



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MULTİPLE MYELOMA TANISI ALAN
HASTALARDA UCP-2 ve NR3C1 GENLERİNİN
TEDAVİ ETKİNLİĞİ VE SAĞ KALIM
ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. İlknur DEMİR
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa PEHLİVAN**

Gaziantep - 2019

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MULTİPLE MYELOMA TANISI ALAN
HASTALARDA UCP-2 ve NR3C1 GENLERİNİN
TEDAVİ ETKİNLİĞİ VE SAĞ KALIM
ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. İlknur DEMİR

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mustafa PEHLİVAN

Gaziantep - 2019

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Tezin adı: Multiple Myeloma Tanısı Alan Hastalarda UCP-2 ve NR3C1 Genlerinin Tedavi Etkinliği ve Sağ Kalım Üzerine Etkisi

Dr. İlknur Demir
17.01.2019

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

(İmza).....
Prof. Dr. Yusuf Zeki ÇELEN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının "Tıpta Uzmanlık" derecesine yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza).....
Prof. Dr. Mustafa ARAZ
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile "Tıpta Uzmanlık" tezi olarak yeterli bulunmuştur.

(İmza).....
Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mustafa Pehlivan

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. Mustafa ARAZ
2. Prof. Dr. Mustafa PEHLİVAN
3. Doç. Dr. A. Emre YILDIRIM
4. Doç. Dr. Gül İLHAN
5. Doç. Dr. Zeynel Abidin ÖZTÜRK

I. ÖNSÖZ

Tezimi hazırlarken tecrübesiyle bana yol gösteren, akademisyenlik yolunda engin bilgilerini benden esirgemeyen ve uzmanlık eğitimimde bana her konuda sonsuz destek olan Prof. Dr. Mustafa Pehlivan'a ve değerli eşi Prof. Dr. Sacide Pehlivan'a minnet ve şükranlarımı sunarım.

İç Hastalıkları eğitimim boyunca bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Celalettin Usalan'a, Prof. Dr. Özlem Usalan'a, Prof. Dr. Mustafa Araz'a, Prof. Dr. Ersin Akarsu'ya, Doç. Dr. Zeynel Abidin Öztürk'e, Doç. Dr. A. Emre Yıldırım'a; tez çalışmamdaki yardımlarından dolayı tüm hematoloji ekibine, çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayat mücadelesine başladığım ilk andan itibaren hiç bir konuda desteğini esirgemeyen, iş ahlakını, vatana layık bir birey olarak disiplinli çalışmasını örnek aldığım babam Cengiz Gündüş'e; sabrını, iradesini ve kararlılığını örnek aldığım annem Sıdika Gündüş'e; kardeşlerim Ekrem Arif Gündüş ve Merve Gündüş'e yanımda oldukları için çok teşekkür ederim.

Hayatımın en yeni ve en güzel sayfalarından birini açtığım eşim Dr. Arif Demir'e bu zor ve yorucu süreçte elimi hiç bırakmadan sabırla bana destek olduğu için, tüm negatiflerimi varlığı ve fikirleri ile pozitifleştirdiği için minnettarım.

Dr. İlknur DEMİR

Gaziantep, 2019

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ	i
II. İÇİNDEKİLER	ii
III. ÖZET	iv
IV. ABSTRACT	v
V. KISALTMALAR	vi
VI. TABLO LİSTESİ	ix
VII. ŞEKİL LİSTESİ	x
VIII. RESİM LİSTESİ	xi
IX. GRAFİK LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Multiple myeloma	3
2.1.1 Epidemiyoloji ve Etiyoloji	3
2.1.2 Multiple Myeloma ile MGUS ve Sessiz Myelom Ayrımı, Tanı kriterleri	4
2.1.3 Klinik Bulgular, Semptomlar ve Laboratuvar Bulguları	5
2.1.4 Evreleme ve Prognostik Faktörler	6
2.1.5 Tedavi Yöntemleri	9
2.2 Multiple Myeloma tedavisinde Otolog Kök Hücre Naklinin Yeri	11
2.3 UCP2 ve NR3C1 genlerin	12
2.3.1 UCP2 gen işlevi ve önemi	12
2.3.2 NR3C1 gen işlevi ve önemi	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
3.1 Hastaların Seçimi	15
3.2 Hastaların İncelenmesi	15
3.3 Yöntem	15
3.4 İstatistiksel değerlendirme	16
4. BULGULAR	17
4.1 Demografik Veriler	17
4.2 Hastaların OKHN ilişkili verileri	17
4.3 Hastaların NR3C1 ilişkili verileri	18

4.4 Hastaların UCP-2 ilişkili verileri.....	20
4.5 Hastaların OS ve PFS ilişkili verileri	22
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇ	30
7. KAYNAKLAR.....	31



III. ÖZET

MULTIPLE MYELOMA TANISI ALAN HASTALARDA UCP-2 ve NR3C1 GENLERİNİN TEDAVİ ETKİNLİĞİ VE SAĞ KALIM ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. İlknur Demir

Uzmanlık Tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa PEHLİVAN
Ocak-2019 , 54 sayfa

Giriş ve Amaç: Multiple myeloma (MM), monoklonal hafif ve ağır zincir aşırı üretimine yol açan malign bir plazma hücre diskrazisidir. UCP -2'nin (uncoupling protein-2) malignitelerdeki ekspresyonu; NR3C1'in (neuron-specific glucocorticoid receptor) steroid direnci arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda UCP-2 ve NR3C1 genine ait fonksiyonel gen varyantlarının MM hastalarında tedavi etkinliği ve sağ kalım üzerine etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Gaziantep Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalı Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi'nde MM tanısı alan 200 hasta ve 200 kontrol grubu alınmıştır. Hastaların % 77,5'ine otolog kemik iliği nakli (OKHN) yapılmıştır. Kişilerin periferik kanlarından elde edilen DNA'lerden UCP-2 ve NR3C1 genlerine ait rs41423247 ve rs659366 varyantları PCR-RFLP yöntemi kullanılarak çalışıldı.

Bulgular: Hastaların 5 yıllık total sağ kalımı(OS) % 71, progresyonsuz sağ kalımı(PFS) medyan 43.8 ay olarak tespit edildi. NR3C1 geninin genotip ve allel dağılımının sağlıklı kontrol grup ile MM tanılı grupta benzer olduğu, OS ve PFS üzerine istatistiksel olarak etkili olmadığı görüldü. UCP-2'nin AA genotip ve A allel frekansının anlamlı olarak MM arttığı ve MM' ya yatkınlıkta önemli rol oynadığı (5.6 kat risk artışı) ortaya konulmuştur (p:0.001), GG genotipinin sağlıklı grupta daha fazla görüldüğü ve hastalıktan koruyucu bir faktör olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunarak saptandı (p:0.013).

Sonuç: MM tanılı hastaların OS ve PFS'lerini belirlemek çalışmaları sürmektedir.NR3C1 MM tanısı alanlar ve sağlıklı kontrol grubunda olanlar arasında farklılık göstermemektedir. Bu nedenler MM hastalığındaki steroid direncinin başka bir yol ile oluştuğu düşünülmektedir. UCP-2'nin AA genotipinin hastalığa yatkınlık sağladığı, GG genotipinin hastalıktan koruyucu olduğu saptandı.Gelecekte UCP-2 gen varyantlarının MM prognozunda daha çok yer bulacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Multiple Myeloma, UCP-2, NR3C1

IV. ABSTRACT

THE EFFECT OF UCP-2 and NR3C1 GENES ON TREATMENT EFFICACY AND OVERALL SURVIVAL IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA

R. A. Dr. İlknur DEMİR

Expertise Thesis, Department of Internal Medicine

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa Pehlivan

January-2019 , 54 pages

Introduction: Multiple myeloma (MM) is a malignant plasma cell dyscrasia that leads to monoclonal light and heavy chain overproduction. There are studies evaluating the relationship between steroid resistance and neuron-specific glucocorticoid receptor (NR3C1); the expression of UCP -2 (uncoupling protein-2) in malignancies. In our study, we aimed to demonstrate the effect of functional gene variants of UCP2 and NR3C1 on treatment efficacy and survival in MM patients.

Method: 200 patients who were diagnosed with MM and 200 healthy persons were included in our study at Bone Marrow Transplantation Unit of Gaziantep University Hematology Department. Autolog bone marrow transplantation (ABMT) was performed in 77.5% of the patients. Rs41423247 and rs659366 variants of UCP-2 and NR3C1 genes from DNA from peripheral blood of individuals were studied by PCR-RFLP method.

Findings: The patients 5 years overall survival (OS) was 71% and progression-free survival (PFS) was 43.8 months. The genotype and allele distribution of the NR3C1 gene was similar in the healthy control group and the MM group, and it was not statistically significant on OS and PFS. The AA genotype and A allele frequencies of UCP-2 significantly increased MM and were found to play an important role in the predisposition to MM (5.6 fold risk increase) (p: 0.001). It was determined that GG genotype was more common in healthy group and it was a protective factor (p: 0.013).

Conclusion: Studies are underway to determine OS and PFS of patients with MM. NR3C1 does not differ between those diagnosed with MM and those in healthy control group. It is thought that steroid resistance in MM disease is caused by another way. UCP-2 's AA genotype is susceptible to disease, GG genotype was found to be protective against the disease. In the future, we think that UCP2 gene variants will be more involved in MM prognosis.

Keywords: Multiple myeloma, UCP-2, NR3C1

V. KISALTMALAR

AKHN	: Allojenik kök hücre nakli
AL	: Amiloid hafif zincir
B2-MG	: Beta-2 mikroglobulin
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CD	: Farkılaşma kümesi
CRP	: C-reaktif protein
Cyc	: Siklofosamid
Del	: Delesyon
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
ECOG	: Performans statüsü
EMP	: Ekstramedüller plazmasitom
FDG	: Florodeoksiglukoz
FISH	: Floresan In Situ Hibridizasyon
GR	: Glukokortikoid reseptör
G-CSF	: Granülosit koloni stimulan faktör
H2O	: monoksit (su)
IgD	: Immunglobulin-D
IL-6	: Interlökin-6
IMWG	: Uluslararası myelom çalışma grubu
ISS	: Uluslararası evreleme sistemi
İMİD	: İmmunmodulator
KCL	: Potasyum klorür

KİAB	: Kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi
LD	: Lenalidomid
LDH	: Laktat dehidrogenaz
MgCl₂	: Magnezyum klorür
MGUS	: Önemi bilinmeyen monoklonal gamopati
MM	: Multiple myeloma
(NH₄)₂SO₄	: Amonyum sülfat
NR3C1	: Nöron spesifik glukokortikoid reseptör
OKHN	: Ototolog kök hücre nakli
OR	: Objektif cevap
OS	: Total sağ kalım
PCLI	: Plazma hücresi labelling indeksi
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PCR- RFLP	: Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism
PET	: Pozitron emisyon tomografi
PFS	: Progresyonsuz sağ kalım
R-ISS	: Revize uluslar arası evreleme sistemi
ROS	: Reaktif oksijen radikalleri
RR	: Relatif risk
SMM	: Sessiz multiple myeloma
UCP2	: Uncoupling protein-2
TD	: Talidomid, deksametazon
VAD	: Vinkristin, Doksorubisin, Deksametazon
VCD	: Bortezomib, Siklofosfamid, Deksametazon

VTD	: Bortezomib, Talidomid, Deksametazon
mg/L	: miligram/ Litre
mg/dL	: miligram/ desilitre
g/dL	: gram/ desilitre
g/L	: gram/ Litre
IU/L	: Uluslararası ünite/ Litre



VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Multiple myeloma için Uluslararası Evreleme Sistemi (ISS)	7
Tablo 2. R-ISS evreleme sistemi	8
Tablo 3. MM tanılı OKHN yapılan hastaların demografik ve klinik verileri.....	17
Tablo 4. MM tanısı alıp OKHN yapılan hastaların nakil ilişkili verileri	18
Tablo 5. MM tanılı ve sağlıklı kontrol grubunda NR3C1 gen varyantları karşılaştırılması ...	19
Tablo 6. MM tanılı olup OKHN yapılan ve sağlıklı kontrol grubunda NR3C1 gen varyantları karşılaştırılması	19
Tablo 7. MM tanılı hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda UCP-2 gen varyantları karşılaştırılması	20
Tablo 8. MM tanılı olup OKHN yapılan hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda UCP-2 gen varyantları karşılaştırılması	21
Tablo 9. MM tanısı ile OKHN yapılan hastaların Logrank test kullanılarak 5 yıllık PFS ve OS'lerinin prognostik faktörleri ile karşılaştırılması	22
Tablo 10. MM tanısı ile OKHN yapılan hastaların Logrank test kullanılarak 10 yıllık PFS ve OS'lerinin prognostik faktörleri ile karşılaştırılması	23
Tablo 11. MM tanısı sonrası OKHN yapılan hastaların multivaryant analizi	24

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. ISS evrelerine göre OKHN yapılan hastaların 10 yıllık total sağ kalımları	25
Şekil 2. OKHN yapılan hastalarda UCP-2 gen varyantlarına göre 10 yıllık total sağ kalımın karşılaştırılması	26



VIII. RESİM LİSTESİ

- Resim 1.** NR3C1'in 1P93 yapısı ve UCP-2'nin 2LCK yapısının 3 boyutlu görüntüleri..... 13
- Resim 2.** NR3C1 ve UCP-2 proteinlerinin protein-protein etkileşimi analizi (Web tabanlı STRING çoklu hizalama görüntüleyici ile görselleştirilerek elde edilen) 14



IX. GRAFİK LİSTESİ

Şekil tablosu ögesi bulunamadı.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multiple myeloma (MM); monoklonal hafif ve ağır zincir aşırı üretimine yol açan plazma hücrelerinin malign bir hastalığıdır. Yaşla beraber insidansı artar ve genelde hastaların çoğunluğuna 60 yaş üzerinde tanı konmaktadır (1). Etiyolojisi tam olarak anlaşılamamakla birlikte; diyet, sigara, alkol, iyonize radyasyon, hormonal faktörler, organik çözücüler, aile öyküsü ve genetik vb. etkenler etiyojide suçlanmıştır.

