



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

YENİ TANILI MULTİPL MYELOM HASTALARINDA GELİŞEN NEFROPATİNİN PODOSİTÜRİ İLE İLİŞKİSİ VE TEDAVİYE YANITININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Tolga KUZU

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Saime PAYDAŞ**

ADANA-2018



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

YENİ TANILI MULTİPL MYELOM HASTALARINDA GELİŞEN NEFROPATİNİN PODOSİTÜRİ İLE İLİŞKİSİ VE TEDAVİYE YANITININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Tolga KUZU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Saime PAYDAŞ

**Bu tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri fonu tarafından
TTU-2016-7067 no'lu proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA-2018

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TABLOLAR LİSTESİ.....	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
KISALTMALAR LİSTESİ	v
ÖZET	viii
SUMMARY	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Glomerüler Filtrasyon Bariyeri	2
2.2. Podosit.....	3
2.2.1. Patolojik Olaylarla İlişkisi.....	6
2.3. Proteinüri.....	9
2.3.1. Anormal Proteinüri Patofizyolojisi	9
2.4. Multiple Myelom	11
2.5. Myelom ve Böbrek.....	17
2.5.1. Böbrek Fonksiyon Bozukluğu Nedenleri.....	18
2.5.2. Böbrek Hasarının Mekanizmaları	18
3. GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.1. Hastalar	23
3.2. İdrar Örneklerinin Toplanması.....	23
3.3. İdrarda RNA tayini için hazırlık	23
3.4. RNA izolasyon protokolü	23
3.5. cDNA Yapımı	24
3.6. Real Time PCR Aşaması.....	24
3.7. İstatistiksel analiz:	28
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ	50
KAYNAKLAR	51

EKLER.....	57
Ek 1. Etik Kurul Kararı	57
ÖZGEÇMİŞ	58



TABLÖLAR LİSTESİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 1. LC480 RT-PCR sisteminde yapılacak gen ekspresyon çalışmalarında kullanılacak sıcaklık protokolü.....	25
Tablo 2. Demografik özellikler	29
Tablo 3. Tedavi öncesi ve sonrası biyokimyasal ve hematolojik parametrelerin karşılaştırılması	30
Tablo 4. Hastalarda tedavi öncesi ve tedavinin 6. ayındaki proteinüri, idrar podosit spresifik protein ve podositüri/idrar kreatinin oranlarının karşılaştırılması	33
Tablo 5. Hasta ve kontrol grupları arasında tedavi öncesi değerlerin karşılaştırılması	34
Tablo 6. Hastaların yaşa göre tedavi öncesi proteinüri, podositüri ve podositüri/idrar kreatinin değerleri	35
Tablo 7. Çalışmaya alınan tüm hastaların (n: 27) tedavi öncesi hemoglobin, kreatinin klerensi, serum kalsiyum, kreatinin, total protein, albümin, LDH ve CRP ile proteinüri, podositüri ve podositüri/idrar kreatinin değerleri arasındaki korelasyon	37
Tablo 8. DM varlığına göre tedavi öncesi ve sonrası proteinüri, podosinüri ve podosinüri/idrar kreatinin değerleri	40
Tablo 9. Akut böbrek yetmezliği varlığına göre tedavi öncesi değerlerin karşılaştırılması	41
Tablo 10. Akut böbrek yetmezliği, hiperkalsemi ve proteinüri ile mortalite arasındaki ilişki.....	42
Tablo 11. Remisyon ve refrakter olma durumuna göre ABY ve proteinüri varlığı	42
Tablo 12. Remisyon ve refrakter olma durumuna göre tedavi öncesi podositüri ve podositüri/idrar kreatinin değerleri.....	43
Tablo 13. Hastaların tedavi öncesi proteinüri, podosinüri ve podosinüri/idrar kreatinin değerleri arasındaki korelasyon.....	43
Tablo 14. Hastaların tedavi sonrası podositüri ve podositüri/idrar kreatinin değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. Glomerül filtrasyon bariyeri, elektron mikroskobu	2
Şekil 2. Böbrek cisimciğinin genel yapısı.....	4
Şekil 3. Podosit ayakları çıkıntılarını ve moleküler yapısını gösteren şematik diyagramı	5
Şekil 4. Referans geni (beta-actin) görüntüsü	25
Şekil 5. Target NPHS-1 geninin görüntüsü	25
Şekil 6. Target NPHS-2 geninin görüntüsü	26
Şekil 7. Target VEGF-A geninin görüntüsü	26
Şekil 8. Referans geni (beta actin) görüntüsü	26
Şekil 9. Target NPHS-1 geninin görüntüsü	27
Şekil 10. Target NPHS-2 geninin görüntüsü	27
Şekil 11. Target VEGF-A geninin görüntüsü	27
Şekil 12. Karışık görüntü	27
Şekil 13. Hasta ve kontrol gruplarının yaş dağılımı.....	29
Şekil 14. Hastalarda tedavi öncesi ve sonrası serum total protein değerleri	31
Şekil 15. Hastalarda tedavi öncesi ve sonrası serum albümin değerleri	32
Şekil 16. Hastalarda tedavi öncesi ve sonrası serum kreatinin değerleri	32
Şekil 17. Hastalarda tedavi öncesi ve tedavinin 6. ayındaki proteinüri değerleri	33
Şekil 18. Tedavi öncesi hasta ve kontrol gruplarında proteinüri değerleri	34
Şekil 19. Hasta ve kontrol grupları arasındaki serum kreatinin değerleri.....	35
Şekil 20. Yaşa göre tedavi öncesi proteinüri değerleri	36
Şekil 21. Tedaviden önceki VEGF-A ekspresyonu ile kreatinin klerensi arasındaki ilişki	37
Şekil 22. Tedaviden önceki podosin ekspresyonu ile serum kalsiyum arasındaki ilişki.....	38
Şekil 23. Tedaviden önceki proteinüri ile serum kreatinin arasındaki ilişki	38
Şekil 24. Tedaviden önceki proteinüri ile serum total protein arasındaki ilişki.....	39
Şekil 25. Tedaviden önceki podosin ekspresyonu ile serum total protein arasındaki ilişki	39
Şekil 26. Tedaviden önceki proteinüri ile hemoglobin arasındaki ilişki	40

KISALTMALAR LİSTESİ

ABY	: Akut böbrek yetmezliği
ACE	: Angiotensin converting enzyme
AKIN	: Acute Kidney Injury Network
AMP	: Amplification
ASFA	: American society for apheresis
ASK-1	: Apoptosis signal-regulating kinase 1
Bcl-2	: B cell lymphoma-2
BUN	: Blood urea nitrogen
CDK	: Cyclin dependent kinase
CKD-EPI	: Chronic kidney disease epidemiology collaboration
C-myc	: Onkojenik transkripsiyon faktörünü kodlayan gen
COOL	: Cooling
CRAB	: Hiperkalsemi, renal yetmezlik, anemi, kemik lezyonlarının kısaltması
CRP	: C reaktif protein
cDNA	: Tamamlayıcı (complementer) deoksiribonükleik asit
CD2AP	: CD-2 associatied protein
ÇÜTF	: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Del	: Delesyon
DEN	: Denaturation
DM	: Diyabetes mellitus
ESR	: Erythrocyte sedimentation rate
FISH	: Fluorescent in-situ hybridization
FSGS	: Fokal segmental glomerüloskleroz
GBM	: Glomerüler bazal membran
GFH	: Glomerüler filtrasyon hızı
GKD	: Glomerüler kapiller duvar
HIV	: Human immünyetmezlik virüsü
Ig	: İmmünglobülin
IHMG	: İyi huylu monoklonal gammopati
IMWG	: International myeloma working group

IL	: İnterlökin
KDIGO	: Kidney disease improving global outcomes
KLL	: Kronik lenfosittik lösemi
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LMX1B	: LIM homeobox transcription factor 1-beta
MALT	: Mukoza ilişkili lenfoid doku
MAPK	: Mitogen-activated protein kinase
MCP-1	: Monocyte chemoattractant protein-1
MDRD	: Modification of diet in renal disease
MM	: Multipl myelom
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
Neph-1	: Nephrin like protein-1
NFK-B	: Nükleer faktör kappa-B
NPHS1	: Nefrin kodlayan gen
NPHS2	: Podosin kodlayan gen
OAF	: Osteoklast aktive edeci faktör
PAGE	: Polyacrylamide gel electrophoresis
PBS	: Phosphate buffered saline
PCR	: Polimerize zincir reaksiyonu
Pers	: Persantil
PDGF	: Platelet derived growth faktör
pH	: Power of hydrogen
Pi	: İzoelektrik nokta
Pod1	: Mezodermal hücrelerin embriyonik gelişiminde rol alan protein
PTH	: Proksimal tübül hücreleri
RANK-L	: Nükleer faktör kappa-B reseptör aktivatörü
RIFLE	: Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage kidney disease
RNA	: Ribonükleik asit
RPGN	: Hızlı ilerleyen glomerülonefrit
Rpm	: Rapid per minute
RT-PCR	: Real time polymerase chain reaction
SHZ	: Serbest hafif zincir

SPSS	: Statistical package for the social sciences
TGF	: Transforming growth faktör
TLR4	: Toll-like reseptör 4
TNF	: Tumor necrosis factor
TÖ	: Tedavi öncesi
TS	: Tedavi sonrası
uPAR	: Ürokinaz tip plazminojen aktivatör reseptörü
VD	: Bortezomib + deksametazon
VDT	: Bortezomib + deksametazon + talidomid
VCD	: Bortezomib + deksametazon + siklofosfamid
VEGF-A	: Vasküler endotelyal growth faktör-A
WHO	: World health association
WT-1	: Wilms tümör 1 proteini
X g	: Göreceli santrifüj kuvvetinin birimi

ÖZET

Yeni Tanılı Multipl Myelom Hastalarında Gelişen Nefropatinin Podositüri İle İlişkisi ve Tedaviye Yanıtının Değerlendirilmesi

Amaç: Multipl myelom, post germinal merkez B hücrelerinden köken alan tek bir plazma hücre klonunun proliferasyonu sonucu gelişen malign bir hastalıktır. Hastalığa sıklıkla böbrek fonksiyon bozukluğu eşlik eder. Proteinüri; multipl myelom tanısı alan hastalarda, tanı anında veya hastalık boyunca gelişebilir. Proteinüriye böbrek fonksiyon bozukluğu eşlik etmeyebilir. Multipl myelomda, hafif zincirlerin tübüllerde çökmesi ve tübüler geri Emilimi, hiperkalsemi gibi metabolik bozukluklar nefropatinin en sık nedenidir. Çalışmamızın amacı; yeni tanılı multipl myelomlu hastaların başlangıç ve tedavi sonrası idrarda podosit spesifik proteinleri ölçerek podositüriyi ve hastalığın laboratuvar ve klinik bulguları ile ilişkisini değerlendirmek idi.

Materyal ve Metod: Hasta grubunu, Nisan 2016-Temmuz 2017 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi hematoloji ve onkoloji bilim dallarında takip edilen ve yeni tanılı multipl myelomu olan 27 hasta oluşturdu. Hastaların 7'si çalışmayı tamamlayamadan ölüm nedeniyle kaybedildiğinden 6. ayda değerlendirilememiştir. Kontrol grubuna ise herhangi bir hastalığı olmayan ve ilaç kullanmayan 20 sağlıklı birey alındı. Bilgilendirilen hastalardan istekli olanlar çalışmaya alındı. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik komitesi onamı alındı. Her iki grupta 24 saatlik veya spot idrarda protein atılımına bakıldı. Eş zamanlı olarak sabah ilk idrarları podositüri değerlendirmek için alındı. RNA izolasyon kiti kullanılarak RNA elde edildi. Sonrasında cDNA ile PCR'da spesifik proteinlerin ekspresyonuna bakıldı.

Bulgular: Çalışmamızda hastaların yaş ortalaması $59,63 \pm 10,21$ ve kontrol grubunun yaş ortalaması ise $34,75 \pm 12,07$ idi. Tüm hastalarda proteinüri % 74, böbrek yetersizliği %33 saptandı. Proteinüri; kontrol grubunda median değer 45 mg/gün iken hasta grubunda 725 mg/gün idi ($p < 0,001$). Proteinüri 6. ay sonunda, tanı anındaki değerle kıyaslandığında anlamlı derecede azaldığı görüldü ($p < 0,002$). Buna karşın 6. ay sonunda idrar podosit proteinlerinde tanı anına göre istatistiksel anlamlı olmayan artış görüldü; nefrin, podosin ve VEGF-A için p değeri sırasıyla 0,184, 0,629 ve 0,794 idi. Tedavi öncesine göre tedavi sonrası tüm hastalarda nefrin/kreatinin, podosin/kreatinin ve VEGF-A/kreatinin oranları önemli artış gösterdi ($p: 0,039$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ sırası ile). Nefrin/kreatinin oranı 65 yaş üstü hastalarda artış gösterdi ($p < 0,046$). Tüm podosit proteinleri, kontrol grubu idrarlarında da saptandı. Podosinüri ile serum kalsiyum ve total protein, VEGF-A ile kreatinin klirensi arasında önemli korelasyon bulundu. Tedaviyi tamamlayamadan ölen hastalarda en sık saptanan bulgu böbrek yetersizliği idi ($p < 0,029$).

Sonuç: Yeni tanılı multipl myelomlu hastalarımızda proteinüri % 74, böbrek yetersizliği %33 saptandı. Proteinüride, 6 aylık tedaviden sonra önemli azalma saptandığı halde idrarda podosit proteinlerinden nefrin, podosin ve VEGF-A'da istatistiksel anlamlı olmayan artış görüldü. Böbrek yetersizliği ilk 6 ayda ölen hastalarda daha sık bulundu. Proteinüri ve böbrek yetersizliği myelom tedavisi ile düzelmesine rağmen, podositüride düzelme 6 aylık sürede gözlenmedi aksine

tedavide kullanılan ilaçların veya başka faktörlerin etkisi ile artış gösterdi. Bu nedenle podosit hasarlanması; multipl myelomlu hastalarda erken evrede sadece podosit spesifik proteinlerin idrarda ölçülmesi ile klinik olarak saptanamayabilir veya myelomla ilişkili hafif zincirlerin tübüler hasarlanma yapıcı etkileri renal hasarlanmada daha önemli olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Multipl Myelom, Podositüri, Proteinüri



SUMMARY

The Relationship Between Nephropathy Which is Developed in Newly Diagnosed Multiple Myeloma Patients and Podocyturia and Evaluation of it's Response to Treatment

Objective: Multiple myeloma is a malignant disease that results in the proliferation of a single plasma cell clone originating from post-germinal center B cells. The disease is frequently accompanied by renal dysfunction. Proteinuria; also may be observed in patients receiving multiple myeloma diagnosis, at the time of diagnosis or throughout the disease. Proteinuria may not be accompanied by renal dysfunction. The most common causes of renal damage are precipitation and reabsorbtion of light chains in tubules and metabolic disorders like hypercalcemia. The purpose of our study; to assess the presence of podocyturia with laboratory and clinical findings of the disease by measuring podocyte-specific proteins at the beginning and after treatment of patients with newly diagnosed multiple myeloma.

Material and Methods: This study group consisted of 27 newly diagnosed multiple myeloma patients who were followed in our hematology and oncology clinics between April 2016 and July 2017. Seven patients in this group died before completing our study, so they could not be assessed at 6th month. In addition, 20 individuals who have no any disease and take medications were included for control group. With the informed consent of all participants, the study was approved by the Ethics Review Board at Çukurova University Faculty of Medicine. Urines were collected by both control and study group as 24 hour or spot urine at first in the morning and RNA was isolated by using RNA isolation kit from urine. Then, cDNA was produced and PCR was processed. Podocytes were identified by PCR tagging nephrin, podocyn and VEGF-A and podocyte characteristic mRNA was detected.

Results: Mean age was $59,63 \pm 10,21$ and $34,75 \pm 12,07$ in patients and controls, respectively. Proteinuria was found in 74% and renal failure in 33% of the cases. Median proteinuria was 45 mg in controls and 725 mg in patients ($p < 0,001$). Proteinuria significantly decreased at the sixth month of therapy ($p < 0,002$) while urine podocyte proteins increased not significantly after treatment as compared with the pretreatment levels; p values for nephrin, podocin and VEGF-A were 0,184, 0,629 and 0,794, respectively. Nephrin/creatinine, podocin/creatinine and VEGF-A/creatinine ratios were increased after treatment as compared with pretreatment levels ($p: 0,039$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ respectively). Nephrin/creatinine ratio was also found to be increased after treatment in cases with older than 65 years ($p < 0,046$). All the podocin proteins were detected in controls and there were correlations between podocinuria and serum calcium and total protein and urine VEGF A and creatinine clearance. The most common finding was renal failure in cases dying before the completion of treatment ($p < 0,029$).

Conclusion: Proteinuria and renal failure were detected in 74% and 33% of the patients with newly diagnosed multiple myeloma. At the end of 6 months of treatment, proteinuria statistically significantly decreased while podocin proteins such as nephrin, podocin and VEGF-A increased. Renal failure and proteinuria were found more frequently in cases dying within 6 months. Proteinuria and renal

failure improved with myeloma treatment. However podosit proteins increased after treatment and this may be related with drugs used in these cases or due to other factors. It can be said that podosit damage can not be determined by the measurement of urinary podosit specific proteins in early stage of multiple myeloma or myeloma associated light chains may be more important in tubular damaging effects in renal failure.

Keywords: Multipl Myeloma, Podocyturia, Proteinuria



1. GİRİŞ

Multipl myelom tek bir klondan köken alan plazma hücrelerinin malign proliferasyonudur. Anormal plazma hücreleri (myeloma hücreleri) nin kemik iliğini işgal etmesi, bu hücrelerin monoklonal immünglobülin (M-protein, M-komponent, paraprotein) üretmesi ve diğer ‘normal’ “poliklonal” immünglobülinlerin baskılanması ile artmış kemik yıkımı patofizyolojik mekanizmaları oluşturur. Bunun sonucunda; kemik iliği yetmezliği, kemik ağrıları ve patolojik kırıklar, hiperkalsemi, böbrek yetmezliği, hiperviskozite bulguları ve enfeksiyona yatkınlık gibi myelomun karakteristik klinik bulguları ortaya çıkar. Bu klinik bulgular myelom tanısına götüren en önemli ipuçlarıdır.

Böbrek yetmezliği, tanı sırasında ya da hastalığın gidişi sırasında olguların % 50-80’inde gözlenir. Hafif zincir atılımına bağlı ‘kast’ nefropatisi (myelom böbreği) akut böbrek yetmezliği ile kendini gösterir. Hiperkalsemi, hiperürisemi, amiloid birikimi, infeksiyonlar, myelom hücresi infiltrasyonu ve dehidrasyon patogeneze sorumlu diğer faktörlerdir. Bazen hafif zincir atılımına bağlı tübüler hasar ilk olarak erişkin Fanconi sendromu (tip2 proksimal renal tübüler asidoz) olarak kendini gösterir. Hastalar glukozüri, aminoasidüri ve idrar konsantrasyon yeteneğinde bozulma yönünden izlenmelidirler. M-komponent katyonik olduğundan azalmış anyon açığı ve bunun sonucunda da hiperkloremi gözlenebilir. Buna genellikle pseudohiponatremi eşlik eder. Lambda hafif zincirler böbrek hasarı ve amiloid birikimine daha fazla neden olurlar.

Proteinüri, multipl myelom tanısı alan hastalarda, tanı anında veya hastalık boyunca ve böbrek fonksiyon bozukluğu olmadan da görülebilen bir durumdur. Glomerül veya tübül bütünlüğünün bozulması ile ilişkilidir. Multipl myelomda, hafif zincirlerin tübüllerde çökmesi ve buna bağlı üriner emilim ve böbrek fonksiyon bozuklukları nefropatinin en sık nedenidir. Glomerüler hasar çok sık gözlenmez. Proteinüri, nefropatisi olan hastalarda değişken derecede olmak üzere sık görülmektedir. Bu çalışmanın amacı proteinüri patogenezinde podosit hasarı ve dolayısı ile podositürinin var olup olmadığını yeni tanıli multipl myelomlu hastalarda değerlendirilmiştir.

