TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MULTİPLE MİYELOM HASTALARINDA MİKROPARTİKÜL PROKOAGULAN AKTİVİTENİN (MP:PKA) TEDAVİLERLE VE TROMBOTİK KOMPLİKASYONLAR İLE İLİŞKİSİ

Seda GÜNALTAY

İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Muhit ÖZCAN

Bu tez, Türk Hematoloji Derneği Araştırma Projelerine Destek Programı tarafından 2007/383 proje numarası ile desteklenmiştir.

2008-ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Hematodiagnostik Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından,

Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: 24/07/2008

Prof. Dr. Günhan GÜRMAN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Muhit ÖZCAN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Meral BEKSAÇ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Önder ARSLAN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Nejat AKAR
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay **ii**

İçindekiler **iii**

Önsöz **v**

Simgeler ve Kısaltmalar **vi**

Şekiller **ix**

Çizelgeler **x**

1.GİRİŞ

1.1. Multiple Miyeloma 1

1.1.1. Monoclonal Gammopaty of Undetermined Significance (MGUS) 8

1.1.2. Laboratuar özellikleri 10

1.1.3. Multiple Miyelom'da kanın koagulasyon mekanizması 24

1.1.4. Lupus antikoagulan 13

1.2.1. Multiple Miyelom'da Tedavi ile ilişkili Derin Ven Trombozu 15

1.2.2. Talidomid 18

1.2.3. Talidomid ve Deksametazon (TD) 19

1.2.4. Talidomid ve sitotoksik kemoterapi 19

1.3. Mikropartikül nedir? 24

1.3.1. Mikropartikül oluşumu ve yapısı 25

1.3.2. Koagulasyon 27

1.3.3. Doku Faktörü (TF, Tissue Factor) 29

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Plazmaların hazırlanması 31

2.2. Zymuphen Mikropartikül Aktivitesi 32

3. BULGULAR 35

4. TARTIŞMA 43

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 46
ÖZET 47
SUMMARY 48
KAYNAKLAR 49
ÖZGEÇMİŞ 52

ÖNSÖZ

Multiple miyeloma hastalığı giderek daha fazla görüldüğü düşünülen önemli bir hematolojik kötü huylu hastalıktır. Son yıllarda yeni tedavi seçenekleri ile tedavi başarısında artışlar sağlanmıştır. Ancak bu artışlar beraberinde venöz tromboembolizm riskini de getirmiştir. Bazı serilerde %20'lere ulaşan bu tromboembolizme yatkınlık yaratan durumlar henüz tam bilinmemektedir. VTE yatkınlığını açıklamaya yönelik yapılan hemostatik sistem incelemeleri de kesin bir yönü işaret etmemiştir. Hemostatik sistemin, yakın zamanlarda, en çok ilgi toplayan unsurlarından birisi dolaşımdaki mikropartiküller ve bunların yarattığı prokoagulan aktivitedir. Prokoagulan MPlerin lökosit, endotel veya trombosit orijinli olabileceği ve kaynağı her ne olursa olsun kardiyovasküler ve trombotik hastalıklarda trombus oluşumuna katkısı olabileceği gösterilmiştir.

Bu çalışmada üzerinde aktif doku faktörü (TF= Tissue factor) barındıran mikropartikül seviyelerinin Multiple Miyelom hastalarında kan düzeylerini belirlemek, tedavilerle değişimini irdelemek ve tromboz gelişiminde olası rolünü gösterebilmek amaçlanmıştır. Mikropartikül Prokoagulan Aktivite ölçümünün hastalığın tedavisi süresince, tedaviye bağlı olarak tromboz gelişimi konusunda yol gösterici bir parametre olabileceği düşünülmektedir.

Ankara Üniversitesi Hematoloji Laboratuarı sorumlusu Uzm. Dr. Klara Dalva ve Danışmanım Prof. Dr. Muhit Özcan'a, Hematoloji Bilim Dalı Uzm. Dr. Sinem Civriz Bozdağ'a sonsuz desteklerinden ötürü teşekkür ederim. Ayrıca çalışma aşamasında bana her türlü desteği sağlayan sevgili çalışma arkadaşlarım Burcu Çuhadar, Esin Serbest ve Duygu Sezginer'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AL	Amiloid Hafif Zincir
APC-r	Aktive Protein C rezistansı
α	Alfa
CPR	C Reaktif Protein
C	Centigrate(santigrat)
CAM-DR	Cell Adhesion Mediated Drug Resistance (hücre adezyonu ile düzenlenen ilaç direnci)
CD	Cluster of Differentiation
DEX	Deksametzon
DT-PACE	Deksametazon, Talidomid, Siklofosfamid, Adriamisin(doksorubisin), Cisplatin, Etoposid
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DVT	Derin Ven Trombozu
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay(Enzim Bağlı İmmün Antikor Yöntemi)
EMP	Endotelial Mikropartikül
GP	Glikoprotein
GP-1b	Glikoprotein 1b
HDM	High Dose Melphalan(Yüksek Doz Melfalan)
IL	Instrumentation Laboratories
IL	İnterlökin
IgA	Immünglobulin A
IgG	Immünglobulin G
κ	Kappa
LCDD	Light Chain Deposition Disease(hafif zincir birikim hastalığı)
λ	Lambda

mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
MIP	Makrofaj İnflamatuar Protein
MM	Multiple Miyeloma
MGUS	Monoclonal Gammopaty of Undetermined Significance
MP	Melfalan
MPT	Melfalan – Talidomid
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
OPG	Osteoprotegrin
OPKHN	Otolog Periferal kan Kök Hücre Nakli
POEMS	Polinöropati, Organomegali, Endokrinopati, Monoklonal gamapati ve deri değişimler
PMP	Platelet Mikropartikül (Trombosit Mikropatikül)
PCGL	P selektin Glikoprotein Ligand
PL	Fosfolipid
PECAM	Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (Trombosit Endotel Hücre Adhezyon Molekülü)
PAF	Platelet Activating Factor (Trombosit Aktive edici Faktör)
PF-4	Platelet Factor -4 (Trombosit Faktör-4)
PDGF	Platelet Derived Growth Factor (Trombosit Derive Büyüme Faktör)
RRMM	Relaps Refrakter Multiple Miyelom
RANTES	Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted
RANKL	Receptor Activator for Nuclear Factor κ B Ligand
RCF	Relative Centrifugal Force
SCID	Severe Combined Immunodefficiency Disease
SLE	Sistemik Lupus Eritomatoz
TNF	Tümör Nekroz Faktör
TRAIL	TNF bağlı apoptozu İndükleyici Ligand
TGF-β	Transforming Growth Factor (Dönüştürücü Büyüme Faktörü)
TEE	Tromboembolik Event (Tromboembolik Olay)
TD	Talidomid - Deksametazon
T-DCEP	Deksametazon, Talidomid, Siklofosfamid, Cisplatin, Etoposid
TF	Tissue Factor (Doku Faktörü)

TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor(Doku Faktör Yolu İnhibitörü)
VAD	Vinkristin, Adriamisin, Deksametazon
VTE	Venöz Tromboemboli
vWF	von Willebrand Faktör

ŞEKİLLER

Şekil 1.1	MGUS'lu bir hastadan alınmış Kemik İliği örneği (May-Grunwald-Giemsa boyama)
Şekil 1.2	Talidomid içeren ve içermeyen tedavi gruplarına göre DVT görülme sıklığı
Şekil 1.3	Hücre uyarılmasına karşı plazma membranının tepkisi
Şekil 1.4	Hücresel Mikropartikül: MHC: Majör Histokompatibilite Kompleks, GPI: Glikosilfosfatidilinositol
Şekil 1.5	Doksorubisin içeren ve içermeyen kemoterapi rejimlerinde DVT görülme sıklığı
Şekil 2.1	Zymuphen MP:PKA ölçüm prensibi
Şekil 2.2	Fonksiyonel MP:PKA Mikro ELISA ölçüm algoritması
Şekil 2.3	Kalibrasyon eğrisi

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1	MGUS, MM ve diğer koşullar için tanı kriterleri
Çizelge 1.2	Talidomid ve farklı ajanlar kullanılarak uygulanan kemoterapi rejimlerinde DVT görülme sıklığı
Çizelge 1.3	Talidomid ve Antrasiklin kombinasyon rejimlerinin tromboprofilaksi kullanılmadan uygulandığında elde edilen Tromboembolik Olay görülme sıklığı
Çizelge 3.1	Tedavi öncesi hasta karakteristikleri
Çizelge 3.2	Tüm çalışma grubunun MP: PKA verileri
Çizelge 3.3	Düzenli takibi yapılan hastalar(n=5)
Çizelge 3.4.	Düzenli takibi yapılan hastaların MP: PKA değerleri
Çizelge 3.5	MP:PKA'nın zamana göre dağılımı
Çizelge 3.6	D-Dimer ve MP: PKA seviyeleri
Çizelge 3.7.	DVT geçirmiş olan hastaların MP seviyeleri
Çizelge 3.8	Talidomid ve/veya Doksorubisin alanlarda MP: PKA ve D-Dimer düzeyleri
Çizelge 3.9	MP: PKA seviyeleri patolojik (>7nM) olan örnekler
Çizelge 3.10.	MP: PKA 7nM üzerinde ve altında olan örnekler ve D-Dimer seviyeleri ile ilişkisi
Çizelge 4.1	G-CSF(0.gün) öncesi ve G-CSF(5.gün) sonrasında TF:Ag ve TF:PKA plazma seviyeleri

1. GİRİŞ

1.1. Multiple Miyelom

Multiple Miyelom neoplastik B lenfositlerin sürekli plazma hücrelerine farklılaşarak anormal miktarda immünoglobulin ve Ig parçaları sentezlemeleri sonucu meydana gelen bir hastalıktır. Klinik bulgular değişken olmakla beraber, tümör ve monoklonal Ig oluşumu, normal plazma hücrelerinin Ig üretimlerinin azalmasına neden olarak hipogamaglobulinemiye yol açar. Aynı zamanda bozulmuş hematopoiez, osteolitik kemik hastalığı, hiperkalsemi, ve renal bozukluklarla da kendini gösterir.

Belirtiler tümör kitle etkileri nedeni ile meydana gelmektedir. Tümör hücreleri tarafından doğrudan salınan sitokinler, veya dolaylı olarak tümör hücrelerine adhezyon sonucu konak hücrelerden (kemik iliği stroma ve kemik hücrelerinden), ve miyeloma protein sonucu meydana gelen birikim hastalığı, özellikle AL (amiloid hafif zincir) amiloidoz ve hafif zincir birikim (LCDD) nedeni ile hastalık kendini göstermektedir.

Miyelom "plazma hücre diskrazisi" olarak adlandırılan bir takım bozukluklara neden olur. Bu bozukluklar klinik olarak iyi huylu koşulları içermektedir. Örneğin, esansiyel monoklonal gamapati, Castelman hastalığı ve α-ağır zincir hastalığı gibi nadir görülen ancak biyolojik olarak ilgi çekici hastalıklar; yumuşak dokularda ortaya çıktığında tedavi potansiyeli yüksek tek başına plazmasitoma; makroglobulinemi ve en çok rastlanılan malinite, plazma hücre miyelom, bir yaygın B hücre malin durumudur. Konvansiyonel doz kemoterapi ile tedavi edilemez. Tüm bozukluklar, ortak plazma hücre morfolojik

yapılarını içermekte ve birçoğu da Ig moleküllerinin üretimi ile ilişkilidir. Birçok plazma diskrazisi, tek bir klon hücrenin yayılımı sonucu monoklonal protein sekresyonu, oligoklonal ve poliklonal protein bozukluklarının eşlik ettiği bazı koşullar, örneğin Castleman hastalığı veya anjioimmünoblastik limfoproliferatif hastalık gibi, şimdi T hücre lenfoma olarak tanımlanmaktadır.

Miyelom tüm malin durumların yaklaşık %1'ini, ve hematolojik tümörlerin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Amerika'da en sık görülen ikinci hematolojik malin durum olarak gösterilmektedir. 50,000 kişi miyelom nedeni ile tedavi görmekte ve her yıl yaklaşık 15,000 kişiye tanı konmaktadır. Ortalama yaş yaklaşık 65 olmasına rağmen, nadir de olsa miyelom hastalığına yaşamın ikinci 10 yılında da rastlanabilmektedir.

Radyasyona ve kimyasallara maruz kalma durumlarında miyeloma görülme sıklığının arttığı rapor edilmiştir. Atom bombasından sağ kalanların plazma hücre miyelom hastalığına radyasyona maruz kaldıktan 15-20 yıl sonra yakalandıkları ortaya çıkmıştır. Diğer yandan miyelomayı diğer otoimmün hastalıklar veya belli başlı enfeksiyonlarla ilişkilendirmek için yapılan çeşitli epidemiyolojik çalışmalar sonuçsuz kalmıştır. İnsanda miyelom etiyolojisi bilinmemektedir. Aile kümelerinde gözlemlenmiş olmasına rağmen genetik bir yayılım olduğunu söylemek için görülme sıklığı oldukça düşüktür.

Osteolitik kemik lezyonları ilerlemiş miyelomanın en belirgin özelliğidir. Hastaların yaklaşık %70-80 kadarında ortaya çıkmaktadır. Osteoblast ve osteoklast sayısı ve fonksiyonundaki dengesizlik nedeni ile ortaya çıkar. Altta yatan mekanizmalar Nükleer Faktör kappa B - NF-κB ligand (RANKL) reseptör aktivasyonu nedeniyle ve Makrofaj İnflamatuar Protein (MIP)-1α/β kemokin ve İnterlökin-3 (IL-3) eksenleriyle osteoklast aktivasyonunu içerir. Stromal hücreler tarafından RANKL ekspresyonu miyelom hücreleri ile temas durumunda şiddetle

artmaktadır, oysa aldatıcı reseptörü osteoprotegrin(OPG) syndecan tarafından miyelom plazma hücrelerinin bünyesine alımı baskılanmakta ve inaktive edilmektedir. Miyelom hücrelerinden köken alan MIP-1α, öncü hücrelerin direk olarak osteoklastlara dönüşmesini ve daha sonra stromal hücreler tarafından MIP-1α ile uyarılan RANKL ekspresyonu nedeniyle artmış kemik rezorpsiyonu meydana gelmesine neden olur. Miyelom hücreleri tarafından eksprese edilen ve salınan DKK1 ve FRZB, WNT sinyalleri ile etkileşerek osteoblastların olgunlaşmasını engeller ve kemik yıkımının artmasına neden olur.

Bu yolakların bazıları RANKL (OPG ve RANK-Fc) yanıltıcı reseptörlerin terapötik olarak uygulanması ile hedef alınabilir. SCID-hu (insan) model sisteminde, bu moleküllerin uygulanması osteolitik kemik yıkımının engellenmesi ve miyelom hücre büyümesinin önlenmesi ile sonuçlanmıştır. Miyelom hücreleri ve osteoklastlar arasında güçlü bir bağ olduğu ortaya çıkmıştır, örneğin miyelom hücreleri osteoklast oluşumunu arttırarak miyelom hücrelerinin hayatta kalması ve büyümesi için ortam sağlar.