Hastalar tanı aldıklarında evrelerine göre değerlendirilerek öncelikle ilk sıra tedavi rejimleri ile tedavi almaya başlamaktadır. MM tanılı genç hastalarda yüksek doz kemoterapi ve takiben otolog kök hücre nakli (OKHN) standart tedavi olarak geçerliliğini korumakta ve uygulanmaktadır. Transplantasyondan sonra sağlanan remisyonun devamı için hastalara idame tedavileri verilmektedir. Hastaların idame tedavisi altında nüks etmeleri sonrasında ikinci sıra tedaviler gündeme gelmektedir.

Tüm süreçler göz önünde bulundurulduğunda hastanın prognozunu etkileyen birçok faktör karşımıza çıkmaktadır. Tanı anındaki evresi, hastanın performansı, böbrek fonksiyon bozukluğunun eşlik etmesi, sitogenetiğinde t(4,14), del(17p) varlığı gibi bilinen prognostik markırlar hala günümüzde ve kliniğimizde aktif olarak kullanılmaktadır. Bunlar hastaların genel olarak prognozunun iyi yönde olup olmadığı hakkında bizlere bilgi sağlamaktadır. Fakat spesifik olarak verilen kemoteröpatiklere karşı gelişen dirençler hakkındaki çalışmalar hala devam etmekte bulunan yeni markırlar bilim dünyası ile paylaşılmaya devam edilmektedir.

İnsan glukokortikoid reseptörü ya da diğer adıyla neuron-specific glucocorticoid receptor (NR3C1) geni glukokortikoid direnci ile ilişkilidir. Uncoupling protein-2 (UCP-2) ise mitokondriyal transportör ailesine mensup olup; mitokondriyal transportta yer alması nedeniyle enerji metabolizması, termogenezis, lipid metabolizması, vücut ağırlığı üzerine etkili olduğu düşünülmektedir. UCP-2 ile ilgili obezite, insulin direnci üzerine çalışmalar daha ön plandadır (2). Son yıllarda UCP -2'nin malignitelerdeki ekspresyonu ve kemoterapi rejimlerine ile ilişkisini belirleyen çalışmalar devam etmektedir. UCP-2'nin; papiller tiroid kanserindeki rolünü (3), renal hücreli karsinomdaki metabolik prognostik faktörlerden biri oluşunu, over seröz adenokarsinomunda platin bazlı rejimlerin tedavi etkinliği ile ilgisini gösteren çalışmalar mevcuttur (4). Çalışmamızda MM hastalarında UCP-2 ile hastaların tedavi ve prognozu arasındaki ilişkiye bakmayı amaçlamaktayız.

MM hastalarında ilk sıra tedavilerinde ve takiplerde yer yer idame tedavilerinde yerini alan steroidler önemli bir yere sahiptir. Literatüre bakıldığında çeşitli alanlarda tedavide steroid kullanılan hastalıklarda NR3C1 geni ile steroid direnci arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya çalışan çalışmalar yapılmaktadır. Biz de MM’ da yaygın steroid kullanımımız olması açısından NR3C1 geninin steroid direnci ile ilişkili olup olmadığının ek olarak tedavi etkinliği ve sağ kalım üzerine etkisini görmeyi amaçlamaktayız.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Multiple myeloma

2.1.1 Epidemiyoloji ve Etiyoloji

MM monoklonal hafif ve ağır zincir aşırı üretimine yol açan malign bir plazma hücre diskrazisidir. Hematolojik kanserlerin yaklaşık %10-15' ini oluştururken, bütün kanserlerin %1'ini oluşturmaktadır (5). Görülme sıklığı neredeyse Avrupa genelinde ülkeler arasında benzer olarak istatistiklere yansımaktadır. Dünya geneline baktığımızda azımsanamayacak oranda; her yıl 100.000 civarında kişi MM nedeniyle kaybedilmektedir (6). Tam olarak nedeni ve alt yapısı bilinmemekle birlikte; erkeklerde kadınlara oranla daha sık, Afrikalı Amerikalılarda da daha sıklıkla görüldüğü bildirilmiştir. Özellikle ırklara göre dağılımlara baktığımızda; siyahlarda beyazlara göre 2 kat daha fazla hastalığa rastlanıldığı, Japon ve Çin kökenli Amerikalılarda ise görülme sıklığının çok düşük olduğu saptanmıştır (7).

Görülme sıklığının az olması nedeniyle etiyolojisinin aydınlatılması için yeterli çalışma yapılamamıştır. Kanserojen etkili olarak tanımlanan birçok etken ile MM arasındaki ilişkiye bakılan çalışmalar yapılmıştır. 1990'lı yıllara dayanan, aşına olduğumuz bir kanserojen olan sigara ile yapılan vaka kontrollü çalışmalarda rölatif riskin (RR) 0.8 ile 1.3 arasında değişken seyrettiğini, alkol alımı ile ilişkisinin bulunmadığı gösterilmiştir (8). Hastalığın erkeklerde kadınlardan daha fazla görüldüğü saptanması üzerine akıllara, cinsiyet farkının hormonal etki nedeniyle olup olmadığı gelmiş ve bu konuda çeşitli çalışmalar yapılmış fakat MM ile herhangi bir hormon arasında anlamlı ilişki kurulamamıştır. Aynı şekilde beslenme şekli ve obezite ile hastalık arasında risk faktörü ya da koruyuculuk oluşturdıklarına dair yeterli kanıt ortaya konamamıştır, farklı olarak obezite ile ilgili yapılan bir çalışmada risk faktörü olabileceği belirtilmiştir (9). Hematolojik malignitelerde sıklıkla karşımıza çıkan iyonize radyasyon ve benzen gibi organik çözücüler ile MM arasındaki ilişki ile defalarca araştırılmasına rağmen, genel geçer bir sonuç elde edilememiştir. Fakat iyonize radyasyonun DNA (deoksiribo nükleoik asit) çift sarmal kırıklarına, onkogen aktivasyonlarına sebep olarak MM riskini arttırdığı kabul edilmektedir (10).

Bir çok hastalıkta olduğu gibi MM için de genetik geçiş ile ilgili aile çalışmaları yapılmıştır. Birinci derece akrabasında hastalık saptanmış bireylerde, MM gelişme riskinin 3.7 kat artmış olduğu gösterilmiştir (11).

Tüm yapılan çalışmalara bakılarak hastalığın multifaktöriyel olduğu ve etiyolojik nedenler için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

2.1.2 Multiple Myeloma ile MGUS ve Sessiz Myelom Ayrımı, Tanı kriterleri

MM tanısı koyabilmek için klinikte sıklıkla karışabilen önemi bilinmeyen monoklonal gammopati olarak adlandırılan (MGUS) ayırıcı tanısının bilinmesi gerekmektedir. Birbirinden farklı kliniklerde yapılan iki prospektif bağımsız çalışma (12), hastaların MGUS dönemini takiben MM tanısı aldıklarını ortaya koymuştur (13). Fakat bunun bir süreç olduğu ve her MGUS tanısı alan hastanın da MM hastasına dönüşmediği bilinmelidir. 2007 yılında yayınlanan bir çalışmada ortalama olarak MGUS tanılı bir bireyin MM progresyon riskinin yaklaşık %10 olduğu gösterilmiştir (14). Monoklonal gammopatilerin tanı kriterleri 2010 yılında tekrar gözden geçirilmiştir. MGUS tanı kriterleri; serum-M-protein konsantrasyonu <3g/dL, kemik iliğinde <%10 monoklonal plazma hücreleri, monoklonal gammopati yapan diğer hastalıkların dışlanması olarak kabul edilmiştir (15). Sessiz multiple myeloma (SMM) ise; serum-M-protein konsantrasyonu >3g/dL, kemik iliğinde > %10 monoklonal plazma hücrelerinin varlığı fakat organ tutulumunun olmayışı ile karakterizedir (15). 2014 yılında son revizyon sonrasında ise MM tanı kriterleri; serum-M-protein konsantrasyonu >3g/dL, kemik iliğinde >%10 monoklonal plazma hücrelerinin varlığı ya da plazmasitom varlığı buna ek olarak MM tanımlayıcı olaylardan bir ya da daha fazlasının eşlik etmesi olarak kabul edilmiştir. Tanımlayıcı olaylar ise; artmış serum kalsiyum düzeyi, böbrek yetmezliği (kreatin klirensinin 40 ml/dk altında oluşu ya da serum kreatinin > 2mg/dL), hemoglobin düzeyinin normalin alt limitinden en az 2 gr/dL altında olması, bir veya daha fazla osteolitik kemik lezyonun olması şeklinde tanımlanmıştır (16). Tüm bu kriterler göz önünde bulundurulduğunda MM tanısında şüphe ettiğimiz hastada, tam kan sayımı, böbrek fonksiyon testleri, serum ve idrar immunfiksasyon elektroforezi ve son olarak kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi planlamaktayız. Ek olarak plazmasitom ya da litik kemik lezyonu şüphelerimiz mevcut ise hastadan radyolojik görüntüleme ya da nükleer görüntüleme yöntemleri kullanarak tanı açısından ilerleme kaydedilmektedir.

2.1.3 Klinik Bulgular, Semptomlar ve Laboratuvar Bulguları

MM hastalığı genelde organ tutulumu yaptıktan sonra semptomlar ilerledikçe hastayı kliniğimize getirmektedir. Birden çok organı tutması nedeniyle hastalar hematoloji kliniğinden önce kimi zaman böbrek yetmezliği nedeniyle nefroloji kliniğine, kimi zaman hiperkalsemi saptanarak endokrinoloji kliniğine, kimi zaman ise vertebra fraktürleri nedeniyle ortopedi veya beyin cerrahi kliniklerine başvurmaktadırlar. Bakış açısı güncel ve ayrıntılı anamnez alan bir hekim bu şikayetler ve semptomlar ile kliniğine başvuran hastanın MM olabileceğini akılda tutarak tarafımıza yönlendirmektedir. Genel olarak semptomların dağılımına bakarsak eğer; %73 anemi, %58 kemik ağrısı, %48 kreatin yüksekliği, %32 halsizlik yorgunluk, %28 hiperkalsemi, %24 kilo kaybı görülmektedir. Hepatomegali, splenomegali, ateş, lenfadenopati, plevral efuzyon gibi semptomların ise %5' den daha az olduğu bilinmektedir (17). Ekstramedüller plazmasitomlar (EMP) ise hastalığın ilerleyen dönemlerinde ortaya çıkabildiği gibi, hastalığın tanı anında da %5-7 oranında karşımıza çıkmaktadır (18).

Hematoloji kliniğinde en sık rastladığımız semptomlardan biri olan anemi, MM için tanı değeri taşıyan organ hasarını gösteren ve hastanın yaşam kalitesini etkileyen bir durumdur. Genellikle normokrom normositer anemi şeklinde karşımıza çıkmaktadır. MM' da anemi gelişimine birçok durum sebep olmaktadır. Böbrek yetersizliği gelişmiş ise eritropoietin eksikliği, kemik iliğinde plazma hücrelerinden diğer serilerin çoğalmasına yer kalmaması, hücrelerden salınan IL-6'nın (Interlökin-6) eritropoezi baskılaması, vitamin ve demir eksikliği gibi daha bir çok sebep bulunmaktadır (17). Hematolojik problemleri arasında kanamaya eğilimli oldukları gibi tromboza da eğilimli oldukları bilinmektedir.

İkinci sıklıkta görülen semptom kemik ağrısı ve kemik hasarına bağlı ortaya çıkan diğer durumlardır. Kemik lezyonları aynı zamanda bize hastalığın progresyonu, tümör yükü hakkında da fikir vermektedir. Osteolitik kemik lezyonları en sık kafa kemikleri, vertebra, kostalar, sternum, femur ve humerusu tutmaktadır (17). Kemik lezyonlarını göstermekte geleneksel radyolojik yöntemler kullanılabileceği gibi FDG PET-BT (Florodeoksiglukoz-Pozitron Emisyon Tomografisi) günümüzde kullanılmaktadır.

Üçüncü sırada ise hastaların yaklaşık dörtte birinde görülen böbrek yetersizliği yer almaktadır. 1980'li yıllardan bu yana myeloma ile beraberlik gösteren hafif zincir amiloidozunun (AL), IgD (Immunglobulin-D) myelomunun, dehidratasyonun, bifosfonat kullanımının, hiperüriseminin nefrotoksisiteye katkıda bulunduğu bilinmektedir (19). Böbrek yetmezliğinin oluşumunda hiperkalsemi ve hafif zincir nefropatisi en sık iki nedeni

oluşturmaktadır. Böbrek hastalığının tedavi ile geri döndürülme olasılığı %50'lere kadar ulaşmaktadır, tedavi sonrası böbrek fonksiyonlarının geri döndürülebildiği oranda sağ kalımın daha iyi olduğu yönünde çalışmalar bulunmaktadır (20). Hiperkalseminin ise özellikle tedavi endikasyonları arasında yer aldığı unutulmamalıdır.

Hastaların yaklaşık %7-8'i hipervizkoziteye bağlı semptomlar ile kliniklere başvurmaktadır (17). Bu semptomlar kulaklarda dolgunluk çınlama, bulanık görme, nefes darlığı, cilt ve mukozalarda kanama, nörolojik semptomlar, konjestif kalp yetmezliğine kadar geniş bir yelpazede yer almaktadır. Semptomlar içinde hastanın hayatını tehdit eden her durum acil tedavi ihtiyacını doğurmaktadır. Nadir de olsa EMP'ye bağlı görülen kord kompresyonu, vertebra gövde kırıkları en acil müdahale gerektiren durumlardandır.