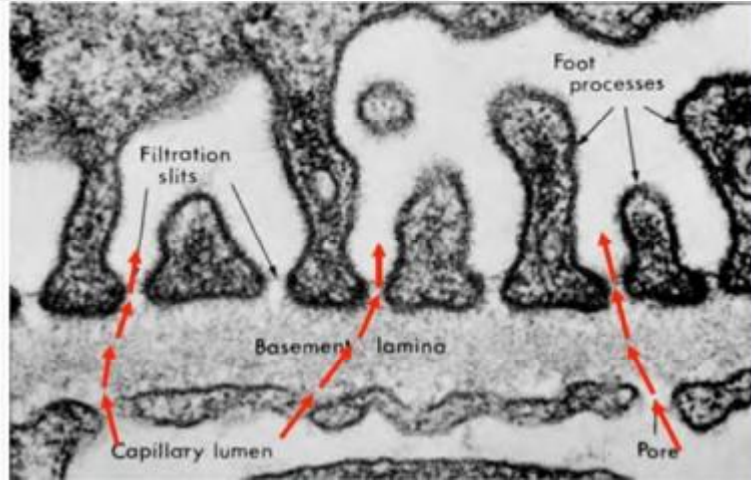
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Glomerüler Filtrasyon Bariyeri

Glomerüler kapiller duvar (GKD), yüksek ultrafiltrasyon kapasitesine sahip bir membrandır. Membran, küçük moleküllere ve suya oldukça geçirgendir; ancak büyük moleküllerin geçişini engeller.¹ GKD; vasküler endotelial hücreler, glomerüler bazal membran (GBM), podositler ve aralarındaki yarık membranlarından oluşur^{1,2} (Şekil 1). GBM ile direkt ilişkide bulunan podositlerin ayakları çıkıntıları komşu hücrelerin ayakları çıkıntıları ile birlikte filtrasyon yarıklarını oluşturur. Bu yarıklar diyafram ile bağlanır.¹⁻³

Glomerüler filtrasyon bariyeri üç tabakadan oluşmaktadır:

- İçte pencereci kapiller endoteli
- Ortada glomerüler bazal membran
- Dışta podosit tabakası



Şekil 1. Glomerül filtrasyon bariyeri, elektron mikroskobu

Moleküller; filtrasyon bariyerinden büyüklükleri, yükleri ve şekilleri doğrultusunda değişik oranlarda geçebilirler.^{4,5} Makromoleküllerin GKD'den filtre olması büyük ölçüde glomerüler bariyerin büyüklük ve yük ayırt etme gücüne göre belirlenmektedir.⁶

Glomerüler filtrasyon, glomerüler podositler arasındaki iyi düzenlenmiş hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimine gereksinim duyar. Podosit-matriks etkileşiminin

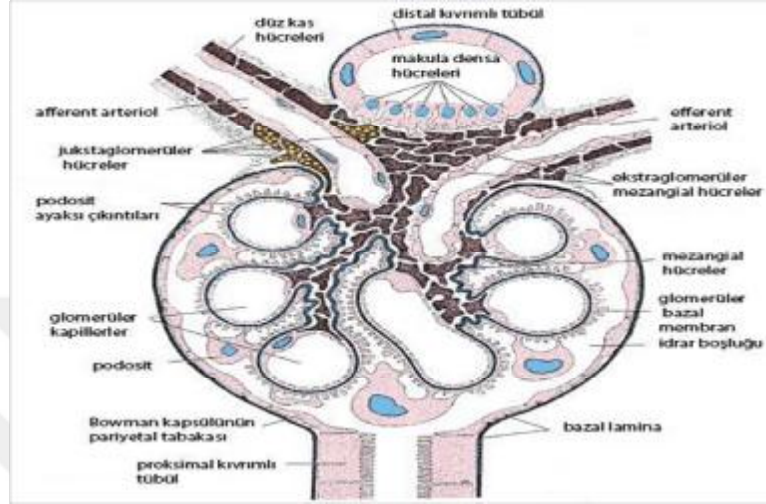
$\alpha\beta 1$ -integrin heterodimerleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.^{7,8} *In vitro* çalışmalar, integrin-matriks etkileşimlerindeki bozukluğun podositlerde ayrılmaya, ayaksa çıkıntılarda büzülmeye ve GBM'de hasarlara yol açtığını göstermiştir. Distroglikan aracılı matriks bileşeninin de ayaksa yapılarının oluşumunda kritik bir rol oynadığı bilinmektedir.⁷

Yarık membranının ana komponentleri nefrin; NPHS1 gen ürünü, podosin; NPHS2 gen ürünüdür. GBM, fibrillerden oluşan bir ağ şeklindedir; temel yapısını tip IV kollajen, nidogen, laminin, heparan sülfat gibi proteoglikanlar oluşturur.⁹ İç içe geçen fibriller, ufak delikli bir filtre işlevi gören fonksiyonel porlar içerir. GBM, büyüklük seçici bariyerin en önemli kısmını oluşturmasına karşın; son yıllarda yapılan çalışmalar, podositlerin ayaksa çıkıntılarının arasını kapatan yarık membranı üzerinde yoğunlaşmaktadır. Podositler, glomerüler filtrasyon bariyerinin en dış kısmını oluşturarak glomerüler kapilleri tarak dişleri şeklinde sarar. Yarık membranı, ayaksa çıkıntılarının birbiri ile ilişkisini sağlar. Filtrasyon delikleri içeren bir köprü olan yarık membranı, GBM ile yakın ilişkili bir membrandır; glomerül filtrasyon bariyerinin biyolojik aktif bileşenidir. Günümüzde yarık membranının moleküler yapısı ve fonksiyonu ile ilgili çalışmalar sürmektedir. Yarık membranında varlığı gösterilen proteinlere (nefrin, CD2AP, podosin, NepH-1) her gün bir yenisi eklenmektedir.^{10,12}

2.2. Podosit

Podosit olarak da adlandırılan glomerüler visseral epitelyal hücreler, glomerüler bazal membranın dış yüzünü kaplayan oldukça özelleşmiş hücrelerdir (şekil 2). Podositler uzantılı hücrelerdir.¹¹ Yuvarlak bir çekirdek çevresinde yer alan sitoplazmik organeller içeren hücre gövdesinden 3-6 adet primer uzantılar çıkar. Bu yapılar daha sonra çok sayıda sekonder çıkıntılara dallanır. Sekonder çıkıntılar daha küçük dallara ayrılabilirler. Podositlerin kapillerler üzerinde sonlanan ayaksa çıkıntılarına “pedisel” adı verilir. Pedisellerin aralarında 20-25 nm genişliğinde filtrasyon yarıkları bulunur. Filtrasyon yarıkları ince bir filtrasyon yarık membranı ile örtülüdür. Filtrasyon yarıkları, proteinlerin büyüklüğüne göre seçici bir bariyer olarak rol oynamaktadır. Pediseller; aktin, miyozin, α -aktinin, vinkülin, paksillin ve talin gibi kontraktıl moleküller içermektedir. Bunlar $\alpha\beta 1$ -integrin kompleksi ile glomerüler bazal membranla ilişki

kurarlar. Podositler, glomerüler filtrasyon bariyeri boyunca büyüklüğe ve negatif yüke bağlı olan geçirgenliğe katkıda bulunurlar. Podositler ve ayaklı çıkıntıların yüzeyleri negatif yüklü siyaloproteinlerle kaplıdır. Bu güçlü negatif elektrik yükü, ayaklı çıkıntıların birbirine yapışmasını da engellemiş olur.¹²



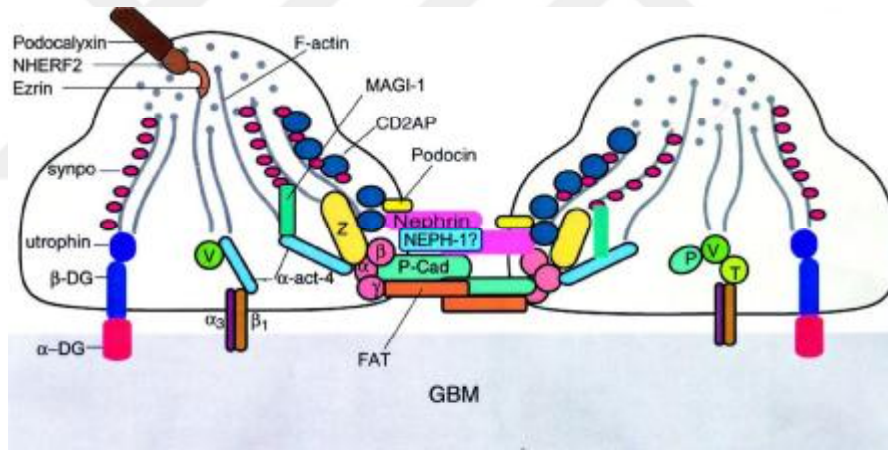
Şekil 2. Böbrek cisimciğinin genel yapısı

Podositlerin hücre iskeletini oluşturan aktin bağımlı proteinlerden olan sinaptopodin az miktarda sinir sistemi hücrelerinde de bulur. Sinaptopodin, filtrasyon yarık membranlarının oluşmasında önemli bir role sahiptir. Podositlerin glomerüler bazal membranda bulunan Tip IV kollajen, laminin, entaktin ve agrin gibi matriks moleküllerini sentezledikleri bilinmektedir. Podositler birçok zararlı ajanın hedefidir. Son çalışmalar, podositlerin glomerüler hasarda anahtar rolü oynadığını göstermektedir. Podositler glomerüllerin proteinlere karşı seçici geçirgenliğini belirleyen hücrelerdir. Podosit hasarı veya kaybı proteinüri ile sonuçlanmaktadır. Hasarlayıcı ajan ne olursa olsun podosit kaybı glomerüloskleroza yol açar. Podositler; membranöz glomerülofrit, diabetes mellitus ve lupus nefriti gibi pek çok glomerüler hastalıkta hasar görmektedir.^{11,12}

Olgun podositler oldukça farklılaşmış hücrelerdir. Normalde bölünme yeteneğine sahip olmayan bu hücreler herhangi bir hasara yanıt olarak mitoz bölünmeye girebilirler. Human immün yetmezlik virüsüne (HIV) bağlı nefropati, idiyopatik glomerülopati gibi durumlarda podositlerin hasar gördüklerinde proliferasyon gösterilmiştir.¹³ Proliferasyon; siklinler, siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve inhibitörleri

gibi hücre siklusu proteinleri ile düzenlenmektedir. Podositler; p27, p57 gibi sikline bağımlı kinazları da exprese etmektedir.¹⁴ Podositler, WT1 (Wilms tümör protein) ve nefrin gibi podosite özgü pek çok molekülü exprese etmektedir. Bunlardan dikkat çekenler WT1, Lmx1b, Pod1 ve *Kreisler* transkripsiyon faktörleridir.¹⁵ WT1, böbrek gelişiminin başlangıcında metanefrik mezenşimde exprese edilir.¹²

Podositlerin hücre iskeletini oluşturan proteinlerden synaptopodin; podositlerde ve az miktarda, sinir sistemi hücrelerinde bulunan aktin bağımlı proteindir. Alfa-aktininin bir izoformu olan α -aktinin 4 de podositlerde exprese edilmektedir.¹⁶ Podositler, glomerüler gelişim potansiyelini etkileyen VEGF-A ve anjiyopoietin-1 gibi büyüme faktörlerini exprese ederler. Bunlar glomerüler kapillerlerin gelişimini etkilemektedir.^{17,18} VEGF genellikle kapiller gelişimin uyarılmasında, anjiyopoietin-1 ise kapillerlerin yeniden oluşmasında ve olgunlaşmasında rol alırlar^{18,19} (Şekil 3).



Şekil 3. Podosit ayakları çıkıntılarını ve moleküler yapısını gösteren şematik diyagramı

Podositler son derece önemli fonksiyonlara sahiptir:

1. Glomerüler kapillerlere yapısal destek sağlar. Geniş bir aktin hücre iskeletine sahip olan podositler, kasılabilir düz kas hücre özellikleri ile epitelyal ve mezenkimal hücreler arasında yer alan bir fenotipe sahiptir.
2. Glomerüler seçiciliği düzenler. Gerek kalıtsal gerekse sonradan ortaya çıkan podosit hasarlarında, proteinürinin önlenmesinde podositlerin ve özellikle slit diyaframın (filtrasyon yarıkları) önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Podositler,

glomerüler filtrasyon bariyerini tıkayabilecek olan immünglobülin ve proteinleri uzaklaştırarak glomerüler filtrasyon bariyerini korur.

3. Glomerüler bazal membranın yeniden modellenmesine katılır. Glomerüler bazal membranın temel komponenti tip IV kolajendir. Fetal gelişim esnasında glomerüler endotelyal hücreler tarafından salgılanan $\alpha1\alpha2\alpha1$ ağı, doğumdan sonraki erken evrede podositler tarafından salgılanan ve daha dirençli olan $\alpha3\alpha4\alpha5$ ağı ile yer değiştirir. Bu ağın salgılanmasında ortaya çıkan bozukluk; Alport sendromu, Nail-Patella sendromu, ince bazal membran hastalıkları gibi kollajen tip IV kolajenopatiler olarak da adlandırılan kalıtsal nefropatlere yol açar. Podositler aynı zamanda diğer glomerüler bazal membran komponentlerini üretirler. Bu hücreler, proinflatuar ve antifibrotik faktörleri dengeleyerek glomerüler bazal membranının döngü ve bütünlüğünün sürdürülmesine katkıda bulunur.
4. Diğer glomerüler hücrelerle işbirliği yapar. Podositler diğer glomerüler hücrelerden bazal membran ile ayrılmasına rağmen, normal fonksiyonlarını sürdürebilmek için glomerüler endotel hücreleri ve mezangial hücrelerle etkileşir. Podositler tarafından sentezlenen vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), glomerüler bazal membranı geçerek endotel hücrelerinde bulunan VEGF reseptörüne bağlanır. Bu şekilde düzenli pencereci endotel hücrelerin devamlılığı sağlanır.
5. İmmünolojik fonksiyonlarda rol alır. Podositlerin, Bowman aralığında anormal protein varlığında rol oynayan doğal immün sistemin bileşeni olduğu düşünülmektedir. Toll like reseptör 4 (TLR4) eksprese ederek kemokin üretimini uyarırlar.¹⁷

2.2.1. Patolojik Olaylarla İlişkisi

Son çalışmalar, podositlerin glomerüler hasarda anahtar rolü oynadığını göstermektedir. Podositler, böbrekteki proteinler için glomerüler seçici geçirgenlikten sorumlu olan özelleşmiş hücreler oldukları için podosit hasarı veya kaybı proteinüriye neden olmaktadır.²⁰⁻²² Proteinüri, filtrasyon yarığında ve iskelet yapısında bozulmaya neden olmaktadır.^{23,24} Son 15 yılda yapılan genetik çalışmalarda nefrin, podosin,

fosfolipaz C ve koenzim Q10 kodlayan genlerdeki mutasyonlar proteinüriyi ortaya çıkarmaktadır.²⁵

Podositlerin en şaşırtıcı özelliklerinden biri de, yarık membranını oluşturabilme yetenekleridir. Yarık membranı proteinleri podosit biyolojisi, proteinlerin seçici geçirgenliği, hücre sinyali ve hücre hasarında önemli bir rol oynamaktadır.²⁰⁻²² Podosit gen değişimleri (nefrin, podosin, α -aktinin), podosit membran antijenlerine karşı oluşan antikorlar, hemodinamik değişiklikler (diyabet gibi), toksinler (steroid dışı antiinflamatuvar ilaçlar), infeksiyonlar (HIV) podositlerde hasar oluşturabilmektedir.²⁶

Glomerüler hastalıklarda dekolman, apoptoz ve proliferasyon olmak üzere üç temel podosit değişikliği tanımlanmıştır. Sinyal kaskadlarındaki bu aksaklıkların patolojik değişimlere neden olduğu gösterilmiştir. p38 mitojen aktif protein kinaz ve transforme edici büyüme faktörü β 1'in aktivasyonu podosit apoptozuna neden olur. Fosfoinozitol 3-kinaz ise podositleri apoptozdan korur.²⁷ Böbrek hasarı ne olursa olsun, podosit kaybı glomerüloskleroz ile sonuçlanmaktadır.⁴ Nefrin, podosin, α -aktinin gibi podosit proteinlerini kodlayan genlerdeki değişimlerin doğumsal ve ailevi nefrotik sendromlarından sorumlu olduğu gösterilmiştir.¹¹ NPHS1'deki mutasyonlar konjenital nefrotik sendroma (Fin tipi), NPHS2'deki mutasyonlar ise fokal segmental glomerüloskleroza (FSGS) yol açmaktadır.²⁷

Podositlerin diyabetik nefropatinin erken evrelerinde fenotipik değişikliklere uğradığı gösterilmiştir.²⁸ Ayrıca, klinikte *bucillamine* ile yapılan tedavi çalışmalarında böbreklerde proksimal tübül hasarı ve podositlerin ayakçıklarında kayıp gözlenmiştir.²⁹ *In vitro* çalışmalarda anjiyotensin-II'nin podosit apoptozunda artışa neden olduğu gösterilmiştir. Anjiyotensin-II infüzyonu sıçanlarda hipertansiyon ve proteinüriye yol açar. Anjiyotensin-II infüzyonu yapılan sıçanlarda yarık diyaframında daralma gözlenmiştir.²⁹

Hasarlanma durumlarında podositlerde şekil ve fonksiyonun kaybedilmesi, hipertrofi, apoptoz veya nekroz gibi çeşitli hücresel değişiklikler gözlenir.³⁰ Renal hasara bağlı olarak oluşan bu sonuçlara karşı hücre siklusu seviyesinde bazı düzenlemeler yapılmaktadır. Pozitif regülatörler (siklinler ve siklin bağımlı kinazlar) ve negatif regülatörler (siklin bağımlı kinaz inhibitörleri) hücre siklusunu koordine etmektedir. Yeni çalışmalar, podositlerdeki hücre siklusu regülatuar proteinleri üzerinde yoğunlaşmaktadır.³⁰

Podosit proteinlerinin idrarda gösterilmiş olması ile birlikte, klinikte kullanımı yönünden farklı hasta gruplarında kontrollü çalışmalar yapılmış ve glomerüler hasarla giden bazı hastalıklarda varlığı gösterilmiştir. Preeklampsili hastalarda, hastalığın aktivasyonu ile idrarda podosit proteinleri varlığının ilişkili olduğu kanıtlanmıştır.³¹ Podosit protein tayininin, preeklampsili kadınlarda tanısal anlamda proteinürinin ve serumda anjiojenik faktörlerin ölçümünden daha avantajlı olduğu belirtilmiştir.³² Başka bir çalışmada; proteinürisi olmayan ve normotansif ancak podositürisi olan gebelerde, ilerleyen dönemde preeklampsisi görülme riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir.³³ Yine de preeklampsili kadınlarda erken biyomarkör olarak kullanılmasının doğru olmadığı ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır. Podosit proteinlerinin konu üzerindeki faydasını göstermeye yönelik başka bir çalışmada; ikinci ve üçüncü trimester preeklampsili kadınlarda podosit proteinlerinin hastalıkla ilgili sensitivite ve spesifitesi % 38 ve % 40 saptanmıştır.³⁴

Sugimoto tarafından yapılan deneysel çalışmada, tek doz intravenöz anti-VEGF antikorı enjeksiyonunun ağır proteinüriyle seyrettiğini ve bunun glomerül hücrelerinde ayrılma ve proliferasyonu nedeniyle olduğunu; bu değişikliklerin glomerül filtrasyon bariyerinde görevli ‘nefrin’ isimli podosit proteininde down-regülasyonla ilişkili olduğunu göstermiştir.³⁵

Fabry ve Alport Sendromu gibi hereditör hastalıklarda da podositüri incelenmiştir. Bu hastalıklara sahip hastaların bazı renal tutulumu olmayan (proteinüri, böbrek yetmezliği gibi) ancak mutasyon taşıyan akrabalarında podositüri tespit edilmiştir.³⁶ IgA nefropatisi (Berger Hastalığı), diyabetik nefropati, lupus nefriti, membranöz nefropati, RPGN, şiddetli hipertansiyon gibi diğer glomerülopatilerde de podositüri gösterilmiştir. Tüm hasta gruplarında, podositüri miktarı ve proteinüri arasında anlamlı ilişkinin varlığı mevcuttur. IgA nefropatili olgular üzerinde yapılan bir çalışmada aynı zamanda renin-anjiyotensin-aldosteron sistem blokajı yapılmış olmasına rağmen podositürinin ve renal fonksiyonlarda bozulmanın devam ettiği gözlenmiştir.³⁷ Bu konuda podositüriyi azaltmak veya önlemek için yeni seçeneklere ihtiyaç duyulmaktadır. Güncel yayınlarda, erken tanı almış IgA nefropatili bir olguda bol miktarda podositüri saptanmış ve immünsüpresif tedavi ile amilorid kullanarak podositüri ve proteinürinin azaldığı ve böbrek fonksiyonlarının iyileştiği gösterilmiştir.³⁸ Bunun uPAR sentezinde ve integrin subünitlerinde amiloridin baskılayıcı etkilerinin olduğu düşünülmektedir.³⁸

Podosit dekolmanı sadece proteinüri ile ilişkili değildir; aynı zamanda progresyon sürecini de belirler ve kliniğin progresyonu için tedaviye ve ilerleme riskine rehberlik etmek için faydalı ilave bilgi sağlayabilir.³⁹ Podositlerin kütlesi düşük olduğunda, proteinüri artışının ve buna paralel böbrek fonksiyonlarında düşüşün aksine, podositüri azalacaktır.³⁶

2.3. Proteinüri

İdrarla ekskrete edilen total protein, sağlıklı olgunlarda 60-100 mg/gün kadardır. Sağlıklı erişkinlerin % 95'inden fazlasında, ekskrete edilen protein miktarı günlük 135 mg'nin altındadır. Çocuklarda, adölesan ve gebelerde üst sınır 200 mg/gün olarak kabul edilir. Erişkinde 3,5 gr/gün/1.73 m² veya çocukta 40 mg/saat/m² üzerinde ise nefrotik düzeyde proteinüri olarak tanımlanır. Subnefrotik proteinüri 0,2-3,5 gr/gün/1,73 m² sınırları arasındadır. Aşıkâr proteinüri genellikle, rutin tarama yöntemleri kullanarak saptanabilen düzey olarak tanımlanır; genel olarak 300-500 mg/gün sınırı kabul edilir. Rutinde saptanabilen bu sınırın altında, düşük düzeylerdeki, çoğunluğunu albüminin oluşturduğu protein atılım değerleri (30-300 mg/gün) mikroalbüminüri olarak tanımlanır.⁴⁰

Nefrotik düzeydeki proteinüri, altta yatan patolojinin her zaman olmasa bile sıklıkla bir glomerül hastalığı olduğunu düşündürür.⁴¹

2.3.1. Anormal Proteinüri Patofizyolojisi

4 farklı patofizyolojik mekanizmaya bağlı olarak proteinüri ortaya çıkar⁴⁰:

1. Glomerüler proteinüri: Glomerül kapiller duvarının seçici geçirgenliğinin bozulması sonucu, plazma proteinlerinin anormal yüksek miktarda filtre edilip tüp lümenine geçmesi sonucu ortaya çıkar. Tübüler maksimal reabsorbsiyon kapasitesi çabucak doygunluk noktasına gelir, böylece idrarla atılan protein anormal yüksek boyuta ulaşır. Geri emilim süreci sırasında, bazı plazma proteinleri tübüler transportu takiben intakt olarak sistemik dolaşıma iade edilirken, bazıları ise degradasyonu takiben peptidler veya küçük polipeptidler şeklinde atılır.