Miyelom biyolojisinin terapötik olarak ilişkili yönü, apoptoza olan direncidir, bu hipoproliferatif malin durumun artan tümör yükünde önemli bir mekanizması bulunmaktadır. Bcl-2, Bcl-x_L ve özellikle mcl-1, her biri özellikle miyelom hücre serilerinde ve klinik izolatlarda ifade edilmekte, mitokondriel yapı maddelerinin (sitokrom C, SMAC, second mitochondrial activator of caspases) salındığı iç (intrensik) yolakta fonksiyon göstererek caspas-9'u aktive ederek apoptoza neden olmaktadır. Dış (ekstrensik) apoptoz yolağı Tümör Nekroz Faktör (TNF) ailesine ait reseptörleri ve onların ligandları, Fas Ligand ve TNF bağlı apoptoz indükleyici ligandı (TRAIL) kapsar. Miyelom hücre serilerinde ve primer tümör izolatlarında ifade edilen ölüm reseptörleri 4 ve 5 TRAIL'e bağlanmak koşulu ile aktive edilebilirler. Bu aksiyon OPG gibi, TRAIL yanıltıcı reseptörlerin ekspresyonu sayesinde bloke edilebilir. OPG'nin çözünebilir syndecan-1 tarafından engellenmesi miyelom hücrelerinin TRAIL

aktivasyonundan korunmasına olanak sağlayabilir. Proapoptotik ve antiapoptotik moleküllerin birbirleriyle ilişkili seviyeleri, bir hücre otonomik durumunda veya kemik iliği mikroçevre içeriğinde rol alırken, potansiyel ölümcül sinyallerin sonuçlarına karar verebilirler. Tedavinin etkisi tümör genetik yapısı, sözde hücre-adhezyon ile düzenlenen ilaç direnci(CAM-DR), ve epigenetik değişikliklerin terapötik olarak sömürülmesi ile mümkündür.

Miyelom tanısı konan hastalar anemi belirtileri, kemik ağrıları, patolojik kırıklar, kanamaya yatkınlık ve/veya periferal nöropati gibi şikâyetler gösterirler. Bu belirtiler genellikle tümör kitle etkileri veya tümör hücreleri tarafından salınan proteinler, sitokinler veya tümör hücre ürünleri etkisi ile salınan normal yardımcı hücreler nedeni ile meydana gelmektedir.

Genellikle ağrı şikâyeti ile gelen miyelom hastaları osteopeni olan bölgede vertebral kompresyon kırıkları veya daha tipik olarak litik kemik lezyonlarının neden olduğu ağrılardan şikâyet eder. Bu lezyonlar aşırı osteoklast aktivasyonu sonucu ve osteoblastik aktiviteyi dengeleyici sistemin engellenmesi sonucu meydana gelir. Lokal ağrı, omuriliğe ve sinir köklerine doğru bölgesel tümör büyümesi nedeni ile artar. Median sinir kılıfları gibi çeşitli anatomik bölgelerde, örneğin amiloide bağlı karpal tünel sendromunda olduğu gibi, amiloid depolanması ağrılı kitle etkilerini tetikleyebilmektedir.

Çeşitli şiddette anemi miyelom hastaların yaklaşık üçte ikisini etkiler. Fas ligand, MIP-1α ve TRAIL miyelom hücreleri tarafından aşırı ekspresyonu olgunlaşmamış eritroblastlarda ölüm sinyallerini tetikler. Birçok hastada, aneminin derecesine bağlı olarak uygun olmayan eritropoietin tepkisi gelişmekte, daha ileri aşamalarda kendini karaciğer yetmezliği şeklinde göstermektedir. Körleşmiş eritropoietin tepkisi, IL-1 ve TNF-β gibi sitokinlerin aşırı üretimi ve artmış serum viskozite seviyeleri ile sonuçlanabilir. Kemik iliği stroma tarafından

aşırı IL-6 üretimi, normal yardımcı hücreler, ve/veya tümör hücreler myelomda anemiye katkıda bulunabilmektedir. Ancak, bu sitokinin olası tromobopoietik etkisi nedeniyle, miyelom hastaları tipik olarak diğer faktörlerin eksikliğinde belirgin trombositopeni göstermezler.

Renal fonksiyon anomalileri, hafif zincir için tübüler emme kapasitesinin yorulması ve hafif zincir saçılımları nedeni ile interstitial (doku arasında) nefrit meydana gelir. İkinci en sık nefropati nedeni ise, hiperkalsiüre ile hiperkalsemi oluşumu, hacimde boşalmaya ve prerenal azotemiye sebep olmasıdır. Buna ek olarak hiperkalsemi renal tübüllerde kalsiyum birikimine neden olarak, interstitial nefrite neden olur. Hafif zincir proteinüre ile ilişkili AL amiloidoz, genellikle nefrotik sendrom olarak ortaya çıkar, fakat zamanla karaciğer yetmezliğine doğru gider. AL amiloidoz, λ-hafif zincir olan miyelom hastalarında, κ-hafif zincir miyelom proteini olan hastalara oranla daha sık görülür, özellikle, λ-hafif zincir proteini Ig değişken bölgesi λ VI hafif zincir alt gurubuna ait olanlarda daha sık görülür. Olasılıkla önemsenmemiş, ancak, Ig LCDD sıklığı, daha çok κ hafif zincir myelom proteini ile ilişkilendirilmiş bir hastalıktır. Bu durum aynı zamanda bozulmuş glomerular filtrasyona neden olur.

Böbrekte tümör hücre rastlanması çok nadir görünen bir durumdur ve karaciğer büyümesi olan hastalarda şüphelenilmelidir ancak, karaciğer büyümesi sıklıkla AL amiloid nedeniyle meydana gelir. Myelomda renal yetmezliğin patogenezinde karışıklık yaratan faktör non steroidal antiinflamatuar ilaçların ağrı kontrolü için sıklıkla kullanımıdır. Metallothionein-1 promotor kontrolü altında IL-6 transgenini eksprese eden IL-6 transgenik fare kullanılarak yapılan çalışmalarda, karaciğerde IL-6'nın temelde yüksek seviyelerde ifade edildiği ve disproteinemiyi arttırdığı, akut faz yanıtın gecikmesine neden olarak, insan miyelom böbreğindeki renal patoloji ile dikkate değer bir benzerlik gösterdiği bulunmuştur.

Özellikle hızlı uygulandığına bifosfonatların hastaya verilmesi renal fonksiyon bozukluğundaki en önemli nedendir (örneğin pamdironat için 2 saatten az veya zoledronik asit için 30 dakikadan az). Özellikle remisyondaki hastalarda her bifosfonat tedavi döngüsü öncesinde renal fonksiyonların gözlenmesi ve değerlendirilmesi gerekmektedir. Nadir de olsa, nonspesifik proteinüre renal yetmezlikten önce kendini gösterebilmektedir.

Hücresel bağışıklık fonksiyonlarındaki bozukluklar, miyelomda sık karşılaşılan tekrarlayan enfeksiyonların nedenidir. Bu bağışıklık sistemi bozukluklarının altında yatan mekanizmalar net olmamakla beraber, Transforming Growth Faktör β (TGF-β) ve Fas ligandın, miyelom hücreleri tarafından ifade edildikleri bilinmektedir. Buna ek olarak hastaların antijene humoral immün yanıt oluşturamadıkları ve düşük poliklonal serum Ig seviyelerine sahip oldukları bilinmektedir. Sonuç olarak, miyelom hastaları sıradan bir şekilde spesifik bir antikorla opsonize edilebilmekte, *Streptococcus pnemoniae* gibi bakteri enfeksiyonlarına karşı bile çok savunmasız olabilmektedirler.

Nörolojik abnormaliteler genellikle bölgesel tümör büyümesi sonucu omuriliğe ve kranial (kafatası) sinirlere bası oluşması nedeniyle gerçekleşir. Polinöropatiler genellikle perinöronal veya perivasküler (vasanervorum) amiloid birikim ile görülmekle beraber, bazen tam POEMS (polinöropati, organomegali, endokrinopati, monoklonal gamapati ve deri değişimleri) sendromun bir parçası olan osteosklerotik miyelom ile de görülmektedir. Bu hastalığa özgü humoral ve hücresel mekanizmaları kontrol eden etkenler bilinmemektedir.

Hiperviskozite Miyelom hastalarının %10'dan daha azında görülür. Waldenström Makroglobulinemi hastalarında daha fazla görülmesine rağmen,

toplumdaki görülme sıklığı 10 kat daha fazla olduğundan hiperviskozite miyelom olgularında sık rastlanan bir durum olarak görülmektedir. Hiperviskozite semptomları, dolaşım problemleri ile kendini göstererek serebral, pulmoner, renal ve diğer organ bozukluklarına neden olur. Hiperviskozite genellikle kanama ile ilişkilidir.

Klinik semptomlar ile serum viskozitesi arasında genel bir korelasyon olsa bile, hastalar arasında serum Ig seviyeleri ve semptomlar tutarlı değildir. Bu bulgular Ig moleküllerinin her sınıfı ve altsınıfı arasında farklı fizikokimyasal özellikler taşımasından kaynaklanmaktadır. IgA'nın polimer oluşturma potansiyelinin daha fazla olması nedeniyle IgA miyelom olan hastaları IgG miyelom hastalarına oranla daha fazla hiperviskozite olmaktadırlar, ve IgA miyelom hastalarının neredeyse dörtte biri hiperviskozite sendrom belirtileri taşımaktadır. IgG miyelom hastaları arasında, Ig'lerin IgG_3 altsınıfını ifade edenler bu sendromu geliştirme olasılığı en yüksek gruptur.

Birçok Miyelom hastası, immunfiksasyon analizi ile tespit edilebilecek monoklonal Ig salgılarlar. Tümör hücreleri tarafından üretilen Ig'lerin kendine özgü idiotipleri mevcuttur.

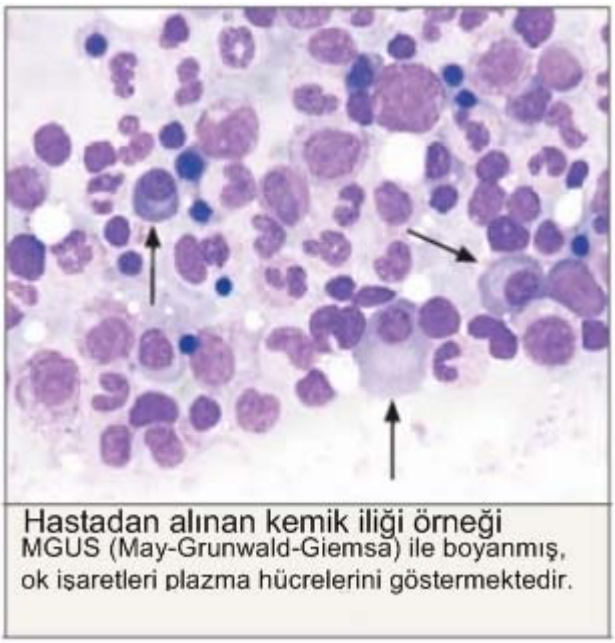
Miyelom protein çalışmaları M bölgesini(M-pik) ölçmek için serum protein elektroforezi ve Ig seviyelerini ölçebilmek için nefelometrik ölçümleri içermelidir. İdrar protein seviyelerini ölçmek için 24 saatlik üre biriktirilmeli, idrar elektroforezi, Bence Jones proteini ölçümleri yapılmalıdır. Ig hafif ve ağır zincir izotip ölçümleri için serum ve idrarın immünfiksasyonu gerekmektedir. Miyelom hastalarının yaklaşık %60'ında ölçülebilir monoklonal IgG (genellikle >3.5g/dL), %20'sinde monoklonal IgA (tipik >2g/dL) ve %20'sinde sadece monoklonal Ig hafif zincir vardır. Ancak, fazla hafif zincir proteinüre IgG, IgA

ve özellikle IgD miyelom ile eşlik edebilir. IgD, IgE ve IgM üreten miyelom veya birden fazla Ig sınıfı üreten miyelom nadirdir.

Poliklonal Ig sınıflarının baskılanması semptomatik miyelomda tipiktir. Diğer miyelom izotiplerinin aksine, IgD miyelomlar Ig'lerin daha sıklıkla κ hafif zincirden ziyade λ hafif zincir yapmalarına neden olurlar. Miyelom plazma hücre yüzeyinden dökülen Beta-2-mikroglobulin (β_2–m) serum seviyeleri tümör yükünü yansıtır. β_2 –m serum seviyeleri karaciğer yetmezliği durumunda değişken olarak yükselir. β_2–M seviyeleri viral enfeksiyonlarla ve interferon tedavisi neticesinde artar. C-reaktif protein serum seviyeleri endojenöz IL-6 aktivitesini yansıtır ve genellikle hipoalbuminemi durumunda artar çünkü, hepatositlerdeki albumin üretimi IL-6 tarafından baskılanır.

1.1.1. Monoclonal Gammopaty of Undetermined Significance(MGUS)

MGUS kişilerde Multiple Miyelom belirtileri veya Waldenström makroglobulinemi, primer amiloidoz, B-hücre lenfoma, veya kronik lenfositik lösemi gibi diğer malin hastalık belirtileri olmaksızın monoklonal protein varlığı ile tanımlanır. MGUS hastaları serum monoklonal protein konsantrasyonu desilitrede 3 gramın altında, kemik iliğindeki plazma hücrelerinden %10 daha az seyreder ve monoklonal gamapatiye ait herhangi bir klinik bulguya rastlanmaz.



Şekil 1.1. MGUS'lu bir hastadan alınmış Kemik İliği örneği(May-Grunwald-Giemsa boyama). Oklar plazma hücrelerini göstermektedir.

MGUS görülme sıklığı yaş, ırk, cinsiyete göre değişiklik gösterir. Erkeklerde kadınlara oranla ve siyahlarda beyazlara oranla daha sık görülür**.** MGUS nedeni bilinmemektedir. Monoklonal gamapatiler, immünglobulin genlerin yeniden düzenlenerek monoklonal protein üretmeye başlaması ile karakterizedir. MGUS'lu hastalarda, plazma hücre klonu ve ilgili monoklonal konsantrasyon yıllarca stabil kalabilmekte ancak, uzun süreli takiplerde hastaların önemli bir kısmı malin plazma hücre hastalığına dönüşebilmektedir (Multiple Miyelom, Waldenström macroglobulinemi, primer amiloidoz, B-hücre lenfoma, veya kronik lenfositik lösemi gibi). Bu değişimin sebeplerinin nedeni açıklanamamaktadır.

Çizelge 1.1. MGUS, MM ve diğer koşullar için tanı kriterleri (veriler Miyeloma Çalışma Grubundan (Myeloam working Group) alınmıştır).

MGUS, Multipl Myelom ve Diğer durumlar için diagnostik kriterler

Değişken	MGUS	Smoldering Multiple Myeloma	Multiple Myeloma	Waldenström's Macroglobulinemi	Primer Amiloidoz
Kemik İliği Plazma hücresi%	<10	≥10	≥10	>10†	<10
	ve	ve/veya	ve/veya	ve	ve
Dolaşımdaki monoklonal protein (g/dl)	<3	≥3	≥3	>3	<3
Klinik Bulgular	yok	yok	var ‡	var §	var ¶

MGUS genellikle rutin kan testleri sonucu total protein konsantrasyonunun artması sonucu açığa çıkar ve takibinde yapılan serum protein elektroforezi monoklonal artışı gösterir. Medikal bir problem nedeni ile araştırma yapılırken, MGUS genellikle hastanın tedavi aradığı hastalıktan çok alakasız olarak kazara keşfedilir. MGUS olan hastalar monklonal gamapatiden asemptomatiktirler, miyelomu, primer amiloidoz veya Waldenström Makroglobulinemiyi işaret edecek belirtileri- kemik ağrısı, anemiye bağlı semptomlar, nörolojik belirtiler veya kilo kaybı gibi şikâyetleri yoktur. Solgunluk, kemik hassasiyeti, yumuşak doku kitleleri miyelomu önerir, oysa hepatosplenomegali, purpura ve ödem Waldenström Makroglobulineminin karakteristik belirtileridir.