Tanı kriterleri arasında yer verildiği üzere kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi (KİAB) hastalığın tanısında ana basamaklardan birini oluşturmaktadır. KİAB'da yaygın plazmasitozisi oluşturan myelom hücrelerinin CD138+, CD56+, CD38+ taşıyan malign plazma hücreleri olduğu tespit edilmiştir (21). Normal plazma hücreleri CD19+ ve CD56- olarak görülmektedir (22). Kemik iliği aspirasyonunda ise myelom hücreleri genellikle yan yana, değişik şekilli çekirdeklere sahip, koyu bazofil sitoplazmalı atipik plazmoblastlar ya da plazma hücreleri olarak görülmektedir. Bu hücrelerin KİAB' de %10'dan fazla görülmesi MM için tanı kriterlerinden biridir. Diğer yandan ülkemizde geniş bir kullanım alanı bulamamış olmasına rağmen plazma hücrelerinin bölünme hızlarını ve klonalitesini gösteren Plazma Hücresi Labelling İndeks (PCLI) gelişmiş merkezlerde 1988'den bu yana beta-2 mikroglobuline (B2-MG) ek olarak kullanılmaktadır (23). Kemik iliğinden elde edilen biyopsi ve aspirasyon yayma örnekleri dışında da plazmositomlar ya da organ tutulumlarından alınan örneklemelerde MM tanısı koydurabilmektedirler.

2.1.4 Evreleme ve Prognostik Faktörler

MM' da 1975 yılından bu yana uzunca bir süreç boyunca monoklonal proteinin tipi ve düzeyi, kalsiyum düzeyi, hemoglobin düzeyi, kemik lezyonlarının sayısı; kriterlerinden oluşan Durie-Salmon evrelemesi kullanılmıştır (24). 1980 yılında B2-MG'nin keşfedilmesi beraberinde farklı evreleme sistemlerinin oluşturulmasını sağlamıştır. İlerleyen bilim ile birlikte Uluslararası Myelom Çalışma Grubu (IMWG) 2005 yılında onkoloji grubu ile birlikte kolay uygulanabilir, albümin ve B2-MG ye bağlı yeni evreleme sistemini geliştirmişlerdir (25). 2005 yılında yapılan bu çalışmada tek değişkenli analizde serum albümin ve B2-MG'nin sağ kalım ve prognozla ilgili en kuvvetli ilişkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada çok

değişkenli analiz yapıldığında; B2-MG, trombositopeni albümin düşüklüğü, kreatin yüksekliği ve kalsiyum yüksekliği bağımsız risk faktörü olarak ortaya çıkmıştır (25). Takip eden yıllar içerisinde en kuvvetli parametreler olan B2-MG ve serum albümin değeri seçilerek Uluslararası Evreleme Sistemi (ISS) oluşturulmuştur. ISS'e göre evreleme sistemi, hastaların sağ kalımı aşağıdaki Tablo 1' de gösterilmektedir.

Tablo 1. Multiple myeloma için Uluslararası Evreleme Sistemi (ISS)

Evre	Hastaların Oranı	Kriter	Sağkalım (%)
I	%28,5	Serum B2-MG <3.5mg/dL ve Serum albümin $\geq$ 3,5g/dL	62
II	%37,5	Serum B2-MG <3.5mg/dL ve Serum albümin $\geq$ 3,5g/dL veya albümine bakılmaksızın ; B2-MG: 3.5- <5.5 mg/dL	49
III	%33,6	Serum B2-MG $\geq$ 5,5g/dL	29

B2-MG: Beta-2 mikroglobulin

Araştırmacılar ISS'i kullanıma sunduktan sonra yıllardır kullanılmakta olan Durie-Salmon evreleme sistemi ile kıyaslamışlardır. ISS'in Durie-Salmon evreleme sistemine göre hastalar arasında daha eşit bir dağılım sağladığı tespit edilmiştir (26). ISS aynı çalışmada sitogenetik veriler ile evre arasında kuvvetli bir ilişkinin olup olmadığını da araştırmış, sitogenetik anomali olanlarda sağ kalım 42 ay, olmayanlarda 69 ay olmasına rağmen evre ile kuvvetli bir ilişki bulunamamıştır. Tüm gelişmeler göz önüne alındığında hala günlük pratiğimizde ve akademik verilerimizde kolay, ulaşılabilir iki parametreye sahip olan ISS sistemi aktif olarak kullanılmaktadır.

MM multifaktöriyel bir hastalık olduğu gibi prognozunda etkileyen birden çok etken bulunmaktadır. Yukarıda bahsedilen ISS'e ek olarak serum LDH ve interfaz FISH (Floresan insitu hibridizasyon) ile saptanan yüksek riskli kromozomal anormallikler (delesyon 17p, t(4;14), t(14,16)) gibi ek etmenlere bakılarak Revize ISS (R-ISS) oluşturulmuştur (27). R-ISS'de hastalar ISS'e benzer olarak 3 evreye ayrılmışlardır. R-ISS yaş ve verilen tedaviden bağımsız olarak prognozu göstermesi bakımından önem arz etmektedir.

Tablo 2. R-ISS evreleme sistemi

Evre	ISS'e göre evresi	Kriter	Ortanca Sağ kalım
I	Evre I	serum LDH normal olması ve interfaz FISH ile yüksek riskli sitogenetik anomali yokluğu	Erişilememiş
II	Evre II	Evre I ve III'e uymayan	83 ay
III	Evre III	yüksek serum LDH veya interfaz FISH ile yüksek riskli sitogenetik anomali varlığı (del(17p), t(4;14), t(14;16)'dan herhangi biri	43 ay

LDH: Laktat dehidrogenaz, FISH: Floresan In Situ Hibridizasyon, ISS: Uluslararası evreleme sistemi, R-ISS: Revize uluslararası evreleme sistemi

Hastaların genetik risk profillerine bakıldığında kabaca kötü risk profili olanların erken tedaviye rağmen daha kötü prognozlu oldukları, iyi risk profili olanların ise birinci basamak tedavilerle bile daha uzun süre sağ kalıma sahip olduğu ortaya konulmuştur. Bu nedenle artık birçok merkez hastaya sadece evresine ve performansına göre tedavi düzenlemeyip, genetik profilini de tedavi planlamasına rutin olarak eklemektedir. Özellikle risk genetiğini belirlemede ilk planda FISH tekniği ile t(4,14), t(4,16), delesyon (del) 17q13 veya delesyon 13 kullanılması önerilmektedir (28). Yapılan çalışmalar sonucunda kompleks karyotiptik anomaliye sahip olmak, t(4,14), t(4,16), t(14,20), del 17q13, del 13, del 1p, 1q amplifikasyonu ve hipodiploidi kötü prognostik sitogenetik anomaliler arasında yerini almaktadır. Genetik eksenli sınıflamalarla kötü profile sahip olacak olan hasta grubu daha erken olarak deneysel tedavilere, hedef ajanların kullanıldığı tedavilere yönlendirme sağlanacaktır. Kötü risk faktörü içermeyen, çoğunluğu oluşturan hasta grubu ise vakit kaybetmeden yüksek doz melfalan içeren tedavi yaklaşımlarına yönlendirilebileceklerdir (29). Tüm bu sitogenetik anomalilere ek olarak, daha basit açıdan hastaya ait özelliklerden bazıları hastayı yüksek riskli ve kötü prognoza sahip olma açısından etkilemektedir. Bunlar hastanın yaşı, komorbiditer hastalıkları, düşük performans durumu, böbrek hastalığına sahip olması olarak sayılmaktadır (27). İmmunfenotipik olarak plazma hücreleri değerlendirildiğinde CD19, CD28, CD117 pozitifliği ya da negatifliği, yüzeyinde CD81 sunumu olması hastanın genel ve hastalık progresyonu olmadan sağ kalımı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (30). Fakat henüz immunfenotiple değerlendirme rutin olarak tüm merkezlerde kullanıma girmemiştir.

Tüm bu veriler ışığında hastalar kendine özgü risk faktörleri ve evreleri ile hastaya özgül planlanan tedavi rejimlerine yönlendirilmektedir.

2.1.5 Tedavi Yöntemleri

MM da tedavi planlanırken kök hücre nakli yapılmaya başlandığından bu yana tedavi stratejisini belirlemek için öncelikle hastanın nakil adayı olup olamayacağı değerlendirilmektedir. Nakil adayı olabilme açısından tüm dünyada ortak olarak belirlenmiş kesin kriterler bulunmamaktadır, verilecek karar hastanın prognozunu etkileyen durumlar göz önüne alınarak verilmektedir. Kliniklerin nakil tecrübeleri sonrası belli başlı pratikte kullandıkları kriterler saptanmıştır. Bunlar; 65 yaşın altında olması ya da performansın 65 yaş altı olacak kadar iyi durumda olup 75 yaş altında olması, ISS evrelemesi, kemik tutulumu, kardiyak ve nörolojik sistem değerlendirilmesi, kreatin klirensi olarak sıralanabilmektedir (31). Olası nakil adayı hastaların indüksiyon tedavisinde melfalan verilmesi, kök hücre mobilizasyonunu bozduğundan ayırım önem kazanmaktadır.

Tüm MM tanısı alan hastalar için semptomatik olan, doku ya da organ hasarı başlamış olan hasta grubu tedavi edilmeye hak kazanmaktadır. Diğer yandan MGUS, SSM tanısı olan organ hasarı olmayan durumlarda hasta rutin takibe alınarak izlenmeli, gerektiği anda devreye girilerek tedavi edilmektedir.

İndüksiyon tedavisinde alkilleyici ajanlar (melfalan, siklofosfamid), proteazom inhibitörleri (bortezomib), immunmodülatörler (talidomid, lenalidomid), antrasiklinler (doksorubisin), kortikosteroidler (deksametazon, prednizon) kullanılmaktadır. Hastalık ilk zamanlarda VAD (vinkristin, doksoburisin, deksametazon) kombinasyonu ile tedavi edilmekteydi, fakat yeterli remisyon ve sağ kalıma ulaşamadığı tespit edildi. 1983 sonrasında melfalan tedavisinin yüksek dozlarda kullanılmasıyla myelomada etkili olduğu fakat çok toksik olduğu gösterildi. Takip eden yıllarda araştırmacılar yüksek doz kemoterapi kombinasyonları üzerine çalışmalar yapmaya başladı ve 1996' da Fransız myelom grubunun çalışması yayınlandı. Çalışmada konvansiyonel kemoterapi ile yüksek doz kemoterapi indüksiyon tedavisi olarak karşılaştırıldı ve total sağ kalım, progresyonsuz sağ kalım yüksek doz kemoterapi grubunda daha yüksek olarak bulundu. Yüksek doz kemoterapi protokolü standart rejim haline getirildi (31) . Daha sonra İngilizler benzer bir çalışma daha tasarladılar, fakat ek olarak yüksek doz kemoterapi grubuna tedavi sonrası OKHN yaptılar, beklenildiği gibi bu kombinasyon konvansiyonel kemoterapiden çok daha üstün olarak görüldü (32). Takip eden yıllarda indüksiyon ve idame tedavilerinde talidomid içeren rejimler kullanılmaya başlandı.

Bortezomib' in faz 3 çalışmalarla etkinliği ortaya konmasıyla eski kombinasyonlar terkedilerek yerini yeni ajanların kombinasyonlarına bırakmış oldu (33). Sonuç olarak çalışmalar yüksek doz tedaviden önce indüksiyon tedavisi olarak bortezomib içeren üçlü kombinasyonların daha iyi olduğunu göstermektedir ek olarak bu kombinasyonlarda enfeksiyon, nötropeni gibi toksisite probleminde de artış olmaktadır (34). Sitogenetik çalışmalar ilerledikçe, sitogenetik olarak yüksek risk grubu olan hastaların indüksiyon tedavisine bortezomib ve deksametazon tedavisine bir immunmodulator (İMİD) eklenmesinin daha iyi bir sağ kalım sağladığı gösterilmiştir (35).

Hastalar indüksiyon tedavilerinden sonrasında yanıt açısından değerlendirilmektedir. OKHN'ye uygun olan adaylar kök hücre mobilizasyonuna yönlendirilmektedir. OKHN ya da tam remisyon sonrası hastalar pekiştirme tedavisi adı verilen, remisyonun kalitesini ve süresini arttırmayı amaçlayan tedavi rejimlerine yönlendirilmektedir. İtalyan myelom çalışma gruplarının 2013 yılında yapılan çalışmasında hastalara tam remisyondan 3 ay sonra pekiştirme tedavisi olarak VTD (bortezomib, talidomid, deksametazon) ve TD (talidomid, deksametazon) verildi, VTD verilen grupta progresyonsuz sağkalım daha iyi olmasına rağmen total sağkalım her iki grupta da benzer bulundu (36).

OKHN'den sonra remisyonun devamını amaçlayan idame tedavileri kullanılmaktadır. İnterferon idame tedavisinde ilk kullanılan ilaç grubu olup, yan etkileri nedeniyle günümüzde terkedilmiştir (37). Daha sonra indüksiyon tedavisinde başarılı sonuçlara neden olan talidomid idame tedavisinde verilmiştir. Talidomidin özellikle uzun zaman idame tedavisinde kullanıldığında oluşturduğu nöropatinin arttığı görüldü (38). Yan etki profili gözlenerek idame tercih edilmemesi gündeme geldi (39). Lenalidomidin nükse kadar kullanılan idame tedavilerini barındıran çalışmalar yayınlandı. Amerikalı çalışma gruplarından birinin yaptığı çalışmada, 70 yaşına kadar yüksek doz kemoterapi ve OKHN yapılmış olan hastalara idame tedavisi olarak bir gruba lenalidomide diğer gruba plasebo verildi. PFS lenalidomid verilen grupta daha uzun bulundu. Bu çalışmada ek olarak lenalidomid alan grubun takibinde ikinci kanser geliştirme oranında artış olduğu da görüldü (40). Benzer çalışma Fransızlar tarafından da yapıldı ve aynı şekilde benzer sonuçlar ortaya çıktı (41).Tüm çalışmalar lenalidomidin progresyona kadar çok etkili olduğunu fakat hastaların ikinci kanser geliştirme açısından takip edilmeleri gerektiğini ortaya koydu.