İki alt grubu vardır: Selektif ve selektif olmayan proteinüri. Selektif proteinüride, albümin ve diğer düşük molekül ağırlıklı (transferrin gibi) proteinlerin ekskrete edilmesi söz konusudur. Minimal lezyon hastalığı çok iyi bir örnektir. Glomerül bariyerinin elektriksel yük seçici geçirgenliğinin artmasının bir sonucu olarak selektif proteinüri ortaya çıkar. Non-selektif proteinüride albümin yanısıra globülinlerin ve diğer yüksek moleküler ağırlıklı proteinler ekskrete edilir. Glomerüllerde yapısal hasar oluşturan önemli hastalıklarda görülür.

2. Tübüler proteinüri: Normal veya anormal filtre edilmiş bulunan proteinlerin yetersiz reabsorbsiyon ve geri kazanımı sonucu ortaya çıkar. Glomerüler ve tübüler proteinüri, özellikle tübülointerstisyel hasarın bir primer glomerül hastalığını komplike etmesi halinde birlikte bulunabilir. İzole tübüler proteinüri, genellikle proksimal tüp fonksiyonunun kalıtsal veya edinsel bir defekti sonrası ortaya çıkar (örnek: *Fanconi* sendromu).

Proteinüri içeriğini elektroforezde alfa ve beta bandına lokalize proteinler oluşturmuştur. Albümin de hemen değişmez şekilde mevcuttur. Albümine göre artmış miktarda olan beta-2 mikroglobülin ekskresyonu tübüler proteinürinin karakteristiğidir. Ekskrete edilen protein miktarı genellikle subnefrotik olup 200-2000 mg/gün aralığındadır. Tübüler proteinlerin saptanabilmesi için proteinlerin büyüklük, elektriksel yük (elektroforez, jel filtrasyonu), immünoşimik özellikler (immünofiksasyon, immünoelektroforez) temelinde birbirlerinden ayırt edilmesini sağlayan yöntemlerin kullanılması gereklidir.

3. Taşma türü proteinüri: Normal glomerül kapillerlerinden süzülen düşük molekül ağırlıklı proteinlerin proksimal tübül tarafından eksiksiz reabsorbe veya degrade edilememesi sonrası ortaya çıkar. Anormal filtrasyon, söz konusu proteinin büyüklük, şekil veya elektriksel yükünde filtrasyonu kolaylaştırıcı şekilde değişiklik olmuş formunun konsantrasyonunun artması sonucu ortaya çıkar. Serbest hemoglobin, miyogloblin, monoklonal immünglobülin fragmanları (hafif zincirler) taşma türü proteinüriye verilecek örneklerdendir. Ekskrete edilen protein miktarı, eserden nefrotik sınırı aşabilen düzeylere kadar değişiklik

gösterir. Ortaya konmaları için idrarın elektroforetik, immünoşimik ve spektrofotometrik yöntemlerle tetkiki gereklidir. Monoklonal hafif zincirler en iyi immünoşimik (immünfiksasyon) yöntemlerle saptanabilir.

4. Doku kökenli proteinüri: Genellikle üriner yolu ilgilendiren inflamatuvar ve neoplastik süreçlerle ilişkilidir. Nadiren 500 mg/gün'ü aşar.⁴⁰

Bazı hastalıklarda yukarıdaki proteinüri mekanizmalarından birden fazlası birlikte bulunabilir; FSGS gibi glomerüler hastalıklar, proksimal tübül hasarına bağlı tübüler proteinüriye yol açabilir. Taşma proteinüri ile renal hasar yaptığı bilinen multipl myelomada, glomerüler hasar yaparak glomerüler proteinüriye yol açabilir (amiloidoz).⁴²

2.4. Multiple Myelom

Bir neoplastik klonun ürettiği tek tip antikor ya da antikor hafif veya ağır zinciri olarak tanımlanan M protein (monoklonal gammopati-paraprotein) aşırı üretimine yol açan plazma hücrelerinin malign hastalığıdır.⁴³ Ancak atipik lenfoproliferasyonlarda da M proteini saptanması mümkün olabilmektedir:

1. Plazma Hücre Neoplazileri
2. Hodgkin Dışı Lenfoma
 - a. Lenfoplazmositik Lenfoma
 - b. Kronik Lenfositik Lösemi/Küçük Lenfositik Lenfoma
 - c. MALT Lenfoma
 - d. Splenik ve Nodal Marjinal Zon Lenfoma
 - e. Saçlı Hücreli Lösemi
 - f. Alfa Ağır Zincir Hastalığı (MALT Lenfoma varyantı)
 - g. Gamma Ağır Zincir Hastalığı (Lenfoplasmositik Lenfomaya benzer)
 - h. μ Ağır Zincir Hastalığı (KLL'ye benzer)
3. Atipik Lenfoproliferasyonlar
 - a) Esansiyel Mikst Kriyoglobülinemi (bazen)
 - b) Kronik İdiopatik Soğuk Aglütinin Hastalığı (bazen)

M proteini ile seyreden bütün hastalıklarda bir iyi huylu monoklonal gammopati (İHMG) aşaması söz konusudur. Bu durumda hastada sadece paraprotein vardır. Bunun dışında herhangi bir hastalık belirtisi veya bulgusu yoktur. İHMG, 50 yaş üstü popülasyonda % 1-2 oranında rastlanabilen bir bulgudur. Bu kişiler izlendiklerinde yılda yaklaşık % 1 ihtimalle plazma hücre neoplazileri ya da daha seyrek olarak lenfoproliferatif hastalıklar geliştirmektedirler.^{43,44}

B lenfositler, bir plazma hücre progenitörüdür. Bunların aşırı çoğalması sonucu klonal bir hücre popülasyonu oluşur. Bu hücre topluluğu monoklonal gammopati oluşumuna neden olur. Öncü plazma hücrelerinin somatik mutasyonu sonucu IgG ve IgA monoklonal gammopatisi oluşurken, postgerminal merkez lenfositlerin mutasyonu sonucu IgM tipi monoklonal gammopati oluşur. IgG ve IgA tipi monoklonal gammopatiden myelom, IgM tipi monoklonal gammopatiden ise Waldenström Makroglobülinemisi gelişir. Oluşan bu klondan salgılanan monoklonal Ig'ler, hiperkalsemi, litik lezyonlar, renal yetmezliğe neden olmaz. Kemik iliğinde hücrelerin çoğalmasını ve olgunlaşmasını engellemez.⁴⁵

M proteinleri sıklıkla direkt hastalık yapıcı proteinlerdir. Plazma viskozitesini artırarak hiperviskozite sendromuna, organlarda amiloid denilen fibriller şeklinde birikerek organ fonksiyon bozukluklarına, glomerüllerde birikerek nefrotik sendrom ve böbrek yetmezliğine ve çeşitli mekanizmalarla periferik nöropatiye, kanama eğilimine, soğuk aglütininin hastalığına ve kriyoglobülinemik vaskülitte yol açabilirler.

M proteinleri serum elektroforezinde sıklıkla beta-gamma arasında, dar tabanlı, keskin kenarlı, düzeyine bağlı olarak yüksek zirve oluşturan bir band örneğini gösterir. Bun 'M bandı' adı verilir ve bu özellikleri ile de geniş tabanlı, zirve yapmayan, heterojen poliklonal yapıdaki normal globülin artışından ayrılır.⁴⁶

Paraproteinemilerde monoklonal immünglobülin dışındaki normal-poliklonal immünglobülinlerin düzeyinde bir azalma bulunuyor ise bu immün paralizi olarak isimlendirilir ve bazı kaynaklarda bu durum ayırıcı tanı ve tedavi değerlendirmelerinde gamopatinin malign karakterine işaret eden yardımcı bir bulgu olarak kabul edilir.

Paraproteinlere bağlı bulgular:

- Hiperviskozite, krioglobülinemi ve hipervolemiyle bağlantılı kan akım bozuklukları: *Raynaud* fenomeni

- Eritrositlere karşı soğuk aglütinin aktivite gelişimi: Anemi
- Fibrinojen ve bazı diğer plazma faktörleri, trombositler ile kompleks oluşturma: Kanama bozuklukları
- Hafif zincir fibrilleri ile amiloid oluşumu ve bağlantılı: Farklı sistemlerde gelişen nörolojik, renal bulgular olarak özetlenebilir.⁴⁶

MM; Amerika verilerine göre tüm kanserlerin %1'ini ve hematolojik malignitelerin %10'undan fazlasını oluşturur. Yaşa göre düzeltilmiş yıllık insidansı 100.000'de 7 civarındadır. En sık izlenen hematolojik neoplazidir.⁴⁴ Hemen her coğrafi bölgede görülmekle birlikte Meksika'da ve Uzak Doğu'da daha az; Avrupa'da, siyahlarda, Afrikalılar'da daha sık görülmektedir. Siyahlarda, beyazlara oranla 2 kat daha fazla görülmektedir. Erkek kadın oranı: 1.4/1'dir. Ortalama yaş 66'dır, hastaların % 2'si 40 yaşın, % 10'u 50 yaşın altındadır.^{46,47}

MM etiyolojisi bilinmeyen bir hastalıktır. Diğer malignitelerde olduğu gibi radyasyon, diyet, hormonal faktörler, çevre, meslek ve öncü medikal problemler ile ilişkilendirilmek istenmiş; fakat yapılan çalışmalarda MM için kesin bir risk bulunmamıştır. İHMG'nin MM'ye dönüşme riskinin çok yüksek olduğu bilinmesine rağmen bunun altında yatan etyolojik nedenler ise bilinmemektedir.^{48,49}

MM'de sabit bir onkojen ile bağlantı saptanmasa da büyüme uyarını yokluğunda hücreleri ölüme götüren c-myc ekspresyon bozukluğunun ölümsüz plazma hücreleri yaratılmasında ve immünglobülin ağır zincir translokasyonunda; bcl-2'nin lenfoid ve IL-6'nın da plazma hücre apoptozunu önlemede ve proliferasyonunda önemli etkileri bildirilmektedir.⁴⁶

MM'de ilik stromal hücreleri, osteoklastlar dâhil myelom hücreleri için bir büyüme faktörü olan IL-6 yaparlar. Normalde IL-6, B hücre proliferasyon ve diferansiasyonunu oluşturarak terminal plazma hücrelerine farklılaşmayı sağlarken; myelom hücreleri için hem sağkalım faktörüdür hem de farklılaştırıcı etkisi olmadan yalnızca proliferasyon oluşturur. İlikte biriken myelom plazma hücreleri osteoklastlarla kemiklerde destrüktif etki gösterir. Osteoklastik kemik rezorbsiyonunun myelom hücreleri % 20'yi aşınca geliştiği belirtilir. IL-6 ilik hücrelerinden TGF alfa ve OAF (osteoklastları aktive edici faktör) ve bunların yapımını uyaran sitokin salınımını artırır. Bunlar da stroma hücrelerinden NFK-B ligand reseptör aktivatörü (RANK-L) yapımını

uyarırlar. RANK-L'nin osteoklast prekürsörlerindeki reseptörü RANK'a bağlanması osteoklast proliferasyonunu; onlar da kemik rezorbsiyonu ve hiperkalsemiyi oluştururlar. Ayrıca TGF, lenfosit fonksiyonlarını baskılayarak myelomdaki immün yetmezlikte de rol oynar.⁴⁶

MM çoklu organ tutulumu ile giden hematolojik malignitedir. Hastalar zengin klinik bulguları nedeniyle birçok bölüm tarafından değerlendirilir ve tanı alırlar. Litik lezyonlara bağlı kemik ağrısı ve patolojik kırıklar hastalığın en sık belirtileridir.⁵⁰⁻⁵² Anemiye bağlı semptomlar, immün sistem yetmezliği nedeniyle sık tekrarlayan ve sepsise yol açan solunum ve idrar yolu enfeksiyonları yine hastalığın en önemli belirtileridir.⁵¹⁻⁵³ Spinal vertebra kırıkları sonucu gelişen pleji ve nöropatiler hastalığın diğer sık başvuru nedenlerindendir. Hastalar, hastalığın çeşitli böbrek lezyonlarına yol açması sonucunda farklı ağırlıkta böbrek yetersizliği tablosunda nefroloji veya üroloji bölümlerine başvururlar. Çeşitli elektrolit bozuklukları yine hastaların değerlendirilme nedenleridir.⁵³

Hasta sayısı 1027 olan bir myelom grubunda en sık izlenen belirti ya da bulgular artmış eritrosit sedimentasyon hızı, semptomlu veya semptomsuz anemi ve/veya kemik lezyonları, kilo kaybı, böbrek fonksiyon bozukluğu, hiperkalsemi ve hemostaz bozuklukları olmuştur.⁵⁰⁻⁵⁶

Birçok araştırmacı veya çalışma grubu, MM ve öncülleri için tanı kriterleri geliştirmiştir; ancak en iyi bilineni *Durie-Salmon* kriterleridir.

Bu kriterlere göre ilikte plazma hücre oranı <% 10 ve M proteini IgG için <3,5 g/dl, IgA için <2 g/dl, *Bence Jones* proteinürisi için ise <1 g/dl ise tanı İHMG'dir. Bu sınırların üstündeki hastalık ise myelomdur. Bu sınıflamada MM kriterlerini karşılayan, ancak ciddi boyutta anemi, kemik bozukluğu, hiperkalsemi veya renal yetersizlik yaşamayan hastalar *smoldering* (sessiz) myelom olarak adlandırılmışlardır.⁵⁷

2003 yılında Uluslararası Myelom Çalışma Grubu tarafından ileri sürülen tanı kriterleri özünde *Durie-Salmon* kriterleri gibidir. Başlıca 4 farklılık vardır:

1. Bu sınıflamada smoldering myelomun adı 'asemptomatik' myelom olarak değiştirilmiştir.
2. Sistemik tedavi gerektiren 'aktif' MM kavramı ortaya konmuştur.

3. İHMG'yi asemptomatik myelomdan ayıran serum M protein düzeyi paraprotein tipinden bağımsız olarak 3g/dl olarak belirlenmiştir.
4. Aktif MM tanısı için belli bir paraprotein düzeyi ya da ilikte plazma hücre oranı gerekli görülmemiştir.⁵⁸

MM veya WHO adlandırmasıyla plazma hücreli myelom ve varyantları en çok diğer plazma hücre diskrazileri ile karışabilirler. Güncel sınıflamaya göre aktif MM tanısı için serum veya idrarda M komponenti ile birlikte ilikte klonal plazma hücreleri veya plazmasitom bulunması ve hiperkalsemi, renal yetersizlik, anemi ve kemik hastalığından (CRAB bulguları) en az birisinin olması gerek görülmüştür. Eğer M proteini yoksa bunun yerini anormal serum serbest hafif zincir oranının ya da ilikte % 10 veya üstünde klonal plazma hücresi varlığının tutabileceği belirtilmiştir.⁵⁹

M proteini araştırmanın geleneksel yöntemi serum ve 24 saatlik idrarda protein elektroforezidir. Bu yöntemin bazı eksiklikleri vardır: Protein elektroforezi myelom hastalarının yaklaşık % 20'sinde normaldir. Çünkü protein elektroforezi; serumda 600 mg/dl, idrarda ise 200 mg/dl'nin altında paraproteini ölçemeyen bir yöntemdir, dolayısıyla oligosekretuar myelom tanısında işe yaramaz. Bu nedenle yıllar içinde serum ve idrar immünfiksasyonu, M proteini araştırma yöntemi olarak kullanılmaya başlanmıştır. İmmünfiksasyon ile myelom hastalarının % 97'sinde serum veya idrarda paraprotein belirlemek mümkün olabilmektedir. Ancak, immünfiksasyonun da bir duyarlılık sınırı vardır. Bu sınır serum için 250 mg/dl, idrar içinse 120 mg/dl'dir. Bu düzeyin altında olduğu için paraprotein tespit edilemediği % 3 oranındaki sekretuar olmayan myelom hastasının yaklaşık 2/3'ünde serum serbest hafif zincir oranı bozulmuştur. Üstelik serum immünfiksasyon ve serum serbest hafif zincir oranı paneli kullanıldığında idrar değerlendirmesine de gerek kalmadan M proteini belirlenebilmektedir. Çünkü idrarda M proteini olan hastaların % 99,5'inde bu ikisinden en az biri pozitif çıkmaktadır.^{50,51}

MM'de her türlü paraprotein üretilmektedir. % 50-60 civarında IgG, % 20 civarında IgA, % 15-20 civarında serbest hafif zincir tipi ve % 3 oranında sekretuar olmayan myelom söz konusudur. IgD tipi MM % 1, IgM ve IgE MM ise nadiren izlenmektedir. Tam Ig üreten myelom varlığında bile yaklaşık % 90'a varan oranda az miktarda serbest hafif zincir üretimi de vardır.

MM'de sistemik tedavi başlama kriterleri IMWG (international myeloma working group) kriterleri altında toplanmıştır. Serum ve/veya idrarda M proteini (ölçülebilir M komponenti olmayan hastalarda anormal serum hafif zincir oranı bu kriterin yerine kullanılabilir) ve ilikte klonal plazma hücreleri (bazal kemik iliği >% 10 klonal plazma hücresi içermelidir) ve/veya dökümente edilmiş klonal plazmasitom ile aşağıdakilerden bir veya daha fazlası:

- Hiperkalsemi (>11,5 mg/dl veya >2,65 mmol/L)
- Renal yetersizlik (kreatinin >2 mg/dl veya >177 mmol/L)
- Anemi (hemoglobin >10 g/dl veya normal değerin alt sınırından 2 gr/dl düşük)
- Kemik hastalığı (litik lezyonlar ya da osteopeni)⁵⁸

IMWG, aktif MM tanısı için bir eşik plazma hücre ya da paraprotein düzeyi belirlememiştir. Buna karşılık asemptomatik *smoldering* MM ilikte % 10 ve üzeri plazma hücresi ve/veya 3 g/dl ve üzeri serum paraprotein düzeyi olması ve yukarıda belirtilen CRAB (calcium, renal, anemia, bone) bulgularının olmaması olarak tanımlanmıştır.⁵⁸

IHMG için ilikte < % 10 plazma hücresi (ve biyopside düşük düzeyde infiltrasyon), serumda < 3 g/dl paraprotein, başka bir B lenfoproliferatif hastalık olmaması ve bulgu/organ bozukluğu olmaması gerekli görülmüştür.⁵⁸

Serumda M proteini saptanan bir hastada kan sayımı, böbrek fonksiyon testleri, kalsiyum ve albümin düzeyi istenmelidir. Eğer o ana kadar yapılmadıysa serum protein elektroforezi ve 24 saatlik idrarda M proteini çalışmalarını da tamamlamak uygun olacaktır. Ayrıca direkt grafilerle iskelet tarama ve kemik iliği incelemesi de gereklidir.

Zorunlu olan bu testlerin dışında, myelom çıkması bekleniyorsa IgG, A, M ve beta-2 mikroglobülin; lenfoproliferatif hastalık şüphesi doğuran semptom/muayene bulguları ya da bariz IgM paraproteini olan hastalarda lenfoma ayırıcı tanısı için radyolojik görüntülemeler; amiloidoz şüphesi doğuran kalp yetmezliği, nefrotik sendrom veya nöropati gibi hallerde amiloid için doku boyamaları; omurga ağrıları ya da nörolojik bası semptomları olanlarda ise spinal MRG de başlangıç testleri arasında yer almalıdır.