1.1.2. Laboratuar özellikleri;

Semptomatik Plazma Hücreli Miyelom tanısı bile çoğu zaman aylar sürebilmektedir. Hastaların travma sonrası veya tekrarlayan enfeksiyonları takiben sürekli devam eden sırt/bel ağrısı şikayetleri olabilir. Açıklanamayan hiperproteinemi ve proteinüre, anemi, renal yetmezlik, hipoalbuminemi, disproteinemi veya eritrosit sedimentasyon hızında belirgin artış plazma hücreli miyelomun laboratuar değerlendirmesinde rol oynar. Semptomatik miyelom tanısında, ne minimum serum veya üre M-protein seviyesi ne de minimal klonal kemik iliği plazmasitoz seviyeleri dâhil edilmiştir.

Semptomatik hastalıkta en kritik unsur ve tedavinin başlatılmasına neden olan etken; anemi, hiperkalsemi, litik kemik lezyonları, renal yetmezlik, hiperviskozite, amiloidoz veya tekrarlayan enfeksiyonlar nedeniyle organ veya doku bozuklukları/hasarı (end organ damage) gelişmesidir.

1.1.3. Multiple Miyelom'da kanın koagulasyon mekanizması

Kanser ve venöz tromboembolizm giderek artan görülme oranı son yüz yıldır dikkati çekmektedir. Bu fenomenin görülme sıklığı malin durumun türüne göre değişmektedir. Belli kanser türleri özellikle hiperkoagüle durumlarla ilişkilidir (gastrik ve pankreatik kanserler). Son yıllarda Multiple Miyelom hastalarının hiperkoagule durum geliştirdikleri, özellikle çok ajanlı kemoterapi ve antianjiojenik ilaç alanların tromboz riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Yüksek doz kemoterapiden önce bile MM hastalarında hüperkoagule durumlara rastlanmıştır. Ancak bu yüksek doz kemoterapi trombosit sayılarını ve fonksiyonlarını düşürerek hiperkoagule durumu baskılayabilmektedir.

Kan damarlarında meydana gelen hasar koagulasyon sistemini ve normal koşullarda antitrombin, heparin, doku faktör yolu inhibitörü(TFPI) ve protein C sistemini içeren antikoagulan yolağını başlatır. Fibrinolitik sistemin aktivasyonu daha sonra gerçekleşir. MM hastalarında antikoagulan sistem ve fibrinolitik sistemin bozulduğuna dair kanıtlar vardır.

Genel popülasyonda iyi bilinen faktörlere ek olarak özellikle multiple miyelom ile ilişkili bilinen en az dört temel hiperkoagule mekanizma vardır. Birincisi, MM hastalarının >%75'den fazlasında bulunan yüksek seviyede immünglobulin miktarları normal fibrin yapısını inhibe ederek fibrinolitik sistemin etkinliğini azaltmaktadır. İkincisi, abnormal immunglobulin fosfolipidlere veya kritik konumdaki doğal antikoagulanlara yönlendirilmiş otoantikor gibi hareket edebilmektedir. Üçüncüsü, MM abnormal sitokin üretimine ve prokoagulan aktiviteye sahip akut faz reaktanlarının üretimine bağlı olarak inflamatuar etkiye sahiptir. Dördüncü olarak, Faktör V Leiden mutasyonuna bağlı olmayan Aktive Protein C rezistansının (APC-r) MM hastalarında ve diğer kanser türlerinde de tromboza neden olabilecek faktörler arasında olabileceği gösterilmiştir.

Yüksek immunglobulin seviyeleri abnormal fibrinojen yapısına sebep olarak fibrinolitik mekanizmanın bozulmasına neden olmaktadır: Trombin zamanı ve diğer pıhtılaşmaya dayalı testlerle ölçülebilen fibrinojen yapısı üzerinde yüksek immünglobulin seviyelerinin etkisi MM hastalarında hiperkagule durumlarla ilişkilidir. Uygun fibrin polimerizasyonu eksikliği nadiren de olsa kanamaya yatkınlık yapsa da çoğunlukla kendini hiperkoagule durum olarak gösterir. Altta yatan mekanizma yeni dönemlerde aydınlığa kavuşturulmuştur; fibrin yapısı fibrinolitik yolağın etkinliğini belirleyen etkendir. Fibrinojen polimerizasyonunun, konjenital fibrinojen bozukluğu veya fibrin oluşumunun hücreler, immunglobulinler, ilaç kullanımı gibi etkenler tarafından engellendiği durumlarda fibrinoliz doğal yollardan gerçekleşememektedir. Fibrin polimerlerinin büzülmemesi durumunda iri hacimli pıhtılar kolaylıkla küçük kan damarlarını tıkayabilmektedirler.

İmmünglobulinler fibrinojenin yapısını, fibrinojenin Faktör XIII ve plazmin ile lateral bağlanma bölgesine müdahale ederek bozarlar. MM hastalarında fibrin iplikçikleri daha ince, zayıf ve plazminin fibrinolitik etkisine daha dirençlidir. Faktör XIII'ün fibrin üzerindeki etkisinin eksikliği fibrin pıhtının büzülmemesine ve daha hacimli, jelâtinimsi yapıda kalmasına neden olur. Carr ve Zrekert, immünglobulinlerin lateral bağlanma bölgelerine bağlanmak için Faktör XIII ile yarıştıklarını, böylece pıhtının büzülerek plazmin ile başlatılan parçalanmanın gerçekleşmesine engel olduğunu göstermişlerdir. Kanın artan akışkanlığı fibrin monomerlerinin polimerlere dönüşmesine engel olmaktadır.

İmmunglobulinlerin fibrinojenin fibrin monomerlerine dönüşümüne engel olması, kandaki immünglobulin seviyeleri ile doğrudan ilişkilidir. İmmünglobulin seviyeleri arttıkça *"clot lysis time"*, pıhtı yıkım süresi lineer olarak artmaktadır. Fibrin yapısındaki bozulma, MM'da trombosit fonksiyonlarındaki değişimle alakalı değildir. Miyelom protein otoantikor olarak hareket ederek hiperkoagule duruma neden olabilmektedir.

1.1.4. Lupus antikoagulan

Poliklonal hipergammaglobulinemi olan hastalar kendi antijenlerine karşı antikor üretme yeteneğine sahiptirler. Bu otoantikorların protrombotik özellikleri olabilmektedir. Duhrsen ve ark. tarafından yayınlanan bir raporda üç miyeloma hastası (biri paraproteinemi IgM) dolaşımdaki Lupus antikoagulan aktivitesinin diğer yatkınlığa neden olan faktörlerin eksikliğinde tromboza neden olduğunu göstermişlerdir. Bellotti ve ark. monoklonal gammapati ve lupus antikoagulan aktiviteye sahip üç hastada tromboplastin fosfolipide karşı antikor olduğunu göstermişlerdir. Bu etkileşimden üç paraprotein sorumludur; IgG_3 kappa, IgG_1 kappa ve IgM lambda. En güçlü etkileşim, en elektrostatik temel immünglobuline sahip hastada görülmüştür. İmmünglobulindeki temel yük, yüksek asidik fosfolipid üzerinde güçlü etkilere sahiptir. Elektrostatik yüklerin immünglobulinlerin trombositlerin ve diğer hücrelerin fosfolipid yüzeyine etki ettiği olası bir mekanizmayı oluşturduğu düşünülmektedir.

Fosfolipid antikorları veya lupus antikoagulan ile ilişkili immunglobulin fraksiyonları APC yoluna olan direncin şiddetlendirilmesi ile trombojenik etki yaratmaktadırlar. Bu raporlar Male ve arkadaşlarının Sistemik Lupus Eritomatozus (SLE) veya Lupus antikoagulana sahip çocukların Lupus antikoagulan titresinin oranından çok APC rezistansının, artmış tromboz riski ile doğrudan orantılı olduğu bulgular ile desteklenmektedir.

MM hastalarının antiprotrombin antikorları geliştirdikleri gösterilmiştir. Bu antikorlar protrombinaz aktiviteyi arttırır ve fibrinojenin fibrine dönüşümünü hızlandırır. Böylece antikorların prokoagulan durumu indükleyebileceği

düşünülebilmektedir. Deitcher ve ark. MM hastalarında Monoklonal IgG varlığında edinsel serbest Protein S eksikliği olabileceğini göstermiştir.

MM yükselmiş inflamatuar sitokin ve prokoagulan akut faz reaktan üretimi ile ilişkilidir; MM proinflamatuar maddelerin salınımı ile ilişkilidir. İnflamasyonun artmış işaretleyicileri (C-reaktif protein, IL-6 ve tümör nekroz faktör) ve faktör VIII, von Willebrand faktör (VWF) endotelyal aktivasyon işaretleyicilerinin salınımı bunların kanıtıdır. İnflamasyon ve koagulasyon mekanizmalarının birbiriyle ilişkisi son zamanlarda dikkat çekmektedir. Normal şartlarda, vasküler endotel kan hücrelerinin empedans ve yapışma olmadan damar içerisinde akmasına izin verir. İnflamasyon sırasında salınan sitokinlerin damar duvarı üzerinde çok ciddi etkileri bulunmaktadır ve antikoagulan ve prokoagulan dengesini gözle görülür ölçüde düşürmektedir.

Kanın hücresel elemanları inflamasyon ve antikoagulan yolağı kontrol etmektedir. Trombositlerin her ne kadar da önceleri sadece hemostazda rol oynadığı düşünülmüş olsa da, şimdilerde trombositlerin inflamatuar reaksiyonların en önemli ortam sağlayıcıları olduğu bilinmektedir. Trombositler tarafından salınan çeşitli ürünlerin direk olarak inflamasyonu etkilediği bilinmektedir. Trombositlerin sekresyonu ve monosit kemoatraktanlarının damar duvarına(RANTES) salınımı ile bu rolü aydınlattığı gözlenmiştir. Trombositler tarafından salınan diğer inflamatuar ortam sağlayıcılar Platelet Aktive Faktör(PAF), Platelet Faktör 4(PF-4), Platelet Derive büyüme faktörü(PDGF) ve trombospondindir.

Lökositlerin sadece vasküler hasarın inflamatuar elemanlarında rol aldığına inanılmakta idi. Şimdi lökositlerin trombozda trombosit aktive edici faktör salınımında da çok önemli rol oynadığı bilinmektedir.

Multiple Miyelom, yüksek C-reaktif protein(CRP), IL-6 ve tümör nekroz faktörü(TNF) içeren inflamatuar durumla ortak yapıyı paylaşır. IL-6 miyelom hücreleri için büyüme faktörüdür ve kemik iliği ve miyelom hastalarının plazma örneklerinde yüksek seviyelerde bulunmaktadır. Sağ kalımda ve kemik iliği mikro çevrede plazma hücrelerinin farklılaşmasında önemli rol oynamaktadır. Stromal hücreler, osteoblastlar, ve endotel hücreler aracılığı ile RANK-Ligand ekspresyonu, insan osteoklastlarının kemik reabsorbsiyonu üzerindeki aktivitesini ve olgunlaşmasını arttırmaktadır.

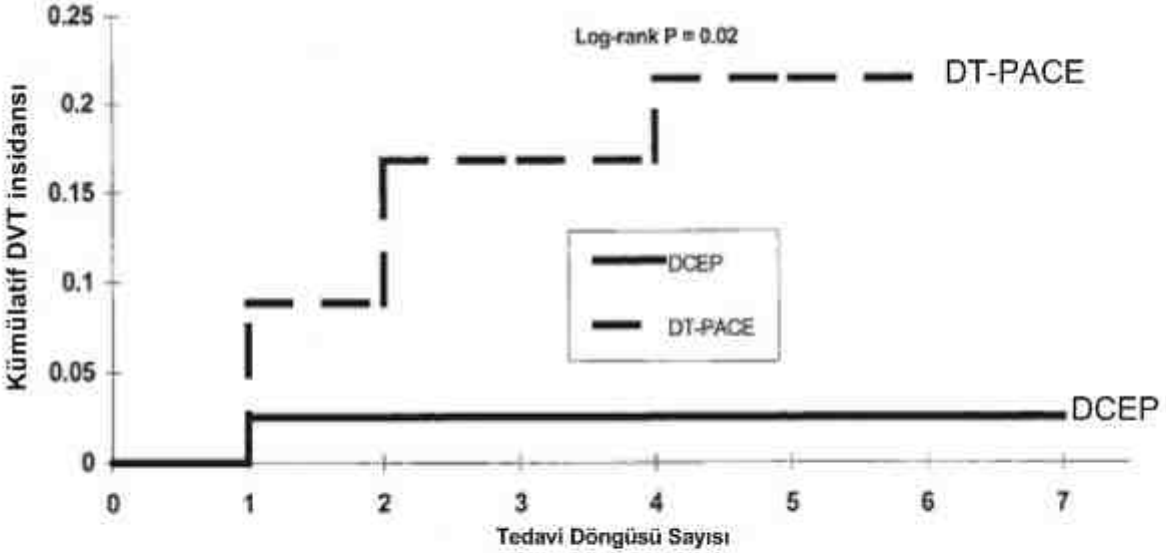
IL-6'nın koagulasyon üzerindeki etkileri yapılan in-vivo çalışmalarla onaylanmıştır. Fibrinojen üretimi IL-6 tarafından belirgin bir şekilde arttırılabilir. 100ng/L yoğunluktaki IL-6'nın doku faktör mRNA'yı 4.5 kat arttırdığı gösterilmiştir. Kültür ortamındaki monositlerde doku faktörün yüzey ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. IL-6 uyarımı sonrası hepatositler ve diğer hücreler tarafından salınan bir akut faz protein olan C-reaktif Protein(CRP) tarafından dolaylı olarak doku faktörü etkilenebilmektedir. Monosit kültürleri üzerinde yapılan araştırmalarda inflamasyon sırasında bulunan CRP konsantrasyonlarının doku faktör prokoagulan aktiviteyi 75-kat arttırdığı gösterilmiştir. Hücre kültürlerinde tümör nekroz faktör ve IL-1'in hücre fenotipinde değişikliklere neden olduğu, özellikle, monositler ve endotel yüzeyinde doku faktör ekspresyonunu ortaya çıkardıkları bilinmektedir.

1.2.1. Multipl Miyelom'da Tedavi ile ilişkili Derin Ven Trombozu

MM hastalarının hiperkoagule durumları uzun zamandır bilinmektedir. Arkansas üniversitesinde yapılan bir çalışmada 256 yeni tanı MM hastasına ait dosyalar incelenmiş, tarihçesinde DVT olan 12 hasta(%5) saptanmıştır. 256 hastanın tümü faz III çalışmaya alınmış ve günlük doz 400mg talidomid içeren ve içermeyen kombinasyon kemoterapi almaya başlamışlardır. Ortalama 12-aylık takip sonrasında

60 hastada (grubun %24'ü) Derin Ven Trombozu (DVT) gelişmiştir. Kemoterapi ile Talidomid birleşimi ana etkendir. Talidomid alan gruptaki DVT insidansı %34 iken talidomid almayan gruptaki DVT insidansı %14'tür(P:0.0002)

Trombotik fenomen tedavinin ilk aşamalarında ortaya çıkar, bu komplikasyonun apoptotik miyelom hücrelerinden kaynaklana tromobjenik faktörlerin salınımı veya kümülatif talidomide maruz kalmadan çok, miyelom protein seviyeleri ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Ancak DVT olan veya olmayan hastaların bazal miyelom protein seviyelerinde fark bulunamamıştır. Nüks miyelom hastalarında tedavi için tek ajan Talidomid kullanıldığında DVT insidansı %3'den daha azdır. Tedavi boyunca erken ortaya çıkacak tromboz, prokoagulan özellikteki kemoterapi ajanlarının birlikte kullanımı nedeni ile olabilmektedir. Deksametazon'un sıçanlarda yapılan çalışmada fibrinolitik aktiviteyi engellediği ve doksrubisin'in endotel hücrelerde ve kardiyomiyositlerde apoptoza neden olduğu bilinmektedir. Deksametazon, Talidomid, Cisplatin, Doksorubisin, siklofosfamid ve Etoposid(DTPACE) içeren terapi daha önce ototransplant geçirmemiş Standard doz terapi almış dirençli ve nüks miyelom hastalarına verilmiştir. Deksametazon, Siklofosfamid, Etoposid, sisplatin, ve talidomid (DCEP-T) içeren kemoterapi transplant sonrası nüks olan hastalara verilmiştir. Doksorubisin içeren kemoterapi kolunda belirgin olarak(P:0.02) DVT görülme sıklığını arttığı gözlenmiş(Şekil 1.5)



Adriamisin içerikli rejim (DT PACE) ile DCEP rejimi ile tedavi edilmiş hastalarda kümülatif DVT insidansı döngüsü

Şekil 1.5. Doksorubisin içeren ve içermeyen kemoterapi rejimlerinde DVT görülme sıklığı (Ref: The Blood Coagulation Mechanism in Multiple Myleoma, Zangari et al.2003)

Miyelom hastalarının hiperkoagulabilitesi, hastalık karakteristiklerine, veya diğer malinite tiplerindeki mekanizmalara ve özellikle de protein C sistemindeki abnormalitelere bağlıdır. Sepsis esnasında gözlenen IL-6'nın doku faktör üzerindeki etkisi ve IL-1'in trombomodulin üzerindeki etkisi miyelomda hiperkoagule durumun esas nedenleridir. Trombus oluşumunda esas uyaran tedavi ile ilişkili vasküler değişikliklerdir. Hem talidomid hem de Doksorubisin'in miyelom hücreleri ve endotelde apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. Bu sebepten dolayı, trombojenik faktörlerin apoptotik hücrelerden salınımı klinik ortamda hiperkoagule durumlara neden olmaktadır.

