifiye işlemi sonrası formalin fikse parafine gömülü bloklar hazırlandı. Bu bloklardan, pozitif şarjlı lamlara 4µm kalınlığında kesitler alındı. CCL-3, MUM-1, DKK-1, Pan-RAS belirteçleri ile immünohistokimyasal yöntem uygulandı (Tablo 7). Otomatize immünohistokimya cihazı (Ventana medical systems inc, BenchMark Ultra) kullanılarak tüm örneklerde immünohistokimya boyama işlemi gerçekleştirildi. CD138, kappa hafif zincir ve lambda hafif zincir immünohistokimya analizi ise olgulara tanı verilme sırasında uygulanan lamların tekrar değerlendirilmesi ile gerçekleştirildi. Bu işlem sırasında uygulanan protokol Tablo 8’de görülmektedir.

İmmünohistokimya inceleme işlemi esnasında eksternal pozitif kontrol dokuları değerlendirildi. Pozitif kontrol dokusu olarak, MUM-1 antikoru için olağan tonsil dokusuna ait kesitler; DKK-1 primer akciğer adenokarsinomuna ait kesitler; Pan-RAS için kolorektal adenokarsinoma ait kesitler ve CCL-3 için endometrioid adenokarsinoma ait kesitler kullanıldı. MUM-1 ile tonsil dokusundaki açık zonda yerleşen B lenfositlerdeki nükleer boyanma pozitif eksternal kontrol boyanma olarak değerlendirildi. DKK-1, CCL-3 ve Pan-RAS için karsinoma ait sitoplazmik boyanmalar pozitif eksternal boyanma olarak değerlendirildi.

**Tablo 7.** Rutinde immünohistokimyasal incelemede kullanılan antikorlar ve özellikleri.

| Antikor                       | Marka                               | Klon          | Dilüsyon     | İnkübasyon süresi |
|-------------------------------|-------------------------------------|---------------|--------------|-------------------|
| <b>CD138<br/>(Syndecan-1)</b> | <b>Cellmark</b>                     | <b>MI15</b>   | <b>1:100</b> | <b>60 dk</b>      |
| <b>Kappa Hafif Zincir</b>     | <b>Thermo Scientific-Lab Vision</b> | <b>L1C1</b>   | <b>1:200</b> | <b>40 dk</b>      |
| <b>Lambda Hafif Zincir</b>    | <b>Genemed</b>                      | <b>HP6054</b> | <b>1:50</b>  | <b>40 dk</b>      |

**Tablo 8.** Çalışmamızda immünohistokimyasal incelemede kullanılan antikorlar ve özellikleri.

| Antikor                       | Marka                | Klon             | Dilüsyon                   | İnkübasyon süresi |
|-------------------------------|----------------------|------------------|----------------------------|-------------------|
| <b>Pan-RAS</b>                | <b>ThermoFischer</b> | <b>Ras10</b>     | <b>1:100</b>               | <b>60 dk</b>      |
| <b>CCL-3<br/>(MIP-1 alfa)</b> | <b>ThermoFischer</b> | <b>PA1-38160</b> | <b>1:50</b>                | <b>60 dk</b>      |
| <b>MUM-1</b>                  | <b>Dako</b>          | <b>D0-7</b>      | <b>Kullanıma hazır kit</b> | <b>32 dk</b>      |
| <b>DKK-1</b>                  | <b>ThermoFischer</b> | <b>MA1-23154</b> | <b>1:100</b>               | <b>32 dk</b>      |

### **3.6. İmmünohistokimyasal değerlendirme**

#### **3.6.1. Pan-RAS**

Çalışmamızda kemik iliğini infiltrate eden atipik plazma hücreli popülasyondaki MM hücrelerinin ve MGUS olgularındaki atipik plazma hücrelerinin Pan-RAS antikoruna ile sitoplazmik immünoekspresyonları ışık mikroskopuyla incelendi. Atipik plazma hücrelerinin boyanma yüzdeleri semikantitatif olarak değerlendirildi.

#### **3.6.2. Kemokin ligand 3 (CCL-3) veya Makrofaj İnflamatuar Protein (MIP-1α)**

Çalışmamızda kemik iliğini infiltrate eden atipik plazma hücreli popülasyondaki MM hücrelerinin ve MGUS olgularındaki atipik plazma hücrelerinin CCL-3 antikoruna ile sitoplazmik immünoekspresyonları ışık mikroskopuyla incelendi. Atipik plazma hücrelerinin boyanma yüzdeleri semikantitatif olarak değerlendirildi.

#### **3.6.3. The Dickkopf-1 (DKK-1)**

Çalışmamızda kemik iliğini infiltrate eden atipik plazma hücreli popülasyondaki MM hücrelerinin ve MGUS olgularındaki atipik plazma hücrelerinin DKK-1 antikoruna ile sitoplazmik immünoekspresyonları ışık mikroskopuyla incelendi. Atipik plazma hücrelerinin boyanma yüzdeleri semikantitatif olarak değerlendirildi.

#### **3.6.4. Multipl Myeloma Onkogeni 1 (MUM-1) veya İnterferon Regülatuar Faktör 4 (IRF-4)**

Çalışmamızda kemik iliğini infiltrate eden atipik plazma hücreli popülasyondaki MM hücrelerinin ve MGUS olgularındaki atipik plazma hücrelerinin MUM-1 antikoruna ile nükleer immünoekspresyonları ışık mikroskopuyla incelendi. Atipik plazma hücrelerinin boyanma yüzdeleri semikantitatif olarak değerlendirildi.

### 3.7. İstatistik

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, yüzde, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınıandı. Normal dağılım gösteren nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Student t testi, normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann-Whitney U test kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin üç grup ve üzeri karşılaştırmalarında Kruskal Wallis test ve ikili karşılaştırmalarında Bonferroni-Dunn test kullanıldı. Sağ kalımların değerlendirmesinde ise Kaplan Meier Sağkalım analizi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi ve Fisher's Exact test kullanıldı. Bağımlı değişken üzerine etkili risk faktörlerinin incelenmesinde Lojistik Regresyon analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Demografik ve Klinik Bulgular

#### 4.1.1. Multipl Miyelom olgularının demografik bulguları

Çalışmamıza dahil edilen 94 MM olgusunun, 45'i kadın (%47,8), 49'u erkek (%52,2) olup Erkek/Kadın oranı: 1.08 olarak bulundu. Olguların tanı anındaki yaşlarının ortalaması  $65,76 \pm 11,17$  (Minimum 46 ve maksimum 85) idi.

Olguların yaşlarını gruplandırırdığımızda, 50 olgunun (%53.2) 65 üzeri yaşta, 44 olgunun (%46.8) ise 65 altı yaşta olduğu görüldü (Tablo 9). Hastaların sağkalım bilgileri değerlendirildiğinde, 48 olgunun (%53.3) hayatta olduğu, 46 olgunun (%46.7) ise hayatta olmadığı görüldü.

**Tablo 9.** MM olgularında demografik bulgular.

| Demografik bulgular | Hasta Sayısı ve Yüzdesi |      |
|---------------------|-------------------------|------|
|                     | n=94                    | %    |
| Erkek               | 49                      | 52,2 |
| Kadın               | 45                      | 47,8 |
| >65 yaş             | 50                      | 53,2 |
| ≤65 yaş             | 44                      | 46,8 |

#### **4.1.2. Önemi Belirsiz Monoklonal Gamopati olgularının demografik bulguları**

Çalışmamıza dahil edilen 20 MGUS olgusunun, 13'ü kadın (%65), 7'si erkek (%35) olup Erkek/Kadın oranı: 0.53 olarak bulundu. Olguların tanı anındaki yaşlarının ortalaması  $64,1 \pm 13,33$  (Minimum 27 ve maksimum 84). Olguların yaşlarını gruplandırdığımızda, 11 olgunun (%55) 65 üzeri yaşta 9 olgunun (%45) ise 65 altı yaşta oldukları görüldü (Tablo 10).

**Tablo 10.** MGUS olgularına ait demografik bulgular.

| Demografik bulgular | Hasta Sayısı ve Yüzdesi |    |
|---------------------|-------------------------|----|
|                     | n=20                    | %  |
| Erkek               | 7                       | 35 |
| Kadın               | 13                      | 65 |
| >65 yaş             | 11                      | 55 |
| ≤65 yaş             | 9                       | 45 |

#### 4.1.3. MM ve MGUS olgularının demografik özelliklerinin karşılaştırılması

MM ve MGUS olgularının yaş ve cinsiyete göre dağılımları ve karşılaştırması Tablo 11'de görülmektedir.

**Tablo 11.** Tüm olguların yaş ve cinsiyete göre dağılımları.

|                  |                 | <b>Toplam<br/>(n=114)</b> | <b>MM (n=94)</b> | <b>MGUS<br/>(n=20)</b> | <b>p</b>                  |
|------------------|-----------------|---------------------------|------------------|------------------------|---------------------------|
| <b>Yaş (yıl)</b> | <i>Min-Mak</i>  | 27-92 (65)                | 40-92 (65)       | 27-84                  | <sup>a</sup> <b>0,562</b> |
|                  | <i>(Medyan)</i> |                           |                  | (65,5)                 |                           |
|                  | <i>Ort±Ss</i>   | 65,46±11,53               | 65,76±11,17      | 64,1±13,33             |                           |
| <b>Cinsiyet;</b> | <b>Kadın</b>    | 58 (50,9)                 | 45 (47,9)        | 13 (65,0)              | <sup>b</sup> <b>0,164</b> |
| <i>n (%)</i>     | <b>Erkek</b>    | 56 (49,1)                 | 49 (52,1)        | 7 (35,0)               |                           |

<sup>a</sup>Student t Test <sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

Yaş ve cinsiyet dağılımlarına göre MM ve MGUS olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

#### 4.1.4. Evreleme ve klinik risk skrolama verileri

Multipl Miyelom olgularına ISS skrolamaları incelendiğinde MM tanılı 94 hastadan 44'ünün evre I, 20'sinin evre II, 30'unun ise evre III hastalığa sahip olduğu izlendi.

R-ISS skrolama sistemine göre değerlendirildiğinde ise MM tanılı 94 hastada 17'sinin evre I, 56'sının evre II, 21'inin ise evre III hastalığa sahip olduğu izlendi. Skrolara göre dağılım Tablo 12 ve 13'te gösterilmektedir.

**Tablo 12.** MM olgularının tanı anındaki ISS evrelerine göre dağılımları.

| Tanı anında ISS evresi | Hasta Sayısı ve Yüzdesi |      |
|------------------------|-------------------------|------|
|                        | n=94                    | %    |
| Evre I                 | 44                      | 46.8 |
| Evre II                | 20                      | 21.2 |
| Evre III               | 30                      | 32   |

**Tablo 13.** MM olgularının tanı anındaki R-ISS evrelerine göre dağılımları.

| Tanı anında R-ISS evresi | Hasta Sayısı ve Yüzdesi |      |
|--------------------------|-------------------------|------|
|                          | n=94                    | %    |
| Evre I                   | 17                      | 18.0 |
| Evre II                  | 56                      | 59.5 |
| Evre III                 | 21                      | 22.5 |

MGUS olgularına ait Mayo Klinik Risk skrolama verileri Tablo 14'de görölmektedir.

**Tablo 14.** MGUS olgularının Mayo Klinik Risk Skrolaması dağılımları.

| Tanı anında Mayo Klinik<br>Risk Skrolaması | Hasta Sayısı ve Yüzdesi |    |
|--------------------------------------------|-------------------------|----|
|                                            | n=20                    | %  |
| Risk faktörü olmayan                       | 4                       | 20 |
| Düşük-orta                                 | 7                       | 35 |
| Yüksek-orta                                | 5                       | 25 |
| Yüksek                                     | 4                       | 20 |

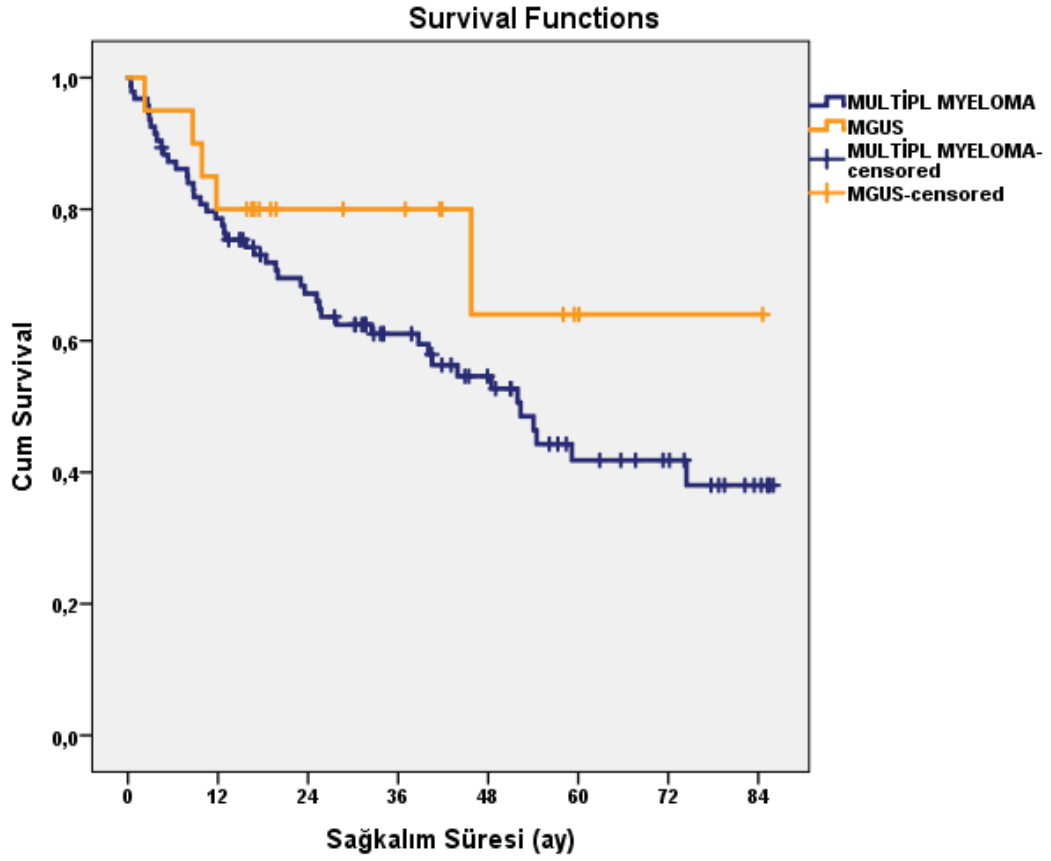
#### **4.1.5. MM ve MGUS olgularının genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım bulguları**

MM tanılı 94 olgudan; 48 olgunun hayatta olduğu (%51,1); 46 olgunun hayatta olmadığı; ortalama sağkalım süresinin  $49,86 \pm 3,71$  ay olduğu anlaşılmaktadır. MGUS tanılı 20 olgudan; 15 olgunun hayatta olduğu (%75,0); 5 olgunun hayatta olmadığı; ortalama sağkalım süresinin  $63,09 \pm 8,30$  ay olduğu görülmüştür. Gruplara göre sağkalım oranları Log Rank test ile değerlendirildiğinde sağ kalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p=0,197$ ;  $p>0,05$ ) (Tablo 15). Olgulara ait sağkalım analiz grafiği Şekil 8’de gösterilmektedir.

**Tablo 15. MM ve MGUS olgularında Sağkalım Değerlendirmesi.**

|             | n  | Exitus | Sağ | Sağkalm Oranı | Ortalama Sağkalım Süresi (ay) | 95% Confidence Interval<br>Lower-Upper |
|-------------|----|--------|-----|---------------|-------------------------------|----------------------------------------|
| <b>MM</b>   | 94 | 46     | 48  | %51,1         | $49,86 \pm 3,71$              | 42,585-57,134                          |
| <b>MGUS</b> | 20 | 5      | 15  | %75,0         | $63,09 \pm 8,30$              | 46,829-79,347                          |

*Kaplan-Meier Analizi*



**Şekil 8.** MM ve MGUS olgularında sağkalım analizi grafiği

Multipl Miyelom tanılı 94 olgudan; 42 olguda hastalık seyrinde progresyon geliştiği; ortalama progresyonsuz sağkalım süresinin  $44,33 \pm 3,67$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

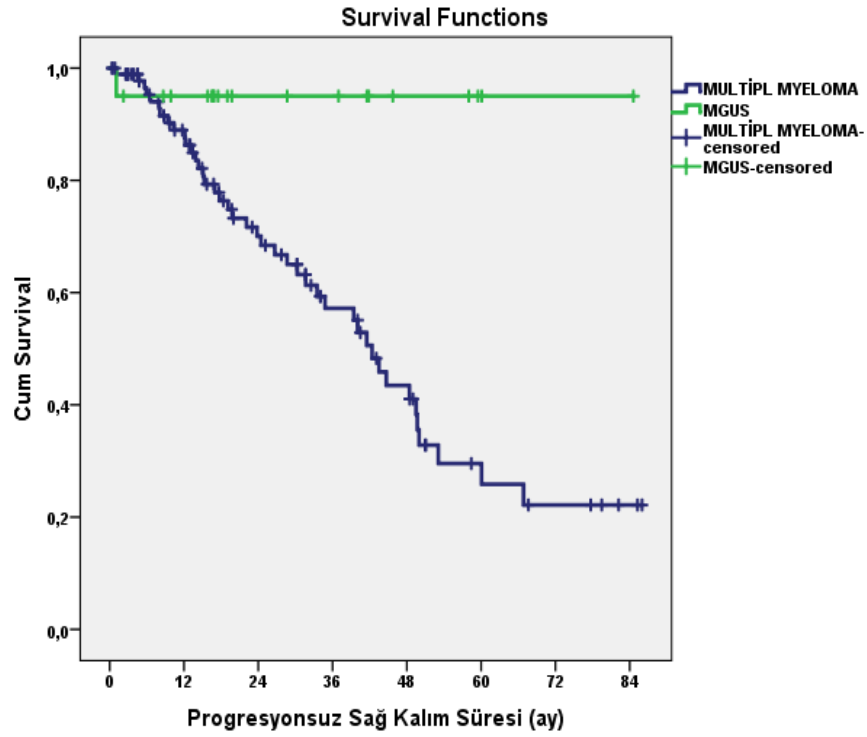
MGUS tanılı 20 olgudan; 19'unun (%95,0) progresyon göstermediği; 1 olguda hastalık seyri sınırında progresyon geliştiği (amiloidoz gelişimi) ortalama progresyonsuz sağkalım süresinin  $80,42 \pm 4,07$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

MM ve MGUS olgularında, progresyonsuz sağkalım oranları Log Rank test ile değerlendirildiğinde sağ kalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,004$ ;  $p<0,01$ ) (Tablo 16). MM olgularında progresyonsuz sağ kalım oranı, MGUS olgularından düşük bulunmuştur. Olgulara ait progresyonsuz sağkalım analiz grafiği Şekil 9'da gösterilmektedir.

**Tablo 16.** Multipl Miyelom ve MGUS olgularında Progresyonsuz Sağkalım Analizi.

|             | n  | Progresyon | Ortalama Progresyonsuz Sağkalım Süresi (Ay) | 95% Confidence Interval Lower-Upper |
|-------------|----|------------|---------------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>MM</b>   | 94 | 42 (%44.6) | 44,33±3,67                                  | 37,127-51,525                       |
| <b>MGUS</b> | 20 | 1 (%5)     | 80,42±4,07                                  | 72,444-88,402                       |

*Kaplan-Meier Analizi*



**Şekil 9.** MM ve MGUS olgularında progresyonsuz sağ kalım analizi grafiği

## 4.2. MGUS ve MM Olgularının İmmünohistokimyasal Bulgularının Dağılımları

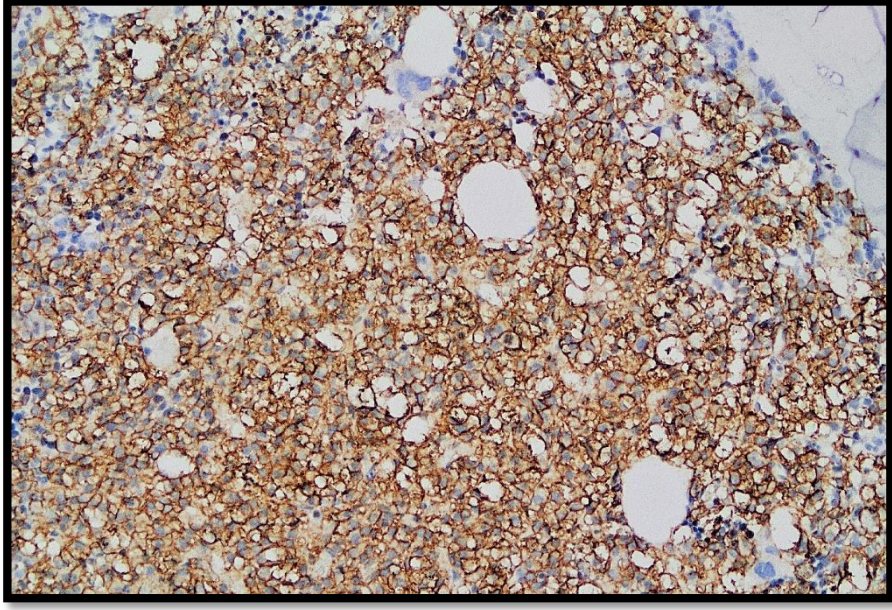
### 4.2.1. CD138 antikoru ile immunekspresyon

Kemik iliği biyopsilerinde plazma hücreli neoplazi değerlendirmesi rutin olarak uygulanan CD138 immünohistokimya belirteci ile MGUS ve MM olgularının boyanma dağılımları Tablo 17’de, Şekil 10 ve Şekil 11’de gösterilmektedir.