Son yıllarda myelomda sitogenetik özelliklerin de önemli prognoz parametreleri oldukları ortaya konmuştur. Üstelik bu özellikler bazen tedavi seçiminde de yol gösterici olabilmektedirler. Bu sebeplerden dolayı günümüzde myelom hastalarının tanı aşamasındaki değerlendirmelerinde konvansiyonel sitogenetik ve FISH ile bazı mutasyonların aranması, özellikle yüksek doz tedavi adayı olabilecek hastalar için önerilen standart yaklaşım olmuştur. Metafaz analizinde del 13 ya da hipodiploidi, FISH'te t(4;14), t(14;16), t(12;20) ya da del 17p13 varlığı kötü prognoz göstergesi ve kötü sitogenetik risk faktörlerinin olmaması ile FISH'te hiperdiploidi, t(11;14) ya da t(6;14) olması iyi prognoz göstergesi olarak değerlendirilmektedir.⁶⁰⁻⁶²

2.5. Myelom ve Böbrek

Hastalığın klinik seyrinin herhangi bir aşamasında böbrek hasarı sıklıkla (% 25-50) görülür.⁶³ Yeni ajanların (bortezomib, lenalidomid gibi) myelom tedavisine girmesi ile böbrek hasarının erken ölümle olan bağımsız risk faktörü ilişkisi kaybolmuştur.⁶⁴ Böbrek fonksiyonlarının düzelmesi ile yaşam süresinin uzaması arasında kuvvetli ilişki bulunmuştur.⁶⁵

Serum kreatinin, klinik pratikte böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede en yaygın kullanılan belirteçtir. Ancak yaş, cinsiyet, kas kitlesi gibi değişkenlerden etkilenmektedir. 2010 yılında Uluslararası Multipl Myelom Çalışma Grubu'nca böbrek fonksiyonlarının daha doğru değerlendirilmesi endişesi ile serum kreatinine dayanan formülasyonlardan glomerüler filtrasyon hızının (GFH) tahmini değerinin kullanılması önerisi getirilmiştir.⁶³ Bazı sınırlılıkları olsa da Böbrek Hastalığında Diyet Düzenlenmesi (MDRD) formülünün ve Böbrek Hastalığı Küresel Sonuçlarını Düzeltme (KDIGO) sınıflamasının kullanılması önerilmektedir.⁶⁶

- Evre 1: > 90 ml/dakika/1.73 m²
- Evre 2: 60-89 ml/dakika/1.73 m²
- Evre 3: 30-59 ml/dakika/1.73 m²
- Evre 4: 15-29 ml/dakika/1.73 m²
- Evre 5: < 15 ml/dakika/1.73 m²

Akut böbrek hasarının tanımı ve evrelemesinde kullanılmak üzere geliştirilen RIFLE (risk, hasar, yetmezlik, kayıp, son dönem böbrek hastalığı) ve AKIN (akut böbrek hasarı ağı) kriterlerinin kullanılmasının muhtemelen daha doğru olacağı düşünülse de multipl myelom hastaları için doğruluğunun çalışılmaması nedeniyle rutinde kullanımı önerilmemiştir. Aynı grup tarafından multipl myelomda böbrek yetmezliği varlığında tam, kısmi ve minör cevap, başlangıç tahmini GFH ve en iyi kreatinin klerensi cevabına göre tanımlanmıştır.⁶³

2.5.1. Böbrek Fonksiyon Bozukluğu Nedenleri

Multipl myelomlu hastalarda böbrek fonksiyon bozukluğuna neden olan faktörler; salgılanan paraproteinlerin böbrek üzerindeki etkilerinden kaynaklanabileceği gibi nefrotoksik ajanların kullanımı (radyokontrast maddeler, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar, antibiyotikler vb.), hiperkalsemi, dehidratasyon, hiperürisemi, diüretik kullanımı, enfeksiyon gibi özgül olmayan nedenlerden de kaynaklanır. Hastalıkta salgılanan monoklonal immünglobülin veya fragmanları veya daha çoğunlukla hafif zincirler böbrekte değişik etkilere yol açabilirler.⁶⁷

2.5.2. Böbrek Hasarının Mekanizmaları

İmmünglobülin molekülleri ağır zincirle bağlantılı iki hafif zincir (kappa veya lambda) içerir. Ağır zincirden artan hafif zincir üretimi sonucu günlük yaklaşık 500 mg civarında hafif zincir dolaşıma girer. Kappa hafif zinciri tipik monomerik iken lambda hafif zinciri dimeriktir. Serbest hafif zincirler (SHZ) glomerülde filtre olur veya doğrudan tübüler ultrafiltrata geçer veya mezenjium içine taşınıp oradan glomerüler hilusa geçer. Daha küçük boyuta ve daha katyonik güce sahip olan kappa hafif zincirinin klirensi daha fazladır ve daha sonra proksimal tübüler hücreler tarafından tama yakın geri emilir ve günlük atılım miktarı yaklaşık 1-10 mg'dir. Proksimal tübüler hücrelerde emilim doyurulabilir. Hafif zincirler, endolizozomal yolakla değiş tokuş edilir ve asidifiye edilerek aminoasit ve peptidlere yıkılıp renal tübüler kapillerlere geri döner.

Klonal SHZ'lerin farklı fizikokimyasal özellikleri, kendiliğinden agregasyon ve yüksek molekül ağırlıklı kompleksler oluşturma yeteneği renal hasarlanmaya eğilim yaratır. SHZ'lerden tipik olarak lambda hafif zinciri; fibriler amiloid birikimi, aminoasit

yer değişimleri ve zıt yüklü polipeptidlerin arasında elektrostatik bağlanmayla fibriller oluşturur ve sonunda glomerüler patoloji gelişir. Bu hafif zincirler mezanjial hücrelerin makrofaj fenotipine dönüşmesine, ekstrasellüler matrikste azalmasına neden olur. SHZ'ler hafif zincir birikim hastalığı olduğunda ise anyonik bazal membrana katyonik zincirlerin bağlanmasıyla granüler birikim geliştirir. Ekstrasellüler matrikste ve TGF-beta'da artış da miyofibroblast fenotipine dönüşümüne öncülük eder. Her iki tip SHZ'nin nükleer-faktör kappaB (NF-kB) ifadesini artırması monosit kemotraktan protein 1 (MCP-1) ve trombosit kaynaklı growth faktör beta (PDGF) 'da artışla sonuçlanır.

Hafif zincir hastalığı, özellikle kappa hafif zincir, kazanılmış *Fanconi* sendromu ile ilişkili olup bu durum proksimal tübül hücreleri (PTH) nde glukoz, aminoasit, fosfor taşınmasında engellenmeye neden olur. Bu hafif zincirler proteolize daha dirençlidir ve elektron mikroskopunda proksimal tübül hücrelerinde lizozomlarda kristal şeklinde gözükür. Bu zincirler PTH'lerde lizozomlarda artış, mitokondrialarda fokal şişme, apikal sitoplazmik kabarcık, fırçamsı kenarlarda kayıp şeklinde elektron mikroskopik görünümlere neden olur.

Tübüler ultrafiltratta SHZ'lerin artışı PTH'lerde endositozda artışla sonuçlanır ve PTH'lerde redoks yollarının aktivasyonunu içeren proinflatuar değişikliklere neden olur. NF-kB artışı ve mitojen aktive eden protein kinaz (MAPK) lar fosforile olur ve inflammatuar ve proinflatuar sitokinlerin (IL-6, IL-8, MCP-1, TNF-a, TGF-b) transkripsiyonu artar. Böbrek biyopsi örneklerinde inflammatuar hücre birikimi ve tübülointerstisyel fibrozis görülür. Redoks duyarlı MAPK'nin ve apoptozis sinyal düzenleyici kinaz 1 (ASK-1)'in SHZ'lerce aktivasyonu PTH'lerde apoptozis artışına neden olur. PTH'lerde SHZ'lerin endositoz kapasitesi aşıldığında distal tübüllere geçerler. Kast nefropatisi myelomun klasik histopatolojik bulgusu olup; SHZ'lerin distal nefron lümeninde çökmesi intratübüler obstrüksiyona, daha sonra tübülointerstisyel inflamasyona ve fibroze neden olur. SHZ'lerin idrarla atılımı 2 gr/gün'ü aştığında risk artar, ancak tüm SHZ'ler nefrotoksik değildir. SHZ'ler farklı aminoasit dizilimlerine sahip olup, bu farklı dizilimler elektriksel yükün farklı olmasına ve farklı izoelektrik (Pi) noktalara sahip olmasına neden olur. İdrar pH'sı ile protein Pi yaklaştığında net elektriksel yük 0 (sıfır)'a yaklaşır ve protein çökmesi kolaylaşır. Sağlıklı böbrekte tübüler sıvı distale doğru daha asidik olduğundan düşük Pi'ye sahip

SHZ'ler distalde daha kolay çökelir. *Tamm-Horsfall* glikoproteini (üromodülin) özellikle artan elektrolit konsantrasyonlarında olmak üzere kendiliğinden agrege olur ve düşük molekül ağırlıklı proteinler buna bağlanabilir veya çökebilir. Farklı hafif zincirlerin üromodüline bağlanma afinitesi farklıdır. Kast oluşumu sadece proteinin P_i ve tübüler sıvının pH'ı ile ilişkili değildir, bunun dışında; tübüler sıvının iyonik içeriği, tübüler akım hızı, üromodülin ve hafif zincir yoğunluğu gibi faktörler de kast oluşumunu etkiler. Kast nefropatisi; dehidratasyon, hiperkalsemi, furosemid uygulanması, iyotlu kontrast maddeler, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlarla daha kolay gelişir.

SHZ'lerin tübül içinde çökmesi tübüler basıncı artırır, bu da glomerüler filtrasyon hızının azalmasına neden olur; diğer glomerüllerde de lokal nörohumoral aktivasyon nedeniyle GFH'de azalma olur. Obstrüksiyonun devam etmesi durumunda önce obstrüksiyonun proksimalinde daha sonra tüm nefronda atrofi gelişir. Artan tübül içi basıncın böbrek interstisyumuna yansımaları lokal inflamatuvar reaksiyona ve inflamatuvar hücre birikimine neden olur. Tipik kast nefropatisinde interstisyel inflamatuvar hücre komponenti ve kast birikimlerinin etrafında makrofajlarla birlikte intratübüler dev hücre oluşumu görülür. Lümen içi basınç artışı, lokal tübüler apoptoz ve nekroza neden olur. Sonuçta lokal tübüler rüptür ve tübüler sıvı içeriğinin interstisyuma geçmesi, interstisyel basınçta artış, interstisyel inflamatuvar reaksiyon gelişir ve bunlar da interstisyel fibroziste artış ve komşu nefronlarda glomerüler filtrasyon hızında azalmayla sonuçlanır.⁶⁸ Multipl myelomda tümör lizis sendromu nadiren görülür.⁶⁹

Serum ve idrarda monoklonal immünglobülin gösterilmesi oldukça tanısaldır. Protein elektroforezi daha kolay ulaşılabilir bir test olmasına rağmen, 500 mg/L'nin altındaki değerleri saptayamadığından SHZ duyarlılığı düşüktür. İmmünfiksasyon ise 150 mg/L'ye kadar olan monoklonal immünglobülini saptayabilmektedir. Yeni nefelometrik SHZ immün değerlendirmeye kapp ve lambda monomer ve dimerleri, intakt immünglobülinlerle karışmaksızın 2-4 mg/L'nin altındaki değerlerde de saptanabilmektedir. SHZ tespiti klonaliteyi göstermez, kapp/lambda oranında azalma ve artmayı gösterir. Kapp ve lambda SHZ'ler sistemik lupus eritematozus gibi sistemik inflamatuvar hastalıklarda da artabilir; ancak bu hastalarda kapp ve lambda birlikte arttığından oran korunur. Tipik monomerik kappanın klirensi 2-4 saatken, tipik dimerik lambdanın klirensi 3-6 saattir. Kapp/lambda oranının normal değerleri 0,26-1,5

(ortalama 0,58) dir. İmmünglobülinlerin ise yarı ömrü daha uzun olup, hastaların izlenmesinde bu durum göz önünde bulundurulmalıdır. Böbrek fonksiyonlarının azalmasıyla SHZ'lerin klirensi azalır ve retiküloendotelyal sistem en önemli klirens merkezi haline gelir. Böbrek fonksiyonlarının tam kaybında retiküloendotelyal sistem 2-3 günde klirensi sağlar ve her iki sınıf SHZ'nin düzeyi artar. Böbrek yetmezliği durumunda kappa SHZ üretimi arttığından kappa/lambda oranı sağlıklı kişilere göre artarak 0,37-3,1 olur.⁷⁰

Tanıda böbrek biyopsisinin yeri tartışmalıdır. Biyopsi böbrek hasarının tipini, yaşını, patolojik sürecin aktivitesini belirleyerek tedaviyi ve prognozu belirlemede yararlı olabilir. Akut böbrek hasarı gelişen hastalarda en sık tübülointerstisyel lezyonlar saptanır. Bunlardan kast nefropatisi en sık görülen bulgu olup, histopatolojik olarak kolayca tanınır. Ancak proksimal tübülopati ve kastların olmadığı akut interstisyel nefrite benzer inflamatuvar tübüler interstisyel süreç kolay tanınmayabilir. Monoklonal hafif ve ağır zincirlerle ilişkili diğer böbrek lezyonları olan AL amiloidoz, hafif/ağır zincir depo hastalıkları daha az akut olma eğilimindedir; ancak ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulmalıdır. Patolojik örnekler kappa ve lambda hafif zincirleri ve immünglobülin boyaıyla incelenmelidir. Ayırıcı tanı için immünfloresan değerlendirme yapılmalıdır.⁷¹

Dehidratasyonun düzeltilmesi ve mümkünse idrarın >3000 cc/gün tutulması iyileşmeyi hızlandırır. İdrar sodyum >80 mEq/L kast oluşum riski arttığından hidrasyonda ½ salin tercih edilebilir. Hiperkalsemi saptanırsa düzeltilmelidir. Tedavide bifosfonat gerekli ise pamidronat tercih edilebilir. Furosemidden kaçınılmalıdır. Glukokortikoidler hem tümör yükünü azaltmada hem de kalsitriol sentezini azaltarak ve barsaktan kalsiyum Emilimini azaltarak hiperkalseminin tedavisinde yararlıdır.

Myelom hastalarında nefrotoksik ilaçlar, dehidratasyon, enfeksiyon/sepsis durumunda akut tübüler nekroz gelişme riski artar. Hastalarda steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar, bifosfonatlar, kontrast madde kullanımı böbrek yetmezliği riskini artırır.

Bugünkü bilgiler ışığında plazmaferezin myelomdaki böbrek yetmezliğinde standart işlem olarak yeri yoktur.⁶³ Oligürik hastalarda özellikle de hafif zincir myelom hastası ise ve idrarda 24 saate 10 gram ve üzeri hafif zincir atılımı var ise veya kreatinin ≥ 6 gr/dl ise bu tarz hastalarda plazmaferez başlangıç tedavisine eklenebilir. Diyaliz

gerekiliyse ikisi ard arda yapılabilir. ASFA (American Society for Apheresis) tarafından önerilen; 1-1,5 total plazma hacmini günlük veya günaşırı, albümin veya albümin/serum fizyolojikle değiştirmektir. Plazmaferezin kemoterapi ve sıvı tedavisine destek bir tedavi olduğu unutulmamalıdır. Plazma değişiminin etkisinin sınırlı olmasının nedeni intravasküler alandan uzaklaştırılan hafif zincirlerin yeniden dağılımla hızla yerine konmasıdır. Güvenli ve etkili olduğundan lenalidomid-deksametazon kombinasyonu böbrek hasarı olan hastalarda önerilmektedir. Lenalidomid böbrekle atıldığından kreatinin klirensine göre dozu ayarlanmalıdır. Lenalidomid nefrotoksik değildir; ancak doz ayarlanmazsa ilaca maruziyet artar ve myelos presif yan etki daha şiddetli gelişir.⁷²

Yeni tanı almış herhangi bir derecede (hafif, orta, şiddetli) böbrek yetmezliği olan myelom hastasında bortezomib temelli kemoterapi etkin ve güvenlidir. Bortezomib-deksametazon (VD) hızlı etkilidir.⁶² Akut böbrek yetmezliği olan hastalarda bortezomib-deksametazon-talidomid (VDT), bortezomib-siklofosfamid-deksametazon (VCD) tedavi seçenekleri arasındadır. Siklofosfamid için renal doz ayarlaması gereklidir.

Hafif zincir kast nefropatisine bağlı akut böbrek yetmezliği var ise deksametazon içeren rejimler ile hızlı sonuçlar alınır. Melfalan-prednizolon rejimi hem hafif zincir üretiminin azalması üzerinde geç etki eder hem de doz ayarlamasına gerek vardır. Bortezomib-deksametazon (VD) ve bortezomib-deksametazon-talidomid (VDT) için doz ayarlamasına gerek yoktur.

Böbrek fonksiyonlarına göre ilaç dozu ayarlanırken fonksiyonlarda zaman içinde oluşacak değişiklikler göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durumda dozların tekrar gözden geçirilmesi gerekir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hastalar

Çalışma grubuna Şubat 2016-Temmuz 2017 tarihleri arasında Ç.Ü.T.F Balcalı Hastanesi Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalları'nda multipl myelom tanısı almış 27 hasta dahil edildi. Hastalar 6 aylık kemoterapi sonrası tekrar değerlendirildi. Çalışma süresince 6 aylık tedaviyi tamamlayamayan (ölüm nedeni ile) 7 hasta oldu. Kontrol grubunu, herhangi bir hastalığı olmayan ve hiçbir ilaç kullanmayan gönüllü 20 kişilik hastane çalışanı oluşturdu. Hastalar ve kontrol grubu, 24 saatlik idrarda protein atılımı veya spot idrar protein/kreatinin oranı ile proteinüri yönünden değerlendirildi. Çalışma için Çukurova Üniversitesi Girişimsel Olmayan İşlemler Etik Kurulu'ndan onay (54. Nolu toplantı tarih 10.6.2016) alındı.

3.2. İdrar Örneklerinin Toplanması

Tanı anında ve 6. ayında hastalardan mesanede en az 3 saat beklemiş idrar, eş zamanlı proteinüri için toplanan 24 saatlik veya spot idrar ile birlikte alındı. İdrar örnekleri Ç.Ü.T.F tıbbi patoloji laboratuvarında saklandı.

3.3. İdrarda RNA tayini için hazırlık

İdrar örneği; hasta adı soyadı, başlangıç ve 6. ay olarak kaydedildi. Gelen idrar +4⁰C'de 20-30 dakika bekletildi. İdrar örnekleri, 15 ml'lik steril *Falcon* tüplerine. Sıcaklığı +4⁰C'de santrifüj aletinde 10000 rpm'de 2,5 dakika santrifüj edilip tüpün dibinde 200 µl kalacak şekilde üstteki süpernatant alındı. Tüplerin üzerine soğuk PBS (phosphate buffered saline)'den 1ml eklenip 10000 rpm'de 2,5 dakika santrifüj edildi. 200 µl kalacak şekilde süpernatant alındı. Bu işlem 3-5 defa tekrarlandı. Tüplere tekrar soğuk PBS'den 1 ml eklenip 13500 rpm'de 20 saniye santrifüj edildi. 200 µl kalacak şekilde süpernatant alındı. Örnekler -80⁰C'lik derin dondurucuda saklandı.

3.4. RNA izolasyon protokolü

RNA izolasyonu için *Roche High Pure* RNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Dondurucudan çıkarılan yaklaşık 250 µl örneğin oda sıcaklığında erimesi beklendi. Eriyen örneklerin üzerine 350 µl *lysis/binding buffer* eklendi. 15 saniye vortekslendi

(toplam hacim yaklaşık 600-700 µl olacak şekilde). Bu karışımlar, üzerinde hasta numarası yazılı filtreli tüplere transfer edildi. 8000 x g'de (10000 rpm) 15 saniye santrifüj edildi. Sonra her bir tüp içine 1 hasta için 90 µl *DNase inkübasyon buffer* ve 10 µl *DNase I* eklenip karıştırıldı. Bu karışımdan 100 µl her hasta tüpüne eklenip 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Üzerine 500 µl *wash buffer I* solüsyonundan eklenip 8000 x g'de (10000 rpm) 15 saniye santrifüj edildi. Üzerine 500 µl *wash buffer II* solüsyonundan eklendi. 8000 x g'de (10000 rpm) 15 saniye santrifüj edildi; tekrar 200 µl *wash buffer II* solüsyonu eklenip 13500 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Üzerine hasta numarası yazan 1,5 ml ependorf tüpü eklendi. Filtreli tüpün üzerine 50 µl *elution buffer* eklendi ve 8000 x g'de (10000 rpm) 1 dakika santrifüj edildi. Filtreli tüp atıldı. Elde edilen RNA'dan cDNA yapımına geçilmesi planlandı.

3.5. cDNA Yapımı

Roche Transcriptor First strand cDNA Synthesis Kit, cDNA yapımı için kullanılmıştır.

MİX I: Üzeri hasta numarası yazılı 0,5 µl tüplere random *hexamer primer*den 2 µl ve bu tüplerin içine hastadan elde edilen RNA'dan 11 µl alındı (toplam hacim 13 µl). *Thermocycle*'de cDNA-1 olarak kayıtlı tüpte 65°C'de 10 dakika bekletildi.

MİX II: *Transcriptor RT reaction buffer*den 4 µl, *protector RNase inhibitör*ünden 0,5 µl, *deocsynucleotid mixten* 2 µl, *transcriptor rezerve transcriptaseden* 0,5 µl eklendi (Toplam hacmin 7µl olması hedeflenerek). MİX I'de elde edilen tüplerin (13 µl) her birinin üzerine 7µl MİX II'den ilave edildi. *Thermocycle*'da cDNA 2 diye kayıtlı tüpte; 25°C'de 10 dakika, 50°C'de 60 dakika, 85°C'de 5 dakika bekletildi.

Elde edilen ürünler üzerine 20 µl su eklenip -25°C'de bekletildi. Böylece cDNA elde edildi.

3.6. Real Time PCR Aşaması

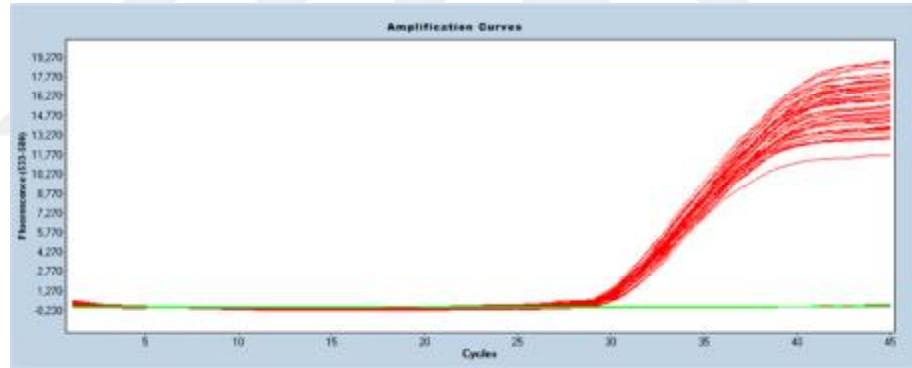
Roche Lightcycler 480 Probe Master Kit kullanılmıştır. Dört µl su, 10 µl kadar *Roche 480 probe master*, 1 µl kadar *realtime ready assay* (toplam hacim 15 µl) dan oluşan her playt, kuyucuğuna dağıtıldı. Her kuyuya hasta ve kontrol cDNA'dan 5'er µl alındı.

