

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**MULTİPLE MYELOMADA TANI ANINDA STANDART
DEMİR PARAMETRELERİ, TRANSFERRİNE BAĞLI
OLMAYAN DEMİR, HEPsİDİN DÜZEYLERİ VE BU
PARAMETRELERİN HASTALIK PROGNOZUNDAKİ ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYŞE FITNAT TUNCEL BAHAR

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. HATİCE PAŞAOĞLU

**ANKARA
MART 2013**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**MULTİPLE MYELOMADA TANI ANINDA STANDART
DEMİR PARAMETRELERİ, TRANSFERRİNE BAĞLI
OLMAYAN DEMİR, HEPsİDİN DÜZEYLERİ VE BU
PARAMETRELERİN HASTALIK PROGNOZUNDAKİ ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYŞE FITNAT TUNCEL BAHAR

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. HATİCE PAŞAOĞLU

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2011-65 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
MART 2013**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR	v
ŞEKİL, TABLO VE GRAFİK LİSTELERİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Multiple Myeloma	3
2.1.1. Etiyoloji	3
2.1.2. Patogenez	4
2.1.3. Belirti ve Bulgular	7
2.1.4. Tanı	10
2.1.5. Evreleme ve Prognoz	13
2.1.6. Tedavi	17
2.1.7. Tedaviye Cevap	18
2.2. Demir	19
2.2.1. Demir Metabolizması	19
2.2.2. Plazma Demiri	21
2.2.3. Depo Demiri	21
2.2.4. Demir Yüklenmesi	24
2.2.5. Hepsidin	25

3.	GEREÇ ve YÖNTEM	29
3.1.	Hasta Grupları	29
3.2.	Kullanılan Aletler	30
3.3.	Yöntemlerin Uygulanması	31
3.3.1.	Serum Demir Ölçümü	31
3.3.2.	Serum Doymamış Demir Bağlama Kapasitesi Ölçümü	31
3.3.3.	Serum Demir Bağlama Kapasitesi (SDBK) Ölçümü	32
3.3.4.	NTBI Ölçümü	32
3.3.5.	Ferritin Ölçümü	32
3.3.6.	Hepsidin Ölçümü	33
3.4.	İstatistiksel Analiz	36
4.	BULGULAR	37
5.	TARTIŞMA	49
6.	SONUÇ	60
7.	KAYNAKLAR	62
8.	ÖZET	75
9.	SUMMARY	77
10.	ÖZGEÇMİŞ	79

TEŞEKKÜR

Eğitim sürecim boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen, yol göstermekten ve tecrübelerini paylaşmaktan her zaman keyif duyan, bitmeyen enerjisine her daim hayran kaldığım değerli hocam, tez danışmanım Prof.Dr. Hatice Paşaoğlu'na derin saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında görevli tüm hocalarıma destek ve hoşgörülerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım. Tezimin proje aşamasında şekillenmesine katkılarından dolayı Hematoloji Bilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr. Gülsan Türköz Sucak'a ve Dr. Elif Suyanı'ya teşekkür ederim.

Berber çalıştığımız tüm asistan arkadaşlarıma; çalışma ortamımı hep güzel hatırlamama neden oldukları için ve sınır tanımayan yardımlarından dolayı ayrıca teşekkür etmek isterim. Onları her zaman güzel anılarla hatırlayacağım. Berber çalıştığımız tüm personel arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim sırasında önce kıdemli asistanım olan; sonrasında ise her bunaldığım da yardımına gönülden koşan, destekleyen, hakkını asla ödeyemeyeceğim Dr. Canan Demirtaş'a ayrıca teşekkür ederim.

Hem mesleki, hem de kişisel anlamda her zaman yanımda olan, bitmek tükenmek bilemeyen sorularıma sabırla cevap veren, her konuda olduğu gibi tezimin hazırlanmasında da desteğini esirgemeyen, kendinden çok şey öğrendiğim sevgili eşim Dr. Burak Bahar'a çok teşekkür ederim.

Son olarak; tüm hayatım boyunca benimle olan, beni her zaman ve her halimle destekleyen, içlerinde olmaktan gurur duyduğum kıymetli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

KISALTMALAR

bFGF: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü

BMP-SMAD: Kemik Morfogenetik Protein-SMAD

CKD-EPI: Kronik Böbrek Hastalıkları Epidemiyoloji Birliği

CRP: C-Reaktif Protein

DMT1: Divalan Metal Taşıyıcı 1

eGFR: Hesaplanmış GFR

ELISA: Enzim İlintili İmmün Test

FISH: Floresan İn Situ Hibridizasyon

HIF: Hipoksi ile İndüklenebilen Faktör

HRP: Horseradish Peroxidase

IgA: İmmünglobulin A

IGF-1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1

IgG: İmmünglobulin G

IL-1 β : İnterlökin-1 β

IL-6: İnterlökin-6

IL-11: İnterlökin-11

ISS: Uluslararası Evreleme Sistemi

IQR: Kartiller Arası Aralık

IRP: Demir Düzenleyici Elementi Bağlayan Protein

JAK STAT: Janus Kinaz/Sinyal İletici ve Transkripsiyon Aktive Ediciler

LDH: Laktat Dehidrogenaz

LEAP-1: Karaciğerde Eksprese Edilen Antimikrobiyal Peptid-1

LIP: Labil Demir Havuzu

MGUS: Önemi Belirsiz Monoklonal Gamopati

MIP-1 α : Makrofaj İnflamatuvar Protein-1 α

NTBI: Transferrine Bağlı Olmayan Demir

PCLI: Plazma Hücre Döngüsü

RANKL: Nükleer Kappa B Ligand Reseptör Aktivatörü

RBC: Kırmızı Küre Sayısı

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SD: Standart Sapma

SDF-1: Stroma Kökenli Faktör-1

SMM: Sessiz Multiple Myeloma

TfR1: Transferrin Reseptör 1

TGF- β : Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β

TMB: Tetrametilbenzidin

TNFs: Tümör Nekroz Faktörleri

TNF- α : Tümör Nekroz Faktör- α

UIBC: Doymamış Demir Bağlama Kapasitesi

VCAM-1: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

WBC: Beyaz Küre Sayısı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Myeloma hücreleri ile, hematopoietik ve hematopoietik olmayan.....6 kemik iliği kompartmanları arası ilişki	
Şekil 2. A: serum protein elektroforezinde M bandı, B: serum ve idrar.....12 immün fiksasyon elektroforezi	
Şekil 3. Lateral kafa grafisinde multiple myelomaya özgü çok sayıda litik.....13 lezyon	
Şekil 4. Kemik iliği aspiratı. Plazma hücrelerinin mavi stoplazmaları,.....13 eksantrik yerleşimli nükleusları ve perinükleer soluk alanlar	
Şekil 5. Vücuda alınan demirin dolaşıma geçmesi.....20	
Şekil 6. Hücreye demir alınımı.....22	
Şekil 7. Hepsidin etkisi mekanizması.....26	

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Multiple myelomada yapısal kromozomal anomaliler ve ilgili.....7 onkogenler	
Tablo 2. MGUS, asemptomatik myeloma ve semptomatik myeloma için.....10 tanı kriterleri (Uluslararası Myeloma Çalışma Grubu, 2003)	
Tablo 3. Durie-Salmon Evreleme Sistemi kriterleri.....14	
Tablo 4. ISS (Uluslararası Evreleme Sistemi) kriterleri.....15	

Tablo 5. Tanı anında multiple myeloma risk sınıflaması.....	16
Tablo 6. Yeni tanı almış multiple myelomada önerilen tedavi şeması.....	18
Tablo 7. Tedaviye cevap kriterleri.....	18
Tablo 8. Anemi olmaksızın ferritin yüksekliği ile karakterize genetik ve.....	28
kazanılmış bozukluklarda hepsidin düzeyleri	
Tablo 9. Hastaların evrelerine göre dağılımı.....	30
Tablo 10. Hastaların temel parametreleri.....	37
Tablo 11. Hasta ve kontrol grubunun değerlendirdiğimiz parametreler.....	38
açısından karşılaştırılması	
Tablo 12. Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre çalıştığımız.....	40
parametrelerin dağılımı	
Tablo 13. ISS (Uluslararası Evreleme Sistemi)'ye göre çalıştığımız.....	42
parametrelerin dağılımı	
Tablo 14. Çalıştığımız parametreler ve evrelendirmede kullanılan.....	45
parametrelerin birbirleri ile korelasyonu	
Tablo 15. Kontrol grubunda çalışılan parametrelerin birbirleri ile.....	48
korelasyonu	

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. Serum hepsidin standart grafiği.....	36
Grafik 2. Hasta ve kontrol gruplarının demir dağılımlarının kıyaslanması.....	39

Grafik 3. Hasta ve kontrol gruplarının SDBK dağılımlarının kıyaslanması.....	39
Grafik 4. Hasta ve kontrol gruplarının ferritin dağılımlarının kıyaslanması.....	39
Grafik 5. Hasta ve kontrol gruplarının hepsidin dağılımlarının kıyaslanması.....	39
Grafik 6. Hasta ve kontrol gruplarının NTBI dağılımlarının kıyaslanması.....	39
Grafik 7. SDBK'nın Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı.....	41
Grafik 8. Demirin Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı.....	41
Grafik 9. Ferritin Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı.....	41
Grafik 10. Hepsidin Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı.....	41
Grafik 11. NTBI'nın Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı.....	41
Grafik 12. SDBK'nın ISS'ye göre dağılımı.....	43
Grafik 13. Ferritin ISS'ye göre dağılımı.....	43
Grafik 14. Hepsidin ISS'ye göre dağılımı.....	43
Grafik 15. NTBI'nın ISS'ye göre dağılımı.....	43
Grafik 16. Demirin ISS'ye göre dağılımı.....	43
Grafik 17. Demir-NTBI regresyon eğrisi.....	46
Grafik 18. NTBI-ferritin regresyon eğrisi.....	46
Grafik 19. NTBI- β 2-mikroglobulin regresyon eğrisi.....	46
Grafik 20. SDBK-ferritin regresyon eğrisi.....	46
Grafik 21. SDBK-hepsidin regresyon eğrisi.....	46
Grafik 22. Ferritin-hepsidin regresyon eğrisi.....	46
Grafik 23. β 2-mikroglobulin-hepsidin regresyon eğrisi.....	47
Grafik 24. Albumin-SDBK regresyon eğrisi.....	47
Grafik 25. Kontrol grubunda demir-NTBI regresyon eğrisi.....	48
Grafik 26. Kontrol grubunda ferritin-hepsidin regresyon eğrisi.....	48

1.GİRİŞ

Multiple myeloma, kemik iliğinin plazma hücre infiltrasyonu ile karakterize olan malign bir hastalıktır. Kemik iliğinin normal işleyişinin bozulması sonucunda anemi, nötropeni, lökopeni, hipogamaglobulinemi ve trombositopeni ortaya çıkar ve kliniğe yorgunluk, enfeksiyonlara duyarlılık, nadiren de kanama eğiliminde artış olarak yansır. Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte çevresel (iyonize radyasyon, dioksin, pestisidler) ve genetik faktörlerin neden olabileceği gösterilmiştir (1).

Malign hastalıklarda ve kök hücre nakli hastalarında demir yükü ile enfeksiyon ve hastalık prognozu arasında ilişki bulunmaktadır (2). Serum ferritini demir depolarının başlıca belirteçlerindedir. Demir vücut için son derece önemli ve gerekli bir element olmasına karşın artmış serbest demir düzeyleri, serbest radikal oluşumuna yol açarak organlarda fonksiyon bozulmasına neden olabilmektedir (3). Demirin özel bir atılım yolu olmadığı için artan demir, birikime neden olacaktır (4). Toksisiteden sorumlu olan başlıca demir formları; serbest demir, transferrine bağlı olmayan demir (NTBI), plazmada labil olarak bulunan demir ve hücrelerin içinde labil durumda bulunan demirdir. NTBI serbest radikal oluşumuna ve lipid peroksidasyonuna sebep olarak doku hasarı meydana getirir (4, 5). Bu nedenle demir şelasyonunu temel alan tedavi yaklaşımları organ disfonksiyonlarını önlemede etkili olabilmektedir. Hücre kültürlerinde hücre içi demir şelasyonunun lösemi ve myeloma hücrelerinde ölümü tetiklediği (6), rat karaciğerinden elde edilen epitelyum hücre kültüründe yapılan çalışmalarda NTBI'nın tümör oluşumunu uyarıcı olarak fonksiyon gösterdiği bildirilmektedir

(7). Bu da artmış demir yükünün sadece normal fonksiyon gören dokularda toksik etki göstermekle kalmayıp tümör hücresi proliferasyonuna katkı sağladığını ortaya çıkarmaktadır. Dolayısıyla demir yükünün azaltılması normal organ fonksiyonunun korunmasına katkıda bulunacaktır.

Son dönemlerde yapılan çalışmalarda kronik hastalık anemisi gelişiminde, özellikle inflamatuvar cevap ile olan ilişkisi nedeniyle hepsidin önemli bir rolü olabileceği düşünülmektedir. Hepsidin karaciğer tarafından sentezlenen peptid yapıda bir hormondur. Hücre membranında bulunan ferroportine bağlanır ve ferroportinin hücre içine alınması, sonrasında da yıkımına neden olarak makrofaj ve enterositlerden demir salınımını azaltır (8, 9). Multiple myeloma tanılı hastalarda da hepsidin düzeylerinin yükseldiği hatta prognostik öneme sahip olabildiği öne sürülmüştür (10, 11).

Bu çalışmanın amacı; yeni tanı almış, tedavi görmemiş multiple myeloma hastalarında tanı anındaki standart demir parametreleri, NTBI ve hepsidin durumunu ve bu parametrelerin hastalık prognozundaki önemini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Multiple Myeloma

Multiple myeloma, anormal plazma hücrelerinin monoklonal olarak çoğalması ve kemik iliğinde birikmesiyle karakterize olan, immünglobulin üretiminin görüldüğü bir B hücre malignitesidir (12, 13).

Plazma hücre proliferasyonu sonucu kemik komplikasyonları (litik), bozulmuş hematopoez, hiperviskozite, enfeksiyonlar, ekstremiteler hematopoez, böbrek fonksiyonlarında bozulma ve periferik nöropati gibi birçok klinik tablo ortaya çıkabilmektedir (14). Tüm kanserlerin %1'ini oluşturan multiple myeloma, hematolojik malignitelerin %13'ünden sorumludur (15). Hastalık en sık Afro-Amerikalılarda, daha sonra beyaz ırkta, en az olarak da Asyalılarda görülmekte ve erkekler kadınlardan daha çok etkilenmektedir (erkek/kadın oranı 3:2) (15). Multiple myelomanın yıllık insidansı yaklaşık olarak 4/100.000 kişi olup, en sık 60-70 yaşları arasında tanı almaktadır (13). Klasik tedavi yöntemleri ile ortalama hayatta kalma süresi 3-4 yıl civarında iken olog kök hücre nakli ile bu süre 5-7 yıla kadar uzayabilmektedir (16).

2.1.1. Etiyoloji

Multiple myelomanın kesin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Nadir birkaç ailesel vaka dışında edinilmiş bir hastalık olan multiple myelomada B hücrelerinde meydana gelen genetik değişiklikler sonucunda çevresel toksinlere olan duyarlılığın arttığı düşünülmektedir (15). Hastalık gelişimine zemin

hazırladığı düşünölen başlıca faktörler arasında iyonize radyasyon, pestisidler, nikel gibi bazı metallere mesleksel maruziyet sayılabilir (1).

2.1.2. Patogenez

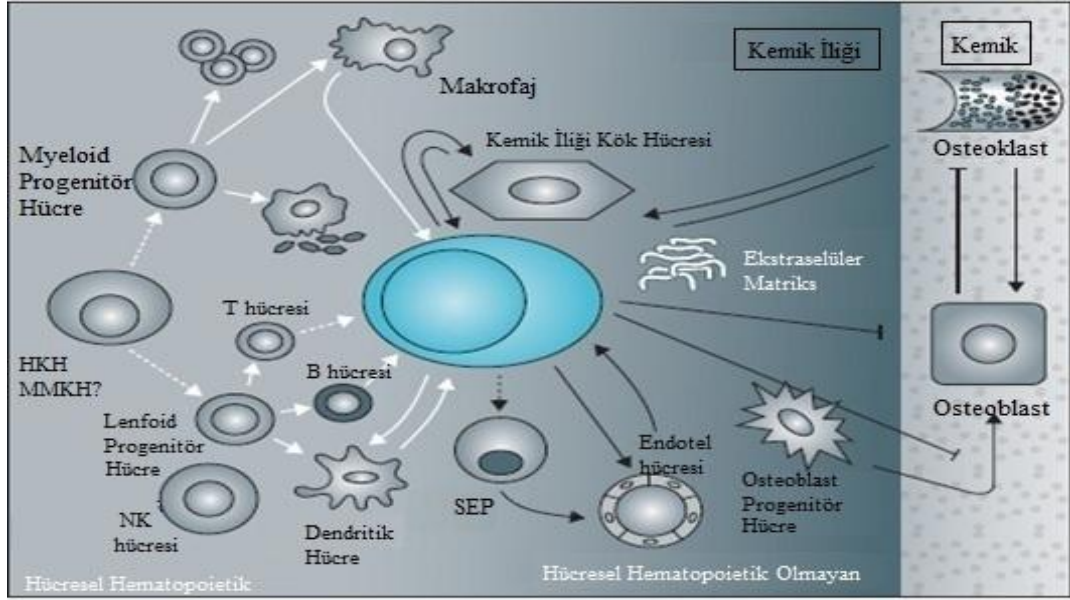
Multiple myeloma, monoklonal plazma hücrelerinin premalign proliferasyonu ile meydana gelir ve post-germinal merkez B hücrelerinden köken alır (17). Bu hücrelerde meydana gelen çok basamaklı genetik ve mikroçevresel değişiklikler, malign neoplazma yönelik dönüşüme neden olur (17). Vakaların çoğunun plazma hücre diskrazilerinden biri olan “önemi belirsiz monoklonal gamopati” (monoclonal gammopathy of undetermined significance – MGUS)’den türediğı, gelişimin devamında “sessiz myeloma” (smoldering multiple myeloma – SMM)’ya doğru ilerlediğı ve son olarak semptomatik multiple myelomanın göröldüğü düşünölmektedir (18).

Multiple myelomanın patogenezi son derece karmaşıktır ve temeli, myeloma hücreleri ile kemik iliğı stromal hücreleri arasındaki ilişkiye dayalıdır (12). Kemik iliğindeki endotel hücreleri ve stromal hücreler tarafından salgılanan *Stroma Kökenli Faktör-1* (SDF-1) ve *İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1* (IGF-1) myelomaya farklılaşan hücreler için kemoatraktan özellik gösterir (12). Bu sayede myeloma hücreleri öncelikle endotel hücrelerine seçici olarak bağlanırlar, ardından endotel boyunca göç ederler ve stromal hücrelere bağlanırlar (12). Bu bağlanma sonucu gerçekleşen $\alpha 4\beta 1$ integrin-Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1) etkileşimi; stromal hücreler tarafından *İnterlökin-6* (IL-6), *İnterlökin-1 β* (IL-1 β), *İnterlökin-11* (IL-11), *Tümör Nekroz Faktörleri* (TNFs), *Dönüştürücü*

Büyüme Faktörü- β (TGF- β) ve *Nükleer Faktör Kappa B Ligand Reseptör Aktivatörü* (RANKL) gibi sitokinlerin parakrin olarak sekresyonunu stimüle eder (12). IL-6 üretimi myeloma hücrelerinin çoğalmasını tetikler ve apoptoza karşı bu hücreleri korur (12). Yüksek serum IL-6 düzeyleri hastalığın yaygınlığı ve kötü prognoz ile ilişkilidir (15).

Multiple myelomada anjiogenezde artma görülür ve bu artış hastalık aktivitesi ve sağkalım ile bağlantı gösterir (12). Myeloma hücreleri tarafından salgılanan *Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü* (VEGF) endotel yüzeyindeki reseptörleri ile etkileşime geçerek proliferasyona başlar (12). Myeloma hücreleri veya stromal hücreler tarafından üretilen *Temel Fibroblast Büyüme Faktörü* (bFGF) gibi diğer moleküller de anjiogenez tetikleyici özellik gösterirler (12).