Multiple miyelom araştırma serilerine venöz tromboembolizm görülme sıklığı %5-58 gibi geniş bir aralıkta bildirilmiştir (Çizelge1.2 ve 1.3). Barlogie ve ark.'nın(2006) 668 olgudan oluşan ünlü total tedavi 2 grubunda 155 VTE gözlendiği bilgisi bu konuda ortalama bir fikir verebilmektedir.

1.2.2. Talidomid:

İlerlemiş ve refrakter MM hastalarında talidomid kullanımı ile tedaviye yanıt oranını %30'lar civarındadır. Talidomid, doğrudan tümör oluşumunu inhibe eder, kemik iliği mikroçevresi tarafından üretilen sitokinlerin üretimini baskılar, tümör hücresi-stromal hücre adhezyonuna engel olur, antianjiojenik ve immünomodülatör aktivitelere sahiptir.

Miyelosüpresif etkisi olmadığı için kemoterapi ile kullanımı ideal kombinasyon olduğundan klinik denemelerde, yeni tanı hastalarda kullanılmaya başlanmıştır. MM hastalarında TE riskine katkıda bulunan faktörler arasında ilk tanı sırasında hastadaki ağrı veya ameliyatlara bağlı hareketsizlik, venöz kateterler, trombosit fonksiyonları, pıhtılaşma faktörleri ve koagulasyon yolağında görülen edinsel bozukluklar bulunmaktadır. Faktör V Leiden mutasyonunun varlığı ve talidomid, lenalidomid gibi immunomodulatör ajanların kullanımı da bu etkenler arasında yer almaktadır.

Özellikle diğer kemoterapötiklerle birlikte kullanıldığında Talidomid'in hastalarda VTE oranını arttırdığı görülmüştür. Talidomid'in geniş spektrumlu biyolojik etkileri arasında; trombozun gelişimine yardımcı olan tedavinin ilk ayında çözünebilen trombomodülin seviyelerinin geçici olarak azaltılması ve endotelial hücre PAR-1 ekspresyonunun doksorubisin gibi sitotoksik ajanlar tarafından hasar görmesinin ardından restorasyonu bulunmaktadır. İmmunomodulatör ajanlar endotel hasarına neden olmadığı için, talidomidin antrasiklinle birlikte kullanımının neden tek başına talidomid tedavisinden daha yüksek TE riski oluşturduğunu açıklayabilmektedir.(Thrombotic Complications of Myeloma Therapy, Jeffrey A. Zonder, 2006)

Tek başına talidomid kullanımının TE gelişimine katkısını gösteren çok az bilgi bulunmaktadır. 84 hasta ile yapılan bir çalışmada Talidomid tedavisi gören Dirençli Nüks MM olgularında belirgin TE gözlenmemiştir. Takibi yapılan 169

hastalık bir gurupta Doppler US ile saptanmış derin ven trombozu (DVT) oranı %2'den azdır. Tek başına talidomid tedavisi alan Dirençli Nüks MM veya yeni tanı MM olgularında TE görülme sıklığı %5'in altındadır. .(Thrombotic Complications of Myeloma Therapy, Jeffrey A. Zonder, 2006)

1.2.3 Talidomid ve Deksametazon(TD)

Yeni tanı MM hastalarında sadece deksametazon (DEX) alan hastalarla Thal-Dex(TD) alan hastalar karşılaştırıldığında, TD alan hastalarda TE sıklığı daha fazladır. Sadece DEX alan 102 hastanın 3'ünde (%3) ve TD alan 102 hastanın 17'sinde(%17) TE meydana gelmiştir. Diğer serilerde de yeni tanı MM olgularda TD alan hastaların %12-15'inde TE görülmüştür. Dirençli nüks MM hastalarında yeni tanı MM hastalarına oranla TE gerçekleşme oranı daha düşüktür. Bir gurup araştırmacı TD tedavisi alan yeni tanı MM hastalarında başlangıç Talidomid dozun düşürülmesi ile erken TE riskinin azaltılabileceğini ortaya koymuştur. DNMM hastalarında düşük oranlarda TE görülme sebebinin düşük dozlarda(50-100 mg/gün) talidomid kullanımı olabileceği akla gelmelidir.

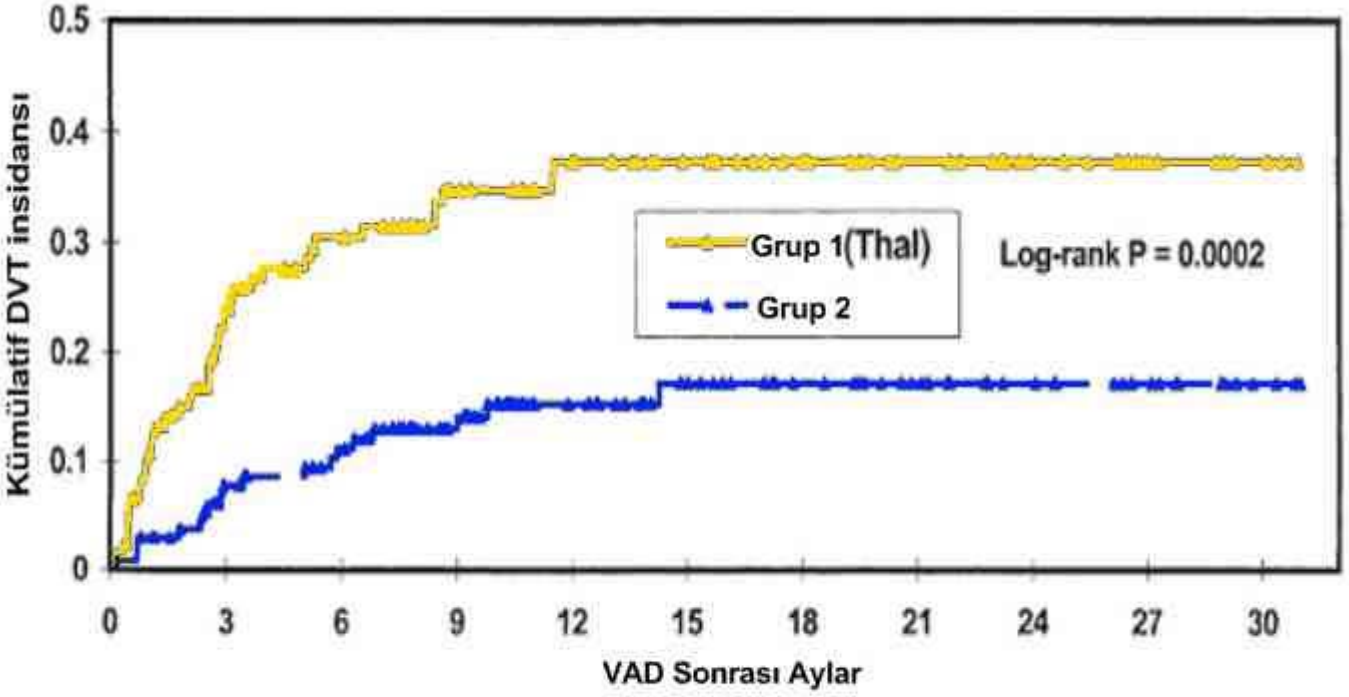
1.2.4. Talidomid ve sitotoksik kemoterapi

Özellikle tedavinin ilk birkaç ayında Talidomid-antrasiklin kombine rejimlerde TE geliştirme riskindeki artış göze çarpmaktadır. Melfalan(MP), Deksametazon ve Talidomid kullanan 43 hastanın yaklaşık %10'unda TD tedavisindekine benzer oranlarda derin ven trombozu gelişmiştir. Yapılan randomize bir çalışmada MP ile MP ve talidomid(MPT) alan yeni tanı MM hastalarında başlangıç TE görülme sıklığı MPT kolunda %17 (65 hastanın 11i) iken MP alan hastalarda sadece %2'dir.

Daha küçük fakat istikrarlı veri içeren bir çalışmada ise talidomid ve siklofosfamid kombine rejimlerinde TE riski %3-11 arasındadır.
Yeni tanı MM hastalarında TE riski MPT veya TD ile tedavide benzer oranlarda artış göstermektedir. Talidomid-siklofosfamid kombinasyonu alan DNMM hastalarında risk minimaldir.(Çizelge1.2 ve Çizelge 1.3)

En yüksek TE riski talidomid'in antrasiklin içeren kemotarapi kombinasyonuna eklenmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Yapılan faz II çalışmalarında talidomid ile birlikte antrasiklin içeren kemoterapi rejimleri kullanıldığında tromboprofilaktik ajanların yokluğunda %10 ile %58 oranında TE görülme sıklığı raporlanmıştır. ASA kullanımı TE görülme sıklığını üçte iki oranında düşürmektedir. 232 hasta talidomid içeren iki rejimden biri ile T-DCEP ve DT-PACE tedavi edilmiştir. Her iki rejim de 400mg/gün talidomid, dexamtehasone(40mg günde 1-4), siklofosfamide, cisplatin, ve etoposide; DT-PACE aynı zamanda doxorubicine (Adriamycine) içermektedir. T-DCEP ile tedavi edilen 40 hastanın 1'inde (%2), DT-PACE alan 192 hastanın 31'inde (%16) TE görülmüştür. TE görülme sıklığı tedavinin ilk 60 gününde daha yüksektir. Bu çalışmadan çıkan sonuca göre TE riski her iki grupta da aynı olan talidomid veya deksametazon'un doz ve süresinden çok, doksorubisin ilavesine bağlıdır.(Şekil 1.2)

Şekil 1.2. Talidomid içeren ve içermeyen tedavi gruplara göre DVT görülme sıklığı (Ref: Blood Coagulation in Multiple Myeloma, Zangari et al. Seminars in Thrombosis And Hemostasis/Volume 29, Number 3 2003)



Grup başına DVT kaydı. Grup 1: kemoterapi ve talidomid; Grup 2 sadece kemoterapi

Çizelge 1.2. Talidomid ve farklı ajanlar kullanılarak uygulanan kemoterapi rejimlerinde Tromboembolik Olay(TEO) görülme sıklığı (Ref: Thrombotic Complications of Myeloma Therapy,Jeffrey A. Zonder,Correspondence: Jeffrey,American society of Hematology,2006)

Talidomid ve alkilleyici ajan kullanılan çeşitli deneklerde rapor edilen Tromboembolik olay (TEO) insidansı.

İlaç Rejimi	Hastalık Durumu	TEO Profilaksi	TEO İnsidansı	Referanslar
MEL 8 mg/m^2 d 1-4 DEX 12 mg/m^2 d 1-4, 17-20 THAL 300 mg d 1-4, 17-20	YTMM	YOK	10%	Dimopoulos et al[24]
MEL 4 mg/m^2 d 1-7 PRED 40 mg/m^2 d 1-7 THAL 100 mg/day (until PD)	YTMM	YOK*	20%*	Palumbo et al[25]
MEL 0.25 mg/kg d 1-4 PRED 2 mg/kg d 1-4 THAL ≤ 400 mg/d (until end of MP)	YTMM	YOK	12%	Facon et al[2]
CTX 500 mg P.O. d 1,8,15 DEX 40 mg d 1-4, 15-18 THAL 100-200 mg/day	YTMM (15) DNMM(46)	YOK	3%	Williams et al[26]
CTX 300 mg/m^2 q wk DEX 40 mg/d × 4 d q mo. THAL ≤ 300 mg/day	DNMM	Warfarin 1mg / gün	11.5%	Kyriakou et al[27]
CTX 50 mg/day DEX 40 mg/d × 4 d q 3 wks THAL 200-800 mg/d	DNMM	YOK	7%	Garcia-Sanz et al[28]
CTX 150 mg/m^2 P.O. q 12 hr × 5 d DEX 20 mg/m^2 d 1-4, 15-18 THAL 400 mg/day d 1-5, 14-18	DNMM	YOK	4%	Dimopoulos et al[29]
CTX 100-150 mg/day THAL 100-400 mg/day	DNMM	YOK	3%	Hovenga et al[30]
CTX 300 mg/m^2 q 12 hrs × 6 DEX 20 mg/m^2 d 1-4, 9-12, 17-20 THAL 100-400 mg/day	DNMM	YOK	9%	Kropff et al[31]
CTX 400 mg/m^2 CIV d 1-4 VP-16 40 mg/m^2 CIV d 1-4 DEX 40 mg/day d 1-4 q 28 d	DNMM	Yanıt Yok	Yanıt Yok	Moehler et al[32]

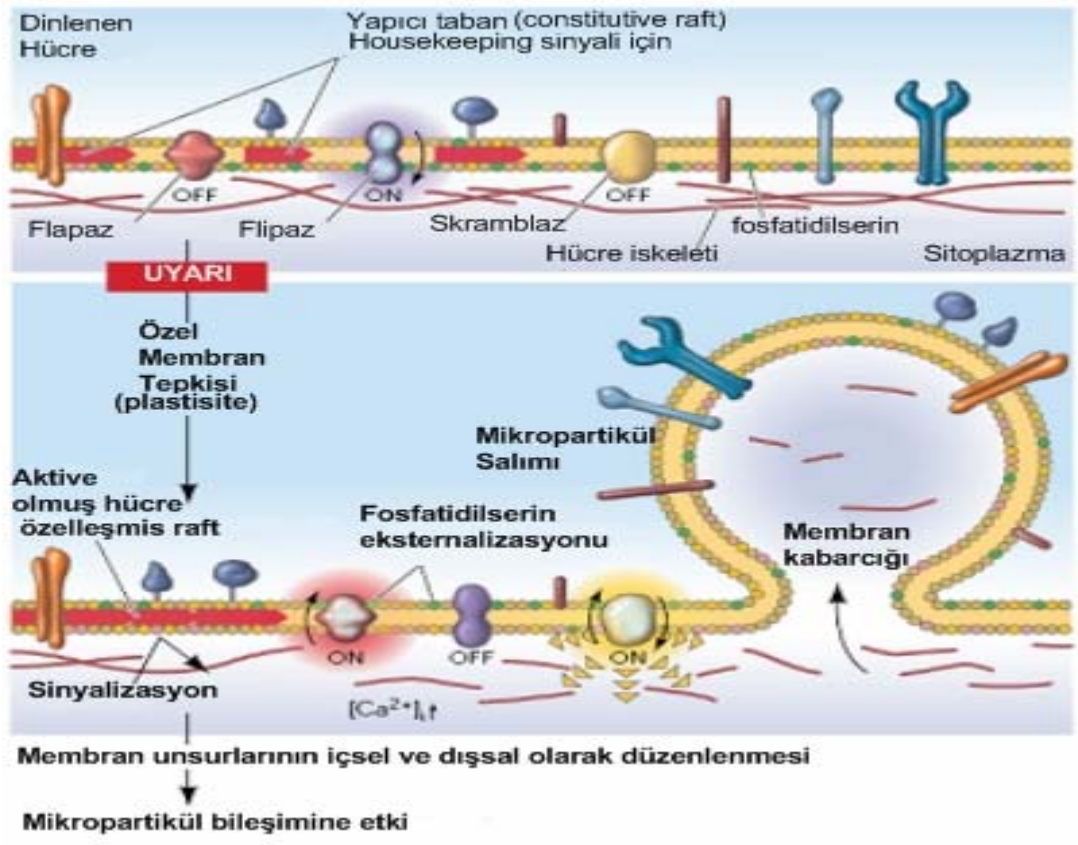
Çizelge 1.3. Talidomid ve Antrasiklin kombinasyon rejimlerinin tromboprofilaksi kullanılmadan uygulandığında elde edilen Tromboembolik Olay görülme sıklığı(Thrombotic Complications of Myeloma Therapy,Jeffrey A. Zonder,2006)