2.2 Multiple Myeloma tedavisinde Otolog Kök Hücre Naklinin Yeri

MM tanısı alan genç hastalarda; yüksek doz kemoterapi ve sonrasında OKHN bütün merkezlerde standart tedavi rejimi olarak kabul edilmekte ve uygulanmaktadır. Günümüzde dünyada kök hücre naklinin en sık yapıldığı hastalık MM olarak saptanmıştır. OKHN tam remisyon oranlarını, hastalık progresyonu olmadan sağkalımı ve total sağkalımı arttırmaktadır (42). Her yıl uygulanan OKHN sayısı her geçen gün artmaya devam etmektedir. Öncelikle OKHN'nin hasta için tam kür sağlamadığı bilinmelidir.

Kök hücre toplanması için hastaya öncelikle mobilizasyon rejimi verilerek hazırlık yapılmaktadır. Genelde mobilizasyon rejimi olarak siklofosamid (Cyc) ve G-CSF (Granülosit koloni stimülan faktör) verilerek yapılmaktadır. Hastadan yeterli kök hücre toplanabilmesi amacıyla genelde sabah ve akşam birer kez olmak üzere günde 2 doz şeklinde ($2 \times 5 \text{ ug/kg}$) G-CSF yapılmalıdır. Kemoterapi ve G-CSF ile yeterli sayıda kök hücre toplanamazsa pleriksifor kullanılmaktadır (43). OKHN için en azından transplantasyon başına $2 \times 10^6 \text{ CD34+/kg}$ otolog kök hücre gereklidir. Toplanan ideal kök hücre sayısı ise $5 \times 10^6 \text{ CD34+/kg}$ olarak belirtilmektedir (44). Saklama koşulları göz önünde bulundurularak hastadan nüks sonrasında, kullanılmak üzere daha fazla otolog kök hücre toplanması söz konusu olabilmektedir. Özellikle çok iyi kısmı yanıt alamamış hastalarda birinci transplantasyondan 3 ay sonra 2. yüksek doz kemoterapi ve OKHN düşünülmektedir.

Tüm maligniteler için allojenik kök hücre naklinin (AKHN) kullanılan myeloablatif rejimlerden dolayı, OKHN'ye göre daha yüksek mortalite ve morbidite ile seyrettiği bilinmektedir. MM hastalarına kullanılan AKHN' de ise myeloablatif rejim yerine yüksek doz kemoterapi rejimi ve OKHN sonrasında, indirgenmiş yoğunlukta mobilizasyon rejimleri uygulanmaktadır ve bunlara otolog-allojenik transplantasyon denilmektedir. Fakat buna rağmen mortalite yüksek seyretmektedir. Bu nedenle AKHN; OKHN sonrası nüks etmiş refrakter gruplarda nadir olarak düşünülmektedir (45).

Günümüzde literatür bilgilerine dayanarak hastaların tedavi planları OKHN yapıp yapılmayacağına göre belirlenmektedir. OKHN adayları en kısa süre zarfında değerlendirilmeleri ve indüksiyon kemoterapileri sonrası nakile yönlendirilmektedir. Diğer gruptaki hastalar ise indüksiyonu takiben pekiştirme, remisyon idamesi açısından mevcut ajanlar ve yeni ajanları ile tedavi ve takibe devam edilmektedir.

2.3 UCP2 ve NR3C1 genlerin

2.3.1 UCP2 gen işlevi ve önemi

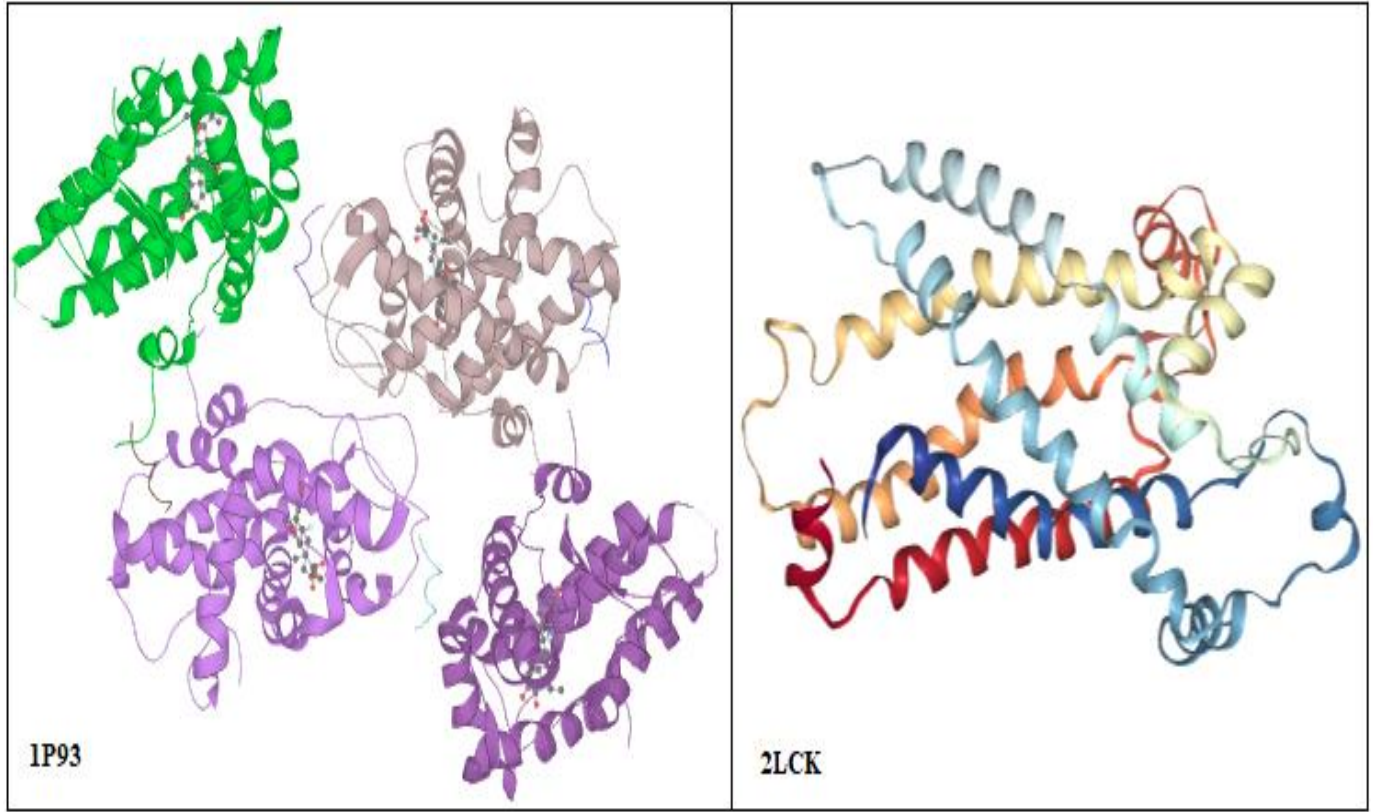
Uncoupling protein-2 (UCP-2) mitokondriyal transporter ailesine mensup bir proteindir. Kromozom 11q13'te yer almakta, immun sistem, santral sinir sistemi, adipoz doku, böbrek, dalak ve pankreasta eksprese edilmektedir (46). Günümüze kadar beş farklı tip UCP tanımlanmış ve UCP-1' den UCP-5' e kadar adlandırılmıştır (47). Gruplar içerisinde özellikle mitokondriyal membranda bulunarak superoksitler ve reaktif oksijen radikalleri (ROS) ile ilişkili form UCP-2 ve UCP-3 olarak saptanmıştır (48). Mitokondriyal transportta yer alması nedeniyle enerji metabolizması, termogenezis, vücut ağırlığı üzerine etkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle UCP-2 ile ilgili çalışmalar genelde obezite, insulin direnci gibi konularda yapılmıştır (49). ROS' ların antioksidan mekanizmaları aşan kemoteropatik ajanlarca üretilerek, hücre hasarına ve ölümüne sebep olduğu bilinmektedir (50). Son 10-15 yıllık süreçte UCP -2'nin malignitelerdeki ekspresyonunu değerlendiren çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda UCP-2'nin kanser hücrelerinde fazlaca eksprese edildiği ve ROS üretimini baskılayarak oksidatif stresi hafiflettiği gösterilmiştir (51). UCP-2'nin fonksiyon kaybında ROS üretiminin arttığı saptanmıştır (52). Ayrıca UCP-2 karsinogenezis ve kemorezistansda da rol aldığı belirlenmiştir (53). UCP-2'nin; papiller tiroid kanserindeki rolünü (3), renal hücreli karsinomdaki metabolik prognostik faktörler ile ilgisini gösteren çalışmalar mevcuttur (4). Hematolojik maligniteler ile ilgili henüz yeterince çalışma bulunmamaktadır. Benzer düşünceyle UCP-2'nin genotiplerinin MM tedavi direnci, prognozu ve sağ kalımı üzerindeki etkilerini görmek üzere bu çalışmayı tasarladık.

2.3.2 NR3C1 gen işlevi ve önemi

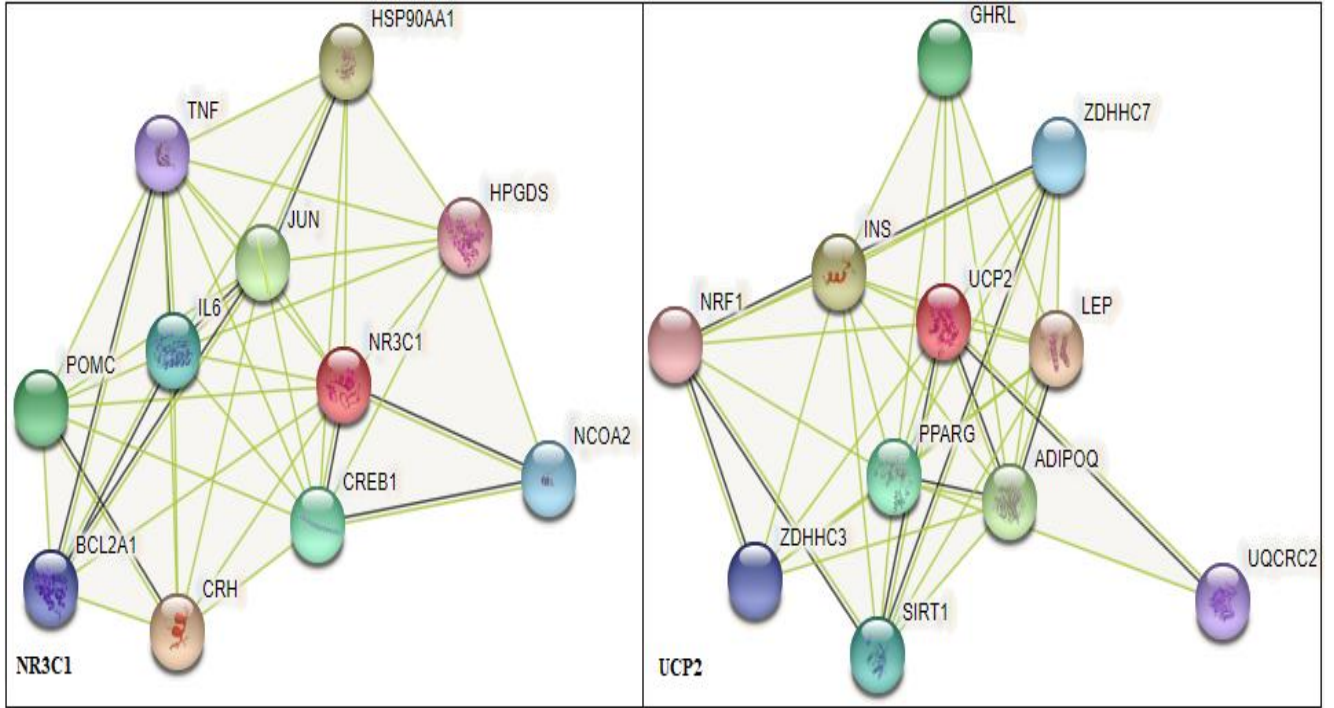
Glukokortikoidlerin birden fazla reseptörleri olmasına rağmen, etki mekanizmasındaki en etkili olanı Glukokortikoid reseptörü (GR) olarak tespit edilmiştir (54). Etki mekanizmasından sonra bazı hastalarda steroidlere direnç olduğu fark edilmesi üzerine direnç genleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (55). GR'nün; NR3C1 gen ailesi tarafından kodlandığı tespit edilmiş, NR3C1 rs41423247 polimorfizimin ise glukokortikoid direnci ile yakından ilişkili olduğu bulunmuştur (56). Genin steroid direnci ile ilişkili genotipleri bulunmaya başladıkça, her alanda yaygın kullanımı olan steroidler ile ilgili çalışma sayısı artmıştır. Major depresyon, şizofreni, maligniteler, romatolojik hastalıklar ve otoimmünite gösteren birçok hastalık grubunda NR3C1 çalışmaları yapılmıştır. Yakın zamanda yayınlanan 154 tane nefrotik sendrom hastasında AAG

ve GGA haplotiplerinin NR3C1 rs10052957, rs258751 ve rs6196 alanları ile steroid direnci oluşturduğu ortaya konmuştur (57). Otoimmün alt yapısı ile bilinen pemfigus vulgaris hastalarında glukokortikoid direnci ile NR3C1 gen arasındaki ilişkiye yönelik çalışma yapılmıştır (58). Daha birçok alanda NR3C1 genine ait farklı genotipler ve polimorfizmler ile ilgili çalışmalara devam edilmektedir.

Aşağıda UCP-2 ve NR3C1 genlerinin yapısal renklendirilmiş 3 boyutlu görsellerini Resim 1 ve Resim 2’ de görmekteyiz.