Kemik destrüksiyonu multiple myelomada görülen karakteristik özelliklerden biridir (12). Osteoklastik aktivitedeki artışın osteoblastik aktivite ile dengelenememesi sonucu kemik kayıpları, osteoporoz, litik kemik lezyonları ve kırıklar görülebilmektedir (12). Osteoklast aktivitesindeki artıştan IL-6, IL-1 β , *Tümör Nekroz Faktör- α* (TNF- α), bFGF, IGF, *Makrofaj İnflamatuvar Protein-1 α* (MIP-1 α), hepatosit büyüme faktörü ve en önemlisi RANKL yolu olmak üzere birçok sitokin ve büyüme faktörü sorumludur (12). *Şekil 1*'de hematopoietik ve hematopoietik olmayan hücrelerle etkileşim halinde olan myeloma hücreleri görülmektedir (14).



Şekil 1. Myeloma hücreleri ile, hematopoietik ve hematopoietik olmayan kemik iliği kompartmanları arası ilişki (14)

SEP: sirkülatuar endotelial progenitor hücre, HKH: hemopoietik kök hücre, MMKH: multiple myeloma kök hücre, NK: natural killer (doğal öldürücü) hücreler

Myeloma gelişiminin çok sayıda yapısal kromozomal değişikliğin ortaya çıkmasını içeren çok basamaklı bir süreç olduğuna dair kanıtlar giderek artmaktadır (12). Karyotipik olarak multiple myeloma, hiperdiploid olan ve hiperdiploid olmayan olmak üzere iki alt gruba ayrılabilir (12). Hiperdiploid olmayan form daha agresif seyirli olup yaşam süresi daha kısadır (12). Multiple myelomada karşılaşılan başlıca kromozomal anomaliler *Tablo 1*'de görülmektedir (12).

Tablo 1. Multiple myelomada yapısal kromozomal anomaliler ve ilgili onkogenler (12)

Kromozomal Anomali	Genetik Lokasyon	İlgili Onkogen	Fonksiyonu
13q delesyonu	Genelde 13q	RB-1	Hücre döngüsü regülasyonu
t(4;14)	4p16.3 14q32	FGFR3	Büyüme faktörü reseptör tirozin kinaz
		MMSET	Transkripsiyon regülasyonu
		TACC3	Bilinmiyor
		Siklin D2	Hücre döngüsü regülasyonu
t(6;14)(p21;q32)	6p21 14q32	Siklin D3	Hücre döngüsü regülasyonu
t(6;14)(p25;q32)	6p25 14q32	MUM/IRF4	Transkripsiyonel interferon regülasyonu
t(14;16)	14q32 16q23	c-MAF	Transkripsiyon faktörü
		WWOX	Bilinmiyor
t(8;14)(q24;q32)	8q24 14q32	c-myc	Hücre döngüsü regülasyonu
t(14;20)	14q32 20q12	b-MAF	Transkripsiyon faktörü
t(14;18)	14q32.33 18q21.3	BCL-2	Apoptoz inhibisyonu
17p delesyonu	17p13	P53	Hücre döngüsü regülasyonu, DNA tamir replikasyonu
1. Kromozom anomalileri		K-RAS, N-RAS gen mutasyonları	Sinyal iletim regülasyonu, hücre döngüsü regülasyonu
t(11;14)	14q32	Siklin D1	Hücre döngüsü regülasyonu
		2. MYEOV	Bilinmiyor

BCL-2: B cell CLL/lymphoma 2, b-MAF: v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog B (avian), c-MAF: v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog (avian), c-myc: v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian), FGFR3: fibroblast growth factor receptor 3, IFN: interferon, K-RAS: V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog, MMSET: multiple myeloma SET domain, MUM/IRF4: maternal effect uncoordinated and malformed/IFN regulatory factor 4, MYEOV: myeloma overexpressed, N-RAS: neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog, p53:protein 53, RB-1: retinoblastoma protein-1, TACC3: transforming, acidic coiled-coil-containing protein 3, WWOX: WW domain-containing oxidoreductase.

2.1.3. Belirti ve Bulgular

İleri yaşlarda görülen bir hastalık olan multiple myeloma, tamamen asemptomatik olarak başlayabileceği gibi birçok komplikasyonla seyreden ileri hastalık evresinde de tanı alabilir (15).

Kemik ağrısı en sık görülen semptomdur (15). Vakaların %70'inden fazlasında görülür ve litik kemik lezyonlarına sekonder olarak ortaya çıkar (15).

Kemik lezyonları karakteristik olarak zimba deliği lezyonlar şeklinde isimlendirilir. Çoğunlukla aksiyel iskeleti tutan lezyonlar genellikle çok odaklıdır, kemik medüller boşluğundan başlayıp kortekse ilerleyerek kırık oluşumuna yol açarlar (15). Vertebrada meydana gelen kırıklarda nörolojik semptomlar da tabloya eşlik edebilir (15).

Böbrek fonksiyonlarında bozulma, vakaların yaklaşık yarısında görülen ve ilerlemiş böbrek yetmezliğine doğru seyredabilen sık rastlanan bir durumdur (15). Fonksiyon kaybının başlıca nedeni Bence-Jones proteinlerinin böbrek tübüllerinde meydana getirdiği hasardır (15). Monoklonal hafif zincir zeliğindeki bu proteinlerin tübüllerden atılımı çok fazla olduğu zaman normal reabsorbsiyon mekanizmasında bozulmaya neden olur ve tübül hücrelerinde birikerek silendir oluşumuna yol açar (15). Hastalık glomerüllerde de hasara neden olabilir ve bu durumda amiloidoz ve hafif zincir nefropatisi varlığı akla getirilmelidir (19). Hiperkalsemi, dehidratasyon gibi durumlar da böbrek hasarını atrırıcı etki gösterebilir (17).

Hiperkalsemi, multiple myeloma hastalarının yaklaşık üçte birinde karşılaşılan bir bulgudur. Hastalıkta ortaya çıkan paraproteinlere kalsiyum bağlanması nedeni ile kalsiyum düzeyleri yanlış yüksek olarak ölçülebildiğinden hiperkalsemi değerlendirmesinde iyonize kalsiyum düzeyleri dikkate alınmalıdır (15).

Hastaların yaklaşık %70'inde rastlanan anemi genellikle normokrom normositer özelliktedir ve çoğalan plazma hücrelerinin kemik iliğini işgal etmesine bağlıdır (15). Başlıca IL-6 olmak üzere artan sitokin miktarları

hematopoezi baskılayarak anemi gelişmesine neden olur (15). Böbrek hasarına bağlı eritropoietin düzeylerindeki düşüş de anemi gelişiminde rol oynar (15, 17).

Multiple myeloma hastalarında enfeksiyonlara duyarlılıkta artış görülür ve hipogamaglobulinemi nedeniyle bakteriyel enfeksiyon riski artmıştır (15). En sık streptokok ve stafilokoklara bağlı solunum yolu enfeksiyonları ile Escherichia coli'ye bağlı üriner sistem enfeksiyonları görülür (15). Tedavi sırasında kullanılan sistemik steroidlere ve lenfosit üretimini baskılayan ilaçlara bağlı olarak viral ve fungal enfeksiyon riskinde de artış olabilmektedir (15).

Hiperviskozite multiple myeloma hastalığında çok sık görülemeyen bir durum olmakla beraber özellikle serebral ve renal dolaşım bozukluklarına neden olmaktadır (15). Plazmasitomlar multiple myeloma hastalarında sıklıkla karşılaşılan kemik ya da yumuşak doku kaynaklı tümöral yapılanmalardır ve ağrı, nöropati, gastrointestinal sistem kanaması veya havayolunda tıkanma gibi lokal bulgularla ortaya çıkar (15). Plazmasitomlara bağlı splenomegali de nadiren gözlemlenmektedir (15).

Multiple myeloma hastalarında bazı durumlarda myelin ile ilişkili antikorlar nedeni ile periferik nöropati de görülebilmektedir (15).

Amiloidoz (AL tipi) vakaların %10'unda karşılaşılan bir durumdur ve genellikle kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği, gastrointestinal fonksiyonlarda bozulma, karaciğer fonksiyonlarda bozulma, periferik nöropati ve doku infiltrasyonu şeklinde kendini gösterir (15).

2.1.4. Tanı

Multiple myeloma tanısı “*Uluslararası Myeloma Çalışma Grubu*” tarafından 2003 yılında önerilen kriterlere göre yapılmaktadır (20) (Tablo2) . Bu kriterlere göre multiple myeloma ile MGUS ayrımı temel olarak M-protein konsantrasyonu, kemik iliğindeki plazma hücrelerinin yüzdesi ve myeloma ile ilişkili organ ya da doku kaybının olup olmamasına göre yapılır (20).

Tablo 2. MGUS, asemptomatik myeloma ve semptomatik myeloma için tanı kriterleri (Uluslararası Myeloma Çalışma Grubu, 2003) (20)

MGUS	Asemptomatik Myeloma	Semptomatik Myeloma
Serum M-protein konsantrasyonu <30 g/l	Serum M-protein konsantrasyonu ≥ 30 g/l VE/VEYA	Serum/idrarda M-protein varlığı*
Kemik iliğinde klonal plazma hücreleri <10%	Kemik iliğinde klonal plazma hücreleri $\geq 10\%$	Kemik iliğinde klonal plazma hücreleri ya da biyopsi ile kanıtlanmış plazmasitom**
Organ / doku hasarı yok (kemik lezyonlarını da içeren organ hasarı)	Organ / doku hasarı ya da semptomu yok (kemik lezyonlarını da içeren organ hasarı)	Myeloma ile ilişkili organ/doku hasarı (kemik lezyonlarını da içeren)

MGUS: Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (önemi belirsiz monoklonal gamopati)

*Tanı için belirtilmiş bir konsantrasyon yok

**Akım sitometri yapıldıysa, çoğu plazma hücresi (>%90) neoplastik fenotipik özellikler göstermeli

Organ / doku hasarının varlığını tespit etmek için kullanılan kriterler, baş harfleri “CRAB” olarak kısaltılarak tanımlanır (20).

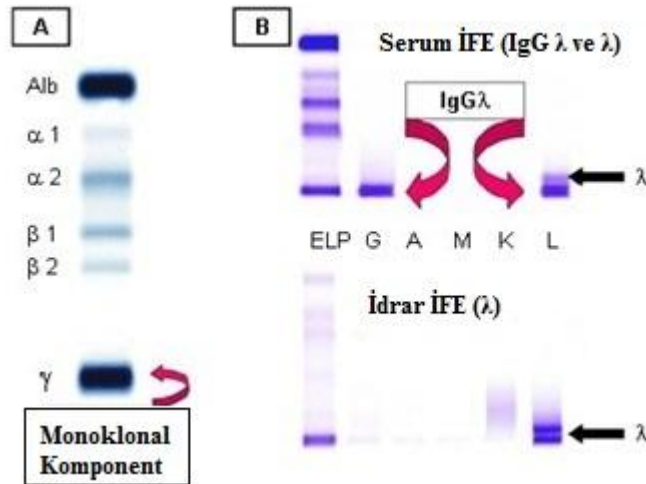
- Hiperkalsemi (hyperCalcemia): serum kalsiyum düzeyi $>11,5$ mg/dl (2,88 mmol/l)

- Böbrek yetmezliği (**R**enal insufficiency): serum kreatinin düzeyi >2 mg/dl (177 µmol/l)
- Anemi (**A**nemia): Hemoglobin <10 g/dl ya da normal aralığın alt sınırından 2 mg/dl'den fazla düşük olması
- Kemik hastalığı (**B**one disease): litik lezyonlar, ağır osteopeni, patolojik kırık

Klinik özellikleri nedeniyle multiple myelomadan şüphelenilen bir hastada yapılması gereken tetkikler ve rastlanan bulgular aşağıda özetlenmiştir (15).

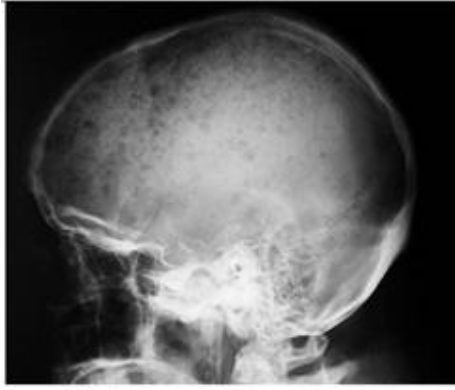
- Tam kan sayımında çoğunlukla tipik olan normokrom normositer özellikte anemi, daha az sıklıkla trombositopeni ve nötropeni gözlenir. Dolaşımdaki plazma hücreleri sayıca çok arttığında periferik kanda da görülebilmektedir.
- Eritrosit sedimentasyon hızı ve *C-reaktif protein* (CRP) düzeylerinde artış görülebilmektedir. Kemik lezyonları olmasına karşın multiple myelomada alkalen fosfataz düzeyleri normal sınırlardadır.
- Serum protein elektroforezi ve beraberinde immünfiksasyon elektroforezi (*Şekil 2*) ilk tanı anında ve hastalık takibinde son derece önemlidir. M proteini hastaların %55'inde *İmmünglobulinG* (IgG), %20'inde ise *İmmünglobulinA* (IgA) şeklinde ortaya çıkar. Vakaların %15-20'sinde M proteini serbest hafif zincir (kappa ya da lambda) şeklinde görülür ve elektroforezde negatif olarak yorumlanır. Eş zamanlı olarak serum immünglobulin düzeyleri de bilinmelidir.

- 24 saatlik idrarda protein elektroforezi multiple myelomada ilk tanı anında mutlaka değerlendirilmelidir (Şekil 2). İdrar elektroforezi ile serbest hafif zincirler tespit edilebilmektedir. Bu serbest zincirlerin 24 saatlik idrar ile atılımı da gözlenebilmektedir (Bence-Jones Protein). Ayrıca albuminüri varlığı glomerül hasarını göstermede önemlidir.
- Serum serbest zincir testi; M-protein düzeyleri çok düşük olan hastalarda serum protein elektroforezinin duyarlılığı düşük olduğu için tercih edilir. Sadece hafif zincir salgılayan hastalarda ve hafif zincir birikimini takip etmede kullanılır.
- Serum albumin ve β_2 -mikroglobulin düzeyleri evreleme için son derece önemlidir. β_2 -mikroglobulin, hastalığın şiddetini yansıtır ve böbrek yetmezliğinde düzeyleri yükselir.

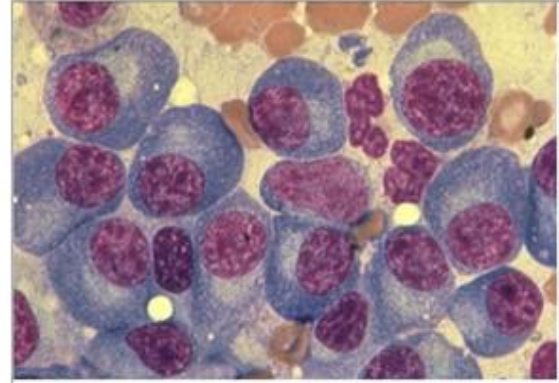


Şekil 2. A: serum protein elektroforezinde M bandı, B: serum ve idrar immün fiksasyon elektroforezi (21)
İFE: İmmün Fiksasyon Elektroforez

- Radyolojik incelemeler (X-ışını görüntüleri) litik lezyonların araştırılması için tüm hastalara uygulanır (Şekil 3). Radyoizotop kemik taraması litik lezyonların tespitinde oldukça yararlı bir yöntemdir.
- Kemik iliği biyopsisi ve aspiratı multiple myeloma tanısında mutlaka gereklidir (Şekil 4). Amiloidoz varlığını tespit için biyopsi materyali Kongo kırmızısı ile boyanır. Tüm vakalarda prognoz belirlemede önemli olan karyotipleme ve in situ hibridizasyon testleri yapılmalıdır.



Şekil 3. Lateral kafa grafisinde multiple myelomaya özgü çok sayıda litik lezyon (22)



Şekil 4. Kemik iliği aspiratı. Plazma hücrelerinin mavi stoplazmaları, eksantrik yerleşimli nükleusları ve perinükleer soluk alanlar (23)

2.1.5. Evreleme ve Prognoz

Myelomanın doğal seyri son derece heterojen olduğundan, semptomatik multiple myeloma tanısı koyulduktan sonra hangi evrede olduğunu tespit etmek takip ve tedavi planlanması açısından önem taşımaktadır (20). Uzun yıllar boyunca multiple myelomanın evrenmesi için, temel olarak çok değişkenli regresyon modelleri kullanılarak birçok sistem geliştirilmiştir (13). En çok bilinen

evreleme sistemlerinden biri 1975’te yayımlanan; anemi derecesi, böbrek fonksiyonlarında bozulma, kalsiyum düzeyleri ve kemik tutulumu derecesi gibi kriterlerden oluşan Durie-Salmon Evreleme Sistemidir (24) (Tablo3). Son dönemde “Uluslararası Myeloma Çalışma Grubu” tarafından geliştirilen serum β_2 -mikroglobulin ve albumin düzeylerinin değerlendirildiği “Uluslararası Evreleme Sistemi” (International Staging System - ISS) ise şu anda en geçerli sistem haline gelmiştir (13, 20, 25) (Tablo4). Bu sınıflama tüm yaş gruplarına ve tedavi modalitelerine uygulanabilmektedir (13).

Tablo 3. Durie-Salmon Evreleme Sistemi kriterleri (24)

Evre	Kriter	Ölçülen Myeloma Hücre Kütlesi (hücre sayısı $\times 10^{12} / m^2$)
I	Aşağıdakilerin Tümü <ul style="list-style-type: none"> Hemoglobin: >10 g/dl Normal serum kalsiyum düzeyleri (<12 mg/dl) Kemik grafisinde normal görünüm ya da tek kemik plazmositomu Düşük M-komponenti üretim hızı <ul style="list-style-type: none"> IgG <5g/dl; IgA <3g/dl İdrar elektroforezinde hafif zincir M-komponenti < 4g/24saat 	< 0,6
II	I ya da III’e uymayan	0,6-1,2
III	Aşağıdakilerden bir ya da daha fazlası <ul style="list-style-type: none"> Hemoglobin: <8,5 g/dl Serum kalsiyum düzeyleri >12 mg/dl Kemik grafisinde ilerlemiş litik kemik lezyonları Yüksek M-komponenti üretim hızı <ul style="list-style-type: none"> IgG >7g/dl; IgA >5 g/dl İdrar elektroforezinde hafif zincir M-komponenti >12 g/24saat 	> 1,2
Alt Grup Sınıflaması	A: göreceli olarak normal böbrek fonksiyonu (serum kreatinin < 2mg/dl) B: anormal böbrek fonksiyonu (serum kreatinin \geq 2mg/dl)	

Tablo 4. ISS (Uluslararası Evreleme Sistemi) kriterleri (13)

Evre	Kriter	Ortalama Yaşam Süresi (ay)
I	Serum β_2 -mikroglobulin düzeyi <3.5 mg/l ve serum albumin düzeyi \geq 3.5 g/dl	62
II	I ya da III'e uymayan	45
III	Serum β_2 -mikroglobulin düzeyi \geq 5.5 mg/l	29

Multiple myelomanın prognozunu belirlemede sadece evreleme sistemleri değil, hastalığın sitogenetik özelliklerinin de mutlaka incelenmesi gerekmektedir (26). Prognoz değerini belirlemede hastalık gelişiminde rol alan kromozomal anomalilere göre değerlendirilme yapılır fakat tüm kromozomal bozukluklar dahil edilemeyeceği gibi, hangisinin daha önemli olduğu konusu tam olarak netlik kazanmamıştır. Bu konuda farklı birçok yaklaşım ve çalışma mevcuttur. Mayo Clinic Grubu yüksek riskli myelomayı genetik özelliklere ve plazma hücresi proliferasyon hızına göre tanımlamıştır (27, 28). Buna göre yüksek risk sınıflaması üç testin sonuçlarına göre değerlendirilmiştir: plazma hücre *floresan insitu hibridizasyon* (FISH), metafaz sitogenetiği ve *plazma hücre döngüsü* (plasma cell labeling index/PCLI) (27, 28) (Tablo5).