Tromboprofilaksi olmayan talidomid ve antrasiklin kombinasyonu kullanılan hastalarda tromboembolik olay (TEO) insidansı

İlaç Rejimi	Hastalık Durumu	TEO İnsidansı	Referanslar
Liposomal DOX 30 mg/m^2 d 1 Vincristine 2 mg d 1 DEX 40 mg daily d 1-4 THAL 50-400 mg/day	55 YTMM 50 DNMM	58%*	Baz et al[5]
Total Therapy II Thalidomide 400 mg/day	YTMM	34%**	Barlogie et al[23]
Vincristine 1.5 mg d 1 Epirubicin 30 mg/m^2 day 1-2 DEX 20 mg/m^2 days 1-4 THAL 200-400 mg/day	YTMM	26%	Schutt et al[33]
DEX 40 mg/day d 1-4 THAL 400 mg/day Cisplatin 10 mg/m^2 CIV d 1-4 CTX 400 mg/m^2 CIV d 1-4 VP-16 40 mg/m^2 CIV d 1-4 DOX 10 mg/m^2 CIV d 1-4	YTMM	16%	Zangari et al[36]
Liposomal DOX 40 mg/m^2 d 1 Vincristine 2 mg d 1 DEX 40 mg daily d 1-4, 15-18 THAL ≥ 200 mg/day	YTMM	10%	Zervas et al[34]

1.3. MİKROPARTİKÜL NEDİR?

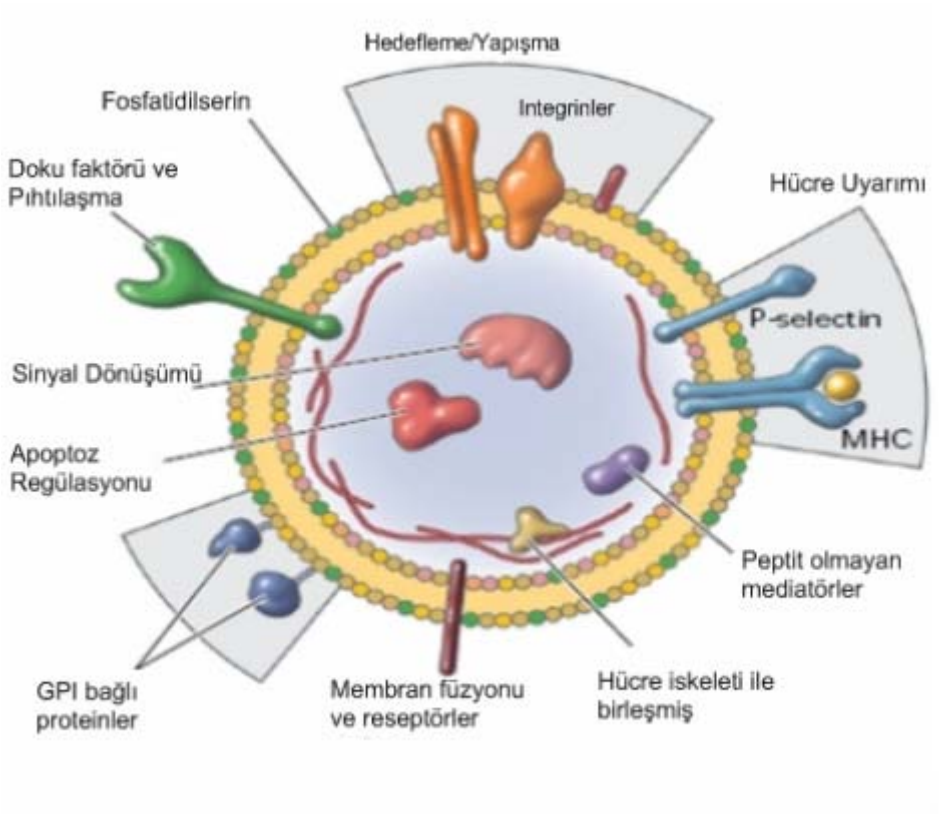
Mikropartiküller(MP) dolaşımda endotel hücre, lökosit, trombosit ve eritrosit membranından salınan fosfolipidden zengin submikron parçacıklardır. Biyolojik aktiviteleri incelendiğinde koagulasyon, hücre sinyali ve hücresel iletişimler gibi çeşitli aktivitelere sahip oldukları anlaşılmıştır. Bu aksiyonlar, fosfolipidden zengin yüzeyleri ile kontrol edilirken, bu yüzey hücresel orijinlerini ve aktivasyon durumları hakkında bilgi verir. MP sayılarının çeşitli vasküler bozukluklarda ve inflamasyon gibi örneğin, koroner arter hastalığı ve trombotik mikroanjiopatiler gibi önemli patofizyolojik mekanizmalarda arttığı bildirilmiştir.



Şekil 1.3. Hücre uyarılmasına karşı plazma membranının tepkisi (Ref: Membrane Microparticles: two sides of the Coin, Hugel ve ark, Physiology 20: 22–27, 2005)

MP'ler <1µm çapında, hücre membranından dışarıya doğru uzanan tomurcuk şeklindeki plazma parçacıklarıdır. Oluşumları sırasında plazma membran lipid tabakası ters dönerek negatif yüklü fosfolipidden zengin yüzeyin açığa çıkmasına

neden olur. Buna ek olarak MP'ler köken aldıkları hücrelerde eksprese olan antijenleri de taşırlar. Bu aniyonik PL(fosfolipid) yüzey sayesinde koagulasyon faktörleri MP'lere bağlanabilmektedirler ve Doku Faktör(TF) gibi fonksiyonel moleküllerin veya MP'lerin biyolojik aksiyonlarını düzenleyen selektinlerin ekspresyonu mümkündür. Vasküler bozukluklar, tromboz ve inflamasyon gibi durumlarda MP seviyelerinin arttığı gösterilmiştir.



Şekil 1.4.Hücresel Mikropartikül: MHC: Majör Histokompatibilite Kompleks, GPI:Glikosilfosfatidilinositol (Ref: Membrane Microparticles: two sides of the Coin, Hugel ve ark, Physiology 20: 22-27, 2005)

1.3.1 Mikropartikül oluşumu ve yapısı

MP'ler, sitokinler, trombin ve endotoksin gibi kimyasal uyaranlar stres veya hipoksia gibi fiziksel uyaranlar nedeni ile tetiklenen yüzey aktivasyonu ve apoptoz sonucu hücre yüzeyinden salınırlar(VanWijk et al,2003). Hücre aktivasyonunu takiben MP oluşumu sitozolik kalsiyum konsantrasyonundaki artışa ve bunun

sonucunda calpain, protein kinazlar ve fosfataz inhibisyonuna bağlıdır. Bu değişiklikler sitoskeletal reorganizasyona, membran tomurcuklanmasına ve MP oluşumuna neden olur(Wiedmer &Sims,1991; Yano, 1994; Miyazaki, 1996). MP'lerin in vitro büyüme faktöründen yoksun olması veya kompleman proteinler nedeni ile indüklenen apoptoz esnasında salındıkları gösterilmiştir (Hamilton, 1990;Jimenez,2003)

Trombosit glikoprotein (GP) reseptörleri de trombosit MP(PMP) oluşumunda rol oynayabilmektedir. Örneğin GP1b reseptörü VWF'e bağlanmayı sağlar ve stres durumunda trombosit membranındaki esneme membran parçacıklarının hücreden kopmasına neden olarak MP oluşumu gerçekleşmektedir (Reininger,,2006). P-selektin seviyeleri faredeki PMP seviyeleri ile koreledir ve in-vitro, P-selektin immünglobulin insan kanında MP oluşumunu indükler. Bu etki bozulmuş antikorların P selektin Glikoprotein ligand-1 (PCGL) reseptörlerine bağlanmasını bloke eder.(Hrachovinova, 2003)

Ebeveyn hücreleri gibi MP membranları PL ve protein antikorlar içerir. Apoptoz ve hücre içindeki kalsiyumun artışı genellikle hüre aktivasyonu ile sonuçlanır ve plazma membranındaki normal lipid tabakasının ters dönmesine neden olur. Özellikle hücre içindeki negatif yüklü PL dış yüzeye dönmesine neden olur(Zwaal & Schroit,1997). Bu membran PL'leri, özellikle fosfatidil serin, koagulasyon faktörlerine bağlanırlar ve tenaz ve protrombinaz komplekslerin oluşumunu ve aktivasyonunu arttırırlar. Ayrıca, hücre aktivasyonu ve apoptoz sırasında oluşan MP'lerin yüzeyleri prokoagulan aktiviteyi attırabilecek negatif yüklü PL'lerce zengindir. MP'lerin protein yapısı hangi hücre membranından orijin aldıklarını yansıtır. Buna ek olarak antikor taşıyabilir, kaynak hücreden aktivasyon ve apoptoz esnasında indüklenen ve MP salınımı ile sonuçlanan fonksiyonel molekülleri barındırırlar(Combes , 1999; Jimenez, 2001)

Hücresel orijini ve oluşumunu tetikleyen nedenler salınan MP'lerin sayısını ve fenotipini ve dolayısı ile patofizyolojik etkilerini de etkiler. Bu beyin, böbrek ve koroner arterden alınan endotel hücrelerin kültür ortamında apoptotik uyaranlar ve hücre aktivasyonu ile MP salgılaması sağlanarak yapılan bir çalışmada gösterilmiştir(jimenez, 2003). Apoptotik uyaran etkisi ile salınmış Endotel MP'ler(EMP) yüzeyinde fosfatidil serine bağlanan daha fazla miktarda yüzey Anneksin V ve CD31 gibi endotel hücre markerları (trombosit endotel hücre adhezyon molekülleri, PECAM) bulunur.

1.3.2. Koagulasyon:

MP'ler koagulasyon sistemini birçok farklı yoldan etkilemektedirler. Yukarıda da anlatıldığı üzere MP'lerin fosfolipid özellikleri koagulasyon faktörlerinin üzerlerine yapışmasına izin vererek, önceleri aktive trombositler tarafından yapıldığı düşünülen, koagulasyon enzim komplekslerinin oluşmasına ve aktivitesine olanak tanırlar. TF eksprese eden MP'ler koagulasyonu destekleme ve başlatma konusunda uygun çevresel koşulları oluşturmaktadırlar. Koagulasyonun sıvı fazını desteklemelerinin yanı sıra, trombus oluşumunda rol alan hücrelerin olaya katılımında da rolleri vardır.

Koagulasyonun başlaması birçok elemanın katılımını gerektirmektedir. Trombositler, endotel hücreleri ve lökositler aktive edilmeli ve pıhtılaşma faktörlerinin yapışabileceği uygun yüzeyin oluşmasına olanak tanımalıdır. Daha sonra koagulasyonda rol alan zimojenlerin her birinin tek tek aktivasyonu için gerekli bölgeye yapışmaları gerekmektedir. Son adım ise trombin oluşumu, fibrin oluşumu ve stabilizasyonu ve fibrinolizin engellenmesi aşamasıdır.

Damar duvarı hasarı geleneksel olarak koagulasyonun uyaranı olarak düşünülür. Böyle bir hasar, mekanik, elektronik veya kimyasal olabilir. Travma

endotel hücre aktivasyonu ile Wiebel-Palade cisimciklerinin içerisindeki depo P-selektin'in translokasyonu ile sonuçlanır. Hasar aynı zamanda trombositleri de aktive eder ve P-selektinin trombosit α-granüllerinden yüzeye çıkmalarına neden olur.

MP yüzeyindeki Fosfatidilserin(PS) koagulasyon yolağında yer alan karakteristik enzim komplekslerinin yapışmasına olanak sağlayan bir katalitik yüzey sunar. Aktive trombositlerden dökülen MP'ler dolaşımdaki ana kaynağı oluştururlar. Fonksiyonel adhezif reseptörleri içeren esas membran glikoproteinlerini ve karşı ligandların doğasına bağlı olarak yaygın prokoagulan potansiyele sahip hedeflere yataklık yaparlar. Çözünebilir veya immobilize fibrinojene bağlanarak trombositlerle agrege olabilirler. Ancak MP'lerin prokoagulan potansiyeli sadece trombosit kaynaklı MP'lerle sınırlı değildir. Monositler, Lenfositler ve Endotel hücrelerden salınan MP'ler de yüzeylerinde PS taşırlar. Dolaşımdaki MP'lerin yüzeyinde farklı etkileyiciler de gözlenmiştir, örneğin von Willebrand faktör ve E-selektin. Scott sendrom MP'lerin ve PS'nin hemostazdaki anahtar rolüne direk kanıttır. Bu kalıtsal bozukluk, plazma membran PS'nin yüzeyde belirmesindeki eksiklikten kaynaklanan hemorajik komplikasyonlar ile karakterizedir ve trombositlerin ve diğer kan hücrelerinin MP oluşturamamasına neden olmaktadır. Trombositlerin MP oluşturma kapasitesindeki düşüşle kendini gösteren başka bir kanama bozukluğu daha tanımlanmıştır. Bu anomaliler MP'lerin ve belki de öncelikli olarak tromobist kaynaklı MP'lerin hemostazdaki önemini bir kez daha vurgulamaktadır

MP'ler ve TF vasküler kompartmanda birbirleriyle yakından ilişkilidirler. TF koagulasyonun primer hücresel başlatıcısıdır. TF ekspresyonu sadece subendotel yüzey ile sınırlı olmayıp aynı zamanda uyarılmış monositlerden veya endotel hücrelerden de kaynaklanabilmektedir. Uyarılmış monosit yüzeylerinde toplamda ektrakte edilebilen TF aktivitesinin yalnızca %10-20'sinin ifade edildiği gösterilmiştir. Normal kişilerde potansiyel aktiviteye sahip dolaşımda kan-kaynaklı TF bulunmakta ancak bu aktivitenin çoğu durağan veya enkripte haldedir. TF aktivitesi etraftaki lipid çevreye bağlıdır. Dekripsiyonu monositlerden salınan TF'den

zengin MP'ler sayesinde ayarlanabilmektedir. Bu MP'ler, aktive trombositleri veya trombosit kaynaklı MP'leri bağlayarak, tromobsitler(PMP) ve Monositler (MMP) arasında füzyona neden olurlar. Deney ortamında trombus oluşturulduğunda TF'nin çoğunlukla membran vezküllerinin yüzeyinde lokalize olduğu ve sıklıkla tromobsit yüzeylerine yakın yerlerde yoğunlaştıkları gözlemiştir

1.3.3. Doku Faktörü(TF, Tissue Factor)

Bir 47kDa transmembran glikoprotein olan Doku Faktörü(TF) dolaşımdaki Faktör VII(a) ile kompleks oluşturur. TF-VIIa kompleksi faktör X'u direk olarak, Faktör IX'u ise indirek olarak aktive ederek sonunda trombin oluşumuna neden olur. TF'nin dış ve iç koagulasyon yolağında başlatıcı olarak kofaktör rolü oynaması koagulasyondaki kritik rolünün önemini azaltmaktadır. TF genellikle kan damarlarının adventitia tabakasında yer alır ve sadece damar hasarı olduğu durumlarda kanla temasa geçtiği düşünülmektedir. Gram negatif endotoksin (lipopolisakkarit;LPS) ve interlökin-1 ve tümör nekroz faktör α(TNF- α) gibi bazı sitokinler gibi çeşitli uyaranlara maruz kaldıktan sonra in vitro ortamda TF'nin endotel hücreler ve monositlerde de sentezlenebileceği gösterilmiştir. Çeşitli inflamatuar, infeksiyöz ve neoplastik hastalıklarda dolaşımdaki monositlerde TF ekspresyonu gösterilmiş olmasına rağmen normal monositlerin yapısal olarak bu aktiviteyi göstermedikleri düşünülmektedir. Benzer şekilde, vasküler endotel hücrelerin normalde in vivo TF aktivitesi göstermediklerine inanılsa da akciğer ve göğüs bölgesindeki kanser hücrelerine yakın bölgede olmak gibi belli koşullar altında TF ifade edebilecekleri gösterilmiştir.