Tablo 1. LC480 RT-PCR sisteminde yapılacak gen ekspresyon çalışmalarında kullanılacak sıcaklık protokolü

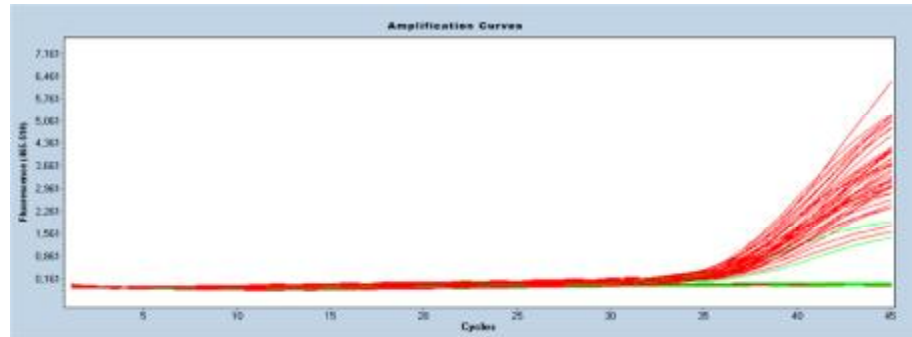
	cycle	Analise Mode	⁰ C	Acq. Mode	Time	Ramp rite
DEN	1	NONE	95 ⁰ C	NONE	00:10:00	4.4
			95 ⁰ C	NONE	00:00:10	4.4
AMP	45	Quantification	60 ⁰ C	NONE	00:00:30	2.2
			72 ⁰ C	SINGLE	00:00:01	4.4
COOL	1	NONE	40 ⁰ C	NONE	00:01:00	2.2

DEN: Denatürasyon, AMP: Amplifikasyon, COOL: Soğutma

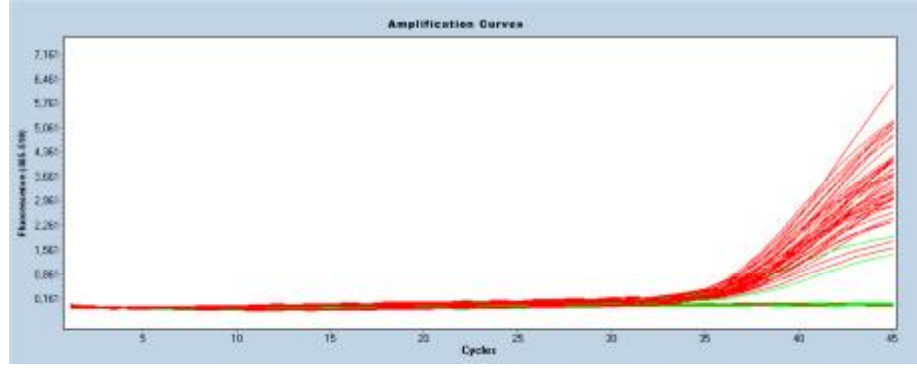
Roche Cobas 450 real-time cihazı ile çalışma yapılan örneklerin görüntüleri:



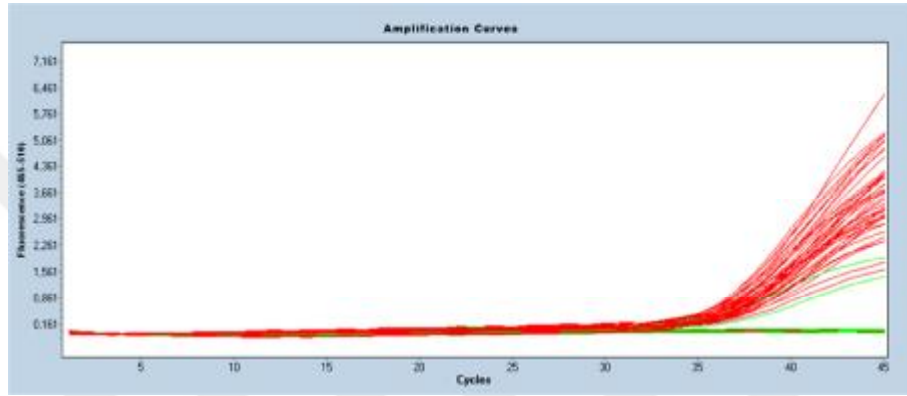
Şekil 4. Referans geni (beta-actin) görüntüsü



Şekil 5. Target NPHS-1 geninin görüntüsü

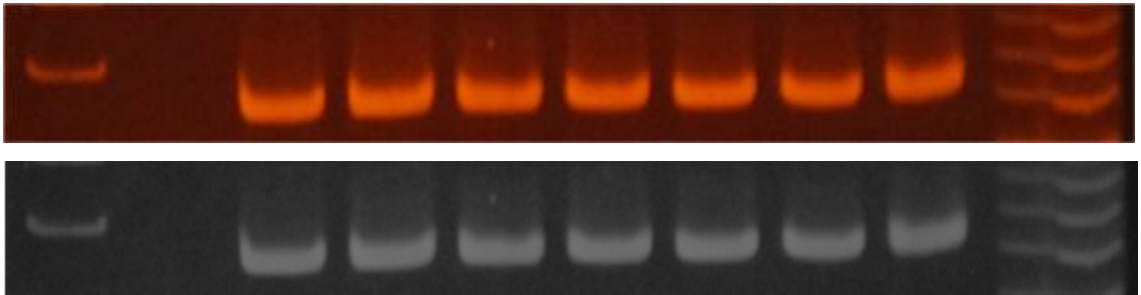


Şekil 6. Target NPHS-2 geninin görüntüsü



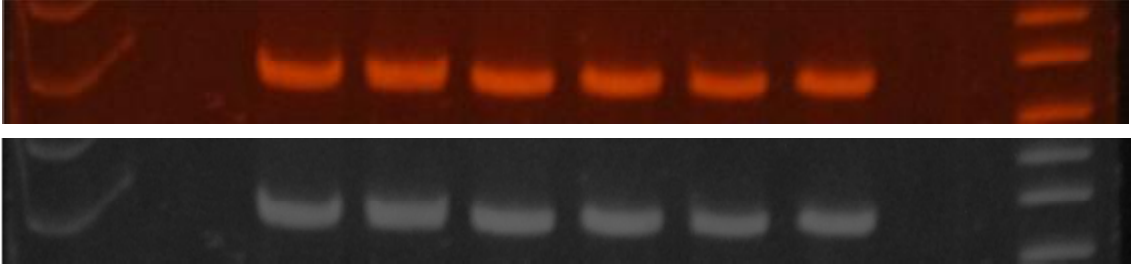
Şekil 7. Target VEGF-A geninin görüntüsü

Poli akrilamide jel elektroforezi (PAGE) ile yürütölüp resmi ultraviyole ışık altında çekilen örneklerin görüntüsü:

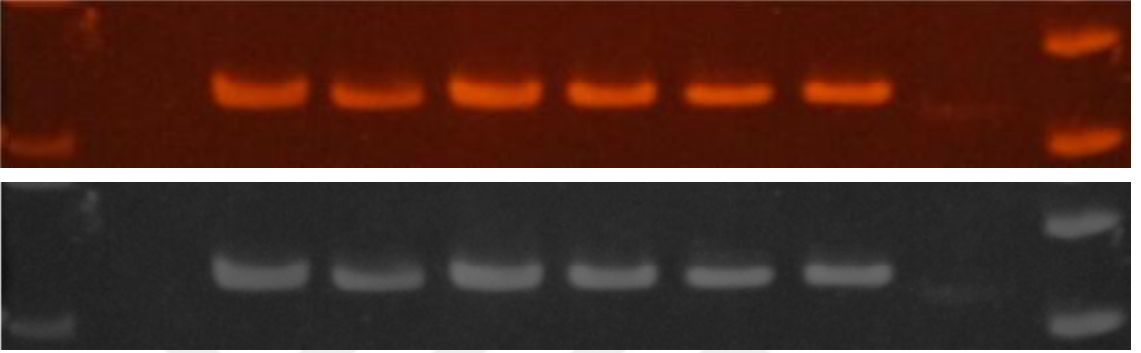


Şekil 8. Referans geni (beta actin) görüntüsü

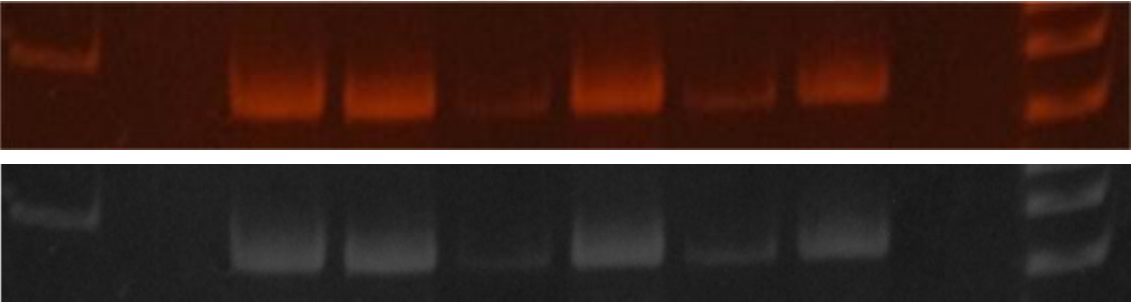
Kuyucuklar: 1. kuyucuk marker (100bp), 2. kuyucuk negatif kontrol. 3.-9. kuyucuk pozitif beta actin (145bp), 10. kuyucuk marker (25bp)



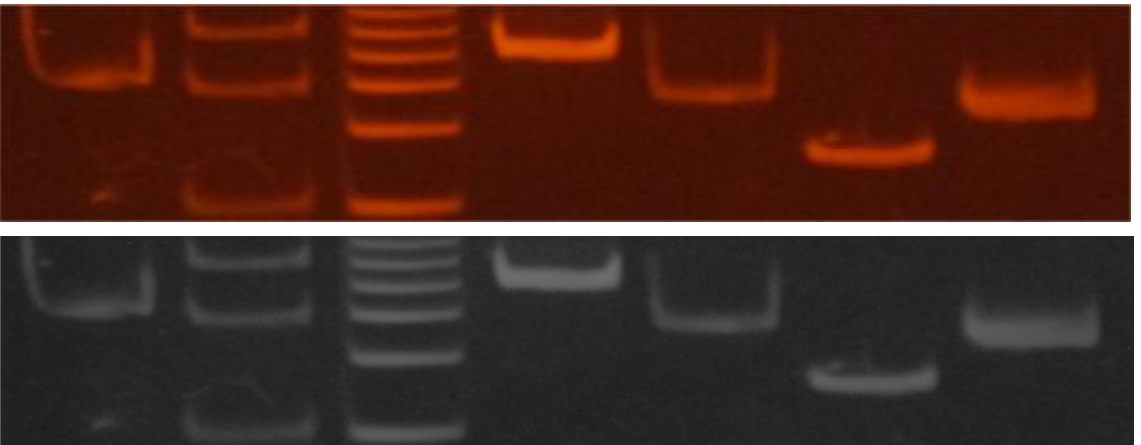
Şekil 9. Target NPHS-1 geninin görüntüsü



Şekil 10. Target NPHS-2 geninin görüntüsü



Şekil 11. Target VEGF-A geninin görüntüsü



Şekil 12. Karışık görüntü

Kuyucuklar:1-100 bp, 2-50 bp, 3-25 bp, 4-beta actin, 5-NPSH-1, 6-NPSH-2 ve 7-VEGF-A

3.7. İstatistiksel analiz:

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 17,0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu, histogram grafikleri ve *Kolmogorov-Smirnov* testi ile incelendi. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, ortanca ve 25-75 persentil değerler kullanılmıştır. Normal dağılım gösteren (parametrik) tekrarlayan değişkenler değerlendirilirken *student t* testi, normal dağılım göstermeyenler (nonparametrik) değerlendirilirken *Wilcoxon* Testi kullanılmıştır. Gruplar arasında karşılaştırma yapılırken *Mann Whitney U* testi kullanılmıştır. P-değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirilmiştir.

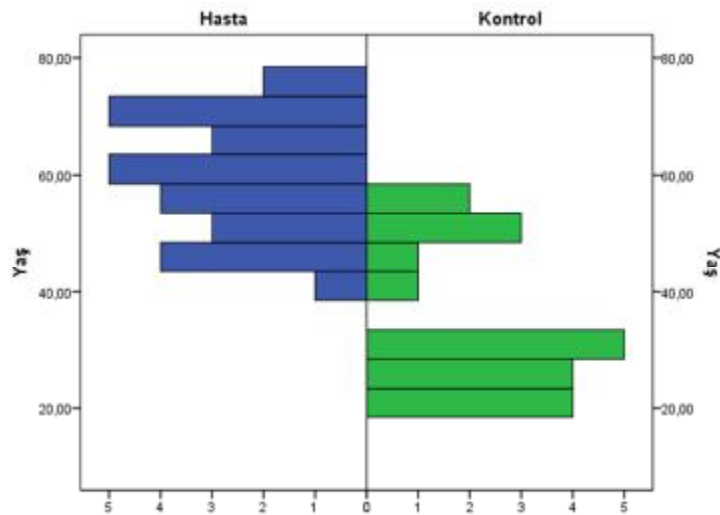
4. BULGULAR

Çalışmaya 27'si hasta, 20'si kontrol olmak üzere toplam 47 kişi alındı. Çalışmaya alınanların 32'si erkek, 15'i kadın ve genel yaş ortalaması $49,04 \pm 16,54$; hastaların yaş ortalaması $59,63 \pm 10,21$ ve kontrol grubunun yaş ortalaması ise $34,75 \pm 12,07$ idi (Tablo 2, şekil 13).

Tablo 2. Demografik özellikler

		N	%	Mean±SS
Grup	Hasta	27	(57,4)	
	Kontrol	20	(42,6)	
Mortalite	Sağ	20	(74,1)	
	Ex	7	(25,9)	
Cinsiyet	Erkek	32	(68,1)	
	Kadın	15	(31,9)	
Yaş	Hasta			$59,63 \pm 10,21$
	Kontrol			$34,75 \pm 12,07$

SS: Standart sapma.



Şekil 13. Hasta ve kontrol gruplarının yaş dağılımı

Hastalarda tedavi öncesi ve sonrası ölçümler karşılaştırıldığında; total protein, albümin, hemoglobin, hematokrit, GFR, BUN ve kreatinin değerlerinde anlamlı

değişiklikler saptandı. Total protein tedavi sonrası $6,46 \pm 1,18$ g/dL olup tedavi öncesine ($8,87 \pm 2,26$ g/dL) göre daha düşük idi ($p < 0,001$). Benzer şekilde BUN, kreatinin, proteinüri ve kalsiyum (düzeltilmiş şekli ile) ölçümlerinde de tedaviden önceki ölçüme göre azalma; albümin, hemoglobin ve hematokrit değerlerinde tedavi sonrası artış olduğu saptandı (tablo 3, şekil 14, 15, 16).

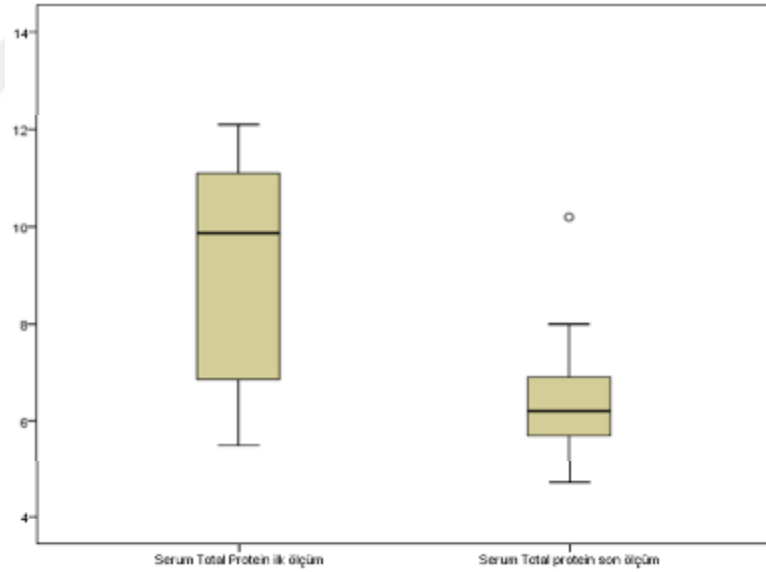
Tablo 3. Tedavi öncesi ve sonrası biyokimyasal ve hematolojik parametrelerin karşılaştırılması

	Ortalama	±SS	Medyan	p
Total Protein (TÖ)	8,87	$\pm 2,26$	8,50	<0,001¹
Total Protein (TS)	6,46	$\pm 1,18$	6,20	
Albümin (TÖ)	2,95	$\pm 0,69$	2,91	0,009¹
Albümin (TS)	3,50	$\pm 0,49$	3,51	
Kalsiyum (TÖ)	9,98	$\pm 2,42$	9,00	0,211 ¹
Kalsiyum (TS)	8,90	$\pm 0,52$	8,85	
Sodyum (TÖ)	134,07	$\pm 4,23$	135,00	0,101 ²
Sodyum (TS)	136,45	$\pm 3,95$	136,50	
Potasyum (TÖ)	4,22	$\pm 0,47$	4,20	0,334 ¹
Potasyum (TS)	4,27	$\pm 0,43$	4,11	
Hemoglobin (TÖ)	10,19	$\pm 2,21$	10,00	0,019¹
Hemoglobin (TS)	12,09	$\pm 1,92$	12,35	
Hematokrit (TÖ)	31,23	$\pm 6,36$	30,80	0,030¹
Hematokrit (TS)	36,10	$\pm 5,48$	37,75	
Lökosit (TÖ)	7,16	$\pm 2,82$	6,86	0,681 ²
Lökosit (TS)	6,98	$\pm 3,13$	6,27	
Trombosit (TÖ)	213,19	$\pm 106,94$	209,00	0,411 ²
Trombosit (TS)	210,80	$\pm 97,74$	205,50	
CRP (TÖ)	3,12	$\pm 3,85$	1,14	0,455 ¹
CRP (TS)	2,31	$\pm 3,66$	,68	
ESR (TÖ)	19,26	$\pm 12,71$	19,00	0,601 ¹
ESR (TS)	21,85	$\pm 18,67$	14,00	
BUN (TÖ)	22,07	$\pm 11,90$	17,00	0,019¹

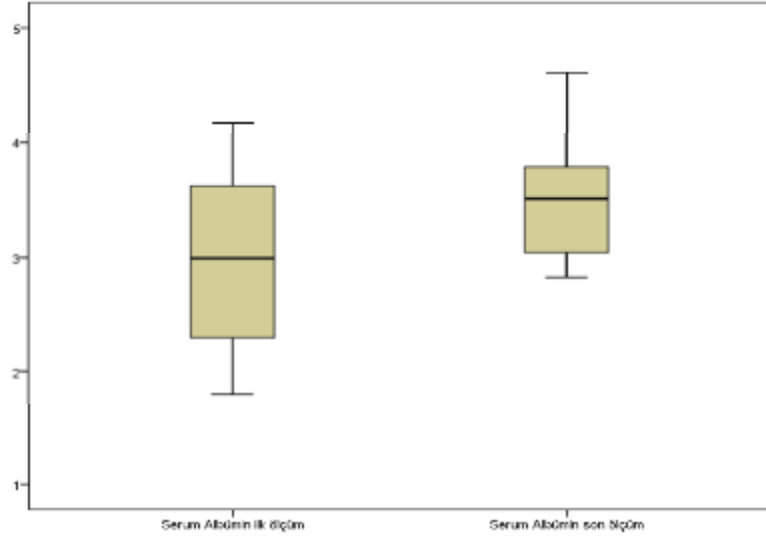
BUN (TS)	16,71	±17,47	13,50	
Kreatinin (TÖ)	1,44	±1,14	1,03	0,002¹
Kreatinin (TS)	1,26	±2,65	,70	
Kreatinin Klerensi *(TÖ)	70,00	±24,28	73,00	0,001
Kreatinin Klerensi* (TS)	97,80	±24,91	101,00	
LDH (TÖ)	256,96	±481,01	155,00	0,823²
LDH (TS)	180,45	±86,02	158,00	
Proteinüri (TÖ)	885,45	±2,033,12	84,00	0,002¹
Proteinüri (TS)	398,55	±811,34	165,50	
Düzeltilmiş kalsiyum (TÖ)	10,915	±2,66	9,892	0,005¹
Düzeltilmiş kalsiyum (TS)	9,300	±0,39	9,276	

SS: Standart Sapma, ¹Wilcoxon testi p değeri, ²Student t Testi, TÖ: Tedavi öncesi, TS: Tedavi sonrası, ESR: Eritrosit sedimantasyon hızı, LDH: Laktat dehidrogenaz

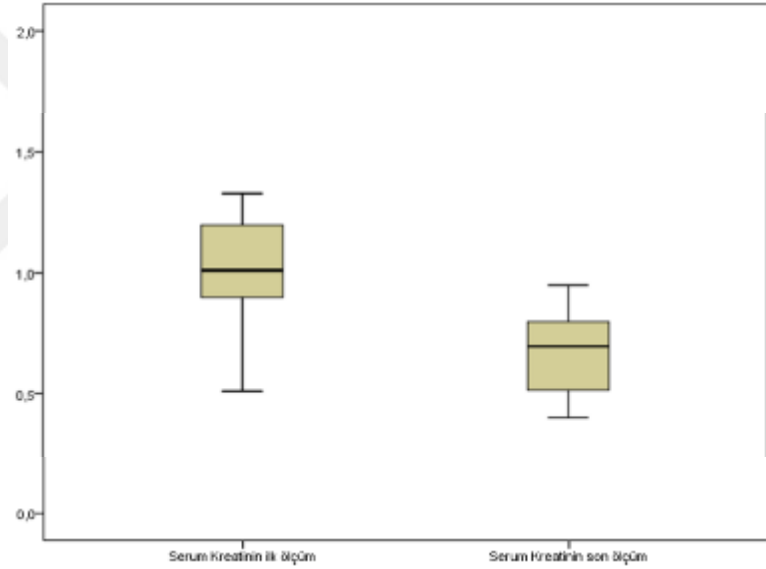
*: Kreatinin klerensi CKD-EPI hesaplaması kullanılarak ölçülmüştür.



