

TC.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

PLAZMA HÜCRELİ MYELOMLARDA
CREB VE VEGF EKSPRESYONLARI İLE MİKRODAMAR
YOĞUNLUĞUNUN KLİNİK VE PATOLOJİK
PARAMETRELER
İLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. SEVİNÇ ŞAHİN

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. NALAN AKYÜREK

ANKARA
ARALIK 2010

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi, deneyim ve destekleriyle eğitimimde büyük katkıları olan başta tez danışmanım Doç. Dr. Nalan Akyürek olmak üzere saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Ömer Uluoğlu, Prof. Dr. Leyla Memiş, Prof. Dr. Ayşe Dursun, Prof. Dr. Gülen Akyol, Prof. Dr. Aylar Poyraz, Doç. Dr. Özlem Erdem, Yrd. Doç. Dr. İpek Işık Gönül, Yrd. Doç. Dr. Özgür Ekinci, Yrd. Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün ve Yrd. Doç. Dr. Güldal Yılmaz'a, tezimin hazırlanmasında desteğini esirgemeyen Hematoloji Bilim Dalı'ndan Prof. Dr. Rauf Haznedar ve Prof. Dr. Gülsan Sucak'a, Halk Sağlığı Bilim Dalı'ndan Doç. Dr. Mustafa İlhan'a, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı teknisyenlerinden Ülker Kaplan, Fatma Özbek ve tüm laboratuvar personeline, değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma, Ömer Altınsoy'a ve her konuda bana destek olan sevgili eşim Dr. Oğuz Şahin, değerli ailem Bilal-Ferziye Şahin ve Satı-Mehmet Çelik'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Sevinç Şahin

Ankara, 2010

KISALTMALAR

AEC	: 3 -Amino- 9- Ethylcarbazole
ALL	: Akut lenfoid lösemi
AML	: Akut myeloid lösemi
ark .	: Arkadaşları
B2M	: Beta-2 mikroglobulin
Ca	: Kalsiyum
cAMP	: Cyclic adenosin monophosphate
CREB	: Cyclic AMP regulatory element binding protein
CRP	: C Reaktif protein
Eks.	: Ekspresyon
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
hc.	: Hücre
H-E	: Hematoksilen-Eozin
LDH	: Laktat dehidrogenaz
MDY	: Mikrodamar yoğunluğu
MVD	: Microvessel density
PBS	: Phosphate buffer saline
vb.	: Ve benzeri
VEGF	: Vascular endothelial growth factor

İÇİNDEKİLER

Teşekkür	ii
Kısaltmalar	iii
İçindekiler	iv
1) GİRİŞ	1
2) GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epidemiyoloji	4
2.2. Etyoloji	4
2.3. Yerleşim yeri	5
2.4. Klinik özellikler ve tanı kriterleri	5
2.5. Makroskopi	9
2.6. Morfolojik bulgular	9
2.6.1. Kemik iliği biyopsisi	9
2.6.2. Kemik iliği aspirasyonu	14
2.6.3. Periferik kan bulguları	15
2.6.4. Böbrek bulguları	15
2.6.5. İmmünofenotip	15
2.6.6. Prognoz ve tedavi	16
2.6.7. Prognostik ve prediktif faktörler	16
3) GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Olguların seçilmesi	23
3.2 Morfolojik parametreler	23

3.3. Histokimyasal bulgular	24
3.4. İmmünhistokimyasal boyama	24
3.4.1. Kullanılan belirteçler	24
3.4.2. İmmünhistokimyasal boyama yöntemi	24
3.4.3. İmmünhistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi	26
3.5. İstatistiksel analiz	27
4) BULGULAR	29
4.1. Olguların klinik ve laboratuvar özellikleri	29
4.2. Olguların morfolojik özellikleri	33
4.3. Histokimyasal bulgular	36
4.4. Mikrodamar yoğunluğunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi	37
4.4.1. Mikrodamar yoğunluğu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanan özellikler	37
4.4.2. Mikrodamar yoğunluğu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmayan özellikler	39
4.4.3. Mikrodamar yoğunluğunun toplam sağkalım ile ilişkisi	43
4.5. VEGF ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi	44
4.5.1. VEGF ekspresyonu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanan özellikler	46
4.5.2. VEGF ekspresyonu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmayan özellikler	46
4.5.3. VEGF ekspresyonunun toplam sağkalım ile ilişkisi	50

4.6. p300 ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi	51
4.6.1. p300 ekspresyonu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanan özellikler	53
4.6.2. p300 ekspresyonu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmayan özellikler	53
4.6.3. p300 ekspresyonunun toplam sağkalım ile ilişkisi	57
5) TARTIŞMA	58
6) SONUÇLAR	68
7) KAYNAKLAR	70
8) ÖZET	74
9) SUMMARY	76
10) ÖZGEÇMİŞ	78

1. GİRİŞ

Plazma hücreli myelom (multipl myelom), kemik iliğinde anormal monoklonal plazma hücre proliferasyonu sonucu gelişen, artmış serum/idrarda monoklonal paraprotein seviyesi, litik kemik lezyonları, anemi, hiperkalsemi ve renal yetmezlik ile seyreden bir B-hücreli neoplazidir (1). Hematolojik maligniteler içinde %10 oranında görülürken, malign tümörlerin %1'ini oluşturmaktadır (1).

Plazma hücreli myelomda klinik, patolojik ve genetik bir takım faktörlerin prognostik önem taşıdığı bilinmektedir. Ancak günümüzde plazma hücreli myeloma yönelik küratif bir tedavi yöntemi mevcut değildir ve ortalama sağkalım süresi 3-4 yıldır. Bu nedenle plazma hücreli myelom patogenezi ve/veya progresyonunda görev aldığı düşünülen bir takım moleküller üzerinde araştırmalar yapılmakta ve bu molekülleri hedef alan tedavi yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (2).

Siklik AMP regülatuar eleman bağlayıcı protein (CREB) bir transkripsiyon faktörüdür (3). CREB proteini çeşitli yollarla fosforile olduktan sonra, *CREB-bağlayıcı protein* veya homoloğu olan *p300* adı verilen kofaktörlerin etkisi ile aktif hale geçmektedir (3). Transkripsiyon faktörleri hücrelerde proliferasyon, sağkalım, yenilenme ve invazyon gibi önemli fonksiyonları kontrol eden genlerin regülasyonunda görevli anahtar proteinlerdir. Literatürde CREB ekspresyonunun, küçük hücreli dışı akciğer karsinomu ve akut myeloid lösemi (AML) gibi bazı malignitelerde arttığı saptanmış olup, hastalık patogenezi ve prognozu ile direkt ilişkili olduğu düşünülmektedir (4-5). CREB, hematopoietik kök hücre, ortak

granülosit-makrofaj progenitör hücre, megakaryosit-eritrosit progenitör hücre, multipotent progenitör hücre gibi az diferansiye hücrelerde ekspresyon göstermekte olup, hematopoetik sistemde düzenleyici etkisi olduğu bilinmektedir (3). CREB ekspresyonunun bir hematopoetik neoplazi olan plazma hücreli myelomda da artıp artmadığı ve prognoz üzerine olası etkisini araştırmak çalışmamızın temel hedeflerinden biridir.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), plazma hücreli myelomun patogenezi ve progresyonunda etkili bir glikoprotein olup, tümör anjiogenezinde görevlidir (1). Anjiogenezi “*var olan damarlardan yeni damar oluşumu*” anlamına gelmektedir. Solid tümörlerde olduğu gibi hematolojik malignitelerde de artmış anjiogenezin kötü prognoz ile ilişkili olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur (6). Çalışmamızda artmış anjiogenezi değerlendirmek için immünohistokimyasal yöntemler uygulanmış olup, VEGF ekspresyonu yanı sıra Faktör VIII belirteci kullanılarak mikrodamar yoğunluğu (MDY) araştırılmıştır. Ayrıca plazma hücreli myelomda CREB ekspresyonunun anjiogenezi ile ilişkisi de incelenmiştir.

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı’nda 2002-2010 yılları arasında tanı almış plazma hücreli myelom vakalarına ait tanı anı parafin bloklarında immünohistokimyasal yöntem ile CREB-bağlayıcı protein/p300 ekspresyonu, VEGF ekspresyonu ve mikrodamar yoğunluğunun klinikopatolojik özellikler ve prognoz ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Plazma hücreli neoplaziler (diskraziler) kemik iliğinde immünoglobülin salgılayan diferansiye B-hücrelerinin (plazma hücreleri) monoklonal artışı ile karakterli, küratif tedavisi olmayan bir grup hastalığı kapsamaktadır (Tablo 1). Plazma hücreli myelom bu grupta en sık görülen hastalıklardan biridir. Sonuçta proliferen olan plazma hücreleri *M protein* veya *paraprotein* olarak adlandırılan tek homojen (monoklonal) bir protein salgılayarak “ monoklonal gammopati” denilen duruma yol açarlar.

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2008 Sınıflaması’na göre plazma hücreli neoplaziler

1) Önemi bilinmeyen monoklonal gammopati (MGUS)
2) Plazma hücreli myelom
3) Plazmasitom Kemik soliter plazmasitomu Kemik dışı (ekstramedüller) plazmasitom
4) İmmünglobulin depo hastalıkları Primer amiloidozis Sistemik hafif ve ağır zincir depo hastalıkları
5) Osteosklerotik myelom (POEMS sendromu)

2.1 Epidemiyoloji

Plazma hücreli myelom malign tümörlerin %1'ini oluşturmaktadır. Hematolojik maligniteler içinde %10-15 oranında görülürken, hematolojik malignitelerden kaynaklanan ölümlerin yaklaşık %20'sine neden olmaktadır (7). Amerika Birleşik Devletleri'nde 2007 yılında yapılan bir araştırmaya göre 20.000 yeni vakanın plazma hücreli myelom tanısı aldığı ve 10.000 vakanın da bir yıl içinde kaybedildiği saptanmıştır (7).

Plazma hücreli myelom erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmektedir. Erkek / Kadın oranı: 1.4/1'dir. Ortalama 70 yaş civarında görülür. Hastaların %90'ı 50 yaştan sonra tanı alırken, 30 yaştan önce tanı alan vakalar çok nadirdir. Çocukluk çağında görülmemektedir. Birinci derecede akrabalarda görülme riskinin 3.7 kat arttığı bildirilmektedir (7).

2.2 Etyoloji

Kronik antijenik uyarı, enfeksiyon, kronik hastalıklar, toksik madde maruziyeti (asbest, boya maddeleri vb.) ve radyasyon gibi bir takım nedenlerin etkisine bağlı mutasyonlar sonucu geliştiği düşünülmekle birlikte pek çok hastada saptanabilir bir toksik madde maruziyeti veya kronik antijenik uyarı varlığı bulunamamıştır (8).

2.3 Yerleşim Yeri

Tipik prezentasyonu yaygın kemik iliği tutulumudur. Ekstramedüller tutulum genellikle ilerlemiş hastalığın göstergesidir. Litik kemik lezyonları ve plazma hücrelerinden oluşan fokal tümöral kitleler de görülebilmektedir (46).

2.4 Klinik Özellikler ve Tanı Kriterleri

Plazma hücreli myelom, DSÖ 2008 Sınıflaması'na göre semptomatik plazma hücreli myelom, asemptomatik (smoldering) plazma hücreli myelom, non-sekretuar myelom ve plazma hücreli lösemi olarak dört gruba ayrılmaktadır. Plazma hücreli myelom tanısı klinik, patolojik ve radyolojik kriterlerin birlikte değerlendirilmesiyle verilmektedir.

Semptomatik plazma hücreli myeloma ait Uluslararası Myelom Çalışma Grubu'nun 2003'de önerdiği tanı kriterleri ve istisnai durumlar Tablo 2'de yer almaktadır (9). Bu kriterler DSÖ 2008 Sınıflaması'nda da kabul görmüş olup günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Plazma hücreli myelomda serum/idrarda protein elektroforezi veya immünfiksasyon elektroforezi ile saptanan M protein varlığı (%97) ve kemik iliğinde monoklonal plazma hücreleri izlenmektedir. Ancak daha önceden kullanılan tanı kriterlerinden farklı olarak, Uluslararası Myelom Çalışma Grubu'nun önerdiği tanı kriterlerinde M protein düzeyi ve kemik iliğindeki plazma hücre oranına belli bir sınır getirilmemiştir. Bunun nedeni vakaların tanı anında istisnai klinik ve patolojik özellikler sergilemesidir (Tablo 2). Uluslararası Myelom Çalışma Grubu'na göre en önemli tanı kriteri; anemi (%67), hiperkalsemi (%20), litik kemik lezyonları (%70),

böbrek yetmezliği (%20-30), hiperviskozite, amiloidozis veya rekürren enfeksiyonlar gibi myeloma bağlı organ hasarı bulgularının varlığıdır. Hastaların %70'i litik kemik lezyonlarına bağlı patolojik kırık ile kliniğe başvurmaktadır (10). Böbrek yetmezliği, idrarla monoklonal hafif zincir atılımına bağlı tübüler hasar sonucu ortaya çıkmaktadır. Normal immünoglobulin seviyesinin azalmasına bağlı tekrarlayan enfeksiyonlar görülmektedir. Anemi ise plazma hücrelerinin kemik iliğini istila ederek eritroid serinin azalmasına yol açması ve böbrek yetmezliği sonucu eritropoetin salgısının azalmasına bağlı ortaya çıkmaktadır. Diğer laboratuvar bulguları hiperürisemi ve hipoalbuminemidir.

Asemptomatik (smoldering) myelom (Tablo 2), myeloma bağlı organ hasarı veya semptomlar olmaksızın, serum M protein seviyesinin >30gr/L olması ve/veya kemik iliğinde monoklonal plazma hücrelerinin $\geq$ %10 oranında olması ile karakterli durumdur (11). Bu grup hastalar uzun süre stabil seyredebilirler, ancak ilk 5 yıllık takiplerinde her yıl %10 oranında semptomatik plazma hücreli myelom veya amiloidozise progresyon riski mevcuttur (12). Bu risk yıllar geçtikçe kümülatif olarak artmaktadır.

Tablo 2 . “Uluslararası Myelom Çalışma Grubu” tanı kriterleri

1) Semptomatik plazma hücreli myelom a. Serum veya idrarda M protein varlığı* b. Kemik iliğindeki klonal plazma hücreleri veya plazmositom varlığı ** c. İlgili organ veya doku hasarı (hiperkalsemi, böbrek hasarı, anemi, kemik lezyonları) bulguları***
2) Asemptomatik (smoldering) myelom a. Serumda M protein seviyesinin >30 gr/L olması ve/veya b. Kemik iliğinde $\geq$%10 oranında plazma hücre varlığı c. İlgili organ veya doku hasarı (hiperkalsemi, böbrek yetmezliği, anemi, amiloidoz, kemik lezyonları) bulguları veya myeloma bağlı semptomlar bulunmaması
* Çoğu vakada M protein seviyesi serumda >30 gr/L IgG, >25 gr/L IgA olarak görülürken, 24 saatlik idrarda 1 gr’dan fazla monoklonal hafif zincir varlığı saptanmaktadır. Buna rağmen semptomatik plazma hücreli myelomların %40’ında bu seviyelerden daha az miktarda M protein varlığı görülmüştür. ** Kemik iliğinde genellikle monoklonal plazma hücre oranı %10’dan fazla iken, %5 olguda monoklonal plazma hücre oranı %10’dan az oranda bildirilmiştir. *** Semptomatik myelom için en önemli kriter anemi, hiperkalsemi, litik kemik lezyonları, böbrek yetmezliği, hiperviskozite, amiloidozis veya rekürren enfeksiyonlar gibi son organ hasarı bulgularının görülmesidir.

Non-sekretuar myelom nadir görülmekte olup, plazma hücreli myelomların %3'ünü oluşturmaktadır (47). İmmünfiksasyon elektroforezinde M protein saptanmadığı için “non-sekretuar myelom” olarak adlandırılmıştır. İmmünohistokimyasal yöntemlerle %85 vakada sitoplazmik M protein varlığı saptanmakta olup, düzensiz immünoglobülin sekresyonu izlenmektedir. Ancak sitoplazmik immünoglobulin sentezi vakaların %15'inde görülmemektedir (47). Bu gruba ise “*üretici olmayan myelom (non-producer myelom)*” adı verilmektedir. Non-sekretuar myelom vakalarının 2/3'ünde artmış serum hafif zincir ve/veya anormal hafif zincir oranı saptanabilmektedir. Bu da vakaların büyük kısmının az da olsa sekresyon yaptığını göstermektedir. Klinik bulgular ise semptomatik plazma hücreli myeloma benzemekle birlikte daha az oranda böbrek yetmezliği ve hiperkalsemi görülmektedir. Normal immünoglobulin miktarında semptomatik plazma hücreli myeloma göre daha az oranda düşüş olduğu gösterilmiştir (47).

Plazma hücreli lösemi, plazma hücrelerinin periferik kanda $2 \times 10^9/L$ 'den fazla olması veya lökositlerin %20'sinden fazlasını oluşturması ile karakterli formdur (47). Periferik kan ve kemik iliği yanı sıra dalak, karaciğer, plevral effüzyon, asit sıvısı veya serebrospinal sıvı gibi ekstramedüller alanlarda da neoplastik plazma hücreleri görülebilmektedir. Plazma hücreli lösemi, plazma hücreli myelomun ileri evrelerinde sekonder olarak karşılaşılabileceği gibi primer olarak plazma hücreli myelomdan bağımsız da görülebilmektedir (13). Morfolojik olarak plazma hücreli lösemi hücreleri diğer plazma hücreli myelomlara göre daha dar sitoplazmalı, plazmasitoid lenfositlere benzer görünümde küçük plazma

hücrelerinden oluşmaktadır. Ayrıca diğer myelomların çoğundan farklı olarak CD56 aberran ekspresyonu izlenmemektedir. Osteolitik lezyonlar veya kemik ağrıları daha az oranda görülür iken, lenfadenopati, organomegali veya böbrek yetmezliği daha sık karşılaşılan bulgulardır. Plazma hücreli lösemi kısa sürede ölümle sonuçlanan agresif seyirli bir hastalıktır (13).

2.5 Makroskopi

Kemikte litik lezyonların kesit yüzü şeffaf jelatinöz, hemorajik görünümde izlenmektedir (47).