ELISA ve fonksiyonel(pıhtılaşma) testler gibi plazmadaki ve kanda mononükleer hücre fraksiyonlarındaki TF miktarını belirlemek için testler geliştirilmiştir. Kan kaynaklı TF'nin trombojenik potansiyele sahip olduğu ve büyümekte olan trombusun etrafındaki fibrin ve trombositler üzerinde biriktiği gösterilmiştir. İmmünelektron mikroskop görüntüleri trombositlerin etrafında

kümelenen TF-pozitif membran parçacıkları olduğunu ve perifer kanda TF-pozitif nötrofil ve monositlerin bulunduğu yapılan immünolojik boyalarla gösterilmiştir. TF'nin granülositlerdeki varlığı ve orijini her ne kadar tartışmalı olsa da yapılan bir çalışmada granülositlerin TF eksprese etmedikleri ancak bunu monsitlerden aldıkları yönünde ikna edici deliller sunulmuştur Bakteriyel enfeksiyon veya diğer koşullarda monositlerin TF eksprese ettiğini gösteren çalışmalar yapılmış olsa da, 1970'lerden bu yana çeşitli deneysel koşullarda TF ekspresyonunun nötrofiller ve diğer granülosit populasyonlarında varlığı gösterilmiştir. Nötrofiller ve monositlerle ortak öncü hücreden farklılaşmaktadır. Böyle yakın akraba hücre serilerinde promotor bölgenin DNA metilasyonunun gen regulasyonundaki farklılaşmadan sorumlu olduğu düşünülmektedir.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

Yaş, cinsiyet, immünglobulin(Ig) alttipi, ISS kriterlerine bağlı olarak tanı evresi, serum Beta-2-mikroglobulin, serum albumin, Kalsiyum(Ca^{++}), Kreatinin, Lökosit, Trombosit, Hemoglobin seviyeleri ve Kemik İliği Plazma hücre oranları, serum ve üre monoklonal içerikleri ve D-Dimer seviyeleri analizde kullanılmıştır. D-Dimer test, sitratlı taze plazmadan 3000RPM'de 10 dakika santrifüj sonrası elde edilen plazmadan IL D-Dimer test (Instrumentation Laboratories, ABD) kullanılarak immunoturbidometrik yöntemle ölçülmüştür. D-Dimer tam otomatik koagulasyon analizörü ACL TOP (IL, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Normal D-Dimer cut-off(üst sınır) değeri üreticinin yönetmeliklerine uygun olarak sağlıklı kişilerden alınan sitratlı taze kan örneklerinden yapılan çalışmada elde edilmiştir. Tedavi süresince hastalar düzenli olarak venöz tromboz belirtisi veya semptomları olup olmadığı konusunda takip edilmiştir.

Kasım 2007 ile Haziran 2008 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesinde muayene ve tedavi programına alınmış Multiple Miyelom hastalarından bu çalışmaya katılmaları için etik kurul kararı ile gönüllü olur alınmıştır.

2.1. Plazmaların hazırlanması:

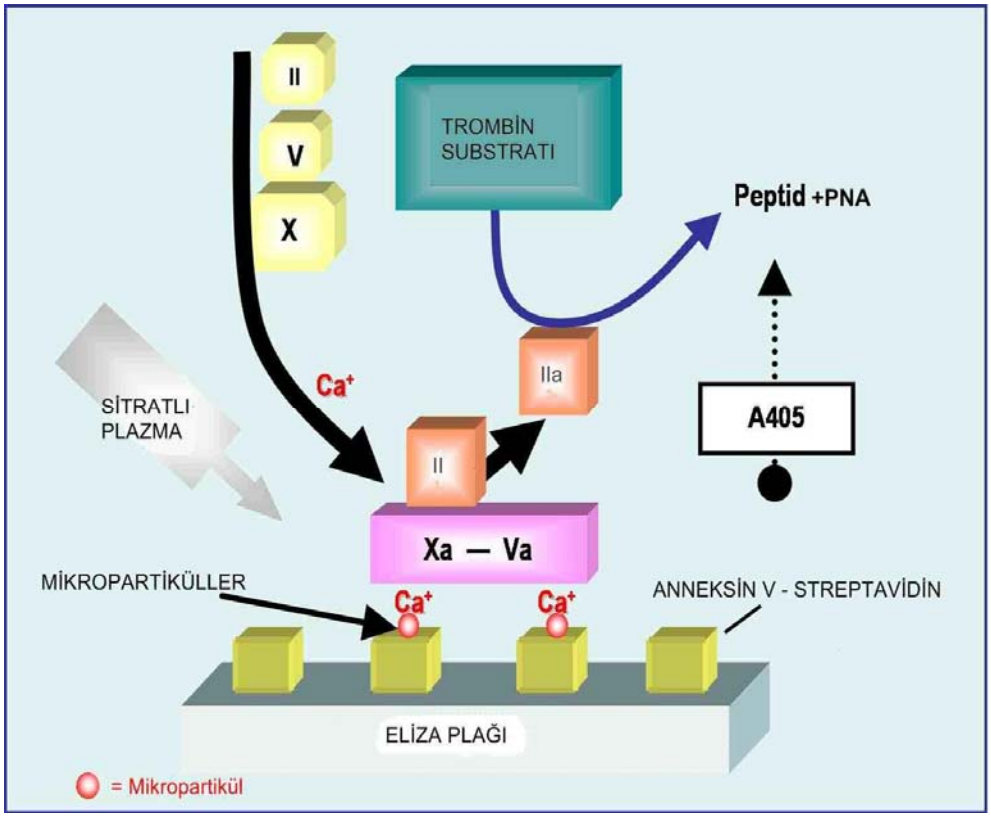
Hasta kanları 21 gauge iğne kullanılarak 0.105M sodyum sitrat içeren vakumlu tüplere(Beckton Dickenson, Franklin Lakes, New Jersey) alındı (1 vol sodyum sitrat:9 vol periferal kan). Antikoagulanlı örnekler hemen 1500 RCF'de(g) 15 dakika oda ısısında santrifüj (Beckman Coulter Allegra X-22) edilerek, plazma supernatan polipropilen tüplere aktarıldı. 13,000RPM'de 2 dakika hızla oda ısısında santrifüj

(HERMLE Z 233 MK) edildikten sonra trombosit tabakası ile temas etmeden alınan supernatan -80ºC'de (SANYO MDF-U4086S) dondurularak çalışma süresine kadar saklandı. Çalışmadan hemen önce örnekler 37 ºC'de 15 dakika inkübe edilerek çözüldü..

2.2. Zymuphen MP-Aktivitesi

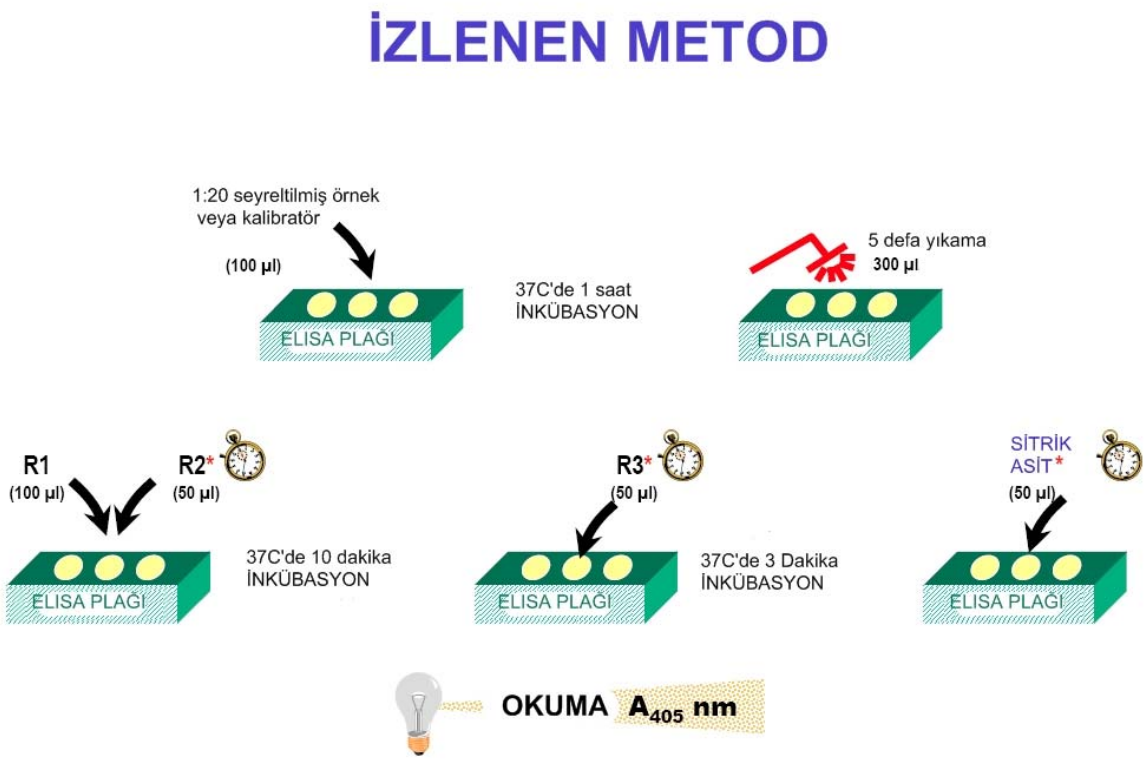
İnsan plazmasında bulunan prokoagulan aktiviteye sahip mikropartiküllerin ölçümüne yarayan fonksiyonel bir testtir.

Kardiyovasküler hastalıklar, malin hastalıklar, infeksiyöz veya inflamatuar patolojiler gibi klinik durumlarda ortaya çıkan mikropartiküllerin ölçümünde kullanılmaktadır.

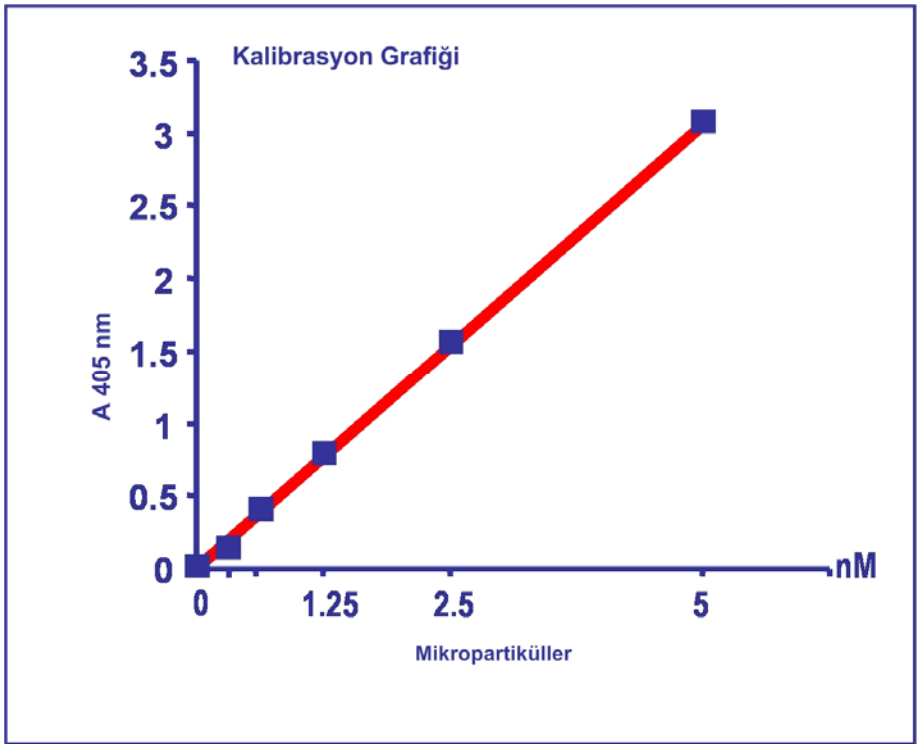


Şekil 2.1 Zymuphen MP: PKA ölçüm prensibi (Microparticles Procoagulant Activity In Citrated Plasma Vissac Am, Peyrafitte M, Amiral J, Hyphen Biomed Research, 95000 Neuville Sur Oise (France))

Kalsiyum, faktör Xa ve trombin inhibitörleri ile desteklenmiş dilüe test plazma örneği Streptavidine ve biotinile Anneksin V ile kaplanmış mikropartikül(MP) kuyucuklarına uygulanır ve daha sonra37ºC'de bir saat inkübe edilir. Yıkama aşamasını takiben kalsiyum içeren faktör Xa-Va karşımı ve pürifiye protrombin ortama eklenir. Test edilen örnekte bulunan MP'ler Anneksin V'e bağlanarak yüzeylerindeki fosfolipidleri açığa çıkarırlar. Bu da Faktör Xa—Va'nın kalsiyum varlığında protrombini trombine dönüştürmesini sağlar. Ortamdaki fosfolipid konsantrasyonu reaksiyonu sınırlayan faktördür. Fosfolipid konsantrasyonu ve oluşan trombin arasında direk ilişki vardır. Bu ilişki spesifik trombin substratı üzerindeki aktivite ölçülerek hesaplanır. Reaksiyon %2'lik sitrik asit uygulanarak durdurulur ve 405nm(A405) abzorbans ölçümü yapılır.



Şekil 2.2. Fonksiyonel MP: PKA Mikro Eliza ölçüm algoritması



Şekil 2.3 Kalibrasyon eğrisi

Kalibrasyon için yapılan seri dilüsyonlardan elde edilen abzorbans ölçümler log-log grafik kâğıdına işaretlenerek ölçülen örneklerin MP değerleri nano mol (nM) cinsinden hesaplanmıştır.

İstatistiksel analiz Friedman iki yönlü varyans analizi, Mann Whitney U test ve Spearman'ın korelasyon katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır. p değeri 0.05'in altında olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Değerlendirmeler "SPSS for Windows 11.5" paket programıyla yapılmıştır.

3.BULGULAR

Çalışma 29 hastadan alınan toplam 61 örnekle gerçekleştirildi (Çizelge 3,1 ve 3,2). Bu hastalardan 19'unda tanı sırasında(tedavi öncesi) alınan örneklerde MP: PKA ortalama 5.56nM (sınır: 0.96-17.10nM) ve D-Dimer düzeyi 461.10ng/ml (sınır: 65,56-1812,1ng/ml) bulundu.