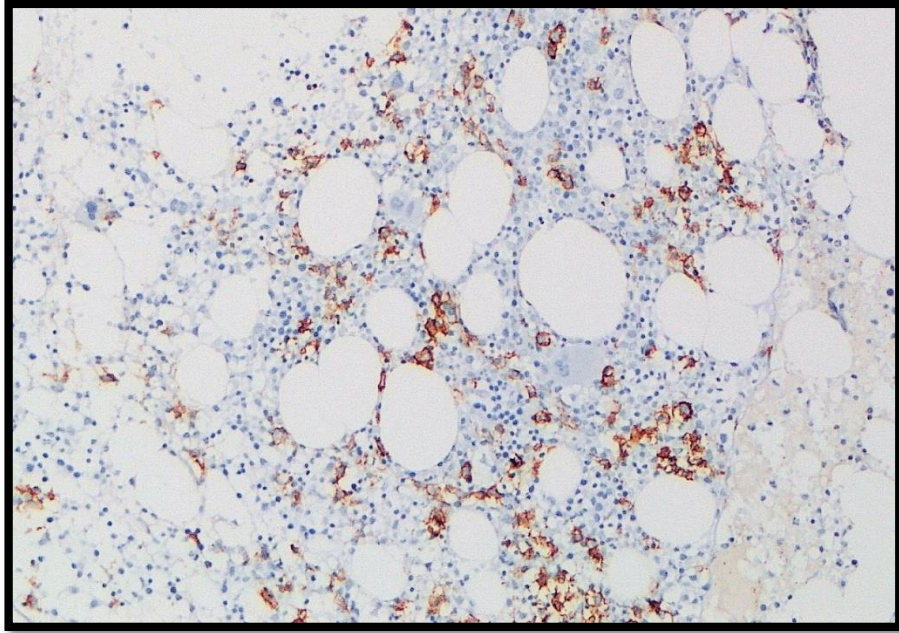
**Tablo 17.** CD138 İHK’sının boyanma oranlarının olgulara göre dağılımı.

|              |                 | <b>Toplam<br/>(n=114)</b> | <b>MM (n=94)</b> | <b>MGUS<br/>(n=20)</b> | <b>p</b>                   |
|--------------|-----------------|---------------------------|------------------|------------------------|----------------------------|
| <b>CD138</b> | <i>Min-Mak</i>  | 3-100 (60)                | 15-100           | 3-9 (6,8)              | <b><sup>c</sup>0,001**</b> |
| <b>(%)</b>   | <i>(Medyan)</i> |                           | (62,5)           |                        |                            |
|              | <i>Ort±Ss</i>   | 50,48±30,06               | 59,89±24,22      | 6,22±1,73              |                            |

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test



**Şekil 10.** MM'da atipik plazma hücreli infiltrasyonda CD138 ile %90 oranında immunekspresyon x200



**Şekil 11.** MGUS'ta atipik plazma hücreli infiltrasyonda CD138 ile %9 oranında immunekspresyon x200

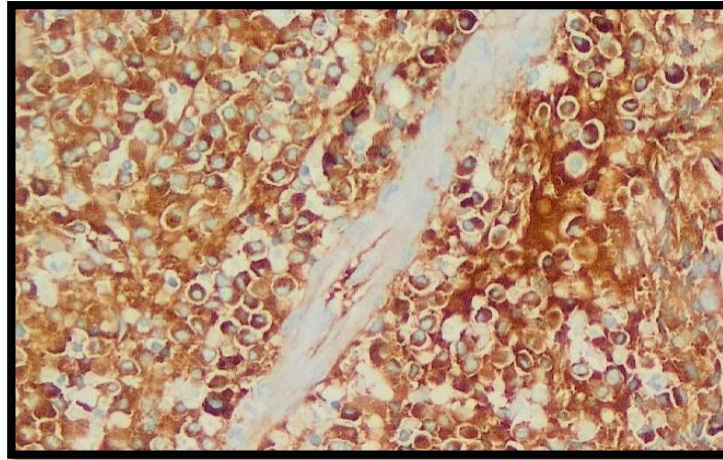
#### 4.2.2. Kappa ve lambda hafif zincir antikoru ile immunekspresyon

Kemik iliği biyopsilerinde plazma hücreli neoplazi değerlendirmesi için uygulanan kappa ve lambda hafif zincir immünohistokimya belirteci ile MGUS ve MM olgularında boyanma yüzdelerinin dağılımları Tablo 18’de ve Şekil 12’de gösterilmektedir.

**Tablo 18.** Kappa-Lambda İHK’sının boyanma oranlarının olgulara göre dağılımı.

|                                 |               | Toplam<br>(n=114) | MM<br>(n=94) | MGUS<br>(n=20) | <i>p</i>                 |
|---------------------------------|---------------|-------------------|--------------|----------------|--------------------------|
| <b>Monoklonalite;<br/>n (%)</b> | <b>Kappa</b>  | 59 (51,8)         | 52 (55,3)    | 7 (35,0)       | <b><sup>b</sup>0,099</b> |
|                                 | <b>Lambda</b> | 55 (48,2)         | 42 (44,7)    | 13 (65,0)      |                          |

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test



**Şekil 12.** MM’da atipik plazma hücreli infiltrasyonda  
Lambda hafif zincir antikoru ile %80 immunekspresyon x40

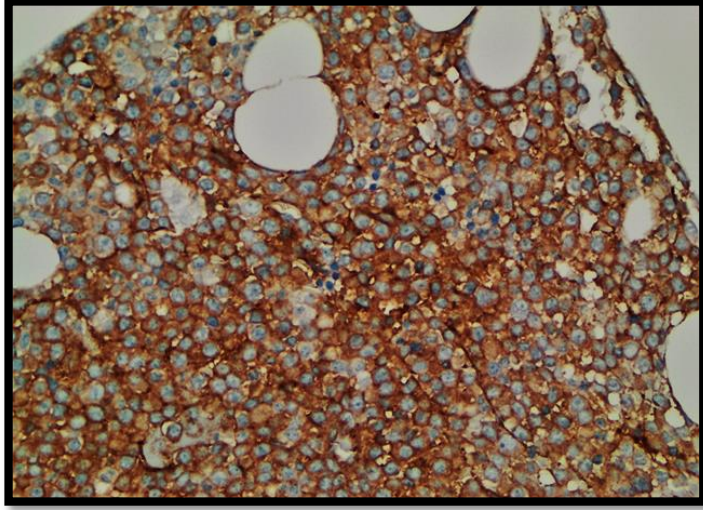
#### 4.2.3. Pan-RAS immünekspresyonu

Çalışmamızda kemik iliğini infiltre eden atipik plazma hücreli popülasyondaki MM hücrelerinin ve MGUS olgularındaki atipik plazma hücrelerinin sitoplazmik pan-RAS immünekspresyonları, boyanan plazma hücrelerinin yüzdeleri sayılarak değerlendirildi. MGUS ve MM olgularında boyanma yüzdelерinin dağılımları Tablo 19'da ve Şekil 13-14 ve 15'te gösterilmektedir.

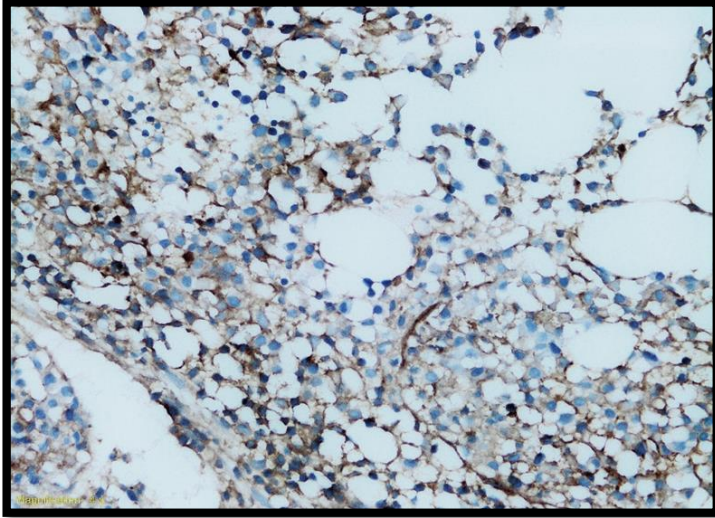
**Tablo 19.** Pan-RAS İHK'sının boyanma bulgularının olgulara göre dağılımı.

|             |                 | <b>Toplam</b><br><b>(n=114)</b> | <b>MM</b><br><b>(n=94)</b> | <b>MGUS</b><br><b>(n=20)</b> | <b>p</b>                    |
|-------------|-----------------|---------------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| <b>Pan-</b> | <i>Min-Mak</i>  | 0-100 (40)                      | 1-100 (40)                 | 0-60 (10)                    | <sup>c</sup> <b>0,005**</b> |
| <b>Ras</b>  | <i>(Medyan)</i> |                                 |                            |                              |                             |
| <b>(%)</b>  | <i>Ort±Ss</i>   | 36,54±29,20                     | 39,97±29,80                | 20,40±19,79                  |                             |

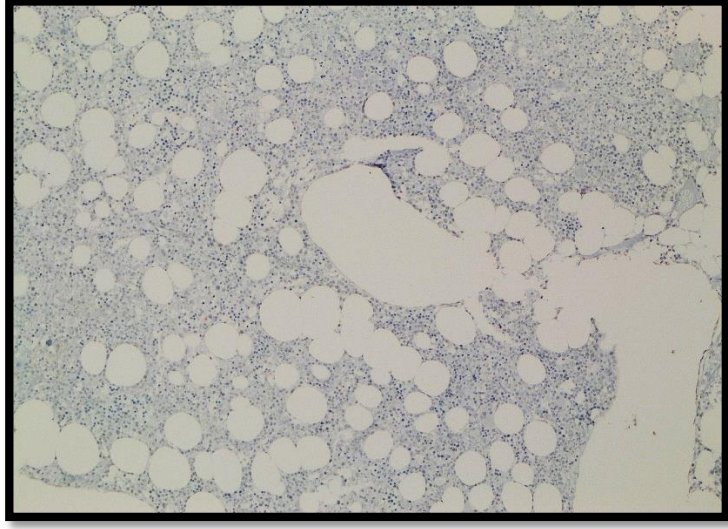
<sup>c</sup>Mann Whitney U Test



**Şekil 13.** MM'da atipik plazma hücreli infiltrasyonda Pan-RAS ile  
%90 oranında immunekspresyon x200



**Şekil 14.** MM'da atipik plazma hücreli infiltrasyonda Pan-RAS ile  
%30 oranında immunekspresyon x200



**Şekil 15.** MGUS'ta atipik plazma hücreli infiltrasyonda Pan-RAS ile  
%1 oranında immunekspresyon x40

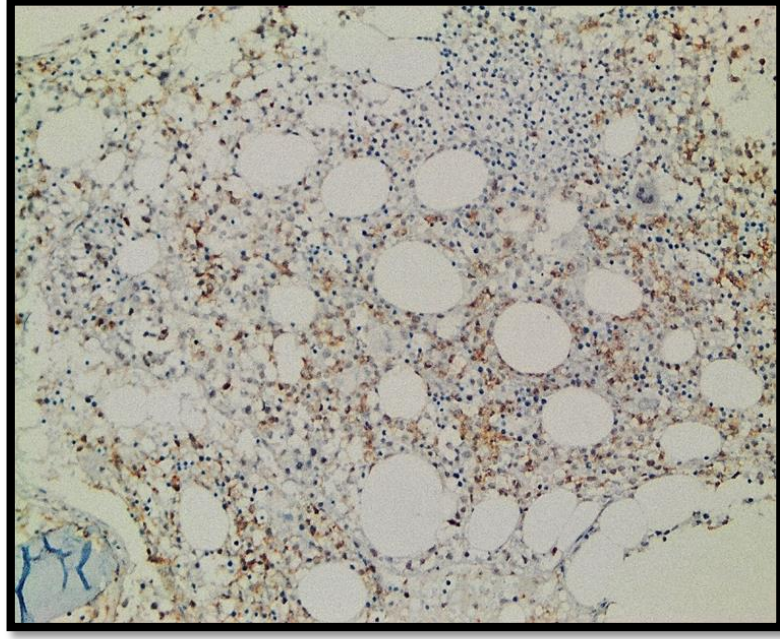
#### **4.2.4. Kemokin Ligand 3 (CCL-3) veya Makrofaj İnflamatuvar Protein (MIP-1α) immünekspresyonu**

Çalışmamızda kemik iliğini infiltre eden atipik plazma hücreli popülasyondaki MM hücrelerinin ve MGUS olgularındaki atipik plazma hücrelerinin sitoplazmik CCL-3 immünekspresyonları, boyanan plazma hücrelerinin yüzdeleri sayılarak değerlendirildi. MGUS ve MM olgularında boyanma yüzdelerinin dağılımları Tablo 20’de ve Şekil 16 ve 17’de gösterilmektedir.

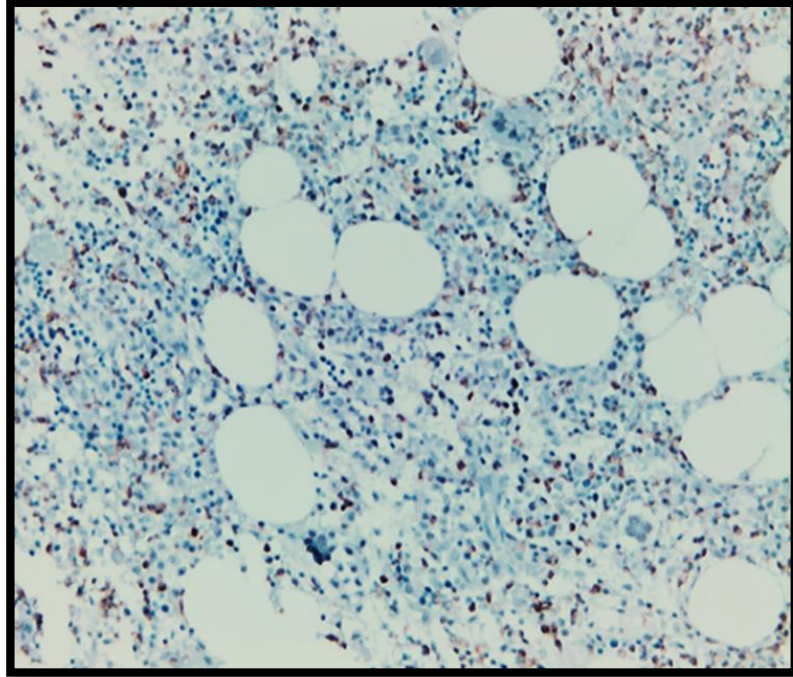
**Tablo 20.** CCL-3 İHK’sının boyanma bulgularının olgulara göre dağılımı.

|                  |                             | <b>Toplam<br/>(n=114)</b> | <b>MM<br/>(n=94)</b> | <b>MGUS<br/>(n=20)</b> | <b>p</b>                 |
|------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
| <b>CCL-3 (%)</b> | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 0-80 (10)                 | 1-80 (10)            | 0-80 (20)              | <b><sup>c</sup>0,413</b> |
|                  | <i>Ort±Ss</i>               | 19,46±19,00               | 18,68±18,21          | 23,15±22,52            |                          |

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test



**Şekil 16. MM'da atipik plazma hücreli infiltrasyonda CCL-3 ile  
%30 oranında immunekspresyon x40**



**Şekil 17. MGUS'ta atipik plazma hücreli infiltrasyonda CCL-3 ile  
%4 oranında immunekspresyon x40**

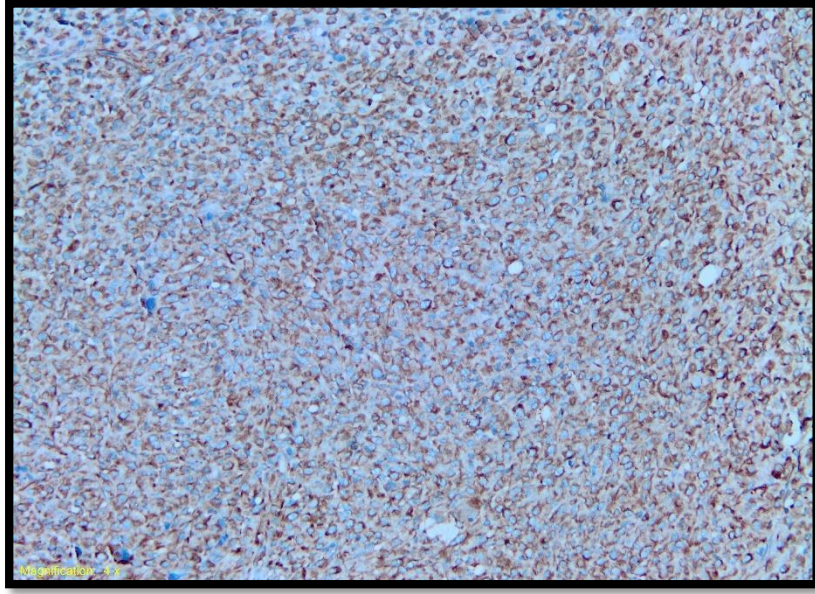
#### 4.2.5. The Dickkopf-1 Proteini (DKK-1) immünekspresyonu

Çalışmamızda kemik iliğini infiltre eden atipik plazma hücreli popülasyondaki MM hücrelerinin ve MGUS olgularındaki atipik plazma hücrelerinin sitoplazmik DKK-1 immünekspresyonları, boyanan plazma hücrelerinin yüzdeleri sayılarak değerlendirildi. MGUS ve MM olgularında boyanma yüzdelерinin dağılımları Tablo 21’de ve Şekil 18 ve 19’da gösterilmektedir.

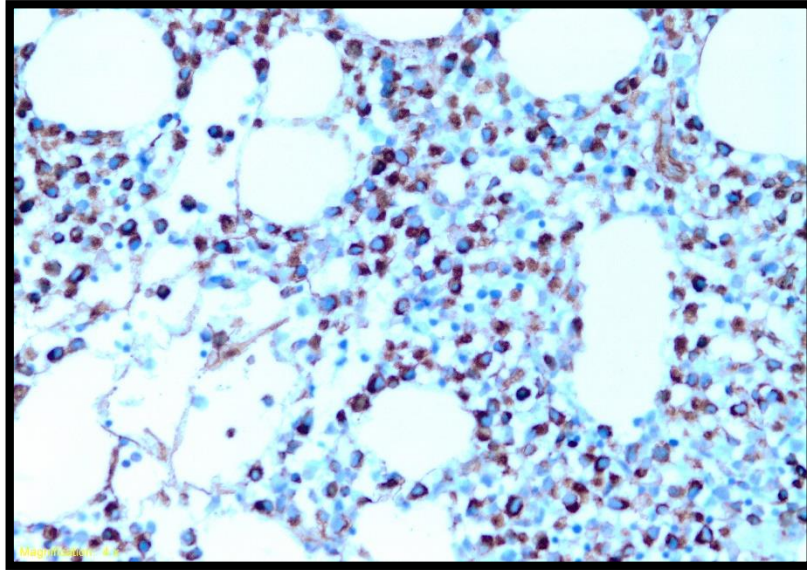
**Tablo 21.** DKK-1 İHK’sının boyanma bulgularının olgulara göre dağılımı.

|              |                 | <b>Toplam</b><br><b>(n=114)</b> | <b>MM</b><br><b>(n=94)</b> | <b>MGUS</b><br><b>(n=20)</b> | <b>p</b>                  |
|--------------|-----------------|---------------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------|
| <b>DKK-1</b> | <i>Min-Mak</i>  | 0-95 (9,5)                      | 0-95 (10)                  | 0-20 (1,5)                   | <sup>c</sup> <b>0,001</b> |
| <b>(%)</b>   | <i>(Medyan)</i> |                                 |                            |                              | <b>**</b>                 |
|              | <i>Ort±Ss</i>   | 15,26±18,36                     | 17,79±19,17                | 3,40±5,20                    |                           |

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test



**Şekil 18.** MM'da atipik plazma hücreli infiltrasyonda DKK-1 ile  
%95 oranında immunekspresyon x40



**Şekil 19.** MM'da atipik plazma hücreli infiltrasyonda DKK-1 ile  
%30 oranında immunekspresyon x40

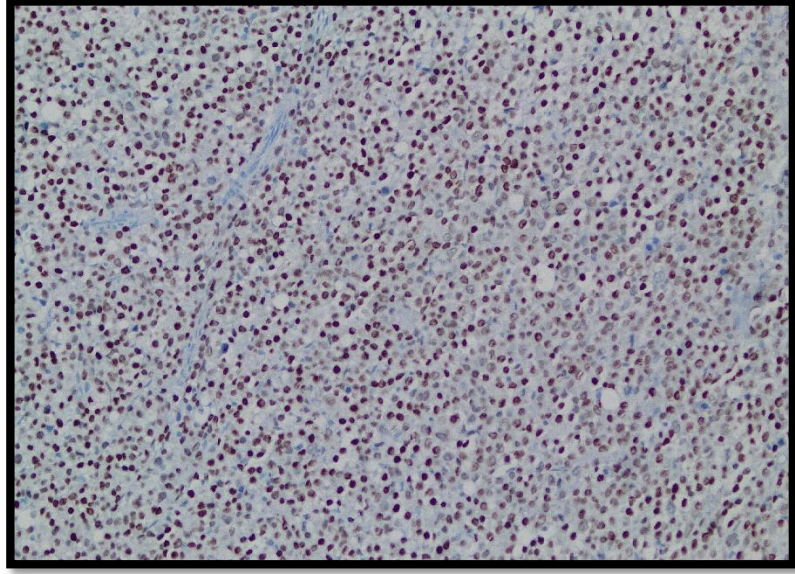
#### **4.2.6. Multipl Myeloma Onkogeni 1 (MUM-1) veya İnterferon Regülatuar Faktör 4 (IRF-4) immünekspresyonu**

Çalışmamızda kemik iliğini infiltre eden atipik plazma hücreli popülasyondaki MM hücrelerinin ve MGUS olgularındaki atipik plazma hücrelerinin nükleer MUM-1 immünekspresyonları, boyanan plazma hücrelerinin yüzdeleri sayılarak değerlendirildi. MGUS ve MM olgularında boyanma yüzdelerinin dağılımları Tablo 22’de ve Şekil 19 ve 20’de gösterilmektedir.