Şekil 14. Hastalarda tedavi öncesi ve sonrası serum total protein değerleri



Şekil 15. Hastalarda tedavi öncesi ve sonrası serum albümin değerleri



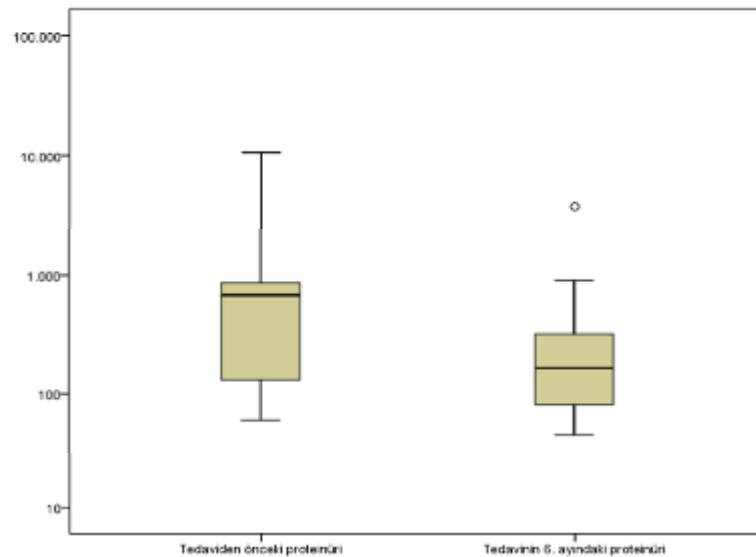
Şekil 16. Hastalarda tedavi öncesi ve sonrası serum kreatinin değerleri

Hastaların tedavi öncesi ve tedavinin 6. ayındaki değerlerin karşılaştırılması incelendiğinde; 6 aylık tedavi sonrası proteinüri medyan değeri (165,50), başlangıçtaki proteinüri medyan değerine göre (84,00) daha yüksekti (p: 0,002). Tedavi sonrası podositüri/idrar kreatinin değerleri, tedavi öncesi döneme göre yüksekti (nefrin/kreatinin için p: 0,039, podosin/kreatinin ve VEGF-A/kreatinin için p: 0,001) (Tablo 4 ve şekil 17).

Tablo 4. Hastalarda tedavi öncesi ve tedavinin 6. ayındaki proteinüri, idrar podosit spresifik protein ve podositüri/idrar kreatinin oranlarının karşılaştırılması

	Medyan	25 pers	75 pers	P
TÖ Proteinüri	84,00	50,00	786,00	0,002
TS Proteinüri	165,50	81,50	326,50	
TÖ Nefrinüri	3,82	0,00	41,83	0,184
TS Nefrinüri	25,16	0,50	226,77	
TÖ Nefrin/kreatinin	0,839	0,462	1,548	0,039
TS Nefrin/kreatinin	25,16	0,50	226,77	
TÖ Podosinüri	25,68	8,93	57,56	0,629
TS Podosinüri	47,56	3,37	376,17	
TÖ Podosin/kreatinin	0,468	0,251	2,225	0,001
TÖ Podosin/kreatinin	47,56	3,37	376,17	
TÖ VEGF-A	344,29	128,52	707,44	0,794
TS VEGF-A	424,66	188,29	641,37	
TÖ VEGF-A/kreatinin	4,636	2,160	14,467	0,001
TS VEGF-A/kreatinin	424,66	188,29	641,37	

TÖ: Tedavi öncesi, TS: Tedavi sonrası *Wilcoxon testi, pers: persantil



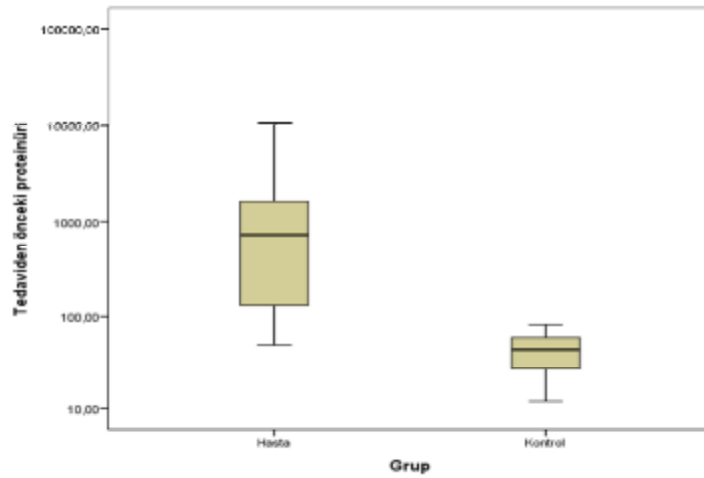
Şekil 17. Hastalarda tedavi öncesi ve tedavinin 6. ayındaki proteinüri değerleri

Hasta grubunun (n:27) tedavi öncesi değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; proteinüri ve serum kreatinin yönünden anlamlı farklılık saptandı. Buna göre tedaviden önceki proteinüri medyan değeri hastalarda (725,00) kontrol grubuna göre (45,00) daha yüksek saptandı ($p<0,001$). Kontrol grubunun nefrin/kreatinin oranı hastalardan daha yüksek saptandı ($p: 0,044$). Hastaların tedavi öncesi serum kreatinin medyan değeri (1,03), kontrol grubuna göre (0,81) daha yüksekti ($p<0,001$), (Tablo 5, şekil 18, 19).

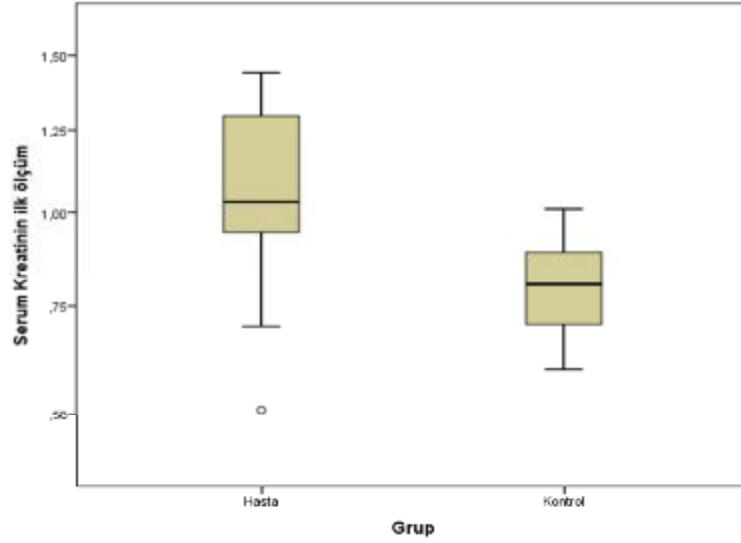
Tablo 5. Hasta ve kontrol grupları arasında tedavi öncesi değerlerin karşılaştırılması

	Hasta			Kontrol			p*
	Medyan	25pers	75pers	Medyan	25pers	75pers	
TÖ proteinüri	725,00	100,00	1635,00	45,00	28,00	60,00	<0,001
TÖ nefrinüri	3,82	0,00	41,83	34,03	0,00	196,89	0,231
TÖ nefrin/kreatinin	0,470	0,113	1,129	1,292	0,635	2,376	0,044
TÖ podosinüri	25,68	8,93	57,56	17,65	4,38	87,41	0,820
TÖ podosin/kreatinin	0,700	0,371	1,061	0,373	0,211	22,858	0,655
TÖ VEGF-A	344,29	128,52	707,44	426,11	183,55	618,86	0,968
TÖ VEGF-A/kreatinin	4,174	2,290	24,266	5,411	1,723	14,467	0,945
Serum Kreatinin	1,03	0,91	1,30	0,81	0,71	0,89	<0,001
Kreatinin Klerensi	70,00	60,50	81,00	116,50	100,00	126,00	<0,001

Pers: persantil. TÖ: Tedavi öncesi *Mann Whitney U testi p değeri +Çalışmayı tamamlayamayan hastalar da dahil edilmiştir.



Şekil 18. Tedavi öncesi hasta ve kontrol gruplarında proteinüri değerleri



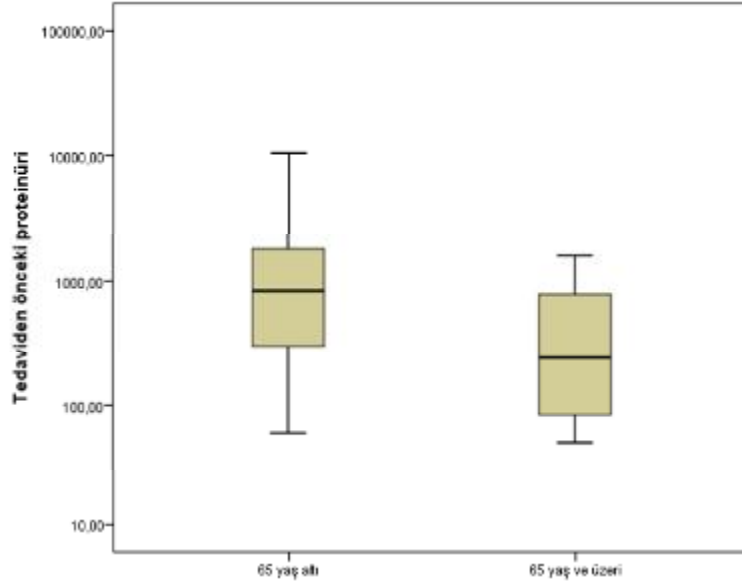
Şekil 19. Hasta ve kontrol grupları arasındaki serum kreatinin değerleri

Hastaların tedavi öncesi değerleri 65 yaş altı ve üstüne göre değerlendirildiğinde; 65 yaş altı hastalarda proteinüri medyan değeri (837,00), 65 yaş ve üzerinde olan hastalara göre (244,00) daha yüksekti (p: 0,046). Benzer şekilde 65 yaş üstü nefrinüri/kreatinin medyan değeri (0,600), 65 yaş altına göre (0,466) daha yüksekti (p: 0,046). Podosit spresifik proteinüri yönünden yaşa göre anlamlı fark saptanmadı (hepsi için $p > 0,05$) (Tablo 6, şekil 20).

Tablo 6. Hastaların yaşa göre tedavi öncesi proteinüri, podositüri ve podositüri/idrar kreatinin değerleri

	65 yaş altı ⁺			65 yaş ve üzeri ⁺			p*
	Medyan	25pers	75pers	Medyan	25pers	75pers	
Proteinüri	837,00	301,00	1808,00	244,50	84,00	786,00	0,046
Nefrinüri	2,65	,00	13,55	47,29	1,41	184,82	0,153
Nefrin/kreatinin	0,466	0,161	1,010	0,600	0,113	1,548	0,046
Podosinüri	24,00	9,51	37,79	77,99	8,34	176,07	0,397
Podosin/kreatinin	0,700	0,318	1,013	0,831	0,371	1,474	0,660
VEGF-A	543,63	98,36	1606,83	297,31	210,84	364,56	0,494
VEGF-A/kreatinin	10,653	2,182	55,792	3,532	2,714	4,636	0,312

Pers: persantil TÖ: Tedavi öncesi *Mann Whitney U testi p değeri ⁺Çalışmayı tamamlayamayan 7 hasta da dahil edilmiştir.



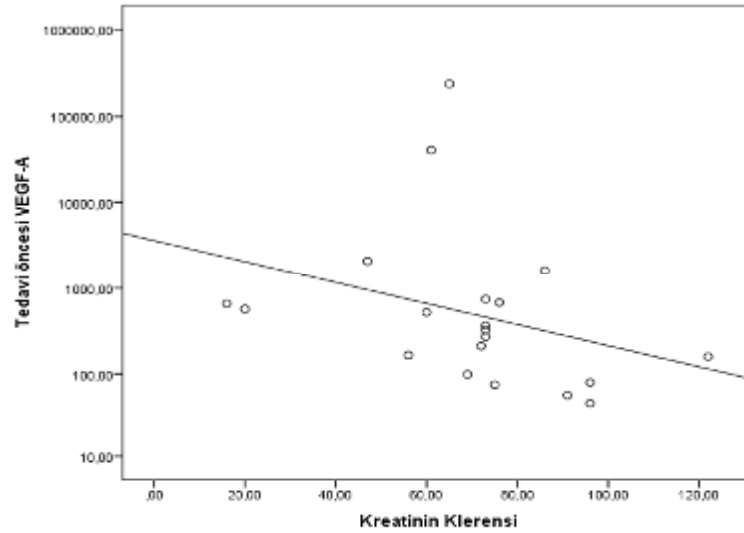
Şekil 20. Yaşa göre tedavi öncesi proteinüri değerleri

Tedavi öncesi laboratuvar değerlerinin, proteinüri ve podositüri ile ilişkisine bakıldığında; proteinüri ile serum kreatinin, serum total protein ve hemoglobin arasında, podosin ekspresyonu ile serum kalsiyum ve serum total protein arasında, VEGF-A ekspresyonu ve VEGF-A/kreatinin oranı ile kreatinin klerensi arasında anlamlı korelasyon olduğu görülmüştür. Proteinüri ile serum kreatinin ve hemoglobin arasında pozitif yönlü, serum total protein arasında negatif yönlü orta derecede anlamlı bir korelasyon vardır. Podosin ekspresyonu ile serum kalsiyum arasında negatif yönlü güçlü derecede anlamlı, serum total protein ile pozitif yönlü orta derecede anlamlı korelasyon vardır. VEGF-A ekspresyonu ve VEGF-A/kreatinin oranı ile kreatinin klerensi arasında negatif yönlü güçlü derecede anlamlı korelasyon bulundu (Tablo 7, şekil 21, 22, 23, 24, 25, 26).

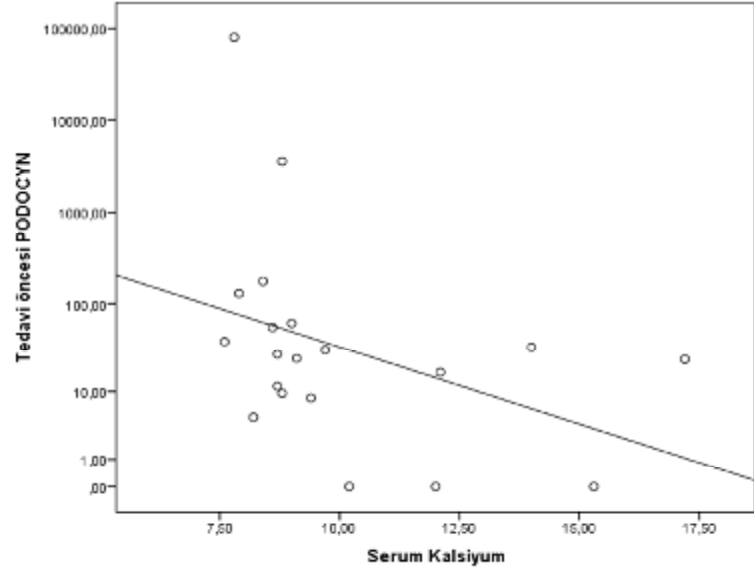
Tablo 7. Çalışmaya alınan tüm hastaların (n: 27) tedavi öncesi hemoglobin, kreatinin klerensi, serum kalsiyum, kreatinin, total protein, albümin, LDH ve CRP ile proteinüri, podositüri ve podositüri/idrar kreatinin değerleri arasındaki korelasyon

		Protein üri	Nefrinür i	Nefrin/cr	Podosin üri	Podosin/cr	VEGF-A	VEGF-A/cr
Kreatinin Klerensi	r	-0,361	0,075	-,344	0,261	,162	-0,517	-,544
	p	0,118	0,754	,250	0,267	,535	0,020	,013
Serum Kalsiyum	r	0,109	-0,264	-,410	-0,531	-,375	-0,117	-,061
	p	0,589	0,261	,164	0,016	,138	0,622	,799
Serum Kreatinin	r	0,458	0,020	,413	-0,250	-,314	0,236	,261
	p	0,016	0,933	,161	0,288	,219	0,317	,266
Serum Total Protein	r	-0,394	0,055	-,091	0,476	,346	-0,211	-,247
	p	0,042	0,819	,768	0,034	,174	0,371	,294
Serum Albümin	r	-0,100	-0,373	-,503	-0,314	-,075	-0,266	-,290
	p	0,620	0,106	,079	0,177	,775	0,258	,214
Hemoglobin	r	0,487	-0,409	-,412	-0,357	-,270	-0,074	-,077
	p	0,010	0,074	,162	0,122	,295	0,758	,748
LDH	r	0,052	0,191	,440	-0,092	,091	0,313	,338
	p	0,796	0,421	,133	0,700	,729	0,179	,145
CRP	r	0,139	-0,224	-,033	-0,240	-,099	0,103	,157
	p	0,489	0,343	,915	0,307	,704	0,665	,510

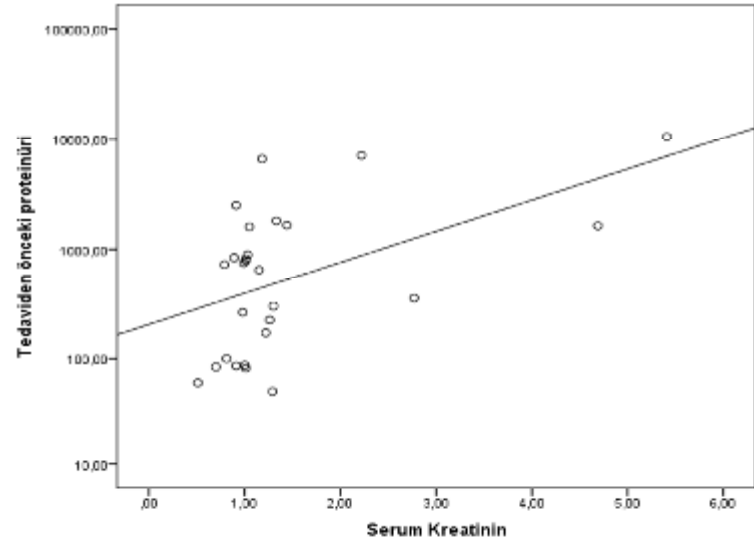
LDH: Laktat dehidrogenaz, CRP: C reaktif protein, cr: Kreatinin



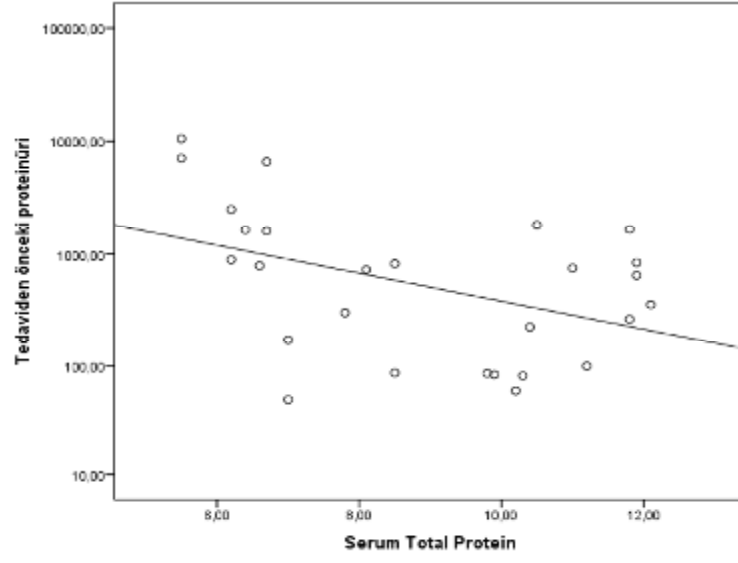
Şekil 21. Tedaviden önceki VEGF-A ekspresyonu ile kreatinin klerensi arasındaki ilişki



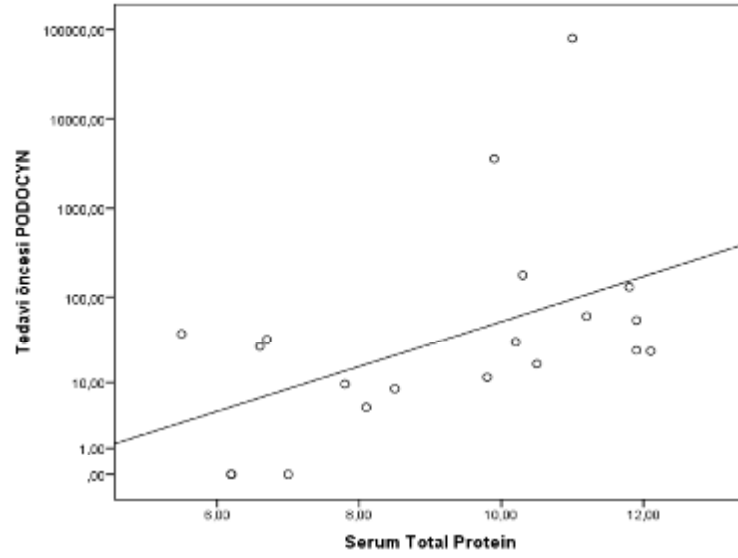
Şekil 22. Tedaviden önceki podosin ekspresyonu ile serum kalsiyum arasındaki ilişki



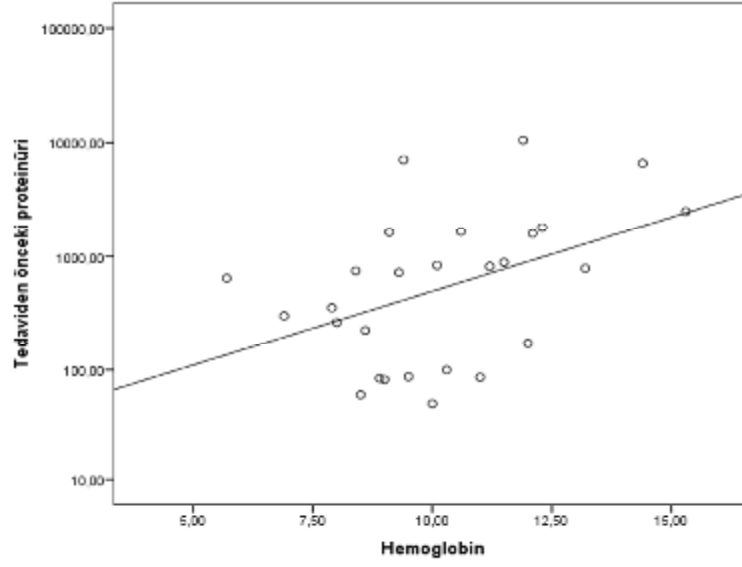
Şekil 23. Tedaviden önceki proteinüri ile serum kreatinin arasındaki ilişki



Şekil 24. Tedaviden önceki proteinüri ile serum total protein arasındaki ilişki



Şekil 25. Tedaviden önceki podosin ekspresyonu ile serum total protein arasındaki ilişki



Şekil 26. Tedaviden önceki proteinüri ile hemoglobin arasındaki ilişki

DM varlığına göre tedavi öncesi ve sonrası proteinüri, podosinüri ve idrarda podosin/kreatinin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (hepsi için $p>0,05$) (Tablo 8).