2.6 Morfolojik Bulgular

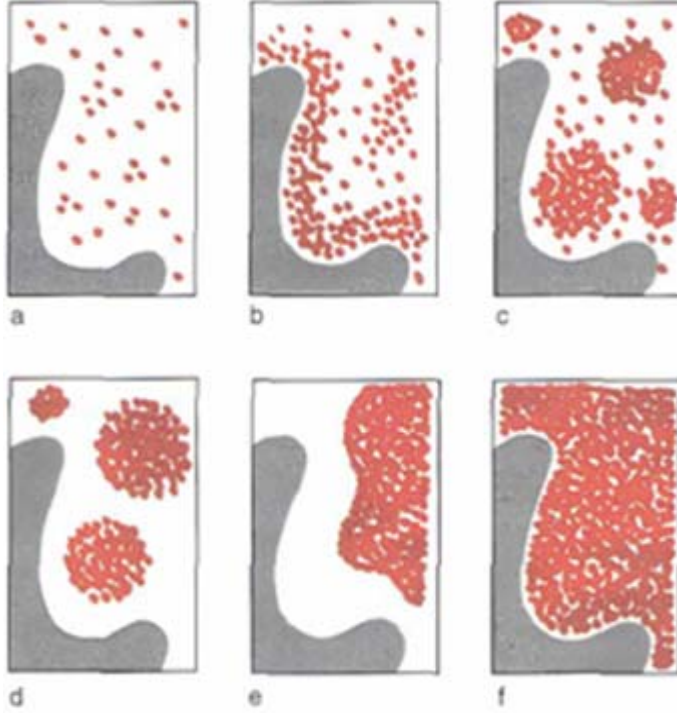
2.6.1 Kemik iliği biyopsisi:

Kemik iliği biyopsisi plazma hücreli myelom açısından incelenirken öncelikle plazma hücrelerinin sayıca artışı, yerleşim yeri ve hücre morfolojisi değerlendirilmelidir.

Plazma hücre sayısı: Plazma hücreleri normal kemik iliği hücresel popülasyonunun %0.5-4'ünü oluşturmaktadır. Daha önce tanımlanan kriterler ve bazı istisnai durumlar göz önüne alındığında, genel olarak kemik iliği hücresel komponentinin %30'u plazma hücrelerinden oluşuyor ise plazma hücreli myelom tanısı vermek kolaylaşmaktadır (48). Ancak bazı reaktif durumlarda plazma hücreleri bu orana yükselebilmektedir (reaktif plazmasitozis) (48).

Plazma hücre yerleşim yeri: Normal plazma hücreleri, interstisyel alanda dağınık ve arterioller çevresinde dizilim gösterirken, neoplastik plazma hücreleri

interstisyel alanda kümeler, fokal nodüller veya diffüz infiltrasyon oluştururlar (Şekil 1). Kemik iliğindeki infiltrasyon ile doğru orantılı olarak normal hematopoez baskılanır. Özellikle normal kemik iliği hücrelerinin yerini almış plazma hücre varlığı (%30' dan az oranda olsa bile) plazma hücreli myelom açısından uyarıcı olmalıdır (48).

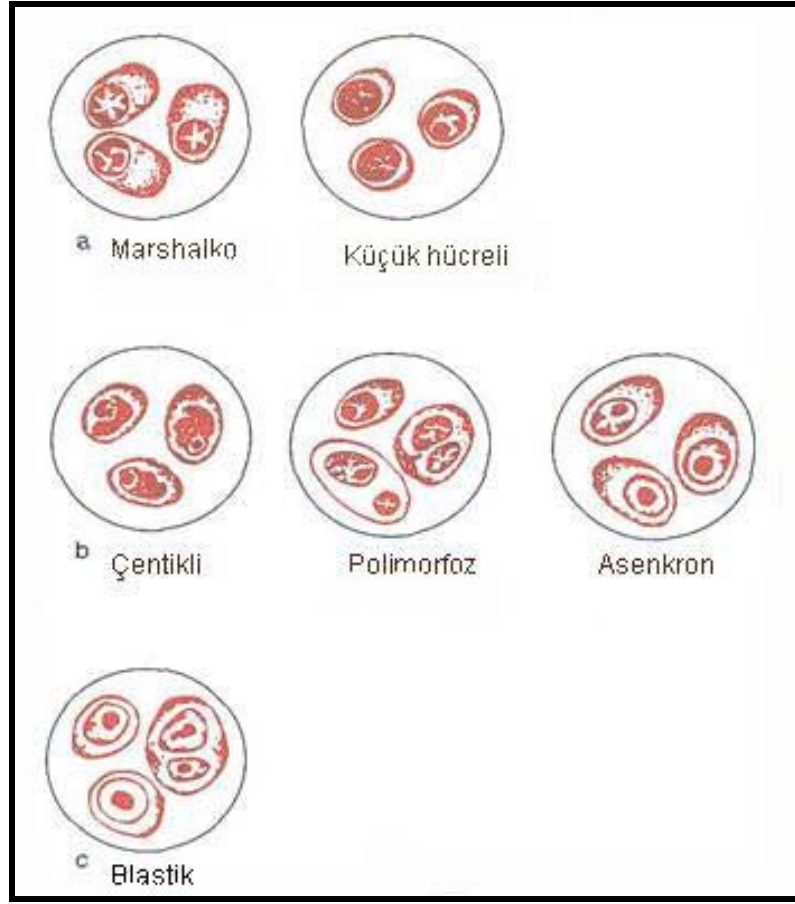


Şekil 1 (a-f): Plazma hücreli myelom kemik iliği infiltrasyon patternleri **a:** İnterstisyel; **b:** İnterstisyel tabakalar; **c:** İnterstisyel nodüller; **d:** Nodüler; **e:** Sarkomatöz; **f:** Diffüz

Plazma hücre morfolojisi: Matür plazma hücreleri genellikle oval, bazofilik sitoplazmalı, “araba tekerleği”ne benzer görünümde düzgün kromatin patternine sahip, nükleol içermeyen, perinükleer halo ile karakterli ekzantrik yerleşimli nükleuslara sahiptir. Neoplastik plazma hücreleri morfolojik olarak normal plazma hücrelerinden ayrılamayacak derecede matür görünümde olabileceği gibi nükleus/sitoplazma oranı artmış, belirgin eozinofilik nükleollü, dağınık kromatin patternine sahip, perinükleer halo içermeyen immatür veya plazmablastik denilen pleomorfik hücreler şeklinde de görülebilmektedir. Plazma hücre morfolojisi için anaplazi derecesi ve prognostik önemine göre değişik histolojik sınıflamalar yapılmıştır. Bu çalışmada Bartl histolojik derecelendirme sistemi (Tablo 3, Şekil 2) kullanılmıştır (14). Histolojik derece arttıkça prognozun kötüleşeceği ön görülmektedir.

Tablo 3. Bartl histolojik derecelendirme sistemi

1) Düşük Dereceli: <i>Marshalko:</i> Bazofilik sitoplazmalı, ekzantrik yerleşimli araba tekerleğine benzer kromatin patternine sahip, perinükleer halo ve belirsiz nükleollü nükleus içeren; az mitotik figür gösteren, primer interstisyel infiltrasyon patterni ile karakterli hücrelerdir. <i>Küçük hücreli:</i> Marshalko'dan küçük çapta, yuvarlak lenfosit benzeri nükleuslu, dar bazofilik sitoplazmalı hücrelerdir (plazma hücreli lösemideki gibi).
2) Orta Dereceli: <i>Çentikli:</i> Küçük perinükleer halo içeren, değişik büyüklükte çentikli nükleuslu, yüksek nükleus/sitoplazma oranına sahip hücrelerdir. <i>Polimorfoz:</i> Sellüler ve nükleer polimorfizm gösteren, %25 oranda santral yerleşimli belirgin nükleol içeren hücrelerdir. <i>Asenkron:</i> Nükleus-sitoplazma matürasyonun senkron olmadığı, geniş bazofilik sitoplazmalı, >%50 hücrede santral yerleşimli belirgin nükleol içeren, belirgin perinükleer halo ile karakterli nükleusa sahip hücrelerdir.
3) Yüksek Dereceli: <i>Blastik:</i> Orta derecede bazofilik sitoplazmalı, santral yerleşimli belirgin nükleol ve belirsiz perinükleer halo içeren büyük nükleuslu hücrelerdir.



Şekil 2 (a-c). Bartl histolojik derecelendirme sistemine göre plazma hücrelerinin şematize edilmiş resimleri. **a:** Düşük dereceli; **b:** Orta dereceli; **c:** Yüksek dereceli

İmmünohistokimyasal yöntemler: İmmünohistokimyasal olarak sıklıkla CD138 antikorunu plazma hücrelerinin oranını saptamakta kullanılmaktadır. Kappa ve lambda hafif zincir antikorları ise monoklonaliteyi göstermek için uygulanmaktadır. Bunlar dışında pek çok antikorun değişen oranlarda pozitifliği plazma hücreli myelom tanısı vermede ve ayırıcı tanıda zora düşülen durumlarda yardımcıdır (15) (Tablo 4).

Tablo 4. Plazma hücreli myelom tanısında yardımcı immünohistokimyasal yöntemler ve boyanma yüzdeleri.

CD45 (%21.4)	Bcl-2 (%53.3)
CD19 (%6.5)	Siklin D1 (%34.1)
CD79a (%26.7)	CD20 (%30.9)
CD43 (%50)	PAX5 (%29.3)
CD138 (%96.2)	CD56 (%53.5)
CD38 (%98.4)	CD117 (%50)
VS38C (%100)	EMA (%34)

Diğer bulgular: Kemik iliğinde, kemik trabekülleri çevresinde osteoklastların artmış olması ve bu bulgunun radyolojik olarak korelasyonu da tanıda yardımcıdır.

2.6.2 Kemik iliği aspirasyonu

Plazma hücrelerinde %90'a varan oranda sayıca artış gözlenmektedir. Semptomatik plazma hücreli myelomlu hastaların %5'inde kemik iliği aspirasyonlarında %10'dan az oranda plazma hücresi saptanmaktadır. Bu bulgu kemik iliğinde fokal tutulumla ilgili ortaya çıkabileceği gibi suboptimal aspirasyonlara bağlı da görülebilmektedir.

Neoplastik plazma hücreleri kemik iliği biyopsilerinde tanımlandığı gibi değişik histolojik derecelerde izlenebilmektedir. Myelom hücreleri endoplazmik retikulumdan zengin olup, kristalize ve kondanse immünoglobulin sentezlemektedir. Aşırı immünoglobulin birikimine bağlı olarak sitoplazmada

mavi-beyaz renkte, üzüm salkımına benzer görünüme sahip “*Mott hücreleri*” veya “*Morula hücreleri*”; kırmızı-pembe renkte yuvarlak sitoplazmik “*Russell cisimcikleri*”; glukoenden zengin IgA birikimine bağı “*Flame hücreleri*”; fibriller görünümde “*Gaucher hücreleri*” ve plazma hücreli myeloma spesifik olan “*çubuk görünümünde kristalin birikimi*” ile karakterli inklüzyonlar izlenebilmektedir (49). Bu inklüzyonlara daha az olmakla birlikte kemik iliğı biyopsilerinde de karşılaşılmaktadır.

2.6.3 Periferik kan bulguları

M protein tipi ve oranına bağı olarak görülen “*rulo formasyonu*” periferik kan yaymalarında en sık karşılaşılan bulgulardandır. Vakaların %15’inde az miktarda plazma hücreleri izlenmektedir (49).

2.6.4 Böbrek bulguları:

Bence Jones proteini denen immünoglobulin hafif zincir proteini renal tübüllerde birikmektedir. Bence Jones proteininin reabsorbsiyonu tübül epitel hasarına neden olarak böbrek yetmezliğine yol açmaktadır (49).

2.6.5 İmmüfenotip

Neoplastik plazma hücreleri, normal plazma hücrelerine benzer olarak genellikle CD79a, VS38C, CD138 ve kuvvetli CD38 eksprese ederler iken, normal plazma hücrelerinden farklı olarak hemen tamamı CD19 negatiftir ve aberran CD56 (%67-79 oranında), CD117, CD20, CD52 ve CD10 eksprese ederler (49).

Plazma hücreli myelomlardan farklı olarak plazma hücreli lösemiler CD56 negatiftir. Bazı plazma hücreli myelom vakalarında siklin D1 pozitifdir. Bu bulgu CCND1 genindeki t(11;14)(q13;q32) translokasyonu ile korele olup, lenfoplazmasitik morfolojiden sorumlu tutulmaktadır (49).

2.6.6 Prognoz ve tedavi:

Vincristin+Adriamisin+Deksametazon, Melfelan+Prednizon gibi klasik tedavi yöntemlerine alternatif olarak, proteozom inhibitörü olan Bortezemib ve immünmodülatörlerden Talidomid ve Lenalidomid yeni kullanıma başlanmış ilaçlardır (2). Kök hücre nakli de uygulanmaktadır. Ancak günümüzde henüz plazma hücreli myeloma yönelik küratif bir tedavi yöntemi mevcut değildir. Ortalama yaşam süresi 3-4 yıl iken, 6 aydan az ya da 10 yıldan uzun yaşayan vakalar da bildirilmiştir.

2.6.7 Prognostik ve prediktif faktörler

Klinik ve laboratuvar faktörler: “Durie ve Salmon’a göre Myelom Evreleme Sistemi” ve “Uluslararası Plazma Hücreli Myelom Evreleme Sistemi” günümüzde plazma hücreli myelomlu hastaların prognozlarını ön görmek için kullanılan klinik evreleme sistemleri olup, Tablo 5 ve Tablo 6’da ilgili parametreler belirtilmiştir (16-17). Ayrıca Battaille ve ark. tarafından önerilen serum CRP ve beta-2 mikroglobulin (B2M) düzeylerine göre hastalık risk gruplarının belirlendiği bir evreleme sistemi de mevcuttur (Tablo 7) .

Tablo 5. Durie ve Salmon’ a göre myelom klinik evreleme sistemi

Evre I: • Düşük M protein varlığı: IgG <50 gr/L; IgA <30 gr/L; idrarda Bence Jones proteini <4 gr/gün • Kemik lezyonu yok veya soliter kemik lezyonu varlığı • Normal hemoglobin, serum kalsiyum ve immünoglobulin düzeyleri (non-M protein)
Evre II: • Evre I ile evre II arasındaki değerleri kapsamaktadır.
Evre III: • Yüksek M protein varlığı: IgG >70gr/L; IgA >50 gr/dl; idrarda Bence Jones proteini >12 gr/gün • İlerlemiş multipl litik kemik lezyonu varlığı • Hemoglobin < 8.5 g/dl, serum kalsiyum <12 mg/dl
Alt sınıflama: A: Serum kreatinin <2 mg/dl B: Serum kreatinin $\geq$2 mg/dl

Tablo 6. Uluslararası plazma hücreli myelom evreleme sistemi

Evre	Kriterler	Ortalama sağkalım (ay)
I	- Serum beta-2 mikroglobulin düzeyi <3.5 mg/L - Serum albumin düzeyi >3.5 gr/dl	62
II	- Serum beta-2 mikroglobulin düzeyi <3.5 mg/L - Serum albumin düzeyi <3.5 gr/dl veya - Albumin düzeyinden bağımsız olarak serum beta-2 mikroglobulin düzeyi 3.5-5.5 mg/L	44
III	Serum beta-2 mikroglobulin düzeyi >5.5 mg/L	29

Tablo 7. CRP ve beta-2 mikroglobulin düzeyine göre hastalık risk grupları

	B2M	CRP	Ortalama sağkalım (ay)
Düşük risk	<6 mg/L	<6 mg/L	54
Orta risk	B2M ≥6 mg/L veya	CRP ≥ 6 mg/L	27
Yüksek risk	≥6 mg/L	≥6 mg/L	6

Sitogenetik faktörler: Ayrıca bazı sitogenetik özelliklerin iyi ve kötü prognoz göstergesi olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (Tablo 8) (18).

Tablo 8. Plazma hücreli myelomlarda sitogenetik prognoz göstergeleri.

Kötü Prognoz Göstergeleri:
• Metafaz analizinde 13 . kromozom delesyonu ya da anöploidi saptanması • FISH ile t(14;16), t(4;14) veya t(14;20) pozitifliği • FISH ile 17p13 delesyonu izlenmesi • Hipodiploidi varlığı
İyi Prognoz Göstergeleri
• Kötü risk faktörlerinin olmayışı • Hiperdiploidi varlığı • FISH ile t(11;14) veya t(6;14) traslokasyonu izlenmesi

Plazma hücre infiltrasyon oranı: Tanı anı kemik iliği biyopsilerinde plazma hücre infiltrasyon oranı arttıkça sağkalım süresinin kısaldığı bilinmektedir. Buna göre plazma hücre infiltrasyon oranı <%20 ise ortalama sağkalım süresi 53 ay; %20-50 ise 25 ay; >%50 ise 15 ay olarak belirtilmiştir.

Plazma hücre infiltrasyon patterni (Şekil 1): Prognozun interstisyel fokal tutulumdan diffüz infiltrasyona doğru ilerledikçe kötüleştiğini bildiren yayınlar mevcuttur (14).

Plazma hücre morfolojisi: Daha önce tanımlandığı gibi matür plazma hücre morfolojisinden plasmablastik morfolojiye doğru ilerledikçe prognozun kötüleştiği saptanmıştır (Tablo 4, Şekil 2) (14).

Yüksek plazma hücre labeling (Ki-67) indeks, ağır fibrozis, amiloidozis ve sekonder neoplazi (plazma hücreli lösemi) diğer kötü prognostik belirteçlerdir.

Anjiogenez: Anjiogenez “var olan damarlardan yeni damar oluşumu” anlamına gelmekte olup, embryonel büyüme, yara iyileşmesi ve menstruel siklus gibi durumlarda fizyolojik olarak görülmekle birlikte pek çok solid tümörün büyümesi, invazyonu ve metastazında rol oynamaktadır. Anjiogenezin solid tümörlerde olduğu gibi hematolojik malignitelerde de kötü prognoz ile ilişkili olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur (6, 19-21). Bu konuda ilk çalışma Vacca ve ark. tarafından 1994 yılında yapılmış olup, plazma hücreli myelomda kemik iliği anjiogenezinin (mikrodamar yoğunluğu) prognozla ilişkili olduğu saptanmıştır (19, 22).

Anjiogenez çok aşamalı bir olaydır. Varolan damarların perivasküler alana tutunması, matriks yıkımı ve endotelial hücrelerin göçü ve proliferasyonu yolu ile yeni fonksiyonel damarlar oluşmaktadır (19). Fizyolojik ve patolojik anjiogenezde de aynı basamaklar geçerlidir, ancak tümör anjiogenezinde endotel hücreleri çok daha fazla proliferatif aktivite göstermektedir. Ayrıca yeni oluşan vasküler ağın tümör anjiogenezinde yapısal ve fonksiyonel farklılıklar da içerdiği bilinmektedir (23-24). Anjiogenez, tümör mikroçevresinde bulunan bir takım uyarıcı ve inhibe edici anjiogenik faktörler arasındaki dengenin bozulması nedeni ile başlamaktadır. Bu duruma “anjiogenik anahtar (angiogenic switch)” adı verilmektedir (25). Tümör hücreleri anjiogenezi uyaran molekülleri kendileri üretir veya mikroçevresinde oluşumunu indükler (26).