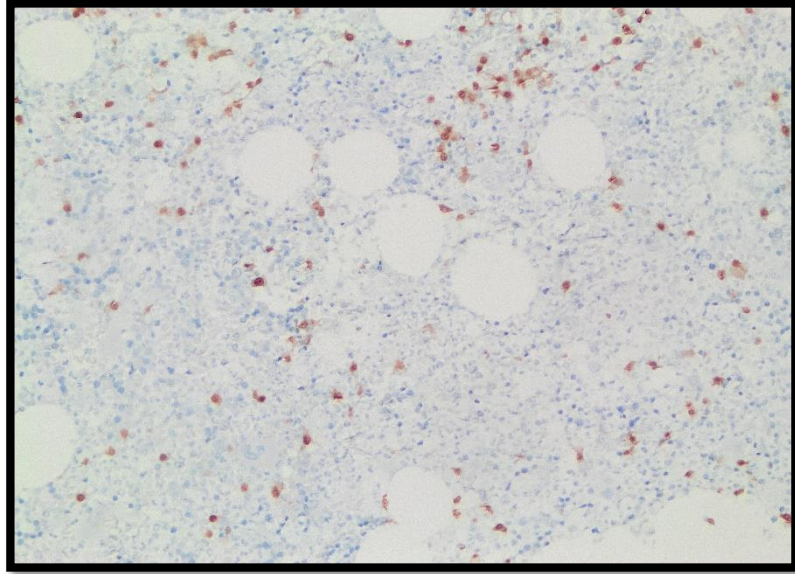
**Tablo 22.** MUM-1 İHK’sının boyanma bulgularının olgulara göre dağılımı.

|              |                 | <b>Toplam<br/>(n=114)</b> | <b>MM<br/>(n=94)</b> | <b>MGUS<br/>(n=20)</b> | <b>p</b>                   |
|--------------|-----------------|---------------------------|----------------------|------------------------|----------------------------|
| <b>MUM-1</b> | <i>Min-Mak</i>  | 0-90 (30)                 | 1-90 (40)            | 0-80 (2)               | <b><sup>c</sup>0,001**</b> |
| <b>(%)</b>   | <i>(Medyan)</i> |                           |                      |                        |                            |
|              | <i>Ort±Ss</i>   | 36,49±29,09               | 40,91±28,33          | 15,70±23,50            |                            |

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test



**Şekil 19.** MM'da atipik plazma hücreli infiltrasyonda  
MUM-1 ile %90 oranında immunekspresyon x40



**Şekil 20.** MGUS'ta atipik plazma hücreli infiltrasyonun  
MUM-1 ile %80 oranında immunekspresyon x40

#### 4.2.7. MM ve MGUS olgularının İHK ekspresyonlarının karşılaştırılması

Tüm olguların İHK bulgularının topluca karşılaştırıldığı Tablo 23’de gösterilmektedir.

**Tablo 23.** MM ve MGUS olgularının İHK bulgularının karşılaştırıldığı tablo.

|                                 |                 | Toplam<br>(n=114)                    | Multipl<br>Miyelom<br>(n=94) | MGUS<br>(n=20)                   | p                           |
|---------------------------------|-----------------|--------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| <b>Monoklonalite;<br/>n (%)</b> | <b>Kappa</b>    | 59 (51,8)                            | 52 (55,3)                    | 7 (35,0)                         | <sup>b</sup> <b>0,099</b>   |
|                                 | <b>Lambda</b>   | 55 (48,2)                            | 42 (44,7)                    | 13 (65,0)                        |                             |
| <b>CD138<br/>(%)</b>            | <i>Min-Mak</i>  | 3-100 (60)                           | 15-100                       | 3-9 (6,8)                        | <sup>c</sup> <b>0,001**</b> |
|                                 | <i>(Medyan)</i> |                                      | (62,5)                       |                                  |                             |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>   | 50,48±30,06                          | 59,89±24,22                  | 6,22±1,73                        |                             |
| <b>Pan-Ras (%)</b>              | <i>Min-Mak</i>  | 0-100 (40)                           | 1-100 (40)                   | 0-60 (10)                        | <sup>c</sup> <b>0,005**</b> |
|                                 | <i>(Medyan)</i> |                                      |                              |                                  |                             |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>   | 36,54±29,20                          | 39,97±29,80                  | 20,40±19,79                      |                             |
| <b>CCL-3 (%)</b>                | <i>Min-Mak</i>  | 0-80 (10)                            | 1-80 (10)                    | 0-80 (20)                        | <sup>c</sup> <b>0,413</b>   |
|                                 | <i>(Medyan)</i> |                                      |                              |                                  |                             |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>   | 19,46±19,00                          | 18,68±18,21                  | 23,15±22,52                      |                             |
| <b>DKK-1 (%)</b>                | <i>Min-Mak</i>  | 0-95 (9,5)                           | 0-95 (10)                    | 0-20 (1,5)                       | <sup>c</sup> <b>0,001**</b> |
|                                 | <i>(Medyan)</i> |                                      |                              |                                  |                             |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>   | 15,26±18,36                          | 17,79±19,17                  | 3,40±5,20                        |                             |
| <b>MUM-1 (%)</b>                | <i>Min-Mak</i>  | 0-90 (30)                            | 1-90 (40)                    | 0-80 (2)                         | <sup>c</sup> <b>0,001**</b> |
|                                 | <i>(Medyan)</i> |                                      |                              |                                  |                             |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>   | 36,49±29,09                          | 40,91±28,33                  | 15,70±23,50                      |                             |
|                                 |                 | <sup>b</sup> Pearson Chi-Square Test |                              | <sup>c</sup> Mann Whitney U Test |                             |

Multipl Miyelom ve MGUS olguları arasında, CD138 immünekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup (p=0,001; p<0,01); MM olgularında boyanma oranı, bekleneneği gibi MGUS olgularından yüksek bulunmuştur.

Multipl Miyelom ve MGUS olguları arasında, Pan-Ras boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup ( $p=0,005$ ;  $p<0,01$ ); MM olgularında boyanma oranı, MGUS olgularından yüksek bulunmuştur.

Multipl Miyelom ve MGUS olguları arasında, CCL-3 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Multipl Miyelom ve MGUS olguları arasında, DKK-1 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ); MM olgularında immünekspresyon oranı, MGUS olgularından yüksek bulunmuştur.

Multipl Miyelom ve MGUS olguları arasında, MUM-1 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ); MM olgularında immünekspresyon oranı, MGUS olgularından yüksek bulunmuştur.

#### 4.3. Multiple Miyelom Olgularında Klinik Parametrelerin Dağılımı

Multipl Miyelom tanısında ve prognoz tayininde kullanılan bazı klinik parametrelerin dağılımları Tablo 23'te gösterilmektedir. Bu kriterlerden **CRAB** olarak kısaltılan hiperkalsemi, renal yetmezlik, anemi, litik kemik lezyonları ve **SLiM** olarak kısaltılan plazma hücre oranının %60'ın üzerinde olması, serbest hafif zincir oranının 100'ün üzerinde olması ve litik kemik lezyonları parametrelerinin varlığı değerlendirilmiştir. Ayrıca olguların tanı anındaki ISS ve R-ISS evrelerine göre dağılımları ve bu evrelendirme sistemini oluşturan biyokimyasal parametrelerden albümin,  $\beta$ 2-mikroglobulin ve LDH düzeylerinin oranları Tablo 24'te gösterilmektedir.

**Tablo 24.** Multipl Miyelom olgularının klinik özelliklerinin dağılımları.

| Multipl Miyelom (n=94)     |                              | n (%)           |
|----------------------------|------------------------------|-----------------|
| Hiperkalsemi (mg/l)        | <i>Min-Mak (Medyan)</i>      | 7,1-18,6 (10,5) |
|                            | <i>Ort±Ss</i>                | 11,92±3,15      |
|                            | <b>Yok</b>                   | 55 (58,5)       |
|                            | <b>Var</b>                   | 39 (41,5)       |
| Hemoglobin (g/dl)          | <i>Min-Mak (Medyan)</i>      | 5,5-14,6 (8,7)  |
|                            | <i>Ort±Ss</i>                | 9,08±1,85       |
|                            | <b>Yok</b>                   | 6 (6,4)         |
|                            | <b>Var</b>                   | 88 (93,6)       |
| Renal yetmezlik            | <b>Yok</b>                   | 18 (19,1)       |
|                            | <b>Var</b>                   | 76 (80,9)       |
| Litik lezyon               | <b>Yok</b>                   | 18 (19,1)       |
|                            | <b>Var</b>                   | 76 (80,9)       |
| Sitogenetik anomali        | <b>Saptanamayan</b>          | 85 (90,4)       |
|                            | <b>Saptanan</b>              | 9 (9,6)         |
| •CRAB                      | <b>C-Hiperkalsemi</b>        | 39 (41,5)       |
|                            | <b>R-Renal yetmezlik</b>     | 73 (77,7)       |
|                            | <b>A-Anemi</b>               | 86 (91,5)       |
|                            | <b>B-Litik kemik lezyonu</b> | 76 (80,9)       |
| •SLiM                      | <b>S</b>                     | 56 (59,6)       |
|                            | <b>Li</b>                    | 27 (28,7)       |
|                            | <b>M</b>                     | 76 (80,9)       |
| ISS                        | <b>Evre I</b>                | 44 (46,8)       |
|                            | <b>Evre II</b>               | 20 (21,3)       |
|                            | <b>Evre III</b>              | 30 (31,9)       |
| R-ISS                      | <b>Evre I</b>                | 17 (18,1)       |
|                            | <b>Evre II</b>               | 56 (59,6)       |
|                            | <b>Evre III</b>              | 21 (22,3)       |
| Serbest hafif zincir oranı | <i>Min-Mak (Medyan)</i>      | 0-742 (12,2)    |
|                            | <i>Ort±Ss</i>                | 97,26±158,68    |
| Albümin (g/dl)             | <i>Min-Mak (Medyan)</i>      | 2-5,8 (4)       |
|                            | <i>Ort±Ss</i>                | 3,77±0,90       |
| β2-mikroglobulin (mg/l)    | <i>Min-Mak (Medyan)</i>      | 1,5-17,7 (3,4)  |
|                            | <i>Ort±Ss</i>                | 4,86±3,37       |
| LDH (U/L)                  | <i>Min-Mak (Medyan)</i>      | 102-777 (311)   |
|                            | <i>Ort±Ss</i>                | 318,76±137,97   |

•Birden çok seçim yapılmıştır.

#### 4.4. Tanısal Klinik Parametrelerden CRAB bulgularının İHK Bulguları ile İlişkisi

##### 4.4.1. Hiperkalseminin İHK bulguları ile ilişkisi

Hiperkalsemi bulgusu olarak kabul edilen, serum kalsiyum düzeyinin laboratuvar normal değer aralığının üst limitinin en az 1 mg/dl üzerinde olması veya toplam değer 11 mg/dl'den fazla olması bulgularının varlığı/yokluğuna göre İHK bulgularının karşılaştırılması Tablo 25'te gösterilmektedir.

**Tablo 25.** Hiperkalseminin İHK bulgularıyla ilişkisi.

| <i>Multipl Miyelom (n=94)</i> |                             | <b>Hiperkalsemi<br/>(-) (n=55)</b> | <b>Hiperkalsemi<br/>(+) (n=39)</b> | <b>p</b>                    |
|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>   | <b>Kappa</b>                | 31 (56,4)                          | 21 (53,8)                          | <sup>b</sup> <b>0,809</b>   |
|                               | <b>Lambda</b>               | 24 (43,6)                          | 18 (46,2)                          |                             |
| <b>CD138 (%)</b>              | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 15-90 (55)                         | 15-100 (75)                        | <sup>c</sup> <b>0,001**</b> |
|                               | <i>Ort±Ss</i>               | 52,45±23,25                        | 70,38±21,78                        |                             |
| <b>Pan-Ras (%)</b>            | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-100 (40)                         | 2-100 (40)                         | <sup>c</sup> <b>0,175</b>   |
|                               | <i>Ort±Ss</i>               | 36,56±29,02                        | 44,77±30,61                        |                             |
| <b>CCL-3 (%)</b>              | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-80 (10)                          | 1-80 (10)                          | <sup>c</sup> <b>0,576</b>   |
|                               | <i>Ort±Ss</i>               | 17,02±16,19                        | 21,03±20,72                        |                             |
| <b>DKK-1 (%)</b>              | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 0-60 (10)                          | 1-95 (10)                          | <sup>c</sup> <b>0,377</b>   |
|                               | <i>Ort±Ss</i>               | 16,38±18,26                        | 19,77±20,46                        |                             |
| <b>MUM-1 (%)</b>              | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-90 (30)                          | 1-90 (50)                          | <sup>c</sup> <b>0,021*</b>  |
|                               | <i>Ort±Ss</i>               | 35,31±27,25                        | 48,82±28,29                        |                             |

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

\*p<0,05

\*\*p<0,01

Hiperkalsemisi olan olguların CD138 ile boyanma oranları, hiperkalsemi olmayanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ).

Hiperkalsemi varlığına göre Pan-Ras, CCL-3 ve DKK-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

Hiperkalsemi olan olguların MUM-1 boyanma oranları, hiperkalsemi olmayanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,021$ ;  $p<0,05$ ).

#### 4.4.2. Renal yetmezliğin İHK bulguları ile ilişkisi

Renal yetmezlik bulgusu kriterleri olan kreatinin klirensinin 40 mg/dl'den az veya serum kreatinin seviyesinin 2mg/dl'den fazla olmasına göre İHK bulgularının karşılaştırılması Tablo 26'da gösterilmektedir.

**Tablo 26.** Renal Yetmezliğin İHK bulgularıyla ilişkisi.

| <i>Multipl Miyelom (n=94)</i>          |                             | Renal<br>yetmezlik (-)<br>(n=18) | Renal<br>yetmezlik (+)<br>(n=76) | <i>p</i>                  |
|----------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| <b>Monoklonalite;<br/><i>n</i> (%)</b> | <b>Kappa</b>                | 11 (61,1)                        | 41 (53,9)                        | <sup>b</sup> <b>0,583</b> |
|                                        | <b>Lambda</b>               | 7 (38,9)                         | 35 (46,1)                        |                           |
| <b>CD138 (%)</b>                       | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 15-80 (55)                       | 15-100 (70)                      | <sup>c</sup> <b>0,075</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>               | 51,67±20,22                      | 61,84±24,79                      |                           |
| <b>Pan-Ras (%)</b>                     | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-90 (40)                        | 1-100 (40)                       | <sup>c</sup> <b>0,548</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>               | 35,83±25,50                      | 40,95±30,81                      |                           |
| <b>CCL-3 (%)</b>                       | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-80 (15)                        | 1-80 (10)                        | <sup>c</sup> <b>0,800</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>               | 18,67±20,19                      | 18,68±17,86                      |                           |
| <b>DKK-1 (%)</b>                       | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-60 (10)                        | 0-95 (10)                        | <sup>c</sup> <b>0,678</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>               | 16,89±16,57                      | 18,00±19,83                      |                           |
| <b>MUM-1 (%)</b>                       | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-80 (47,5)                      | 1-90 (40)                        | <sup>c</sup> <b>0,572</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>               | 44,61±30,23                      | 40,04±28,01                      |                           |
| <sup>b</sup> Pearson Chi-Square Test   |                             | <sup>c</sup> Mann Whitney U Test |                                  |                           |

Renal yetmezlik varlığına göre CD138 boyanma oranlarının renal yetmezlik grubunda daha yüksek olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,075; p>0,05). Renal yetmezlik varlığına göre Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

#### 4.4.3. Aneminin İHK bulguları ile ilişkisi

Anemi bulgusu kriterleri olan hemoglobin düzeyinin normalin 2mg/dl altında veya 10mg/dl'nin altında olması varlığına göre İHK bulgularının karşılaştırılması Tablo 27'de gösterilmektedir.

**Tablo 27.** Aneminin İHK bulgularıyla ilişkisi.

| <b>Multipl Miyelom (n=94)</b>   |                             | <b>Anemi (-)<br/>(n=6)</b> | <b>Anemi (+)<br/>(n=88)</b> | <b>p</b>                  |
|---------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| <b>Monoklonalite;<br/>n (%)</b> | <b>Kappa</b>                | 2 (33,3)                   | 50 (56,8)                   | <sup>d</sup> <b>0,402</b> |
|                                 | <b>Lambda</b>               | 4 (66,7)                   | 38 (43,2)                   |                           |
| <b>CD138 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 20-80 (60)                 | 15-100 (67,5)               | <sup>c</sup> <b>0,602</b> |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>               | 55,00±25,10                | 60,23±24,27                 |                           |
| <b>Pan-Ras (%)</b>              | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-70 (40)                  | 1-100 (40)                  | <sup>c</sup> <b>0,691</b> |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>               | 36,00±28,11                | 40,24±30,05                 |                           |
| <b>CCL-3 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-35 (6)                   | 1-80 (10)                   | <sup>c</sup> <b>0,332</b> |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>               | 13,33±15,28                | 19,05±18,41                 |                           |
| <b>DKK-1 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 2-40 (3)                   | 0-95 (10)                   | <sup>c</sup> <b>0,269</b> |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>               | 11,67±15,55                | 18,20±19,39                 |                           |
| <b>MUM-1 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 4-80 (40)                  | 1-90 (40)                   | <sup>c</sup> <b>0,852</b> |
|                                 | <i>Ort±Ss</i>               | 38,17±30,66                | 41,10±28,35                 |                           |

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

<sup>d</sup>Fisher's Exact Test

Anemi varlığına göre CD138, Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyama oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

#### 4.4.4. Kemikte litik lezyonların İHK bulguları ile ilişkisi

Kemikte litik lezyon varlığı İHK bulgularının karşılaştırılması Tablo 28’de gösterilmektedir.

**Tablo 28.** Kemikte litik lezyonların İHK bulgularıyla ilişkisi.

| <i>Multipl Miyelom (n=94)</i> |                         | Litik lezyon (-)<br>(n=18) | Litik lezyon<br>(+) (n=76) | <i>p</i>                  |
|-------------------------------|-------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>   | <b>Kappa</b>            | 8 (42,1)                   | 44 (58,7)                  | <sup>b</sup> <b>0,195</b> |
|                               | <b>Lambda</b>           | 11 (57,9)                  | 31 (41,3)                  |                           |
| <b>CD138 (%)</b>              | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 20-90 (70)                 | 15-100 (60)                | <sup>c</sup> <b>0,913</b> |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 58,68±26,13                | 60,20±23,89                |                           |
| <b>Pan-Ras (%)</b>            | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-90 (40)                  | 1-100 (40)                 | <sup>c</sup> <b>0,857</b> |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 38,95±28,20                | 40,23±30,37                |                           |
| <b>CCL-3 (%)</b>              | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-60 (10)                  | 1-80 (10)                  | <sup>c</sup> <b>0,539</b> |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 20,42±18,34                | 18,24±18,28                |                           |
| <b>DKK-1 (%)</b>              | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 2-60 (10)                  | 0-95 (10)                  | <sup>c</sup> <b>0,287</b> |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 19,79±18,50                | 17,28±19,42                |                           |
| <b>MUM-1 (%)</b>              | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 2-80 (50)                  | 1-90 (40)                  | <sup>c</sup> <b>0,802</b> |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 41,79±25,46                | 40,69±29,17                |                           |

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

Litik lezyon varlığına göre CD138, Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

#### 4.5. Sitogenetik Anomali Varlığı İHK Bulguları ile İlişkisi

Sitogenetik anomali varlığına göre İHK bulgularının karşılaştırılması Tablo 29'da gösterilmektedir.