Tablo 5. Tanı anında multiple myeloma risk sınıflaması (27)

mSMART: Aktif MM Sınıflaması	
Yüksek Risk (%25)	Standart Risk (%75)*
FISH - Del(17p) - t(4;14) - t(14;16) ya da t(14;20)	Hiperdiploidi
Sitogenetik Delesyon 13	t(11;14)
Sitogenetik Hipodiploidi	t(6;14)
PCLI \geq 3%	

*t(4;14), β_2 -mikroglobulin <4 mg/l ve Hb ≥ 10 g/dl olan hastalar intermediate risk grubunda yer alabilir

mSMART: Stratification for Myeloma and Risk-Adapted Therapy, FISH: Floresan Insitu Hibridizasyon, PCLI: Plasma Cell Labeling Index, Hb: hemoglobin

Risk belirlemede FISH daha çok bilgi sağlayacağından öncelik taşımaktadır. β_2 -mikroglobulin, albümin, laktat dehidrogenaz (LDH) gibi diğer laboratuvar parametreleri özellikle standart risk grubunda ek risk değerlendirmesine katkıda bulunur (27, 28). Bunun yanı sıra plazma hücrelerinin immunglobulin sentezi sırasında, ağır zincirler ile eşleşmeyen fazla orandaki hafif zincirlerin dolaşıma geçmesiyle oluşan “serbest hafif zincirler” de son dönemde prognozda önem kazanmaya başlamıştır. Yapılan çalışmalarda bazal serbest hafif zincir düzeylerinin ve kappa/lambda serbest hafif zincir oranının yeni tanı almış aktif myelomalı hastalarda sağkalım için prognostik faktör olduğu tespit edilmiştir (29).

2.1.6. Tedavi

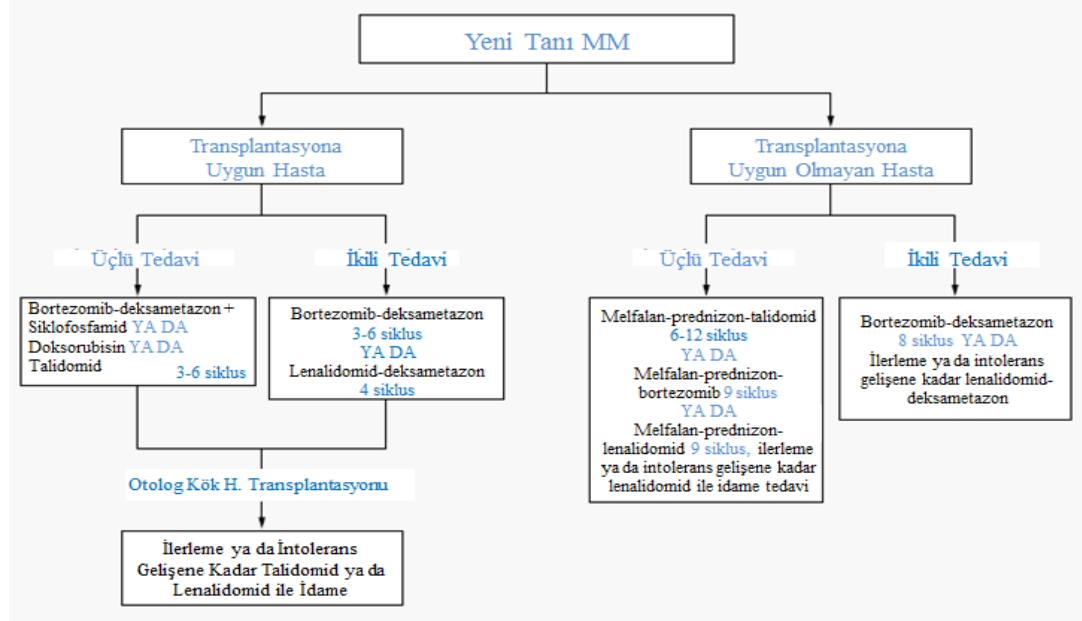
Multiple myeloma tedavisi hastalığın hangi aşamada olduğuna bakılarak planlanır. Semptomatik myelomaların hemen tedavi edilmesi gerekirken, asemptomatik myelomada klasik kemoterapi yöntemlerinin fayda sağlamadığı yönünde çalışmalar olması nedeniyle klinik gözlem ile takip edilmesinin daha doğru olduğu düşünülmektedir (30, 31).

Tedavi planlarken temel başlangıç noktası hastanın tanı anındaki yaşıdır (32). Güncel veriler 65 yaşından genç olan ve mevcut kardiyak, pulmoner, renal ya da hepatik disfonksiyonu olmayan hastalarda tedavinin talidomid, lenalilomid ya da bortezomib indüksiyonu ile başlayıp hematopoietik kök hücre transplantasyonu ile devam edilmesi yönündedir (33). Eşlik eden hastalıkları olan hastalarda ya da yaşlı hastalarda ise toksik etkileri azaltmak ya da tedavide devamlılık sağlamak için azaltılmış yoğunluklu otolog kök hücre transplantasyonu gibi daha az yoğun tedaviler uygulanır (17, 34).

Tedavi değerlendirilirken tam cevap hızlarına bakılmalı ve idame tedavi ile devam edilmelidir (17). Devamlı tedavi yaklaşımı ile tümörde küçülmenin en üst düzeyde olması sağlanır (17). Otolog transplantasyonun ardından bortezomib ya da lenalidomid bazlı konsolidasyon tedavisi protokolleri tam cevap oranını ciddi anlamda artırmaktadır (34) ve otolog transplantasyona tam cevap veren daha genç hastalarda toplam sağkalım süreleri uzamıştır (35).

Yeni tanı almış multiple myelomada tavsiye edilen tedavi yaklaşımı *Tablo 6*'da özetlenmiştir (17).

Tablo 6. Yeni tanı almış multiple myelomada önerilen tedavi şeması (17)



2.1.7. Tedaviye Cevap

2006 yılında “Uluslararası Myeloma Çalışma Grubu” tarafından tedaviye cevap kriterleri yayınlanmıştır (36) (Tablo7).

Tablo 7. Tedaviye cevap kriterleri (36)

Cevap Grubu	Cevap Kriterleri
Mükemmel Tam Yanıt	<ul style="list-style-type: none"> Tam yanıt kriterlerine ek olarak Normal serbest hafif zincir oranı Akım sitometrisinde fenotipik olarak plazma hücrelerinin yokluğunun gösterilmesi
Tam Yanıt	<ul style="list-style-type: none"> Serumda ve idrarda immünfiksasyon negatif VE Kemik iliğinde plazma hücreleri <% 5 VE Yumuşak doku plazmositomları yok
Çok İyi Kısmi Yanıt	<ul style="list-style-type: none"> Serum ve idrar M-proteini elektroforezle saptanamıyor fakat immünfiksasyon ile saptanabiliyor YA DA Serum M-proteininde \geq% 90 azalma VE 24 saatlik idrar M-proteininde \geq% 90 veya <100 mg azalma olması
Kısmi Yanıt	Serum M-proteininde \geq % 50 azalma YA DA 24 saatlik idrar M-proteininde \geq %90 veya <200 mg azalma
Stabil Hastalık	Tam yanıt, çok iyi kısmi yanıt, kısmi yanıt ya da progresif hastalık kriterlerinden hiçbirini karşılamıyor olma

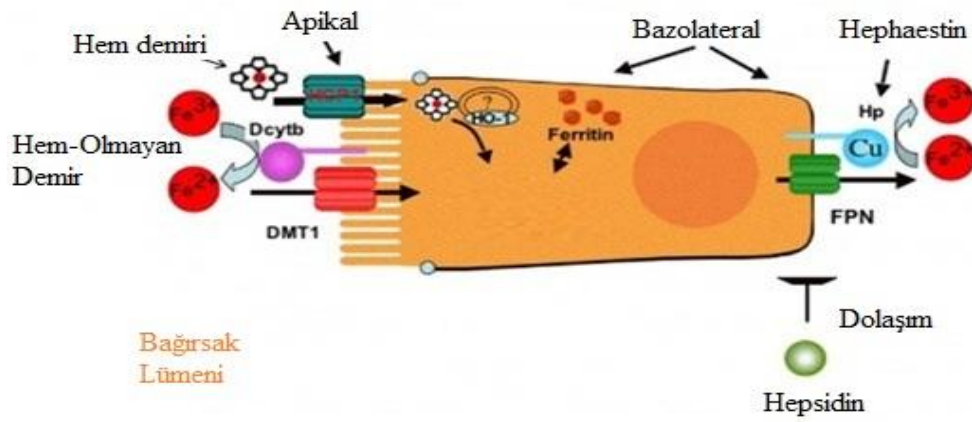
2.2. Demir

Demir neredeyse tüm canlı organizmalar için temel nitelikte bir elementtir ve eritrositlerde hemoglobin sentezi, oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları ve hücrel proliferasyon gibi birçok önemli biyolojik süreçte rol alır (4). Vücuttaki toplam miktarı yaklaşık olarak 3-4 g olup bunun üçte ikisi eritrosit yaşam döngüsü içinde yer alırken, geri kalanı da depo formu olarak saklandığı için bağırsaklardan emilen ve dolaşıma salınan demir miktarı 1-2 mg/gün civarındadır (3). Vücutta demir atılımı için özel bir mekanizma mevcut olmadığından uzun dönem transfüzyon gerektiren durumlarda (talasemi, orak hücreli anemi, Diamond Blackfan Sendromu gibi genetik kökenli anemiler ile aplastik anemi, myelodisplastik sendromlar gibi kemik iliği yetmezliği ile seyreden durumlar) demir vücutta birikmeye başlar (4). Hücre içinde biriken demir, serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre ölümüne yol açar (3).

2.2.1. Demir Metabolizması

Vücuda alınan demir, hem demiri ve hem-olmayan demir olmak üzere ikiye ayrılır (4). Bitkilerden köken alan ve başlıca inorganik ferrik (Fe-III) formda bulunan hem-olmayan demir; *duodenal sitokrom b* ile ferröz (Fe-II) forma indirgendikten sonra *Divalan Metal Taşıyıcı-1 (DMT1)* ile enterositlere girer (37). Hem demiri ise et kaynaklıdır ve hem taşıyıcı bir protein ile enterositlere girdikten sonra *hem oksijenaz-1* ile parçalanarak demir serbest hale gelir (4). Enterositin luminal kenarına gelen ferröz demir; ferroportin sayesinde dışarıya salınır ve hemen burada enterosit duvarında bulunan seruloplazmin analogu bir molekül

olan hephaestin ile ferrik forma yükseltgenip dolaşıma salınır (38) (Şekil 5). Dolaşımdaki demir, her biri iki ferrik demir bağlayabilen karaciğer kaynaklı transferrin molekülü ile taşınır (39).



Şekil 5. Vücuda alınan demirin dolaşıma geçmesi (40)

Dcytb: duodenal sitokrom b, DMT-1: divalent metal taşıyıcı-1, HO-1: hem oksijenaz-1, FPN: ferroportin

Transferrine bağlanmış olan demir, kemik iliğine eritropoez için yönelir (4). Kemik iliğinde hemoglobin sentezi için yüksek miktarda demire ihtiyaç vardır (4). Transferrine bağlı demir kemik iliğine ulaştığında burada bulunan eritroblast kaynaklı *Transferrin Reseptör 1* (TfR1) ile eritroblast içine alınır (4). Bu demir mitokondriye transfer edilerek hem halkasının sentezinde (δ -aminolevulinik asitin eklenmesiyle birlikte) kullanılır (4).

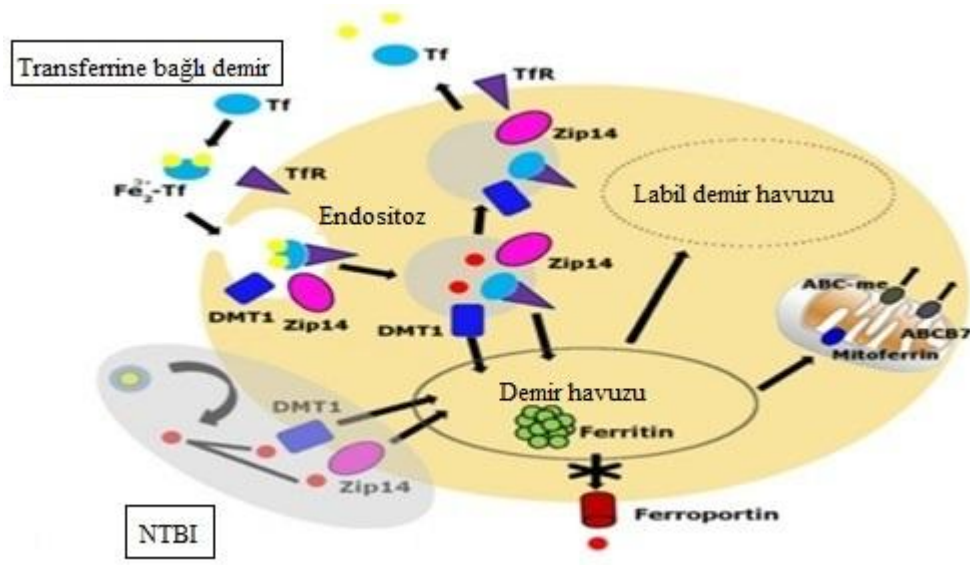
2.2.2. Plazma Demiri

Plazmadaki demir iki formda bulunur. Temel formu ferrik demiri bağlayan transferrindir. Transferrinin demir bağlama kapasitesi yüksek olduğu için, metabolizmayı demirin serbest formunun aşırı artışından korur (4). Transferrin saturasyonu %35'in üstünde olduğu sürece toksik olan serbest formun dolaşıma geçmesini önleyebilir (41). Transferrinin demir bağlama kapasitesi doygunluğa ulaştığında ortaya çıkan form ise bağlı olan demirden çok daha toksik olan "transferrine bağlı olmayan demir"dir (NTBI) (4). Son derece kararsız bir molekül olan NTBI ciddi oksidatif hasara neden olabilmektedir (4). Hücreye alımı transferrin bağımlı olmadığından kolayca organlara yayılım gösterebilmektedir (42). NTBI'nın ortaya çıktığı durumlar arasında; genetik kökenli anemiler, kemik iliği yetmezliği ile seyreden patolojiler gibi düzenli transfüzyon gerektiren tablolar ve buna bağlı olarak eritrositlerin retiküloendotelyal sistem hücreleri tarafından parçalanması sonucu demir yüklenmesinin meydana gelmesi başı çekmektedir (4). Bu nedenle demir şelasyonunu temel alan tedavi yaklaşımları organ disfonksiyonlarını önlemede etkili olabilmektedir.

2.2.3. Depo Demiri

Demirin depolandığı başlıca organ karaciğerdir (4). Dolaşımdaki demirin hepatositlere alınması fizyolojik şartlarda transferrine bağlanarak, aşırı yüklenme durumlarında ise NTBI aracılığı ile gerçekleşmektedir (37). Transferrin bağlı demir, reseptöre bağlanıp hücre içine endositozla alınır (4). Oluşan bu

kompleksten endozom pH'si asidik olduğunda demir salınırken geride kalan bileşik tekrar hepatosit yüzeyine yeniden kullanım amaçlı döner (4). NTBI'nın hepatosite alımı ise DMT1 ve ZIP14 gibi moleküllerle olmaktadır (4) (Şekil 6).



Şekil 6. Hücreye demir alınımı (43)

Tf: transferrin, TfR: transferrin reseptörü, DMT: divalent metal taşıyıcı-1, NTBI: transferrine bağlı olmayan demir

Demir dokularda birçok farklı formda bulunabilir. Sekonder lizozomlarda, kısmen deproteinize olmuş agregat halindeki ferritin *hemosiderin* adını alır (44). Başlıca karaciğer, dalak ve kemik iliğinde bulunan hemosiderinden demir salınımı yavaştır (44). İskelet kası ve kalp kasında bulunan depo formu olan *myoglobin*, hemoglobin benzeri yapıdadır ve temel fonksiyonu kaslara oksijen taşımaktır (44). Hücre içinde bulunan *labil demir havuzu* (LIP) adlı form biyolojik olaylara yardımcı özellik gösterir (4). Ferritinin koruyucu kapasitesi aşıldıkça miktarı arttığı

zaman sitotoksik ve karsinojenik özellik gösterebilen LIP'in büyük kısmı serbest ferrik demir içerirken, küçük bir miktarı oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları ile Fenton reaksiyonundan sorumlu olan ferröz demir halinde bulunur (4).

Demirin başlıca depo formu ise ferritin molekülüdür. Stoplazmik bir protein olan ferritinin iç kısmında demir bulunurken, dış kısmı farklı oranlarda ağır ve hafif zincir kombinasyonlarından oluşan protein bir kılıf ile çevrilidir (4). Demir eksikliği durumlarında depolanan demir salınarak, serum demir düzeylerinin normal aralıkta tutulması sağlanır (4). Vücutta karaciğer, dalak, kemik iliği gibi birçok hücrede mevcut olan ferritinin en önemli özelliği; iyonik hale geldiğinde oksidatif stres oluşturan serbest demirden hücreleri koruyucu olmasıdır (44). Bunu sağlayan; ferritin sentezini posttranskripsiyonel olarak kontrol eden ve hücredeki demir miktarı arttığında ferritin sentezini aktive eden *Demir Düzenleyici Elementi Bağlayan Protein* (IRP) adındaki stoplazmik proteindir (45).

Ferritin serumda son derece düşük konsantrasyonlarda bulunabilmektedir (4). Nasıl üretildiği tam olarak bilinmemekle birlikte günümüzde toplam vücut demir depolarını tahmin etmede en kullanışlı yöntem serum ferritin ölçümü olarak kabul edilmektedir (4). En önemli dezavantajı ise düzeylerinin başta akut/kronik inflamasyon olmak üzere birçok durumdan etkilenmesidir (4). Düşük serum ferritini vücutta demir yetmezliği ve demir eksikliğinin en erken evresinde izlenebilirken negatif akut faz reaktanı olması nedeniyle inflamasyonda da düşmekteyken; yüksek serum ferritini ise demir yüklenmesi, kollajen hastalıklar, böbrek hastalıkları, kalp hastalıkları ve maligniteler ile ilişkili olabilmektedir (46).

Bu nedenle serum ferritin düzeyleri yorumlanırken dikkatli olunmalı ve tüm bu faktörler göz önünde tutulmalıdır.

2.2.4. Demir Yüklenmesi

Demir yüklenmesi; birçok organda reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı miktarda üretilmesine bağlı olarak hücre ölümü, fibroz ve karsinogenez yoluyla hasar meydana getirmektedir (4). Demirin reaktif oksijen türleri meydana getirmesindeki başlıca mekanizma; hidrojen peroksit ve süperoksitin bir araya gelerek hidroksil radikali oluşturmasına dayanan Fenton reaksiyonudur (47). Demir yüklenmesi durumlarında lipid peroksidasyon ürünlerinin artarak oluşturduğu lipid bazlı radikaller; hidroksil radikalinden daha uzun yarılanma ömrüne sahip olup kronik hücre hasarı ve DNA hasarı yapma kapasiteleri daha yüksektir (4).

Demir yüklenme tabloları genetik ve kazanılmış olarak iki gruba ayrılabilir. En yaygın genetik nedenlerden biri karaciğer, kalp, beyin ve endokrin organlarda demir depolanmasının görüldüğü “herediter hemokromatoz” hastalığıdır (4). Kazanılmış demir yüklenmesinin en sık nedeni ise talasemi, orak hücreli anemi ve klasik tedavilere direnç gösteren anemiler gibi ağır anemilere bağlı uzun süreli kan transfüzyonuna ihtiyaç olmasıdır (4). Bu hastalarda inefektif eritropoez ve devamlı transfüzyona bağlı demir birikmesi sonucu hepatik yetmezlik, kardiak yetmezlik ve buna bağlı ani ölüm tabloları, pankreatik beta hücrelerinin etkilenmesine bağlı glukoz intoleransı ve Diabetes Mellitus gibi

organ yetmezlik durumları görülmektedir (3). Uzun süreli transfüzyona bağlı bir takım endokrin bozukluklar da (puberte bozuklukları, tiroid fonksiyonu bozuklukları) ortaya çıkmaktadır (48). Bunun dışında kronik hepatit C, alkolik karaciğer hastalığı, non-alkolik hepatosteatoz, insülin rezistansı gibi durumlarda da vücut demir dağılımındaki bozulmaya bağlı değişiklikler görülebilmektedir (4).