VEGF anjiogenezi uyaran faktörlerden biridir (27). VEGF, 34-45 kilo Dalton ağırlığında bir glikoprotein olup, endotel hücrelerdeki reseptörüne bağlanarak mitojenik etki ile endotel hücre proliferasyonuna yol açmaktadır. VEGF ayrıca myelomun patogenezi, büyümesi ve ilerlemesinde kritik önem taşımaktadır. Endotel hücrelerinden interlökin-6 (IL-6) salımını artırarak, myelom hücrelerinin proliferasyonunun yanı sıra otokrin ve parakrin mekanizmalar yolu ile göçünü tetiklemektedir (28-29). Osteoklastları aktive ederek litik kemik lezyonları oluşumuna neden olmaktadır (30). Dendritik hücrelerin matürasyonunu durdurarak immün sistemin baskılanmasına yol açmaktadır (31). Bu nedenle plazma hücreli myelomlu hastalara ait kemik iliği biyopsilerinde artmış VEGF ekspresyonunun prediktif bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca VEGF'yi hedef alan ilaçların yapımının myelom patogenezi ve progresyonunu durdurabileceği de ön görülmektedir.

Transkripsiyon faktörleri proliferasyon, sağkalım, yenilenme ve invazyon gibi önemli fonksiyonları kontrol eden genleri düzenleyen anahtar proteinlerdir (3). İlgili genleri aktive ederek tümör patogenezinde rol alır. CREB normal ve neoplastik hematopoezde rolü olan bir nükleer transkripsiyon faktörüdür (32). CREB proteini çeşitli yollarla fosforile olduktan sonra, *CREB-bağlayıcı protein* veya homoloğu olan *p300* adı verilen kofaktörlerin etkisi ile aktif hale geçmektedir. Bu iki kofaktörün ekspresyonunun da CREB ekspresyonunu yansıttığı düşünülmektedir (3). Bu çalışmada p300 belirteci kullanılarak myelom hücrelerinde CREB ekspresyonu değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalara göre CREB'in akut myeloid lösemi ve akut lenfoid lösemi (ALL) gibi bazı

malignitelerde artmış ekspresyon gösterdiği saptanmıştır (4-5). Artmış CREB ekspresyonunun neoplastik hücre proliferasyonu ve sağkalımını arttırarak tümör progresyonunu hızlandığı düşünülmektedir. Ancak literatürde bugüne kadar CREB'in plazma hücreli myelom ile ilişkisinin olup olmadığını araştıran bir çalışma mevcut değildir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların Seçilmesi

Çalışmamızda Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2002-2010 yılları arasında tanı almış plazma hücreli myelom olgularına ait tanı anı kemik iliği biyopsileri incelenmiştir. Toplam 76 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Olgulara ait klinik bilgiler hasta dosyalarından elde edilmiştir.

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 25 Haziran 2010 tarihinde 65 nolu karar ile yerel etik kurul onayı alınmıştır. Çalışmamızda patoloji laboratuvarında daha önce yapılmış olan araştırmalardan kalan immünohistokimyasal boyalar kullanılmış olup, finansal kaynağa ihtiyaç duyulmamıştır.

3.2 Morfolojik Parametreler

Vakalara ait tüm Hematoksilen-Eozin (H-E) boyalı preparatlar aşağıdaki parametreler açısından yeniden değerlendirilmiştir.

Plazma hücre histolojik tipi: Plazma hücreleri “Bartl histolojik derecelendirme sistemi”ne göre “düşük derece”, “orta derece” ve “yüksek derece” olmak üzere 3 gruba ayrılarak incelenmiştir (Tablo 3, Şekil 2) (14).

Plazma hücre infiltrasyon patterni: İnterstisyel veya interstisyel tabakalar halinde ise “düşük derece”; interstisyel nodüler veya nodüler ise “orta derece”; sarkomatöz veya diffüz infiltrasyon patterni gösteriyor ise “yüksek derece” şeklinde pattern analizi yapılmıştır (Şekil 1).

3.3 Histokimyasal Bulgular:

Biyopsilerde amiloid birikimi varlığı vakalara ait patoloji raporlarından kaydedilmiştir.

3.4 İmmünohistokimyasal Boyama

3.4.1 Kullanılan belirteçler:

p300: CREB-bağlayıcı protein ile aminoasit düzeyinde, %63 oranında homolog olan bir transkripsiyon kofaktörüdür (33). Aynı fonksiyonları gerçekleştirir. CREB-bağlayıcı protein veya p300, CREB'in siklik AMP regülatuar elemana bağlanmasını uyararak aktif hale geçmesini sağlamaktadırlar.

VEGF: 34-45 kilo Dalton ağırlığında bir glikoprotein olup, endotelial hücrelerdeki reseptörüne bağlanarak endotel hücre proliferasyonuna neden olur.

Faktör VIII: Endotel hücrelerinden salınan bir multimerik glikoproteindir. Plateletler, kollajen ve heparin üzerindeki reseptörlerine bağlanır. Anjiogenezi saptamada kullanıldığı gibi epitelyal tümörlerde de eksprese olur.

3.4.2 İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi:

Plazma hücreli myelom olgularında p300 ve VEGF ekspresyonunu belirlemek, Faktör VIII ile mikrodamar yoğunluğunu saptamak için streptavidin-biyotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak boyama yapılmıştır.

p300 (Sc-585, rabbit poliklonal, IgG, Santa Cruz), VEGF (klon VG1, mouse monoklonal, IgG1 Kappa, Thermo Scientific), Faktör VIII (klon 58/86, mouse monoklonal, Neomarkers) antikorları 1/50 oranında dilüe edilmiştir.

Biyotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikor, streptavidin-biyotin kompleksi ve kromojen olarak kullanılan 3-Amino-9-Ethylcarbazole (AEC) ticari olarak kullanıma hazır kitler şeklindedir.

p300 antikorunun pozitif kontrolü olarak memenin invaziv duktal karsinomu; VEGF antikorunun pozitif kontrolü olarak anijiosarkom; Faktör VIII antikorunun pozitif kontrolü olarak plasenta dokusu kullanılmıştır.

Kemik iliği iğne biyopsilerine ait parafin bloklardan hazırlanan kesitler p300, VEGF ve Faktör VIII antikorları ile aşağıdaki prosedüre göre boyanmıştır.

1. Polilizinli lam üzerine alınan 4 mikronluk kesitler 56 °C’de etüvde gece boyunca deparafinize edilmiştir.
2. Kesitler ksilolde 30 dakika bekletilmiştir.
3. Fiksasyon için %96’ lık alkolde 15 dakika tutulmuştur.
4. Kesitler önce çeşme suyuyla, ardından distile su ile yıkanmıştır.
5. Antijen retrival işlemi p300 antikoru ile boyama için Tris-EDTA buffer (Ph 9.0), VEGF antikoru ile boyama için sitrat buffer (Ph 6.0), Faktör VIII antikoru ile boyama için EDTA buffer içinde mikrodalgada yüksek sıcaklıkta 20 dakika bekletilmiştir.
6. Endojen peroksidazı bloke etmek için oda sıcaklığında %3’lük hidrojen peroksitte 10 dakika bekletilmiştir.
7. Kesitler önce distile su ile, ardından PBS ile yıkanmıştır.
8. Protein bloklama için non-immün protein bloklama serumunda 20 dakika tutulmuş ve ardından kurulanmıştır.

9. Primer antikor olan p300, VEGF ve Faktör VIII lam üzerindeki doku kesitlerini kapatacak şekilde damlatılmıştır. VEGF ve Faktör VIII oda sıcaklığında 1 saat; p300, +4 °C’de bir gece (16 saat) bekletilmiştir.
10. Kesitler PBS ile yıkanmıştır.
11. Bağlayıcı (sekonder) antikor ile oda sıcaklığında 20 dakika süre ile inkübasyon yapılmıştır.
12. Kesitler PBS ile yıkanmıştır
13. Streptavidin-biyotin kompleksi uygulanarak 20 dakika bekletilmiştir.
14. Kesitler PBS ile yıkanmıştır
15. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacı ile AEC ile 10 dakika süre ile inkübasyon yapılmıştır.
16. Kesitler distile su ile yıkanmıştır.
17. Mayer’s hematoksilen ile zemin boyası yapılmıştır.
18. Kesitler PBS ile yıkanmıştır ve havada kurutulmuştur.
19. Su bazlı kapatıcı ile kapatılmıştır.

3.4.3 İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi:

Plazma hücrelerinde p300 ile nükleer boyanma, VEGF ile sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. H-E ve CD138 boyalı lamlarda plazma hücre infiltrasyonu alanları belirlenerek plazma hücrelerindeki p300 ve VEGF boyanma yaygınlığı değerlendirilmiştir. Boyanma yaygınlığı sonuçları yüzde (%) oranları şeklinde belirtilmiştir. Buna göre, p300 boyanma yaygınlığı <%30 ise ekspresyon derecesi *düşük*, ≥%30 ise *yüksek* kabul edilmiştir. VEGF boyanma

yaygınlığı $< \%10$ ise *düşük*, $\%10-49$ ise *orta*, $\geq \%50$ ise *yüksek* ekspresyon olarak değerlendirilmiştir.

Faktör 8 ile boyanan kemik iliği biyopsisinde x100'lük büyütme alanında mikrodamar (kapillerler veya venüller) yoğunluğunun en fazla olduğu 3 alan seçilmiş olup, bu alanlar “sıcak noktalar” olarak belirlenmiştir. x400'lük büyütmede her bir sıcak noktadaki mikrodamarlar sayılmış olup, üç noktadaki mikrodamar sayısının aritmetik ortalaması alınmıştır. Bulunan değer “mikrodamar yoğunluğu” olarak belirtilmiştir. Mikrodamarlar birbirinden net olarak ayrılabilen, tübüller veya adalar şeklinde, tek tek veya kümeler halinde endotel hücreleri olarak tanımlanmıştır. Devamlılık gösteren boyanmalar da damar olarak kabul edilmiştir. Lümen formasyonu şart koşul sayılmamıştır. Lümenleri 10 mikrometreden küçük çapta yani transvers çapı endotelial hücre nükleusunun 1.5 katından küçük olan damarlar mikrodamar olarak değerlendirilmiştir. Periost veya kemik dokudaki büyük damarlar değerlendirme dışı bırakılmıştır. Mikrodamar yoğunluğu şu şekilde derecelendirilmiştir: düşük derece , < 20 mikrodamar; yüksek derece, ≥ 20 mikrodamar .

3.5 İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen verilerin analizi SPSS for Windows 15.0 paket programında yapılmıştır. Verilerin özetlenmesinde yüzde dağılımları ve dağılım ölçütleri kullanılmıştır. Sürekli veriler ortalama $\pm$ standart deviasyon olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada Pearson ki-kare ve Fisher-Exact testi, gruplar arası korelasyon için Spearman korelasyon testi kullanılmıştır. Klinik

izlem verilerine ulaşılan olguların sağkalım analizi Kaplan-Meier Survival metodu kullanılarak yapılmıştır. “p” değerinin 0.05’den kúçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Olguların Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

Olguların klinik özellikleri Tablo 9’da belirtilmiştir.

Cinsiyet: Çalışmada 35’i (%46) kadın, 41’i (%54) erkek olmak üzere toplam 76 olguya ait kemik iliği biyopsileri incelenmiştir.

Yaş: Olguların yaş aralığı 39-84 olup, yaş ortalaması 59 ± 10 ’dur. Olguların 13’ü (%17) <50 yaşında iken, 63’ü (%83) ≥ 50 yaşındadır.

Semptom: Toplam 60 (%79) olgunun kliniğe ilk başvuru semptomu bilinmemekte olup, 16 olguda (%21) bilinmemektedir. Olguların 25’i (%33) kliniğe ilk olarak kemik ağrısı şikayeti ile başvurmuş olup, bunu halsizlik (%22), plazmositom (%6), anemi (%5), böbrek yetmezliği (%5), kemik kırığı (%1) ve diğer semptomlar (%6) izlemektedir.

Serum M protein tipi: Olguların 46’sının (%61) IgG, 14’ünün (%18) IgA, 6’sının (%7) kappa hafif zincir, 5’inin (%7) lambda hafif zincir, 2’sinin (%3) IgD ve 1’inin (%1) IgM tipinde M protein salgıladığı izlenmiştir. İki olgunun (%3) ise nonsekretuar myelom olduğu gözlenmiştir.

Hafif zincir tipi: Sekretuar olan 74 (%98) olgunun yarısı kappa hafif zincir ile monoklonal iken, diğer yarısının lambda hafif zincir ile monoklonal olduğu saptanmıştır.

Risk grubu: Olguların 8’inin (%11) düşük risk; 26’sının (%34) orta risk; 14’ünün (%18) ise yüksek risk grubunda olduğu saptanmıştır. Yirmi sekiz (%37) olgunun risk grubu bilinmemektedir.

Tablo 9. Olguların klinik özellikleri

Özellikler	n=76
Yaş	39-84 (ort:59±10)
<50 yaş	13 (%17)
≥50 yaş	63 (%83)
Cinsiyet	
Kadın	35 (%46)
Erkek	41 (%54)
Semptom	
Kemik ağrısı	25 (%33)
Halsizlik	16 (%22)
Plazmositom	5 (%6)
Anemi	4 (%5)
Kemik kırığı	1 (%1)
Böbrek yetmezliği	5 (%6)
Diğer	5 (%6)
Bilinmeyen	16 (%21)
Durie ve Salmon' a göre klinik evre	
Evre 1A	10 (%13)
Evre 2A	10 (%13)
Evre 2B	3 (%4)
Evre 3A	38 (%50)
Evre 3B	15 (%20)
Hastalık risk grubu	
Düşük risk	8 (%11)
Orta risk	26 (%34)
Yüksek risk	14 (%18)
Bilinmeyen	28 (%37)

Durie ve Salmon'a göre klinik evre: On (%13) olgunun evre 1A; on (%13) olgunun evre 2A; üç (%4) olgunun evre 2B; otuzsekiz (%50) olgunun evre 3A; onbeş (%20) olgunun evre 3B klinik ve laboratuvar özellikleri taşıdığı saptanmıştır.

Evrelemede kullanılan veya prognostik önem taşıyan laboratuvar bulguları Tablo 10-11’de belirtilmiştir.

Tablo 10. Olguların laboratuvar özellikleri -1

Özellikler	n=76
Serum M protein tipi	
<i>IgG</i>	46 (%61)
<i>IgA</i>	14 (%18)
<i>Kappa hafif zincir</i>	6 (%7)
<i>Lambda hafif zincir</i>	5 (%7)
<i>IgD</i>	2 (%3)
<i>IgM</i>	1 (%1)
<i>Nonsekretuar</i>	2 (%2)
Serum M protein düzeyi	
<u>IgG</u>	
<5 gr/dl	58 (%76)
5-7 gr/dl	6 (%8)
>7 gr/dl	10 (%13)
<i>Bilinmeyen</i>	2 (%3)
<u>IgA</u>	
<3 gr/dl	5 (%7)
3-5 gr/dl	67 (%87)
>5 gr/dl	2 (%3)
<i>Bilinmeyen</i>	2 (%3)
Hafif zincir tipi	
<i>Kappa</i>	37 (%49)
<i>Lambda</i>	37 (%49)
İdrarda M protein	
Negatif	24 (%32)
Pozitif	35 (%46)
<i>Bilinmeyen</i>	17 (%22)
İdrarda Bence Jones Proteinürisi	
<1gr/gün	40 (%53)
≥1gr/gün	24 (%32)
<i>Bilinmeyen</i>	12 (%15)

Tablo 11. Olguların laboratuvar özellikleri - 2

Özellikler	n:76	Özellikler	n=76
Hemoglobin		Serum albumin	
> 10 gr/dl	31 (%41)	≥3.5 gr/dl	48 (%63)
8.5-10 gr/dl	19 (%25)	< 3.5 gr/dl	25 (%33)
<8.5 gr/dl	23 (%30)	Bilinmeyen	3 (%4)
Bilinmeyen	3 (%4)	Serum Ca	
Lökosit sayısı		< 12 mg/dl	61 (%80)
<4500 e3/IU	14 (%18)	≥ 12 mg/dl	8 (%10)
4500-11.000 e3/IU	55 (%73)	Bilinmeyen	7 (%10)
>11.000 e3/IU	4 (%5)	CRP	
Bilinmeyen	3 (%4)	<6 mg/L	21 (%28)
Trombosit sayısı		≥6 mg/L	37 (%49)
<150.000 e3/IU	19 (%25)	Bilinmeyen	18 (%24)
150.000-400.000 e3/IU	54 (%71)	Sedimentasyon hızı	
Bilinmeyen	3 (%4)	≤20 mm/saat	51 (%68)
Serum kreatinin		>20 mm/saat	1 (%1)
< 2 mg/dl	59 (%78)	Bilinmeyen	24 (%31)
≥ 2 mg/dl	15 (%20)	LDH	
Bilinmeyen	2 (%2)	<243 U/L	51 (%67)
Beta-2 mikroglobulin		≥243 U/L	16 (%21)
<3.5 gr/dl	30 (%40)	Bilinmeyen	9 (%12)
3.5-5.5 gr/dl	6 (%8)	Litik kemik lezyonu	
<5.5 gr/dl	12 (%16)	≤1 adet	39 (%51)
Bilinmeyen	28 (%37)	2-3 adet	3 (%4)
		>3 adet	28 (%37)

Toplam sağkalım süreleri/oranları: Toplam 71 olgunun sağkalım süresi ile sağ/ölü olduğu bilinmekte olup, 5 olguya ait sağkalım bilgilerine ulaşılamamıştır. Yetmiş bir olgunun 44'ünün (%62) sağ olduğu, 27'sinin (%38) ise kaybedildiği saptanmıştır. Olguların toplam sağkalım süreleri 2-94 ay arasında değişmekte olup, ortalama sağkalım süresi 26±22 aydır.

4.2 Olguların Morfolojik Özellikleri

Olguların morfolojik özellikleri Tablo 12’de yer almaktadır.