**Tablo 29.** Sitogenetik anomali varlığı ile İHK bulgularının karşılaştırılması.

| <i>Multipl Miyelom (n=94)</i> |                         | Sitogenetik      |                      | <i>p</i>                   |
|-------------------------------|-------------------------|------------------|----------------------|----------------------------|
|                               |                         | Normal<br>(n=85) | Anomali var<br>(n=9) |                            |
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>   | <b>Kappa</b>            | 48 (56,5)        | 4 (44,4)             | <sup>d</sup> <b>0,507</b>  |
|                               | <b>Lambda</b>           | 37 (43,5)        | 5 (55,6)             |                            |
| <b>CD138 (%)</b>              | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 15-100 (65)      | 30-95 (60)           | <sup>c</sup> <b>0,969</b>  |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 59,76±24,57      | 61,11±21,91          |                            |
| <b>Pan-Ras (%)</b>            | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-100 (40)       | 2-100 (40)           | <sup>c</sup> <b>0,861</b>  |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 39,71±29,47      | 42,44±34,62          |                            |
| <b>CCL-3 (%)</b>              | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-80 (10)        | 1-40 (10)            | <sup>c</sup> <b>0,346</b>  |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 19,27±18,64      | 13,11±12,95          |                            |
| <b>DKK-1 (%)</b>              | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-95 (10)        | 1-40 (4)             | <sup>c</sup> <b>0,039*</b> |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 18,81±19,52      | 8,11±12,51           |                            |
| <b>MUM-1 (%)</b>              | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-90 (40)        | 1-90 (40)            | <sup>c</sup> <b>0,877</b>  |
|                               | <i>Ort±Ss</i>           | 40,98±28,09      | 40,33±32,33          |                            |

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

<sup>d</sup>Fisher's Exact Test

\**p*<0,05

Sitogenetik anomali varlığına göre CD138, Pan-Ras, CCL-3 ve MUM-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (*p*>0,05). Sitogenetik anomali varlığına göre olguların DKK-1 boyama oranları, normal olanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır (*p*=0,039; *p*<0,05).

#### 4.6.Tanısal Klinik Parametrelerden SLiM Bulgularının İHK Bulguları ile İlişkisi

##### 4.6.1. SLiM bileşenlerinden "S" bulgusunun İHK bulguları ile ilişkisi

SLiM kriterlerinde; "S" bulgusu olarak kısaltılan kemik iliği biyopsisinde plazma hücre oranının %60'ın üzerinde olması durumunun varlığı İHK bulgularının karşılaştırılması Tablo 30'da gösterilmektedir.

**Tablo 30. "S" bulgusu varlığına göre İHK bulgularının karşılaştırılması**

| <i>Multipl Miyelom (n=94)</i>  |                            | <b>SLiM-S (-)</b><br>(n=38) | <b>SLiM-S (+)</b><br>(n=56) | <b>p</b>                    |
|--------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <b>Monoklonalite; n</b><br>(%) | <b>Kappa</b>               | 19 (50,0)                   | 33 (58,9)                   | <sup>b</sup> <b>0,393</b>   |
|                                | <b>Lambda</b>              | 19 (50,0)                   | 23 (41,1)                   |                             |
| <b>CD138 (%)</b>               | <i>Min-Mak</i><br>(Medyan) | 15-90 (32,5)                | 30-100 (75)                 | <sup>c</sup> <b>0,001**</b> |
|                                | <i>Ort±Ss</i>              | 36,58±16,81                 | 75,71±13,09                 |                             |
| <b>Pan-Ras (%)</b>             | <i>Min-Mak</i><br>(Medyan) | 1-100 (20)                  | 2-100 (40)                  | <sup>c</sup> <b>0,002**</b> |
|                                | <i>Ort±Ss</i>              | 29,00±27,69                 | 47,41±29,10                 |                             |
| <b>CCL-3 (%)</b>               | <i>Min-Mak</i><br>(Medyan) | 1-60 (10)                   | 1-80 (10)                   | <sup>c</sup> <b>0,305</b>   |
|                                | <i>Ort±Ss</i>              | 16,08±15,79                 | 20,45±19,63                 |                             |
| <b>DKK-1 (%)</b>               | <i>Min-Mak</i><br>(Medyan) | 1-60 (10)                   | 0-95 (10)                   | <sup>c</sup> <b>0,448</b>   |
|                                | <i>Ort±Ss</i>              | 14,05±15,03                 | 20,32±21,29                 |                             |
| <b>MUM-1 (%)</b>               | <i>Min-Mak</i><br>(Medyan) | 1-90 (20)                   | 1-90 (50)                   | <sup>c</sup> <b>0,003**</b> |
|                                | <i>Ort±Ss</i>              | 30,37±27,28                 | 48,07±26,98                 |                             |

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

<sup>\*\*</sup>p<0,01

SLiM-S olan olguların CD138 boyanma oranları, SLiM-S olmayanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,001; p<0,01).

SLİM-S olan olguların Pan-Ras boyanma oranları, SLİM-S olmayanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,002$ ;  $p<0,01$ ).

SLİM-S varlığına göre CCL-3 ve DKK-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

SLİM-S olan olguların MUM-1 boyanma oranları, SLİM-S olmayanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,003$ ;  $p<0,01$ ).

#### 4.6.2. SLiM bulgularından "Li" bulgusunun İHK bulguları ile ilişkisi

SLiM kriterlerinde; "Li" bulgusu olarak kısaltılan Serum/İdrar hafif zincir oranının 100'ün üzerinde olması durumunun varlığı ile İHK bulgularının karşılaştırılması Tablo 31.1. 'de gösterilmektedir.

**Tablo 31.1. "Li" bulgusu varlığı İHK bulgularının karşılaştırılması.**

| <b>Multipl Miyeloma (n=94)</b> |                             | <b>SLiM-Li (-)<br/>(n=67)</b> | <b>SLiM-Li (+)<br/>(n=27)</b> | <b>p</b>                    |
|--------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>    | <b>Kappa</b>                | 29 (43,3)                     | 23 (85,2)                     | <sup>b</sup> <b>0,001**</b> |
|                                | <b>Lambda</b>               | 38 (56,7)                     | 4 (14,8)                      |                             |
| <b>CD138 (%)</b>               | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 15-100 (60)                   | 30-95 (70)                    | <sup>c</sup> <b>0,004**</b> |
|                                | <i>Ort±Ss</i>               | 55,30±24,63                   | 71,30±19,19                   |                             |
| <b>Pan-Ras (%)</b>             | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-100 (40)                    | 2-100 (40)                    | <sup>c</sup> <b>0,168</b>   |
|                                | <i>Ort±Ss</i>               | 37,42±29,55                   | 46,30±30,03                   |                             |
| <b>CCL-3 (%)</b>               | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-60 (10)                     | 2-80 (20)                     | <sup>c</sup> <b>0,048*</b>  |
|                                | <i>Ort±Ss</i>               | 15,93±14,91                   | 25,52±23,53                   |                             |
| <b>DKK-1 (%)</b>               | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 0-95 (8)                      | 2-60 (20)                     | <sup>c</sup> <b>0,006**</b> |
|                                | <i>Ort±Ss</i>               | 14,84±18,55                   | 25,11±19,05                   |                             |
| <b>MUM-1 (%)</b>               | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 1-90 (40)                     | 1-90 (40)                     | <sup>c</sup> <b>0,804</b>   |
|                                | <i>Ort±Ss</i>               | 40,55±28,87                   | 41,81±27,47                   |                             |

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

\*p<0,05

\*\*p<0,01

SLiM-Li olan olguların CD138 boyanma oranları, SLiM-Li olmayanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,004$ ;  $p<0,01$ ).

SLiM-Li varlığına göre Pan-Ras boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

SLiM-Li olan olguların CCL-3 boyanma oranları, SLiM-Li olmayanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,048$ ;  $p<0,05$ ).

SLiM-Li olan olguların DKK-1 boyanma oranları, SLiM-Li olmayanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,006$ ;  $p<0,01$ ).

SLiM-Li varlığına göre MUM-1 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

#### **4.6.2.1. SLiM “Li” bulgusunun CD138 ile bağımlılığının CCL-3 ve DKK-1 ile immünekspresyonu ile ilişkisinin değerlendirilmesine dair bulgular**

CD138, CCL-3 ve DKK-1 boyanma oranlarının “Li” parametresi olan Serum/İdrar hafif zincir oranının 100’ün üzerinde olmasıyla istatistiksel olarak ilişkili olduğu görülmüştür. “Li” parametresi ile birden fazla parametrenin ilişkili çıkması üzerine Backward Stepwise Lojistik regresyon analizi ile değerlendirme yapılmıştır. “Li” parametresi üzerine etki eden risk faktörleri için iki basamak sonucunda oluşan model Tablo 31.2’de görülmektedir.

**Tablo 31.2. SLiM-Li Üzerine Etki Eden Risk Faktörlerinin Lojistik Regresyon Analizi.**

|                  | <i>p</i>       | ODDS  | %95 CI |       |
|------------------|----------------|-------|--------|-------|
|                  |                |       | Lower  | Upper |
| <b>CD138 (%)</b> | <b>0,007**</b> | 1,032 | 1,009  | 1,056 |
| <b>DKK-1 (%)</b> | <b>0,034*</b>  | 1,027 | 1,002  | 1,052 |

\* $p<0,05$

\*\* $p<0,01$

Analize alınan değişkenler Stepwise Lojistik regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Analizde ikinci basamak sonunda; SLiM-Li üzerine etkisi olan risk faktörlerinden CD138 ve DKK-1 boyama oranlarının anlamlı bir model oluşturduğu görölmektedir. Modelin açıklayıcılık katsayısı %76,6'dır. Modele göre; CD138 boyama oranlarındaki bir birimlik artış SLiM-Li olma riskini 1,032 katına (%95 CI: 1,009-1,056) çıkartmaktadır. DKK-1 boyama oranlarındaki bir birimlik artış SLiM-Li olma riskini 1,027 katına (%95 CI: 1,002-1,052) çıkartmaktadır.

CD138 ve DKK-1, SLiM-Li üzerine bağımsız risk faktörleridir.

#### 4.6.3. SLiM bileşenlerinden “M” bulgusunun İHK bulguları ile ilişkisi

SLiM kriterlerinde; “M” bulgusu olarak kısaltılan kemikte 5 mm’den büyük litik lezyon varlığı durumuna göre İHK bulgularının karşılaştırılması Tablo 32’de gösterilmektedir.

**Tablo 32.** “M” bulgusu varlığı İHK bulgularının karşılaştırılması.

| <b>Multipl Miyelom (n=94)</b> |                 | <b>SLiM-M (-)<br/>(n=18)</b> | <b>SLiM-M (+)<br/>(n=76)</b> | <b>p</b>                 |
|-------------------------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| <b>Monoklonalite; n</b>       | <b>Kappa</b>    | 7 (38,9)                     | 45 (59,2)                    | <b><sup>b</sup>0,119</b> |
|                               | <b>Lambda</b>   | 11 (61,1)                    | 31 (40,8)                    |                          |
| <b>CD138 (%)</b>              | <i>Min-Mak</i>  | 20-90 (60)                   | 15-100 (62,5)                | <b><sup>c</sup>0,229</b> |
|                               | <i>(Medyan)</i> |                              |                              |                          |
|                               | <i>Ort±Ss</i>   | 53,33±24,85                  | 61,45±23,97                  |                          |
| <b>Pan-Ras (%)</b>            | <i>Min-Mak</i>  | 1-90 (40)                    | 1-100 (40)                   | <b><sup>c</sup>0,858</b> |
|                               | <i>(Medyan)</i> |                              |                              |                          |
|                               | <i>Ort±Ss</i>   | 39,44±30,13                  | 40,09±29,93                  |                          |
| <b>CCL-3 (%)</b>              | <i>Min-Mak</i>  | 1-60 (20)                    | 1-80 (10)                    | <b><sup>c</sup>0,406</b> |
|                               | <i>(Medyan)</i> |                              |                              |                          |
|                               | <i>Ort±Ss</i>   | 20,72±17,70                  | 18,20±18,41                  |                          |
| <b>DKK-1 (%)</b>              | <i>Min-Mak</i>  | 2-60 (10)                    | 0-95 (10)                    | <b><sup>c</sup>0,179</b> |
|                               | <i>(Medyan)</i> |                              |                              |                          |
|                               | <i>Ort±Ss</i>   | 20,72±18,58                  | 17,09±19,36                  |                          |
| <b>MUM-1 (%)</b>              | <i>Min-Mak</i>  | 2-80 (40)                    | 1-90 (40)                    | <b><sup>c</sup>0,508</b> |
|                               | <i>(Medyan)</i> |                              |                              |                          |
|                               | <i>Ort±Ss</i>   | 36,22±24,52                  | 42,03±29,20                  |                          |

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

SLiM-M varlığına göre CD138, Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

#### 4.6.4. ISS ve R-ISS evrelerinin İHK bulguları ile ilişkisi

ISS evreleri (I-II-III) ve r-ISS (I-II-III) evrelerine göre İHK bulgularının karşılaştırılması Tablo 33.1 ve 33.2’de gösterilmektedir.

**Tablo 33.1.** ISS evrelerine göre İHK bulgularının karşılaştırılması.

| Multipl Miyelom (n=94)               |                     | ISS evresi                       |                   |                    | p                    |
|--------------------------------------|---------------------|----------------------------------|-------------------|--------------------|----------------------|
|                                      |                     | Evre I<br>(n=44)                 | Evre II<br>(n=20) | Evre III<br>(n=30) |                      |
| Monoklonalite;<br>n (%)              | Kappa               | 23 (52,3)                        | 11 (55,0)         | 18 (60,0)          | <sup>b</sup> 0,829   |
|                                      | Lambda              | 21 (47,7)                        | 9 (45,0)          | 12 (40,0)          |                      |
| CD138 (%)                            | Min-Mak<br>(Medyan) | 15-95 (52,5)                     | 30-95 (70)        | 15-100 (75)        | <sup>e</sup> 0,002** |
|                                      | Ort±Ss              | 50,80±23,03                      | 65,75±22,49       | 69,33±22,85        |                      |
| Pan-Ras (%)                          | Min-Mak<br>(Medyan) | 1-90 (40)                        | 1-100 (30)        | 5-100 (40)         | <sup>e</sup> 0,275   |
|                                      | Ort±Ss              | 36,80±27,17                      | 37,15±33,18       | 46,50±31,10        |                      |
| CCL-3 (%)                            | Min-Mak<br>(Medyan) | 1-60 (10)                        | 1-80 (10)         | 1-80 (10)          | <sup>e</sup> 0,732   |
|                                      | Ort±Ss              | 18,27±17,00                      | 16,15±17,58       | 20,97±20,55        |                      |
| DKK-1 (%)                            | Min-Mak<br>(Medyan) | 0-60 (8,5)                       | 1-95 (10)         | 1-60 (10)          | <sup>e</sup> 0,370   |
|                                      | Ort±Ss              | 14,98±16,81                      | 23,25±25,33       | 18,27±17,50        |                      |
| MUM-1 (%)                            | Min-Mak<br>(Medyan) | 1-80 (40)                        | 1-80 (35)         | 4-90 (40)          | <sup>e</sup> 0,260   |
|                                      | Ort±Ss              | 36,55±28,42                      | 41,20±27,58       | 47,13±28,45        |                      |
| <sup>b</sup> Pearson Chi-Square Test |                     | <sup>e</sup> Kruskal Wallis Test |                   |                    | <sup>**</sup> p<0,01 |

Olguların ISS evreleme sistemine göre evreleriyle, CD138 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,002$ ;  $p<0,01$ ). Anlamlı farklılığa neden olan grubu saptamak için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu; evre III olguların boyanma oranlarının, evre I olanlardan yüksek olduğu bulunmuştur ( $p=0,003$ ;  $p<0,01$ ).

Diğer ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).ISS evreleme sistemine göre olguların evreleriyle; Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

**Tablo 33.2.** R-ISS evrelerine göre İHK bulgularının karşılaştırılması.

| Multipl Miyelom (n=94)               |                     | R-ISS evresi                     |                   |                     | p                   |
|--------------------------------------|---------------------|----------------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|
|                                      |                     | Evre I<br>(n=17)                 | Evre II<br>(n=56) | Evre III<br>(n=21)  |                     |
| Monoklonalite;<br>n (%)              | Kappa               | 11 (64,7)                        | 26 (46,4)         | 15 (71,4)           | <sup>b</sup> 0,100  |
|                                      | Lambda              | 6 (35,3)                         | 30 (53,6)         | 6 (28,6)            |                     |
| CD138 (%)                            | Min-Mak<br>(Medyan) | 20-90 (50)                       | 15-95 (70)        | 15-100 (70)         | <sup>e</sup> 0,043* |
|                                      | Ort±Ss              | 49,41±19,19                      | 60,09±24,67       | 67,86±24,47         |                     |
| Pan-Ras (%)                          | Min-Mak<br>(Medyan) | 2-70 (30)                        | 1-100 (40)        | 5-100 (50)          | <sup>e</sup> 0,143  |
|                                      | Ort±Ss              | 32,41±22,89                      | 38,05±29,14       | 51,19±34,42         |                     |
| CCL-3 (%)                            | Min-Mak<br>(Medyan) | 1-60 (10)                        | 1-80 (20)         | 1-80 (10)           | <sup>e</sup> 0,095  |
|                                      | Ort±Ss              | 11,12±13,75                      | 19,98±17,57       | 21,33±21,94         |                     |
| DKK-1 (%)                            | Min-Mak<br>(Medyan) | 2-50 (10)                        | 0-95 (10)         | 1-60 (10)           | <sup>e</sup> 0,688  |
|                                      | Ort±Ss              | 17,24±16,79                      | 18,38±20,58       | 16,67±17,79         |                     |
| MUM-1 (%)                            | Min-Mak<br>(Medyan) | 1-80 (30)                        | 1-80 (40)         | 10-90 (40)          | <sup>e</sup> 0,089  |
|                                      | Ort±Ss              | 32,24±27,34                      | 39,61±27,94       | 51,43±28,33         |                     |
| <sup>b</sup> Pearson Chi-Square Test |                     | <sup>e</sup> Kruskal Wallis Test |                   | <sup>*</sup> p<0,05 |                     |

Olguların R-ISS evrelerine göre CD138 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,043; p<0,05). Anlamlı farklılığa neden olan grubu saptamak için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu; evre III olguların boyanma oranlarının, evre I ve II olgulardan yüksek olduğu saptanmıştır. (p=0,037; p<0,05). Diğer ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

R-ISS evrelerine göre Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemekle birlikte, PanRAS, CCL-3 ve MUM-1'in yüksek evrelerde daha yüksek ekspresyon oranları gösterdiği dikkati çekmiştir.

#### 4.7. MGUS Olgularına İlişkin Değerlendirmeler

##### 4.7.1. MGUS olgularının alt tip ve risk sınıflama sistemine göre dağılımları

Önemi belirsiz monoklonal gamopati (MGUS) olgularında, M spike'taki alt tiplere göre dağılımları ve hastalık risk belirleme sistemi olan Mayo Klinik Risk sınıflama sistemine göre olguların dağılımı Tablo 34'te gösterilmektedir.

**Tablo 34.** MGUS olgularının dağılımları.

| MGUS (n=20)                        |                     | n (%)     |
|------------------------------------|---------------------|-----------|
| Alt tip                            | Ig A kappa          | 5 (25,0)  |
|                                    | Ig A lambda         | 2 (10,0)  |
|                                    | Ig G kappa          | 2 (10,0)  |
|                                    | Ig G lambda         | 10 (50,0) |
|                                    | Lambda hafif zincir | 1 (5,0)   |
| Mayo Klinik risk sınıflama sistemi | Risk faktörü yok    | 4 (20,0)  |
|                                    | Düşük-Orta risk     | 7 (35,0)  |
|                                    | Orta-Yüksek risk    | 5 (25,0)  |
|                                    | Yüksek riskli       | 4 (20,0)  |

#### 4.7.2. MGUS olgularının Mayo Klinik risk skarlama sistemine göre dağılımlarının İHK bulgularıyla ilişkisi

Uygulanan İHK ile risk gruplarının ilişkisi Tablo 35.1’de “Risk yok/Düşük risk” grubu bir arada ve “Orta/Yüksek risk” grubu bir arada, Tablo 35.2’de ise “Risk yok/Düşük/Orta risk” grupları bir arada ve “Yüksek risk” grubu ayrı olacak şekilde değeriendirilmiştir.