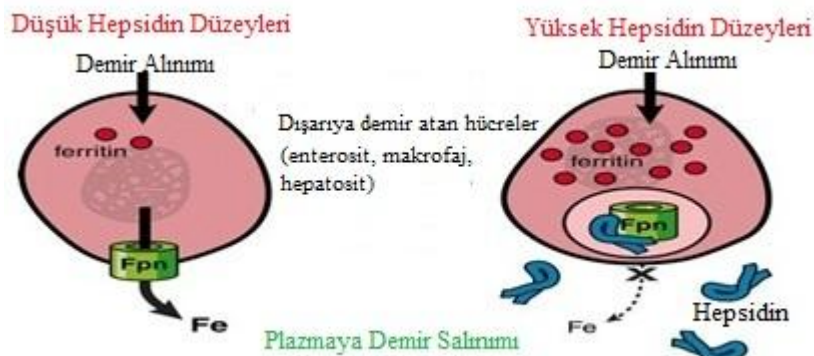
Kan transfüzyonu ve demir yüküyle ilgili birçok çalışma yapılmaktadır. Talasemi hastalarında yapılan çalışmalarda kronik kan transfüzyonu ile serum ferritin düzeyleri arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (49). Kemik iliği yetmezliği nedeniyle transfüzyona bağlı olan hastalarda yapılan çalışmalarda organ disfonksiyonu ile serum ferritini arasında benzer bir ilişki olduğu, bir çalışmada da serum ferritin düzeylerinin 1000 ng/ml'den yüksek olan hastalarda kardiyak ve hepatik komplikasyonların daha sık olduğu gösterilmiştir (50). 1000 ng/ml serum ferritin değerinin transfüzyona bağlı demir yüklenmesi durumlarında şelasyon tedavisine başlamak için gerekli olan eşik değer olduğu yönünde kılavuzlar bulunmaktadır (51). Bir çalışmada multiple myelomalı hastalarda toplam sağkalımın, ferritin düzeyleri artmış grupta normal olan gruba göre daha kısa olduğu görülmüş ve yüksek ferritin düzeylerinin mortalite için bağımsız bir belirteç olabileceği gösterilmiştir (52).

2.2.5. Hepsidin

Karaciğerde sentezlenen, 25 aminoasitlik bir peptid olan hepsidin ilk olarak plazma ultrafiltratından izole edilmiş ve *Karaciğerde Eksprese Edilen Antimikrobiyal Peptid-1 (liver-expressed antimicrobial peptide / LEAP-1)* olarak

tanımlanmıştır (53). Daha sonra idrardan izole edilmiş, karaciğer kaynaklı olması ve antimikrobiyal özellik göstermesi nedeniyle hepsidin adını almıştır (54). Hepsidin, öncülü olan preprohepsidin hepatositler tarafından üretilmekte ve 19q13.1 kromozomunda yer alan HAMP geni tarafından kodlanmaktadır (55). Preprohepsidin önce enzimatik yıkım yolu ile 64 aminoasitlik pro-hepsidin molekülüne (56), ardından pro-bölgesinin ortadan kaldırılması ile biyoaktif olan ve disülfid bağı içeren hepsidin-25 peptidine dönüşür (54). Plazmaya salınan hepsidin idrar ile vücuttan uzaklaştırılır (56).

Hepsidin diyetle alınan demirin bağırsaktan emilimini ve makrofajların membranında bulunan ferroportin isimli demirin dışarı atılmasını sağlayan proteinin ekspresyonunu düzenler (8). Enterositlerde temel olarak DMT-1 transkripsiyonunu inhibe ederek hücreye demir alınmasını engeller (9). Makrofajda ise ferroportinin hücre içine alınarak degrade olmasını sağlar ve böylece dolaşıma demir salınımı azaltılmış olur (8) (Şekil 7).



Şekil 7. Hepsidin'in etki mekanizması (57)

FPN: ferroportin

Vücutta demir dengesi temel olarak kemik iliğinin eritopoez durumu, doku oksijen dağılımı, demir depolarının durumu ve inflamasyona bağlı olarak düzenlenir (58). Hepsidin, doku demir dağılımı ve demir emilimini kontrol ederek tüm bu düzenleyici faktörlerin kesiştiği nokta olması nedeniyle önem kazanmıştır (59). Artmış eritropoietik aktivite ve azalmış doku oksijen dağılımı hepsidin üretimini baskılayıp demir emilimini uyarıcı özellik gösterirken, demir depolanması ve inflamasyon tablosu ise hepsidin sentezi üzerinde pozitif etki yapmaktadır (59). Anemi ve hipoksi durumları; *Kemik Morfogenetik Protein SMAD* (BMP-SMAD), *Janus Kinaz/Sinyal İletici ve Transkripsiyon Aktive Ediciler* (JAK STAT) ve *Hipoksi ile İndüklenebilen Faktör* (HIF) yolu gibi birçok sinyal iletim yolağını aktive ederek hepsidini kodlayan HAMP geni üzerinden etki gösterip hepsidin sentezini azaltırken (60), demir yüklenmesi ise hepatosit transkripsiyon faktörünü aktive ederek hepsidin ekspresyonunu artırır (61). Bu nedenle herediter hemokromatoz (62), demir yüklenmesi tablosu (63) ya da inflamasyon anemisi (64) gibi durumlarda hepsidin üretimindeki bozukluklara bağlı olarak demir dengesinde bozulmalar meydana gelmektedir. İnflamasyon sırasında salınan IL-6'nın hepsidin üretimi için gerekli olduğu ve hepsidin kronik hastalık anemisi gelişiminde kilit bir rol oynadığı gösterilmiştir (64). Dolaşımdaki hepsidinin başlıca kaynağı karaciğer olmakla beraber birçok doku da hepsidin sentezine katkıda bulunmaktadır (56).

Hepsidin düzeylerinin ölçülmesi; demir yüklenmesinin genetik ve kazanılmış formlarının ayırt edilmesinde (65) (*Tablo8*), serum ferritin ve transferrin saturasyonu gibi klasik demir parametrelerinin her zaman güvenilir

olmadığı inflamasyon varlığında demir eksikliğinin tespitinde ve eritropoezi uyaran tedavi ajanlarıyla tedaviye cevabın değerlendirilmesinde kullanışlı olabilmektedir (59). Ayrıca transfüzyona bağlı demir yüklenmesinin olduğu durumlarda hepsidin düzeylerinin normalde olması gerekenin aksine düşük olması, parankimde demir depolanması riskinin yüksek olduğunu ve demir şelasyon tedavisi başlanması gerekliliğini gösterebilmektedir (59).

Tablo 8. Anemi olmaksızın ferritin yüksekliği ile karakterize genetik ve kazanılmış bozukluklarda hepsidin düzeyleri (59)

Genetik Bozukluk	Kalıtım	Gen	Transferrin Saturasyonu	Demir Yüklenmesi	Hepsidin Düzeyleri
Tip 1 Hemokromatoz	OR	HFE	Yüksek	Parankimal	Düşük (ferritine göre)
Tip 2a Hemokromatoz	OR	HJV	Yüksek	Parankimal	Düşük
Tip 2b Hemokromatoz	OR	HAMP	Yüksek	Parankimal	Tespit edilemiyor
Tip 3 Hemokromatoz	OR	TFR2	Yüksek	Parankimal	Düşük
Tip 4a Hemokromatoz	OD	SLC40A1	Düşük/Normal	Retikuloendotelyal	Yüksek
Tip 4b Hemokromatoz	OD	SLC40A1	Yüksek	Parankimal	Yüksek
HHCS	OD	L-FT IRE	Normal	Yok	Belli değil
Benign hiperferritinemi	OD	L-FT	Normal	Yok	Belli değil
Kazanılmış Bozukluk					
İnflamasyon			Düşük	Retikuloendotelyal	Yüksek
Kronik Karaciğer Hastalığı			Değişken	Retikuloendotelyal & Parankimal	Değişken
Metabolik Sendrom			Düşük/Normal	Retikuloendotelyal & Parankimal	Normal/ Yüksek
Erişkinde Transfüzyona Bağlı Demir Yüklenmesi			Değişken	Retikuloendotelyal & Parankimal	Değişken

TF: transferrin, OR: otozomal resesif, OD: otozomal dominant, HJV: hemojuvelin, TFR2: transferrin reseptör 2, SLC40A1: ferroportin, HHCS: hereditör hiperferritinemi/katarakt sendromu, L-FT IRE: L-ferritin'in iron responsive element'i, L-FT: L-ferritin

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; Gazi Üniversitesi Gazi Hastanesi Merkez Biyokimya-Hormon Laboratuvarı ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında Mart 2011 ile Ağustos 2012 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Bilimsel araştırma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan izin alınmıştır (33/23.03.2011).

3.1. Hasta grupları

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hematoloji Bilim Dalı'nda multiple myeloma tanısı alan erişkin 40 hasta (24 erkek, 16 kadın) çalışmaya alınmıştır. Hastaların yaş ortalaması 57,1 (± 9) olarak hesaplanmıştır. Hastalar Durie-Salmon Evreleme Sistemi ve ISS'ye göre evrelendirilmiş, evreleme ve prognoz değerlendirmede kullanılan tanı anı ve takip değerleri dosyalarından elde edilmiştir. ISS'ye göre evreleme yapılırken β_2 -mikroglobulin kullanıldığı için, tanı anı β_2 -mikroglobulin değerleri olmayan hastaların (n=3) evrelendirilmesi yapılamamıştır. Hastaların evreleri *Tablo 9*'da sunulmuştur.

Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için, dosyalarından elde edilen böbrek fonksiyon testlerine ek olarak *hesaplanmış GFR* (eGFR) değeri "Kronik Böbrek Hastalıkları Epidemiyoloji Birliği" (CKD-EPI)'nin tavsiye ettiği formül kullanılarak bulunmuştur (66).

Kontrol grubu olarak check-up polikliniğine başvuran, herhangi bir hastalığı olmayan ve ilaç kullanmayan, yaş ve cinsiyet eş; sağlıklı erişkin 29

gönüllü (18 erkek, 11 kadın) belirlenmiştir. Kontrol grubunun yaş ortalaması 54,7 (± 3) olarak hesaplanmıştır.

Toplanan numunelerden 3800 rpm'de 7 dakika süresince santrifüj edilerek ayrılan serumlar, çalışılacakları zamana kadar -80°C 'de saklanmıştır.

Tablo 9. Hastaların evrelerine göre dağılımı

Durie-Salmon Evreleme Sistemi	
Evre	Sayı (Yüzde)
IA	4 (%10)
IB	0 (%0)
IIA	4 (%10)
IIB	0 (%0)
IIIA	25 (%62,5)
IIIB	7 (%17,5)
Uluslararası Evreleme Sistemi (ISS)	
Evre	Sayı (Yüzde)
I	11(%29,7)
II	9 (%24,4)
III	17 (%45,9)

3.2. Kullanılan aletler

- Otomatik pipet (BRAND-Transferpette®, ISOLAB, HTL-LABMATE, Medispec)
- ELISA plate okuyucu (TECAN-SUNRISE)
- ELISA plate yıkayıcı (TECAN)
- Vorteks (IKA® MS 3 digital)
- Manyetik karıştırıcı (Assistent, Magnetmix, TMA2071)
- Cam malzemeler

3.3. Yöntemlerin uygulanması

3.3.1. Serum Demir Ölçümü

Serum demir düzeyleri spektrofotometrik yöntem kullanılarak otoanalizör ile (ARCHITECTc16000, Abbott, IL, USA) çalışılmıştır. Testin çalışma prensibi; asidik ortamda transferrinden salınan ferrik demirin, hidroksilamin hidroklorid etkisiyle ferröz forma dönüşmesine dayanır. Ferröz demirin *Ferene*(3-(2-pyridyl)-5,6-bis-[2-(5-furyl sulfonic acid)]-1,2,4-triazine) ile reaksiyona girerek oluşturduğu renkli kompleksin absorbansı 604 nm'de ölçülür. Bulunan absorbans değeri, serumdaki demir konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.3.2. Serum Doymamış Demir Bağlama Kapasitesi Ölçümü

Serum *Doymamış Demir Bağlama Kapasitesi* (UIBC) düzeyleri spektrofotometrik yöntem kullanılarak otoanalizör ile (ARCHITECTc16000, Abbott, IL, USA) çalışılmıştır. Transferrinin bağlanma bölgelerinin, içindeki demir miktarı bilinen alkali tampon ile doyurulması prensibiyle çalışan metotta transferrinin kapasitesi dolduktan sonra serbest formdaki demir ferröz forma indirgenir. *Ferene* ile kompleks oluşturan redükte serbest demirin absorbansı 580-600 nm arasındaki dalga boyunda ölçülerek konsantrasyonu hesaplanır. Eklenen toplam demir miktarından ölçülen serbest miktar konsantrasyonu çıkartıldığı zaman doymamış demir bağlama kapasitesi bulunmuş olur.

3.3.3. Serum Demir Bağlama Kapasitesi (SDBK) Ölçümü

Serum demir konsantrasyonu ile doymamış demir bağlama kapasitesi konsantrasyonunun toplanması ile elde edilir.

SDBK: Serum demir konsantrasyonu + Serum UIBC konsantrasyonu

3.3.4. NTBI Ölçümü

Serum NTBI düzeyleri Chua ve arkadaşlarının (67) tarif ettikleri yöntemle göre ölçülmüştür. 100 µl tris-karbonat kobaltat (III) trihidrat solüsyonu 450 µl serum üstüne eklenip 37 C° de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ardından nitriloasetik asit (Sigma-Aldrich®, St Louis, MO, USA) eklenerek son konsantrasyonun 80 mM olması sağlanmıştır. Bu karışım oda sıcaklığına 30 dakika bekletildikten sonra Centricon-30 (Merck Millipore Headquarters, Billerica, MA, USA) kullanılarak 3000 g'de 1 saat santrifüj edilmiş, elde edilen süpernatandaki demir konsantrasyonu serum demiri ile aynı yöntemle ölçülmüştür.

3.3.5. Ferritin Ölçümü

Serum ferritin düzeyleri, direkt kemilüminesan yöntemini kullanan çift taraflı sandviç (two-site sandwich) immünoassay metodu ile otoanalizörde (ADVIA Centaur®, Siemens, NY, USA) çalışılmıştır. Bu teknolojiye ferritine özgü iki adet antikor kullanılmaktadır. İlk antikor, akrinyum esteri ile işaretlenmiş poliklonal keçi anti-ferritin antikorudur. İkinci antikor ise

paramanyetik partiküller ile kovalent olarak eşleştirilmiş monoklonal fare anti-ferritin antikorudur. Otoanalizör aşağıdaki prosedüre göre işlem yapmaktadır:

- Küvetlere 25 µl numune pipetlenir.
- 100 µl Lite Reagent ve ardından 450 µl Solid Faz pipetlenip 37 C°de 7,5 dakika inkübe edilir.
- Küvetler yıkanıp bağlanmayan kısımlar uzaklaştırılır.
- 300 µl Asit Reaktifi ve Baz Reaktifi eklenerek kemilüminesan reaksiyon başlatılır.

Serumdaki ferritin miktarı ile sistem tarafından tespit edilen “relatif ışık ünitesi” (relative light units-RLUs) arasında direkt bir ilişki vardır.

3.3.6. Hepsidin Ölçümü

Serum hepsidin düzeyleri *Enzim İlişkili İmmün Test* (ELISA) metoduyla saptandı (USCN® Life Science Inc, Wuhan, China). Hepsidin düzeylerinin ELISA ile ölçümünde temel prensip şu şekildedir:

- Standartlar ve serumlar, plate üzerinde kendileri için belirlenen hepsidine spesifik antikor ile kaplanmış kuyucuklara eklenir.
- Ardından biotin ile konjuge edilmiş hepsidine spesifik antikor her kuyucuğa eklenir.
- Avidinle konjuge edilmiş enzim (Horseradish Peroxidase-HRP) tüm kuyucuklara eklenip inkübe edilir.

- Tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonunun eklenmesinin ardından oluşan komplekste (*biotin ile konjuge antikor-hepsidin-avidinle konjuge edilmiş enzim kompleksi*) renk değişimi olacaktır.
- Enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır ve oluşan renk değişimi 450 ± 10 nm'de spektrofotometrik olarak hesaplanır.

Kutu İçeriği

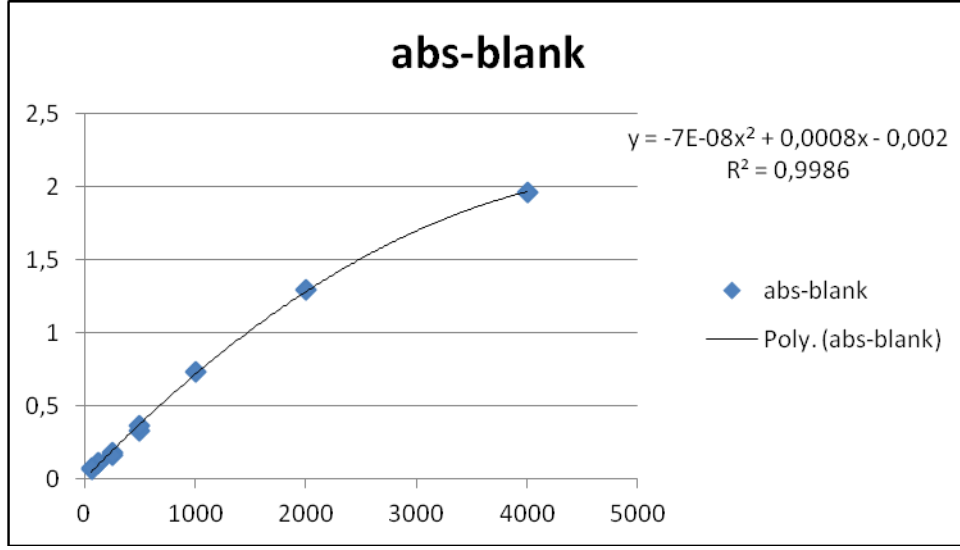
Reaktifler	Miktar	Reaktifler	Miktar
Kullanıma hazır, 9 kuyucuklu, kaplı plat	1	Yıkama Tampon Konsantresi	1 x 20 ml
Standart (liyofilize)	2	Standart Dilüenti	1 x 20 ml
Reaktif A	1 x 120 μ l	Konsantre Çalışma Dilüenti A (2x)	1 x 6 ml
Reaktif B	1 x 120 μ l	Konsantre Çalışma Dilüenti B (2x)	1 x 6 ml
T B Substrat	x 9 ml	Stop Solüsyonu	1 x 6 ml

Çalışma prosedürü şu şekildedir:

- Çalışmaya başlamadan önce numuneler 0.02 mol/l “Phosphate Buffered Saline” (PBS, pH: 7.0-7.2) ile 50 kat dilüe edilmiştir.
- Standartlar, standart dilüenti kullanarak dilüe edilmiş ve 4000 pg/ml, 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml ve 62,5 pg/ml konsantrasyonlarında hepsidin standartları elde edilmiştir. Kör (blank) olarak standart dilüenti kullanılmıştır.

1. Daha önceden hangisi olduğu belirlenmiş uygun kuyucuklara 100 µl standartlar, numuneler ve kör pipetlenir. 37 C° de 2 saat inkübe edilir.
2. Plate içeriği boşaltılır.
3. Her kuyucuğa 100 µl Reaktif A eklenir. 37 C° de 1 saat inkübe edilir.
4. Plate yıkayıcı ile 3 kez (her seferinde 350 µl yıkama tamponu ile) yıkanır.
5. Her kuyucuğa 100 µl Reaktif B eklenir. 37 C° de 30 dakika inkübe edilir.
6. Plate yıkayıcı ile 5 kez (her seferinde 350 µl yıkama tamponu ile) yıkanır.
7. Her kuyucuğa 90 µl substrat solüsyonu eklenir. 37 C° de karanlıkta 15-25 dakika inkübe edilir (en fazla 30 dakika). Substrat solüsyonu eklenmesiyle kuyucuk rengi maviye döner.
8. Her kuyucuğa 50 µl sonlandırma solüsyonu eklenir. Solüsyonun eklenmesiyle kuyucukların rengi sarıya döner.
9. Plate 450 nm'de plate okuyucuda okutulur.
10. Standartlar kullanılarak sonuçlar hesaplanır.