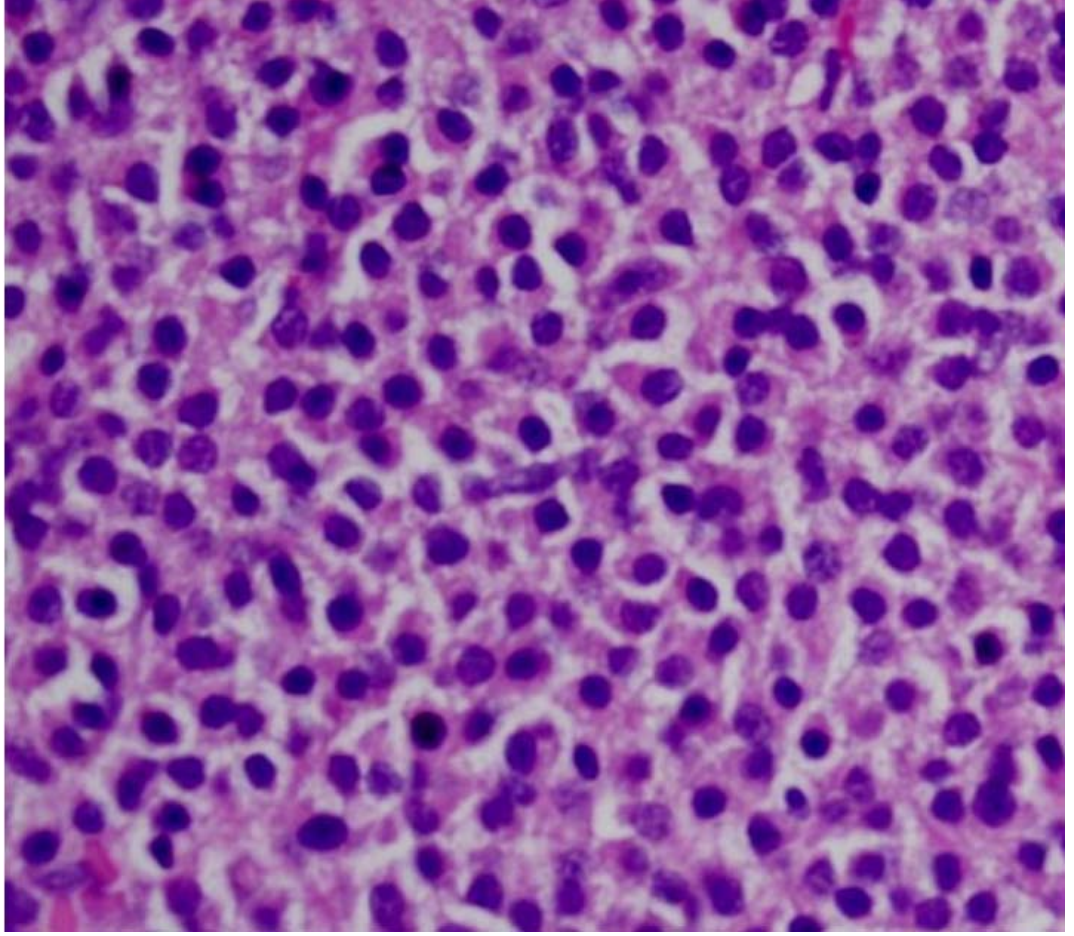
Plazma hücre infiltrasyon oranı: Olgularda kemik iliği infiltrasyonu %8-100 oranında izlenmiş olup, ortalama değeri %58+/-28’dir. Kemik iliği infiltrasyonunun 8 (%11) olguda <%20; 18 (%24) olguda %20-49 oranında; 50 (%65) olguda ise $\geq$ %50 oranında izlenmiştir.

Plazma hücre histolojik derecesi: Bartl histolojik derecelendirme sistemine göre (Tablo 3) olguların 28’inde (%37) “düşük dereceli”; 46’sında (%60) “orta dereceli”; 2’sinde (%3) “yüksek dereceli” histolojik tip izlenmiştir (Resim 1-3).

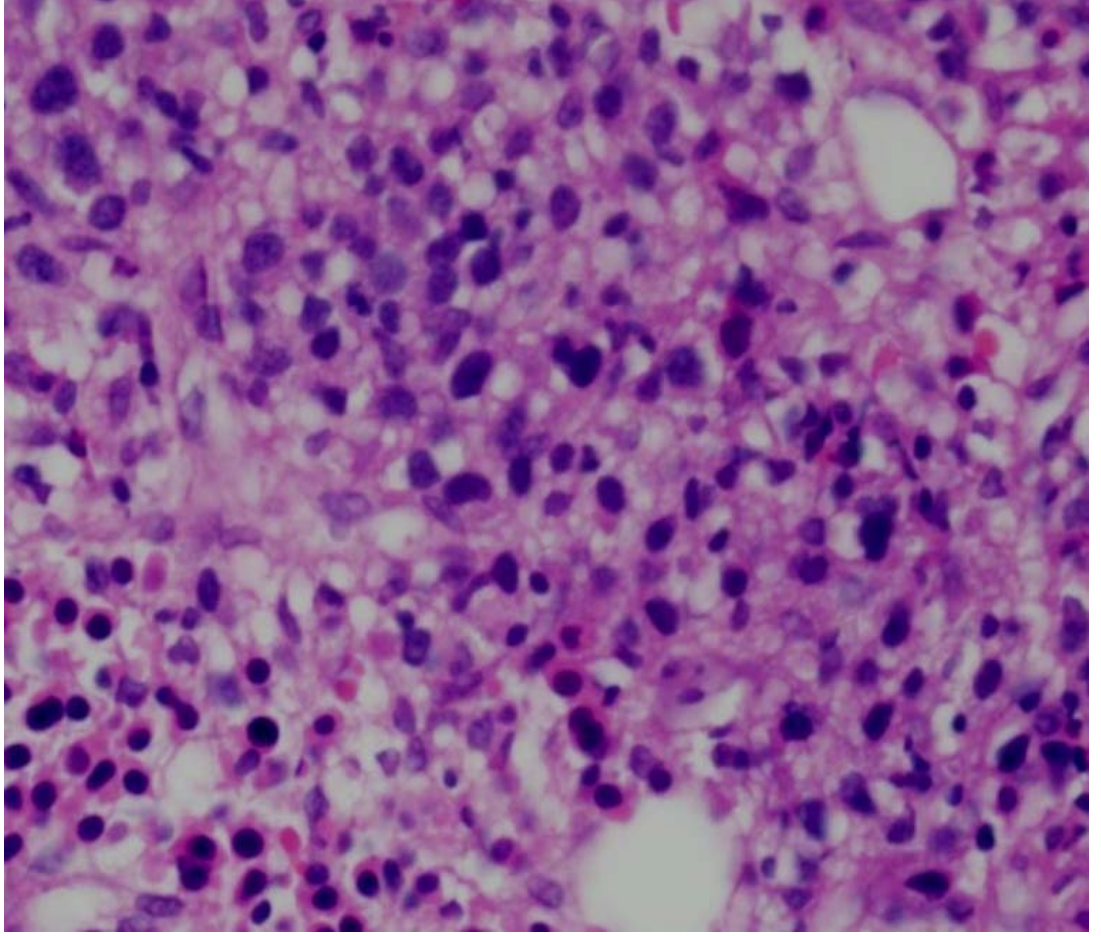
Plazma hücre infiltrasyon patternleri: Olguların 25’inde (%33) “düşük dereceli”; 17’sinde (%22) “orta dereceli”; 34’ünde (%45) “yüksek dereceli”; infiltrasyon patterni saptanmıştır.

Tablo 12. Olguların morfolojik özellikleri

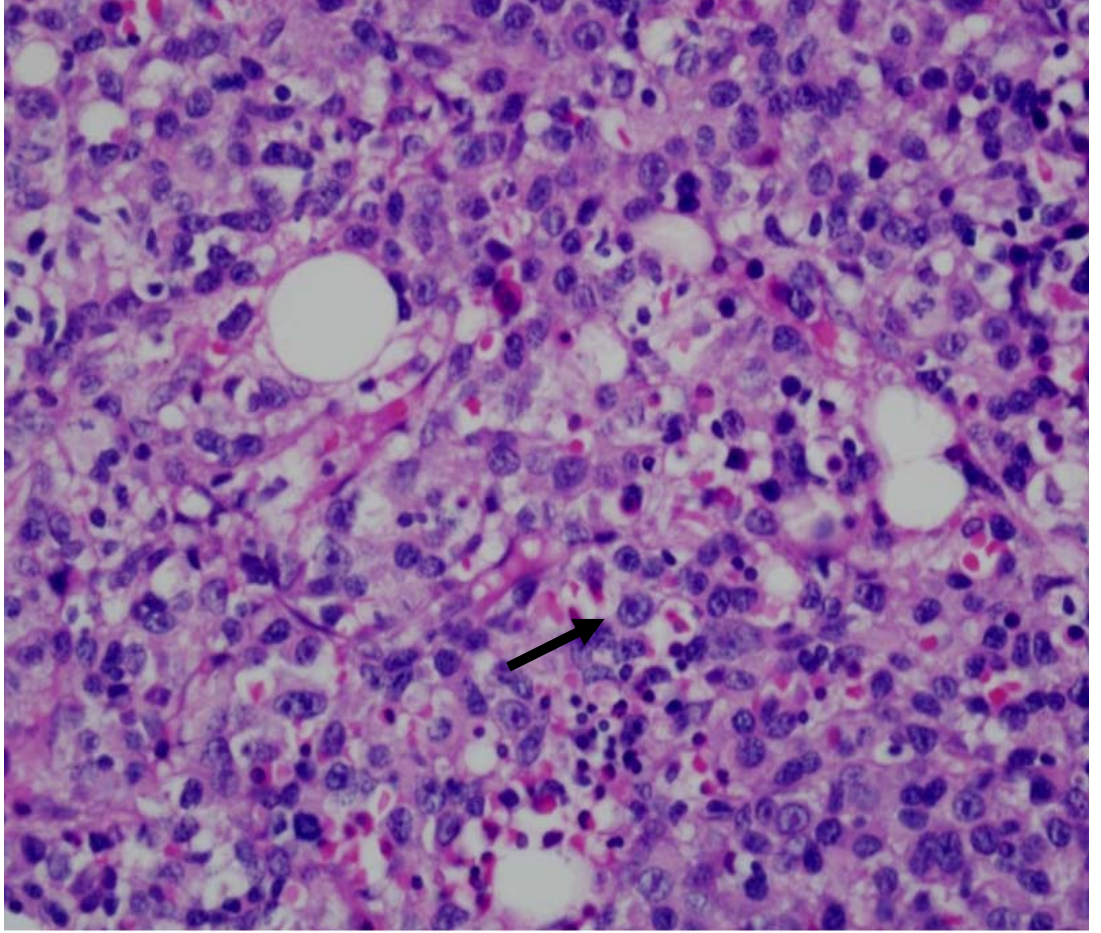
DEĞİŞKENLER	n=76
Plazma hücre infiltrasyon oranı	
<%20	8 (%11)
%20-49	18 (%24)
$\geq$ %50	50 (%65)
Bartl plazma hücre histolojik derecesi	
<i>Düşük dereceli</i>	28 (%37)
<i>Orta dereceli</i>	46 (%60)
<i>Yüksek dereceli</i>	2 (%3)
Plazma hücre infiltrasyon patternleri	
<i>Düşük dereceli</i>	25 (%33)
<i>Orta dereceli</i>	17 (%22)
<i>Yüksek dereceli</i>	34 (%45)



Resim 1: Bartl histolojik derecelendirme sistemine göre düşük dereceli histolojik tip, (H-E, x400)



Resim 2: Bartl histolojik derecelendirme sistemine göre orta dereceli histolojik tip (H-E, x400)



Resim 3: Bartl histolojik derecelendirme sistemine göre belirgin nükleollü (ok) yüksek dereceli (blastik) histolojik tip, (H-E, x400).

4.3 Histokimyasal Bulgular

İki (%3) olguda amiloid birikimi izlenmiş olup, 74 olguda (%97) amiloid birikimi saptanmamıştır.

4.4 Mikrodamar yoğunluğunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi

Toplam 65 (%86) olguda Faktör VIII immünohistokimya boyası ile mikrodamar yoğunluğu değerlendirilmiş olup, 11 (%14) olguda teknik nedenlerden dolayı mikrodamar yoğunluğu belirlenememiştir. Olgularda ortalama mikrodamar sayısı 22 ± 12 olup, 3-54 arasında değişmektedir. Yirmi yedi (%42) olguda yüksek MDY, 38 olguda (%58) ise düşük MDY saptanmıştır (Resim 4). MDY ile çalışmamızda incelenen diğer klinik ve patolojik özellikler arasındaki ilişki Tablo 13-15’ de gösterilmiştir.

4.4.1 Mikrodamar yoğunluğu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanan özellikler

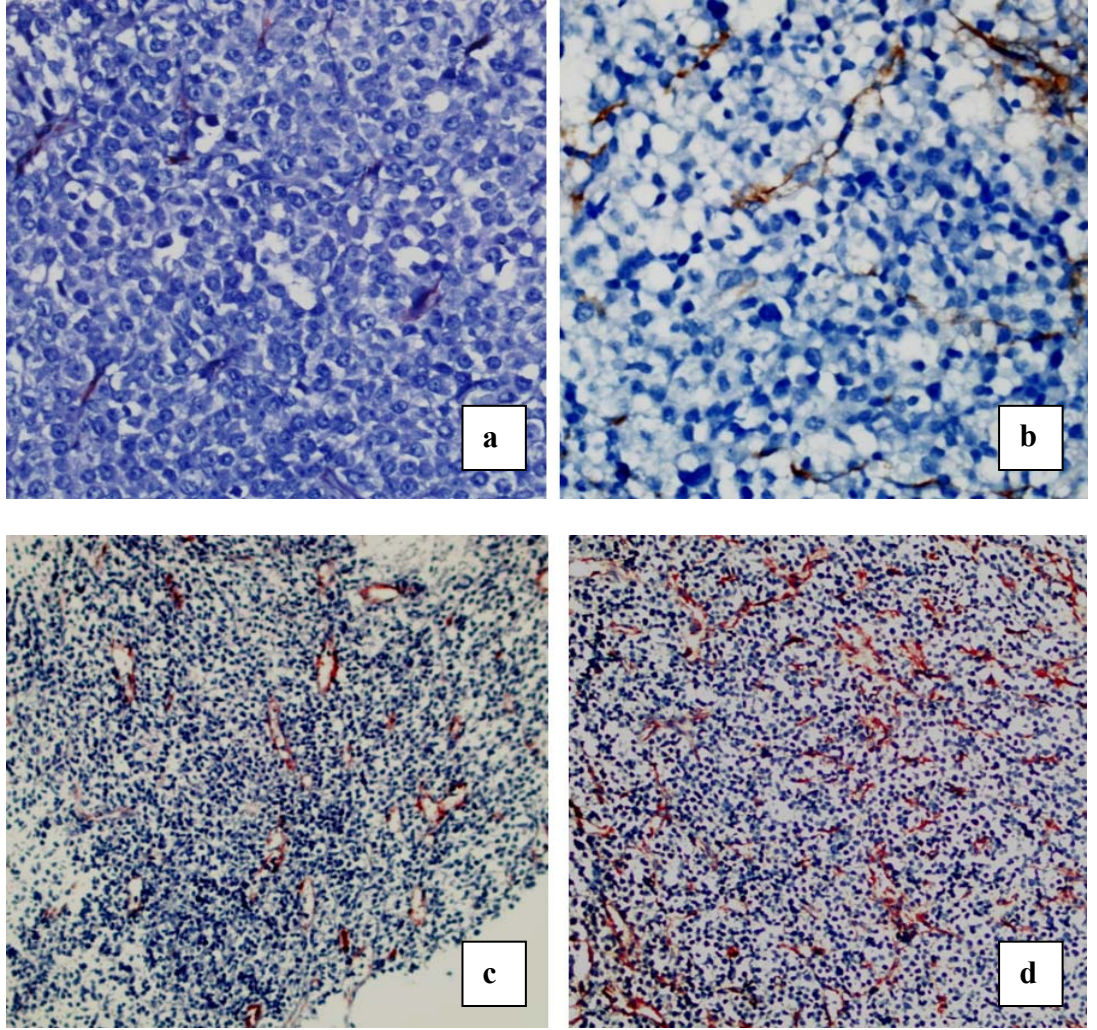
- *Plazma hücre infiltrasyon patterni*: Plazma hücre infiltrasyon patterni yüksek dereceli olgularda, düşük veya orta dereceli olgulara göre daha yüksek mikrodamar yoğunluğu izlenmiştir ($p=0.006$).

- *Plazma hücre infiltrasyon oranı*: Plazma hücre infiltrasyon oranı $< \%50$ olan olgularda yüksek MDY izlenirken, plazma hücre infiltrasyon oranı $\geq \%50$ olan olgularda düşük MDY izlenmiştir ($p=0.02$) .

- *Serum CRP düzeyi*: CRP düzeyi yüksek olan olguların yüksek mikrodamar yoğunluğu gösterdiği, CRP düzeyi düşük olan olguların düşük mikrodamar yoğunluğuna sahip olduğu izlenmiştir ($p=0.03$).

- *p300 ekspresyonu*: MDY ve VEGF ekspresyonu bilinen toplam 60 olgu kıyaslanmıştır. Düşük MDY olan olgularda düşük p300 ekspresyonu izlenirken,

yüksek MDY olan olguların yüksek p300 ekspresyonu gösterdiği saptanmıştır (p=0.01, r =0.3, Spearman korelasyon testi).



Resim 4 (a-d). Mikrodamar yoğunluğu. **a-b:** Düşük mikrodamar yoğunluğu, (x400) **c-d:** Yüksek mikrodamar yoğunluğu (x200).

4.4.2 Mikrodamar yoğunluğu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmayan özellikler

- *Durie ve Salmon'a göre klinik evre*: Toplam 65 olgu MDY ve hastalık evresi açısından kıyaslanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük evreli (evre 1) vakalarda düşük MDY izlenirken, yüksek evreli (evre 2-3) vakalarda yüksek MDY saptanmıştır ($p=0.2$).

- *VEGF ekspresyonu*: MDY ve VEGF ekspresyonu bilinen toplam 49 olgu kıyaslanmış olup, MDY ile VEGF ekspresyonunun korelasyon göstermediği saptanmıştır ($p=0.5$, $r=-0.07$, Spearman korelasyon testi).