**Tablo 35.1.** Mayo Klinik Risk Sınıflamasına göre (Risk yok/Düşük risk - Orta/Yüksek risk) olarak gruplandırılan olguların İHK bulguları.

| MGUS (n=20)                 |                         | Mayo sınıflaması                  |                           | p                         |
|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                             |                         | Risk yok-<br>Düşük risk<br>(n=11) | Orta-Yüksek<br>risk (n=9) |                           |
| <b>Monoklonalite; n (%)</b> | <b>Kappa</b>            | 3 (27,3)                          | 4 (44,4)                  | <sup>d</sup> <b>0,642</b> |
|                             | <b>Lambda</b>           | 8 (72,7)                          | 5 (55,6)                  |                           |
| <b>CD138 (%)</b>            | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 3-9 (6)                           | 5-9 (7)                   | <sup>c</sup> <b>0,336</b> |
|                             | <i>Ort±Ss</i>           | 5,85±1,95                         | 6,67±1,39                 |                           |
| <b>Pan-Ras (%)</b>          | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-40 (10)                         | 2-60 (30)                 | <sup>c</sup> <b>0,071</b> |
|                             | <i>Ort±Ss</i>           | 12,82±14,59                       | 29,67±22,10               |                           |
| <b>CCL-3 (%)</b>            | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 4-40 (10)                         | 0-80 (20)                 | <sup>c</sup> <b>0,062</b> |
|                             | <i>Ort±Ss</i>           | 13,91±10,63                       | 34,44±28,33               |                           |
| <b>DKK-1 (%)</b>            | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-10 (1)                          | 0-20 (2)                  | <sup>c</sup> <b>0,127</b> |
|                             | <i>Ort±Ss</i>           | 1,73±2,94                         | 5,44±6,69                 |                           |
| <b>MUM-1 (%)</b>            | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-30 (2)                          | 1-80 (10)                 | <sup>c</sup> <b>0,232</b> |
|                             | <i>Ort±Ss</i>           | 6,27±8,86                         | 27,22±30,70               |                           |

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

<sup>d</sup>Fisher’s Exact Test

**Tablo 35.2.** Mayo Klinik Risk sınıflamasına göre “Risk yok/Düşük/Orta risk – Yüksek risk” olarak gruplandırılan olguların İHK bulguları.

|                                  |                         | Mayo sınıflaması                 |                   |                            |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------|----------------------------|
|                                  |                         | Risk                             |                   | <i>p</i>                   |
| MGUS (n=20)                      |                         | yok/Düşük-Orta risk (n=16)       | Yüksek risk (n=4) |                            |
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>      | <b>Kappa</b>            | 6 (37,5)                         | 1 (25,0)          | <sup>d</sup> <b>1,000</b>  |
|                                  | <b>Lambda</b>           | 10 (62,5)                        | 3 (75,0)          |                            |
| <b>CD138 (%)</b>                 | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 3-9 (6,8)                        | 5-7,5 (6)         | <sup>c</sup> <b>0,886</b>  |
|                                  | <i>Ort±Ss</i>           | 6,24±1,85                        | 6,13±1,31         |                            |
| <b>Pan-Ras (%)</b>               | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-60 (10)                        | 2-60 (35)         | <sup>c</sup> <b>0,271</b>  |
|                                  | <i>Ort±Ss</i>           | 17,25±18,08                      | 33,00±24,14       |                            |
| <b>CCL-3 (%)</b>                 | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-70 (10)                        | 20-80 (45)        | <sup>c</sup> <b>0,018*</b> |
|                                  | <i>Ort±Ss</i>           | 17,06±17,12                      | 47,50±27,54       |                            |
| <b>DKK-1 (%)</b>                 | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-20 (1)                         | 0-10 (6)          | <sup>c</sup> <b>0,307</b>  |
|                                  | <i>Ort±Ss</i>           | 2,88±5,21                        | 5,50±5,26         |                            |
| <b>MUM-1 (%)</b>                 | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-60 (2)                         | 1-80 (45)         | <sup>c</sup> <b>0,093</b>  |
|                                  | <i>Ort±Ss</i>           | 8,94±15,59                       | 42,75±32,61       |                            |
| <sup>c</sup> Mann Whitney U Test |                         | <sup>d</sup> Fisher's Exact Test |                   | * <i>p</i> <0,05           |

Mayo Klinik Risk sınıflaması sistemine göre CD138 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (*p*>0,05).

Mayo Klinik Risk sınıflaması sistemine göre Pan-Ras boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken (*p*=0,071; *p*>0,05); orta-yüksek risk grubunda oranların yüksek olması dikkat çekicidir.

Mayo Klinik Risk sınıflaması sistemine göre CCL-3 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken ( $p=0,062$ ;  $p>0,05$ ); orta-yüksek risk grubunda oranların yüksek olması dikkat çekicidir.

Mayo Klinik Risk sınıflaması sistemine göre DKK-1 ve MUM-1 boyama oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ). Ancak orta-yüksek risk grubunda, risk yok-düşük risk grubuna göre artmış ekspresyon varlığı saptanmıştır.

Mayo Klinik Risk sınıflaması sistemine göre risk grupları arasında "Yüksek risk" olarak sınıflandırılan olguların CCL-3 boyanma oranları, "Risk yok/düşük risk/orta risk " grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ( $p=0,018$ ;  $p<0,05$ ). Diğer belirteçlerle istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır.

#### **4.8. MM ve MGUS Olgularında Hastalık Progresyon Durumlarının İHK Bulgularıyla İlişkileri**

Çalışmaya dahil edilen tüm olguların ve MM'la MGUS olgularının ayrı ayrı olarak hastalık progresyon durumu varlığının İHK bulguları ile ilişkisi Tablo 36'da gösterilmektedir.

**Tablo 36.** MM ve MGUS olgularında hastalık progresyon durumuna göre İHK bulguları.

|                              |                         | Progresyon (-) | Progresyon (+) | p                           |
|------------------------------|-------------------------|----------------|----------------|-----------------------------|
| <b>Tüm Olgular (n=114)</b>   |                         | n=71           | n=43           |                             |
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>  | <b>Kappa</b>            | 32 (54,2)      | 27 (45,8)      | <sup>b</sup> <b>0,066</b>   |
|                              | <b>Lambda</b>           | 39 (70,9)      | 16 (29,1)      |                             |
| <b>CD138 (%)</b>             | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 3-100 (40)     | 6,5-95 (70)    | <sup>c</sup> <b>0,001**</b> |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 43,42±31,17    | 62,13±24,27    |                             |
| <b>Pan-Ras (%)</b>           | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-100 (20)     | 0-100 (40)     | <sup>c</sup> <b>0,036*</b>  |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 32,35±28,98    | 43,44±28,57    |                             |
| <b>CCL-3 (%)</b>             | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-80 (10)      | 1-80 (10)      | <sup>c</sup> <b>0,392</b>   |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 18,17±18,16    | 21,60±20,36    |                             |
| <b>DKK-1 (%)</b>             | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-60 (9)       | 0-95 (10)      | <sup>c</sup> <b>0,883</b>   |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 15,01±17,76    | 15,67±19,53    |                             |
| <b>MUM-1 (%)</b>             | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-90 (30)      | 1-90 (50)      | <sup>c</sup> <b>0,010*</b>  |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 31,04±27,35    | 45,49±29,95    |                             |
| <b>Multipl Miyelom(n=94)</b> |                         | n=52           | n=42           |                             |
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>  | <b>Kappa</b>            | 25 (48,1)      | 27 (51,9)      | <sup>b</sup> <b>0,166</b>   |
|                              | <b>Lambda</b>           | 27 (64,3)      | 15 (35,7)      |                             |
| <b>CD138 (%)</b>             | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 15-100 (60)    | 15-95 (70)     | <sup>c</sup> <b>0,188</b>   |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 57,02±25,05    | 63,45±22,94    |                             |
| <b>Pan-Ras (%)</b>           | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-100 (30)     | 1-100 (40)     | <sup>c</sup> <b>0,128</b>   |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 36,33±30,91    | 44,48±28,09    |                             |
| <b>CCL-3 (%)</b>             | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-80 (10)      | 1-80 (10)      | <sup>c</sup> <b>0,332</b>   |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 16,67±16,16    | 21,17±20,40    |                             |
| <b>DKK-1 (%)</b>             | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-60 (10)      | 0-95 (10)      | <sup>c</sup> <b>0,116</b>   |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 19,19±18,88    | 16,05±19,61    |                             |
| <b>MUM-1 (%)</b>             | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-90 (30)      | 1-90 (50)      | <sup>c</sup> <b>0,144</b>   |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 36,92±26,33    | 45,86±30,22    |                             |
| <b>MGUS (n=20)</b>           |                         | n=19           | n=1            |                             |
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>  | <b>Kappa</b>            | 7 (100)        | 0 (0)          | -                           |
|                              | <b>Lambda</b>           | 12 (92,3)      | 1 (7,7)        |                             |
| <b>CD138 (%)</b>             | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 3-9 (7)        | 6,5-6,5 (6,5)  | -                           |
|                              | <i>Ort±Ss</i>           | 6,21±1,77      | 6,5±0          |                             |
| <b>Pan-Ras (%)</b>           | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 2-60 (10)      | 0-0 (0)        | -                           |

|                  |                             |             |            |   |
|------------------|-----------------------------|-------------|------------|---|
|                  | <i>Ort±Ss</i>               | 21,47±19,73 | 0±0        |   |
| <b>CCL-3 (%)</b> | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 0-80 (20)   | 40-40 (40) | - |
|                  | <i>Ort±Ss</i>               | 22,26±22,78 | 40±0       |   |
| <b>DKK-1 (%)</b> | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 0-20 (2)    | 0-0 (0)    | - |
|                  | <i>Ort±Ss</i>               | 3,58±5,27   | 0±0        |   |
| <b>MUM-1 (%)</b> | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)</i> | 0-80 (2)    | 30-30 (30) | - |
|                  | <i>Ort±Ss</i>               | 14,95±23,90 | 30±0       |   |

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

<sup>\*</sup>p<0,05

<sup>\*\*</sup>p<0,01

### **Tüm olgularda:**

Progresyon görülen olguların CD138 boyanma oranları, progresyon görülmeyenlerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,001; p<0,01).

Progresyon görülen olguların Pan-Ras boyanma oranları, progresyon görülmeyenlerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,036; p<0,05).

Progresyon görülen olguların CCL-3 ve DKK-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05). Bununla birlikte progresyon görülen olgularda CCL-3 ekspresyon oranı daha yüksektir. Progresyon görülen olguların MUM-1 boyanma oranları, progresyon görülmeyenlerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,010; p<0,05).

### **MM olgularında**

Progresyon durumu CD138, Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilememiştir. (p>0,05). Bununla birlikte, CD138, Pan-Ras, CCL-3 ve MUM-1 boyanma oranları progresyon gösteren grupta daha yüksektir.

### **MGUS olgularında**

Progresyon sadece 1 olguda olduğundan istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır

#### 4.9. MM ve MGUS Olgularında Mortaliteyle İHK Bulgularının Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen tüm olguların ve MM'la MGUS olgularının ayrı ayrı olarak hastalık progresyon durumu varlığının İHK bulguları ile ilişkisi Tablo 37'de gösterilmektedir.

**Tablo 37. MM ve MGUS olgularında mortalite ile İHK bulguları arasındaki ilişki.**

|                                        |                         | Mortalite   |             | p                         |
|----------------------------------------|-------------------------|-------------|-------------|---------------------------|
|                                        |                         | Hayatta     | Exitus      |                           |
| <b>Tüm Olgular (n=114)</b>             |                         | <b>n=63</b> | <b>n=51</b> |                           |
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>            | <b>Kappa</b>            | 32 (54,2)   | 27 (45,8)   | <sup>b</sup> <b>0,820</b> |
|                                        | <b>Lambda</b>           | 31 (56,4)   | 24 (43,6)   |                           |
| <b>CD138 (%)</b>                       | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 3-95 (50)   | 5-100 (70)  | <sup>c</sup> <b>0,061</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>           | 45,76±30,68 | 56,30±28,50 |                           |
| <b>Pan-Ras (%)</b>                     | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-100 (40)  | 0-100 (40)  | <sup>c</sup> <b>0,532</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>           | 34,70±27,61 | 38,80±31,19 |                           |
| <b>CCL-3 (%)</b>                       | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-80 (20)   | 1-60 (10)   | <sup>c</sup> <b>0,363</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>           | 22,35±22,32 | 15,90±13,24 |                           |
| <b>DKK-1 (%)</b>                       | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-95 (5)    | 0-60 (10)   | <sup>c</sup> <b>0,271</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>           | 15,62±20,38 | 14,82±15,71 |                           |
| <b>MUM-1 (%)</b>                       | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 0-90 (40)   | 0-90 (30)   | <sup>c</sup> <b>0,911</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>           | 36,63±28,89 | 36,31±29,63 |                           |
| <b>Multipl Miyelom olguları (n=94)</b> |                         | <b>n=48</b> | <b>n=46</b> |                           |
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>            | <b>Kappa</b>            | 27 (51,9)   | 25 (48,1)   | <sup>b</sup> <b>0,853</b> |
|                                        | <b>Lambda</b>           | 21 (50,0)   | 21 (50,0)   |                           |
| <b>CD138 (%)</b>                       | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 15-95 (60)  | 15-100 (70) | <sup>c</sup> <b>0,425</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>           | 58,13±24,18 | 61,74±24,39 |                           |
| <b>Pan-Ras (%)</b>                     | <i>Min-Mak (Medyan)</i> | 1-100 (40)  | 1-100 (40)  | <sup>c</sup> <b>0,876</b> |
|                                        | <i>Ort±Ss</i>           | 39,13±28,16 | 40,85±31,72 |                           |

|                                 |                                        |                          |                          |                           |
|---------------------------------|----------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| <b>CCL-3 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)<br/>Ort±Ss</i> | 1-80 (15)<br>21,46±21,69 | 1-60 (10)<br>15,78±13,32 | <sup>c</sup> <b>0,498</b> |
| <b>DKK-1 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)<br/>Ort±Ss</i> | 0-95 (10)<br>19,40±21,84 | 1-60 (10)<br>16,11±15,99 | <sup>c</sup> <b>0,867</b> |
| <b>MUM-1 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)<br/>Ort±Ss</i> | 1-90 (40)<br>42,44±27,45 | 1-90 (35)<br>39,33±29,44 | <sup>c</sup> <b>0,528</b> |
| <b>MGUS olguları<br/>(n=20)</b> |                                        | <b>n=15</b>              | <b>n=5</b>               |                           |
| <b>Monoklonalite; n (%)</b>     | <b>Kappa<br/>Lambda</b>                | 5 (71,4)<br>10 (76,9)    | 2 (28,6)<br>3 (23,1)     | <sup>d</sup> <b>1,000</b> |
| <b>CD138 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)<br/>Ort±Ss</i> | 3-9 (7)<br>6,19±1,96     | 5-7 (6,5)<br>6,30±0,84   | <sup>c</sup> <b>0,825</b> |
| <b>Pan-Ras (%)</b>              | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)<br/>Ort±Ss</i> | 2-60 (10)<br>20,53±20,77 | 0-40 (10)<br>20,00±18,71 | <sup>c</sup> <b>0,965</b> |
| <b>CCL-3 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)<br/>Ort±Ss</i> | 0-80 (20)<br>25,20±24,79 | 5-40 (10)<br>17,00±13,96 | <sup>c</sup> <b>0,656</b> |
| <b>DKK-1 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)<br/>Ort±Ss</i> | 0-20 (1)<br>3,53±5,66    | 0-10 (2)<br>3,00±4,00    | <sup>c</sup> <b>0,753</b> |
| <b>MUM-1 (%)</b>                | <i>Min-Mak<br/>(Medyan)<br/>Ort±Ss</i> | 0-80 (2)<br>18,07±26,08  | 0-30 (2)<br>8,60±12,60   | <sup>c</sup> <b>0,478</b> |

<sup>b</sup>Pearson Chi-Square Test

<sup>c</sup>Mann Whitney U Test

<sup>d</sup>Fisher's Exact Test

### Tüm olgularda:

Mortaliteyle, CD138 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken ( $p=0,061$ ;  $p>0,05$ ); hayatta olmayan olgularda boyanma oranının hayatta olmayanlardan yüksek olması dikkat çekicidir.

Mortaliteyle; Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

**MM olgularında;** mortaliteyle; Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

**MGUS olgularında;** mortaliteyle; Pan-Ras, CCL-3, DKK-1 ve MUM-1 boyanma oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ).

#### 4.10. Multipl Miyelom Olgularında ISS ve R-ISS Evrelerine Göre Progresyonsuz ve Genel Sağkalım Bulgularının Değerlendirilmesi

Multipl Miyelom olgularında tanı anındaki ISS ve r-ISS evrelerine göre progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım bulguları Tablo 38a ve 38b’de gösterilmektedir.

**Tablo 38.1.** Olguların ISS evrelerine göre progresyonsuz ve genel sağkalım analizleri.

|              | N  | Progresyon | Sağlıklı | Sağlıklı Oranı | Ortalama Progresyonsuz Sağkalım Süresi |
|--------------|----|------------|----------|----------------|----------------------------------------|
| ISS Evre I   | 44 | 22         | 22       | %50,0          | 42,29±5,10                             |
| ISS Evre II  | 20 | 5          | 15       | %75,0          | 66,45±6,96                             |
| ISS Evre III | 30 | 15         | 15       | %50,0          | 30,22±9,93                             |

*Kaplan-Meier Analizi*

|              | N  | Exitus | Hayatta | Hayatta Oranı | Ortalama Sağkalım Süresi |
|--------------|----|--------|---------|---------------|--------------------------|
| ISS Evre I   | 44 | 19     | 25      | %56,8         | 54,44±5,18               |
| ISS Evre II  | 20 | 10     | 10      | %50,0         | 49,60±8,40               |
| ISS Evre III | 30 | 17     | 13      | %43,3         | 40,86±6,27               |

*Kaplan-Meier Analizi*

ISS Evre I saptanan 44 olgudan; 22 olgunun sağlıklı olduğu (%50); 22 olguda progresyon geliştiği; ortalama progresyonsuz sağkalım süresinin 42,29±5,10 ay olduğu anlaşılmaktadır.

ISS Evre II saptanan 20 olgudan; 15 olgunun sağlıklı olduğu (%75); 5 olguda progresyon geliştiği; ortalama progresyonsuz sağkalım süresinin  $66,45 \pm 6,96$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

ISS Evre III saptanan 30 olgudan; 15 olgunun sağlıklı olduğu (%50); 15 olguda progresyon geliştiği; ortalama progresyonsuz sağkalım süresinin  $30,22 \pm 9,93$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

ISS evrelerine göre progresyonsuz sağkalım oranları Log Rank test ile değerlendirildiğinde sağ kalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,009$ ;  $p<0,01$ ). Evre II olgularda progresyonsuz sağ kalım oranı, evre I ve evre III olgulardan yüksek bulunmuştur.

ISS Evre I saptanan 44 olgudan; 25 olgunun sağ olduğu (%56,8); 19 olgunun ex olduğu; ortalama sağkalım süresinin  $54,44 \pm 5,18$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

ISS Evre II saptanan 20 olgudan; 10 olgunun sağ olduğu (%50); 10 olgunun ex olduğu; ortalama sağkalım süresinin  $49,60 \pm 8,40$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

ISS Evre III saptanan 30 olgudan; 13 olgunun sağ olduğu (%43,3); 17 olgunun ex olduğu; ortalama sağkalım süresinin  $40,86 \pm 6,27$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

ISS evrelerine göre sağkalım oranları Log Rank test ile değerlendirildiğinde sağ kalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p=0,341$ ;  $p>0,05$ ). Sağkalımın evre ilerledikçe azaldığı görülmekle birlikte, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

**Tablo 38.2.** R-ISS evrelerine göre progresyonsuz ve genel sağkalım Analizi.

|                 | n  | Progresyon | Sağlıklı | Sağlıklı Oranı | Ortalama Progresyonsuz Sağkalım Süresi |
|-----------------|----|------------|----------|----------------|----------------------------------------|
| <b>Evre I</b>   | 17 | 8          | 9        | %52,9          | 41,25±7,75                             |
| <b>Evre II</b>  | 56 | 25         | 31       | %55,4          | 47,47±4,61                             |
| <b>Evre III</b> | 21 | 9          | 12       | %57,1          | 30,17±5,33                             |

*Kaplan-Meier Analizi*

|                 | N  | Exitus | Sağ | Sağ Oranı | Ortalama Sağkalım Süresi |
|-----------------|----|--------|-----|-----------|--------------------------|
| <b>Evre I</b>   | 17 | 9      | 8   | %47,1     | 50,62±7,74               |
| <b>Evre II</b>  | 56 | 26     | 30  | %53,6     | 52,74±4,71               |
| <b>Evre III</b> | 21 | 11     | 10  | %47,6     | 43,19±8,30               |

*Kaplan-Meier Analizi*

R-ISS Evre I saptanan 17 olgudan; 9 olgunun sağlıklı olduğu (%52,9); 8 olguda progresyon geliştiği; ortalama progresyonsuz sağkalım süresinin 41,25±7,75 ay olduğu anlaşılmaktadır.

R-ISS Evre II saptanan 56 olgudan; 31 olgunun sağlıklı olduğu (%55,4); 25 olguda progresyon geliştiği; ortalama progresyonsuz sağkalım süresinin 47,47±4,61 ay olduğu anlaşılmaktadır.