Standartlardan Microsoft Office 2010 Excel programı kullanılarak standart grafiği elde edilmiş ve hasta sonuçları bu grafik ile hesaplanmıştır (*Grafik 1*).



Grafik 1. Serum hepsidin standart grafiği

3.4. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler MedCalc® istatistik programında değerlendirilmiştir (Versiyon 9.2.0.1). Verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov Testi kullanılarak değerlendirilmiş; buna gore parametrik dağılım gosteren değerler ortalama \pm standart sapma (Standard Deviation: SD), non-parametrik dağılım gosteren değerler ise medyan \pm kartiller arası aralık (Interquartile Range: IQR) şeklinde belirtilmiştir. Sapan değerler değerlendirme dışı bırakılmıştır. Hasta ve kontrol değerlerinin kıyaslanması için parametrik dağılım gosteren değerler için t-testi, non-parametrik dağılım gosteren değerler için ise Mann-Whitney U Testi kullanılmıştır. Grup içi değerlerin kıyaslanmasında Kruskal-Wallis Testi kullanılmış, değerkenlerin birbirleri ile korelasyonu Spearman Testi ile hesaplanmıştır. Korelasyon katsayıları kıyaslanmaları Z-testi ile yapılmıştır. p değerinde $<0,05$ anlamlılık değer olarak kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Hastaların genel durumu ve evreleme ile ilgili parametreleri *Tablo 10*'da gösterilmiştir. Tanı anı değerleri hasta dosyalarından retrospektif olarak elde edildiği için bazı parametrelere ulaşamamıştır.

Tablo 10. Hastaların temel parametreleri

	n	Ortalama \pm SD
Tanı Yaşı	40	57,1 (\pm 9,1)
Albumin (g/dl)	40	3,7 (\pm 0,7)
β_2 -mikroglobulin (mg/l)	37	5,97 (\pm 4,24)
Kalsiyum (mg/dl)	38	9,3 (\pm 1,1)
Hemoglobin (g/dl)	40	9,98 (\pm 2,49)
RBC (10^6 hücre/ μ l)	38	3,221 (\pm 0,817)
WBC (10^3 hücre/ μ l)	39	7,186 (\pm 3,320)
Platelet (10^3 hücre/ μ l)	39	220 (\pm 105)
BUN (mg/dl)	37	23 (\pm 15)
Kreatinin (mg/dl)	34	1,25 (\pm 0,4)
eGFR (ml/dakika/1.73 m ²)	39	56 (\pm 26)
Ürik Asit (mg/dl)	31	5,9 (\pm 2,2)
Sedimantasyon (mm/saat)	32	84 (\pm 44)
LDH (U/l)	37	176 (\pm 64)

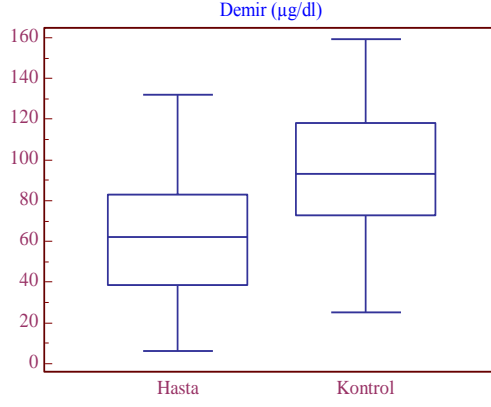
Tablo 11'de hasta ve kontrol gruplarında çalıştığımız parametrelerin kıyaslanması sunulmuştur. Parametrelerin tümünde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür (tüm testler için $p<0,05$). Hasta grubunun ortalama demir, SDBK, ferritin ve hepsidin değerleri kontrol grubunun ortalama değerleri ile kıyaslandığında sırası ile %34,7 oranında düşüklük (*Grafik2*), %22,7 oranında düşüklük (*Grafik3*), %288,1 oranında yükseklik (*Grafik4*) ve %272,5 (*Grafik5*) oranında yükseklik bulunmuştur. NTBI non-parametrik dağılım göstermekte olup medyan değerleri aynı olmasına karşılık IQR'ları farklı olduğu için istatistiksel anlam farkı gözlenmiştir ($p=0,0047$) (*Grafik6*).

Tablo 11. Hasta ve kontrol grubunun değerlendirdiğimiz parametreler açısından karşılaştırılması

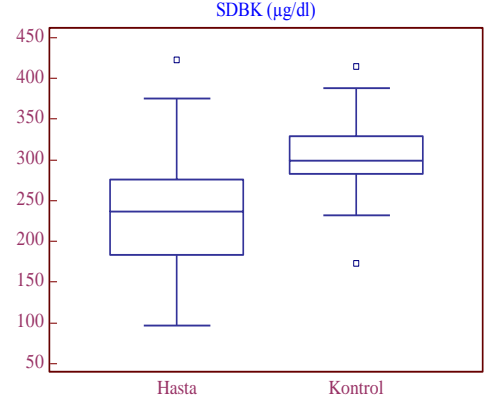
	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	<i>p</i>
Demir ($\mu\text{g/dl}$) ^a	62 ± 32	95 ± 32	0,0001
SDBK ($\mu\text{g/dl}$) ^a	235 ± 70	304 ± 49	<0,0001
Ferritin (ng/ml) ^a	379,6 ± 367,4	97,8 ± 58,3	0,0001
Hepsidin (ng/ml) ^a	252,30 ± 151,34	67,73 ± 45,39	<0,0001
NTBI ($\mu\text{g/dl}$) ^b	3 (3-4)	3 (2-3)	<0,05

^a Veriler ortalama ± SD olarak verilmiştir.

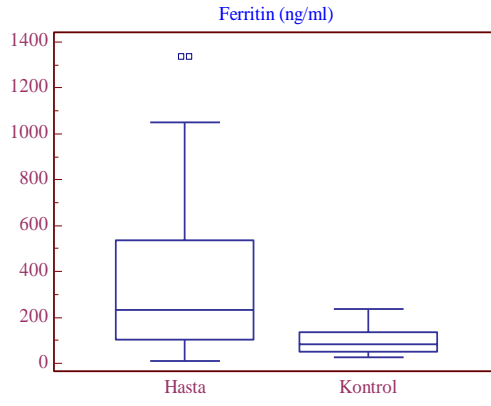
^b Veriler medyan (IQR) olarak verilmiştir.



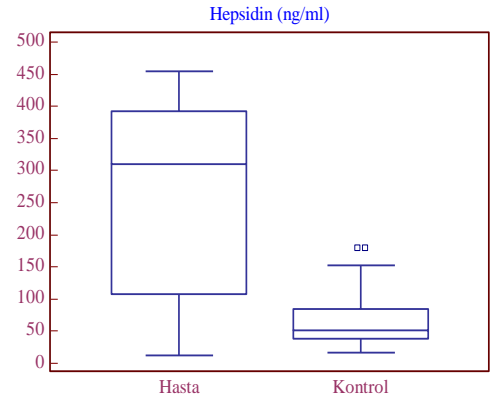
Grafik 2. Hasta ve kontrol gruplarının demir dağılımlarının kıyaslanması



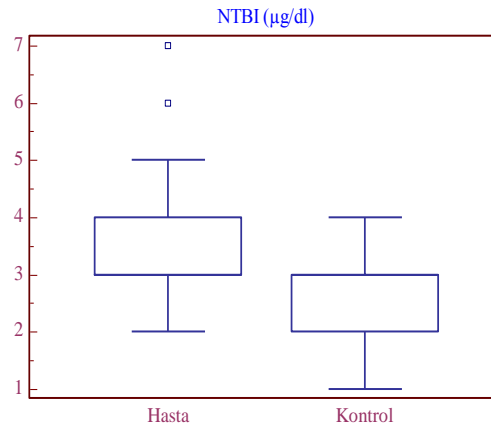
Grafik 3. Hasta ve kontrol gruplarının SDBK dağılımlarının kıyaslanması



Grafik 4. Hasta ve kontrol gruplarının ferritin dağılımlarının kıyaslanması



Grafik 5. Hasta ve kontrol gruplarının hepsidin dağılımlarının kıyaslanması

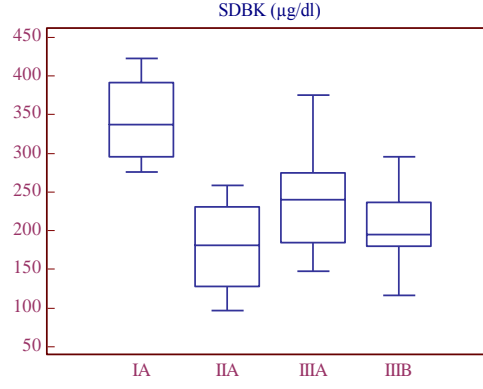


Grafik 6. Hasta ve kontrol gruplarının NTBI dağılımlarının kıyaslanması

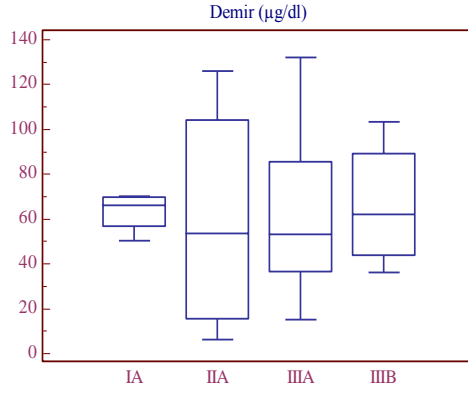
Hastalar Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre gruplandırıldığında, çalıştığımız parametrelerden evreler arasında istatistiksel anlam farkı sadece SDBK’da saptanmıştır ($p=0,0125$) (Tablo 12). Evre IA’daki hastaların medyan değerleri Evre IIA’ya göre 1,9 kat; Evre IIIA’ya göre 1,4 kat; Evre IIIB’ye göre ise 1,7 kat yüksek bulunmuştur (Grafik 7). Demir, ferritin, hepsidin ve NTBI’nın evrelere göre dağılımı Grafik 8, 9, 10 ve 11’de sırası ile görülmektedir.

Tablo 12. Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre çalıştığımız parametrelerin dağılımı

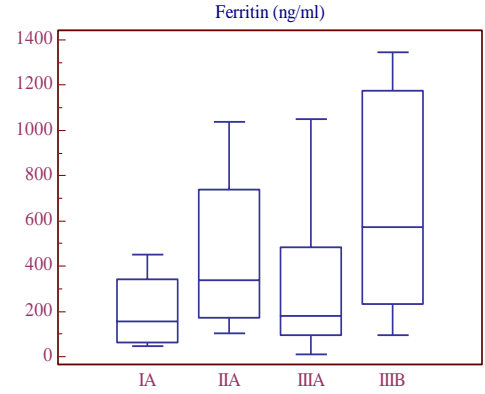
	Durie-Salmon Evreleme Sistemi								<i>p</i>
	IA		IIA		IIIA		IIIB		
	n	Medyan (IQR)	n	Medyan (IQR)	n	Medyan (IQR)	n	Medyan (IQR)	
Demir (µg/dl)	4	66 (57-70)	4	54 (16-104)	24	53 (37-86)	7	62 (44-89)	>0,05
SDBK (µg/dl)	4	337 (295-391)	4	181 (128-230)	23	240 (185-275)	7	194 (180-237)	<0,05
Ferritin (ng/ml)	4	153,25 (61,2-339,95)	4	336,75 (168,7-737,6)	23	176,8 (91,33-481,25)	7	569,1 (231,38-1173,45)	>0,05
Hepsidin (ng/ml)	4	124,58 (47,66-251,5)	4	276,21 (173,89-381,53)	25	231,7 (81,01-389,93)	7	388,23 (335,88-421,88)	>0,05
NTBI (µg/dl)	4	3 (3-3,5)	3	4 (3,25-6,25)	21	3 (3-4)	7	3 (3-4,75)	>0,05



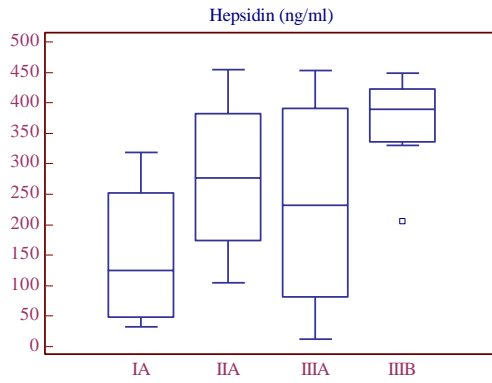
Grafik 7. SDBK'nın Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı



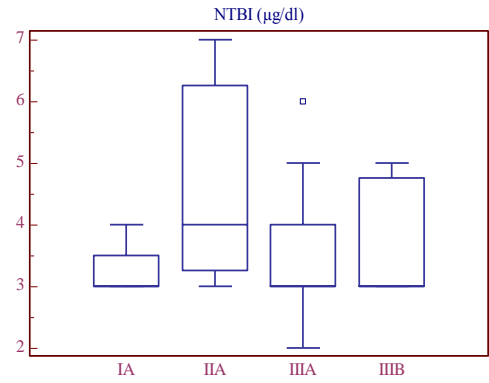
Grafik 8. Demirin Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı



Grafik 9. Ferritinin Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı



Grafik 10. Hepsidin'in Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı

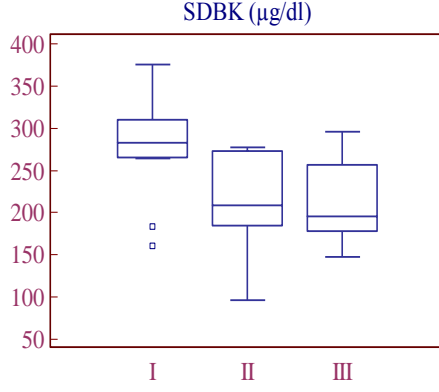


Grafik 11. NTBI'nın Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre dağılımı

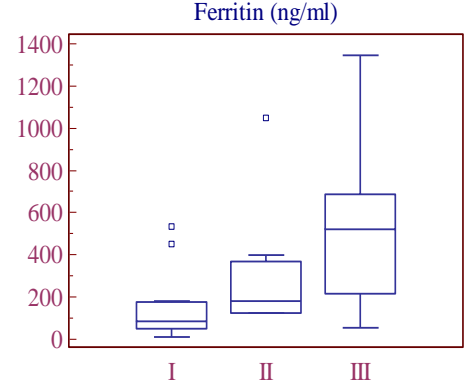
Hastalar ISS'ye göre gruplandığında, demir hariç tüm parametrelerde evreler arasında istatistiksel anlam farkı saptanmıştır (SDBK için $p=0,0196$; ferritin için $p=0,0047$; hepsidin için $p=0,0009$; NTBI için $p=0,0333$) (Tablo 13). Evre I'deki hastaların SDBK medyan değerleri Evre II'ye göre %35,6; Evre III'e göre % 44,6 yüksek olarak bulunmuştur (Grafik 12). Evre I'deki hastaların ferritin ve hepsidin medyan değerleri ise sırası ile Evre II'ye göre %55,2; %79,4; Evre III'e göre %84,5; % 83,6 oranında düşük olarak saptanmıştır (Grafik 13, 14). NTBI için Evre III'deki hastaların medyan değerleri Evre I ve II'den farklı bulunmuştur (Grafik 15). Demirin ISS'ye göre dağılımı Grafik 16'da sunulmuştur.

Tablo 13. ISS (Uluslararası Evreleme Sistemi)'ye göre çalıştığımız parametrelerin dağılımı

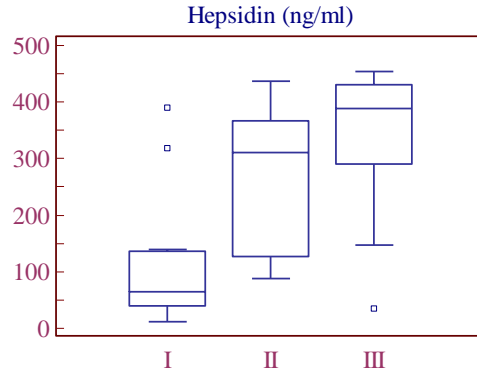
	Uluslararası Evreleme Sistemi (ISS)						
	I		II		III		p
	n	Medyan (IQR)	n	Medyan (IQR)	n	Medyan (IQR)	
Demir (µg/dl)	11	50 (43-71)	9	70 (41-87)	16	61 (28-87)	>0,05
SDBK (µg/dl)	11	282 (265-310)	9	208 (184-272)	15	195 (177-256)	<0,05
Ferritin (ng/ml)	11	80,8 (48,23-175,2)	8	180,45 (123,65-367,25)	16	521,1 (214,75-686,65)	<0,05
Hepsidin (ng/ml)	11	63,83 (39,5-136,22)	9	310,38 (125,8-365,52)	17	388,23 (289,68-429,59)	<0,001
NTBI (µg/dl)	8	3 (3-3)	8	3 (3-4)	16	4 (3-5)	<0,05



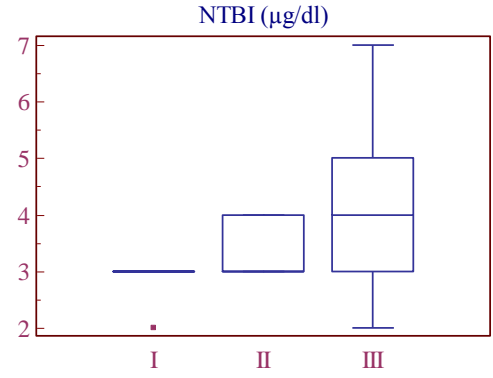
Grafik 12. SDBK'nın ISS'ye göre dağılımı



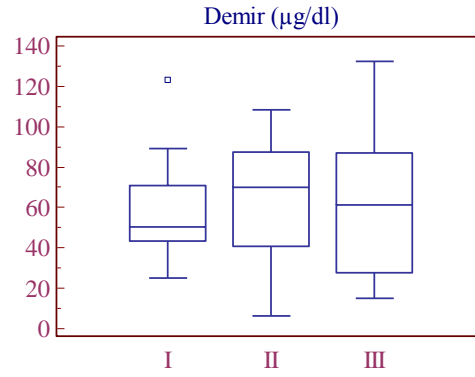
Grafik 13. Ferritinin ISS'ye göre dağılımı



Grafik 14. Hepsidin'in ISS'ye göre dağılımı



Grafik 15. NTBI'nın ISS'ye göre dağılımı



Grafik16. Demirin ISS'ye göre dağılımı

Çalışılan parametreler ve evrelemede kullanılan biyokimyasal parametreler arası korelasyonlar *Tablo 14*'de gösterilmiştir. Demir yalnızca NTBI ile korelasyon gösterirken ($r:0,377$) (*Grafik 17*), NTBI ayrıca ferritin ($r:0,434$) (*Grafik18*) ve β_2 -mikroglobulin ($r:0,357$) (*Grafik 19*) ile de korele bulunmuştur. SDBK en çok ferritin ($r:-0,515$) (*Grafik 20*) ve hepsidin ($r:-0,468$) (*Grafik 21*) ile ilişkili olup aralarında negatif korelasyon gözlenmiştir. Ferritin ve hepsidin korelasyon gösterdikleri parametreler içinde en kuvvetli korelasyonu birbirleri ile göstermişlerdir ($r:0,885$, $p=0,00$) (*Grafik 22*). Evrelendirmede kullanılan parametrelerden demir parametreleri ile en çok korelasyon gösteren değer β_2 -mikroglobulindir. β_2 -mikroglobulin, demir dışındaki tüm demir parametreleri ile korelasyon göstermiş olup en kuvvetli korelasyon hepsidin ile saptanmıştır ($r:0,504$) (*Grafik 23*). Diğer parametreler içinde albuminin SDBK ile ilişkili olduğu görülmüştür ($r:0,447$) (*Grafik 24*).