Ayrıca MDY ile cinsiyet, yaş, hastalık risk grubu, Bartl histolojik derecesi, serum M protein tipi, serum IgG ve IgA düzeyleri, hemoglobin, trombosit sayısı, lökosit sayısı, albumin, LDH, sedimentasyon hızı, serum kalsiyum, beta-2 mikroglobulin, serum kreatinin, 24 saatlik idrarda proteinüri miktarı, idrarda M protein varlığı, amiloid birikimi veya litik kemik lezyonu sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Tablo 13. MDY'nin klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi-1

Özellikler	Olgu sayısı (n)	MDY		P değeri
		<20 n(%)	≥20 N(%)	
Yaş				
<50 yaş	27	5(%19)	22 (%81)	1
≥50 yaş	38	7(%18)	31 (%82)	
Cinsiyet				
Kadın	28	14 (%50)	14 (%50)	0.3
Erkek	37	13 (%35)	24 (%65)	
Plazma hücre infiltrasyon oranı				
<%50	21	13 (%62)	8 (%38)	0.02
≥ %50	44	14 (%32)	30 (%68)	
Bartl histolojik derecesi				
Düşük dereceli	24	9 (%37)	15 (%63)	0.8
Orta dereceli	39	17(%44)	22 (%56)	
Yüksek dereceli	2	1 (%50)	1 (%50)	
Plazma hücre infiltrasyon patterni				
Düşük dereceli	21	11(%52)	10 (%48)	0.006
Orta dereceli	15	10 (%67)	5 (%33)	
Yüksek dereceli	29	6 (%21)	23 (%79)	
Klinik evre				0.2
Evre 1	8	5(%62)	3(%38)	
Evre 2-3	57	22(%25)	35(%61)	
Risk grubu				0.4
Düşük risk	8	4(%%50)	4(%50)	
Orta risk	24	7(%30)	17(%70)	
Yüksek risk	12	3(%25)	9(%75)	

Tablo 14. MDY'nin klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi – 2

Özellikler	Olgu sayısı (n)	MDY		P değeri
		<20 n(%)	≥20 n(%)	
Serum M protein tipi				
<i>IgG</i>	38	17 (%44)	21 (%56)	0.8
<i>IgA</i>	13	5 (%39)	8(%61)	
<i>Kappa hafif zincir</i>	6	3 (%50)	3(%50)	
<i>Lambda hafif zincir</i>	5	1 (%20)	4(%80)	
<i>IgD</i>	2	1 (%50)	1 (%50)	
<i>IgM</i>	0	0	0	
Serum M protein düzeyi				
<i>IgG</i>				
<5 gr/dl	49	21 (%43)	28(%57)	0.2
5-7 gr/dl	6	3 (%50)	3 (%50)	
>7 gr/dl	8	1 (%13)	7 (%87)	
<i>IgA</i>				
<3 gr/dl	5	2 (%40)	3 (%60)	0.5
3-5 gr/dl	56	23 (%41)	33(%59)	
>5 gr/dl	2	0	2(%100)	
İdrarda M protein				
Negatif	20	8 (%40)	12(%60)	0.7
Pozitif	31	10 (%32)	21(%68)	
Proteinüri				
<1gr/gün	34	14(%41)	20(%59)	0.5
≥ 1 gr/gün	22	7(%32)	15(%68)	
Litik kemik lezyonu	61			
≤1 adet	32	12(%37)	20(%63)	0.6
2-3 adet	3	2(%67)	1(%33)	
>3 adet		11(%42)	15(%58)	

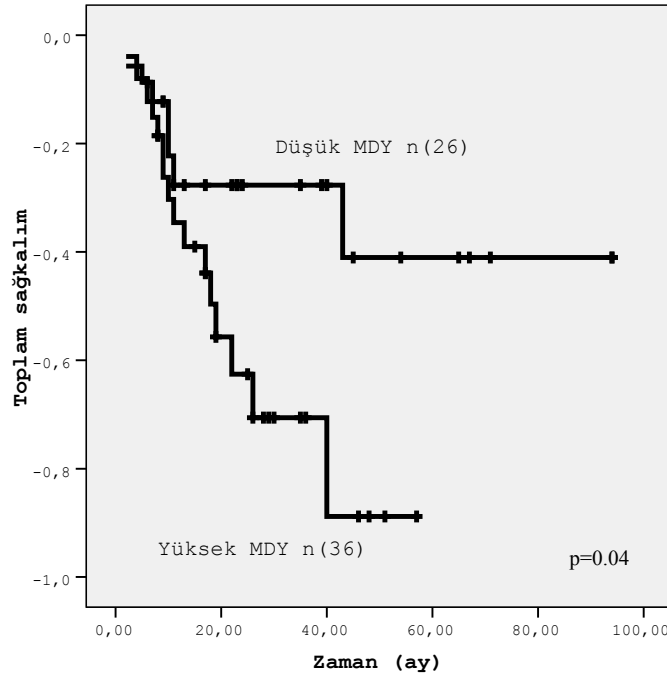
Tablo 15. MDY'nin klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi - 3

Özellikler	Olgu sayısı (n)	MDY		P değeri
		<20 n(%)	≥20 n(%)	
Hemoglobin				
> 10 gr/dl	26	14 (%54)	12 (%56)	0.2
8.5-10 gr/dl	17	7 (%41)	10 (%59)	
<8.5 gr/dl	21	6 (%29)	5 (%71)	
Lökosit sayısı				
<4500 e3/UL	12	5(%42)	7(%58)	0.7
4500-11.000e3/UL	48	21(%44)	27(%56)	
>11.000 e3/UL	4	1(%25)	3(%3)	
Trombosit sayısı				
<150.000 e3/UL	18	5(%28)	13(%72)	0.1
150.000-400.000 e3/UL	46	22(%48)	25(%52)	
Serum kreatinin				
< 2 mg/dl	54	23(%43)	31(%57)	0.7
≥ 2 mg/dl	11	4(%36)	7(%64)	
B2M				
<3.5 gr/dl	28	15(%54)	13(%46)	0.3
3.5-5.5 gr/dl	6	2(%33)	4(%67)	
<5.5 gr/dl	10	3(%30)	7(%70)	
Serum albumin				
≥3.5 gr/dl	41	20(%49)	21(%51)	0.1
< 3.5 gr/dl	23	7(%30)	16(%70)	
Serum Ca				
< 12 mg/dl	55	21 (%38)	34(%62)	0.2
≥ 12 mg/dl	6	4(%67)	2(%33)	
CRP				
<6 mg/L	19	11(%58)	8(%42)	0.03
≥6 mg/L	34	9(%27)	25(%73)	
Sedimentasyon hızı				
≤20 mm/saat	1	0	1(%100)	1
>20 mm/saat	43	19(%44)	24(%56)	
LDH				
<243 U/L	45	21(%47)	24(%53)	0.3
≥243 U/L	14	4(%28)	10(%72)	

4.4.3 Mikrodamar yoğunluğunun toplam sağkalım ile ilişkisi

MDY ve toplam sağkalım süresi bilinen 62 olgu değerlendirilmiştir. Düşük MDY gösteren 26 olgunun 19'unun (%73) sağ olduğu, 7'sinin (%27) kaybedildiği saptanmıştır. Yüksek MDY gösteren 36 olgunun 18'inin (%50) sağ olduğu, 18'inin (%50) kaybedildiği izlenmiştir.

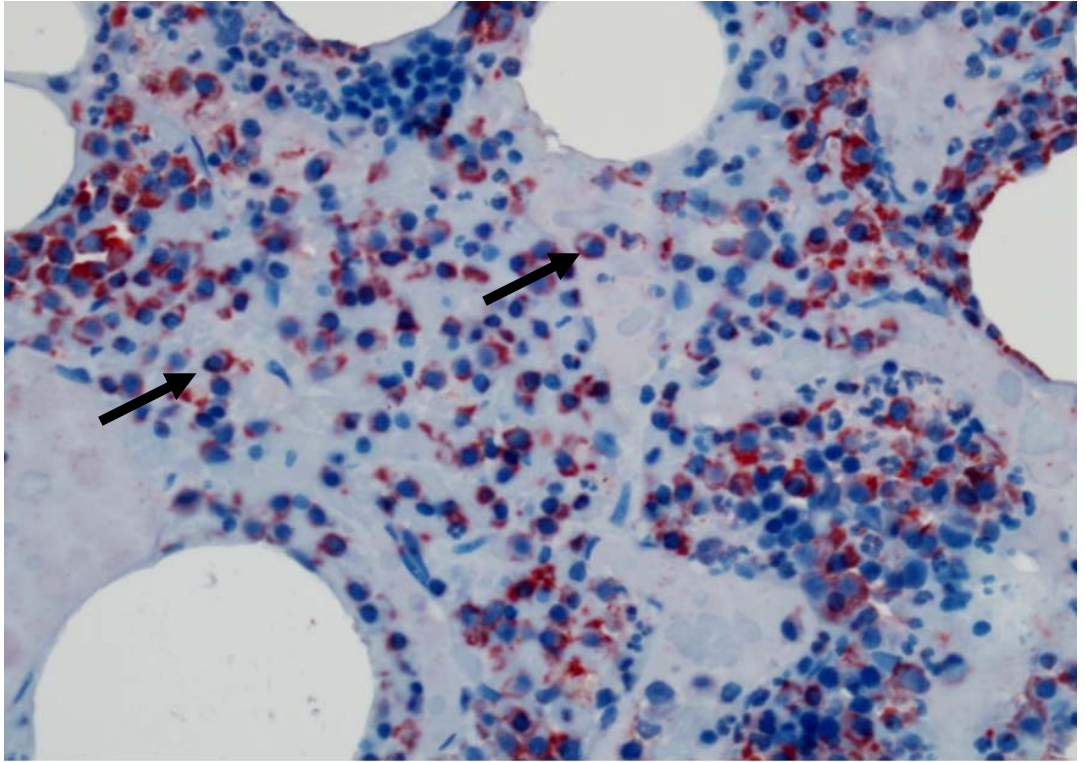
Düşük MDY gösteren olguların toplam sağkalım süresinin ortalama 68 ± 8 ay, yüksek MDY gösteren olguların toplam sağkalım süresinin ortalama 36 ± 5 ay olduğu saptanmış olup, yüksek MDY gösteren olguların istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha kötü prognoz gösterdiği izlenmiştir (Grafik 1) ($p=0.04$).



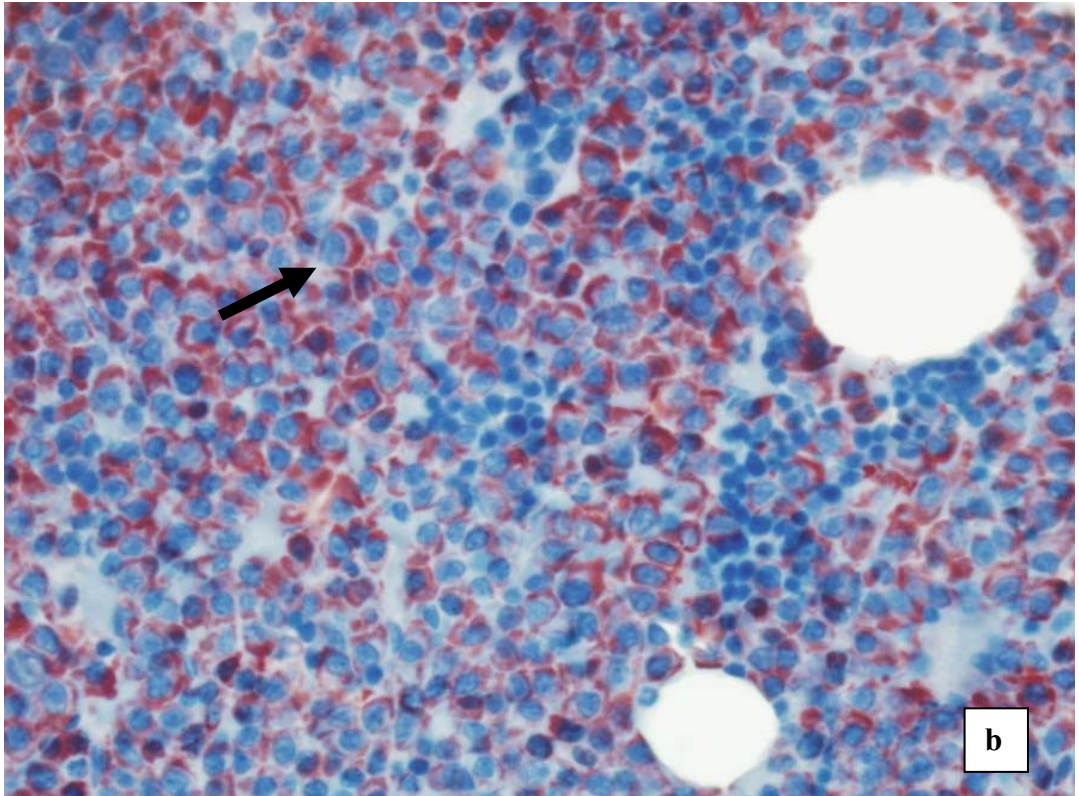
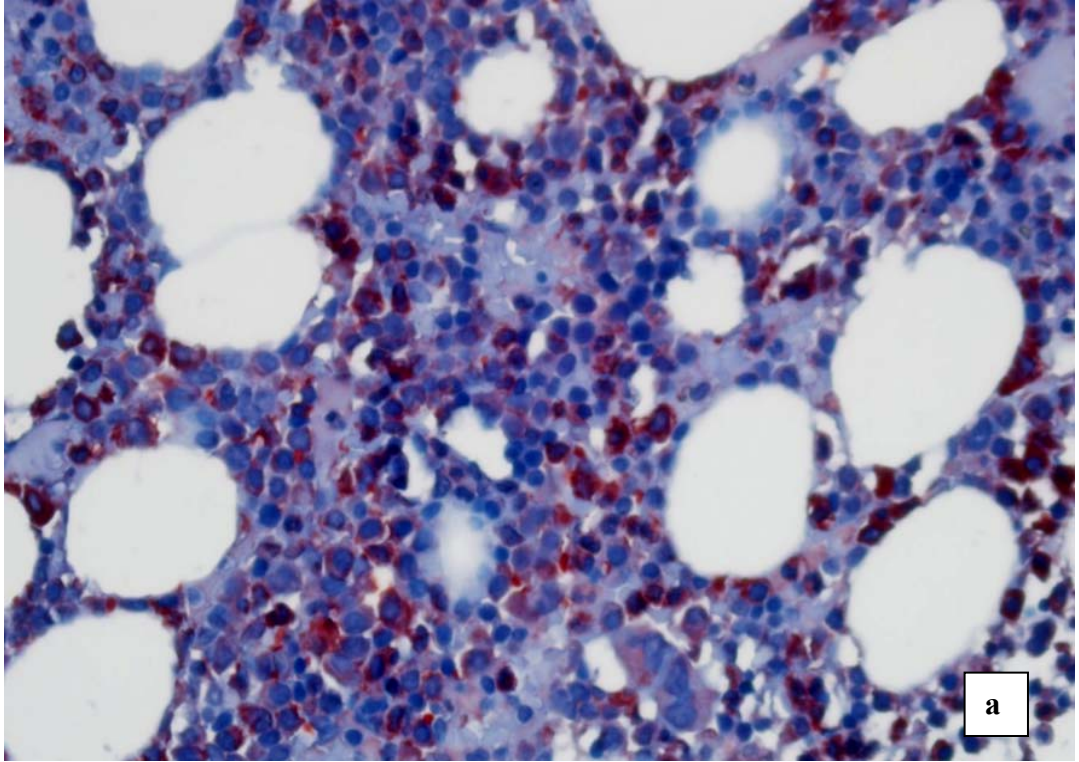
Grafik 1. MDY'nin toplam sağkalım ile ilişkisi

4.5 VEGF ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi

Toplam 55 (%72) olguda immünohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonu değerlendirilmiş olup, 21 (%28) olguda teknik nedenlerden dolayı değerlendirme yapılamamıştır. Olgularda izlenen VEGF ekspresyonu %5-100 arasında değişmekte olup, ortalama 65 ± 28 'dir. VEGF ekspresyonu 3 (%4) olguda <10 ; 13 (%17) olguda %10-49; 39 (%51) olguda ise ≥ 50 oranında bulunmuştur (Resim 5-6). VEGF ekspresyonu ile klinik, laboratuvar ve morfolojik bulguların ilişkisi Tablo 16-18'da yer almaktadır.



Resim 5. Düşük derecede (<10) VEGF ekspresyonu, ok: perinükleer halo, (x400).



Resim 6 (a-b). VEGF ekspresyonu. **a:** Orta derecede (%10-49) VEGF ekspresyonu (x400), **b:** Yüksek derecede ($\geq$ %50) VEGF ekspresyonu, ok: perinükleer halo (x400).

4.5.1 VEGF ekspresyonu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanan özellikler

- *Plazma hücre infiltrasyon oranı*: Kemik iliğini infiltre eden plazma hücre oranı arttıkça, VEGF ekspresyonunda da istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gözlenmiştir ($p=0.002$).

- *Plazma hücre infiltrasyon patterni*: Plazma hücre infiltrasyon patterni düşük dereceden yüksek dereceye doğru ilerledikçe VEGF ekspresyon oranının da arttığı izlenmiştir ($p=0.01$)

- *Yaş*: 50 yaşından küçük olan olgularda düşük VEGF ekspresyonu izlenirken, ≥ 50 yaşında olan vakalarda yüksek VEGF ekspresyonu gözlenmiştir ($p=0.04$).

4.5.2 VEGF ekspresyonunu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmayan özellikler

- *MDY*: VEGF ekspresyonu ve MDY bilinen toplam 49 olgu kıyaslanmış olup, VEGF ekspresyonu ile MDY arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır ($p=0.5$, $r = -0.07$, Spearman korelasyon testi)

- *p300 ekspresyonu*: VEGF ekspresyonu ve p300 ekspresyonu bilinen toplam 49 olgu kıyaslanmış olup, VEGF ekspresyonu ile p300 ekspresyonu arasında korelasyon izlenmemiştir ($p=0.3$, $r = -0.1$, Spearman korelasyon testi).

- *Durie ve Salmon'a göre klinik evre*: Toplam 55 olgu VEGF ekspresyonu ile hastalık evresi açısından kıyaslanmıştır. İstatistiksel olarak VEGF ekspresyonunun klinik evre arasında anlamlı ilişki gözlenmemiştir ($p=0.4$).

Ayrıca VEGF ekspresyonu ile cinsiyet, hastalık risk grubu, Bartl histolojik evresi, serum M protein tipi, serum IgG ve IgA düzeyleri, hemoglobin, trombosit sayısı, lökosit sayısı, albumin, CRP, ve LDH düzeyleri, sedimentasyon hızı, serum kalsiyum, beta-2 mikroglobulin, serum kreatinin, idrarda M protein varlığı, 24 saatlik idrarda proteinüri miktarı, amiloid birikimi veya litik kemik lezyonu sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmemiştir.