R-ISS Evre III saptanan 21 olgudan; 12 olgunun sağlıklı olduğu (%57,1); 9 olguda progresyon geliştiği; ortalama progresyonsuz sağkalım süresinin 30,17±5,33 ay olduğu anlaşılmaktadır. R-ISS evresine göre progresyonsuz sağkalım oranları Log Rank test ile değerlendirildiğinde sağ kalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,223; p>0,05)

R-ISS Evre I saptanan 17 olgudan; 8 olgunun sağ olduğu (%47,1); 9 olgunun exitus olduğu; ortalama sağkalım süresinin  $50,62 \pm 7,74$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

R-ISS Evre II saptanan 56 olgudan; 30 olgunun sağ olduğu (%53,6); 26 olgunun exitus olduğu; ortalama sağkalım süresinin  $52,74 \pm 4,71$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

R-ISS Evre III saptanan 21 olgudan; 10 olgunun sağ olduğu (%47,6); 11 olgunun exitus olduğu; ortalama sağkalım süresinin  $43,19 \pm 8,30$  ay olduğu anlaşılmaktadır.

R-ISS evresine göre sağkalım oranları Log Rank test ile değerlendirildiğinde sağ kalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p=0,445$ ;  $p>0,05$ ).

## 5.TARTIŞMA

Multipl Miyelom (MM), tüm maligniteler içinde %1, hematolojik maligniteler içinde %10 oranında yer tutmaktadır. Görülme sıklığı açısından, Afrika ırkında daha sık görülmektedir. Tedaviye yönelik ilaç çalışmaları geliştirilmeye çalışılsa da kesin bir tedavi yönteminin bulunmaması nedeniyle, güncel tedavi protokolleri hastalık komplikasyonlarını azaltmakla sınırlı kalmaktadır [73, 74].

Çalışmamızda MM tanılı olgularda ortalama sağkalım  $49,86 \pm 3,71$  ay olup, olguların yaşam süreleri 42 ay ile 57 ay arasında değişmektedir. Bu bulgu ortalama sağkalım bildiren çalışmalar ile uyumludur [11, 55].

Önemi belirsiz monoklonal gamopati (MGUS), 50 yaş üzeri popülasyonun %3'ünden fazlasında bulunan ve her yıl için yaklaşık %1 oranında MM'a ilerleyen semptomatik olmayan plazma hücreli neoplazidir [75].

Çalışmamızda MGUS hastalığında ortalama sağkalım  $63,09 \pm 8,30$  ay olup olguların yaşam süreleri 46,8 ay ile 79,3 ay arasında değişmektedir. Çalışmaya dahil ettiğimiz olguları kısıtlı olarak sadece çalışma süresince izlememiz ve vaka sayımızın azlığı nedeniyle bu değerlerle genel çıkarımlarda bulunmak ve bunu diğer çalışmalarla karşılaştırmak anlamlı değildir; ancak 54 yıllık izlem süresinde ortalama sağkalımın 34.1 yıl olduğunu bildiren geniş serili ve uzun izlem süreli çalışmalar mevcuttur [52].

Çalışmamızda MM tanılı 94 olgunun yaş ortalaması 65'tir (40-92). Tıbbi literatürde hastalığın geç dönemde görüldüğü, görülme aralığının 66-70 yaş olduğu bildirilmektedir [76, 77].

Çalışmamızda MGUS tanılı 20 olgunun yaş ortalaması 65.5'tir (27-84). Tıbbi literatürde hastalığın görülme aralığının 39-80 yaş olduğu ortanca yaşının da 60-66 aralığı olduğu bildirilmektedir [74, 78].

Multipl Miyelom'un erkeklerde daha sık görüldüğü bildirilmektedir (Erkek/Kadın=1.1/1) [79]. Çalışmamızda da Erkek/Kadın oranı 1,08 olarak

saptanmıştır. Kyle ve ark.'nın çalışmasında, MGUS'un erkeklerde daha sık görüldüğü bildirilmektedir (Erkek/Kadın=1.5/1) [53]. Çalışmamızda da Erkek/kadın oranı 0,53 olarak saptanmıştır. Serimizde görülen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tıbbi literatürde MM olgularının tanı anlarındaki ISS ve r-ISS evrelerinin dağılımı konusunda farklı oranlar bildirilmektedir [80, 81]. Palumbo ve ark.'nın çalışmalarında, çalışmayı oluşturan popülasyonun %38 oranında ISS evre 1, %38 oranında ISS evre 2, %24 oranında ISS evre 3 oldukları bildirilmektedir [42]. Zepeda ve ark.'nın çalışmalarında ise, r-ISS evre 1 %30.3, r-ISS evre 2 %46.5, r-ISS evre 3 ise %23.2 oranında bildirilmektedir [81]. Çalışmamızda ISS evre 1 %46.8, evre 2 %21.3, evre 3 %31.9 oranda; r-ISS evre 1 %18.1, evre 2 %59.6, evre 3 %22.3 oranında değerlendirilmiştir. IMWG tarafından belirlenen ortalama sağkalım süreleri ISS evre II ve III için sırasıyla, 83 ve 43 ay olup, evre I için bu orana erişilemediği bildirilmektedir [42]. Çalışmamızda bu süreler sırasıyla 54, 49 ve 40 aydır.

MGUS olguları, Mayo Klinik MGUS Progresyon Sınıflaması kriterlerine göre sınıflandırıldıklarında 20 olgunun 4'ü (%20) "Risk faktörü yok", 7'si (%35) "Düşük-orta risk" grubunda, 5'i (%25) "Orta-yüksek risk" grubunda, 4'ü (%20) "Yüksek riskli" grubunda sınıflandırılmıştır. Rajkumar ve ark.'nın geniş serili izlem çalışmalarında da tanı anında olguların çoğunluğunun orta risk grubunda oldukları bildirilmiştir [47].

MM olguları, **CRAB** olarak kısaltılan hiperkalsemi, renal yetmezlik, anemi, litik kemik lezyonlarının varlığı gibi klinik kriterlere göre tanı almaktadırlar [38]. Çalışmamızdaki 94 olgunun 39'unda (%41,5) tanı anında hiperkalsemi vardır. Tıbbi literatürde CRAB kriterlerinden, tanı anında en az sıklıkla görülmesi beklenen kriter, hiperkalsemi olup %10-30 arasında görülmektedir [76, 82]. Çalışmamızdaki oranın tıbbi literatürdekinden yüksek saptanması olgularımızın tanı anında literatürdeki olgulara kıyasla daha çok ISS ve r-ISS evre III hasta içermesiyle ilişkilendirilebilir [83]. Çalışmamızdaki 94 olgunun, 76'sı (%80.9) tanı anında renal yetmezlik kriterleri olan "Kreatinin klirensinin 40 mg/dl'nin altında veya serum kreatininin 2mg/dl'nin

üzerinde olması” kriterlerini sağlamakta olup tıbbi literatürde bu oran %20-%50 oranında değişmektedir [84-86]. Çalışmamızdaki oran tıbbi literatüre göre daha yüksektir [85]. Bu durumu yine hasta grubumuzun daha yüksek oranda ileri evre olgu içermesiyle ilişkilendirebiliriz. Çalışmamızdaki 94 olgunun, 88’i (%93.6) tanı anında anemi kriterlerini sağlamakta olup tıbbi literatürdeki çalışmalarda bu oran %80’lere ulaşmaktadır [40, 87]. Bu durumu yine olgularımızın tıbbi literatürdeki olgulara kıyasla daha geç tanı almalarıyla (ISS ve r-ISS evre 3) ilişkilendirebiliriz. Çalışmamızdaki 94 olgunun, 76’sı (%80.6) tanı anında litik kemik lezyonu varlığını sağlamakta olup tıbbi literatürde bu oran %50-70 oranında değişmektedir [88, 89]. Çalışmamızdaki bu oran literatürde bildirilenlere yakın orandadır. Ancak hasta dosyaları incelenirken litik lezyona yönelik radyoloji taramalarının yarıya yakın bir kısmında osteoporoz odağı ile litik kemik lezyonu ayrımının net olarak yapılamadığı durumlarda olguların “Litik lezyon var” olarak kaydedildikleri dikkatimizi çekmiştir. Bu durum, çalışmamızda litik lezyon değerlendirmesinin sağlıklı yapılamadığı olguların olabileceğini düşündürmektedir.

MM olgularında **SLiM** olarak kısaltılan kriterlerin varlıkları incelendiğinde “S” harfi ile temsil edilen kemik iliği klonal plazma hücre oranının %60’ın üzerinde olması kriterini 94 olgunun 56’sı (%59,6) sağlamaktadır. Tıbbi literatürdeki yayınlarda plazma hücre oranları %10 ile %100 arasında değişmektedir [11, 90].

Çalışmamızdaki MM olgularının tanı anındaki albümin,  $\beta$ 2-mikroglobulin ve LDH değerleri ortalama olarak sırasıyla 4g/dl, 3.4mg/L, 311U/L ‘dir. Yapılan çalışmalarda bu düzeylerin hastalığın progresyonu ile ilişkilendirilebileceği ve evrelendirme sistemine dahil edilmesi sonucuna varılarak ISS/r-ISS evreleme sistemlerine dahil edilmişlerdir [40, 80].

MM’yle ilişkili sitogenetik anomaliler, FISH yöntemiyle değerlendirildiğinde, 9 olguda sitogenetik anomali saptanmıştır (*Tablo 29*). Bunlardan 5’inde (%55) monozomi 13, 1 olguda (%15) 8.kromozomda diploidi, 1 olguda (%15) trizomi 17, 1 olguda (%15) 17pdel 11, 1 olguda (%15) ise 13q14del tespit edilmiştir. Tıbbi literatür incelendiğinde,

çalışmamızda en yüksek oranda tespit edilen sitogenetik anomali olan monozomi 13'ün, literatürde de %35-%38.4 oranında tespit edildiği ve kötü prognozla ilişkilendirildiğini bildirilen çalışmalar mevcuttur [91-93]. Ülkemizde yapılan çalışmada ise çalışmamıza benzer şekilde 50 olgunun %15.62'sinde sitogenetik anomali saptanmış olup %54 oranında monozomi 13 saptanmıştır [94]. Bu çalışmadaki oranların çalışmamızdakilerle benzer oranda olması, MM olgularında FISH tekniği ile taranan standart sitogenetik anomalilerin benzer olmasının yanı sıra; MM'un ırksal/coğrafi faktörlerle değişkenlik gösterdiğini bildiren çalışmaları destekler niteliktedir [74, 95].

Miyelom hücreleri ve MGUS'taki atipik plazma hücreleri, Sindekan-1 ya da diğer ismiyle CD138 olarak da bilinen ekstraselüler matriksle iletişimi sağlayan integral membran proteinini ifade etmektedirler [33]. CD138, miyelom hücrelerinin adezyonunu sağlamakla birlikte, miyelom hücrelerinin birbirleriyle haberleşmesinden de sorumlu tutulmaktadır [96].

Multipl Miyelom ve prekürsörlerinde CD138 immünekspresyonun oranı, boyanma paterni ve hastalık prognozlarıyla ilişkisine dair çokça yayın mevcuttur [4, 90, 97]. Kim ve ark.'ının çalışmalarında, immünelektroforezle serum CD138 düzeyleri değerlendirilmiş ve düzeylerin hastalığın evresiyle prognostik olarak ilişkilendirilebileceğini bildirmişlerdir [98].

Çalışmamızda MM olgularında, CRAB parametrelerinden hiperkalsemi varlığıyla CD138 ile boyanma oranının ilişkili olduğu görülmüştür ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ) (Tablo 25). Seidel ve ark.'ının çalışmasında hiperkalsemi ve akım sitometrik incelemede serum CD138 düzeyleri ilişkilendirilememiştir [99].

Akım sitometrik inceleme ile kemik iliği biyopsilerinde CD138 değerlendirilmesinin karşılaştırıldığı çalışmada, akım sitometrik incelemede hücrelerin birbirlerine tutunmaya daha meyilli olmalarına bağlı olarak membran yüzeylerine CD138 ifadesinin azalabileceği bildirilmiştir. Bu sebeple CD138 ile plazma hücre oranının tayininde, histopatolojik değerlendirmenin daha faydalı olabileceği sonucuna varmışlardır [100]. MM'da hiperkalseminin sebebinin, yüksek tümör hücresi hacmine bağlı litik kemik lezyonu artışıyla ilişkili olabileceği öne sürülebilir. Ancak çalışmamızda CD138 ile boyanma oranı ile litik kemik lezyonları arasında istatistiksel olarak

anlamli sonuç bulunamamıştır (*Tablo 28*). Litik kemik lezyonu olmaksızın hiperkalsemi varlığını; CD138 ile boyanma oranının kemik iliği biyopsilerinde plazma hücre oranını temsil etmekte olması ve artmış CD138 immunekspresyonun, artmış tümör yükü (artmış atipik plazma hücre oranı) ve tümör yüküne bağlı sitokin aracılı hiperkalsemiyle ilişkilendirilebileceği düşüncesi ne sürebilir. Bu hipoteze dayanak olarak, tıbbi literatürde Shinoiri ve ark.'nın MM olgularında, Parathormon ilişkili peptid (PTHrP) seviyelerinin serumda arttığını, olguların kemik iliği biyopsilerinde ise miyelom hücrelerinde immünohistokimyasal olarak PTHrP sitoplazmik ekspresyonun anlamli şekilde arttığını kanıtladığı çalışması dayanak olarak gösterilebilir [101]. Kitazawa ve ark.'nın çalışmasında ise kemik iliği aspirasyon biyopsilerinde, miyelom hücrelerinde tespit edilen PTH proteininin immünohistokimyasal ve moleküler olarak normal plazma hücrelerinden anlamli derecede yüksek olduğunu bildirmiştir [102].

Çalışmamızda MM olgularında CD138 boyanma oranları ile; CRAB parametrelerinden, renal yetmezlik, anemi ve litik kemik lezyonlarıyla ilişkilendirildiğinde anlamli farklılık tespit edilememiştir. Dass ve ark.'nın çalışmalarında; CD138, CD56, anti-kappa ve anti-lambda antikrlerinden sadece CD56 düzeyinin CRAB semptomlarıyla anlamli ilişkili olduğu, CD138'in de içinde olduğu araştırılan diğer parametrelerle ilişkili olmadığı gösterilmiştir [103].

Çalışmamızda MM olgularında CD138 boyanma oranları ile; SLiM kriterlerinden "S" kriteri olarak bilinen, kemik iliği biyopsisinde plazma hücresinin %60'ın üzerinde olması kriteri ile korele olması; artmış atipik plazma hücresi, artmış CD138 işaretleyicisi korelasyonu beklendiğinden olağandır ( $p=0.001$   $p<0.01$ ) (*Tablo 30*). Bu kriterlerden, "Li" kriteri olarak kısaltılan serum hafif zincir oranının 100'n üzerinde olmasıyla CD138 ekspresyonu arasında anlamli ilişki çıkması tıbbi literatürdeki çalışmalarla uyumlu olmakla birlikte kesin nedeni aydınlatılamamış hususlardan biridir ( $p=0,004$ ;  $p<0,01$ ) (*Tablo 31a*). Bu konuyla ilgili olarak, serum CD138 seviyesi ve FLC oranının korelasyon gösterdiği ve FLC'de olduğu gibi CD138 düzeylerinin de hastalık takibinde ve prognostik belirteç olarak biyokimyasal

ve immünohistokimyasal yöntemlerle kullanılabileceğini ileri süren Seidel ve ark.'nın ve Lovell ve ark.'nın çalışmaları mevcuttur [99, 104]. Ancak daha önce de belirtildiği gibi serum düzeylerinden CD138 seviyesinin tayini uyumsuzluk gösterebileceğinden biyopsiden değerlendirmek görece daha nitelikli bir yöntem olacaktır. Bir diğer çalışmada ise Ramani ve ark.'ı tarafından MM tedavisinde kullanılan kemoteropatik ajanların miyelom hücre yüzeylerinden CD138 dökülmesini tetiklediğini ve bununla eş zamanlı, FLC artışının da gerçekleştiği bildirilmiştir [105].

Çalışmamızda MM olgularında CD138 boyanma oranlarının ISS ve r- ISS prognostik evreleriyle istatistiki olarak anlamlı farklılık göstermesi beklenen ve tıbbi literatürle uyumlu bir durumdur (*Tablo 33a ve 33b*) [17, 42]. Bu durum, neoplastik hücre oranının artışının tümör yükünü ve tümör agresifliğini artırmasıyla açıklanabilir. Kawano ve ark.'nın ve Foster ve ark.'nın çalışmalarında bildirdikleri gibi CD138 ekspresyonun flow sitometrik ve immünohistokimyasal olarak artışı kötü prognozla ilişkilidir [106, 107].

Çalışmamızda CD138 boyanma oranının MM olgularında mortalite ile ilişkili olduğu görülmüş ancak istatistiksel anlamlılık tespit edilememiştir (*Tablo 35*) . Ancak hastalığın multisistemik komplikasyonlara yol açtığı göz önünde bulundurulduğunda mortalitenin hastalık komplikasyonları ile ilişkili olup olmadığının tespit edilmesinin güç olması ve hastalıkla ilişkisiz ölümlerin de değerlendirmeye katıldığı göz önünde bulundurulduğunda bu durum anlaşılabilir. Mortalite değerlendirmesi çalışmamızdaki mortalite değerlendirmelerinin hepsinde bu anlamda sınırlılık sebebidir.

Çalışmamızda CD138 boyanma oranının, MM progresyonu ile ilişkisi gösterilememiştir (*Tablo 36*) . Bu da, tanı anında plazma oranının yüksek olduğu olguların tedaviye yanıtlarının daha iyi olabildiği ve progresyon gelişmeksizin takip edildikleri savını akıllara getirmektedir. Bu durumu açıklayacak bir diğer olasılık da daha önce de değinildiği gibi artmış CD138 ekspresyonun kötü prognozla ilişkili olduğu ve hastalık progrese olamadan hastalığa bağlı komplikasyonlardan exitus gerçekleşmesi olabilir. Çalışmamızın sınırlılığı, izlem aralığının kısıtlı olması ve progresyon tayini açısından optimal sürenin sağlanamamış olmasıdır.

MGUS olgularında CD138 ekspresyonuna bakıldığında, olguların ortalama %6.8 oranında CD138 ekspresyonu gösteren plazma hücresi içerdikleri saptanmıştır (*Tablo 17*). Bu durum, tıbbi literatürle uyumlu olarak (%10'dan az ortalama %3-7 aralığında değiştiği) değerlendirilmiştir [[41](#), [108](#)]. Mayo Klinik risk sınıflama sistemine göre sınıflandırılan olguların, CD138 boyanmaları arasındaki karşılaştırmaya bakıldığında ve grupların kendi aralarında sınıflandırılması varlığında da anlamlı farklılık tespit edilememiştir (*Tablo 33.1 ve 33.2*). Bunun gerekçesi plazma hücre oranının dağılım aralığının sınırlı (%3-9) olması ve olgu sayımızın azlığı olabilir. Ayrıca Mayo risk sınıflama sisteminde plazma hücresi oranının kullanılmaması da bu durumu açıklayabilir. CD138 boyanması ile mortalite ve hastalık progresyonu arasındaki analizlere bakıldığında, amiloidoza progrese tek olgunun varlığı nedeniyle istatistiki inceleme yapılamamış; mortaliteyle de anlamlı farklılık saptanmamıştır.

MM ve MGUS'un sitogenetik anomali analizinde ortak olan birçok mutasyon mevcuttur. Bunlardan biri de RAS genindeki mutasyonlar olup, RAS genindeki mutasyonlar MGUS'tan MM gelişiminde sorumlu mutasyonlar arasında en önemlilerindendir [[22](#), [50](#)]. RAS, birçok epitelyal malignitenin yanı sıra hematolojik malignitelerin de gelişiminden sorumlu tutulmaktadır [[109](#)]. Tıbbi literatürde, çok sayıda neoplazmla prognostik açıdan ilişkili olduğu bildirildiğinden ve anti-RAS tedavilerin güncel tedavide yerini almaya başlamasıyla birlikte; RAS'ın moleküler incelemesine yönelik çok sayıda çalışma mevcuttur. Zangari ve ark'ının yaptığı çalışmada Polo-like kinaz inhibitörü bir ilaç Pan-RAS inhibisyonu ile, ratlarda MM gelişim ve progresyonunu önlediği bildirilmiştir [[110](#)].

Tıbbi literatürde, Pan-RAS'ın immünohistokimyasal olarak değerlendirildiği çok az sayıda çalışma vardır. İmmünohistokimyasal inceleme, moleküler düzeyde incelemelerden daha kolay ve ucuz olmasına rağmen günlük pratikte yer bulamamıştır. Bunu Pan-Ras antikoruunun histopatolojik incelemede seçici davranmaması ve değerlendirmenin güç ve zaman alıcı olmasıyla açıklamak yanlış olmaz. [[109](#), [110](#)].