Resim 1. NR3C1'in 1P93 yapısı ve UCP-2'nin 2LCK yapısının 3 boyutlu görüntüleri



Resim 2. NR3C1 ve UCP-2 proteinlerinin protein-protein etkileşimi analizi (Web tabanlı STRING çoklu hizalama görüntüleyici ile görselleştirilerek elde edilen)

Resim 2 görselinde de görüldüğü üzere her iki genin yapısı karmaşık olup, etki mekanizmalarını oluşturan birden fazla protein ile etkileşimde olduğunu görmekteyiz. Her bir gen etkisini etkileşimde olduğu proteinler aracılığıyla ortaya çıkarmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Mevcut çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Servisi ve Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi'nde yapılmıştır. Çalışmanın yapılabilmesi için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 26.09.2018 tarihli 2018/224 sayılı kararı ile etik kurul onayı alınmıştır.

3.1 Hastaların Seçimi

Bu araştırma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Servisi ve Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi'nde MM tanısı alan 200 hasta incelenerek gerçekleştirilmiştir. Retrospektif olarak dosya incelemesiyle beraber hastane otomasyon ve medulla sistemi aracılığıyla laboratuvar tetkikleri de incelenmiştir. Çalışmada, hastaların %45'ini kadınlar, %55'ni erkekler oluşturmaktadır. Bu hastaların % 77,5'ine tanı sonrasında OKHN yapılmıştır.

3.2 Hastaların İncelenmesi

MM tanısı alan hastalarda, transplantasyon öncesi ve sonrasında retrospektif ve prospektif olarak değerlendirme yapılmıştır. Hastaların ayrıntılı olarak tanı anında evreleri, prognostik faktörleri, takiplerinde OKHN yapılıp yapılmadığı ve son olarak bakılan genlerin hastaların prognoz ve sağ kalım üzerindeki etkileri incelenmiştir.

3.3 Yöntem

MM tanısı alan 200 hasta ve 200 sağlıklı kontrolün periferik kan örnekleri alınmıştır. Toplanan kanlardan izole edilen lökositlerden, Genemark izolasyon kitiyle genomik DNA elde edilmiştir. Elde edilen DNA'larda kırık olup olmadığı ve yoğunlukları %2 lik agarozdan jel hazırlanarak jel elektroforezinde 120V'ta 30 dakika yürütülerek belirlenmiştir. Aynı zamanda Nanodrop aleti yardımıyla DNA konsantrasyonları ve saflığı belirlenmiştir. NR3C1 (Bc1l) ve UCP2 (MluI) genlerine ait spesifik bölgeler PCR yardımıyla çoğaltılmış ve enzim kesimi ile hasta ve kontrol gruplarına ait genotipler saptanmıştır. Her 25 mikrolitrelik PCR reaksiyonu için; dH₂O (15,2 µl); 10Xbuffer (2.5 ul) (2.5 µl) (50 Mm KCl, 2mM MgCl₂, 20mM (NH₄)₂SO₄, 75 Mm, TrisHCl, Ph: 9.00); dNTP (2µl); İleri ve Geri Primer (1'er µl); taq polimeraz 0.3 ul (2 ünite) ve 3 ul DNA olarak konmuştur. Kişilerin periferik kan örneklerinden

elde edilen DNA örneklerinden UCP-2 ve NR3C1 genlerine ait rs41423247 ve rs659366 varyantlar PCR-RFLP yöntemi kullanılarak çalışıldı.

3.4 İstatistiksel değerlendirme

Çalışmada, hastalardan edinilen retrospektif veriler ışığında, edinilen parametreler ışığında demografik veriler tablolar halinde sunulmuştur. Aynı veriler ve genlerin prognoz ve sağ kalım arasındaki ilişkinin ortaya konulması amacıyla; istatistiksel analizi için SPSS versiyon 21 paket programı kullanılmıştır. Kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırmalar X2 testi kullanılarak yapılmıştır. Grupların Hardy-Weinberg'e göre sapma gösterip göstermediği tespit edilmiştir. Aynı zamanda elde edilen MM hasta grubu sonuçları klinik parametreleri açısından da analiz edilerek; genel sağ kalım ile genlerin ve klinik parametrelerin karşılaştırılması yapılmıştır. Parametrelerin karşılaştırılmasında Logrank testi kullanılmıştır. Genlerin etkisine göre ayrılan gruplar arasında engrafman süreleri, CD 34 sayıları gibi sayısal verilerin karşılaştırılması için ise medyan test kullanılmıştır. Bakılan genlerin prognoz ve sağ kalıma etkisini incelemek ve bu karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları saptamak için lojistik regresyon analizi uygulanmış ve düzeltilmiş yaşa ve cinsiyete göre %95 güven aralığında hesaplanmıştır. Gerektiği durumlarda genler ile prognoz ve sağ kalım incelemesi için Fischer's exact testi kullanılmıştır. Çalışmada p değerinin 0.05'in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Demografik Veriler

Çalışmamız MM tanısı alan 200 hasta ve 200 sağlıklı kontrol grubu olarak tasarlandı. MM tanısı alan 200 hastanın 155'ine (%77,5) OKHN yapıldı. Diğer hastalar ek komorbiditeleri, yaş ve performans durumları, hastalığın seyri gibi kriterler ile değerlendirilerek OKHN'ye aday olarak görülmedi. İdame tedavileri ile takip edilmeye devam edildiler. OKHN yapılan hastaların genel demografik verilerine Tablo 3'te yer verilmektedir.

Tablo 3. MM tanılı OKHN yapılan hastaların demografik ve klinik verileri

		MM+OKHN		Kontrol	
		medyan	n ^a (%)	n ^b	(%)
Yaş		55 (28-75)		53	(22-68)
Cinsiyet	Kadın/Erkek		74/81 (48/52)	99/101	(50/50)
Ig subtipleri	κ/λ		87/40 (68.5/31.5)		
	G/A		84/20 (65.6/15.6)		
	Hafif zincir		24 (18.8)		
Evre (Salmon-Durie)	II/III		39/89 (23/77)		
	A/B		97/31 (76/24)		
ISS	I		41 (32)		
	II/III		35/52 (27/41)		
ECOG	>1		12/127 (9.5)		
Hemoglobin	gr/dL	10.4 (6.2-15)			
Lökosit	μL	7000 (2760-18500)			
Platelet	10 ³ /μL	170 (61-406)			
CRP	mg/dL	7.3 (2.3-352)			
LDH	IU/L	206 (93-1037)			
B2-MG	mg/L	4.9 (1.5-47)			
Albumin	gr/L	3.5 (1.6-5.1)			
Tedavi	VCD, OKHN, LD		155 (100)		

n^a = 155; n^b = 200; MM:multiple myeloma, OKHN: otolog kök hücre nakli,VCD:bortezomib, siklofosfomid, deksametazon; LD:lenolidomid, deksametazon; ECOG: performans statüsü; B2-MG:Beta-2 mikroglobulin,CRP: C-reaktif protein, LDH,: laktat dehidrogenaz, ISS:Uluslararası evreleme sistemi, PFS:progresyonsuz sağkalım, OS:Total sağkalım, * = median., mg/dL: miligram/desilitre, IU/L: internasyonal ünite/litre , gr/dL: gram/desilitre , gr/L: gram/Litre , mg/L: miligram/Litre

Hastalarımızın yaş ortalaması 55 yaş olduğundan benzer olması açısından sağlıklı kontrol grubu da medyan yaş 53 yaş olacak şekilde seçildi. MM tanısı alıp OKHN adayları olan hastalarımız genelde 65 yaş altındaydı. Fakat 65- 75 yaş arasında olup performansı iyi olan hastalara da OKHN yapıldı. Hastaların %65.6'sı IgG, %68.5' i kappa (κ) alt tipi şeklinde tanı aldılar.

4.2 Hastaların OKHN ilişkili verileri

Hastaların tanı anında evreleri çoğunlukla ileri idi. Bu nedenle zaman kaybı olmaksızın indüksiyon tedavisini takiben remisyon cevabı değerlendirildi ve OKHN'ye yönlendirildi. OKHN yapılan hastaların 5 yıllık OS' si %79 olarak, PFS ise medyan 54.3 ay olduğu görüldü. Günümüzde dünya merkezlerindeki sağ kalım oranlarına yakın bir oranda olduğunu tespit ettik.

Hastalar medyan 36 ay olacak şekilde takip edildiler. Hastalar OKHN' yi takiben engrafman zamanları ve özellikle ilk 100 günlük mortalite açısından yakın takibe alındılar.

Tablo 4. MM tanısı alıp OKHN yapılan hastaların nakil ilişkili verileri

MM+OKHN (n ^a = 155)		
Hazırlama rejimi	Melfalan 140/200	33/122
CD34 x10 ⁶ /kg*		9 (3,5-14)
Nötrofil Engrafman * Medyan (gün)		11 (9-19)
Platelet Engrafman* Medyan (gün)		11 (9-21)
100 günlük mortalite		%1,3
OS 5 yıl %		79
PFS Medyan (ay)		54.3
Mortalite		25 (%16)
Izlem süresi * Medyan (ay)		36 (7,8-155)

MM: Multiple myeloma, OKHN:Ototog kök hücre nakli, n^a = 155; OS:Total sağ kalım; PFS: Progresyonsuz sağ kalım; ECOG: Performans statüsü

Tablo 4' te görüldüğü üzere hastalara hazırlama rejimi olarak kreatin klirensi göz önünde bulundurularak melfalan belirtildiği dozlarda verildi. CD34 hücre sayısı ortalama 9x10⁶/kg*olarak hastalara verildi. Nakil sonrasında verilen kök hücrelerin kemik iliğine yerleşerek yeni hücre serileri üretimine başlamasına engrafman denilmektedir. Hastalarımızda medyan 11.günde nötrofil benzer şekilde yine 11.günde platelet engrafmanı gerçekleşti. Nakil sonrasında ilk 100 gün içerisinde 2 hasta (%1.3) , kardiyak nedenler ile kaybedildi.

4.3 Hastaların NR3C1 ilişkili verileri

Hastaların ve sağlıklı kontrol grubunun periferik kan örneklerinden UCP-2 ve NR3C1 allel ve genotipleri çalışıldı. Gen allellerinin ve genotiplerinin hasta ve sağlıklı grup arasında anlamlı farklarının olup olmadığına, yatkınlık ya da hastalıktan koruyuculukta rol alıp almadığı değerlendirildi.

Tablo 5. MM tanılı ve sağlıklı kontrol grubunda NR3C1 gen varyantları karşılaştırılması

NR3C1	Genotip	MM	Sağlıklı Kontrol	OR	95% CI	p
Exp(B)						
<i>Genotipler</i>		n= ^a (%)	n=200 (%)			
	CC	108 (54)	122 (61)	1.469*	0.623-3.466*	0.380*
	GC	78 (39)	68 (34)	1.192*	0.495-2.871*	0.695*
	GG	14 (7)	10 (5)	1.371&	0.594-3.163&	0.531&
Allel						
	C	294 (73.5)	312 (78)			
	G	106 (26.5)	88 (22)	1.264&	0.914-1.747&	0.162&

^an= 200,MM:multiple myeloma, *:OR :objektif cevap (95%CI) , &Fisher's Exact Test p value: <0.05

Tablo 5’de sağlıklı grup ve MM tanılı hastaların genotipleri ve allellerine göre dağılımları gösterilmiştir. İki grup arasında herhangi bir genotip ya da allel dağılımının hastalığa yatkınlık ya da koruyuculuk sağladığı gösterilememiştir. Benzer karşılaştırma OKHN yapılan hastalarda yapılmış, benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. Ayrıntılı verilere Tablo 6’ da yer verilmiştir.

Tablo 6. MM tanılı olup OKHN yapılan ve sağlıklı kontrol grubunda NR3C1 gen varyantları karşılaştırılması

NR3C1	Genotype	MM	Sağlıklı kontrol	OR	95% CI	p
		OKHN		Exp(B)		
<i>Genotip</i>		n= ^a (%)	n=200 (%)			
	CC	86 (55.5)	122 (61)	1.735*	0.679-3.753*	0.244*
	GC	58 (37.4)	68 (34)	1.454*	0.563-3.758*	0.440*
	GG	11 (7.1)	10 (5)	1.451&	0.600-3.511&	0.489&
Allel						
	C	230 (74.2)	312 (78)			
	G	80 (25.8)	88 (22)	1.233&	0.578-1.157&	0.248&

^an= 155, MM:multiple myeloma, *:OR :objektif cevap (95%CI), &Fisher's Exact Test, p value: <0.05

NR3C1 genin insan glukokortikoid direnci ile ilgili olduğu bilinmektedir. Hastaların prognozu tedaviye cevapları göz önünde bulundurulduğunda NR3C1 genin hasta ve sağlıklı grup arasında farklılık göstermesi, MM hastalarındaki steroid direncinin bu genotiplerle ilgili olmayabileceğini düşündürmektedir.

4.4 Hastaların UCP-2 ilişkili verileri

Bilindiği üzere UCP-2 genotip varyantlarının, eksprese edilme oranlarının malignitelerde ilişkisi olduğu ortaya konuldu, henüz hematolojik malignitelerde bu durum ile ilgili yeteri kadar çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda MM tanılı hastalarda ve sağlıklı kontrol grubundan alınan periferik kan örneklerinden, başka malignitelerle de ilişkisi gösterilmiş olan UCP-2 genotipleri ve alleleri çalışıldı; ayrıntılı veriler Tablo 7 ve 8’ de gösterilmektedir.