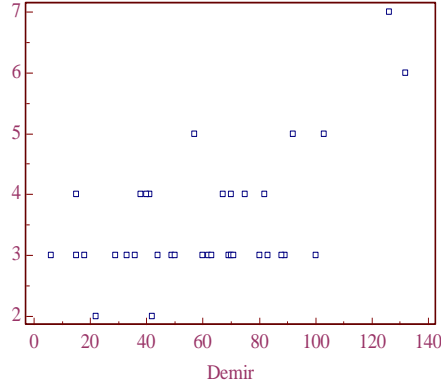
Tablo 14. Çalıştığımız parametreler ve evrelendirmede kullanılan parametrelerin birbirleri ile korelasyonu

		Demir	SDBK	Ferritin	Hepsidin	NTBI
Demir	r		0,212	0,051	0,03	0,377
	p		0,1982	0,7602	0,853	0,0281
SDBK	r	0,212		-0,515	-0,468	-0,14
	p	0,1982		0,0023	0,0044	0,4211
Ferritin	r	0,051	-0,515		0,885	0,434
	p	0,602	0,0023		0	0,014
Hepsidin	r	0,03	-0,468	0,885		0,272
	p	0,853	0,0044	0		0,113
NTBI	r	0,377	-0,14	0,434	0,272	
	p	0,0281	0,4211	0,014	0,113	
Albumin	r	0,148	0,447	-0,261	-0,114	0,069
	p	0,3631	0,0065	0,1117	0,4766	0,6869
β2-mikroglobulin	r	-0,09	0,388	0,483	0,504	0,357
	p	0,5637	0,0236	0,0049	0,0025	0,0469
Hemoglobin	r	-0,08	0,255	-0,138	-0,279	-0,102
	p	0,6217	0,1203	0,4026	0,0816	0,5521
Kalsiyum	r	0,054	0,226	0,043	-0,073	0,225
	p	0,747	0,1807	0,8003	0,6579	0,196
Kreatinin	r	0,011	0,07	0,173	0,209	-0,05
	p	0,949	0,6968	0,3367	0,2303	0,7902

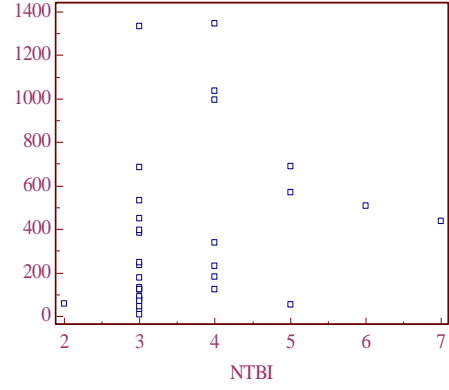
Tablo14.- Devam

		Albumin	β2-mikroglobulin	Hemoglobin	Kalsiyum	Kreatinin
Demir	r	0,148	-0,098	-0,08	0,054	0,011
	p	0,3631	0,5637	0,6217	0,747	0,949
SDBK	r	0,447	-0,388	0,255	0,226	0,07
	p	0,0065	0,0236	0,1203	0,1807	0,6968
Ferritin	r	-0,261	0,483	-0,138	0,043	0,173
	p	0,1117	0,0049	0,4026	0,8003	0,3367
Hepsidin	r	-0,114	0,504	-0,279	-0,073	0,209
	p	0,4766	0,0025	0,0816	0,6579	0,2303
NTBI	r	0,069	0,357	-0,102	0,225	-0,05
	p	0,6869	0,0469	0,5521	0,196	0,7902
Albumin	r		-0,062	0,391	0,467	0,031
	p		0,7096	0,0146	0,0045	0,8598
β2-mikroglobulin	r	-0,062		-0,41	0,109	0,403
	p	0,7096		0,0138	0,5263	0,025
Hemoglobin	r	0,391	-0,41		0,382	0,024
	p	0,0146	0,0138		0,0202	0,8908
Kalsiyum	r	0,467	0,109	0,382		0,147
	p	0,0045	0,5263	0,0202		0,4044
Kreatinin	r	0,031	0,403	0,024	0,147	
	p	0,8598	0,025	0,8908	0,4044	

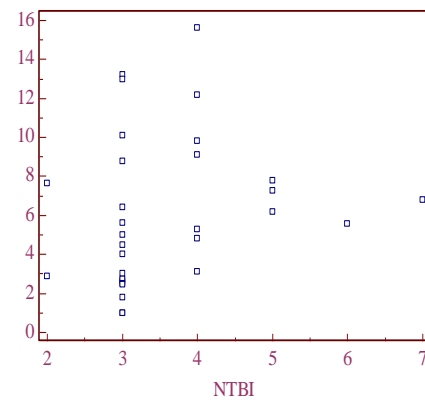
r: korelasyon katsayısı p: istatistiksel anlamlılık düzeyi



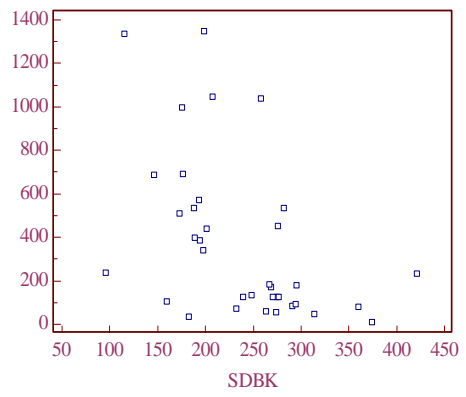
Grafik 17. Demir-NTBI regresyon eğrisi



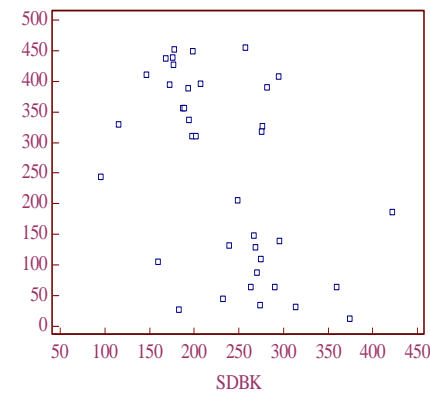
Grafik 18. NTBI-ferritin regresyon eğrisi



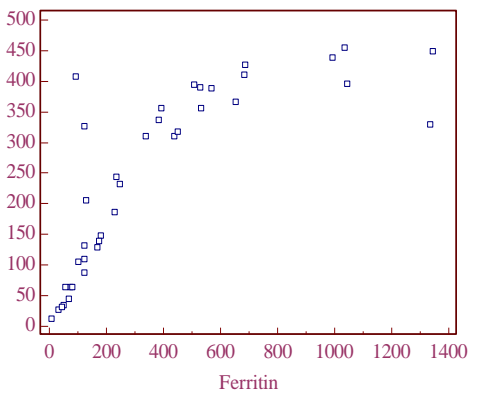
Grafik 19. NTBI- β_2 -mikroglobulin regresyon eğrisi



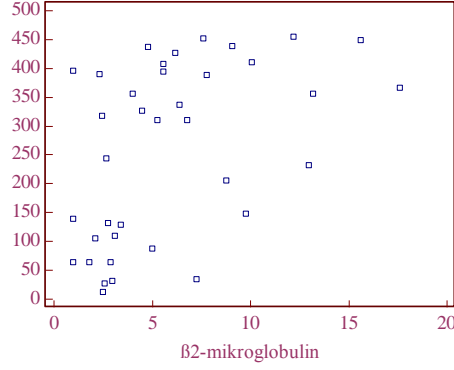
Grafik 20. SDBK-ferritin regresyon eğrisi



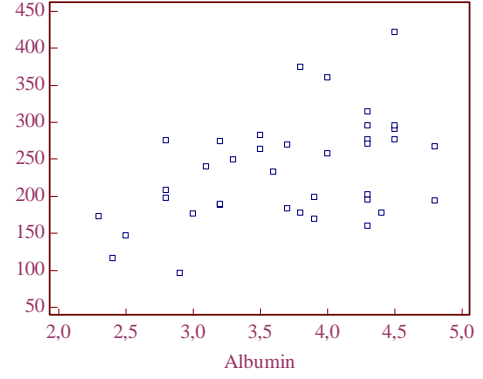
Grafik 21. SDBK-hepsidin regresyon eğrisi



Grafik 22. Ferritin-hepsidin regresyon eğrisi



Grafik 23. β_2 -mikroglobulin-hepsidin regresyon eğrisi

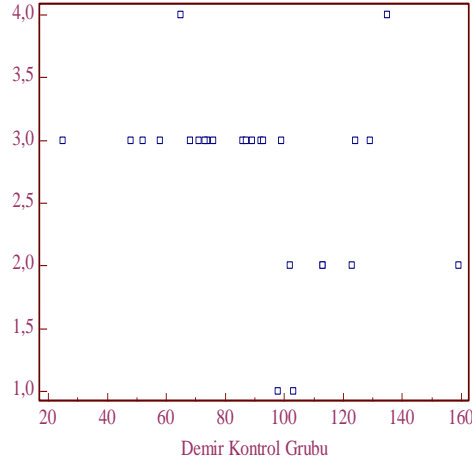


Grafik 24. Albumin-SDBK regresyon eğrisi

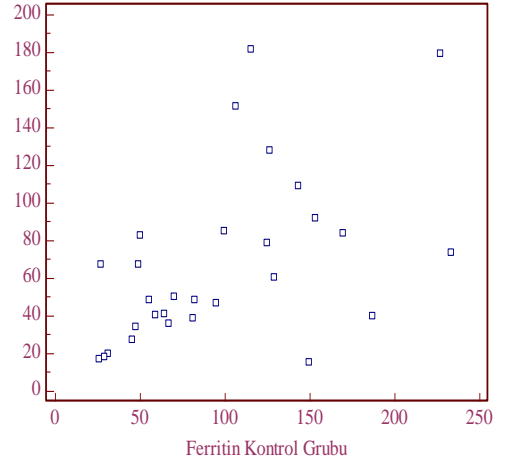
Kontrol grubunda çalışılan parametrelerinin birbirleri arasındaki korelasyon *Tablo 15*'te gösterilmiştir. Demir, NTBI ile negatif korelasyon gösterirken ($r:-0,423$) (*Grafik 25*), hasta grubundan farklı olarak ferritin ile de korelasyon göstermiş olup hasta grubunda birçok parametre ile kuvvetli korelasyon gösteren SDBK, kontrol grubunda diğer parametreler ile ilişkili bulunamamıştır. Ferritin ile hepsidin arasında da korelasyon gözlenmiştir ($r:0,539$) (*Grafik 26*). Hasta ve kontrol grubunun her ikisinde de birbirleri ile ilişkileri istatistiksel anlam gösteren değerlerin demir-NTBI ve hepsidin-ferritin olduğu görülmüştür. Bu parametrelerin korelasyon katsayıları kıyaslandığında demir-NTBI ve ferritin-hepsidin ilişkilerinin hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı derecede farklı olduğu bulunmuştur (demir-NTBI için $p= 0,0019$; ferritin-hepsidin için $p=0,0021$).

Tablo 15. Kontrol grubunda çalışılan parametrelerin birbirleri ile korelasyonu

		Demir	SDBK	Ferritin	Hepsidin	NTBI
Demir	r		-0,042	0,576	0,311	-0,423
	p		0,845	0,023	0,94	0,0346
SDBK	r	-0,042		0,043	0,254	0,097
	p	0,8245		0,8205	0,1797	0,6268
Ferritin	r	0,576	0,043		0,539	-0,057
	p	0,0023	0,8205		0,0043	0,7754
Hepsidin	r	0,311	0,254	0,539		0,099
	p	0,0994	0,1797	0,0043		0,6207
NTBI	r	-0,423	0,097	-0,057	0,099	
	p	0,0346	0,6268	0,7754	0,6207	



Grafik 25. Kontrol grubunda demir-NTBI regresyon eğrisi



Grafik 26. Kontrol grubunda ferritin-hepsidin regresyon eğrisi

5. TARTIŞMA

Multiple myeloma, anormal plazma hücrelerinin kemik iliğini infiltre etmesi ile karakterize olan bir B hücre malignitesidir (1). Kemik iliğinin normal işleyişinin bozulması sonucunda kemik ağrıları, hematopoezde bozulmaya sekonder anemi, nötropeni, lökopeni, hipogamaglobulinemi ve trombositopeni gibi durumlar, renal yetmezlik, enfeksiyonlara duyarlılık, nöropati gibi klinik tablolar görülebilmektedir (1, 14). Nedeni tam olarak bilinmemekle beraber genetik ve çevresel faktörlerin hastalık gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir (1). Multiple myeloma gelişimi, temel anlamda myeloma hücreleri ile kemik iliği stromal hücreleri arasındaki ilişkiye dayalıdır (12). Hastalığın gelişim sırasının MGUS-SMM-semptomatik multiple myeloma şeklinde olduğu düşünülmektedir (18). Tanı koymak için tam kan sayımı, böbrek fonksiyon testleri, kalsiyum, sedimantasyon hızı, CRP, serum ve idrar protein elektroforezi, immunfiksasyon elektroforezi, radyolojik görüntüleme, kemik iliği biyopsisi ve aspiratı, karyotipleme, FISH gibi birçok tetkik kullanılmaktadır (15). Sık rastlanan hematolojik malignitelerden biri olan multiple myelomanın evrelemesi; prognoz ve tedavi kararı açısından önemli olduğundan tıbbi literatürde farklı zamanlarda evreleme amaçlı çalışmalar yapılmıştır. Günümüzde en çok kullanılan evreleme sistemleri Durie-Salmon Evreleme Sistemi (24) ile daha sonradan geliştirilen ve daha geçerli olduğu yönünde görüşler olan ISS'dir (25). Hastalığın tedavisi temel olarak yaşa göre planlanır ve hasta özelliklerine göre kök hücre nakli ile kemoterapi rejimlerinden birine karar verilir (32-34).

Kronik hastalık anemisi; inflamasyon, enfeksiyon, neoplastik hastalıklar gibi durumlarda ortaya çıkan, bu tablolar düzeltildiğinde normale dönen kesin bir nedeni olmayan anemi olarak tanımlanır (68). Demir metabolizmasında bozulma, demir emiliminde azalma sonucu demir düzeylerinde düşüklük, makrofajlardan demir salınımının bozulmasına bağlı demir depolarında ve serum ferritin düzeylerinde artış ile karakterize anemi tablosu ortaya çıkar (68). Vücut için önemli elementlerden biri olan demirin, kendine özel bir atılım yolu olmadığı için düzeyleri arttığı zaman hücre içinde birikerek reaktif oksijen türleri oluşumu ve lipid peroksidasyonuna neden olup hücre hasarı ve ölümüne yol açtığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (3, 4). Demir transportundan sorumlu olan transferrinin demir bağlama kapasitesi yüksek olduğu için normal şartlar altında serbest demir oluşumunu önlemektedir. Son yıllarda, üzerine yapılan çalışmalar yoğunlaşan-transferrinin bağlama kapasitesi aşıldığı zaman ortaya çıkan demir formu olan-NTBI ise son derece toksik ve oksidatif hasar oluşturan kararsız bir molekül olarak kabul edilmektedir (4). Demir yüklenmesi ile hastalık prognozu arasında ilişki olduğu malign hastalıklarda ve kök hücre nakli hastalarında gösterilmiştir (2, 69). Bu nedenle demir konsantrasyonunun normal aralıkta tutulması ve gerekli durumlarda demir şelasyonunu temel alan tedavi yaklaşımları, ortaya çıkabilecek hasarı önlemede etkili olabilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kronik hastalık anemisi gelişiminde karaciğerden sentezlenen peptid yapıda bir hormon olan hepsidinin anahtar rol oynadığı, başlıca IL-6 olmak üzere inflamatuvar sitokinlerin uyarıları ile etki gösterdiği saptanmıştır (64). Hepsidin, ferroportini bağlayarak bu proteinin hücre içine alınmasını ve bu yolla demirin

hücre dışına salınmasını engelleyerek etki göstermektedir (8). Bu nedenle multiple myelomada görülen aneminin temel sebebinin hepsidin üretiminde artış olduğu düşünülmektedir (68).

Biz çalışmamızda yeni tanı almış ve tedavi başlanmamış hastaları değerlendirdik ve hastaların hemoglobin değerini $9,98 \pm 2,49$ g/dl (ortalama \pm SD) olarak tespit ettik. Ortalama serum demir ve SDBK değerleri, hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olarak bulundu (sırasıyla $p= 0,0001$ ve $<0,0001$).

Anemi, tedavi edilmemiş aktif myelomalı hastaların yaklaşık %60-80'inde görülen bir bulgudur ve genellikle normokrom-normositer özellikte olduğu bildirilmiştir (71). Aneminin; eritroid koloni oluşumunda baskılanma (72) ya da böbrek yetmezliği olan hastalarda eritropoietin düzeylerinde düşüklük (73) gibi birçok faktöre bağlı olarak geliştiği söylenmektedir. Kyle ve ark. (74) yeni tanı almış 1027 multiple myeloma hastasının klinik ve laboratuvar bulgularını inceledikleri kapsamlı araştırmada hastaların %73'ünde anemi saptamışlar ve anemiyi; kemik iliğinin myeloma hücreleri ile infiltrasyonuna, ayrıca böbrek yetmezliği olanlarda eritropoietin eksikliğine bağlamışlardır. Buna karşılık multiple myeloma hastalarında anemi nedenlerinin araştırıldığı bir çalışmada periferik kan sayımı, kemik iliği aspiratı, serum demir, ferritin, eritropoietin düzeyleri ölçülmüş; hastalarda eritropoietin ve demir eksikliği saptanmamıştır (75). Bu hastalarda anemi nedeninin eritropoietin azalması olmadığı, sebeplerden birinin demir kullanımında problem olabileceği düşünülmüştür. Krnek ve ark. (70) lenfoid malignitelerde görülen anemi ile ilgili yaptıkları araştırmada

hastalarda en yüksek anemi yüzdesinin multiple myelomada olduğunu tespit etmişlerdir. Anemi derecesinin en ağır olduğu grup da yine multiple myelomalı hastalar olarak bulunmuş, bu durum hastaların çoğununun ileri evrede olmasına bağlanmıştır.

Çalışmamızdaki hastaların serum ferritin ve hepsidin düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p= 0,0001$ ve $<0,0001$).

Linkesch ve ark. (76) yaptığı çalışmada serum ferritin ve $\beta 2$ -mikroglobulin düzeylerinin multiple myelomalı hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı tespit etmişlerdir. Hematolojik maligniteli hastalarda yapılan bir başka çalışmada serum ferritin düzeylerinde anlamlı yükselme gözlenmiştir (77). Niitsu ve ark. (78) yaptıkları çalışmada ise lösemi ve multiple myeloma hastalarında ferritin düzeylerinin arttığını göstermişlerdir. Song ve ark. (52) multiple myelomalı hastaların sağkalımlarını inceledikleri çalışmalarında ferritin düzeyi yüksek olan hastaların düzeyi normal olan hastalarla kıyaslandığında daha kötü prognostik faktörlere sahip olduklarını ve sağkalımlarının daha kötü olduğunu tespit etmişlerdir.

Artmış hepsidin düzeylerinin; demir miktarında düşüklük, normal ya da artmış ferritin düzeyleri ve azalmış transferrin saturasyonu ile karakterize demirden kısıtlı normokrom-normositer anemiye neden olduğu kabul edilmektedir (79). Bunun sonucunda kemik iliğinin demir kullanmasında bozulma olması nedeniyle vücuttaki demir depolarının normal ya da artmış olarak bulunduğu

söylenmektedir (80). Bizim çalışmamızda serum demir ve SDBK'nın aynı anda düşük olması, ayrıca hepsidin ve ferritin düzeylerinin de yükselmiş olarak bulunması hastalarda görülen aneminin kronik hastalık anemisi olması durumunu düşündürmektedir.

Maes ve ark. (81) yeni tanı almış ve tedavi görmemiş 25 multiple myeloma hastası ile yaptıkları çalışmada serum hepsidin düzeylerinin multiple myeloma grubunda sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada değerlendirilen hastalar ABD ve Yunanistan'dan seçilmiş olup, tüm numunelerde normokrom-normositer anemi görülmüştür. ABD'deki hastaların demir ve transferrin düzeyleri normal aralığın alt sınırına yakın değerlerde olup kronik hastalık anemisi ile uyum gösterirken, aynı durum Yunanistan'daki hastalarda gözlenmemiştir. Aynı şekilde ABD hastalarında ferritin düzeyleri belirgin derecede yüksek iken Yunanistan grubunda normal aralıkta bulunmuştur.

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz hastaları Durie-Salmon Evreleme Sistemi ve ISS'ye göre sınıflandırdık. Buna göre Durie-Salmon Evreleme Sistemi'nde hastaların %10'u Evre IA; %10'u Evre IIA; %62,5'i Evre IIIA; %17,5'i Evre IIIB olarak tespit edildi. Evre IB ve Evre IIB'ye uyan hasta olmadığı görüldü. ISS'ye göre değerlendirdiğimizde ise hastaların %29,7'si Evre I; %24,4'ü Evre II; %45,9'u Evre III olarak bulundu.