Tablo 8. DM varlığına göre tedavi öncesi ve sonrası proteinüri, podosinüri ve podosinüri/idrar kreatinin değerleri

	DM Yok (n:15)			DM Var (n:5)			p*
	Medyan	25pers	75pers	Medyan	25pers	75pers	
TÖ proteinüri	725,00	86,00	1808,00	301,00	264,00	819,00	0,933
TS proteinüri	163,00	81,00	400,00	188,00	120,00	259,00	0,866
TÖ podosinüri	30,48	16,80	60,55	8,34	,00	9,51	0,081
TÖ podosin/cr	0,74	0,46	1,47	0,31	0,13	1,061	0,432
TS podosinüri	174,85	3,27	430,54	31,78	3,46	39,40	0,612
TS podosin/cr	174,85	3,27	430,54	31,78	3,46	39,40	0,612

Pers: persantil. *Mann Whitney U testi p değeri, DM: Diyabetes mellitus, cr: kreatinin

Akut böbrek yetmezliği (ABY) varlığına göre tedavi öncesi değerlerin karşılaştırılması sonucunda; akut böbrek yetmezliği ile tedavi öncesi proteinüri, podosinüri, nefrinüri ve idrarda VEGF-A ekspresyon değerleri ve bu değerlerin idrar kreatinine oranı arasında anlamlı fark gözlenmedi (hepsi için $p>0,05$) (Tablo 9).

Tablo 9. Akut böbrek yetmezliği varlığına göre tedavi öncesi değerlerin karşılaştırılması

	ABY Yok (n:17)			ABY Var (n:10)			p*
	Medyan	25pers	75pers	Medyan	25pers	75pers	
TÖ proteinüri	725,00	87,00	837,00	995,50	225,00	1808,00	0,334
TÖ podosinüri	30,48	8,34	128,89	16,80	9,51	23,75	0,735
TÖ podosin/cr	,360	,073	,890	1,129	,462	4,824	0,217
TÖ nefrinüri	2,77	,00	13,55	23,10	,00	60,55	0,266
TÖ nefrin/cr	,956	,460	1,474	,396	,209	,587	0,130
TÖ VEGF-A	270,60	79,34	739,29	568,10	519,15	657,11	0,349
TÖ VEGF-A/cr	3,353	2,182	36,346	11,362	9,943	12,186	0,395

Pers: persantil, *Mann Whitney U testi p değeri TÖ: Tedavi öncesi, ABY: Akut böbrek yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği, hiperkalsemi ve proteinüri ile mortalite arasındaki ilişki incelendiğinde; ABY olan hastalardaki mortalite oranı (% 50,00) ABY olmayan hastalara göre (% 11,76) daha yüksek bulundu ($p: 0,029$). Hiperkalsemi (düzeltilmiş hali ile de), proteinüri ile Mortalite arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmadı (hepsi için $p>0,005$) , (Tablo 10).

Tablo 10. Akut böbrek yetmezliği, hiperkalsemi ve proteinüri ile mortalite arasındaki ilişki

		Yaşayan		Ölen		p*
		N	%	n	%	
ABY	Var	5	(50,00)	5	(50,00)	0,029
	Yok	15	(88,24)	2	(11,76)	
Hiperkalsemi	Var	5	(71,43)	2	(28,57)	0,853
	Yok	15	(75,00)	5	(25,00)	
Proteinüri	Var	15	(75,00)	5	(25,00)	0,853
	Yok	5	(71,43)	2	(28,57)	
D. Hiperkalsemi	Var	8	(80,00)	2	(20,00)	0,590
	Yok	12	(70,60)	5	(29,40)	

*Ki-Kare testi p değeri, ABY: Akut böbrek yetmezliği, D: Düzeltilmiş.

Tedavinin 6. ayında remisyon ve refrakter olma durumuna göre başlangıçta ABY ve proteinüri varlığı arasındaki ilişki incelendiğinde (ölen hastalar hariç) aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir ($p > 0,05$) , (Tablo 11).

Tablo 11. Remisyon ve refrakter olma durumuna göre ABY ve proteinüri varlığı

		Remisyon		Refrakter		p*
		n	%	n	%	
ABY	Var	2	(40,00)	3	(60,00)	0,606
	Yok	8	(53,33)	7	(46,67)	
Proteinüri	Var	7	(46,67)	8	(53,33)	0,606
	Yok	3	(60,00)	2	(40,00)	

*Ki-Kare testi p değeri, ABY: Akut böbrek yetmezliği

Remisyon ve refrakter olma durumuna göre tedavi öncesi nefrinüri, podosinüri, VEGF-A ekspresyonu ve bu değerlerin idrar kreatinine oranı karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (hepsi için $p > 0,05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Remisyon ve refrakter olma durumuna göre tedavi öncesi podositüri ve podositüri/ıdrar kreatinin değerleri

	Remisyon			Refrakter			p*
	Medyan	25pers	75pers	Medyan	25pers	75pers	
Nefrinüri	5,64	,00	23,10	3,70	,00	85,63	0,853
Nefrin/cr	,680	,462	1,129	,113	,046	2,578	0,445
Podosinüri	25,68	11,55	37,79	23,64	8,34	128,89	0,853
Podosin/cr	,740	,423	1,215	,600	,318	1,061	1,000
VEGF-A	446,06	98,36	739,29	287,70	158,68	675,59	0,739
VEGF-A/cr	7,537	2,714	36,346	3,995	1,041	9,943	0,579

Pers: persantil. *Mann Whitney U testi p değeri

Hastaların tedavi öncesi proteinüri, nefrinüri, podosinüri ve idrarda VEGF-A ekspresyon değerleri arasında anlamlı korelasyon yoktu (Tablo 13).

Tablo 13. Hastaların tedavi öncesi proteinüri, podosinüri ve podosinüri/ıdrar kreatinin değerleri arasındaki korelasyon

		Proteinüri	Nefrinüri	Nefrin/cr	Podosinüri	Podosin/cr	VEGF-A	VEGF-A/cr
Proteinüri	r		-0,160	-0,264	-0,270	-0,174	0,141	0,227
	p		0,501	0,384	0,250	0,504	0,552	0,336
Nefrinüri	r	-0,160			0,268		0,012	
	p	0,501			0,254		0,959	
Nefrin/cr	r	-0,264				0,301		0,445
	p	0,384				0,342		0,128
Podosinüri	r	-0,270	0,268				-0,181	
	p	0,250	0,254				0,446	
Podosin/cr	r	-0,174		0,301				0,196
	p	0,504		0,342				0,451
VEGF-A	r	0,141	0,012		-0,181			
	p	0,552	0,959		0,446			
VEGF-A/cr	r	0,227		0,445		0,196		
	p	0,336		0,128		0,451		

Hastaların tedavi sonrası podositüri ve podositüri/kreatinin oranları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadığı gözlenmiştir (hepsi için $p>0,05$) (Tablo 14).

Tablo 14. Hastaların tedavi sonrası podositüri ve podositüri/ıdrar kreatinin değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

	TS Hasta			Kontrol			p*
	Medyan	25pers	75pers	Medyan	25pers	75pers	
Nefrin/kreatinin	,81	,16	2,88	1,29	,64	2,38	0,496
Podosin/kreatinin	1,71	,29	3,08	,37	,21	22,86	0,823
VEGF-A/kreatinin	6,39	1,79	19,79	5,41	1,72	14,47	0,954
Nefrin	50,21	21,41	398,93	60,13	44,63	247,28	0,618
Podosin	174,85	31,78	430,54	33,36	13,64	2019,80	0,710
VEGF-A	430,54	206,50	643,59	430,54	183,55	661,68	1,000

*Mann Whitney U testi p değeri, TS: Tedavi sonrası

5. TARTIŞMA

Multipl myelom (MM) lu hastalarda tanı anında veya hastalık seyrinde böbrek fonksiyon bozukluğu sık görülmektedir. Tanı anında renal yetmezlik ve proteinüri insidansı sırasıyla; % 22-56 ve % 50-88'olarak bildirilmektedir.^{50,54} Literatüre benzer şekilde tanı sırasında hastalarımızda; proteinüri % 74,07 (20/27), böbrek yetmezliği % 33.33 (9/27) saptandı. Proteinüri, 3 hastada nefrotik düzeyde idi. MM'de proteinüriden sıklıkla hafif zincire bağlı tübüler hasar sorumludur. Amiloidoz, kristal yüklü histiyosit hastalığı gibi glomerüler lezyonlar da MM'de gösterilmiştir. MM'de; hafif zincirler böbrekte kast, fibril, granül, kristalloid olarak farklı şekillerde depolanabilir.⁷³ Hafif zincirlerin yaptığı hasarın % 70'i tübüler, % 30'u glomerüler patoloji ile ilişkilidir.

Otopsi ve biyopsi çalışmalarında, MM ve böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda en sık bulunan renal patoloji % 33-60 ile hafif zincir kast nefropatisidir. Bunu, monoklonal immünoglobülin depozit hastalığı ve amiloidoz takip eder.⁷⁴⁻⁷⁷ Bazı hastalarda hastalıkla ilişkili birden fazla renal patoloji bir arada görülebilir. Böbrek yetmezliği; bifosfonata bağlı renal toksisite, proteazom inhibitörlerine bağlı trombotik mikroanjyopati gibi tedavi ilişkili de olabilir.

Glomerüler hasarla birliktelik gösteren kristal yüklü histiyositozis, MM'de oldukça nadir görülen bir durumdur. Güncel olarak 11 adet vaka belirtilmiştir.⁷⁸ Hastaların böbrek biyopsilerinde podosit içinde elektron-dens intrastoplazmik inklüzyonlar, ayaksı çıkıntılarda düzleşme, GBM'de düzensizlik saptanmıştır. Bu sonuç, direkt olarak podositopatinin multipl myelomda çok rastlanan bir neden olmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda yeni tanılı MM olan hastalarda RT-PCR ile podositüri ve proteinüri ilişkisini inceledik. Literatürde daha önce bu konu ile ilgili çalışma olmaması nedeniyle preeklampsi, DM, *Fabry* hastalığı gibi diğer hasta grupları üzerinde yapılan klinik çalışmaları kaynak olarak kullandık. Hastaların tanı anında proteinüri medyan değeri 725,00; 6 aylık tedavi sonrası ise 165,50 idi. Çalışmayı tamamlayan hastaların üçünde (3/20) tanı anında nefrotik düzeyde proteinüri bulunmakta idi; bu hastaların 1'ine böbrek biyopsisi yapılmıştı ve AL amiloidoz vardı. Çalışmayı tamamlayamayan 7 hastanın 2'sinde böbrek biyopsisi vardı, her 2'sinde de hafif zincir birikim hastalığı saptandı; ayrıca bir hastada AL amiloidoz da eşlik etmekteydi.

Nefrin ve podosin, slit diyaframda bulunan ve podosit stabilizasyonunda çok önemli etkileri olan iki proteindir; sırasıyla NPHS-1 ve NPHS-2 genleri ile kodlanır.¹⁸ Sugimoto tarafından yapılan deneysel çalışmada, tek doz intravenöz anti-VEGF antikoru enjeksiyonunun ağır proteinüriyle seyrettiğini ve bunun glomerül hücrelerinde ayrılma ve proliferasyonu nedeniyle olduğunu; bu değişikliklerin glomerül filtrasyon bariyerinde görevli nefrinde down-regülasyonla ilişkili olduğunu göstermiştir.³⁵ Trimarchi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Fabry hastalarında, tedavi almamış olanların daha çok podositüriye sahip olduğu, tedavi alanlarda ise proteinürinin belirgin ve podositürinin daha az olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, podositürinin proteinüriden önce olduğunu destekleyen bir bulgudur.³⁶ Podositürinin tedavi edilmiş hastalarda az olmasının nedeni; enzim replasmanının podositüriyi azaltabileceğine bağlı olarak düşünülmüş, replasman ve ACE blokajının podositin GBM'ye stabilizasyonunu artırması olarak belirtilmiştir. Podositürinin, *Fabry* tanılı hastaların yakınlarında yüksek miktarda olduğu gözlenmiştir. VEGF-A, tübül epitel hücreleri ve podositler tarafından eksprese edilen bir büyüme faktörüdür; bu sayede kapiller endotelde fenestrasyonlar oluşur ve filtre edilen plazma miktarı artar. Vasküler gelişimin erken evrelerinde ortamda bulunması gerekir.⁷⁹

Çalışmamızda; nefrin, podosin ve VEGF-A genlerini RT-PCR ile idrarda inceledik. Hem kontrol hem de hasta grubunda 7'şer hastada (7/20) idrarda nefrin ekspresyonu negatifti. Hasta grubundaki bu 7 kişinin 3'ünde aynı zamanda podosin ekspresyonu da negatifti. Hastaların ve kontrol grubunun tümünde VEGF-A eksprese edildi. Bu, podositürinin fizyolojik durumlarda da olması ile açıklanabilir. İdrarda her gün 400 kadar podositin atıldığı saptanmış; ancak bu fizyolojik kaybın proteinüri ile ilişkisi olmadığı ileri görülmüştür.⁸⁰

Hasta grubunda başlangıçla kıyaslandığında; proteinürinin 6 ay sonra hastalarda anlamlı derecede gerilediği görüldü. Bu durum, anti-myelom tedavi ile renal patolojiye yol açan olası hafif zincir ve diğer nedenlere bağlı (hiperkalsemi, hiperürisemi gibi) etkilerin azalması veya ortadan kalkması ile ilişkili olabilir. Proteinürinin gerilemiş olmasına karşın, podositüride proteinüri ile eş zamanlı azalma olmadı; aksine tüm podosit proteinlerinde tedavi sonrası dönemde artış gözlemlendi. Bu durum farklı hipotezlerle açıklanabilir. Myelom tedavisinde kullanılan ajanların podosit hasarlanmasını arttırmış olduğu düşünülebilir. Proteazom inhibitörleri ile ilişkili

trombotik mikroanjiyopati bildirilmiş bir komplikasyondur.⁸¹ Hastalarımızın hepsi (27/27) bortezomib içeren kemoterapi aldı ancak klinik olarak trombotik mikroanjiyopati bulgularına rastlanılmadı. Kürabl olmaması nedeniyle hastalığın gidişatı boyunca myelom ilişkili podosit hasarlanması devam ediyor olabilir. Glomerüler hasarla giden ve podositopatiye yol açtığı bilinen diyabetes mellitus gibi ek hastalıklar⁸², bu sonuçla ilişkili olabilir. Hastalarımızın 5 tanesinde kontrollü tip 2 DM mevcut idi ve tanı anında 2 hastanın idrarı nefrin ve podosit ekspresyonu yönünden negatif idi. Hasta grubumuzda diyabetin var olması ile proteinüri ve podositüri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Diyabetik olmayan grupta proteinüri ve podositüri medyan değerlerinin diyabetik gruba göre daha yüksek olması, diyabet-podositüri ilişkisi üzerinde yapılmış çalışmalarla çelişmektedir.^{22,82} Bu durum; istatistiksel değerlendirme yapılan hasta sayısının az olması, diyabetin bu hastalarda kontrollü ve komplikasyonsuz olması ile açıklanabilir.

Podosit proteinlerini idrar kreatinine oranlayarak istatistik yapıldığında, anlamlı olarak tedavi sonrası dönemde, öncekine göre podositürde artış olduğu tespit edildi. Direkt PCR ile saptanan ekspresyon sonuçlarıyla kıyaslandığında, hasta grubunda tedavi sonrası dönemde artışın bu yöntemle daha güçlü desteklendiği düşünüldü. Trimarchi ve arkadaşlarının Fabry hastaları üzerinde yaptığı klinik çalışmada podositüri ve flouresans mikroskopi ile idrarda podosit/kreatinin oranının birbiriyle benzer sonuçlar verdiği görülmüştür.³⁶ Bizim çalışmamızda vaka sayısının sınırlı olması, teknikler arası farklılık ve hasta gruplarının farklı olması nedeniyle sonuçlar birbiri ile uyumlu olmayabilir.

Podosit proteinlerini saptamak için immünfloresan ile hücre kültürü, immünohistokimya, qRT-PCR, kitle spektrometri, flow-sitometri gibi metodlar kullanılabilir.^{36,83-85} Farklı yöntemlerin kendine göre farklı avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Örneğin immünfloresan; zaman alan, oldukça pahalı, kişi bağımlı, podosit hasarlanma ve dekolman mekanizmasının aydınlatılması oldukça zor bir yöntem iken PCR ile apoptotik podositlerden de m-RNA elde edileceği bilinmelidir.⁸⁶ Yine de qRT-PCR metodunun güvenilirliğini gösteren çalışmalar da vardır.⁸⁷

Hastalarımızın 6 aylık tedavi sonrası ve öncesi parametreleri karşılaştırıldığında, proteinüriye ilave olarak BUN, kreatinin, kreatinin klerensi, total protein, albümin değerlerinde anlamlı ölçüde olumlu değişiklikler mevcut idi. Başlangıçtaki BUN ve

kreatinin değerlerinin yüksek olması; yüksek hafif zincir düzeyi, hiperkalsemi ve eşlik eden dehidratasyon, üriner sistem enfeksiyonu gibi faktörlerin anti-myelom tedavi ve destek tedaviler ile düzelmesine bağlı olabilir. Tanı anında hastaların % 25'inde (5/20) ABY mevcut idi. Çalışmayı tamamlayamayan hastalar dâhil edildiğinde bu oran % 37,03 (10/27) olmaktaydı. Çalışmayı tamamlayan, başvuruda ABY'si olan 4 hastanın kreatinini 6. ayın sonunda normal seviyelerde idi. Diyaliz gerektiren, böbrek fonksiyon kaybı olduğu dönemde tanı alan bir hasta vardı. ABY ile başvuran bu 4 hastanın 3' 6. ayda, kemik iliğinin infiltrate olması ve M proteini varlığı nedeniyle refrakter olarak değerlendirilmiştir. Refrakter olduğu bilinen 10 hastanın 3'ünde başvuru anında ABY vardı. Bu 3 hastanın 1'inde proteinüri 1808 mg/gün ve diğerlerinde <500 mg/gün idi. Bu 3 hastanın 2'sinde podositrilerinde artış saptanırken 1'inde azalma mevcuttu. Bu nedenle başlangıçta podositüri varlığı, tedavi yanıtı veya proteinürinin gidişini tahmin etmede bize yararlı olmadı. Hasta sayısının az olması bu sonuca neden olmuş olabilir. Podositürinin proteinüriden önce olduğunu gösteren çalışmalar göz önüne alındığında,³⁶ bu hastalarda ilerleyen dönemde proteinüri gözlenebilir. ABY ile mortalite arasında ise anlamlı bir ilişki vardır. İlk 6 ay içinde ölen 7 hastanın 5'inin başvuruda ABY'sinin olması bunu desteklemektedir. Bu hastaların sadece 1'inde hemodiyaliz ihtiyaı olmuştur. reminin mortalite ile ilişkisi; immünsüpresyon, aterosklerotik olay insidansında artma, asit/baz ve elektrolit imbalansı gibi durumlarla açıklanabilir.

Hastalarda, 6 ay sonraki değerleri ile kıyasladığımızda, hemoglobin ve hematokrit değerlerinin başlangıç değerlerine göre anlamlı ölçüde arttığı saptandı. Hemoglobin ve hematokrit değerlerinde düzelme, kemik iliği infiltrasyonunda azalma, M protein fazlalığına bağlı dilüsyonda azalma veya anti-inflamasyon ile ilişkili olabilir.