Tanıdaki düzey ile cinsiyet, immünglobulin(Ig) alt tipi, ISS evresi, serum Beta-2-mikroglobulin, serum albumin, Kalsiyum(Ca^{++}), Kreatinin, Lökosit, Trombosit, Hemoglobin seviyeleri ve Kemik İliği Plazma hücre oranları, serum ve üre monoklonal içerikleri ve D-Dimer seviyeleri arasında bir ilişki saptanamadı. Ancak yaş ile (>65) MP: PKA arasında sınırda bir ilişki izlendi (6,94nM ve 5,5nM sırasıyla <65 ve >65yaş**, p:0,06**)

Çizelge 3.1. Tedavi öncesi hasta karakteristikleri

Karakteristik	n/N(%)	Median MP: PKA(nM)
Erkek	**12/29(41)**	**4,26**
IgA izotip	**4/29(7)**	**5,26**
Yaş ≥65	**10/29(34.5)**	**3,29**
B_2M>5,5mg/l	**8/24(33,3)**	**4,7**
Kemik iliği plazma hücre >30%	**5/16(31,3)**	**5,2**
Albumin <3,5g/dl	**5/29(17)**	**4,26**
Hb<10g/dl	**8/27(29,6)**	**3,98**
Kreatinin ≥1.4mg/dl	**7/29(24)**	**3,6**

Çizelge 3.2. Tüm çalışma grubunun MP: PKA verileri

n	Tip	ISS evre	MP: PKA
1	IgG	I	0,96
2	IgG	I	3,12
3	IgG	I	1,70
4	IgG	III	4,26
5	IgA	I	4,10
6	IgG	I	7,18
7	IgG	III	2,84
8	IgG	EVRE IA Igkappa	2,76
9	IgG	ASYMP MM	2,64
10	IgG	II	4,14
11	IgG	III	5,50
12	IgA	I	3,04
13	IgG	III	3,82
14	IgG	II	3,20
15	IgG	II	2,50
16	IgG	III	7,50
17	IgG	III	2,08
18	IgG	III	3,40
19	IgG	I	4,26
20	IgG	I	15,04
21	IgG	II	3,74
22	IgG	III	4,94
23	IgG	II	7,54
24	IgG	III	17,10
25	IgA	B	5,26
26	IgG	II	7,36
27	IgA	I	8,92
28	IgG	III	5,50
29	IgG	I	11,12

B: Bilinmiyor

Düzenli olarak kan örnekleri alınan hastalar (n=5) ayrıca değerlendirildi. (çizelge 3.3). Bu hastalardan kan örnekleri tedavi öncesi olmak üzere ayda bir kez alındı. Bir hastada bazal örnek alınamadı ve 3. VAD küründe kan örnekleri alındı. Hastaların bazal düzeylerinin kontrol grubundan farklı olmadıkları bulundu.

Çizelge 3.3. Düzenli takibi yapılan hastalar(n=5)

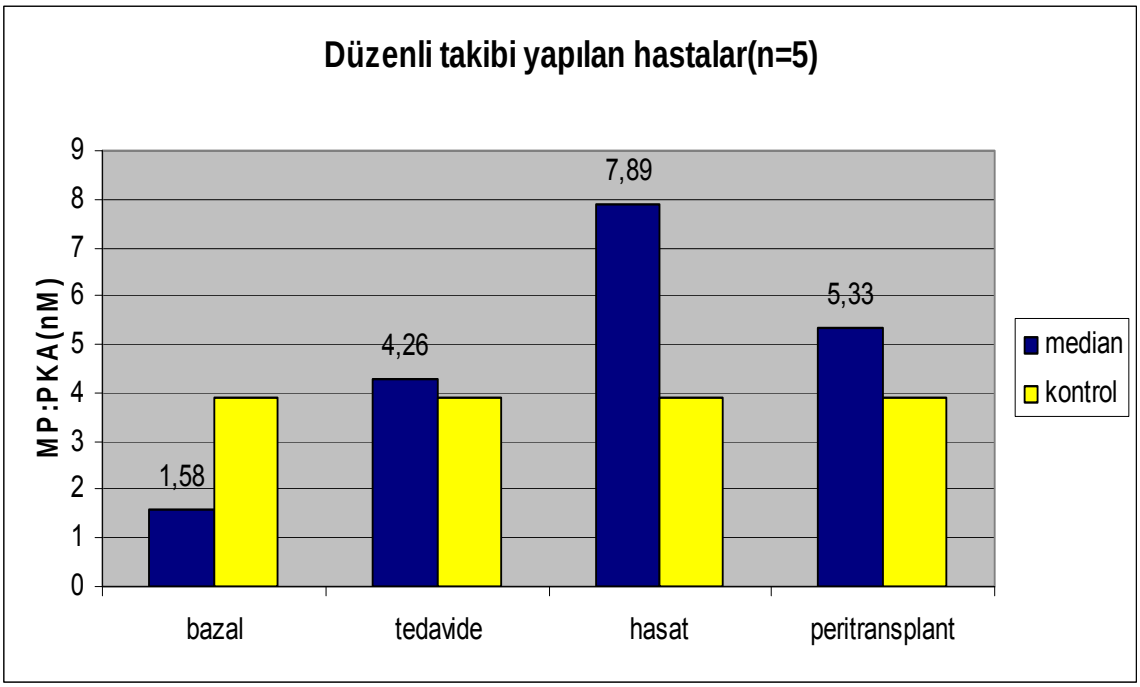
n	CİNSİYET	YAŞ	TİP	EVRE	ALDIĞI TEDAVİ
1	K	58	IgG	I	VAD
2	K	63	IgG	I	VAD+OTOLOG
3	K	81	IgG	III	LENALİDOMİD,PREDNOL,MELFALAN
4	E	68	IgG	I	VAD+OTOLOG
5	K	48	IgA	I	VAD

Çizelge 3.4. Düzenli takibi yapılan hastaların MP: PKA değerleri

HASTA	**ÖRNEK 1**	**ÖRNEK 2**	**ÖRNEK 3**	**ÖRNEK 4**	**ÖRNEK 5**	**ÖRNEK 6**
1	0,96	4,62	3,2	13,24	3,46	4,14
2	3,12	5,24	1,3	5,94	2,76	2,6
3	1,7	1,58	1,68	0,14		
4	4,26	0,66	6,38	7,2		
5	4,1	3,6	2,6	3,2	9,4	

Düzenli olarak kan örnekleri alınabilen hastalarda (n=5 hasta) yapılan takip sonucu elde edilen veriler değerlendirildiğinde, tedavi sırasında ve tedavi öncesinde saptanan MP: PKA değerlerinin hasat aşamasında arttığı gözlenmiştir. Tedavi süresince MP: PKA değerleri patolojik sınırlar içerisine(≥7nM) girmemiştir. En yüksek değerler hasat aşamasında hastalara G-CSF uygulandığı sırada gözlenmiştir (çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. MP: PKA'nın zamana göre dağılımı



D-Dimer düzeyleri ile MP: PKA ilişkisi irdelenirken D-Dimer seviyeleri dört gruba ayrılmıştır. Gruplar arasında yapılan istatistiksel incelemede D-Dimer seviyeleri ile MP: PKA arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Çizelge 3,6)

Çizelge 3.6. D-Dimer ve MP: PKA seviyeleri

D-DİMER	GRUP	n	ORTALAMA DD(ng/mL) ± SS	ORTALAMA MP:PKA ± SS	ORTANCA DD (ng/dL)	ORTANCA MP:PKA
<250	A	14	140,89±54	4,15±27	129,95	3,65
250-500	B	26	358,3±64	4,94±4,0	350,65	3,66
500-1000	C	9	693,3±166,5	5,47±3,7	620,6	3,82
>1000	D	11	2161,6±1351,4	4,91±2	1812,1	4,62

Çalışma hastalarımızdan akut VTE sırasında (öncesi ve sonrası) kan örneği alınan olmadı. Ancak öyküsünde VTE olan 3 hasta MP: PKA düzeyleri önemli farklılık göstermedi (Çizelge:3,7)

Çizelge 3.7. DVT geçirmiş olan hastaların MP: PKA ve D-Dimer seviyeleri (n=3)

n	MP: PKA	DD
1	3,04	73
2	3,74	4871,2
3	5,26	288,1

Venöz tromboemboli riski yüksek ilaçlarda Talidomid ± Doksorubisin kullanan olgularda (n=4) MP: PKA düzeyi 1,2-15,04 nM arası değişiklik göstermiştir (Çizelge 3.8)

Çizelge 3.8. Talidomid ve/veya Doksorubisin alanlarda MP: PKA ve D-Dimer düzeyleri (n=4)

n	MP:PKA	D-Dimer(ng/dL)
1(talidomid+ kumadin)	3,04	73
	3,9	192,8
	1,26	153,8
2(talidomid)	3,74	4871,2
3(deksametazon)	5,26	288,1
4(bortezomib+deksa+talidomid)	15,04	584,1
	9,14	451,6

MP: PKA'sı yüksek bulunan kan örnekleri (normal kontrollerin ortalamalarının **(3,9nM)** 2 katından fazla) ayrıca değerlendirildi (Çizelge 3.9)

Çizelge 3.9. MP: PKA seviyeleri yüksek (>7nM) olan örnekler

n	Yaş	Cinsiyet	MP: PKA	D-Dimer
1	58	k	12,44	358,6
2			13,24	493,6
3	68	e	7,20	1060,40
4	48	k	9,40	114,5
5	64	e	7,18	113,5
6			10,46	420,1
7	55	k	7,50	4035,2
8	58	k	15,04	584,1
9			9,14	451,6
10	46	e	7,54	1812,1
11	69	k	17,10	278,6
12	60	e	7,36	555,90
13	50	e	8,92	69,4
14	33	k	11,12	
ORTALAMA	**55,36±10,6**		**10,26±3,16**	**795,97±1078,8**
ORTANCA	**58**		**9,27**	**451,6**

MP: PKA'sı 7nM üzerinde ve altında olan örneklerde D-Dimer seviyeleri ayrıca değerlendirilmiş ve bu iki grup arasında D-dimer düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı farklılık tespit edilememiştir(p= 0,6423) (Çizelge:3.10)

Çizelge 3.10. MP: PKA 7nM üzerinde ve altında olan örnekler ve D-Dimer seviyeleri ile ilişkisi

	MP:PKA<7nM	MP:PKA>7nM
n	47	14
MP:PKA	3,35±1,48	10,26±3,16
D-DİMER	658,4±899,8	795,97±1078,8
p=0,6423		

4.TARTIŞMA

Kanser hastalarının artmış tromboz riski olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Prokoagulan mikropartiküller(MP) vasküler hücre hasarında aterotromboz oluşumunda önemli rol oynar. Sağlıklı kişilerin kanında düşük konsantrasyonlarda seyreden MP, çeşitli kardiyovasküler risk faktörlerinin varlığında yüksek seviyelerde bulunmuştur. Dolaşımdaki MPler vasküler inflamasyona, endotel bozukluklarına, lökosit adezyonuna neden olarak plak oluşumuna katkıda bulunmakta ve buna bağlı olarak lokal tromboz meydana gelmektedir. Plak içerisinde apoptotik monositler tarafından dökülen MPler, üzerlerindeki doku faktörü aktivitesi nedeniyle plak trombojenitesinin esas belirleyicisi kabul edilmektedirler. Uzun süredir plak üzerindeki doku faktörün koagulasyonu başlatmada yeterli olduğu düşüncesi fiziksel anlamda gerçekçi olmamakla beraber, pıhtı oluşumunun hızla meydana gelmesinden dolaşımdaki MPler üzerinde bulunan doku faktörünün sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada multiple miyeloma hastalarında ülkemizde ilk kez kullanıldığını düşündüğümüz yöntemle kandaki prokoagulan aktivite ölçülmüştür. Yirmi dokuz multiple miyeloma hastasının, değişik hastalık ve tedavi aşamalarında, kan örneklerinde mikro ELİSA temelli bir yöntemle mikropartikül prokoagulan aktivitesi tayin edilmiştir. Örneklerin çift çalışmaya tabi tutulduğu testimizde sonuçlar arası uyum çok yüksek bulunmuştur.

Hasta sayımız ve buna bağlı örnek büyüklüğümüz henüz kesin sonuçlar verecek büyüklükte değildir. Ancak çalışmanın önemli bulgusu, multiple miyeloma hastalarında ortanca MP:PKA düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuyla benzer olduğudur. Bu durum en azından tedavi öncesi MP: PKA'nın bir risk faktörü olarak durmadığını düşündürmektedir. Küçük serimizde aslında olması gereken olguların tedavilere göre basamaklandırılması ve böylece örneğin VAD, MP, MPT, TD gibi değişik tedavi seçeneklerini alan hastalarda MP: PKA'nın bu tedaviler sırasında değişimini izlemek ve birbirleri arasındaki farkları ortaya koyabilmektir. Takdir edileceği üzere 6 aylık bir süre MM hastalarının izlenmesi ve sağlıklı yorum

yapabilmek için yetersizdir. Serimizdeki hastalar homojen tedaviler almamışlardır ve tedavilerinin değişik aşamalarında kan örnekleri alınabilmiştir. Tedavi almaya başlayan hastayı en az 1 yıl izlemek gerekmektedir. Bu nedenle VTE geçiren/geçirecek olgular bu çalışmada yeterince yer bulamamışlardır. Ayrıca bazı hastaların geçirdikleri VTE'nin sessiz kalabileceği de hesaba katılmalıdır.

Çalışmamızın önemli bir bulgusu da MP:PKA'nın otolog kök hücre mobilizasyonu sırasında artışı olmuştur. Bu aşamada en yüksek 13 nM ve ortanca 7,2 nM değerlerine ulaşılmıştır. Çalışmamızda sağlıklı kontrol değerleri ortanca 3,9 olarak bulunmuş ve henüz evrensel bir standardı olmayan bu test için bu değerin yaklaşık iki katı olan 7 nM patolojik üst sınır olarak değerlendirilmiştir. Otolog kök hücre mobilizasyonu sırasındaki artışın sebebi kullanılan büyüme faktörleri olabilir. Topçuoğlu ve ark.'ın çalışmasında G-CSF kullanımının sağlıklı kök hücre vericilerinde TF yolunu uyararak koagulasyonu tetikledikleri gösterilmiştir. Bu çalışmada erkek ve kadınlarda artış oranlarının farklı olduğu saptanmış. Erkeklerdeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir(Çizelge 1,7).Biz bu çalışmada,29 hastadan oluşan verilerde kadın ve erkek hastalar arasında böyle bir artış gözlemlemedik(kadın ve erkeklerde ortalama MP:PKA değerler sırasıyla, 6,23nM ve 5,51nM).

Çizelge 4.1. G-CSF(0.gün) öncesi ve G-CSF(5.gün) sonrasında TF:Ag ve TF:PKA plazma seviyeleri(Topçuoğlu P. Bone Marrow transplantation,2003,1-6)

G-CSF öncesi (bazal) ve G-CSF sonrası (5. gün) plazma TF:Ag ve TF:PKA seviyeleri

Değişken	Bazal Ort. ± S.s.	5. Gün Ort. ± S.s.	P
TF:Ag (pg/ml) ($n=18$)	34.3±52	100.4±92	0.01*
Kadın (pg/ml) ($n=8$)	30.4±47	70.9±72	0.20
Erkek(pg/ml) ($n=10$)	37.2±58	122.8±105	0.04*
TF: PCA (pg/ml) ($n=18$)	9.1±20	48.9±81	0.06
Kadın (pg/ml) ($n=8$)	5.2±7	33.9±71	0.27
Erkek(pg/ml) ($n=10$)	12.5±27	62.3±91	0.14

*$P<0.05$.