Çalışmamızda **Pan-Ras** immünekspresyonu açısından MM ve MGUS olguları arasında, MM olgularında MGUS olgularının daha fazla olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $p=0,005$ ;  $p<0,01$ ) (*Tablo 23*) ; Bu da Pan-RAS'ın hastalık progresyonunda prognostik önemini destekler niteliktedir. Tıbbi literatürde MGUS'tan MM progresyonunda RAS'la ilişkili yayınlar da bunu desteklemektedir [5, 111]. Bu bulgunun varlığı MGUS olgularının ve düşük evreli MM olgularının takiplerinde Pan-RAS immün belirtecinin kullanılacabileceğini ve buna yönelik ajanlarla tedavi geliştirilebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda bu bulguyu destekler nitelikte bir diğer bulgu da MGUS olgularının Mayo Klinik Risk Sınıflaması sistemine göre sınıflandırıldığı durumda, Pan-RAS ekspresyonunun orta ve yüksek risk grubunda, düşük risk ve risk olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek bulunmasıdır ( $p=0,071$ ;  $p<0,05$ ) ( $p=0.271$   $p<0.05$ ). (*Tablo 35.1 ve 35.2*)

Çalışmamızda, Pan-RAS immünekspresyonu MM ilişkili CRAB kriterlerinden hiçbirisiyle, SLiM kriterlerinden ise yalnızca "S" kriteriyle ilişkili bulunmuştur ( $p=0.002$   $p<0.01$ ) (*Tablo 30*). Chng ve ark.'nın çalışmasında, RAS mutasyonunun anemi ve litik kemik lezyonlarıyla istatistiksel anlamlı olduğu bildirilmektedir [50]. Çalışmamız bu konuda literatürle uyumlu değildir. Kalakonda ve ark.'nın çalışmasında, N-RAS'ın kötü prognozla ilişkisi gösterilmesine rağmen RAS'ın diğer alt tiplerine yönelik çalışmalar sınırlıdır. Prognostik açıdan, K-RAS, N-RAS, H-RAS'ta ekspresyon durumunun ayrı ayrı incelenmesi daha sağlıklı verilere erişimi sağlayacaktır [112].

Çalışmamızda MM ve MGUS olgularında RAS ilişkili yollar ve bunların patogenezi ve progresyondaki yeri araştırılırken Pan-RAS kullanılmıştır. Bu, tüm RAS ilişkili proteinleri kapsayan bir yöntem oluşturmak için yapılmıştır. Ancak, Pan-RAS antikoru kullanmamız dolayısıyla RAS alt tipleriyle birebir ilişkili olabilecek farklılıkları değerlendirememiş olmamız aynı zamanda bir kısıtlılık yaratmıştır. Bu durum RAS alt tiplerinin ayrı ayrı çalışıldığı bir çalışmayla aydınlatılabilir hale gelebilir.

Pan-RAS ekspresyonu ile ISS ve r-ISS evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (*Tablo 33.1 ve 33.2*). ISS evrelerinin (I-II-III) arasında da Pan-RAS ekspresyonu açısından anlamlılık (%40 - %30 - %40) gösterilememiştir. Ancak ISS evreleme sistemine sitogenetik anomali kriterinin de eklendiği R-ISS evreleme sistemine göre bakıldığında Pan-RAS ekspresyonları açısından istatistiksel anlamlı farklılık tespit edilememiş olmakla birlikte, R-ISS evrelerinin (I-II-III) arasında Pan-RAS ekspresyonları açısından sırasıyla; %30 - %40 - %50 olacak şekilde artmış ekspresyon varlığı mevcuttur (*Tablo 33.2*). İstatistiki olarak bu anlamlılığı doğrulayamama sebebimiz vaka sayımızın azlığından ileri gelebilir. MGUS ve MM olguları arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel anlamlı farklılığın varlığı ve evreleme sistemine sitogenetik anomalilerin de dahil edildiği R-ISS sisteminde evreler arası artmış ekspresyon farklılığı; MGUS-MM patogenezinde RAS mutasyonlarının bilinen moleküler patogeneze mekanizmasına uyumluluk göstermektedir. Bu sebeplerle, Pan-RAS immün belirtecinin, MGUS-MM progresyonunda ve MM hastalık progresyonunda kullanılabilir bir belirteç olabileceğini düşünmekteyiz.

Makrofaj inflamatuvar protein-1 alfa (MIP-1a/CCL3) makrofajlardan salınan kemotaktik görevi bulunan bir sitokindir. CCL-3, inflamatuvar yanıtta olan görevinin yanı sıra yara iyileşmesi, kök hücrelerin inhibisyonu gibi görevler de üstlenmektedir. CCL-3, MM hücreleriyle BMSC arasındaki adezyonu  $\beta_1$  integrin ekspresyonunu artırarak sağlamaktadır. Bu mekanizma üzerinden BMSC'lerce; RANKL, IL-6, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve tümör nekrozis faktörü (TNF) gibi MM hücrelerinin büyümesini, anjiogenezi uyaran faktörlerin sentezi de gerçekleşmektedir [113]. Patogenezinin sorumlu olduğu tüm bu mekanizmalar, CCL-3'ün neoplazinin patogenezinde, mikroçevreye tutunmak gibi erken evre aşamalarıyla ilişkili olabileceği hipotezine yöneltilmektedir. Nitekim çalışmamızda; MGUS olgularında MM olgularına göre daha yüksek oranda immünekspresyon tespit edilmesi, ISS ve r-ISS evrelerinde evre arttıkça immünekspresyon artışının olmaması ve Mayo Klinik risk skorlamasında yüksek risk grubunda diğer gruplara kıyasla daha

yüksek oranda immünekspresyon saptanması bu sava destek sağlamaktadır.

Neoplazinin erken evrelerinde patogeneizde etkili olabileceği savıyla birlikte; CCL-3'ün, miyelom hücrelerince sentez edilip osteoklastik hücre aktivasyonu ve osteoblastik hücre inhibisyonu yaparak litik kemik lezyonlarına neden olduğu bilinmektedir [61]. Politou ve ark.'nın çalışmalarında, litik kemik lezyonlarının oluşumunda CCL-3'ün etkisi, osteoblastik/osteoklastik aktivite dengesini değiştirerek öncelikle ve daha baskın olarak osteoblastik aktiviteyi azaltması şeklindedir [114]. Palma ve ark.'nın çalışmasında önceki çalışmalara benzer şekilde; MM, MGUS ve SMM olgularında; CCL-3 ve DKK-1'in serum belirteçlerinin litik kemik lezyonlarıyla uyumlu olarak yüksek çıktığı öne sürülmüştür [20, 60, 61, 115]. Tıbbi literatürde, neoplazinin litik kemik lezyonları olmadığı kabul edilen MGUS aşamasında serumda artmış CCL-3 düzeyini tespit eden Ng ve ark.'nın çalışmaları mevcuttur [116]. Bunun sebebini ileri düzey radyolojik incelemeye doğruladıkları, MGUS'larda litik fazda olmaksızın ultrastrüktürel düzeydeki kemik lezyonlarının varlığı ile açıklamaktadırlar [116]. Tüm bu veriler dahilinde, CCL-3'ün neoplazinin farklı aşamalarında farklı görevlerinin olduğunu düşünmekle birlikte, MM ilişkili kemik lezyonlarının osteoblastik aşama baskın dönemde tayini hastalığın progresyonu gelişmeden tanı konabilmesi için CCL-3 immünekspresyonunun kullanılabileceğini ve buna yönelik tedavi rejimlerinin geliştirilebileceğini akıllara getirmektedir.

Çalışmamızda CCL-3 immünekspresyonunun MM ilişkili CRAB ve SLiM kriterlerinden "Li" kriteri dışında hiçbirisiyle anlamlı ilişki saptanmamıştır ( $p=0.048$ ;  $p<0.05$ ) (Tablo 31.1) . CCL-3'ün "Li" kriteriyle olan ilişkisini, CCL-3'ün aslında bir inflamatuvar sitokin olması, monoklonaliteyi net olarak açıklamamakla birlikte serum immunoglobulin serbest zincir oranında değişikliğe neden olabileceği öngörülebilir bir sonuçtur. Bu konuyla ilgili olarak tıbbi literatürde CCL-3'ün immunoglobulin sentezini artırdığına dair çalışmalar mevcuttur [117, 118]. Serum serbest zincir (FLC) oranı ile istatistiksel olarak anlamlılık gösteren üç belirteçimiz CD138, CCL-3 ve DKK-1'dir. Bu artışa sebep olan faktörün artmış atipik plazma oranı/artmış tümör

yüküne karşılık gelen CD138 ile ilişkisini anlamak adına uygulanan iki aşamalı Lojistik regresyon analizinde, CCI-3'ün "Li" kriteri üzerine CD138 üzerinden bağımlı ilişkisinin olduğu saptanmıştır. Bu da CCI-3'ün neoplastik hücrelerce salgılanan bir sitokin olduğu ve neoplastik hücre artışının, monoklonal hafif zincir artışına sebep olduğu hipotezimizi destekler niteliktedir. MGUS ve MM etiyolojisinde kronik antijen maruziyetinin sorumlu tutulması yine bu hipotezi destekler niteliktedir [47, 48].

Çalışmamızda, CCI-3 ekspresyonun, MGUS ve MM olgularında sağkalımla anlamlı ilişkisi bulunamamıştır ( $p=0.363$ ;  $p>0.05$ ) (Tablo 37). Botta ve ark.'ının çalışmasına göre serum ve kemik iliği aspirasyonunda CCI-3 seviyesi düşük olan olguların daha uzun sağkalım süresi gösterdikleri bildirilmiştir [119]. Uzun serilerde ve kemik iliği biyopsilerinde immünohistokimyasal olarak yapılan çalışmalarla daha sağlıklı verilere erişilebilir.

Çalışmamızda; MGUS olgularında progresyon değerlendirilememiştir. MM olgularında ise progrese olanlar ve olmayanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $p=0.032$ ;  $p>0.05$ ) (Tablo 36). Tıbbi literatürde, kötü prognozla ilişkisi bilinmesine karşın progresif hastalık ve MGUS/MM progresyonuna yönelik çalışma mevcut değildir [60] [119].

Dickkopf-1 (DKK-1) , MM'da kemik lezyonlarıyla ilişkilendirilen miyelom hücreleri tarafından eksprese edilen bir sitokindir. Literatürdeki çalışmalarda, DKK-1'in MM'da ileri evre hastalık ve kemik lezyonlarıyla ilişkilendirilmesi ayrıca MM'da kemik komplikasyonlarına yönelik kesin tedavilerin olmaması bu konuya yönelik multidisipliner çalışmaların oldukça popüler olmasına neden olmuştur [20, 61, 120, 121].

Çalışmamızda, DKK-1 ekspresyonu açısından, MGUS ve MM olguları aralarında anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ) (Tablo 23). Palma ve ark.'ı; SMM olgularının kemik iliği aspirasyonlarında DKK-1 seviyelerinin, progrese olan SMM olgularında yüksek olduğunu, DKK-1'in hastalık progresyon tayininde kullanılabilir bir marker olabileceğini bildirmiştir [70]. DKK-1 immün belirteci, MGUS'tan MM gelişme sürecinde hastalık progresyon tayini açısından kullanılabilir bir belirteç olabilir.

Çalışmamızda **DKK-1** ekspresyonu ile MM ilişkili hastalık kriterlerinden CRAB ve SLiM arasında “Li” parametresi ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,006$ ;  $p<0,01$ ) (*Tablo 31.1*) . Bu artışa sebep olan faktörün artmış atipik plazma oranına karşılık gelen CD138 ile ilişkisini anlamak adına uygulanan iki aşamalı Lojistik regresyon analizinde, DKK-1’in “Li” kriteri üzerine CD138 üzerinden bağımsız ilişkisinin olduğu saptanmıştır. (%95 CI: 1,002-1,052) (*Tablo 31.2*). Roodman ve ark.’nın çalışmalarında, MM’li ratlarda DKK-1 antagonisti kullanıldığında serum hafif zincir düzeylerinin azaldığı görülmüştür [122]. Tıbbi literatürde bu konuyu açıklayabilecek kaynak olmamakla birlikte, DKK-1’in tümör yükünden bağımsız olarak sitokinler aracılığıyla monoklonal zincir artışına sebep olması hücrese düzeyde WNT-1 yolağını antagonize etmesiyle ilişkili olabilir.

Çalışmamızda; ISS, r-ISS evreleri açısından DKK-1 ekspresyonunda anlamlı farklılık saptanmamıştır (ISS için;  $p=0.370$ ;  $p<0.01$ ) (r-ISS için;  $p=0.688$ ;  $p<0.05$ ) (*Tablo 33.1 ve 33.2*). Sitogenetik anomali varlığı ile DKK-1 arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $p=0,039$ ;  $p<0,05$ ) (*Tablo 29*) . Tıbbi literatürde bu konuyla ilgili olarak ilk olarak Robbinai ve ark.’nın çalışmasında hiperdiploidi ile artmış DKK-1 ekspresyonu ilişkilendirilmiştir [123].

Çalışmamızda sitogenetik anomali olan olgularda DKK-1 ekspresyonu azalmış olup literatürle uyumlu değildir. Robbinai ve ark.’nın çalışması incelendiğinde, sitogenetik anomalinin alt tipine göre istatistiksel anlamlılık farklılık gösterdiğinden bu konuda geniş serilerde çalışmalar yapılması gereklidir.

Çalışmamızda, DKK-1 ekspresyonun hastaların sağkalımları ve MM’da hastalık progresyonu ile ilişkili olduğuna dair bulgu yoktur ( $p=0,867$ ;  $p>0.05$ ) (*Tablo 36*).

Çalışmamızda MGUS olgularının DKK-1 ekspresyonlarının, Mayo Klinik Risk Sınıflaması sistemine göre ilişkisinin değerlendirilmesine bakıldığında; yüksek risk grubu ve diğer risk grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yüksek risk grubunda daha yüksek ekspresyon görülmesi, olguların takibinde kullanılabilir bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir (*Tablo 35.1 ve Tablo 35.2*). Ng ve ark.’nın

çalışmalarında MGUS olgularında, CCL-3'de belirtildiği gibi, DKK-1 ve CCL-3 serum düzeylerinin ultrastrüktürel düzeyde kemik lezyonlarıyla ilişkilendirildiği bildirilmektedir [116]. Ancak tıbbi literatürde MGUS-SMM-MM progresyonunda DKK-1 düzeylerinin karşılaştırıldığı bir yayın henüz mevcut değildir.

Çalışmamızda **MUM-1** ile immünekspresyon, MM olgularında MGUS olgularından anlamlı olarak yüksek çıkmıştır ( $p=0,001$ ;  $p<0,01$ ) (Tablo 22). Heintel ve ark.'nın çalışmaları MUM'in PCR yöntemiyle ekspresyonunun artışının MM olgularında kötü prognozla ilişkili olduğunun gösterildiği ilk çalışmadır [124]. Aynı çalışmada, immünohistokimyasal olarak MUM-1 ekspresyonuyla, MUM-1 PCR sonuçlarının korele olmadığı ve bu konuda çalışmaların artırılması gerektiği bildirilmektedir [124].

MUM-1, MYC ile birlikte MM patogenezinde Şekil 5'te gösterildiği üzere hücre siklusunun düzenlenmesi, enerji metabolizması, hücre ölümü gibi birçok mekanizma üzerine de etkilidir [66]. Shaffer ve ark.'nın çalışmalarında, MUM-1 ekspresyonunun susturulması halinde miyelom hücrelerinin ani ölümünün gerçekleştiğini saptamışlardır. MUM-1, bu etkiyi plazma hücrelerinin proliferasyonu üzerine pozitif geri besleme ile sağlamaktadır. Lopez ve ark.'nın çalışmalarında ise immün modülatör ajan olan lenalidomide ile MM hücrelerinin siklusları bloklandığında, MUM-1 ekspresyonunun azaldığı buna MYC ekspresyonunun azalmasının da eşlik ettiği tespit edilmiştir [125]. MUM-1'in etki mekanizmasında MYC'le olan birlikteliği gibi, mikroçevre ile ilişkili birçok genle etkileşim halinde bulunması (STAG2, CDK6, RANKL, IL-6) hastalık patogenezindeki etkisinin net bir şekilde aydınlatılmasında güçlük teşkil etmektedir [126].

Çalışmamızda, MUM-1 ekspresyonu ile CRAB kriterlerinden; hiperkalsemi ile istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,021$ ;  $p<0,05$ ) (Tablo 25). Bai ve ark.'nın 58 MM olgusuyla yaptıkları çalışmada, MM'nin mikroçevre ilişkili patogenezinde önemli yer tuttuğu saptanan T helper 17 hücrelerince salgılanan IL-17 düzeylerinin periferik kanda flow sitometrik olarak artışının, kemik iliği biyopsilerinde MUM-1 immünekspresyonu düzeylerinin artışı ve hastalık evresiyle korele artışıyla gittiği

bildirilmektedirler [64]. Yine aynı çalışmada periferik kandaki T regülatör hücre artışının kalsiyum düzeyleriyle korele artış gösterdiği saptanmıştır. Ancak çalışmada MUM-1 düzeyleri ile kalsiyum seviyelerine ilişkin veri bildirilmemektedir [64].

Çalışmamızda, MUM-1 ekspresyonu ile SLiM “S” kriteri istatistiksel olarak anlamlı bir pozitif ilişki saptanmıştır ( $p=0,003$ ;  $p<0,01$ ) (Tablo 30). MUM-1’in plazma hücre proliferasyonu üzerinde pozitif geri bildirim mekanizması, MUM-1 ekspresyonunun neoplastik plazma hücre artışını temsil eden “S” kriteriyle ilişkisini açıklamaktadır.

MUM-1 immünekspresyonu ISS, r-ISS evreleriyle istatistiksel olarak anlamlılık göstermemekle beraber, ISS ve r-ISS evreleri arttıkça ekspresyon oranının arttığı görülmektedir (Tablo 31.1 ve 31.2) (ISS I-II-III %31- %41 - %47) (r-ISS I-II-III %32- %39- %51). MGUS olgularında, Mayo risk skoru sisteminde yüksek risk grubunda diğer gruplara kıyasla MUM-1 ekspresyonunun yüksek çıktığı görülmüştür (%8-%42) (Tablo 35a ve 35b). MUM-1’in, MGUS-MM progresyonunda ve MM progresif hastalık tayininde kullanılabilir güvenilir bir belirteç olabileceğini düşünmekle beraber, bu veriyi desteklemek adına MGUS-SMM-MM olgularında MUM-1 immünekspresyonuna ilişkin daha geniş karşılaştırmalı çalışmaların gerekliliği göz ardı edilmemelidir.

## 6. SONUÇLAR

- Çalışmamızda MM ve MGUS olguları arasındaki karşılaştırmada, immünohistokimyasal olarak Pan-RAS, DKK-1 ve MUM-1'in MM olgularında neoplastik hücrelerce daha yüksek oranda eksprese edildiği görülmüştür. Bu durum, belirtilen moleküllerin MGUS-MM progresyonunda rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir.
- MM olgularında yüksek monoklonal FLC oranının CD138 ekspresyonu ile korele olduğu görülmüştür. Yüksek FLC oranı çok sayıda komplikasyona yol açmaktadır. Artmış CD138 immunekspresyonunun tespiti, yüksek FLC ve buna bağlı komplikasyonları önceden belirlemede faydalı olabilir.
- CD138 ekspresyon oranı kemik iliğindeki plazma hücresi miktarını göstermekte olup, ileri ISS ve R-ISS evrelerinde anlamlı olarak yüksektir. Bu durum, CD138 ekspresyon oranının prognostik öneme sahip olabileceğini ve ISS ve R-ISS sistemlerinde kullanılmamasına rağmen agresif seyir belirtici olabileceğini düşündürmektedir.
- CCL-3 ekspresyonu MGUS olgularında MM olgularına göre yüksek ekspresyon göstermektedir. MGUS olguları ayrıca incelendiğinde Mayo Risk Sınıflama Sistemi'ne göre yüksek risk grubunda diğer gruplara göre yüksek CCL-3 ekspresyonu görülmektedir. Bu durum, CCL-3'ün MGUS-MM geçişinde ve erken dönem MM onkogeneğinde önemli olduğunu düşündürmektedir.
- Pan-RAS ekspresyon oranı MM olgularında MGUS olgularına göre anlamlı olarak daha yüksektir. Bu durum, Pan-RAS'ın MGUS-MM progresyonunda rol oynuyor olabileceğini ve MGUS-MM geçişini tayinde işe yarayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, yüksek evre R-ISS olgularında artmış Pan-RAS ekspresyonu görülmekle birlikte, bu

fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığından, bu konuda daha geniş serilerde çalışma yapılması faydalı olabilir.