Tablo 16. VEGF ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi - 1

Özellikler	Olgu sayısı (n)	VEGF			P değeri
		<%10 n(%)	%10-49 n(%)	≥%50 n(%)	
Yaş					
<50 yaş	9	2(%22)	1(%11)	6(%67)	0.04
≥50 yaş	46	1(%2)	12(%26)	33(%72)	
Cinsiyet					
Kadın	21	2(%10)	4(%19)	15(%71)	0.5
Erkek	34	1(%3)	9(%27)	24(%70)	
Plazma hc. infiltrasyon oranı					
<%50	17	3(%17)	7(%41)	7(%41)	0.002
≥ %50	38	0	6(%16)	32(%84)	
Bartl histolojik derecesi					
Düşük dereceli	20	1(%5)	5(%25)	14(%70)	0.9
Orta dereceli	33	2(%6)	8(%24)	23(%70)	
Yüksek dereceli	2	0	0	2(%100)	
İnfiltrasyon patterni					
Düşük dereceli	17	3(%18)	7(%41)	7(%41)	0.01
Orta dereceli	12	0	2(%17)	10(%83)	
Yüksek dereceli	26	0	4(%15)	22(%85)	
Klinik evre					
Evre 1	9	1(%11)	1(%11)	7(%78)	0.4
Evre 2-3	46	2(%4)	12(%26)	32(%70)	
Risk grubu					
Düşük risk	7	1(%14)	1(%14)	5(%72)	0.5
Orta risk	17	1(%6)	6(%35)	10(%59)	
Yüksek risk	20	0	2(%20)	8(%80)	

Tablo 17. VEGF ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi - 2

Özellikler	Olgu sayısı (n)	VEGF			P değeri
		<%10 n(%)	%10-49 n(%)	≥%50 n(%)	
Serum M protein tipi					
<i>IgG</i>	35	3(%9)	9(%26)	23(%66)	0.5
<i>IgA</i>	10	0	3(%30)	7(%70)	
<i>Kappa hafif zincir</i>	4	0	0	4(%100)	
<i>Lambda hafif zincir</i>	3	0	0	3(%100)	
<i>IgD</i>	1	0	1(%100)	0	
<i>IgM</i>	0	0	0	0	
Serum M protein düzeyi					
<i>IgG</i>					
<5 gr/dl	40	2(%5)	12(%30)	26(%66)	0.4
5-7 gr/dl	5	0	1(%20)	4(%80)	
>7 gr/dl	8	1(%13)	0	7(%88)	
<i>IgA</i>					
<3 gr/dl	48	3(%6)	12(%25)	33(%69)	0.7
3-5 gr/dl	2	0	1(%50)	1(%50)	
>5 gr/dl	3	0	0	3(%100)	
İdrarda M protein					
Negatif	18	2(%11)	2(%11)	14(%78)	0.1
Pozitif	23	0	5(%22)	18(%78)	
Proteinüri					
<1 gr/gün	28	2(%7)	6(%22)	20(%71)	0.9
≥ 1 gr/gün	16	1(%6)	4(%25)	11(%69)	
Litik kemik lezyonu					
≤1 adet	26	3(%11)	7(%27)	16(%62)	0.4
2-3 adet	2	0	0	2(%100)	
>3 adet	22	0	6(%27)	16(%72)	

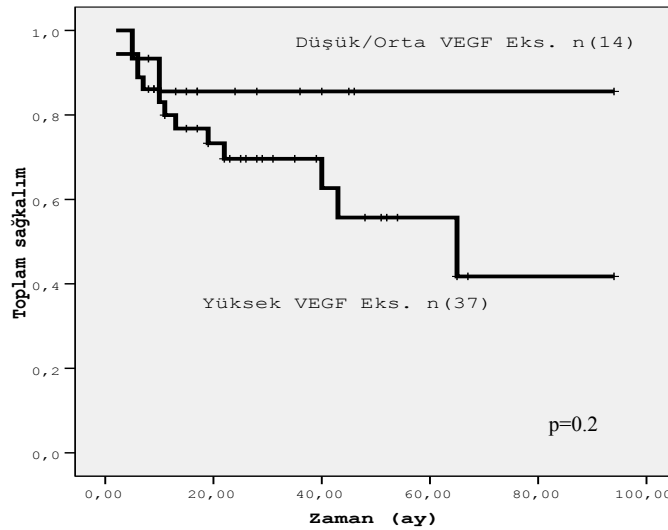
Tablo 18. VEGF ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi - 3

Özellikler	Olgu sayısı (n)	VEGF			P değeri
		<%10 n(%)	%10-49 n(%)	≥%50 n(%)	
Hb					
> 10 gr/dl	20	1(%5)	3(%15)	16(%80)	0.8
8.5-10 gr/dl	14	1(%7)	4(%29)	9(%64)	
<8.5 gr/dl	20	1(5%9	6(%30)	13(%65)	
Lökosit sayısı					
<4500 e3/UL	10	0	2(%20)	8(%80)	0.8
4500-11.000 e3/UL	39	3(%8)	9(%23)	27(%70)	
>11.000 e3/UL	4	0	1(%25)	3(%75)	
Trombosit sayısı					
<150.000 e3/UL	15	1(%7)	3(%20)	11(%73)	0.9
150.000-400.000 e3/UL	38	2(%5)	9(%23)	27(%71)	
Serum kreatinin					
< 2 mg/dl	42	3(%7)	11(%26)	28(%67)	0.4
≥ 2 mg/dl	12	0	2(%17)	10(%83)	
B2M					
<3.5 gr/dl	21	2(%10)	5(%23)	14(%67)	0.7
3.5-5.5 gr/dl	6	0	1(%17)	5(%83)	
<5.5 gr/dl	9	0	2(%22)	7(%78)	
Serum albumin					
≥3.5 gr/dl	32	2(%6)	7(%22)	23(%72)	0.9
< 3.5 gr/dl	21	1(%5)	5(%24)	15(%71)	
Serum Ca					
< 12 mg/dl	44	3(%7)	11(%25)	30(%68)	0.2
≥ 12 mg/dl	6	0	0	6(%100)	
CRP					
<6 mg/L	14	1(%7)	4(%29)	9(%64)	0.8
≥6 mg/L	28	1(%4)	8(%28)	19(%68)	
Sedimen- tasyon hızı					
≤20 mm/saat	1	0	0	1(%100)	0.8
>20 mm/saat	36	2(%6)	9(%25)	25(%70)	
LDH					
<243 U/L	35	3(%9)	10(%29)	22(%62)	0.2
≥243 U/L	13	0	2(%15)	11(%85)	

4.5.3 VEGF ekspresyonunun toplam sağkalım ile ilişkisi

VEGF ekspresyonu ve toplam sağkalım süreleri bilinen toplam 51 olgu incelenmiş olup, düşük VEGF ekspresyonu gösteren 3 olgunun (%100) 3'ünün de sağ olduğu saptanmıştır. Orta derecede VEGF ekspresyonu gösteren 11 vakanın 9'unun (%82) sağ olduğu, 2'sinin (%18) kaybedildiği gözlenmiştir. Yüksek VEGF ekspresyonu gösteren 37 olgunun 24'ünün (%65) sağ olduğu, 13'ünün (%35) kaybedildiği izlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte VEGF ekspresyonu arttıkça sağkalım oranlarının azaldığı dikkati çekmiştir ($p=0.4$).

Düşük/orta derecede VEGF ekspresyonu gösteren olguların toplam sağkalım süresinin ortalama 81 ± 8 ay, yüksek VEGF ekspresyonu gösteren olguların toplam sağkalım süresinin ise ortalama 57 ± 8 ay olduğu saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte VEGF ekspresyonu arttıkça toplam sağkalım sürelerinin azaldığı dikkati çekmiştir (Grafik 2) ($p=0.2$).

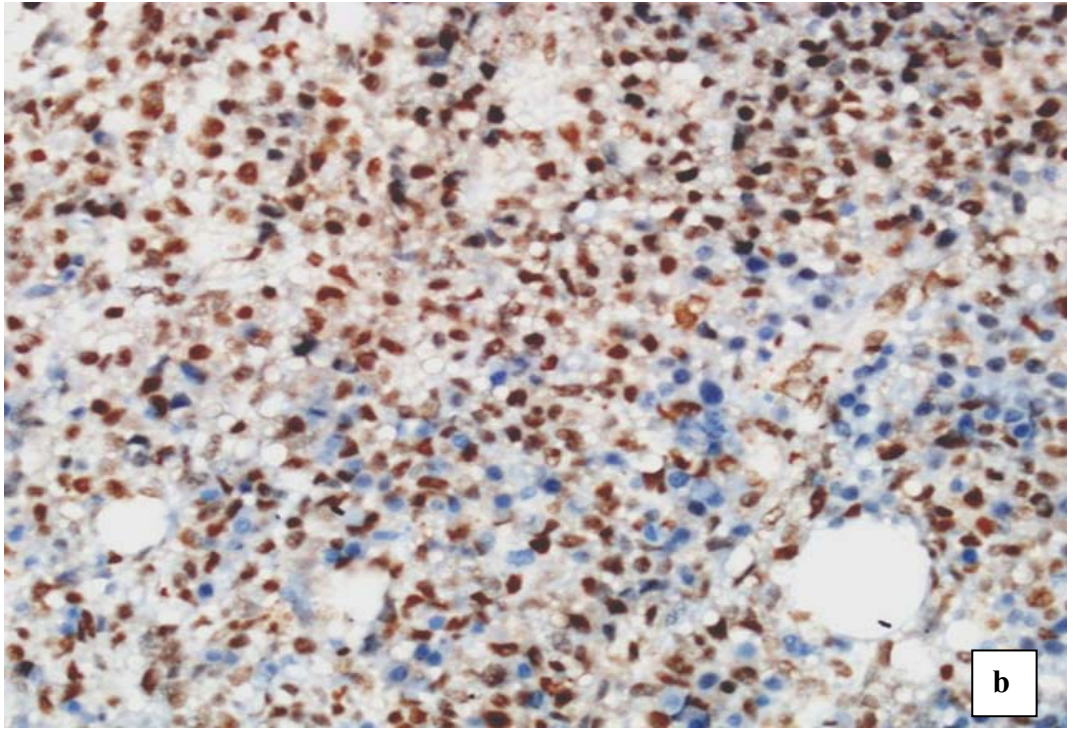
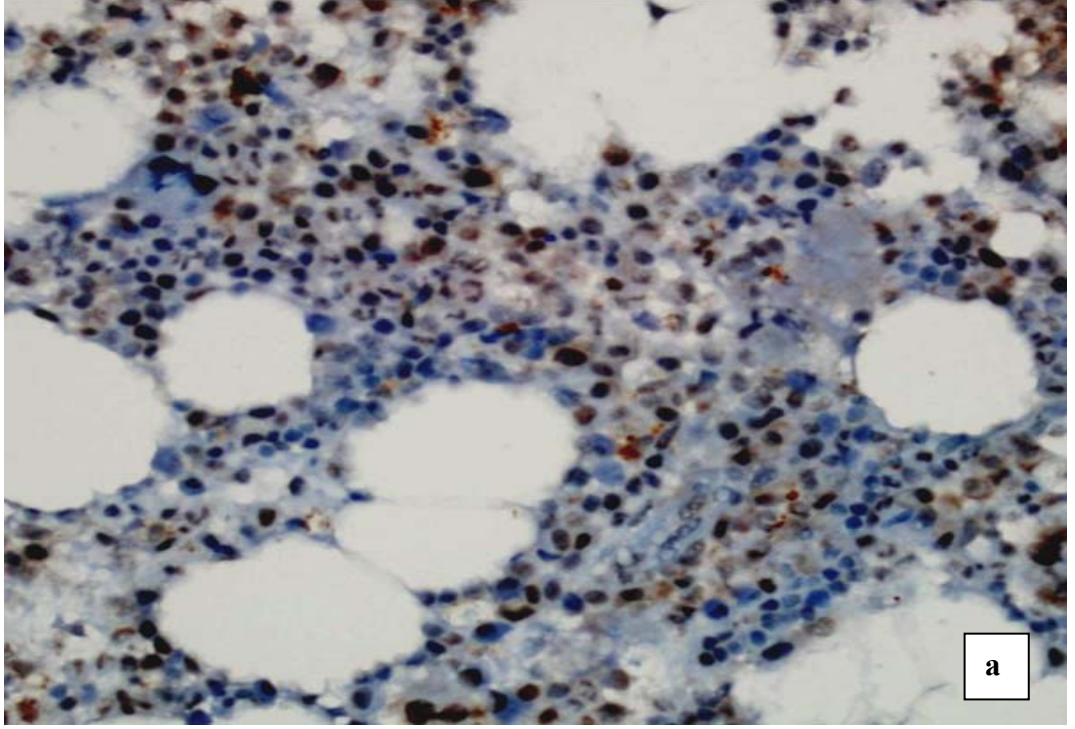


Grafik 2. VEGF ekspresyonunun ile toplam sağkalım ile ilişkisi.

4.6 p300 ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi

Plazma hücre infiltrasyonu içermeyen normosellüler kemik iliği ve reaktif plazmositozis ile karakterli kemik iliği biyopsilerinde p300 ekspresyonu incelenmiş olup, reaktif plazma hücreleri ile myeloid, eritroid ve megakaryositik seri elemanlarında p300 ekspresyonu saptanmamıştır.

Toplam 67 (%89) olgu immünohistokimyasal olarak p300 ekspresyonu açısından incelenmiş olup, 9 olguda (%11) teknik nedenlerden dolayı p300 ekspresyonu değerlendirilememiştir. Olgularda izlenen p300 ekspresyon aralığı %0-90 olup, ortalama ekspresyon oranı 38 ± 31 'dir. p300 ekspresyonu olguların 24'ünde (%32) <30 ; 43'ünde (%57) ≥ 30 oranında bulunmuştur (Resim 7). p300 ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi Tablo 19-21'de gösterilmiştir.



Resim 7 (a-b). a: Düşük p300 ekspresyonu (x400), b: Yüksek p300 ekspresyonu, (x400).

4.6.1 p300 ekspresyonu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanan özellikler

MDY: p300 ekspresyonu ve MDY bilinen toplam 60 olgu kıyaslanmıştır. p300 ekspresyonu $< \%30$ olan olguların düşük MDY; p300 ekspresyonu $\geq \%30$ olan olguların ise yüksek MDY gösterdiği saptanmıştır. Buna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde p300 ekspresyonu arttıkça MDY'nin de arttığı gözlenmiştir ($p=0.01$, $r=0.3$, Spearman korelasyon testi).

4.6.2 p300 ekspresyonunu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmayan özellikler

- *VEGF ekspresyonu*: p300 ekspresyonu ve VEGF ekspresyonu bilinen toplam 49 olgu kıyaslanmış olup, p300 ekspresyonu ile VEGF ekspresyonu arasında korelasyon izlenmemiştir ($p=0.3$, $r=-0.1$, Spearman korelasyon testi)

- *Durie ve Salmon'a göre klinik evre*: Toplam 67 olgu p300 ekspresyonu ile hastalık evresi açısından kıyaslanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük evreli (evre 1) vakalarda düşük p300 ekspresyonu izlenirken, yüksek evreli (evre 2-3) vakalarda yüksek p300 ekspresyonu saptanmıştır ($p=0.1$).

Ayrıca p300 ekspresyonu ile cinsiyet, yaş, hastalık risk grubu, plazma hücre infiltrasyon oranı, plazma hücre infiltrasyon patterni, Bartl histolojik derecesi, serum M protein tipi, serum IgG ve IgA düzeyleri, hemoglobin, trombosit sayısı, lökosit sayısı, albumin, CRP ve LDH düzeyleri, sedimentasyon hızı, serum kalsiyum, beta-2 mikroglobulin, serum kreatinin, idrarda M Protein

varlığı, 24 saatlik idrarda proteinüri miktarı, litik kemik lezyonu sayısı veya amiloid birikimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Tablo 19. p300 ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi - 1

Özellikler	Olgu sayısı (n)	p300		P değeri
		<%30 n(%)	≥%30 n(%)	
Yaş				
<50 yaş	13	4(%31)	9(%69)	0.4
≥50 yaş	54	20(%37)	34(%63)	
Cinsiyet				
Kadın	31	11(%35)	20(%65)	1
Erkek	36	13(%36)	23(%64)	
Plazma hc. infiltrasyon oranı				
<%50	22	9(%41)	13(%59)	0.5
≥ %50	45	15(%33)	30(%67)	
Bartl histolojik evresi				
Düşük dereceli	25	9(%36)	16(%64)	0.5
Orta dereceli	40	15(%37)	25(85)	
Yüksek dereceli	2	0	2(%100)	
İnfiltrasyon patterni				
Düşük dereceli	22	8(%36)	14(%64)	0.5
Orta dereceli	16	8(%50)	8(%50)	
Yüksek dereceli	28	8(%29)	20(%71)	
Klinik evre				
Evre 1	10	6(%60)	4(%40)	0.1
Evre 2-3	57	18(32)	39(%68)	
Risk grubu				
Düşük risk	8	4(%50)	4(%50)	0.4
Orta risk	22	7(%32)	15(%68)	
Yüksek risk	12	6(%50)	6(%50)	

Tablo 20. p300 ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi - 2

Özellikler	Olgu sayısı (n)	p300		P değeri
		<%30 n(%)	≥%30 n(%)	
Serum M protein tipi				
<i>IgG</i>	40	12(%30)	28 (%70)	0.2
<i>IgA</i>	11	5(%46)	6 (%54)	
<i>Kappa hafif zincir</i>	6	4(%67)	2 (%33)	
<i>Lambda hafif zincir</i>	5	2(%40)	3 (%60)	
<i>IgD</i>	2	0	2 (%100)	
<i>IgM</i>	1	1(%100)	0	
Serum M protein düzeyi				
<u><i>IgG</i></u>				
<5 gr/dl	51	20(%40)	31(%60)	0.3
5-7 gr/dl	6	1 (%17)	5 (%83)	
>7 gr/dl	9	2 (%22)	7 (%78)	
<u><i>IgA</i></u>				
<3 gr/dl	60	20 (%33)	40 (%67)	0.3
3-5 gr/dl	1	0	1 (%100)	
>5 gr/dl	5	3 (%60)	2 (%40)	
İdrarda M protein				
Negatif	21	5 (%24)	16 (%76)	0.3
Pozitif	30	11(%37)	19(%63)	
Proteinüri				
<1 gr/gün	35	11(%31)	24 (%69)	0.4
≥1gr/gün	21	9 (%43)	12 (%57)	
Litik kemik lezyonu				
≤1 adet	34	12 (%35)	22 (%65)	0.4
2-3 adet	3	0	3 (%100)	
>3 adet	24	9 (%38)	15 (%62)	

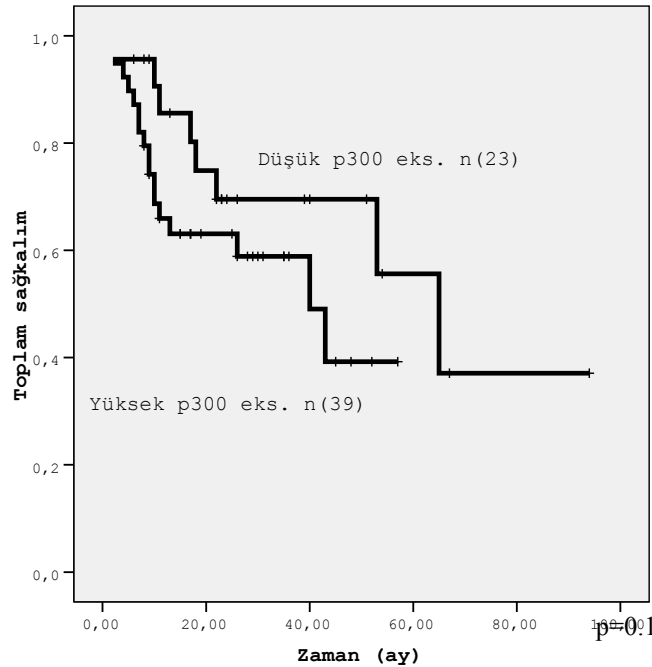
Tablo 21. p300 ekspresyonunun klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi - 3

Özellikler	Olgu sayısı (n)	p300		P değeri
		<%30 n(%)	≥%30 n(%)	
Hb				
> 10 gr/dl	26	10 (%39)	16 (%61)	0.8
8.5-10 gr/dl	18	7 (%39)	11 (%61)	
<8.5 gr/dl	20	16 (%30)	14 (%70)	
Lökosit sayısı				
<4500 e3/UL	12	5 (%42)	7 (%58)	0.8
4500-11.000 e3/UL	49	17 (%35)	32 (%65)	
>11.000 e3/UL	4	1 (%25)	3 (%75)	
Trombosit sayısı				
<150.000 e3/UL	18	8 (%44)	10 (%56)	0.3
150.000-400.000 e3/UL	47	15 (%32)	32 (%68)	
Serum kreatinin				
< 2 mg/dl	52	20 (%39)	32 (%61)	0.2
≥ 2 mg/dl	13	3 (%23)	10 (%77)	
B2M				
<3.5 gr/dl	28	13 (%46)	15 (%54)	0.6
3.5-5.5 gr/dl	5	2 (%40)	3 (%60)	
<5.5 gr/dl	10	6 (%60)	4 (%40)	
Serum albumin				
≥3.5 gr/dl	42	16 (%38)	26 (%62)	0.5
< 3.5 gr/dl	23	7 (%30)	16 (%70)	
Serum Ca				0.6
< 12 mg/dl	54	19 (%35)	35 (%65)	
≥ 12 mg/dl	7	3 (%43)	4 (%57)	
CRP				
<6 mg/L	19	8 (%42)	11 (%58)	0.7
≥6 mg/L	32	11 (%34)	21 (%66)	
Sedimentasyon hızı				
≤20 mm/saat	1	0	1 (%100)	1
>20 mm/saat	44	16 (%36)	28 (%64)	
LDH				
<243 U/L	44	18 (%41)	26 (%59)	0.2
≥243 U/L	15	3 (%20)	12 (%80)	

4.6.3 p300 ekspresyonunun toplam sağkalım ile ilişkisi

p300 ekspresyonu ve toplam sağkalım süreleri bilinen toplam 62 olgu değerlendirilmiştir. Düşük p300 ekspresyonu gösteren 23 olgunun 15'inin (%65) sağ olduğu, 8'inin (%35) kaybedildiği saptanmıştır. Yüksek CREB ekspresyonu gösteren 39 olgunun 22'sinin sağ olduğu (%56), 17'sinin (%44) kaybedildiği izlenmiştir.