Tablo 7. MM tanılı hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda UCP-2 gen varyantları karşılaştırılması

UCP-2	Genotip	MM	Sağlıklı kontrol	OR	95% CI	p
				Exp(B)		
Genotipler		n= ^a (%)	n=200 (%)			
	AA	95 (44.5)	32 (16)	0.176*	0.091-0.340*	0.001*
	AG	83 (41.5)	125 (62.5)	0.799*	0.444-1.438*	0.455*
	GG	22 (11)	43 (21.5)	0.488 ^{&}	0.278-0.858 ^{&}	0.013 ^{&}
Allel						
	A	273 (68.25)	189 (47.25)			
	G	127 (31.75)	211 (52.75)	0.419 ^{&}	0.314-0.559 ^{&}	0.001 ^{&}

n= ^a : 200, MM:multiple myeloma, *:OR :objektif cevap (95%CI), [&]Fisher's Exact Test, p value:<0.05

UCP-2 genotipleri ve allelleri açısından bakıldığında MM tanılı hastalar ile sağlıklı kontrol grup arasında alt tiplerde farklılık olduğu tespit edildi. Daha ayrıntılı bir şekilde bakıldığında UCP-2 genotiplerinden AA'nın MM tanılı hastaların %44.5'inde; sağlıklı grubun ise %16'sında bulunduğu görüldü. İstatiksel olarak bakıldığında p değerinin 0.001 olarak anlamlı olan aralıkta olduğu gösterildi. Risk olarak bakıldığında ise AA genotipinin hastalığa yatkınlık sağladığını ve sağlıklı kişilere göre 5,6 kat daha fazla görüldüğü ortaya konuldu. Diğer yandan GG alt tipine bakıldığında ise MM tanılı hasta grubunda %11 olarak görülürken, sağlıklı kontrol

grubunda %21.5 olarak görüldüğü tespit edildi. GG genotipinin sağlıklı kontrol grubunda yaklaşık 2 kat daha fazla görülmüş olduğu ve istatistiksel olarak anlamlılığı ortaya konuldu. Aynı şekilde sağlıklı kontrol grubunda G allelinin %52.7 ile daha fazla olduğu gösterildi.

Tablo 8. MM tanılı olup OKHN yapılan hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda UCP-2 gen varyantları karşılaştırılması

UCP-2	Genotip	MM	Sağlıklı kontrol	OR	95% CI	p
		OKHN		Exp(B)		
Genotipler		n= ^a (%)	n=200 (%)			
	AA	71 (45.8)	32 (16)	0.201*	0.101-0.401*	0.001*
	AG	66 (42.6)	125 (62.5)	0.812*	0.433-1.522*	0.515*
	GG	18 (7.6)	43 (21.5)	0.480 ^{&}	0.264-0.871 ^{&}	0.016 ^{&}
Allel						
	A	208 (67.1)	189 (47.25)			
	G	102 (32.9)	211 (52.75)	0.439 ^{&}	0.323-0.597 ^{&}	0.001 ^{&}

n= ^a:155, MM:multiple myeloma,OKHN: Otolog kök hücre nakli, *:OR :objektif cevap (95%CI), [&]Fisher's Exact Test, p value: <0.05

UCP-2 gen varyantlarına OKHN yapılan hastalar ve sağlıklı kontrol gruplarında da bakıldığında benzer şekilde istatistiksel anlamlılık saptandı (Tablo 8). OKHN yapılan MM hastalarında AA genotipi %46.2 sağlıklı kontrol grubunda %16 olarak görüldü. AA genotipinin OKHN grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre 5.4 kat daha fazla olduğu tespit edildi. AA genotipinin hastalığa yatkınlık sağladığı gösterildi. GG genotipi, sağlıklı kontrollerde %21.5, OKHN grubunda ise %7.5 görüldü. GG genotipi sağlıklı grupta OKHN yapılanlara göre 2.1 kat daha fazla görülmekteydi.

Tablolarda görüldüğü üzere UCP-2'ni fonksiyonel gen varyantının MM hastaları ve sağlıklı grup arasında genotipler açısından anlamlı farklılık saptandı (Tablo 7 ve 8). AA ve GG genotipinin hastalığa yatkınlık ve koruyuculuk ile ilişkili olduğu gösterildi.

4.5 Hastaların OS ve PFS ilişkili verileri

Hastaların takiplerine göre genotip farklılıkları ile prognostik faktörleri beraber Logrank testi ile değerlendirildi. Kaplan-Meier eğrileri oluşturularak OS ve PFS'lerine yer verildi.

Tablo 9. MM tanısı ile OKHN yapılan hastaların Logrank test kullanılarak 5 yıllık PFS ve OS'lerinin prognostik faktörleri ile karşılaştırılması

		N	PFS Medyan (ay)* (5-yrs %)	Log Rank p-value	OS Medyan (ay)* (5-yrs %)	Log Rank p
		155	54.3		(79)	
Cinsiyet	Kadın / Erkek	74/81	89.6 / 43,8	0.057	(87) / (71)	0.147
Yaş	<65 / ≥65	131/23	69.3 / 40,4	0.476	(84) / 43.8	0.001
Evre (Salmon-Durie)	II/III	38/89	47.1 / 54,3	0.580	87.1 / 99,1	0.313
	A/B	96/31	72.2 / 43,8	0.268	(74) / (88)	0.332
ISS	I	41	73.1		(97)	
	II	34	47.1		(72)	
	III	52	44.4	0.616	(62) 88.2	0.001
Ig subtipleri	κ/λ	86/40	54.3/44.4	0.663	(82) / 87,1	0.473
	G	84	54.3		(80)	
	A	20	44.4		99,1	
	Hafif zincir	24	73.1	0.704	(53)	0.770
ECOG	≤ 1 / >1	115/12	54.3 / 28,5	0.852	(83) / (68)	0.004
Trombosit (X10x3/L)	<150 / ≥150	8/58	27.4 / 38,1	0.563	53.1 / 99,1	0.179
LDH (IU/L)	<480 / ≥480	120/7	54.3 / 17	0.067	(79) / 17	0.001
CRP (mg/L)	<5 / ≥5	57/70	54.3 / 52,7	0.946	(89) / 87,1	0.008
İlk sıra tedavi	VCD, OKHN, LD					
NR3C1	CC	86	52.7		(76)	
	GC	57	54.3		(80)	
	GG	11	24.4	0.882	(94)	0.582
UCP-2	AA/AG	70	69.3		(81)	
	GG	18	39.2	0.550	82.2	0.034

MM:multiple myeloma, OKHN: otolog kök hücre nakli,VCD:bortezomib, siklofosomid, deksametazon; LD:lenolidomid, deksametazon; ECOG: performans statüsü; CRP: C-reaktif protein, LDH: laktat dehidrogenaz, PFS:progresyonsuz sağ kalım, OS:Total sağkalım, * = median(ay), ISS; Uluslararası evreleme sistemi , p value:< 0.05, IU/L: internasyonel ünite/litre ,mg/L: miligram/Litre

Tablo 10. MM tanısı ile OKHN yapılan hastaların Logrank test kullanılarak 10 yıllık PFS ve OS'lerinin prognostik faktörleri ile karşılaştırılması

		N	PFS Medyan (ay)* (10-yrs %)	Log Rank p-value	OS Medyan (ay)* (10-yrs %)	Log Rank p
		155	54.3		(54)	
Cinsiyet	Kadın / Erkek	74/81	89.6 / 43,8	0.057	(52) / (57)	0.147
Yaş	<65 / ≥65	131/23	69.3 / 40,4	0.476	(71) / 42,3	0.001
Evre (Salmon-Durie)	II/III	38/89	47.1 / 54,3	0.580	87.1 / 99,1	0.313
	A/B	96/31	72.2 / 43,8	0.268	(55) / (51)	0.332
ISS	I	41	73.1		(81)	
	II	34	47.1		(72)	
	III	52	44.4	0.616	(40) 88.2	0.001
Ig subtipleri	κ/λ	86/40	54.3/44,4	0.663	(54) / 87,1	0.473
	G	84	54.3		(68)	
	A	20	44.4		99.1	
	Hafif zincir	24	73.1	0.704	(80)	0.770
ECOG	≤ 1 / >1	115/12	54.3 / 28,5	0.852	(52) / (61)	0.004
Trombosit (x103/L)	<150 / ≥150	8/58	27.4 / 38,1	0.563	53.1 / 99,1	0.179
LDH (IU/L)	<480 / ≥480	120/7	54.3 / 17	0.067	(53) / 17	0.001
CRP (mg/L)	<5 / ≥5	57/70	54.3 / 52,7	0.946	(89) / 87,1	0.008
İlk sıra tedavi	VCD, OKHN, LD					
NR3C1	CC	86	52.7		(73)	
	GC	57	54.3		(53)	
	GG	11	24.4	0.882	(94)	0.582
UCP-2	AA/AG	70	69.3		(78)	
	GG	18	39.2	0.550	82.2	0.034

MM:multiple myeloma, OKHN: otolog kök hücre nakli,VCD:bortezomib, siklofosomid, deksametazon; LD:lenolidomid, deksametazon; ECOG: performans statüsü; CRP: C-reaktif protein, LDH: laktat dehidrogenaz, PFS:progresyonsuz sağ kalım, OS:Total sağkalım, * = median., ISS: Uluslar arası evreleme sistemi, p value:< 0.05, IU/L: internasyonel ünite/litre ,mg/L: miligram/Litre

OKHN yapılan hastalarda 5 yıllık OS ye bakıldığında; istatistiksel olarak anlamlılığa sebep olan etkenlerin, hastanın 65 yaş üstü veya altı olmasının (p: 0.001), ISS'e göre evre III olmasının (p:0.001), ECOG durumunun (p:0.004), LDH değerinin (p:0.001), CRP değerinin (p:0.008), UCP-2 geninin GG genotipinin (p:0.034) etkili olduğu istatistiksel olarak anlamlılıkları gösterilerek tespit edildi. Benzer etkenlerin takip sürecinde PFS süresine istatistiksel olarak anlamlı şekilde etki etmediği gösterildi.

OKHN yapılan hastalara 5 yıllık analiz aynı şekilde 10 yıllık olarakta tekrar değerlendirildi. Hastaların sonuçları yine 5 yıl ile aynı şekilde olduğu görüldü. Benzer şekilde hasta yaşının,ISS evresinin, ECOG durumunun, LDH değerinin, CRP değerinin, UCP-2' nin GG genotipine sahip olmanın 10 yıllık OS' de etkili olduğu istatistiksel anlamlılıkla gösterildi (Tablo 10). OKHN adaylarını belirlerken yaş kriterini 65 yaş altı tutacak şekilde tercih etmiş olsak da, tüm merkezlerde olduğu gibi ECOG performansı iyi yaşımdan daha iyi olan 65- 75 arasındaki hastalarda çalışmaya alındı. Her ne kadar performansları iyi olduğu için nakil yapılmış olsa da OS' lerinin 65 yaş altı olanlar kadar iyi olmadığını görmekteyiz.

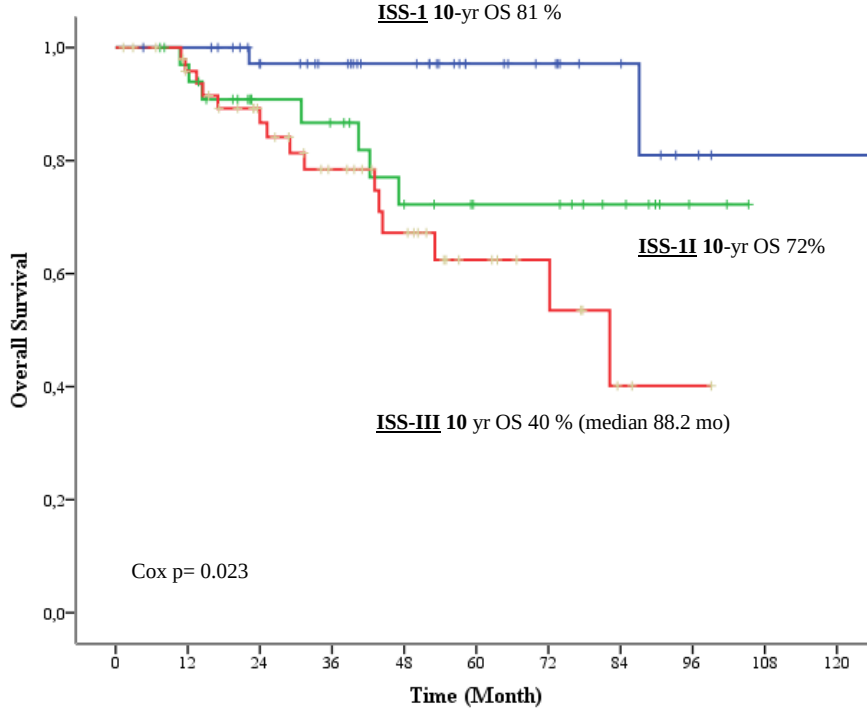
Tablo 11. MM tanısı sonrası OKHN yapılan hastaların multivaryant analizi

		OS		
		Exp (B)	%95 CI	p
Rölatif risk				
Yaş	<65 / ≥65	0.264	0.088-0.791	0.017
ISS	I/II			
	III	1.668	0.170-0.971	0.023
ECOG	≤ 1 / >1	0.432	9.094-19.84	0.281
LDH (IU/L)	<480 / ≥480	0.630	0.162-2.446	0.505
CRP (mg/L)	<5 / ≥5	0.556	0.196-1.579	0.270
UCP-2	AA/AG			
	GG	0.403	0.163-0.993	0.040

MM:multiple myeloma, OKHN: otolog kök hücre nakli, ECOG: performans statüsü; CRP: C-reaktif protein, LDH: laktat dehidrogenaz, PFS:progresyonsuz sağ kalım, OS:Total sağkalım, * = median., ISS: Uluslar arası evreleme sistemi, UCP-2: Uncoupling protein-2 ,p value:<0.05, IU/L: Uluslararası birim/Litre,

Tablo 11' de istatistiksel anlamlılık gösterdiği belirlenen parametreler ile multivaryant analiz yapıldı. 65 yaş üzerine olmak 3.78 kat daha fazla riskli olduğu (p: 0.017, Exp(B):0.264); ISS evre III olmanın 1.68 kat (p: 0.023, Exp(B):1.68) daha fazla rölatif risk taşıdığı istatistiksel

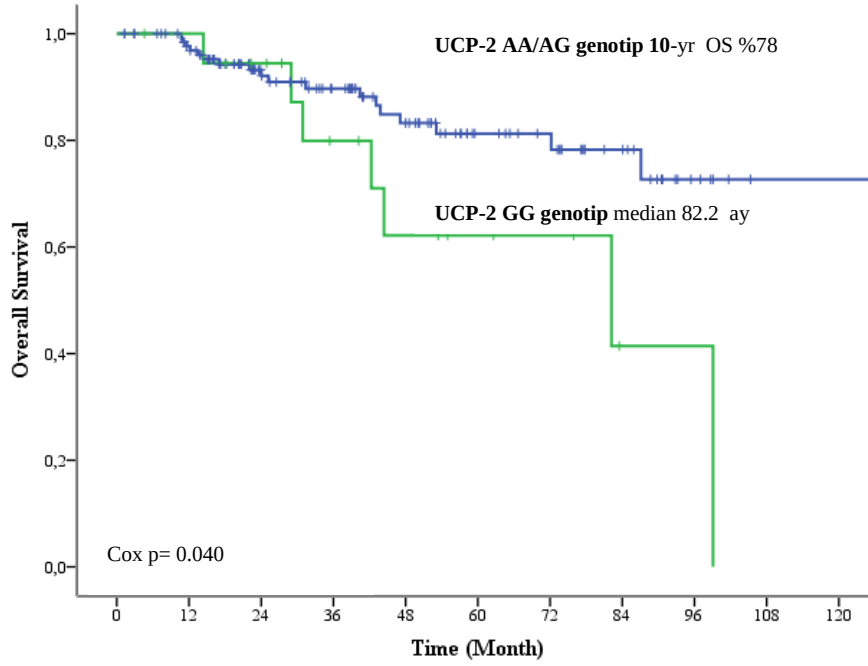
verilerle gösterildi. Aynı analiz sonucunda UCP-2 geninin GG genotipi taşıyanların 2.48 kat daha fazla hastalık taşımadığı (p:0.040, Exp(B):0.403) gösterildi.