Sharma ve ark. (10) yeni tanı alıp tedavi görmemiş Durie-Salmon Evre III multiple myeloma hastaları ve MGUS hastaları ile yaptıkları çalışmada multiple

myeloma hastalarında farklı derecelerde anemi olduğunu ve aneminin özelliklerinin kronik hastalık anemisi ile uyumlu olduğunu gözlemlemişlerdir. Multiple myeloma hastalarının idrar hepsidin düzeyleri kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulunurken MGUS hastalarında idrar hepsidin düzeyleri arasında fark görülmemiştir. Anemik hastalarda hepsidin düzeylerinin multiple myeloma hastalarında böbrek yetmezliği olan grup ile olmayan grup arasında hepsidin düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmemesine karşın, araştırmacılar böbrek yetmezliğinin eritropoietin üretimini etkileyerek anemi gelişiminde etkili olabileceğini düşünmektedir. Farelerde yapılan çalışmalarda hepsidin ekspresyonundaki kronik yüksekliğin ciddi anemiye neden olduğu bulunmuştur (82, 83).

Demir eksikliği anemisi ile birlikte kronik hastalık anemisi olan bireylerde hepsidin konsantrasyonu, sadece kronik hastalık anemisi olan bireylere göre daha düşük düzeyde tespit edilmiştir (84). Bu nedenle iki durumu ayırmak ve uygun tedaviyi seçmek için hepsidin düzeyi tayininin faydalı olabileceği yönünde görüşler bulunmaktadır (85).

Son dönemlerde multiple myelomaya bağlı kronik hastalık anemisi tedavisinde hepsidini hedef alan tedavi rejimlerinin daha etkili olabileceği, buna gerekçe olarak da hepsidin düzeylerinde yükselmenin anemi oluşumu için yeterli olduğu ve endojen eritropoietine rezistansa yol açtığını söyleyen görüşler bulunmaktadır (83). Sasu ve ark. (86) fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada hepsidin düzeylerini düşürmenin eritropoietik ajanlarla kombine edildiğinde hemoglobin seviyelerini normale getirdiğini gözlemişlerdir. Bu gelişmelerin,

multiple myelomada aneminin en sık nedeni olan kronik hastalık anemisi tedavisinde ciddi düzenlemelere gidilmesine neden olabileceği düşünülmektedir (80). Buna karşılık multiple myelomada görülen aneminin mekanizmasının, hepsidin artışı nedeniyle olduğu görüşü üzerine tartışmalar mevcuttur. Anemi görülen durumlarda eritropoietik aktivitede artış olduğu, bunun da hepsidin düzeylerinde baskılanmaya neden olduğu söylenmektedir (87). Pak ve ark. anemik fareler ile yaptıkları bir çalışmada, kemoterapi ile tedavi sonrası eritropoietik aktivitede baskılanma sonucu hepsidin düzeylerinde artış olduğu görülmüştür (63).

Ferritin ve hepsidin düzeylerinin her ikisi de demir durumu ile ilgili değişikliklerden ve inflamasyondan etkilendiği için hepsidin ferritine göre tanıyı güçlendirmede ne gibi bir faydası olduğu tartışılmaya başlanmıştır. Bu konuda çalışmalar yapan araştırmacıların vardıkları sonuçlardan biri hepsidin ferritine göre daha hızlı değişim gösterdiği olmuştur (88, 89). Ayrıca talaseminin de içinde olduğu çeşitli demir yüklenmesi tablolarında ferritin düzeyleri artış göstermesine karşılık hepsidin düzeyleri düşük olarak saptandığı belirtilmektedir (88).

Çalışmamızda, non-parametrik dağılım gösteren NTBI'nın medyan değerlerinin hasta grubu ile kontrol grubunda eşit olduğu görüldü, buna karşılık gruplar arasında farkın anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0,05$).

NTBI; çoğunlukla transfüzyona ihtiyaç olan durumlarda, demir yüklenmesi tablosuna bağlı olarak tespit edilebilmektedir (84, 90, 91). Özellikle genetik demir yüklenmesi ile giden hastalıklarda NTBI varlığı daha net bir şekilde

tanımlanmıştır (92). Bu hastalıklarda transferrin saturasyonu ile NTBI varlığı iyi korelasyon göstermektedir. Tespit edilebilmesi için transferrinin tam olarak satire olmasına gerek yokken, saturasyon %35'in altındayken ise gözlenmemektedir (93). Hepsidin eksikliği ile seyreden genetik demir yüklenmesi durumlarında tespit edilebilirken ferroportin eksikliği ile seyreden genetik demir yüklenmesi tablolarında gözlenmemektedir (90). Demir yüklenmesi durumları dışında alkolik karaciğer hastalığı, karaciğer yetmezliği gibi hepatik bozuluklarda hepsidin eksikliğine bağlı olarak NTBI varlığı gösterilmiştir (94, 95). Bunun dışında diyabet (96) ve son dönem böbrek yetmezliği (97) gibi çeşitli klinik tablolarda da NTBI gözlendiğine dair bulgular mevcuttur. Hematolojik malignitelerde ise NTBI sıklıkla tedavi ya da kök hücre nakli sonucunda gözlenebilmiştir (98).

Çalışmamızda incelediğimiz parametrelerin, prognoz ile ilişkili olan hastalık evresi ile bağlantısı olup olmadığını değerlendirmek için hastaları her iki evreleme sistemine göre sınıflandırdığımızda Durie-Salmon Evreleme Sistemi'ne göre sadece SDBK'da anlamlı değişiklik gözlendi ($p=0,0125$). SDBK düzeyleri en yüksek Evre IA, sonra da sırasıyla IIIA, IIIB, IIA olacak şekilde dağılım göstermekteydi ve evre artışı ile paralel bir seyir izlenmedi. ISS'ye göre sınıflama yaptığımızda ise SDBK, ferritin, hepsidin ve NTBI'da istatistiksel anlam farkı saptandı (SDBK için $p=0,0196$; ferritin için $p=0,0047$; hepsidin için $p=0,0009$; NTBI için $p=0,0333$). SDBK seviyeleri evre arttıkça azalırken, ferritin ve hepsidin seviyelerinin ise evre artışı ile paralel artış gösterdiği bulundu. Bu sonuçlar; hastalarımızın bulguları ile uyumlu olan kronik hastalık anemisinin ve buna bağlı

olarak demir dengesindeki bozukluğun prognozda önemli rolü olan evre ile ilişkili olduğunu, ISS'nin bu durumu göstermede Durie-Salmon Evreleme Sistemine göre bizim hasta grubumuzda daha faydalı olabileceğini düşündürmektedir. NTBI medyan değerleri ilk iki evrede aynı olup Evre III'den daha düşük olarak tespit edildi. Medyan değerleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlam göstermekle beraber ($p=0,0333$), bu anlam farklılığı IQR farklılıklarından kaynaklanabilir. Toplam hasta sayısının ve dolayısıyla her evreye düşen hasta sayısının artırılması ile daha sağlıklı sonuçlara varılabileceğini düşünmekteyiz.

Araştırmamızda, hasta grubunda çalıştığımız parametreler ve evrelemede kullanılan biyokimyasal parametreler arası korelasyonları inceledik. NTBI, demir ve β 2-mikroglobulin ile pozitif korelasyon göstermekte olup (sırasıyla $r:0,377$; $r:0,357$), SDBK ise albumin ile pozitif ($r:0,447$), β 2-mikroglobulin ile negatif korele idi ($r:-0,388$). Ferritin; NTBI ve β 2-mikroglobulin ile pozitif (sırasıyla $r:0,434$; $r:0,483$), SDBK ile negatif korele olarak bulundu ($r: -0,515$). Ferritin, korelasyon gösterdiği parametreler içinde en kuvvetli korelasyonu hepsidin ile göstermiştir ($r:0,885$; $p=0,00$). Hepsidin ayrıca SBDK ile negatif ($r:-0,468$), β 2-mikroglobulin ile pozitif korelasyon göstermiştir ($r:0,504$). Evrelemede kullanılan parametrelerden ISS'de yer alan β 2-mikroglobulin'in çalıştığımız parametrelerinin çoğu ile korele bulunması hasta grubunda ISS ile değerlendirdiğimiz parametreler arasındaki ilişkiyi de desteklemektedir.

Katodritou ve ark. (11), klasik tedavi rejimlerini kullanan hastalar ve immunmodulator ilaç kullanan multiple myeloma hastaları ile yaptıkları çalışmada hastaların tedavi öncesi başlangıç hepsidin değerlerini incelemişler,

hepsidinin hemoglobin ve platelet sayısı ile negatif; β 2-mikroglobulin, ferritin, transferrin saturasyonu ve ISS ile pozitif korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Sharma ve ark. (10) ise yeni tanı multiple myeloma ve MGUS hastaları ile yaptıkları çalışmada inflamasyonda üretimi uyarılan bir akut faz reaktanı olduğu için hepsidin ile diğer inflamasyon belirteçleri arasındaki ilişkiyi incelemiş, idrar hepsidini ile ferritin ve CRP arasında korelasyon olduğunu bulmuşlardır. Maes ve ark. (81) yeni tanı almış ve tedavi görmemiş, farklı bölgelerden dahil ettikleri ve anemi saptadıkları multiple myeloma hastalarında yaptıkları çalışmada böbrek fonksiyonları normal olan hastalarda serum hepsidin düzeyleri ile hemoglobin arasında ters bir korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir.

Hepsidin ile böbrek fonksiyonları arasındaki sıkı ilişki nedeniyle çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Bir çalışmada ileri düzeyde böbrek yetmezliği olan (kreatinin klirensi <50 ml/dakika) multiple myeloma hastalarında prohepsidin düzeyleri hafif derecede böbrek yetmezliği olan ya da böbrek yetmezliği olmayan hastalara oranla anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (99). Hem glomerüler membrandan serbestçe filtre edilmediği için hem de/veya proksimal tübülde reabsorbe edilip yıkıldığı düşünüldüğü için % 95'i böbrekte tutulan hepsidinin, idrar ve serum düzeyleri arasında iyi korelasyon olduğuna dair bulgular olmasına rağmen, böbrek hastalıkları varlığında idrar düzeylerinin serum konsantrasyonunu yansıtmada yanıltıcı olabileceği yönünde görüşler bulunmaktadır (100). Bizim çalışmamızda hepsidin düzeylerinde evre artışı ile yükselme olması ve bunun böbrek fonksiyonlarında bozulma durumunda seviyesi artan β 2-mikroglobulin ile korelasyon göstermesi, durumun kronik hastalığa bağlı

olarak yükselmesi dışında hepsidinin renal olarak atılmasına da bağı olabileceğini akla getirmektedir.

Bu araştırmada ayrıca kontrol grubunda çalıştığımız parametrelerin birbirleri arasındaki korelasyonunu da inceledik. Demir, NTBI ile negatif korelasyon gösterirken ($r:-0,423$) ferritin ile pozitif korele olarak bulundu ($r:0,576$). Ferritin ile hepsidin arasında hasta grubunda olduğu gibi pozitif korelasyon gözlenmiştir ($r:0,539$). Ganz ve ark. (100) da yaptıkları bir çalışmada sağlıklı gönüllülerde hepsidin ve ferritin arasında korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bulgular, bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

6. SONUÇ

Yeni multiple myeloma tanısı almış ve tedavi görmemiş hasta grubunu kapsayan çalışmamızda kontrol grubuna göre demir ve SDBK'nın anlamlı derecede düşük, ferritin ve hepsidin düzeylerinin ise anlamlı ölçüde yüksek olması hastalarda kronik hastalık anemisi olduğunu düşündürmektedir.

Hastalıkta evre artışının prognozu kötü etkilediği ve düşük sağkalımı gösterdiği bilinmektedir. Çalışmamızdaki hastalar, halen kullanılmakta olan iki evreleme sistemine göre değerlendirilmiştir. Ölçümünü yaptığımız parametrelerin evre ve dolayısıyla prognoz ile olan ilişkisi incelendiğinde; Durie-Salmon Evreleme Sistemi'ne göre sadece SDBK'da istatistiksel anlam tespit edilirken bu anlamlılığın evre artışı ile paralel olmadığı gözlenmiştir. ISS'ye göre ise demir dışındaki tüm parametrelerde anlamlı fark bulunmuştur. SDBK seviyelerinin evre arttıkça azaldığı, ferritin ve hepsidin seviyelerinin ise evre artışı ile paralel artış gösterdiği görülmüştür. Bu sonuçlar; hastalarımızın bulguları ile uyumlu olan kronik hastalık anemisinin ve buna bağlı olarak demir dengesindeki bozukluğun prognozda önemli rolü olan evre ile ilişkili olduğunu, ISS'nin bu durumu göstermede Durie-Salmon Evreleme Sistemi'ne göre bizim hasta grubumuzda daha faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

NTBI medyan değerleri hasta ve kontrol grubunda aynı olmasına karşılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Buna karşılık hastalarda demir yüklenmesi bulgusuna rastlanmamıştır. Durie-Salmon Evreleme Sistemi'nde evreler arası farklılık görülmezken, ISS'de ilk iki evrenin medyan değerleri aynı olmasına karşılık IQR'ların farklı olması nedeniyle evreler arası anlam farkı

saptanmıştır. Bu bulguların hasta sayısının az olmasından kaynaklandığını, sayı artırılarak yapılacak çalışmalarda daha verimli sonuçlara ulaşılabileceğini düşünmekteyiz.

Hasta ve kontrol gruplarında çalışılan parametreler arasında korelasyon analizi yapıldığında her iki grupta da en anlamlı ilişkinin hepsidin ve ferritin arasında olduğu görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Richardson PG, Hideshima T, Anderson KC. Plasma cell dyscrasias. In: Kahn MJ, Gregory SA, editors. American Society of Hematology Self-assessment Program. 3rd ed. American Society of Hematology, 2007; 298-324.
2. Yegin ZA, Pasaoglu H, Aki SZ, Ozkurt ZN, Demirtas C, Yagci M, et al. Pro-oxidative/antioxidative imbalance: a key indicator of adverse outcome in hematopoietic stem cell transplantation. *International Journal of Laboratory Hematology* 2011;33(4):414-23.
3. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *The New England Journal of Medicine* 1999;341(26):1986-95.
4. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *International Journal of Hematology* 2008;88(1):7-15.
5. Taher AT, Musallam KM, Inati A. Iron overload: consequences, assessment, and monitoring. *Hemoglobin* 2009;33 Suppl 1:S46-57.
6. Eberhard Y, McDermott SP, Wang X, Gronda M, Venugopal A, Wood TE, et al. Chelation of intracellular iron with the antifungal agent ciclopirox olamine induces cell death in leukemia and myeloma cells. *Blood* 2009;114(14):3064-73.
7. Messner DJ, Kowdley KV. Neoplastic transformation of rat liver epithelial cells is enhanced by non-transferrin-bound iron. *BMC Gastroenterology* 2008;8:2.

8. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004;306(5704):2090-3.
9. Mena NP, Esparza A, Tapia V, Valdes P, Nunez MT. Heparin inhibits apical iron uptake in intestinal cells. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 2008;294(1):G192-8.
10. Sharma S, Nemeth E, Chen YH, Goodnough J, Huston A, Roodman GD, et al. Involvement of heparin in the anemia of multiple myeloma. *Clinical Cancer Research* 2008;14(11):3262-7.
11. Katodritou E, Ganz T, Terpos E, Verrou E, Olbina G, Gastari V, et al. Sequential evaluation of serum heparin in anemic myeloma patients: study of correlations with myeloma treatment, disease variables, and anemia response. *American Journal of Hematology* 2009;84(8):524-6.
12. Dimopoulos MA, Terpos E. Multiple myeloma. *Annals of Oncology* 2010; 21 Suppl 7:vii143-50.
13. Blade J, Cibeira MT, Fernandez de Larrea C, Rosinol L. Multiple myeloma. *Annals of Oncology* 2010; 21 Suppl 7:vii313-9.
14. Raab MS, Podar K, Breitkreutz I, Richardson PG, Anderson KC. Multiple myeloma. *Lancet* 2009;374(9686):324-39.
15. Pingali SR, Haddad RY, Saad A. Current concepts of clinical management of multiple myeloma. *Disease-a-month: DM* 2012;58(4):195-207.

16. Munshi NC. Plasma cell disorders: an historical perspective. Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program 2008:297.
17. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. The New England Journal of Medicine 2011;364(11):1046-60.
18. Kuehl WM, Bergsagel PL. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. Nature Reviews Cancer 2002;2(3):175-87.
19. Wirk B. Renal failure in multiple myeloma: a medical emergency. Bone Marrow Transplantation 2011;46(6):771-83.
20. Bird JM, Owen RG, D'Sa S, Snowden JA, Pratt G, Ashcroft J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of multiple myeloma 2011. British Journal of Haematology 2011;154(1):32-75.
21. Bestpractice. BMJ [cited-28.10.2012]; Available from: URL: <http://bestpractice.bmj.com/best-practice/monograph/179/basics.html>.
22. Mulligan M. Multiple Myeloma Imaging. Medscape Reference [cited 29.12.2012]. Available from: URL: <http://emedicine.medscape.com/article/391742-overview>.
23. Seiter K. Multiple Myeloma-Pathophysiology. Medscape Reference [cited 29.10.2012]. Available from: URL: <http://emedicine.medscape.com/article/204369-overview#showall>.
24. Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. Cancer 1975;36(3):842-54.

25. Greipp PR, San Miguel J, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Blade J, et al. International staging system for multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology* 2005;23(15):3412-20.
26. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myelome. *Blood* 2007;109(8):3489-95.
27. Kumar SK, Mikhael JR, Buadi FK, Dingli D, Dispenzieri A, Fonseca R, et al. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines. *Mayo Clinic Proceedings* 2009;84(12):1095-110.
28. Türk Hematoloji Derneği. Ulusal Tedavi Kılavuzu 2011. Multipl Miyelom Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Sürüm1-Mart 2011; 2011.
29. Snozek CL, Katzmann JA, Kyle RA, Dispenzieri A, Larson DR, Therneau TM, et al. Prognostic value of the serum free light chain ratio in newly diagnosed myeloma: proposed incorporation into the international staging system. *Leukemia* 2008;22(10):1933-7.
30. Kyle RA, Remstein ED, Therneau TM, Dispenzieri A, Kurtin PJ, Hodnefield JM, et al. Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *The New England Journal of Medicine* 2007;356(25):2582-90.
31. Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV, Landgren O, Blade J, Merlini G, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for

- progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 2010;24(6):1121-7.
32. Anderson KC, Alsina M, Bensinger W, Biermann JS, Chanan-Khan A, Cohen AD, et al. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* 2009;7(9):908-42.
33. Stewart AK, Richardson PG, San-Miguel JF. How I treat multiple myeloma in younger patients. *Blood* 2009;114(27):5436-43.
34. Palumbo A, Gay F, Falco P, Crippa C, Montefusco V, Patriarca F, et al. Bortezomib as induction before autologous transplantation, followed by lenalidomide as consolidation-maintenance in untreated multiple myeloma patients. *Journal of Clinical Oncology* 2010;28(5):800-7.
35. van de Velde HJ, Liu X, Chen G, Cakana A, Deraedt W, Bayssas M. Complete response correlates with long-term survival and progression-free survival in high-dose therapy in multiple myeloma. *Haematologica* 2007;92(10):1399-406.
36. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Blade J, Barlogie B, Anderson K, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20(9):1467-73.
37. Trinder D, Fox C, Vautier G, Olynyk JK. Molecular pathogenesis of iron overload. *Gut* 2002;51(2):290-5.
38. Sargent PJ, Farnaud S, Evans RW. Structure/function overview of proteins involved in iron storage and transport. *Current Medicinal Chemistry* 2005;12(23):2683-93.