Proteinüri, renal fonksiyonun takibinde oldukça güvenilir bir belirteçtir. Hastalarımızın 19'unda 6. ayda proteinüride azalma birinde artış saptandı. Proteinürisi artan 1 hastada refrakter hastalık tespit edildi ve tedavi değişikliği yapıldı. Refrakter olduğu bilinen diğer 9 hastanın ise proteinüri düzeylerinde azalma mevcut idi. Proteinürinin devam etmesi ile tedavi yanıtı arasında bir ilişki gözlenmedi. Tanı anında proteinüri ile kreatinin yüksekliği arasında anlamlı bir ilişki mevcut ve akut böbrek yetmezliği olan grupta mortalite daha yüksek idi. Bu durum, güncel pratikte renal fonksiyon bozukluğunun takibinde proteinüri ve kreatinin değerinin birlikte değerlendirilmesinin önemini göstermektedir. Podositüri, tedavi ile proteinürinin aksine

artış gösterdi. Bu durum; hasta sayısının az olması ile birlikte tedavinin veya hastalığın kendisinin podositopatiyi tetikleyeceğini düşündürülebilir. Proteazom inhibitörlerine bağlı trombotik mikroanjiyopati, hastaların klinik takibi boyunca gözlenmedi. Bu konu için daha fazla sayıda hasta üzerinde çalışma yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak; yeni tanı almış multipl myelomlu hastalarımızda proteinüri % 74, böbrek yetersizliği %33 saptandı. Proteinüri, 6 aylık tedaviden sonra anlamlı ölçüde azaldığı halde idrarda podosit proteinlerinden nefrin, podosin ve VEGF-A'da, istatistiksel anlamlı olmayan artış görüldü. İdrarda nefrin/kreatinin, podosin/kreatinin ve VEGF-A/kreatinin oranında artış anlamlı bulundu. Yine 65 yaş üstü hastalarda tedavi sonrası sadece nefrin/kreatinin artışında istatistiksel anlamlılık saptandı. Böbrek yetersizliği ve proteinüri ilk 6 ayda ölen hastalarda daha sık bulundu. Serum kalsiyum ve total protein değerleri, podosinüri ile; kreatinin klerensi idrar VEGF-A ekspresyonu ile; hemoglobin, serum total protein ve kreatinin değerleri proteinüri ile önemli korelasyon gösterdi. Proteinüri ve böbrek yetersizliği myelom tedavisi ile düzeldiği halde, tedavide kullanılan ilaçların veya başka faktörlerin etkisi ile ilgili olarak podositürde düzelme 6 aylık sürede gözlenmedi. Bu nedenle podosit hasarlanması multipl myelomlu hastalarda erken evrede sadece podosit spesifik proteinlerin idrarda ölçülmesi ile klinik olarak saptanamayabilir veya myelomla ilişkili hafif zincirlerin tübüler hasarlanma yapıcı etkileri renal hasarlanmada daha önemli olduğu söylenebilir.

6. SONUÇ

- Çalışmamızda hastaların başvuruda % 74,07'sinde (20/27) proteinüri ve % 33,3'ünde böbrek yetmezliği mevcut idi. 6 ay sonrası dönemde proteinüri ve böbrek yetmezliğinin anlamlı derecede azaldığı görüldü.
- Tanı anında hastalar ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında proteinüri yönünden anlamlı farklılık saptandı. Podositüri, iki grupta da bulunmakta idi.
- Hastaların tedavi öncesi ve sonrası değerleri karşılaştırıldığında; podositürde azalma olmadı; aksine medyan değerleri artış gösterdi. Podositüri/idrar kreatinin oranlarında, tedavi sonrası anlamlı artış görüldü.
- DM'lu hastalarda (5/20) podositüri ve proteinürileri diğer hastalardan farklılık göstermedi.
- Akut böbrek yetmezliğinin, hastaların mortalitesi üzerinde etkili olduğu görüldü.
- Multipl myelomda böbrek hasarı üzerinde podositopati ile ilgili daha fazla hasta üzerinde çalışmaya ihtiyaç vardır. Hasta sayımızın az olması nedeniyle çalışmanın güvenilirliği yüksek değildir.

KAYNAKLAR

1. **Pavenstädt H, Kriz W, Kretzler M.** Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* **2003**; 83: 253-307.
2. **Özçakar ZB, Yalçinkaya F, Ekim M.** Inherited podocyte diseases. *Turkish Nephrology, Dialysis and Transplantation Journal* **2004**; 13: 125-9.
3. **Ichihara A.** (Pro)renin receptor and autophagy in podocytes. *Autophagy* **2012**; 8: 271-2.
4. **Bohrer MP, Baylis C, Humes HD, Glassock RJ, Robertson CR, Brenner BM.** Permselectivity of the glomerular capillary wall. Facilitated filtration of circulating polycations. *J Clin Invest* **1978**; 61: 72-8.
5. **Remuzzi A, Remuzzi G.** Glomerular perm-selective function. *Kidney Int* **1994**; 45: 398- 402.
6. **Camici M.** Renal glomerular permselectivity and vascular endothelium. *Biomed Pharmacother* **2005**; 59: 30-7.
7. **Kretzler M.** Regulation of adhesive interaction between podocytes and glomerular basement membrane. *Microsc Res Tech* **2002**; 57: 247-53.
8. **Schordan S, Schordan E, Endlich K, Endlich N.** AlphaV-integrins mediate the mechanoprotective action of osteopontin in podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* **2011**; 300: 119-32.
9. **Miner JH.** Renal basement membrane components. *Kidney Int* **1999**; 56: 2016-24.
10. **Aoudjit L, Jiang R, Lee TH, New LA, Jones N, Takano T.** Podocyte Protein, Nephlin, Is a Substrate of Protein Tyrosine Phosphatase 1B. *J Signal Transduct* **2011**; 2011: 376543.
11. **Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, Takagi M, Kodama F, Tomino Y.** The role of podocytes in proteinuria. *Nephrology* **2007**; 12: S15-20.
12. **Mir S.** Proteinuria mechanism, which has led to the nephrotic syndrome. *Journal of Current Pediatrics* **2006**; 4: 34-5.
13. **Barisoni L, Kriz W, Wiggins RC, Mundel P, d'Agati V.** Podocyte dedifferentiation predicts glomerulosclerosis in nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* **1997**; 8: 532.
14. **Shankland SJ, Eitner F, Hudkins KL, Goodpaster T, D'Agati V, Alpers CE.** Differential expression of cyclin-dependent kinase inhibitors in human glomerular disease: role in podocyte proliferation and maturation. *Kidney Int* **2000**; 58: 674-83.
15. **Scharnhorst V, van der Eb AJ, Jochemsen AG.** WT1 proteins: functions in growth and differentiation. *Gene* **2001**; 273: 141-61.
16. **Kaplan JM, Kim SH, North KN, Rennke H, Correia LA, Tong HQ, et al.** Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* **2000**; 24: 251-6.
17. **Osathanondh V, Potter EL.** Development of human kidney as shown by microdissection. *Arch Pathol* **1966**; 82: 403-11.

18. **Yuan HT, Suri C, Yancopoulos GD.** Expression of angiopoietin-1, angiopoietin-2, and the Tie-2 receptor tyrosine kinase during mouse kidney maturation. *J Am Soc Nephrol* **1999**; 10: 1722-36.
19. **Woolf AS, Cale CM.** Roles of growth factors in renal development. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **1997**; 6: 10-4.
20. **Bollain-Y-Goytia JJ, González-Castañeda M, Torres-Del-Muro F, Daza-Benitez L, Zapata-Benavides P, Rodríguez-Padilla C, et al.** Increased excretion of urinary podocytes in lupus nephritis. *Indian J Nephrol* **2011**; 21: 166-71.
21. **Moreno JA, Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Lassila M, Holthofer H, Blanco-Colio LM, et al.** A slit in podocyte death. *Curr Med Chem* **2008**; 15: 1645-54.
22. **Su J, Li SJ, Chen ZH, Zeng CH, Zhou H, Li LS, et al.** Evaluation of podocyte lesion in patients with diabetic nephropathy: Wilms' tumor-1 protein used as a podocyte marker. *Diabetes Res Clin Pract* **2010**; 87: 167-75.
23. **Tryggvason K, Patrakka J, Wartiovaara J.** Hereditary proteinuria syndromes and mechanisms of proteinuria. *N Engl J Med* **2006**; 354: 1387-401.
24. **Chiang CK, Inagi R.** Glomerular diseases: genetic causes and future therapeutics. *Nat Rev Nephrol* **2010**; 6: 539-54.
25. **Greka A, Mundel P.** Cell biology and pathology of podocytes. *Annu Rev Physiol* **2012**; 74: 299-323.
26. **Musiał K, Zwolińska D.** Structure and function of the glomerular filtration barrier. *Pol Merkuriusz Lekarski* **2005**; 18: 317-20.
27. **Chuang PY, He JC.** Signaling in regulation of podocyte phenotypes. *Nephron Physiol* **2009**; 111: 9-15.
28. **Dai HY, Zheng M, Tang RN, Ni J, Ma KL, Li Q, et al.** Effects of angiotensin receptor blocker on phenotypic alterations of podocytes in early diabetic nephropathy. *Am J Med Sci* **2011**; 341: 207-14.
29. **Fujiwara Y, Tsuchiya H, Sakai N, Shibata K, Fujimura A, Koshimizu TA.** Proximal tubules and podocytes are toxicity targets of bucillamine in a mouse model of drug-induced kidney injury. *Eur J Pharmacol* **2011**; 670: 208-15.
30. **Marshall CB, Shankland SJ.** Cell cycle regulatory proteins in podocyte health and disease. *Nephron Exp Nephrol* **2007**; 106: 51-9.
31. **Panek-Laszczyńska K, Konieczna A, et al.** Podocyturia as an early diagnostic marker of preeclampsia. *Biomarkers* **2017**; 73: 51-124.
32. **Garovic VD, et al.** Urinary podocyte excretion as a marker for preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology* **2007**; 196: 320–327.
33. **Craici IM, et al.** Podocyturia predates proteinuria and clinical features of preeclampsia: longitudinal prospective study. *Hypertension* **2013**; 61: 1289–1296.
34. **Jim B, et al.** A comparison of podocyturia, albuminuria and nephrinuria in predicting the development of preeclampsia: a prospective study. *PLoS One* **2014**; 9: 101445.

35. **Sugimoto H, et al.** Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *Journal of biological chemistry* **2003**; 278: 12605–12608.
36. **Trimarchi H, Canzonieri R, Schiel A, Politei J, Stern A, Andrews J, Paulero M, Rengel T, Aráoz A, Forrester M, Lombi F, Pomeranz V, Iriarte R, Young P, Murryan A, Zotta E.** Podocyturia is significantly elevated in untreated vs treated Fabry adult patients. *J Nephrol* **2016**; 29: 791-797.
37. **Trimarchi H, Canzonieri R, Schiel A, Collaguazo CC, et al.** In IgA Nephropathy, Glomerulosclerosis Is Associated with Increased Urinary CD80 Excretion and Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor-Positive Podocyturia, *Nephron Extra* **2017**; 7: 52–61.
38. **Zhang B, Xie S, Shi W, Yang Y.** Amiloride off-target effect inhibits podocyte urokinase receptor expression and reduces proteinuria. *Nephrol Dial Transplant* **2012**; 27: 1746-1755.
39. **Wickman L, Afshinnia F, Wang SQ, Yang Y, Wang F, Chowdhury M, Graham D, et al.** Urine podocyte mRNAs, proteinuria, and progression in human glomerular diseases. *J Am Soc Nephrol* **2013**; 24: 2081-2095.
40. **Glasscock R.** *Textbook of Nephrology*. 3rd ed, Baltimore: Williams and Wilkins, **1995**.
41. **Soylu A, Kavukçu S.** *Böbrek Hastalıkları*. 4. Baskı, İzmir: Güven Kitabevi, **2011**.
42. **Rovin BH.** Assessment of urinary protein excretion and evaluation of isolated non-nephrotic proteinuria in adults. www.uptodate.com 2017. Erişim tarihi 06.01.2018
43. **Weiss BM, Abadie J, Verma P, Howard RS, Kuehl WM.** A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood* **2009**; 113: 5418-22.
44. **Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak MF, et al.** A long term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Eng J Med* **2002**; 346: 564-9.
45. **Tricot G, Fassas A.** *Hematology Basic Principles and Practice*. Philadelphia; Elsevier Churchill Livingstone, **2008**.
46. **Altıparmak MR, Hamuryudan V, Sonsuz A, Yazıcı H.** *Cerrahpaşa İç Hastalıkları*. 2. Baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık, **2012**.
47. **Morgan GJ, Davies FE, Linet M.** Myeloma etiology and epidemiology. *Biomed Pharmacother* **2002**; 26: 223-34.
48. **Fernberg P, Orenbro A, Bellocco R, Boffetta P, Pawitan Y, Zendejdel K, et al.** Tobacco use, body mass index and the risk of leukemia and multiple myeloma. *A nationwide cohort study in Sweden Cancer Res* **2007**; 67: 5983-6.
49. **Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Melton LJ.** Long-term follow-up of 241 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Mayo clin proc* **2004**; 79: 856-66.
50. **Kyle RA.** Multiple Myeloma: review of 869 cases. *Mayo Clin Proc* **1975**; 50: 29-40.
51. **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.

52. **Kapadia SB.** Multiple myeloma: a clinicopathologic study of 62 consecutively autopsied cases. *Medicine* **1980**; 59: 380-92.
53. **Savage DG, Lindenbaum J, Garrett TJ.** Biphasic pattern of bacterial infection in multiple myeloma. *Ann Intern Med* **1982**; 96: 47-50.
54. **Blade J, Fernandez Llama P, Bosch F, Montoliu J, Lens XM, Montoto S, et al.** Renal failure in multiple myeloma: presenting features and predictors of outcome in 94 patients from a single institution. *Arch Intern Med* **1998**; 158: 1889-93.
55. **Irish AB, Winearls CG, Littlewood T.** Presentation and survival of patients with severe renal failure and myeloma. *QJM* **1997**; 90: 125-33.
56. **MacLennan IC, Cooper EH, Chapman CE, Kelly KA, Crockson RA.** Renal failure in myelomatosis. *Eur J Haematol Suppl* **1989**; 51: 60-5.
57. **Durie BG.** Staging and kinetics of multiple myeloma. *Semin Oncol* **1986**; 13: 300-9.
58. **International Myeloma Working Group.** Criteria for classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* **2003**; 121: 749-57.
59. **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al.** WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. *Blood* **2011**; 117: 5019–5032.
60. **Tonon G.** Molecular pathogenesis of multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am* **2007**; 21: 985-1006.
61. **Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, et al.** Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma. *Intergroup Francophone du Myelome* **2007**; 109: 3489-95.
62. **Chang H, Li D, Zhuang L, Nie E, Bouman D, Stewart AK, et al.** Detection of chromosome 13q deletions and IgH translocations in patients with multiple myeloma by FISH: comparison with karyotype analysis. *Leuk Lymphoma* **2004**; 45: 965-9.
63. **Dimopoulos MA, Terpos E, Chanan-Khan A, Leung N, Ludwig H, Jagannath S, et al.** Renal impairment in patients with multiple myeloma: a consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol* **2010**; 28: 4967-84.
64. **Eleftheriakakis-Papapiakovou E, Kastritis E, Roussou M, Gkatzamanidou M, Grapsa I, Psimenou E, et al.** Renal impairment is not an independent adverse prognostic factor in patients with multiple myeloma treated upfront with novel agent-based regimens. *Leuk Lymphoma* **2011**; 52: 2299-303.
65. **Hutchinson CA, Cockwell P, Stringer S, Bradwell A, Cock M, Gertz MA, et al.** Early reduction of serum-free light chains associates with renal recovery in myeloma kidney. *J Am Soc Nephrol* **2011**; 22: 1129-36.
66. **Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, et al.** Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* **2005**; 67: 2089-100.
67. **Bridoux F, Fermanand JP.** Optimizing treatment strategies in myeloma cast nephropathy: rationale for a randomized prospective trial. *Adv Chronic Kidney Dis* **2012**; 19: 333-41.

68. **Davenport A, Merlini G.** Myeloma kidney: advances in molecular mechanisms of acute kidney injury open novel therapeutic opportunities. *Nephrol Dial Transplant* **2012**; 27: 3713-8.
69. **Leung N, Jehrens B.** Current approach to diagnosis and management of acute renal failure in myeloma patients. *Adv Chronic Kidney Dis* **2012**; 19: 297-302.
70. **Lachmann HJ, Wassef NL.** The role of immunological assessment in patients with acute kidney injury and possible myeloma. *Adv Chronic Kidney Dis* **2012**; 19: 287-90.
71. **Hutchison CA, Batuman V, Behrens J, Bridoux F, Sirac C, Dispenzeri A, et al.** International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group. The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. *Nat Rev Nephrol* **2011**; 8: 43-51.
72. **Oehrlein K, Langer C, Sturm I, Pönisch W, Hann-Ast C, Kuhn S, et al.** Successful treatment of patients with multiple myeloma and impaired renal function with lenalidomide: results of 4 German centers. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* **2012**; 12: 191-6.
73. **Keller LS, Faull RJ, Smith P, et al.** Crystalloid deposits in the kidney. *Nephrology* **2005**; 10: 81-83.
74. **Pasquali S, Zucchelli P, Casanova S, Cagnoli L, Confalonieri R, Pozzi C, Banfi G, Lupo A, Bertani T.** Renal histological lesions and clinical syndromes in multiple myeloma. *Clin Nephrol* **1987**; 27: 222.
75. **Iványi B.** Renal complications in multiple myeloma. *Acta Morphol Hung* **1989**; 37: 235.
76. **Montseny JJ, Kleinknecht D, Meyrier A, Vanhille P, Simon P, Pruna A, Eladari D.** Long-term outcome according to renal histological lesions in 118 patients with monoclonal gammopathies. *Nephrol Dial Transplant* **1998**; 13: 1438.
77. **Nasr SH, Valeri AM, Sethi S, Fidler ME, Cornell LD, Gertz MA, Lacy M, Dispenzieri A, Rajkumar SV, Kyle RA, Leung N.** Clinicopathologic correlations in multiple myeloma: a case series of 190 patients with kidney biopsies. *Am J Kidney Dis* **2012**; 59: 786.
78. **Nasr SH, Preddie DC, Markowitz GS, Appel GB, D'Agati VD.** Multiple myeloma, nephrotic syndrome and crystalloid inclusions in podocytes. *Kidney Int*, **2006**; 69: 616-620.
79. **Eremina V, Sood M, Haigh J, Nagy A, Lajoie G, Ferrara N, Gerber HP, Kikkawa Y, Miner JH, Quaggin SE.** Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* **2003**; 111: 707-716.
80. **Vogelmann SU, Nelson WJ, Myers BD, Lemley KV.** Urinary excretion of viable podocytes in health and renal disease. *Am J Physiol Renal Physiol* **2003**; 285: 40-8.
81. **A Lodhi, A Kumar.** Thrombotic microangiopathy associated with proteasome inhibitors. *Clinical Kidney Journal*, **2015**; 8: 632–636.
82. **Kumar PA, Welsh GI, Salee MA, Menon RK.** Molecular and cellular events mediating glomerular podocyte dysfunction and depletion in diabetes mellitus. *Front Endocrinol* **2014**; 5: 151.
83. **Jim B, Jean-Louis P, Qipo A, Garry D, Mian S, Matos T, Provenzano C, Acharya A.** Podocyturia as a diagnostic marker for preeclampsia amongst high-risk pregnant patients. *J Pregnancy* **2012**; 61: 1289-1296.

84. **Maestroni S, Maestroni A, Dell'Antonio G, Gabellini D, Terzi S, Spinello A, Meregalli G, Castoldi G, Zerbini G.** Viable podocyturia in healthy individuals: implications for podocytopathies. *Am J Kidney Dis* **2014**; 64: 1003–1005.
85. **Perez-Hernandez J, Olivares MD, Forner MJ, Chaves FJ, Cortes R, Redon J.** Urinary dedifferentiated podocytes as a non-invasive biomarker of lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* **2016**; 31: 780–789.
86. **H Trimarchi.** Podocyturia: Potential applications and current limitations. *World J Nephrol* **2017**; 6: 221–228.
87. **Kelder TP, Penning ME, Uh HW, Cohen D, Bloemenkamp KW, Bruijn JA, Scherjon SA, Baelde HJ.** *Hypertension* **2012**; 60: 1538-44.

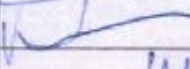
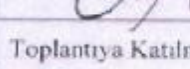


EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
Toplantı Sayısı		Tarih
54		10 Haziran 2016

KARAR NO 4- İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nın bilimsel işbirliğiyle, Prof. Dr. Saime Paydaş yönetiminde, Prof. Dr. Semra Paydaş'ın, Prof. Dr. Aysun Uğuz'un katkılarıyla, Araş. Gör. Dr. Tolga Kuzu tarafından yürütülmesi öngörülen, "Yeni Tanı Almış Multipl Myelom'lu Hastalarda Nefropati ile Podositüri İlişkisi ve Tedavi Sonrası Karşılaştırılması" başlıklı tıpta uzmanlık tez projesi araştırma etiği yönünden değerlendirildi. Toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

BAŞKAN	Doç Dr Selim Kadioğlu Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	
ÜYELER	Prof Dr Davut Alptekin Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Dinçer Yıldızdaş Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	
	Prof Dr Mehmet Kanadaşı Kardiyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gülşah Seydaoğlu Biyoistatistik Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gürhan Sakman Genel Cerrahi Anabilim Dalı	
	Doç Dr Suat Gezer Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Av. Zehra Bulut Hukukçu Üye	
	Dr Neşe Kayrın Kurum Dışı Üye	Toplantıya Katılmadı

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, Balcalı 01330 Adana
Telefon: 0322 338 60 60 dahili 3465, Faks: 0322 338 67 22

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tolga KUZU

Doğum Tarihi ve Yeri : 29.12.1989, Konak-İZMİR

Medeni Durumu : Bekar

Adres: Mahfesiğmaz Mahallesi, 79110 sokak Burç Apartmanı A Blok Daire:3,
Çukurova-ADANA

Telefon : 0534-960-71-18

E-posta : tkuzu35@gmail.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi: Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi
(2013)

Görev Yerleri: Hayrabolu Devlet Hastanesi, Hayrabolu-TEKİRDAĞ, Çukurova
Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Sarıçam/ADANA

Yabancı Dil(ler) : İngilizce