Düşük p300 ekspresyonu gösteren olguların toplam sağkalım sürelerinin ortalama 58 ± 9 ay olduğu gözlenmiş olup, yüksek p300 ekspresyonu gösteren olguların toplam sağkalım sürelerinin ortalama 34 ± 4 ay olduğu gözlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte p300 ekspresyonu arttıkça toplam sağkalım süresinin/oranlarının azaldığı dikkati çekmiştir (Grafik 3) ($p=0.1$).



Grafik 3. p300 ekspresyonunun ile toplam sağkalım ile ilişkisi.

5. TARTIŞMA

Plazma hücreli myelomda klinik, patolojik ve genetik bir takım faktörlerin prognostik önem taşıdığı bilinmektedir. Anjiogenez bu prognostik faktörlerden biridir. Literatürde ilk olarak 1994’de solid tümörlerde olduğu gibi plazma hücreli myelomda da MDY’nin prognoz ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (19, 34-35). Semptomatik plazma hücreli myelom olgularında izlenen MDY’nin MGUS ve asemptomatik plazma hücreli myelom vakalarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu nedenle MGUS’un veya asemptomatik plazma hücreli myelomun semptomatik plazma hücreli myeloma progresyonunda anjiogenezin rolü olduğu öne sürülmüştür (19, 34-35).

Literatürde plazma hücreli myelom vakalarında kemik iliği anjiogenezinin önemini araştıran az sayıda çalışma mevcuttur (34). Yapılan araştırmaların büyük kısmında MDY, immünohistokimyasal olarak bir damar belirteci (CD31, CD34, Faktör VIII) yardımı ile rutin ışık mikroskopunda “sıcak noktalar” saptanarak belirlenmiştir (34).

İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük evreli (evre 1) vakalarda düşük MDY izlenirken, yüksek evreli (evre 2-3) vakalarda yüksek MDY saptanmıştır. Bu nedenle anjiogenezin hastalık progresyonunda rol oynayabileceği düşünülmüştür. İstatistiksel olarak MDY ile klinik evre arasında anlamlı ilişki gözlenmemesinde evrelemede çok sayıda parametrenin değerlendirilmesinin payı olabileceği düşünülmüştür.

Kemik iliğinde plazma hücre oranı arttıkça MDY’nin de arttığı saptanmıştır. Literatürde bu konuda tam bir fikir birliği mevcut değildir. Bazı

Çalışmalarda plazma hücre infiltrasyon oranı yüksek olan olgularda MDY'nin de yüksek olduğu saptanırken, diğer çalışmalarda plazma hücre infiltrasyon oranı ile MDY arasında korelasyon olmadığı bulunmuştur (22, 34). Ayrıca Rana ve ark.'na ait çalışmada MDY yüksek olan, ama plazma hücre infiltrasyon oranı <%50 olan 5 olgunun takibinde olguların tümünün tedaviye direnç gösterdiği izlenmiştir. Bu nedenle anjiogenezin, myelom olgularının tedaviye yanıtlarını n görmede plazma hücre infiltrasyon yüzdesine oranla daha değerli olabileceği belirtilmiştir (34). Tümör hücrelerinin anjiogenezi uyaran molekülleri kendileri üreterek veya mikroçevresinde oluşumunu indükleyerek anjiogeneizde etkin olarak görev aldığı bilindiğinden, tümör yükünü gösteren plazma hücre infiltrasyon yüzdesinin de anjiogenezele ilişkili olabileceği düşünülebilir. Ancak literatürde çelişkili sonuçların olmasında anjiogeneze üzerine etkisi olan çok sayıda faktörün sorumlu tutulabileceği düşünülmüştür.

Plazmablastik (yüksek dereceli) morfolojinin plazma hücreli myelomda bağımsız bir prognostik faktör olduğu bilinmektedir (36). Rana ve ark.'a ait çalışmada yüksek dereceli plazma hücre histolojik evresi olan olgularda, düşük/orta derece plazma hücre morfolojisine sahip olan olgulara oranla daha yüksek MDY saptanmıştır (34). Ancak bizim çalışmamızda plazmablastik morfolojide 2 olgunun olması nedeni ile böyle bir ilişki değerlendirilememiştir.

Plazma hücre infiltrasyon patterni düşük dereceden yüksek dereceye ilerledikçe MDY artmaktadır. Benzer şekilde diffüz infiltrasyon patterni (yüksek derece) gösteren olguların yüksek MDY'ye sahip olduğu saptanmıştır (34). Yüksek dereceli infiltrasyon patterni, yüksek tümör yükü ve dolayısıyla kötü

klirik gidiŖi desteklediğinden, yüksek MDY'nin de kötü klinik gidiŖ ile iliŖkilendirilebileceđi dŖnlmŖtir.

alıŖmamızda CRP düzeyi yüksek olan vakalarda MDY'nin de arttığı gzlenmiŖtir. CRP, serumda IL-6 baŖta olmak üzere bazı sitokinlerin seviyesinin yükseldiği durumlarda (inflamatuvar durumlar, enfeksiyonlar, bazı kalp hastalıkları ve plazma hücreli myelom baŖta olmak üzere diğer bazı maligniteler) karaciğerden salgılanan bir akut faz reaktanıdır. Plazma hücreli myelomda, VEGF, IL-1 β ve TNF- α gibi moleküllerin etkisi ile neoplastik plazma hücreleri, kemik iliği stromal hücreleri veya endotel hücreleri IL-6 salgılamaktadır (1). Serum IL-6 seviyesinin yükselmesi sonucu serum CRP seviyesi de yükselmektedir. Böylece rutin laboratuvar yöntemleri ile kolaylıkla saptanabilen serum CRP düzeyi, plazma hücreli myelom hücreleri için önemli bir büyüme ve sağkalım faktörü olan IL-6 aktivitesini yansıtılmaktadır. Neoplastik plazma hücrelerinden IL-6 salgılanması VEGF tarafından uyarıldığı gibi, IL-6 da pozitif geri-beslenme ile anjiogenezde görevli olduğu bilinen VEGF'nin salgılanmasını uyarmaktadır (1). VEGF ve IL-6 arasındaki bu parakrin etki ile anjiogenezin ve serum CRP düzeyinin iliŖkilendirilebileceđi dŖnlmektedir. Literatürde MDY ve CRP korelasyonunu araŖtıran bir alıŖma mevcut değildir. Ancak Munshi ve ark., MDY ve CRP'nin hastalık prognozunu belirlemede kullanılabilecek en anlamlı iki parametre olduğunu öne srmŖlerdir (37-38).

Birçok alıŖmada olduğu gibi bizim alıŖmamızda da MDY arttıa, toplam sağkalım süresi/oranının azaldığı saptanmıŖtır (36, 38-40). Bu nedenle tanı anı biyopsilerinde MDY'nin değerlendirilmesinin hastaların sağkalımını n

görmek için kullanılabilecek bir parametre olduğu ve anjiogenezi hedef alan tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ile toplam sağkalımın artabileceği düşünülmüştür.

Anjiogenezin plazma hücreli myelom progresyonunda görev aldığı bilindiğinden, deneysel olarak anjiogenezin inhibisyonunu hedef alan tedavi yöntemleri üzerinde araştırmalar yapılmaktadır (34). Anjiogenik uyarıcılar, anjiogenik faktör reseptörleri, ekstrasellüler matriks alışverişi, anjiogenik yanıtı kontrol eden onkogenler ve proteoliz hedef alınarak anjiogenez inhibe edilmeye çalışılmaktadır (34). Bu ilaç çalışmaları günümüzde küratif tedavisi olmayan plazma hücreli myelom vakaları için önem taşımaktadır.

VEGF, anjiogenezi uyardığı bilinen bir büyüme faktörü olup, plazma hücreli myelom tedavisinde hedef alınan bir moleküldür. İn vivo çalışmalarda VEGF inhibisyonunun tümör büyümesini durdurduğu görülmüştür (36).

Çalışmamızda, <50 yaşında olan olgularda (9 olgu) düşük VEGF ekspresyonu izlenirken, ≥50 yaşında olan olgularda (46 olgu) yüksek VEGF ekspresyonu gözlenmiştir. Elli yaşın altındaki olgu sayısı az olmakla birlikte, yaşlılarda gençlere göre daha fazla sayıda mutajenik etkenin antianjiogenik/anjiogenik mekanizmaları etkileyerek anjiogenik anahtarı başlatabileceği düşünülmüştür.

Neoplastik plazma hücrelerinden VEGF proteini salgılandığı bilinmektedir. Salgılanan VEGF aracılığı ile damar endoteli uyarılır ve anjiogenez başlar. VEGF hem damar endotelinden, hem de kemik iliği stromal hücrelerinden IL-6 salgılanmasını uyarak myelom hücrelerinin büyümesinde ve

proliferasyonunda önemli rol alır (1). Benzer şekilde IL-6 da VEGF salgılanmasını arttırmaktadır (1).

Çalışmamızda, VEGF ekspresyonu ile plazma hücre infiltrasyon oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmış olup, plazma hücre infiltrasyon oranı arttıkça VEGF ekspresyonun da arttığı gözlenmiştir. Yüksek oranda plazma hücre sayısının yüksek düzeyde VEGF ve IL-6 salgılanmasına yol açarak pozitif geri-beslenme ile tekrar plazma hücre sayısında artışa neden olduğu düşünülmüştür.

Plazma hücre infiltrasyon patterni düşük dereceden yüksek dereceye doğru ilerledikçe VEGF ekspresyonunun arttığı saptanmıştır. Yüksek dereceli plazma hücre infiltrasyon patterni (sarkomatoid infiltrasyon/diffüz infiltrasyon) yüksek tümör yükünü yansıttığından yüksek miktarda VEGF salgılanmasına yol açabileceği akla gelmektedir. Ancak plazma hücre infiltrasyon patterni düşük dereceden yüksek dereceye doğru ilerledikçe prognozun kötüleştiği bilindiğinden yüksek VEGF ekspresyonunun da kötü prognoz ile ilişkilendirilebileceği düşünülmüştür.

Ribas ve ark.'na ait araştırmada orta/yüksek derecede VEGF ekspresyonu ile plazmablastik morfolojinin ilişkili olduğu saptanmıştır (36). Bizim çalışmamızda yüksek dereceli histolojik evreye sahip vaka sayısı az olduğundan böyle bir ilişki değerlendirilememiştir.

VEGF ile anjiogenez yakından ilişkili olmasına rağmen çalışmamızda MDY ile VEGF ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Literatürde ise, Ribas ve ark.'na ait araştırmada yüksek VEGF

ekspresyonu ($\geq\%10$) gösteren olguların yüksek MDY'ye sahip olduğu saptanmıştır (36). Buna rağmen düşük VEGF ekspresyonu gösteren olguların %92'sinde de yüksek MDY görülmüştür. Bu uyumsuzluğa, VEGF dışında anjiogenez üzerine etkili çok sayıda faktör bulunmasının neden olduğu düşünülmüştür.

Ribas ve ark.'a ait çalışmada VEGF ekspresyonu ile toplam sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmasına rağmen, bağımsız prognostik faktör olarak bulunmamıştır (36). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte VEGF ekspresyonu arttıkça toplam sağkalım oranı/süresinin azaldığı dikkati çekmiştir. VEGF ekspresyonu ile toplam sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamasında VEGF dışında diğer anjiogenik faktörlerin baskın olması, gruplar içinde vaka sayısının azlığı, vakaların aldığı farklı tedavi yöntemleri ve eşlik eden diğer hastalıkların rolü olabileceği düşünülmüştür.

CREB bir transkripsiyon faktörü olup, 200'ü aşkın etken (AKT/B, pp90rsk, protein kinaz A, kalsiyum/kalmodulin bağımlı kinaz, peptid hormonlar, nörotransmitterler vb.) tarafından serin 133 aminoasidi düzeyinde fosforilasyon ile aktive olmaktadır (3, 41). Aktif haldeki CREB, CREB-bağlayıcı protein veya homoloğu olan p300 koaktivatörlerinin etkisi ile siklik AMP regülatuar elemana bağlanarak transkripsiyona hazır hale gelmektedir (3-4, 41). Çalışmamızda kullanılan p300 belirtecinin CREB ekspresyonunu yansıttığı düşünülmüştür. CREB proteini, siklin A1, siklin D1, bcl-2 ailesi, egr-1 gibi sayısı 500'ü aşkın geni uyarak proliferasyon, sağkalım (ölümsüzlük), yenilenme ve invazyon gibi

önemli fonksiyonlara yol açmaktadır (41). Artmış CREB ekspresyonunun tümör hücrelerinin malign fenotip kazanmasına yol açtığı düşünülmektedir (41). Literatürde CREB ekspresyonunun, küçük hücreli dışı akciğer karsinomu, hepatosellüler karsinom, osteosarkom, akut lenfoid lösemi ve AML gibi bazı malignitelerde arttığı saptanmıştır (4-5, 41).

Sigara öyküsü olmayan küçük hücreli dışı akciğer karsinomlu hastalarda normal bronş epitel hücrelerine göre tümör hücrelerinde CREB ekspresyonunda artış saptanmıştır. Erk ve pp90rsk aracılığı ile fosforile olan CREB ekspresyonun artması sonucu antiapoptotik genlerden bcl-2 ve bcl-XL ekspresyonlarında artış olduğu bilinmektedir. Böylelikle tümör hücrelerinin apoptozunun engellendiği ve sağkalımın (ölümsüzlük) arttığı bildirilmektedir (3). Geliştirilecek Erk ve p90rsk inhibitörleri ile CREB ekspresyonunun azaltılması hedeflenmektedir. Böylelikle tümör hücrelerinde mitozun (G2/M evresinde) durdurulması ve artmış apoptoz sağlanarak progresyonunun azaltılabileceği düşünülmektedir (3, 42).

AML hastalarına ait kemik iliği biyopsilerinde blastik hücrelerde FISH çalışması ile CREB gen kopya sayısının arttığı gözlenmiş olup, artmış CREB ekspresyonunun kötü prognoz göstergesi olduğu saptanmıştır (43-45). İn vivo ve in vitro çalışmalarda düşük CREB ekspresyonunun, siklin A1 ve D gen amplifikasyonunda azalmaya neden olarak neoplastik hücrelerin mitozun G1 fazından S fazına geçmesini engellediği bilinmektedir. Bu yolla tümör hücrelerinin proliferasyon fazına geçişini durdurduğu gözlenmiştir (3). AML hastalarında in vivo ve in vitro çalışmalar ile artmış CREB ekspresyonunun hematopoetik kök hücre ve myeloid hücrelerin proliferasyonu ve sağkalımında

artıřa yol açtıęı saptanmıř olup, bu yolla neoplastik transformasyona zemin hazırladıęı dūřūnūlmektedir (3). Çalıřmamız CREB ekspresyonunun lenfoid hūcre kōkenli bir malignite olan plazma hūcreli myelomla iliřkisini arařtıran ilk çalıřmadır.

Çalıřmamızda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte dūřūk evreli (evre 1) vakalarda dūřūk p300 ekspresyonu izlenirken, yūksek evreli (evre 2-3) vakalarda yūksek p300 ekspresyonu saptanmıřtır. Bu nedenle p300 ekspresyonunun hastalık progresyonunda rol oynayabileceęi dūřūnūlmūřtır.

Çalıřmamızda p300 ekspresyonu dūřūk olan olguların dūřūk MDY; p300 ekspresyonu yūksek olan olguların ise yūksek MDY gōsterdięi saptanmıř olup, p300 ekspresyonu ile MDY arasında istatistiksel olarak anlamlı iliřki gōzlenmiřtir. Yūksek p300 ekspresyonu yūksek CREB ekspresyonu yansıttıęı için neoplastik plazma hūcre būyūmesi, proliferasyonu ve saękalımını artırarak kemik ilięi mikroçevresinde anjiogenik faktōrlerin artmasına dolaylı řekilde neden olabileceęi dūřūnūlmūřtır. Bōylelikle yūksek p300 ekspresyonunun tūmōr anjiogenezi ve dolayısıyla tūmōr progresyonu ile ilgili fikir verebileceęi dūřūnūlmūřtır. Ancak bu konuda net sonuçlar elde etmek için daha çok olgu içeren kapsamlı çalıřmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalıřmamızda istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte dūřūk p300 ekspresyonu gōsteren olgularda toplam saękalım oranı/sūresinin yūksek p300 ekspresyonu gōsteren olgulara gōre daha iyi olduęu gōrūlmūřtır. p300 ekspresyonu ile toplam saękalım arasında istatistiksel olarak anlamlı iliřki

bulunmamasında olgu sayısının azlığı, olguların aldığı farklı tedavi yöntemleri ve eşlik eden diğer hastalıkların etkisi olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada elde edilen veriler özetlenecek olursa; plazma hücreli myelomda artmış kemik iliği anjiogenezinin toplam sağkalımı olumsuz etkilediği saptanmıştır. Myelomda kötü prognostik faktörler olduğu bilinen kemik iliğinde yüksek plazma hücre oranının, yüksek dereceli plazma hücre infiltrasyon patterninin ve serum yüksek CRP düzeyinin de artmış anjiogenez ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca anjiogenez ile p300 yani CREB ekspresyonunun da korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle yüksek CREB ekspresyonunun da hastalık progresyonu ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte CREB ekspresyonu arttıkça toplam sağkalımın azaldığı gözlenmiş olup, bu bulgu CREB ekspresyonunun prognozda etkili olabileceği hipotezini desteklemektedir. Bu çalışma plazma hücreli myelomlarda CREB ekspresyonunun prognoz ile ilişkisini araştıran ilk çalışma olması bakımından önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, plazma hücreli myelomda toplam sağkalım ile sadece anjiogenez arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmesine rağmen, VEGF ekspresyonu ve CREB ekspresyonunun da toplam sağkalımı etkilediği dikkati çekmiştir. Artmış MDY, VEGF ekspresyonu ve CREB ekspresyonunun hastalık progresyonunda rolü olduğu düşünülmüştür. Plazma hücreli myelomun günümüzde küratif tedavisi olmadığı ve uygulanan mevcut tedavi yöntemlerinin çok fazla yan etkisi olduğu göz önüne alındığında, anjiogenez, VEGF ve CREB'i hedef alan tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinin

hastalık sağkalımını arttırabileceği ön görölmüştür. Ayrıca yeni tanı alan vakalara ait kemik iliği biyopsilerinde rutin olarak MDY, VEGF ekspresyonu ve CREB ekspresyonunun değerlendirilmesinin hastalık prognozu ile ilişkili fikir verebileceği düşünölmüştür.