Serimizde saptanan en yüksek iki değerden biri (17 nM), hastanın 1. kür melfalan ve prednol aldığı sırada saptanan değerdir. 69 yaşında kadın hasta ISS I. evrede, IgG λ izotipinde, böbrek fonksiyon bozukluğu nedeniyle kliniğe başvurmuş ve performans skoru iyi olarak değerlendirilmiştir.

Bütün grupta en yüksek ikinci değer 15,04nM olarak bulunmuştur. Bu hasta 2001 Temmuz ayından itibaren talidomid kullanmaktaydı, saptanan değer hasta Talidomid kullanmayı bıraktıktan bir ay sonra alınan kan örneğinden çalışılmıştır. Kan alındığı dönemdeki, IgG κ izotipinde, ISS II. evre, performans skoru I'dir. Bu hastaya ait yapılan takipte MP: PKA'nın patolojik seviyelerde seyrettiği bulunmuştur.

Düzenli izlem yapılarak ve örnek sayısı arttırılarak tromboz geçiren hastalara geriye dönük olarak yeniden değerlendirilecektir.
Bu hastaların seri izlemleri yapılmalıdır. Ancak bu çalışma ilerletildiği zaman önemli sonuçlar elde edebileceğimize inanıyoruz.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Mikropartikül Prokoagulan Aktivite(MP: PKA) bu yöntemle kolayca ölçülebilmiştir. Henüz dünyada uluslararası standartlara uygun bir MP ölçüm yöntemi bulunmamaktadır. Multiple Miyelom hastalarında trombozun nedeni belli değildir. Bizim hastalarımızda özellikle Talidomid kullananlarda istatistiksel olarak değerlendirme şansımız olmamasına rağmen MP: PKA'da yüksek bulunmuştur. Bu çalışma hastalarının uzun süreli takipleri, tromboz geçirenler ve geçirmeyenler arasında fark olup olmadığı konusunda sağlıklı yorum yapmamıza olanak sağlayacaktır.

ÖZET

Multiple Miyelom Hastalarında Mikropartikül Prokoagulan Aktivitenin(MP: PKA) Tedavilerle ve Trombotik Komplikasyonlara İlişkisi

Bu çalışmada amaç, Multiple Miyelom(MM) hastalarında tedavi süresinde tromboza neden olabilecek etkenlerden MP:PKA'nın incelenmesidir. Literatürde Mikropartikül yüzeylerinde prokoagulan aktivite olduğu ve bunun çeşitli kardiyovasküler ve trombotik komplikasyonlarda rolü olduğu ispatlanmıştır. Özellikle MM hastalarında Talidomid ile beraber kemoterapi rejimleri kullananlarda tromboz sıklığı yaklaşık %20 civarındadır.

MP: PKA ölçüm yöntemleri henüz uluslararası standartlarda kabul görmüş değildir ancak bu konuda çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Burada kullanılan mikro ELİSA yöntem, "Freyssinet Teknolojisi"(orijinal yöntem) ile karşılaştırılmış ve sonuçlar arasında fark bulunamamıştır. Yöntem kolay ve pratik olup, tedavi verimliliğini ölçmek, tanı ve prognozda kullanmak açısından çok önemli veriler sunmaktadır..

Elde edilen veriler örnek sayısı az olduğundan istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ancak Talidomid kullanan hastalarda MP: PKA yüksek bulunmuştur. Ayrıca, mobilizasyon aşamasında hastaların MP:PKA değerlerinde önceye göre artış gözlenmiştir. Multiple Miyelom hastalarında MP:PKA'nın tanıda kullanılan diğer kriterlerle korelasyon analizi yapılmış ve 65 yaşın üzerinde olan hastalarda istatistiksel olarak sınırda anlamlı($p=0,06$) değerler bulunmuştur.

Örnek sayısının arttırılması ve talidomid kullanan hastaların ileriye yönelik takibi gerekmektedir. Yapılacak olan çalışmada tromboz geçiren ve geçirmeyenler arasında Mikropartikül prokoagulan aktivite ile anlamlı bir fark olup olmadığı daha net olarak söylenebilecektir.

Anahtar sözcükler: Multiple Miyelom, Tromboz, Talidomid, Mikropartikül Prokoagulan Aktivite, Doku Faktörü

SUMMARY

Correlation Of Microparticle Procoagulant Activity and Thrombotic Complications in Multiple Myeloma Patients Treated With Chemoterapy

Our aim in this study is to analyze the correlation of microparticle procoagulant activity and thrombosis by utilizing the quantitative evaluation of MP:PCA, a cause of thrombosis in the treatment process of multiple myeloma(MM) patients. It has been stated that microparticle surfaces have procoagulant activity and this activity has role in various cardiovascular and thrombotic complications. Combined chemotherapy regimens containinig Thalidomide and Doxorubicine for MM treatment results with thrombosis in patients in 20 percent of patients.

Although quantitavie evaluation methods of MP:PCA do not have an internationally accepted standart yet, there is already a number of papers published. The micro ELISA approach used in this study has been compared with Freysinnet Technology method resulting with comperable findings.

Results clearly show Thalidomide administered patients have higher MP:PCA values. In addition, our analysis showed an increase in MP:PCA values of samples acquired from patients during mobilisation phase for PBSCT. Furthermore, MP:PCA measurements were statistically analysed with diagnostic criteria of MM and no correlation found, except with patients age above 65, statistically meaningful ($p=0.06$) values obtained. The data obtained as a result of this study was not statisticaly significant because of low number of samples

As a result, our methodology was validated on samples receiving chemotherapy for MM resulting with increased values during mobilisation and thalidomide use. With higher number of samples and further follow up of thalidomide administrated MM patients, our study has the potential to show statistically meaningful correlation between microparticle procoagulant activity and thrombotic complications.

Key Words: Multiple Myeloma, Thrombosis, Thalidomide, Microparticle Procoagulant Activity, Tissue Factor,

KAYNAKLAR

AM VİSSAC & J. AMİRAL Functıonal Or Immunologıcal Assays For The Measurement Of Mıcropartıcles On Plasma (Zymuphen Mp-Activity & Mp-Tf) March, 2008-Uk Form Ah32 05-2008

BERGSAGEL D: The İncidence And Epidemiology Of Plasma Cell Neoplasms. Stem Cells 13, Suppl2,:1,1995)

BİRO E, STURK-MAQUELİN KN, VOGEL GMT, MEULEMAN DG, SMİT MJ, HACK CE, STURK A, Nieuwland R. Human-cell derived microparticles promote thrombus formation in vivo in a tissue factor-dependent manner. J Thromb Haemost. 2003;1:2561–2568.

BEKSAÇ M, ÖZCAN M, KOÇ H, AKAN H, İLHAN O, ŞARDAŞ OS. Circulating endogenous granulocyte colony-stimulating factor levels after bone marrow transplantation(letter). Blood 80: 2946-2947, 1992.

BATAİLLE R, HAROUSSEAU JL: Multiple myeloma. N Engl J Med 336:1657, 1997. [PMID: 9171069]

BART BARLOGİE, JOHN SHAUGHNESSY, GUİDO TRİCOT, JOTH JACOBSON, MAURİZİO ZANGARİ, ELİAS ANAİSSİE, RON WALKER, AND JOHN CROWLEY; Treatment of multiple myeloma; September 11, 2003; DOI 10.1182/blood-2003-04-1045.

BARLOGİE B, TRİCOT G, ANAİSSİE E: Thalidomide in the management of multiple myeloma. Semin Oncol 28:577, 2001. [PMID: 11740812]

BARLOGİE B, ZANGARİ M, SPENCER T, ET AL: Thalidomide in the management of multiple myeloma. Semin Hematol 38:250, 2001. [PMID: 11486313]

BARLOGİE B, DESİKAN R, EDDLEMON P, ET AL. Extended survival in advanced and refractory multiple myeloma after single-agent thalidomide: Blood, 15 July 2001 Z Volume 98, Number 2

CERMAK J, KEY NS, BACH RR, ET AL. C-Reactive Protein İnduces Human Peripheral Blood Monocytes To Synthesize Tissue Factor.Blood 1993;82:513–520

DURİE BGM., HAROUSSEAU JL., MİGUEL JS., BLADÉ J., BARLOGİE B., ANDERSON K., GERTZ M., DİMOPOULOS M., WESTİN J., SONNEVELD P., LUDWİG H., GAHRTON G., **BEKSAC M.**, CROWLEY J., BELCH A., BOCCADARO M., TURESSON I., JOSHUA D., VESOLE D., KYLE R.,

ALEXANİAN R., TRİCOT G., ATTAL M., MERLİNİ G., POWLES R., RİCHARDSON P., SHİMİZU K., TOSİ P., MORGAN G. AND RAJKUMAR SV. (2006) On behalf of the International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma , 20 (9): 1467-73.

FLAGEUL B, WALLACH D, CAVELİER-BALLOY B, BACHELEZ H, CARSUZAA F, DUBERTRET L. Thalidomideand thrombosis. Annu Dermatol Venereol. 2000;127:171-174.

GİESEN PLA, RAUCH U, BOHRMANN B, KLİNG D, ROQUE M, FALLON JT, BADİMON JJ, HİMBER J, RİEDERER MA, NEMERSON Y. Blood-Born Tissue Factor: Another View Of Thrombosis. Proc Natl Acad Sci(Usa) 1999;96:2311-15

GABRİEL DA, MUGA K, BOOTHROYD EM. The Effect Of Fibrin Structure On Fibrinolysis. J Biol Chem 1992;2367:24259–24263

HUGEL B, MARTİNEZ MC, KUNZELMANN C, FREYSSİNET JM. Membrane microparticles: two sides of the coin. Physiology (Bethesda). 2005;20:22–27.

JOAN BLADÉ, M.D Monoclonal Gammopathy Of Undetermined Significance. N Engl J Med 2006;355:2765-70. Copyright © 2006 Massachusetts Medical Society.)

KYLE RA, THERNEAU TM, RAJKUMAR SV, ET AL. A Long-Term Study Of Prognosis İn Monoclonal Gammopathy Of Undetermined Significance. N Engl J Med 2002;346:564-9.

LANDGREN O, GRİDLEY G, TURESSON I, ET AL. Risk Of Monoclonal Gammopathy Of Undetermined Significance (Mgus) And Subsequent Multiple Miyelom Among African American And White Veterans İn The United States. Blood 2006;107:904-6.)

LACKNER H: Hemostatic Abnormalities Associated With Dysproteinemia, Semin Hematol 10:125,1973) Ref:195-196

LEE CK, BARLOGİE B, MUNSHİ N, ET AL: DTPACE: An effective, novel combination chemotherapy with thalidomide for previously treated patients with myeloma. J Clin Oncol 21(14):2732, 2003.

MALLAT Z, HUGEL B, OHAN J, LESECHE G, FREYSSİNET JM, TEDGUİ A. Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques: a role for apoptosis in plaque thrombogenicity. Circulation.1999;99:348 –353.

MULLER I, KLOCKE A, ALEX M, KOTZSCH M, LUTHER T, MORGENSTERN E, ZİESENİSS S, ZAHLER S, PREİSSNER K, ENGELMANN B. Intravascular tissue factor initiates coagulation via circulating microvesicles and platelets. *Faseb J*. 2003;17:476–478.

MOREL O, TOTI F, BAKOUBOULA B, GRUNEBAUM L, FREYSSIET JM Procoagulant microparticles: 'criminal partners' in atherothrombosis and deleterious cellular exchangesPathophysiol Haemost Thromb. 2006;35(1-2):15-22.

MOREL O, TOTİ F, HUGEL B, FREYSSİNET JM. Cellular microparticles: a disseminated storage pool of bioactive vascular effectors. Curr Opin Hematol. 2004;11:156 –164.

OLİVİER MOREL, FLORENCE TOTİ, BE´NE´DİCTE HUGEL, BABE´ BAKOUBOULA, LAURENCE CAMOİN-JAU, FRANC¸OİSE DİGNAT-GEORGE, JEAN-MARİE FREYSSİNET; Procoagulant Microparticles, Disrupting the Vascular Homeostasis Equation; Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2006;26;2594-2604;

ÖZCAN M, MORTON CT, SOLOVEY A, DANDELET L, BACH RR, HEBBEL RP, SLUNGAARD A, KEY NS. Whole blood tissue factor procoagulant activity remains detectable during severe aplasia following bone marrow and peripheral blood stem cell transplantation. Thromb Haemost 85:250-5, 2001.

P. TOPÇUOĞLU, M. ARAT, K. DALVA, M. ÖZCAN.Administration of granulocyte colony-stimulating factor for allogeneic hematopoietic cell colection may induce the tissue factor–dependent pathway in healthy donors. Bone Marrow Transplatation 2004 Jan;33(2):171-6.

PERKİNS HA, MACKENZİE MR, FUDENBERG HH; Hemostatic Defects İn Dysproteinemias. Blood 35:695,1970.

RİEDEL DA, POTTERN LM: The epidemiology of multiple myeloma. Hematol Oncol Clin North Am 6:225, 1992. [PMID: 1582971]

RAJKUMAR SV, HAYMAN S, GERTZ MA, ET AL: Combination therapy with thalidomide plus dexamethasone for newly diagnosed myeloma. J Clin Oncol 20:4319, 2002. [PMID: 12409330]

TILLEY RE, HOLSCHER T, BELANI R, NİEVA J, MACKMAN N. Tissue factor activity is increased in a combined platelet and microparticle sample from cancer patients. Department of Immunology, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, United States. Thromb Res. 2008 Feb 8.

VANWİJK MJ, VANBAVEL E, STURK A, NİEUWLAND R. Microparticles in cardiovascular diseases. Cardiovasc Res. 2003;59:277–287.

ZWAAL RF, COMFURİUS P, BEVERS EM. Surface exposure of phosphatidylserine in pathological cells. Cell Mol Life Sci. 2005;62:971–988.

ZANGARİ M, MD., The blood Coagulation Mechanism in Multiple Myeloma, Thrombosis and Hemostasis, Vol29, No:3, 2003,275-282

ZANGARİ M, SİEGEL E, BARLOGİE B, ET AL; Thrombogenic Activity Of Doxorubicin İn Miyelom Patients Recieving Talidomid: İmplications For Therapy, Blood100:1168,2002) Ref:198

ZANGARİ M, ANAİSSİE E, BADROS A, ET AL. Thrombotic Complications İn Miyelom Patients Receiving Thalidomide İn Combination With Chemotherapy. Thromb Haemost 2001;(Suppl): P2192 (Abst)

ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı	Seda
Soyadı	Günaltay
Doğum yeri ve tarihi	Lefkoşa- 04.12.1976
Uyruğu	Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti
Medeni durumu	Evli
İletişim adresi ve telefonu	Mustafa Kemal Mahallesi 2131. sokak 16/5 Söğütözü / Ankara- 0536 364 2111

II-Eğitim:

Yüksek Lisans: A.Ü. Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları A.B.D., ANKARA,2008

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, ANKARA,2000

Lise: Türk Maarif Koleji, Lefkoşa,1993

Yabancı dil: İngilizce

III-Mesleki Deneyim:

A.Ü. İbn-i Sina Hastanesi Hematoloji Laboratuarı, 2002 - 2008

Koagulasyon Ünitesi Teknik sorumlu

IV-Katıldığı Kurs ve Sertifika:

Türk Hematoloji Derneği XIX. Ulusal Hematoloji Kongresi, İstanbul 2003
Mezuniyet sonrası eğitim kursu

Türk Hematoloji Derneği XXX. Ulusal Hematoloji Kongresi, Antalya 2004
Mezuniyet sonrası ilk basamak eğitim kursu

ISH Uluslar arası Hematoloji Kongresi, İstanbul 2005

UK National External Quality Assesment Scheme 2005
Annual Meeting Sheffield, UK

V-Seminerler:

Multiple Miyelomda tromboz