39. Munoz M, Villar I, Garcia-Erce JA. An update on iron physiology. *World Journal of Gastroenterology* 2009;15(37):4617-26.
40. Copper and Iron Metabolism. Vulpe Lab University of California Berkeley [cited 02.11.2012]. Available from: URL: <http://www.vulpelab.net/copper-and-iron-metabolism.html>.
41. Cazzola M, Huebers HA, Sayers MH, MacPhail AP, Eng M, Finch CA. Transferrin saturation, plasma iron turnover, and transferrin uptake in normal humans. *Blood* 1985;66(4):935-9.
42. Cabantchik ZI, Breuer W, Zanninelli G, Cianciulli P. LPI-labile plasma iron in iron overload. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2005;18(2):277-87.
43. Xu J, Jia Z, Knutson MD, Leeuwenburgh C. Impaired iron status in aging research. *International Journal of Molecular Sciences* 2012;13(2):2368-86.
44. Higgins T, Beutler E, Doumas BT. Hemoglobin, iron, and bilirubin. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Fourth ed. Elsevier Inc, 2005; 1186-1193.
45. Harrison PM, Arosio P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1996;1275(3):161-203.
46. Piperno A. Classification and diagnosis of iron overload. *Haematologica* 1998;83(5):447-55.

47. Crichton RR, Wilmet S, Leggsyer R, Ward RJ. Molecular and cellular mechanisms of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2002;91(1):9-18.
48. Fung EB, Harmatz PR, Lee PD, Milet M, Bellevue R, Jeng MR, et al. Increased prevalence of iron-overload associated endocrinopathy in thalassaemia versus sickle-cell disease. *British Journal of Haematology* 2006;135(4):574-82.
49. Taher A, El Rassi F, Isma'eel H, Koussa S, Inati A, Cappellini MD. Correlation of liver iron concentration determined by R2 magnetic resonance imaging with serum ferritin in patients with thalassemia intermedia. *Haematologica* 2008;93(10):1584-6.
50. Takatoku M, Uchiyama T, Okamoto S, Kanakura Y, Sawada K, Tomonaga M, et al. Retrospective nationwide survey of Japanese patients with transfusion-dependent MDS and aplastic anemia highlights the negative impact of iron overload on morbidity/mortality. *European Journal of Haematology* 2007;78(6):487-94.
51. Gattermann N. Guidelines on iron chelation therapy in patients with myelodysplastic syndromes and transfusional iron overload. *Leukemia Research* 2007;31 Suppl 3:S10-5.
52. Song MK, Chung JS, Seol YM, Shin HJ, Choi YJ, Cho GJ. Elevation of serum ferritin is associated with the outcome of patients with newly diagnosed multiple myeloma. *The Korean Journal of Internal Medicine* 2009;24(4):368-73.

53. Krause A, Neitz S, Magert HJ, Schulz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe P, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS letters* 2000;480(2-3):147-50.
54. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *The Journal of Biological Chemistry* 2001;276(11):7806-10.
55. Ganz T, Nemeth E. Iron imports. IV. Heparin and regulation of body iron metabolism. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 2006;290(2):G199-203.
56. Collins JF, Wessling-Resnick M, Knutson MD. Heparin regulation of iron transport. *The Journal of Nutrition* 2008;138(11):2284-8.
57. Ganz T. Molecular control of iron transport. *Journal of the American Society of Nephrology* 2007;18(2):394-400.
58. Huang H, Constante M, Layoun A, Santos MM. Contribution of STAT3 and SMAD4 pathways to the regulation of heparin by opposing stimuli. *Blood* 2009;113(15):3593-9.
59. Bergamaschi G, Villani L. Serum heparin: a novel diagnostic tool in disorders of iron metabolism. *Haematologica* 2009;94(12):1631-3.
60. Darshan D, Anderson GJ. Interacting signals in the control of heparin expression. *Biomaterials* 2009;22(1):77-87.
61. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial

- peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *The Journal of Biological Chemistry* 2001;276(11):7811-9.
62. Nemeth E, Roetto A, Garozzo G, Ganz T, Camaschella C. Hepcidin is decreased in TFR2 hemochromatosis. *Blood* 2005;105(4):1803-6.
63. Pak M, Lopez MA, Gabayan V, Ganz T, Rivera S. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 2006;108(12):3730-5.
64. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *The Journal of Clinical Investigation* 2004;113(9):1271-6.
65. Camaschella C, Poggiali E. Towards explaining "unexplained hyperferritinemia". *Haematologica* 2009;94(3):307-9.
66. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of Internal Medicine* 2009;150(9):604-12.
67. Chua AC, Olynyk JK, Leedman PJ, Trinder D. Nontransferrin-bound iron uptake by hepatocytes is increased in the Hfe knockout mouse model of hereditary hemochromatosis. *Blood* 2004;104(5):1519-25.
68. Cucuianu A, Patiu M, Rusu A. Hepcidin and multiple myeloma related anemia. *Medical Hypotheses* 2006;66(2):352-4.
69. Sucak GT, Yegin ZA, Ozkurt ZN, Aki SZ, Yagci M. Iron overload: predictor of adverse outcome in hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation Proceedings* 2010;42(5):1841-8.

70. Zupanic-Krmek D, Lang N, Jurcic D, Ljubic N, Bilic A. Analysis of the influence of various factors on anemia in patients with lymphoid malignancies. *Acta Clinica Croatica* 2011;50(4):495-500.
71. Kyle RA. Multiple myeloma: review of 869 cases. *Mayo Clinic proceedings* 1975;50(1):29-40.
72. Roodman GD, Horadam VW, Wright TL. Inhibition of erythroid colony formation by autologous bone marrow adherent cells from patients with the anemia of chronic disease. *Blood* 1983;62(2):406-12.
73. Dallalio G, Law E, Means RT, Jr. Heparin inhibits in vitro erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentrations. *Blood* 2006;107(7):2702-4.
74. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings* 2003;78(1):21-33.
75. Rokicka-Piotrowicz M, Paluszewska M, Paszkowska M, Rakowska A, Wierzbicka E, Buras A, et al. Erythropoietin in the pathogenesis of anemia in patients with multiple myeloma. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 1998;99(3):218-23.
76. Linkesch W, Ludwig H. Serum ferritin and beta 2-microglobulin in patients with multiple myeloma. *Cancer Detection and Prevention* 1983;6(1-2):297-301.
77. Patel AR, Shah PC, Vohra RM, Hart WL, Shah JR. Serum ferritin levels in hematologic malignant neoplasms. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 1980;104(10):509-12.

78. Niitsu Y, Kogo Y, Yokota M, Urushizaki I. Radioimmunoassay of serum ferritin in patients with malignancy. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1975;259:450-2.
79. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell* 2010;142(1):24-38.
80. Ludwig H. BMP-2: a culprit for anemia in myeloma. *Blood* 2010;116(18):3383-4.
81. Maes K, Nemeth E, Roodman GD, Huston A, Esteve F, Freytes C, et al. In anemia of multiple myeloma, hepcidin is induced by increased bone morphogenetic protein 2. *Blood* 2010;116(18):3635-44.
82. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002;99(7):4596-601.
83. Roy CN, Mak HH, Akpan I, Losyev G, Zurakowski D, Andrews NC. Heparin antimicrobial peptide transgenic mice exhibit features of the anemia of inflammation. *Blood* 2007;109(9):4038-44.
84. Munoz M, Garcia-Erce JA, Remacha AF. Disorders of iron metabolism. Part II: iron deficiency and iron overload. *Journal of Clinical Pathology* 2011;64(4):287-96.
85. Theurl I, Aigner E, Theurl M, Nairz M, Seifert M, Schroll A, et al. Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: diagnostic and therapeutic implications. *Blood* 2009;113(21):5277-86.

86. Sasu BJ, Cooke KS, Arvedson TL, Plewa C, Ellison AR, Sheng J, et al. Antihepcidin antibody treatment modulates iron metabolism and is effective in a mouse model of inflammation-induced anemia. *Blood* 2010;115(17):3616-24.
87. Ganz T. Molecular pathogenesis of anemia of chronic disease. *Pediatric Blood & Cancer* 2006;46(5):554-7.
88. Brugnara C. An immunoassay for human serum hepcidin at last: Ganz klar? *Blood* 2008;112(10):3922-3.
89. Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der Hoeven H, Swinkels D. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 2005;106(5):1864-6.
90. Brissot P, Ropert M, Le Lan C, Loreal O. Non-transferrin bound iron: a key role in iron overload and iron toxicity. *Biochimica et Biophysica Acta* 2012;1820(3):403-10.
91. Breuer W, Ghoti H, Shattat A, Goldfarb A, Koren A, Levin C, et al. Non-transferrin bound iron in Thalassemia: differential detection of redox active forms in children and older patients. *American Journal of Hematology* 2012;87(1):55-61.
92. Brissot P, Troadec MB, Bardou-Jacquet E, Le Lan C, Jouanolle AM, Deugnier Y, et al. Current approach to hemochromatosis. *Blood Reviews* 2008;22(4):195-210.
93. Loreal O, Gosriwatana I, Guyader D, Porter J, Brissot P, Hider RC. Determination of non-transferrin-bound iron in genetic hemochromatosis using a new HPLC-based method. *Journal of Hepatology* 2000;32(5):727-33.

94. Harrison-Findik DD, Klein E, Crist C, Evans J, Timchenko N, Gollan J. Iron-mediated regulation of liver hepcidin expression in rats and mice is abolished by alcohol. *Hepatology* 2007;46(6):1979-85.
95. Detivaud L, Nemeth E, Boudjema K, Turlin B, Troadec MB, Leroyer P, et al. Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function. *Blood* 2005;106(2):746-8.
96. Lee DH, Liu DY, Jacobs DR, Jr., Shin HR, Song K, Lee IK, et al. Common presence of non-transferrin-bound iron among patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006;29(5):1090-5.
97. Prakash M, Upadhya S, Prabhu R. Serum non-transferrin bound iron in hemodialysis patients not receiving intravenous iron. *Clinica Chimica Acta* 2005;360(1-2):194-8.
98. Sahlstedt L, von Bonsdorff L, Ebeling F, Parkkinen J, Juvonen E, Ruutu T. Non-transferrin-bound iron in haematological patients during chemotherapy and conditioning for autologous stem cell transplantation. *European Journal of Haematology* 2009;83(5):455-9.
99. Haraguchi K, Uto H, Ohnou N, Tokunaga M, Utsunomiya A, Hanada S, et al. Serum prohepcidin levels are potential prognostic markers in patients with multiple myeloma. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2012;4(4):581-8.
100. Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood* 2008;112(10):4292-7.

8. ÖZET

MULTİPLE MYELOMADA TANI ANINDA STANDART DEMİR PARAMETRELERİ, TRANSFERRİNE BAĞLI OLMAYAN DEMİR, HEPSİDİN DÜZEYLERİ VE BU PARAMETRELERİN HASTALIK PROGNOZUNDAKİ ÖNEMİ

Tedavi edilmemiş aktif multiple myeloma hastalarının yaklaşık %60-80'inde, demir metabolizmasında bozukluk ile karakterize kronik hastalık anemisi ortaya çıkmaktadır. Hepsidin; ferroportine bağlanarak makrofaj ve enterositlerden demir salınımını azalttığından son yıllarda kronik hastalık anemisi gelişiminde rol aldığı fikri, özellikle inflamatuvar cevap ile olan ilişkisi nedeniyle önem kazanmaktadır. Bunların yanı sıra; transferrinin bağlama kapasitesi aşıldığı zaman ortaya çıkan demir formu olan NTBI, son derece toksik ve oksidatif hasar oluşturan kararsız bir molekül olarak kabul edildiği için yakın zamanlarda bu konudaki araştırmalara verilen önemin arttığı görülmektedir.

Çalışmamızda multiple myeloma tanısı almış ve tedavi görmemiş; çeşitli evrelerde 40 hasta ve 29 sağlıklı erişkinde standart demir parametreleri, NTBI ve hepsidinin tanı anındaki değeri ve hastalık prognozundaki olası önemini değerlendirmeyi amaçladık. Hasta grubunun ortalama demir ve SDBK değerleri kontrol grubuna göre düşük (sırasıyla $p=0,0001$; $p<0,0001$), ferritin ve hepsidin değerleri ise yüksek bulundu (sırasıyla $p=0,0001$; $p<0,0001$). Hastalar Durie-Salmon Evreleme Sistemi'ne göre gruplandığında çalıştığımız parametrelerden sadece SDBK'da ($p<0,05$), ISS'ye göre gruplandığında ise demir hariç tüm

parametrelerde evreler arasında istatistiksel anlam farkı saptandı (hepsidin için $p<0,001$; diğer parametreler için $p<0,05$). NTBI medyan değerleri hasta ve kontrol grubunda aynı olmasına karşılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Buna karşılık hastalarda demir yüklenmesi bulgusuna rastlanmadı.

Çalışılan demir parametreleri ile evrelemede kullanılan biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon incelendiğinde hem hasta grubunda, hem de kontrol grubunda demirin NTBI ile, ferritinin de hepsidin ile korelasyon gösterdiği bulundu ve hasta grubunda en anlamlı ilişkinin hepsidin ve ferritin arasında olduğu gözlemlendi. Evrelendirmede kullanılan parametrelerden β_2 -mikroglobulin, demir parametreleri ile en kuvvetli korelasyon gösteren parametre olarak tespit edildi. Yeni tanı almış multiple myeloma hastalarının anemi derecesinin hastalık evresi ve dolayısıyla prognoz ile ilişkili olduğunu, bunu göstermede standart demir parametrelerine ek olarak hepsidinin de kullanılmasının hastalar için yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: multiple myeloma, ferritin, hepsidin

9. SUMMARY

IRON PARAMETERS, NON-TRANSFERRIN BOUND IRON AND HEPCIDIN LEVELS AT DIAGNOSIS AND THEIR IMPORTANCE FOR PROGNOSIS IN MULTIPLE MYELOMA

Anemia of chronic disease occurs 60-80% of active untreated patients with multiple myeloma characterized with iron metabolism disorder. Hepcidin attaches ferroportin and decreases iron release from macrophages and enterocytes, hence the idea for its role in the development of anemia of chronic disease, especially being in a close relationship with inflammatory response, came into question. In addition to these factors, NTBI, an iron form occurring when transferrin's binding capacity exceeds, is sought as an ultimate toxic molecule creating oxidative destruction, so there is a recent debut in these studies.

We sought to evaluate the value at the time of diagnosis and prognosis of standard iron parameters, NTBI and hepcidin by using 40 untreated multiple myeloma patients in various stages and 29 healthy adults. Mean iron and TIBC levels were low ($p=0,0001$ and $p<0,0001$ respectively), ferritin and hepcidin levels were high ($p=0,0001$ and $p<0,0001$) compared to control group. When patients were grouped as Durie-Salmon Staging System only TIBC ($p<0,05$), grouped as ISS all parameters but iron had statistically significant difference between stages (hepcidin $p<0,001$; rest $p<0,05$). Although median NTBI values for patient and control groups were same, there was statistically significant difference ($p<0,05$). Consequently, there was no sign for patients being iron excess.

Studying the correlation between iron parameters and biochemical parameters of staging showed correlation of iron with TIBC and ferritin with hepcidin at both patient and control groups and the most significant relation observed at hepcidin and ferritin at patient group. Of staging parameters, β 2-microglobulin determined to be the strongest parameter to show correlation with iron parameters. We propose that anemia stage is related with disease stage and prognosis of newly diagnosed multiple myeloma patients and using hepcidin, in addition to standard iron parameters, may be beneficial.

Key words: multiple myeloma, ferritin, hepcidin

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Ayşe Fıtnat

Soyadı: Tuncel Bahar

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara - 25.03.1983

Eğitimi: 2008-2013: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D.

2000-2006: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği

Türk Klinik Biyokimya Derneği

Türk Biyokimya Derneği

Bilimsel Etkinlikleri:

Yurt dışı yayınlar:

1. Tanindi A, Olgun H, Tuncel A, Celik B, Pasaoglu H, Boyaci B. Exercise electrocardiographic responses and serum cystatin C levels among metabolic syndrome patients without overt diabetes mellitus. Vasc Health Risk Manag. 2011;7:59-65.

2. Gümüşay O, Ozenirler S, Atak A, Sönmez C, Ozkan S, Tuncel AF, Yılmaz G, Akyol G. Diagnostic potential of serum direct markers and non-invasive fibrosis models in patients with chronic hepatitis B. Hepatol Res. 2013 Mar;43(3):228-37.

Poster sunumları:

1. Demirtaş C, Tuncel AF, Ofluoğlu E, Hüseyin A, Paşaoğlu ÖT, Hatice Paşaoğlu. Rat Serumunda Kafeinin MDA ve Antioksidan Kapasite Düzeylerine Etkisi. 21.Ulusal Biyokimya Kongresi. 28-31 Ekim 2009 / İstanbul
2. Bahar B, Güçel F, Tuncel AF, Elbeg Ş, Paşaoğlu H. Neonatal TSH Referans Aralığı. 21.Ulusal Biyokimya Kongresi. 28-31 Ekim 2009 / İstanbul
3. Gülbahar Ö, Tuncel AF, Atikeler G, Elbeg Ş, Paşaoğlu H. Nefelometrik Yöntemle Çalışılan Kitlerin Verimliliklerinin LBYS Kullanılarak Hesaplanması. 22.Ulusal Biyokimya Kongresi. 27-30 Ekim 2010 / Eskişehir
4. Atikeler G, Nalbant H, Tuncel AF, Elbeg Ş, Paşaoğlu H. 2. Ve 3. Trimester Gebelerde Serum TSH ve Beta HCG İlişkisi. 22.Ulusal Biyokimya Kongresi. 27-30 Ekim 2010 / Eskişehir
5. İlhan Ç, Paşaoğlu ÖT, Suyanı E, Tuncel A, Sucak G, Paşaoğlu H. Sağlıklı Gönüllü Kök Hücre Donörlerinde G-CSF ile Mobilizasyon ve Aferez

- İşleminin Oksidatif Stres ve Antioksidan Kapasite Üzerine Etkisi. 8. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi. 18-22 Eylül 2012
6. Tuncel AF, Atikeler G, Öksüz N, Demirtaş C, Elbeg Ş, Gülbahar Ö, Paşaoğlu H. Tiroid Fonksiyon Testlerinin Ölçümünde Aynı İki Otoanalizörün Karşılaştırılması. 24.Ulusal Biyokimya Kongresi. 25-28 Eylül 2012 / Konya
7. Demirtaş C, Öksüz N, Tuncel AF, Atikeler G, Elbeg Ş, Gülbahar Ö, Paşaoğlu H. HbA_{1c} için Süreç Sigma Düzeyi Belirlenmesi. Testlerinin Ölçümünde Aynı İki Otoanalizörün Karşılaştırılması. 24.Ulusal Biyokimya Kongresi. 25-28 Eylül 2012 / Konya
8. Turkoglu M, Aygencel G, Dizbay M, Tuncel AF, Aslan Candır B, Deligoz Bildeci Y, Pasaoglu H. Is Vitamin D Deficiency Associated with Development of Acinetobacter Baumannii Infection In critically Ill patients? European Society of Intensive Care Medicine 25th Annual Congress. 13-17 October 2012 / Lisbon, Portugal

Sözlü Sunumlar:

1. Elbeg Ş, Tuncel AF, Demirtaş C, Çıracı Z, Gülbahar Ö, Paşaoğlu H. Serum 25 OH Vitamin D Ölçümünde Kullanılan HPLC ve ELISA Yöntemlerinin Karşılaştırılması. 7. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi. 27 Eylül-1 Ekim 2011/ Dalaman, Muğla

Katıldığı Kongreler:

1. 21.Ulusal Biyokimya Kongresi. 28-31 Ekim 2009 / İstanbul
2. 35th FEBS Congress-Molecules of Life. 26 June-1 July 2010/ Gothenburg, Sweden
3. 22.Ulusal Biyokimya Kongresi. 27-30 Ekim 2010 / Eskişehir
4. 7. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi. 27 Eylül-1 Ekim 2011/ Dalaman, Muğla
5. 24.Ulusal Biyokimya Kongresi. 25-28 Eylül 2012 / Konya

Katıldığı Kurslar:

1. Türk Klinik Biyokimya Derneği, Tıbbi Laboratuvar Gereksinimlerinin Karşılama Süreçleri Kursu. 27-28 Eylül 2009 / Zonguldak
2. Türk Biyokimya Derneği, Yöntem Geçerliliğini Kanıtlama (Metod Validasyonu) Kursu. 27 Ekim 2010 / Eskişehir
3. Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi, VIII. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu. 22-30 Kasım 2010 /Ankara