ISS: Uluslararası evreleme sistemi ,OS: Total sağ kalım, OKHN: Otolog kök hücre nakli

Şekil 1. ISS evrelerine göre OKHN yapılan hastaların 10 yıllık total sağ kalımları

OKHN yapılan hastaların 10 yıllık sağ kalımı evrelerine göre gruplandırılarak Şekil 1’ de görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. ISS evre I olanların OS’ si %81, evre II olanların %72, evre III olanların %40 olarak 10 yıllık OS’ leri saptanmıştır. Yaklaşık izlemin 36. Ayında evre II ve III grubunun sağ kalımı benzerlik gösterse de uzun süreli izlemde aradaki farkın anlamlı olarak ortaya çıktığı gözlenmektedir. ISS; hala hastanın sağ kalımı ve prognozu üzerindeki önemini korumaktadır.



UCP-2: Uncoupling protein-2, OKHN: Ototok kök hücre nakli, OS: Total sağ kalım

Şekil 2. OKHN yapılan hastalarda UCP-2 gen varyantlarına göre 10 yıllık total sağ kalımın karşılaştırılması

Benzer şekilde sağ kalım açısından 10 yıllık analiz, daha önceki tablolarda ifade edilen UCP-2 geninin farklı allellere göre de tekrar yapılmıştır. UCP-2 genotiplerinde AA/AG alleleline sahip hastaların 10 yıllık OS' Sİ %78, GG genotipine sahip olanların ise medyan 82.2 ay sağ kalım gösterdikleri tespit edildi. UCP-2 genin hastalığa yatkınlık sağladığı sonucuna diğer analizlerimizde göstermiş olmamıza rağmen 10 yıllık sağ kalıma baktığımızda literatür ile uyumlu standartlarda olduğunu görmekteyiz.

5. TARTIŞMA

MM monoklonal hafif ve ağır zincir aşırı üretimine yol açan plazma hücrelerinin malign bir hastalıktır. Hematolojik kanserlerin yaklaşık %10-15'ini oluştururken, bütün kanserlerin %1'ini oluşturmaktadır. Tüm hematoloji kliniklerinde her geçen gün yeni tanı alan MM hasta sayısı artmaktadır. Hastalığın tanınmaya ve tedavi edilmeye başladığı yıllardan günümüze kadar sağ kalım oranlarında ciddi artışlar görmekteyiz. Yapılan bir çalışma hastalığa bağlı 5 yıllık OS' nin 1989-1992 yılları arasında %34, 2001-2005 yılları arasında %56 olduğunu saptamıştır (59). 90'lı yıllardaki kötü prognozun 2000'li yıllardan sonra düzelmesinde talidomid, lenolidomid ve bortezomibin keşfinin büyük önemi bulunmaktadır. Takip eden yıllarda OKHN' nin standart tedavi şemasında yerini alması ve merkezlerce rutin kullanılması ile sağ kalım oranları daha da artmıştır. Bizim çalışmamızda da görüldüğü üzere OKHN yapılan MM tanılı hastalarımızın 5 yıllık takibinde OS'nin %79 olarak, PFS'nin 54.3 ay olarak saptandığı tespit edilmiştir. 2000'li yılların sonlarına doğru verilen tedavi rejimleri genellikle birbirleri ile kıyaslanarak hastalar için IMWG tarafından en akılcı algoritmalar tespit edilerek OS ve PFS değerleri paylaşılmıştır.

Günümüze dek yapılan birçok çalışmada MM hastalığının prognozu açısından değerli onlarca etken saptanmış ve hala da yenileri eklenmeye devam edilmektedir. Fakat tüm bu etkenlere her merkezde her koşulda bakmak veya bu etkenlere göre devamlı evreleme sisteminde değişiklik yapmak çok mümkün olmamaktadır. MM evrelemesi ve prognozu açısından uzun yıllar Durie –Salmon evrelemesi kullanılmıştır. Takiben daha pratik ve sağ kalım ile daha korele olduğu gösterilen ISS kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde pratik olması ve OS/PFS açısından en güvenilir sonuçlara ulaştırması açısından ISS evreleme sistemini kullanmaktayız. Çalışmamızda da literatüre benzer şekilde; Şekil 1' de gösterildiği üzere ISS evresi ilerledikçe hastanın 10 yıllık OS'nin azaldığını görmekteyiz. ISS evre I olanların OS' si %81, evre II olanların %72, evre III olanların %40 olarak 10 yıllık OS' leri saptanmıştır.

Sadece yeni ilaçların kullanıma girmesi, ISS ile çalışma ve OKHN'nin sık kullanılması ile elde edilen OS artışı ile yetinilmemiş ve ek olarak prognozu iyileştirecek, sağ kalımı uzatabilecek genler ve etmenler üzerinde çalışılmaya başlanmıştır. MM tanılı hastalarda ilk zamanlardan bu yana glukokortikoidler tedavi rejimlerinde önemli bir yere sahip olmuşlardır. Özellikle dekstametazon yaygın kullanılan glukokortikoidlerin başında gelmektedir. Bu fikirden yola çıkılarak steroid tedavisine dirençli olan kötü prognoz gösteren gruplarda, bu

duruma neden olacak etkenler üzerinde çalışmalar planlanmıştır. 2009 yılında Teksas Üniversitesi Anderson Kanser Merkezi'nde yapılan bir çalışmada MM tanılı hastalarda glukokortikoid direncine GR genlerindeki bloke edici transkriptör faktörlerin neden olduğu gösterilmiştir (60). Takip eden süreçte Arkansas Üniversitesi'nde MM tanılı hasta gruplarında talidomid ve glukokortikoid reseptör gen alakalı deksametazon direnci ile ilgili çalışma yapılmıştır (61). Daha önce de belirtildiği üzere GR; NR3C1 ailesi tarafından kodlanmakta olan bir reseptör grubudur. Bu nedenle hastalarda NR3C1 genotiplerine ve polimorfizmlerine bakılması, bunların hastaların sağ kalımı ile ilişkisinin ortaya konması planlanmıştır. NR3C1 benzer şekilde pediatrik lösemiler üzerine çalışma yapan merkezlerinde dikkatini çekmiştir. NR3C1 geninin N363S ve BclI polimorfizmleri ile çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemi tedavisi sırasında görülen glukokortikoid yan etkileri arasındaki ilişkiyi ortaya koyan çalışma 2017'de yayınlanmıştır. Çalışmalarının sonucunda NR3C1 geninin BclI polimorfizmine sahip bireylerinde daha fazla yan etki görüldüğünü ortaya koydular (62). Eş zamanlı olarak artan glukokortikoid düzeyinin majör depresyon ile ilgili olduğuna yönelik çalışmalar yapılmakta idi. NR3C1 genin rs41423247 polimorfizminin majör depresyon ile ilişkili olduğu da tespit edildi (63). Bu çalışmaları takiben daha da ileriye gidilerek pediatrik akut lenfoblastik lösemi grubunda NR3C1 genin hem sağ kalıma, yan etkilere etkisine ve hastaların tanı aldıkları ilk 1 yıl içinde intihar etme oranlarına etki ettiği gösterildi (64). Hematolojik maligniteler arasında erişkin gruptaki hastalarda NR3C1 ile ilgili henüz çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda sıklıkla steroid kullanmakta olduğumuz MM hastalarında NR3C1 genotiplerine, allelerine, polimorfizmine baktık. Fakat sağlıklı grup ve hasta grup arasında OS ve PFS açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptayamadık.

Çalışmamızda NR3C1 ile eş zamanlı olarak alınan örneklerden uzun zamandır onkogenezis, karsinogenezisteki rolü üzerine çalışmalar yapılmış olan UCP-2 genine yer verdik. UCP-2 mitokondriyal transporter ailesine ait bir proteindir. Genin özellikle enerji homeostazını, termogenezisi, lipid metabolizmasını etkilemesi vücut ağırlına etkisinin ve obezite erken tanısındaki yerinin araştırılmasına neden olmuştur(65). Türkiye'de üniversitemizde yapılmış olan bir araştırmada; 100 obez hasta ve 100 sağlıklı hasta alınmıştır. Homozigot genotip sağlıklılara göre obezitesi olanlarda daha fazla ($p:0.0001$), I/D polimorfizmi aynı şekilde obez hastalarda daha fazla görüldüğü ($p:0.0034$) saptanmıştır. UCP-2 geninin homozigot genotip ve I/D polimorfizminin çocukluk çağı obezitesine ve metabolik hastalıklarda ilişkili olduğu gösterilmiştir (2). 2012 yılında yayınlanmış olan; farklı İspanyol kökenli 3 gruptan oluşan 2367 kişinin dahil edildiği bir çalışmada UCP-2 geninin; TT

genotipin rs660339 ve AA genotipinin rs659366 polimorfizmlerine bakılmıştır. TT ve AA genotipinde olan kişilerin diğer sağlıklı gruba oranla daha obez oldukları, her iki genotipi aynı anda taşıyan kişide ise özellikle belirgin santral obezitenin olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak UCP-2 ekspresyonunun azaldığı kişilerde kişinin ağırlığının kümülatif arttığı gösterilmiştir (66). Son 10-15 yıllık süreç içerisinde UCP -2'nin malignitelerdeki ekspresyonunu değerlendiren çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda UCP-2'nin kanser hücrelerinde fazlaca eksprese edildiği ve ROS üretimini baskılayarak oksidatif stresi hafiflettiği gösterilmiştir (51). Takip eden yıllarda çeşitli malignitelerde genin ekspresyonu, uygulanan kemoterapiye direnç ile ilişkili olup olmadığı ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. 2015 yılında yayınlanmış olan UCP-2 ile pankreas karsinomu arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Bariz bir şekilde pankreas karsinom hücrelerinin normal pankreas dokusundan çok daha fazla UCP-2'ye sahip olduğu gösterilmiştir. Geç evrede tanı alabilen ve prognozu kötü giden bir malignite olan pankreas kanserinde UCP-2 hedeflenerek gene yönelik hedef tedavisi planlanması düşünülmüştür (67). 2017 yılında Osaka Üniversitesi'nde jinekologlar tarafından seroz over adenokarsinomunu tanımlı hastalarla yapılan çalışmada UCP-2'nin platin bazlı kemoterapi rejimlerinde direnç ile ilgili rol oynadığı gösterilmiştir (68). Yine aynı yıl uterin servikal kanserlerin neoadjuvan kemoterapi etkinliğinde UCP-2 geninin etkili olduğuna dair yapılan çalışma yayınlanmıştır (69). UCP-2'nin maligniteler ve metabolik hastalıklar ile olan ilişkisine dair görüldüğü üzere bir çok çalışma yapılmıştır. Henüz hematolojik malignite grubunda benzer şekilde prognoza ya da kemoterapi etkisine, hastalığa yatkınlığa sebep olup olmadığı yönünde çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda bilindiği üzere hematolojik bir malignite olan MM hastalarında UCP-2 gen varyantlarının varlığını tespit etmeyi ve bu sayılan durumlarla ilişkisi olup olmadığını göstermeye çalıştık. Nitekim Tablo 7 ve 8'de görüldüğü üzere UCP-2'nin fonksiyonel gen varyantlarının MM hastaları ve sağlıklı grup arasında genotipler açısından anlamlı farklılık gösterdiği bilgisine ulaşıldı. AA genotipinin MM hastalığına yatkınlık sağladığı, GG genotipinin ise MM hastalığına koruyuculuk sağladığı gösterilmiş oldu.

6. SONUÇ

Multiple myelomaya yatkınlık yada tedaviye cevapta DNA, RNA ve protein çalışmaları ilerledikçe MM'nın moleküler mekanizmalarına ait ayrıntılı bilgilerimiz artacağından hem hastalığın etyopatogenezi hem de OS ve PFS durumuna etkileri gösterilerek, MM'nın klinik evreleme sistemleri daha ayrıntılı analizlerin yapılmasına olanak sağlayacaktır.