- Çalışmamız kemik iliği biyopsilerine tanı anında uygulanacak ucuz ve hızlı bir yöntem olan immünohistokimyasal incelemenin MGUS- MM geçişi riski ve MM'de progresyon riski hakkında genel bilgiler verebileceğini, ancak bu konuda daha geniş serilerle çalışmalar yapılmasının doğru olacağını düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Ghobrial, I.M., et al., The bone-marrow niche in MDS and MGUS: implications for AML and MM. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018. 15(4): p. 219-233.
2. Xu, S., et al., Mesenchymal stem cells in multiple myeloma: a therapeutical tool or target? *Leukemia*, 2018. 32(7): p. 1500-1514.
3. Vallet, S., et al., Myeloma Bone Disease: Update on Pathogenesis and Novel Treatment Strategies. *Pharmaceutics*, 2018. 10(4).
4. Aref, S., T. Goda, and M. El-Sherbiny, Syndecan-1 in multiple myeloma: relationship to conventional prognostic factors. *Hematology*, 2003. 8(4): p. 221-8.
5. Rasmussen, T., et al., Possible roles for activating RAS mutations in the MGUS to MM transition and in the intramedullary to extramedullary transition in some plasma cell tumors. *Blood*, 2005. 105(1): p. 317-23.
6. Xu, J., et al., Molecular signaling in multiple myeloma: association of RAS/RAF mutations and MEK/ERK pathway activation. *Oncogenesis*, 2017. 6(5): p. e337.
7. Abbas, A.K., A.H. Lichtman, and S. Pillai, Cellular and molecular immunology. 2014: Elsevier Health Sciences.
8. Delves, P.J. and I.M. Roitt, The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med*, 2000. 343(2): p. 108-17.
9. Delves, P.J. and I.M. Roitt, The immune system. First of two parts. *N Engl J Med*, 2000. 343(1): p. 37-49.
10. De La Garza, A., A. Sinha, and T.V. Bowman, Concise Review: Hematopoietic Stem Cell Origins: Lessons from Embryogenesis for Improving Regenerative Medicine. *Stem cells translational medicine*, 2017. 6(1): p. 60-67.
11. S. Swerdlow, e.a., WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (2017, WHO). WHO, 2017: p. 240-268.
12. Nutt, S.L., et al., The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat Rev Immunol*, 2015. 15(3): p. 160-71.
13. Perez-Andres, M., et al., Clonal plasma cells from monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma and plasma cell leukemia show different expression profiles of molecules involved in the interaction with the immunological bone marrow microenvironment. *Leukemia*, 2005. 19(3): p. 449-55.

14. Korde, N. and I. Maric, Myelomagenesis: capturing early microenvironment changes. *Semin Hematol*, 2011. 48(1): p. 13-21.
15. Reagan, M.R. and I.M. Ghobrial, Multiple myeloma mesenchymal stem cells: characterization, origin, and tumor-promoting effects. *Clin Cancer Res*, 2012. 18(2): p. 342-9.
16. Kazandjian, D., Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy. *Seminars in oncology*, 2016. 43(6): p. 676-681.
17. Rajkumar, S.V., Multiple myeloma: 2016 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*, 2016. 91(7): p. 719-34.
18. Sirohi, B. and R. Powles, Multiple myeloma. *The Lancet*, 2004. 363(9412): p. 875-887.
19. Terpos, E. and M.A. Dimopoulos, Myeloma bone disease: pathophysiology and management. *Ann Oncol*, 2005. 16(8): p. 1223-31.
20. Terpos, E., et al., Pathogenesis of bone disease in multiple myeloma: from bench to bedside. *Blood Cancer J*, 2018. 8(1): p. 7.
21. Bianchi, G. and N.C. Munshi, Pathogenesis beyond the cancer clone(s) in multiple myeloma. *Blood*, 2015. 125(20): p. 3049-58.
22. Bergsagel, P.L. and W.M. Kuehl, Molecular pathogenesis and a consequent classification of multiple myeloma. *J Clin Oncol*, 2005. 23(26): p. 6333-8.
23. Kuehl, W.M. and P.L. Bergsagel, Molecular pathogenesis of multiple myeloma and its premalignant precursor. *J Clin Invest*, 2012. 122(10): p. 3456-63.
24. Liu, Z., et al., Network-based analysis of the molecular mechanisms of multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Oncol Lett*, 2017. 14(4): p. 4167-4175.
25. Mikulasova, A., et al., The spectrum of somatic mutations in monoclonal gammopathy of undetermined significance indicates a less complex genomic landscape than that in multiple myeloma. *Haematologica*, 2017. 102(9): p. 1617-1625.
26. Kumar, S., et al., Trisomies in multiple myeloma: impact on survival in patients with high-risk cytogenetics. *Blood*, 2012. 119(9): p. 2100-5.
27. Rafael Fonseca, R.J.B., Gregory J. Ahmann, S. Vincent Rajkumar, James D. Hoyer, John A. Lust, Robert A. Kyle, Morie A. Gertz, Philip R. Greipp, and Gordon W. Dewald, Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2002. VOLUME 100, NUMBER 4.

28. Hae Cho, E., et al., Fluorescent in Situ Hybridization Analysis at Bone Marrow Biopsy Section in Multiple Myeloma. 2009. 114(22): p. 4898-4898.
29. Bartl, R., et al., Bone marrow histology in myeloma: its importance in diagnosis, prognosis, classification and staging. *Br J Haematol*, 1982. 51(3): p. 361-75.
30. Subramanian, R., D. Basu, and T.K. Dutta, Prognostic significance of bone marrow histology in multiple myeloma. *Indian J Cancer*, 2009. 46(1): p. 40-5.
31. Kumar, S., T. Kimlinger, and W. Morice, Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2010. 23(3): p. 433-51.
32. Santra, M., J.D. Shaughnessy, Jr., and W.T. Bellamy, Expression of multiple myeloma associated markers in bone marrow spicules using a novel immunohistochemical technique. *Biotech Histochem*, 2011. 86(2): p. 119-23.
33. Bayer-Garner, I.B., et al., Syndecan-1 (CD138) immunoreactivity in bone marrow biopsies of multiple myeloma: shed syndecan-1 accumulates in fibrotic regions. *Mod Pathol*, 2001. 14(10): p. 1052-8.
34. Ioannou, M.G., et al., Immunohistochemical evaluation of 95 bone marrow reactive plasmacytoses. *Pathol Oncol Res*, 2009. 15(1): p. 25-9.
35. Paiva, B., et al., Multiparameter flow cytometry quantification of bone marrow plasma cells at diagnosis provides more prognostic information than morphological assessment in myeloma patients. *Haematologica*, 2009. 94(11): p. 1599-602.
36. Dispenzieri, A., et al., International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*, 2009. 23(2): p. 215-24.
37. Gong, J.N., et al., Hierarchy for targeting prosurvival BCL2 family proteins in multiple myeloma: pivotal role of MCL1. *Blood*, 2016. 128(14): p. 1834-1844.
38. S. Swerdlow, e.a., WHO Classification of Tumours- WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (2017, WHO). 2017.
39. Clay-Gilmour, A.I., et al., Risk of MGUS in relatives of multiple myeloma cases by clinical and tumor characteristics. *Leukemia*, 2019. 33(2): p. 499-507.
40. Rajkumar, S.V., et al., International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The Lancet Oncology*, 2014. 15(12): p. e538-e548.

41. Rajkumar, S.V., R.A. Kyle, and F.K. Buadi, Advances in the diagnosis, classification, risk stratification, and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance: implications for recategorizing disease entities in the presence of evolving scientific evidence. *Mayo Clin Proc*, 2010. 85(10): p. 945-8.
42. Palumbo, A., et al., Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol*, 2015. 33(26): p. 2863-9.
43. Ludwig, H., et al., Health-related quality of life in the ENDEAVOR study: carfilzomib-dexamethasone vs bortezomib-dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma. *Blood Cancer J*, 2019. 9(3): p. 23.
44. Chanan-Khan, A.A. and S. Giralt, Importance of achieving a complete response in multiple myeloma, and the impact of novel agents. *J Clin Oncol*, 2010. 28(15): p. 2612-24.
45. Türk Hematoloji Derneği, MULTİPL MYELOM TANI VE TEDAVİ KILAVUZU. 2016. Sürüm 1.02: p. 1-20.
46. Kyle, R.A. and P.R. Greipp, 3. The laboratory investigation of monoclonal gammopathies. *Mayo Clin Proc*, 1978. 53(11): p. 719-39.
47. Rajkumar, S.V., et al., Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2005. 106(3): p. 812-7.
48. Korde, N., S.Y. Kristinsson, and O. Landgren, Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering multiple myeloma (SMM): novel biological insights and development of early treatment strategies. *Blood*, 2011. 117(21): p. 5573-81.
49. Jegu, G., et al., Pathogen-associated molecular patterns are growth and survival factors for human myeloma cells through Toll-like receptors. *Leukemia*, 2006. 20(6): p. 1130-7.
50. Chng, W.J., et al., Clinical and biological significance of RAS mutations in multiple myeloma. *Leukemia*, 2008. 22(12): p. 2280-4.
51. Kyle, R.A., et al., IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering Waldenstrom's macroglobulinemia (SWM). *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2011. 11(1): p. 74-6.
52. Kyle, R.A., et al., Long-Term Follow-up of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *N Engl J Med*, 2018. 378(3): p. 241-249.
53. Kyle, R.A. and S.V. Rajkumar, Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smouldering multiple myeloma: emphasis on risk factors for progression. *Br J Haematol*, 2007. 139(5): p. 730-43.

54. Hillengass, J., T. Moehler, and M. Hundemer, Monoclonal gammopathy and smoldering multiple myeloma: diagnosis, staging, prognosis, management. *Recent Results Cancer Res*, 2011. 183: p. 113-31.
55. Goyal, G., et al., Impact of prior diagnosis of monoclonal gammopathy on outcomes in newly diagnosed multiple myeloma. *Leukemia*, 2019.
56. Kyle, R.A., et al., Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2014. 28(5): p. 775-90.
57. Dhodapkar, M.V., MGUS to myeloma: a mysterious gammopathy of underexplored significance. *Blood*, 2016. 128(23): p. 2599-2606.
58. Davies, F.E., et al., Insights into the multistep transformation of MGUS to myeloma using microarray expression analysis. *Blood*, 2003. 102(13): p. 4504-11.
59. Willrich, M.A.V., D.L. Murray, and R.A. Kyle, Laboratory testing for monoclonal gammopathies: Focus on monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Clin Biochem*, 2018. 51: p. 38-47.
60. Terpos, E., et al., Serum levels of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1alpha) correlate with the extent of bone disease and survival in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol*, 2003. 123(1): p. 106-9.
61. Palma, B.D., et al., Osteolytic lesions, cytogenetic features and bone marrow levels of cytokines and chemokines in multiple myeloma patients: Role of chemokine (C-C motif) ligand 20. *Leukemia*, 2016. 30(2): p. 409-16.
62. Terpos, E., et al., Significance of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1alpha) in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*, 2005. 46(12): p. 1699-707.
63. Lentzsch, S., et al., Macrophage inflammatory protein 1-alpha (MIP-1 alpha ) triggers migration and signaling cascades mediating survival and proliferation in multiple myeloma (MM) cells. *Blood*, 2003. 101(9): p. 3568-73.
64. Bai, H., et al., Bone marrow IRF4 level in multiple myeloma: an indicator of peripheral blood Th17 and disease. *Oncotarget*, 2017. 8(49): p. 85392-85400.
65. Akı,H,, Difuz Büyük B Hücreli Lenfoma Patolojisi Türk Hematoloji Derneği, 2016. Türk Hematoloji Derneği Klinisyen-Patolog Ortak Lenfoma Kursu ,p. 64-75.
66. Shaffer, A.L., et al., IRF4 addiction in multiple myeloma. *Nature*, 2008. 454(7201): p. 226-31.

67. Terpos, E. and D. Christoulas, Effects of proteasome inhibitors on bone cancer. *BoneKEy reports*, 2013. 2: p. 395-395.
68. Kuphal, S., et al., Expression of Dickkopf genes is strongly reduced in malignant melanoma. *Oncogene*, 2006. 25(36): p. 5027-36.
69. Feng, Y., et al., Correlations of DKK1 with pathogenesis and prognosis of human multiple myeloma. *Cancer Biomark*, 2019. 24(2): p. 195-201.
70. Dalla Palma, B., et al., Bone Marrow DKK-1 Levels in Smoldering Multiple Myeloma Patients: A New Independent Risk Factor for Progression. 2016. 128(22): p. 4452-4452.
71. Billadeau, D., et al., Introduction of an activated N-ras oncogene alters the growth characteristics of the interleukin 6-dependent myeloma cell line ANBL6. *Cancer Res*, 1995. 55(16): p. 3640-6.
72. Hallek, M., P.L. Bergsagel, and K.C. Anderson, Multiple myeloma: increasing evidence for a multistep transformation process. *Blood*, 1998. 91(1): p. 3-21.
73. Landgren, O., et al., Prevalence of myeloma precursor state monoclonal gammopathy of undetermined significance in 12372 individuals 10-49 years old: a population-based study from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Blood Cancer J*, 2017. 7(10): p. e618.
74. Landgren, O. and B.M. Weiss, Patterns of monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma in various ethnic/racial groups: support for genetic factors in pathogenesis. *Leukemia*, 2009. 23(10): p. 1691-7.
75. Kyle, R.A., et al., Long-term Follow-up of 241 Patients With Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance: The Original Mayo Clinic Series 25 Years Later. *Mayo Clinic Proceedings*, 2004. 79(7): p. 859-866.
76. Kyle, R.A., et al., Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc*, 2003. 78(1): p. 21-33.
77. Palumbo, A. and K. Anderson, Multiple myeloma. *N Engl J Med*, 2011. 364(11): p. 1046-60.
78. van de Donk, N.W., et al., The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European Myeloma Network. *Haematologica*, 2014. 99(6): p. 984-96.
79. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2015. 65(1): p. 5-29.

80. Kastritis, E., et al., Evaluation of the Revised International Staging System in an independent cohort of unselected patients with multiple myeloma. *Haematologica*, 2017. 102(3): p. 593-599.
81. Jimenez-Zepeda, V.H., et al., Revised International Staging System Applied to Real World Multiple Myeloma Patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2016. 16(9): p. 511-518.
82. Eslick, R. and D. Talaulikar, Multiple myeloma: from diagnosis to treatment. *Australian Family Physician*, 2013. 42: p. 684-688.
83. Sergeantanis, T.N., et al., Risk Factors for Multiple Myeloma: A Systematic Review of Meta-Analyses. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2015. 15(10): p. 563-77.e1-3.
84. Eleutherakis-Papaiakevou, V., et al., Renal failure in multiple myeloma: incidence, correlations, and prognostic significance. *Leuk Lymphoma*, 2007. 48(2): p. 337-41.
85. Park, S., et al., Renal Insufficiency in newly-diagnosed multiple myeloma: analysis according to International Myeloma Working Group consensus statement. *Anticancer Res*, 2014. 34(8): p. 4299-306.
86. Yadav, P., M. Cook, and P. Cockwell, Current Trends of Renal Impairment in Multiple Myeloma. *Kidney diseases (Basel, Switzerland)*, 2016. 1(4): p. 241-257.
87. Birgegård, G., P. Gascón, and H. Ludwig, Evaluation of anaemia in patients with multiple myeloma and lymphoma: findings of the European CANCER ANAEMIA SURVEY. *European journal of haematology*, 2006. 77(5): p. 378-386.
88. Hansford, B.G. and R. Silbermann, Advanced Imaging of Multiple Myeloma Bone Disease. *Frontiers in endocrinology*, 2018. 9: p. 436-436.
89. Melton, L.J., 3rd, et al., Fracture risk with multiple myeloma: a population-based study. *J Bone Miner Res*, 2005. 20(3): p. 487-93.
90. Al-Quran, S.Z., et al., Assessment of bone marrow plasma cell infiltrates in multiple myeloma: the added value of CD138 immunohistochemistry. *Hum Pathol*, 2007. 38(12): p. 1779-87.
91. Binder, M., et al., Prognostic implications of abnormalities of chromosome 13 and the presence of multiple cytogenetic high-risk abnormalities in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood cancer journal*, 2017. 7(9): p. e600-e600.
92. Zojer, N., et al., Deletion of 13q14 remains an independent adverse prognostic variable in multiple myeloma despite its frequent detection by interphase fluorescence in situ hybridization. *Blood*, 2000. 95(6): p. 1925-30.

93. Avet-Louseau, H., et al., Chromosome 13 abnormalities in multiple myeloma are mostly monosomy 13. *Br J Haematol*, 2000. 111(4): p. 1116-7.
94. Durak, B.A., et al., Conventional and molecular cytogenetic analyses in Turkish patients with multiple myeloma. *Turk J Haematol*, 2012. 29(2): p. 135-42.
95. Benjamin, M., S. Reddy, and O.W. Brawley, Myeloma and race: a review of the literature. *Cancer Metastasis Rev*, 2003. 22(1): p. 87-93.
96. Fairfield, H., et al., Multiple myeloma in the marrow: pathogenesis and treatments. *Ann N Y Acad Sci*, 2016. 1364(1): p. 32-51.
97. Jiang, H., et al., Transfection of chimeric anti-CD138 gene enhances natural killer cell activation and killing of multiple myeloma cells. *Molecular oncology*, 2014. 8(2): p. 297-310.
98. Kim, J.M., et al., Soluble syndecan-1 at diagnosis and during follow up of multiple myeloma: a single institution study. *Korean J Hematol*, 2010. 45(2): p. 115-9.
99. Seidel, C., et al., Serum syndecan-1: a new independent prognostic marker in multiple myeloma. *Blood*, 2000. 95(2): p. 388-92.
100. Joshi, R., et al., Bone marrow trephine combined with immunohistochemistry is superior to bone marrow aspirate in follow-up of myeloma patients. *J Clin Pathol*, 2008. 61(2): p. 213-6.
101. Shionoiri, A., et al., Hypercalcemia induced with the plasma levels of parathyroid hormone-related peptide in multiple myeloma. *Intern Med*, 2000. 39(10): p. 810-3.
102. Kitazawa, R., et al., Expression of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) in multiple myeloma. *Pathol Int*, 2002. 52(1): p. 63-8.
103. Dass, J., et al., Role of CD138, CD56, and light chain immunohistochemistry in suspected and diagnosed plasma cell myeloma: A prospective study. *South Asian journal of cancer*, 2019. 8(1): p. 60-64.
104. Lovell, R., et al., Soluble syndecan-1 level at diagnosis is an independent prognostic factor in multiple myeloma and the extent of fall from diagnosis to plateau predicts for overall survival. *Br J Haematol*, 2005. 130(4): p. 542-8.
105. Ramani, V.C. and R.D. Sanderson, Chemotherapy stimulates syndecan-1 shedding: a potentially negative effect of treatment that may promote tumor relapse. *Matrix Biol*, 2014. 35: p. 215-22.
106. Kawano, Y., et al., Multiple myeloma cells expressing low levels of CD138 have an immature phenotype and reduced sensitivity to lenalidomide. *Int J Oncol*, 2012. 41(3): p. 876-84.

107. Foster, M.C., et al., Prognostic impact of bone marrow CD138 immunohistochemistry (IHC) prior to autologous stem cell transplant (ASCT) for multiple myeloma (MM). 2009. 27(15\_suppl): p. 8600-8600.
108. Maciocia, N., A. Wechalekar, and K. Yong, Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering myeloma (SMM): a practical guide to management. *Hematol Oncol*, 2017. 35(4): p. 432-439.
109. Daniel Billadeau, P.L., Diane Jelinek, Nisha Shah, Tucker W. LeBien, and Brian Van Ness<sup>2</sup>, Activating Mutations in the N- and K-ras Oncogenes Differentially Affect the Growth Properties of the IL-6-dependent Myeloma Cell Line ANBL6. *Cancer Research*, 1997.
110. Zangari, M., et al., Rigosertib, a Pan RAS Inhibitor, Decreases Mouse and Human Myeloma Cell Growth in Preclinical Models. 2016. 128(22): p. 5664-5664.
111. Weiss, B.M. and W.M. Kuehl, Advances in understanding monoclonal gammopathy of undetermined significance as a precursor of multiple myeloma. *Expert review of hematology*, 2010. 3(2): p. 165-174.
112. Kalakonda, N., et al., Detection of N-Ras codon 61 mutations in subpopulations of tumor cells in multiple myeloma at presentation. *Blood*, 2001. 98(5): p. 1555-60.
113. Roodman, G.D., Pathogenesis of myeloma bone disease. *Leukemia*, 2009. 23(3): p. 435-41.
114. Politou, M., et al., Role of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL), osteoprotegerin and macrophage protein 1-alpha (MIP-1a) in monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Haematol*, 2004. 126(5): p. 686-9.
115. Vallet, S., et al., A novel role for CCL3 (MIP-1alpha) in myeloma-induced bone disease via osteocalcin downregulation and inhibition of osteoblast function. *Leukemia*, 2011. 25(7): p. 1174-81.
116. Ng, A.C., et al., Bone microstructural changes revealed by high-resolution peripheral quantitative computed tomography imaging and elevated DKK1 and MIP-1alpha levels in patients with MGUS. *Blood*, 2011. 118(25): p. 6529-34.
117. Kimata, H., et al., RANTES and macrophage inflammatory protein 1 alpha selectively enhance immunoglobulin (IgE) and IgG4 production by human B cells. *J Exp Med*, 1996. 183(5): p. 2397-402.