6. SONUÇLAR

- 1) İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte plazma hücreli myelomda klinik evre yükseldikçe MDY ve p300 ekspresyonunun da arttığı dikkati çekmiştir. VEGF ekspresyonu ile klinik evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.
- 2) Kemik iliğinde plazma hücre oranı arttıkça MDY ve VEGF ekspresyonunun da arttığı saptanmıştır.
- 3) Plazma hücre infiltrasyon patterni düşük dereceden yüksek dereceye ilerledikçe MDY ve VEGF ekspresyonunun da arttığı izlenmiştir.
- 4) Serum CRP düzeyi yüksek olan vakalarda MDY'nin de yükseldiği gözlenmiştir.
- 5) p300 ekspresyonu ile MDY arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlenmesine rağmen, p300 ekspresyonu ile VEGF ekspresyonu arasında ilişki saptanmamıştır.
- 6) VEGF ile anjiogenez yakından ilişkili olmasına rağmen çalışmamızda MDY ile VEGF ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmemiştir.
- 7) Elli yaşından küçük olgularda düşük VEGF ekspresyonu izlenirken, elli ve elli yaşından büyük olgularda yüksek VEGF ekspresyonu gözlenmiştir.
- 8) MDY, VEGF ekspresyonu veya p300 ekspresyonu ile cinsiyet, hastalık risk grubu, serum M protein tipi, serum IgG ve IgA düzeyleri, hemoglobin, trombosit sayısı, lökosit sayısı, albumin, LDH, sedimentasyon hızı, serum kalsiyum, beta-2 mikroglobulin, serum kreatinin, idrarda M protein varlığı, 24

saatlik idrarda proteinüri miktarı, amiloid birikimi veya litik kemik lezyonu sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

- 9) MDY arttıkça, istatistiksel olarak toplam sağkalımın azaldığı izlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte artmış VEGF ekspresyonu ve CREB ekspresyonunun da toplam sağkalımı olumsuz etkilediği dikkati çekmiştir. Sonuç olarak artmış MDY, VEGF ekspresyonu ve CREB ekspresyonunun hastalık progresyonu ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle anjiogenez, VEGF ve CREB'i hedef alan tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinin hastalık sağkalımını arttırabileceği ön görülmüştür. Ayrıca yeni tanı alan vakalara ait kemik iliği biyopsilerinde rutin olarak MDY, VEGF ekspresyonu ve CREB ekspresyonunun değerlendirilmesinin hastalık prognozu ile ilişkili fikir verebileceği düşünülmüştür.

6. KAYNAKLAR

1. Kumar S, Witzig TE, Timm M, Haug J, Wellik L, Fonseca R, et al. Expression of VEGF and its receptors by myeloma cells. *Leukemia*. 2003 ;17(10):2025-31.
2. Azais I, Brault R, Debais F. New treatments for myeloma. *Joint Bone Spine*. 2010; 77(1):20-6.
3. Sakamoto KM, Frank DA. CREB in the Pathophysiology of Cancer: Implications for Targeting Transcription Factors for Cancer Therapy. *Clin Cancer Res*. 2009 15;15(8):2583-7.
4. Shankar DB, Cheng JC, Kinjo K, Federman N, Moore TB, Gill A, et al. The role of CREB as a proto-oncogene in hematopoiesis and in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*. 2005;7(4):351-62.
5. Seo HS, Liu DD, Bekele BN, Kim MK, Pisters K, Lippman SM, et al. Cyclic AMP response element-binding protein overexpression: A feature associated with negative prognosis in never smokers with non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2008;68(15):6065-73.
6. Moehler TM, Neben K, Ho AD, Goldschmidt H. Angiogenesis in hematologic malignancies. *Ann Hematol*. 2001 ;80(12):695-705.
7. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*. 2007;57(1):43-66.
8. Linet MS, Harlow SD, McLaughlin JK. A case-control study of multiple myeloma in whites: chronic antigenic stimulation, occupation, and drug use. *Cancer Res*. 1987;47(11):2978-81.
9. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol*. 2003;121(5):749-57.
10. Kyle RA, Child JA, Anderson K, Barlogie B, Bataille R, Bensinger W, et al. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Brit J Haematol*. 2003;121(5):749-57.
11. Kyle RA, Greipp PR. Smoldering Multiple-Myeloma. *New Engl J Med*. 1980;302(24):1347-9.
12. Dimopoulos MA, Moulopoulos LA, Maniatis A, Alexanian R. Solitary plasmacytoma of bone and asymptomatic multiple myeloma. *Blood*. 2000 15;96(6):2037-44.
13. Garcia-Sanz R, Orfao A, Gonzalez M, Tabernero MD, Blade J, Moro MJ, et al. Primary plasma cell leukemia: clinical, immunophenotypic, DNA ploidy, and cytogenetic characteristics. *Blood*. 1999;93(3):1032-7.
14. Bartl R, Frisch B, Fateh-Moghadam A, Kettner G, Jaeger K, Sommerfeld W. Histologic classification and staging of multiple myeloma. A retrospective and prospective study of 674 cases. *Am J Clin Pathol*. 1987;87(3):342-55.
15. Turley H, Jones M, Erber W, Mayne K, de Waele M, Gatter K. VS38: a new monoclonal antibody for detecting plasma cell differentiation in routine sections. *J Clin Pathol*. 1994;47(5):418-22.

16. Falini B, Lenze D, Hasserjian R, Coupland S, Jaehne D, Soupir C, et al. Cytoplasmic mutated nucleophosmin (NPM) defines the molecular status of a significant fraction of myeloid sarcomas. *Leukemia*. 2007;21(7):1566-70.
17. Greipp PR, San Miguel J, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Blade J, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2005 20;23(15):3412-20.
18. Stewart AK, Bergsagel PL, Greipp PR, Dispenzieri A, Gertz MA, Hayman SR, et al. A practical guide to defining high-risk myeloma for clinical trials, patient counseling and choice of therapy. *Leukemia*. 2007 ;21(3):529-34.
19. Jakob C, Sterz J, Zavrski I, Heider U, Kleeberg L, Fleissner C, et al. Angiogenesis in multiple myeloma. *Eur J Cancer*. 2006 ;42(11):1581-90.
20. Aguayo A, Kantarjian H, Manshouri T, Gidel C, Estey E, Thomas D, et al. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2000 15;96(6):2240-5.
21. Kini AR, Kay NE, Peterson LC. Increased bone marrow angiogenesis in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2000;14(8):1414-8.
22. Vacca A, Ribatti D, Roncali L, Ranieri G, Serio G, Silvestris F, et al. Bone marrow angiogenesis and progression in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 1994;87(3):503-8.
23. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*. 2000 14;407(6801):249-57.
24. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(6):401-10.
25. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem*. 1992;267(16):10931-4.
26. Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis*. 2000;21(3):505-15.
27. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol*. 2005 10;23(5):1011-27.
28. Klein B, Zhang XG, Lu ZY, Bataille R. Interleukin-6 in human multiple myeloma. *Blood*. 1995 15;85(4):863-72.
29. Podar K, Tai YT, Davies FE, Lentzsch S, Sattler M, Hideshima T, et al. Vascular endothelial growth factor triggers signaling cascades mediating multiple myeloma cell growth and migration. *Blood*. 2001 15;98(2):428-35.
30. Nakagawa M, Kaneda T, Arakawa T, Morita S, Sato T, Yomada T, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) directly enhances osteoclastic bone resorption and survival of mature osteoclasts. *FEBS Lett*. 2000;473(2):161-4.
31. Gabrilovich D, Ishida T, Oyama T, Ran S, Kravtsov V, Nadaf S, et al. Vascular endothelial growth factor inhibits the development of dendritic cells and dramatically affects the differentiation of multiple hematopoietic lineages in vivo. *Blood*. 1998;92(11):4150-66.

32. Kinjo K, Sandoval S, Sakamoto KM, Shankar DB. The role of CREB as a proto-oncogene in hematopoiesis. *Cell Cycle*. 2005;4(9):1134-5.
33. Iyer NG, Ozdag H, Caldas C. p300/CBP and cancer. *Oncogene*. 2004;23(24):4225-31.
34. Rana C, Sharma S, Agrawal V, Singh U. Bone marrow angiogenesis in multiple myeloma and its correlation with clinicopathological factors. *Ann Hematol*. 2010;89(8):789-94.
35. Vacca A, Ribatti D, Roccaro AM, Frigeri A, Dammacco F. Bone marrow angiogenesis in patients with active multiple myeloma. *Semin Oncol*. 2001;28(6):543-50.
36. Ribas C, Colleoni GW, Silva MR, Carrezo MJ, Bordin JO. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor immunoexpression in the context of adverse standard prognostic factors in multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2004;73(5):311-7.
37. Bhatti SS, Kumar L, Dinda AK, Dawar R. Prognostic value of bone marrow angiogenesis in multiple myeloma: use of light microscopy as well as computerized image analyzer in the assessment of microvessel density and total vascular area in multiple myeloma and its correlation with various clinical, histological, and laboratory parameters. *Am J Hematol*. 2006;81(9):649-56.
38. Munshi NC, Wilson C. Increased bone marrow microvessel density in newly diagnosed multiple myeloma carries a poor prognosis. *Semin Oncol*. 2001;28(6):565-9.
39. Rajkumar SV, Leong T, Roche PC, Fonseca R, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Prognostic value of bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Clin Cancer Res*. 2000;6(8):3111-6.
40. Sezer O, Niemoller K, Eucker J, Jakob C, Kaufmann O, Zavrski I, et al. Bone marrow microvessel density is a prognostic factor for survival in patients with multiple myeloma. *Ann Hematol*. 2000;79(10):574-7.
41. Sandoval S, Pigazzi M, Sakamoto KM. CREB: A Key Regulator of Normal and Neoplastic Hematopoiesis. *Adv Hematol*. 2009;2009:634292.
42. Aggarwal S, Kim SW, Ryu SH, Chung WC, Koo JS. Growth suppression of lung cancer cells by targeting cyclic AMP response element-binding protein. *Cancer Res*. 2008;68(4):981-8.
43. Crans HN, Sakamoto KM. Transcription factors and translocations in lymphoid and myeloid leukemia. *Leukemia*. 200;15(3):313-31.
44. Pigazzi M, Ricotti E, Germano G, Faggian D, Arico M, Basso G. cAMP response element binding protein (CREB) overexpression CREB has been described as critical for leukemia progression. *Haematologica*. 2007;92(10):1435-7.
45. Shankar DB, Cheng JC, Kinjo K, Federman N, Moore TB, Gill A, et al. The role of CREB as a proto-oncogene in hematopoiesis and in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*. 2005;7(4):351-62.
46. McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, Grogan TM, Harris NL, Coupland RW. Plasma cell neoplasms. In: Swerdlow H, Campo E, Harris NL, Jaffe

- ES, Piler SA, Stein H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon 2008: 202
47. McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, Grogan TM, Harris NL, Coupland RW. Plasma cell neoplasms. In: Swerdlow H, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Piler SA, Stein H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon 2008: 203
48. McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, Grogan TM, Harris NL, Coupland RW. Plasma cell neoplasms. In: Swerdlow H, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Piler SA, Stein H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon 2008: 204
49. McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, Grogan TM, Harris NL, Coupland RW. Plasma cell neoplasms. In: Swerdlow H, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Piler SA, Stein H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon 2008: 205

8. ÖZET

PLAZMA HÜCRELİ MYELOMLARDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK CREB VE VEGF EKSPRESYONLARI İLE MİKRODAMAR YOĞUNLUĞUNUN KLİNİK VE PATOLOJİK PARAMETRELER İLE İLİŞKİSİ

Plazma hücreli myelom, günümüzde küratif tedavisi bulunmayan, monoklonal plazma hücre proliferasyonu ile karakterli bir malign neoplazidir. Siklik AMP regülatuar eleman bağlayıcı protein (CREB) bir transkripsiyon faktörüdür. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), plazma hücreli myelomun patogenezi ve progresyonunda etkili bir glikoprotein olup, tümör anjiogenezinde görevlidir.

Bu çalışmada, 2001-2010 yıllarında plazma hücreli myelom tanısı almış 76 olguya ait tanı anı kemik iliği olguları incelemiştir. Parafin bloklardan yapılan kesitlerde CREB ekspresyonunu gösteren p300, VEGF ve Faktör VIII ile immünhistokimyasal boyama yapılmıştır. Plazma hücreli myelomda CREB ve VEGF ekspresyonu ile mikrodamar yoğunluğunun (MDY) klinik, laboratuvar ve histopatolojik parametreler ile ilişkisi araştırılmıştır.

Yüksek plazma hücre oranının, yüksek MVD ve yüksek VEGF ekspresyonu ile anlamlı ilişki gösterdiği saptanmıştır ($p=0.02$ ve $p=0.002$, sırası ile). Benzer yüksek dereceli plazma hücre infiltrasyon patterninin de yüksek MVD ve yüksek VEGF ekspresyonu ile anlamlı ilişki gösterdiği izlenmiştir ($p=0.006$ ve $p=0.01$, sırası ile). Serum CRP düzeyi yüksek olan vakalarda MDY'nin de yüksek olduğu gözlenmiştir ($p=0.03$). Yüksek CREB ekspresyonu

ile artmış MDY arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0.01$). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, artmış MDY'nin ve yüksek CREB ekspresyonunun yüksek klinik evre ile ilişkili olduğu gözlenmiştir ($p=0.2$ ve $p=0.1$, sırası ile). Yüksek MDY'nin kötü prognoz ile ilişkili olduğu ve toplam sağkalımın azaldığı izlenmiştir ($p=0.04$). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte artmış VEGF ekspresyonu veya CREB ekspresyonunun da toplam sağkalımı olumsuz etkilediği gözlenmiştir ($p=0.2$ ve $p=0.1$, sırası ile).

Sonuç olarak artmış MDY, VEGF ekspresyonu ve CREB ekspresyonunun hastalık progresyonu ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle anjiogenez, VEGF ve CREB'i hedef alan tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinin hastalık sağkalımını arttırabileceği ön görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Plazma hücreli myelom, CREB ekspresyonu, anjiogenez..

9. SUMMARY

EXPRESSION OF CREB AND VEGF, AND MICROVESSEL DENSITY IN PLASMA CELL MYELOMA BY IMMUNOHISTOCHEMISTRY: THEIR CORRELATIONS WITH CLINICAL AND PATHOLOGICAL FEATURES

Plasma cell myeloma is a monoclonal plasma cell proliferative disorder and remains an incurable malignant neoplasm. Cyclic AMP regulatory element binding protein (CREB) is a transcription factor. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a glycoprotein that plays an important role in both pathogenesis and progression of plasma cell myeloma.

This study included the bone marrow paraffin sections of 76 cases of plasma cell myeloma newly diagnosed between 2001-2010. Bone marrow sections were stained with VEGF, Factor VIII, and p300 antibodies that shows CREB expression by immunohistochemical method. The association of CREB and VEGF expressions with microvessel density (MVD) and clinical/laboratory/histopathological features in plasma cell myeloma were examined.

High percentage of plasma cell infiltration showed statistical significance with high MVD and high VEGF expression ($p=0.02$ and $p=0.002$, respectively). Similar significant association was present for high grade plasma cell infiltration pattern with high MVD and high VEGF expression ($p=0.006$ and $p=0.01$, respectively). High MVD was significantly associated with elevated serum CRP ($p=0.03$). There was significant association between high CREB expression and high MVD ($p=0.01$). High MVD and high CREB expression showed statistical

trend for higher clinical stage ($p=0.2$ and $p=0.1$, respectively). High MVD was significantly associated with poorer prognosis and shorter overall survival than low MVD ($p=0.04$). Expression of high VEGF and CREB showed statistical trend for poor survival ($p=0.2$ and $p=0.1$, respectively).

In conclusion, high microvessel density, VEGF and CREB expression could be correlated with progression of myeloma. Moreover, targeting therapies for angiogenesis, VEGF and CREB could improve overall survival.

Key words: Plasma cell myeloma, CREB expression, angiogenesis.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Sevinç

Soyadı: Şahin

Doğum Yeri ve Tarihi: Alaca-Çorum 27.05.1982

Eğitimi

Uzmanlık eğitimi (Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji ABD)	2006-
Tıp fakültesi (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi)	2000-2006
Ortaokul ve lise öğrenimi (Çorum Anadolu Lisesi)	1993-2000
İlkokul öğrenimi (Salim Akaydın İlköğretim Okulu)	1988-1993

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Ankara Patoloji Derneği

Bilimsel Etkinlikleri:

Özeti Basılmış Ulusal Poster Bildirileri;

1. Pankreasın seröz kistadenomu. Çakır A, Çelik S, Gönül İI, Ekinci Ö, Akyol G. 18. Ulusal Patoloji Kongresi, Antalya, 25-29 Ekim 2008, Özet kitabı, s.53, Poster no: P-069
2. Enterobiasis ilişkili akut appendisit. Karakuş E, Çelik S, Yılmaz G, Göçün PU, 19. Ulusal Patoloji Kongresi, Girne-Kıbrıs, 7-11 Ekim 2009, Özet kitabı, s.74, Poster no: P-134
3. Servikal spinal meningeal melanositom. Çelik S, Akyürek N. 19. Ulusal Patoloji Kongresi, Girne-Kıbrıs, 7-11 Ekim 2009, Özet kitabı, s.99, Poster no: P-196
4. Vajende tübüloskuamoz polip. Çelik S, Yılmaz IB, Erdem Ö. 19. Ulusal Patoloji Kongresi, Girne-Kıbrıs, 7-11 Ekim 2009, Özet kitabı, s.151, Poster no: P-328
5. Memenin metaplastik karsinomu. Çelik S, Yılmaz IB, Gönül İI., 19. Ulusal Patoloji Kongresi, Girne-Kıbrıs, 7-11 Ekim 2009, Özet kitabı, s.185, Poster no: P-419
6. Hipersensitivite pnömonisi. Çelik S, Saka B, Çakır A, Akyürek N. 19. Ulusal Patoloji Kongresi, Girne-Kıbrıs, 7-11 Ekim 2009, Özet kitabı, s.211, Poster no: P-387

7. Orbitada malign granüler hücreli tümör. Memiş İ, Çelik S, Uluoğlu Ö. 20. Ulusal Patoloji Kongresi, Eskişehir, 29 Eylül-3 Ekim 2010, Özet kitabı, s.82, Poster no: P-149
8. Koroid pleksus karsinomu. Çelik S, Memiş L, Uluoğlu Ö. 20. Ulusal Patoloji Kongresi, Eskişehir, 29 Eylül-3 Ekim 2010, Özet kitabı, s.176, Poster no: P-379