7. KAYNAKLAR

1. Morgan GJ, Davies FE, Linet M. Myeloma aetiology and epidemiology. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2002;56: 223–34.
2. Oguzkan-Balci S, Col-Araz N, Nacak M, Araz M, Sabanci H, Balat A, et al. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) gene polymorphisms are associated with childhood obesity and related metabolic disorders. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2013;26:277–83.
3. Hima S, Sreeja S. Regulatory role of estrogen-induced reactive oxygen species in the modulatory function of UCP 2 in papillary thyroid cancer cells. *IUBMB Life.* 2015;67:837–46.
4. Lim HY, Yip YM, Chiong E, Tiong HY, Halliwell B, Esuvaranathan K, et al. Metabolic signatures of renal cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;460:938–43.
5. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin* 2018;68:7–30.
6. Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, Barregard L, Bhutta ZA, Brenner H, Dicker DJ, et al. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups. *JAMA Oncol.* 2017;3:524-548.
7. Coleman EA, Senner JW, Edwards BK. Does multiple myeloma incidence vary by geographic area?. *J Ark Med Socv.* 2008;105:89–91.

8. Mills PK, Newell GR, Beeson WL, Fraser GE, Phillips RL. History of cigarette smoking and risk of leukemia and myeloma: results from the Adventist health study. *J Natl Cancer Inst.* 1990;82:1832–6.
9. Bergström A, Pisani P, Tenet V, Wolk A, Adami HO. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *Int J cancer.* 2001;91:421–30.
10. Egan JB, Shi C-X, Tembe W, Christoforides A, Kurdoglu A, Sinari S, et al. Whole-genome sequencing of multiple myeloma from diagnosis to plasma cell leukemia reveals genomic initiating events, evolution, and clonal tides. *Blood.* 2012;120:1060–6.
11. Lynch HT, Sanger WG, Pirruccello S, Quinn-Laquer B, Weisenburger DD. Familial multiple myeloma: a family study and review of the literature. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:1479–83.
12. Landgren O, Kyle RA, Pfeiffer RM, Katzmann JA, Caporaso NE, Hayes RB, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood.* 2009;113:5412–7.
13. Weiss BM, Abadie J, Verma P, Howard RS, Kuehl WM. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood.* 2009;113:5418–22.
14. Rajkumar S V., Kyle RA, Therneau TM, Melton LJ, Bradwell AR, Clark RJ, et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood.* 2005;106:812–7.
15. Kyle RA, Durie BGM, Rajkumar S V, Landgren O, Blade J, Merlini G, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia.* 2010;24:1121–7.
16. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos M-V, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15:538–48.
17. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Review of

- 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc.* 2003;78:21–33.
18. Cowan AJ, Allen C, Barac A, Basaleem H, Bensenor I, Curado MP, et al. Global Burden of Multiple Myeloma. *JAMA Oncol.* 2018;4:1221.
 19. MacLennan IC, Cooper EH, Chapman CE, Kelly KA, Crockson RA. Renal failure in myelomatosis. *Eur J Haematol Suppl.* 1989;51:60–5.
 20. Knudsen LM, Hjorth M, Hippe E. Renal failure in multiple myeloma: reversibility and impact on the prognosis. Nordic Myeloma Study Group. *Eur J Haematol.* 2000;65:175–81.
 21. Sezer O, Heider U, Zavrski I, Possinger K. Differentiation of monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma using flow cytometric characteristics of plasma cells. *Haematologica.* 2001;86:837–43.
 22. Rasmussen T, Haaber J, Dahl IM, Knudsen LM, Kerndrup GB, Lodahl M, et al. Identification of translocation products but not K-RAS mutations in memory B cells from patients with multiple myeloma. *Haematologica.* 2010;95:1730–7.
 23. Greipp PR, Katzmann JA, O’Fallon WM, Kyle RA. Value of beta 2-microglobulin level and plasma cell labeling indices as prognostic factors in patients with newly diagnosed myeloma. *Blood.* 1988 Jul;72:219–23.
 24. Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer.* 1975;36:842–54.
 25. Greipp PR, Miguel JS, Durie BGM, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, et al. International Staging System for Multiple Myeloma. *J Clin Oncol.* 2005;23:3412–20.
 26. Hari PN, Zhang M-J, Roy V, Pérez WS, Bashey A, To LB, et al. Is the International Staging System superior to the Durie-Salmon staging system, A comparison in multiple myeloma patients undergoing autologous transplant. *Leukemia.* 2009;23:1528–34.

27. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, Lokhorst HM, Goldschmidt H, Rosinol L, et al. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol*. 2015;33:2863–9.
28. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J, Shaughnessy J, Gutierrez N, Stewart AK, et al. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia*. 2009;23:2210–21.
29. Depil S, Leleu X, Micol J-B, Berthon C, Laï JL, Bauters F, et al. Abnormal cytogenetics and significant bone marrow plasmacytosis are predictive of early progression and short survival in patients with low tumor mass asymptomatic multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2004 ;45:2481–4.
30. Mateo G, Montalbán MA, Vidriales M-B, Lahuerta JJ, Mateos M V., Gutiérrez N, et al. Prognostic Value of Immunophenotyping in Multiple Myeloma: A Study by the PETHEMA/GEM Cooperative Study Groups on Patients Uniformly Treated With High-Dose Therapy. *J Clin Oncol*. 2008;26:2737–44.
31. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, Fuzibet JG, Rossi JF, et al. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Français du Myélome. *N Engl J Med* . 1996;335:91–7.
32. Child JA, Morgan GJ, Davies FE, Owen RG, Bell SE, Hawkins K, et al. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2003 ;348:1875–83.
33. Sonneveld P, Schmidt-Wolf IGH, van der Holt B, El Jarari L, Bertsch U, Salwender H, et al. Bortezomib induction and maintenance treatment in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of the randomized phase III HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *J Clin Oncol*. 2012;30:2946–55.
34. Palumbo A, Bladé J, Boccadoro M, Palladino C, Davies F, Dimopoulos M, et al. How to manage neutropenia in multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2012;12:5–11.
35. Lonial S, Boise LH, Kaufman J. How I treat high-risk myeloma. *Blood*.

2015;126:1536–43.

36. Cavo M, Pantani L, Petrucci MT, Patriarca F, Zamagni E, Donnarumma D, et al. Bortezomib-thalidomide-dexamethasone is superior to thalidomide-dexamethasone as consolidation therapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood*. 2012;120:9–19.
37. Myeloma Trialists' Collaborative Group. Interferon as therapy for multiple myeloma: an individual patient data overview of 24 randomized trials and 4012 patients. *Br J Haematol*. 2001;113:1020–34.
38. Cavo M, Rajkumar SV, Palumbo A, Moreau P, Orłowski R, Bladé J, et al. International Myeloma Working Group consensus approach to the treatment of multiple myeloma patients who are candidates for autologous stem cell transplantation. *Blood*. 2011;117:6063–73.
39. Attal M, Harousseau J-L, Leyvraz S, Doyen C, Hulin C, Benboubker L, et al. Maintenance therapy with thalidomide improves survival in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2006;108:3289–94.
40. McCarthy PL, Owzar K, Hofmeister CC, Hurd DD, Hassoun H, Richardson PG, et al. Lenalidomide after Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2012;366:1770–81.
41. Attal M, Lauwers-Cances V, Marit G, Caillot D, Moreau P, Facon T, et al. Lenalidomide Maintenance after Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2012;366:1782–91.
42. Baldomero H, Gratwohl M, Gratwohl A, Tichelli A, Niederwieser D, Madrigal A, et al. The EBMT activity survey 2009: trends over the past 5 years. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46:485–501.
43. Kumar S, Giralt S, Stadtmauer E, Blood JH-, 2009 undefined. Mobilization in myeloma revisited: IMWG consensus perspectives on stem cell collection following initial therapy with thalidomide-, lenalidomide-, or bortezomib. *Blood*. 2009;114:1729-

1735

44. Sezer O, Possinger K, Metzner B, Illiger HJ, Wattad M, Heit W, et al. Correspondence-Optimal CD34+ Cell Dose in Autologous Peripheral-Blood Stem-Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 2000;18:3319-20.
45. Patriarca F, Einsele H, Spina F, Bruno B, Isola M, Nozzoli C, et al. Allogeneic stem cell transplantation in multiple myeloma relapsed after autograft: a multicenter retrospective study based on donor availability. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18:617-26.
46. Dalgaard LT. Genetic Variance in Uncoupling Protein 2 in Relation to Obesity, Type 2 Diabetes, and Related Metabolic Traits: Focus on the Functional -866G>A Promoter Variant (rs659366). *J Obes*. 2011;2011:340241.
47. Baffy G. Uncoupling protein-2 and cancer. *Mitochondrion*. 2010;10:243–52.
48. Echtay KS, Murphy MP, Smith RAJ, Talbot DA, Brand MD. Superoxide activates mitochondrial uncoupling protein 2 from the matrix side. Studies using targeted antioxidants. *J Biol Chem*. 2002;277:47129–35.
49. Pelicano H, Carney D, updates PH-D resistance, 2004 undefined. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. Elsevier. 2004;7:97-110.
50. Fruehauf J, Research FM-CC, 2007 undefined. Reactive oxygen species: a breath of life or death? *Clin Cancer Res*. 2007;13:789-94.
51. Duval C, Nègre-Salvayre A, Dogilo A, Salvayre R, Pénicaud L, Casteilla L. Increased reactive oxygen species production with antisense oligonucleotides directed against uncoupling protein 2 in murine endothelial cells. *Biochem Cell Biol*. 2002;80:757–64.
52. Teshima Y, Akao M, Jones S, research EM-C, 2003 undefined. Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes. *Circ Res*. 2003;93:192-200.
53. Horimoto M, Resnick M, Konkin T, Routhier J, Wands JR, Baffy G. Expression of

- uncoupling protein-2 in human colon cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10:6203–7.
54. Nicolaides N, Galata Z, Kino T, Steroids GC-, 2010 undefined. The human glucocorticoid receptor: molecular basis of biologic function. *Steroids.* 2010;75:1-12.
 55. Yudit M, endocrinology JC-M, 2002 undefined. The glucocorticoid receptor: coding a diversity of proteins and responses through a single gene. *Mol Endocrinol.* 2002;16:1719–26.
 56. Cuzzoni E, De Iudibus S, Bartoli F, Ventura A, Decorti G. Association between BclI polymorphism in the NR3C1 gene and in vitro individual variations in lymphocyte responses to methylprednisolone. *Br J Clin Pharmacol.* 2012;73:651–5.
 57. Liu J, Wan Z, Song Q, Li Z, He Y, Tang Y, et al. NR3C1 gene polymorphisms are associated with steroid resistance in patients with primary nephrotic syndrome. *Pharmacogenomics.* 2018;19:45–60.
 58. Fang S, Li C, Liu X, Chen F, reports HH-S, 2017 undefined. Correlation between polymorphisms of the NR3C1 gene and glucocorticoid effectiveness in patients with pemphigus vulgaris. *Sci Rep.* 2017;7:11890.
 59. Schaapveld M, Visser O, Siesling S, ... CS-E journal of, 2010 undefined. Improved survival among younger but not among older patients with Multiple Myeloma in the Netherlands, a population-based study since 1989. *Eur J Cancer.* 2010;46:160–9.
 60. Sánchez-Vega B, Gandhi V. Glucocorticoid resistance in a multiple myeloma cell line is regulated by a transcription elongation block in the glucocorticoid receptor gene (NR3C1). *Br J Haematol.* 2009;144:856–64.
 61. Heuck CJ, Szymonifka J, Hansen E, Shaughnessy JD Jr, Usmani SZ, van Rhee F, et al. Thalidomide in total therapy 2 overcomes inferior prognosis of myeloma with low expression of the glucocorticoid receptor gene NR3C1. *Clin Cancer Res.* 2012;18:5499-506.
 62. Kaymak Cihan M, Karabulut HG, Yürür Kutlay N, İlgin Ruhi H, Tükün A, Olcay L. Association Between N363S and BclI Polymorphisms of the Glucocorticoid Receptor Gene (NR3C1) and Glucocorticoid Side Effects During Childhood Acute

- Lymphoblastic Leukemia Treatment. *Turkish J Haematol Off J Turkish Soc Haematol*. 2017;34:151–8.
63. Peng Q, Yan H, Wen Y, Lai C, Medicine LS-, 2018 undefined. Association between NR3C1 rs41423247 polymorphism and depression: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97:12541.
 64. Park S, Hong JP, Lee J-K, Park Y-M, Park Y, Jeon J, et al. Associations between the neuron-specific glucocorticoid receptor (NR3C1) Bcl-1 polymorphisms and suicide in cancer patients within the first year of diagnosis. *Behav Brain Funct*. 2016;12:22.
 65. Fur S Le, Stunff C Le, Santos C Dos, Diabetes PB-, 2004 undefined. The common–866 G/A polymorphism in the promoter of uncoupling protein 2 is associated with increased carbohydrate and decreased lipid oxidation in juvenile. *Diabetes*. 2004;53:235–9.
 66. Martinez-Hervas S, Mansego ML, de Marco G, Martinez F, Alonso MP, Morcillo S, et al. Polymorphisms of the UCP2 gene are associated with body fat distribution and risk of abdominal obesity in Spanish population. *Eur J Clin Invest*. 2012;42:171–8.
 67. Donadelli M, Dando I, Pozza ED, Palmieri M. Mitochondrial uncoupling protein 2 and pancreatic cancer: A new potential target therapy. *World J Gastroenterol*. 2015;21:3232–8.
 68. Kawanishi M, Fukuda T, Shimomura M, Inoue Y, Wada T, Tasaka R, et al. Expression of UCP2 is associated with sensitivity to platinum-based chemotherapy for ovarian serous carcinoma. *Oncol Lett*. 2018;15:9923–8.
 69. Imai K, Fukuda T, Wada T, Kawanishi M, Tasaka R, Yasui T, et al. UCP2 expression may represent a predictive marker of neoadjuvant chemotherapy effectiveness for locally advanced uterine cervical cancer. *Oncol Lett*. 2017;14:951–7.

