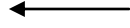


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak  
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya  
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;  
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(DOKTORA TEZİ )**

**MULTIPLE MYELOMA HASTALARINDA PTPN6, FUS,  
CD74, MS4A3, PRDX5 VE UNC45B GENLERİNİN  
EKSPRESYON ANALIZI**

**İLKNUR SUER**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. ŞÜKRÜ ÖZTÜRK**

**GENETİK ANABİLİM DALI  
GENETİK PROGRAMI**

**İSTANBUL-2018**

**TEZ ONAYI**

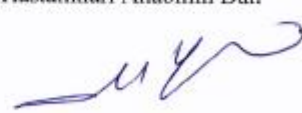
İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı, Genetik Programında Doktora öğrencisi İlknur SÜER tarafından Prof. Dr. Şükrü ÖZTÜRK'ün danışmanlığında hazırlanan “**Multiple Myeloma Hastalarında PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 ve UNC45B Genlerinin Ekspresyon Analizi**” başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 24/12/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

  
**Prof. Dr. Şükrü ÖZTÜRK**  
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi  
İç Hast. A.D. Tıbbi Genetik B.D.

  
**Prof. Dr. Kıvanç CEFLE**  
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi  
İç Hast. A.D. Tıbbi Genetik B.D.

**Prof. Dr. Mustafa Nuri YENİREL**  
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

  
**Doç. Dr. Hakan GÜRKAN**  
Trakya Üni. Tıp Fakültesi  
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

  
**Doç. Dr. Emel ERGÜL**  
Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

**İLKNUR SUER**

**ITHAF**

Bu tez projesini hayattaki en değerli hazinem olan aileme ithaf ediyorum.

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitim sürecimde her zaman güvendiğim, akademik başarı ve vizyonunu örnek aldığım, kendimi geliştirmem konusunda gösterdiği özveri ve destek nedeniyle her zaman derin sevgi ve saygı duyduğum çok değerli hocam Prof. Dr. Şükrü Öztürk'e,

İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Bölümü'nde tez çalışmamı yapabilmem için gereken koşulları sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen değerli Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Şükrü Palanduz'a,

Tez konusu tasarlanması aşamalarında bilgi ve deneyimlerine başvurduğum değerli hocalarım Doç. Dr. Sema Sırma ve Doç. Dr. Neslihan Abacı'ya,

Tez çalışmamın takibi sürecinde bilgi birikimlerini paylaşan tez izleme komitesindeki değerli hocalarım Prof. Dr. Kıvanç Çefle ve Prof. Dr. Mustafa Yenerel'e,

Hasta ve kontrol grubumu oluşturmamda bana yardımcı olan Doç. Dr. İpek Yönel Hindilerden'e, Uzm. Dr. Mesut Ayer'e, Uzm. Dr. Fadime Ersoy Dursun'a, Uzm. Dr. Emre Osmanbaşoğlu'na ve Uzm. Dr. Fehmi Hindilerden'e,

Tezimin deneysel çalışmaları sırasında her zaman güler yüz ve desteklerini gördüğüm sevgili Dr. Aynur Dağlar Aday, Ceylan Adıkalın ve Gülsüm Taş Başer'e,

İstatistiki veri analizi aşamasında hoşgörü ve tecrübelerini paylaşan kıymetli hocam Prof. Dr. Çiğdem Arıcıgil Çılan'a,

Doktora eğitimim süresince dostluğunu esirgemeyen İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Bilim Dalı çalışanları Dr. Murat Kaya, Dr. Gülçin Bağatır Ozan, Dr. Gözde Öztan, Dr. Ayşe Gül Bayrak, Dr. Tuğba Kalaycı, Dr. Ali Uçur, Dr. Ekin Kuntsal Dertsiz, MSc. Melda Sarıman, MSc. Burak Dön, MSc. Özden Özcan, MSc. Shahrashoub Sharifi, MSc. Maryam Barghi, Bio. Harun Aslan, Bio. Özkan Gümüş, Bio. Ayla Şahin, tıbbi sekreterimiz Yeşim Adıgüzel ve temizlik personelimiz Nurten Kaya'ya,

Güven ve sevgilerini her zaman yanımda hissettiğim başta eşim Metin ve kızım Elif olmak üzere tüm aileme,

Çok teşekkür ederim...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: **24651**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                             |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| TEZ ONAYI .....                                                                             | İİ   |
| BEYAN.....                                                                                  | İİİ  |
| İTHAF.....                                                                                  | İV   |
| TEŞEKKÜR.....                                                                               | V    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                           | VI   |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                                       | Vİİ  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                                      | X    |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....                                                       | Xİİ  |
| ÖZET .....                                                                                  | XVI  |
| ABSTRACT.....                                                                               | XVİİ |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....                                                                       | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                                     | 3    |
| 2.1. Kanser Tanımı.....                                                                     | 3    |
| 2.2. Hematopoez ve İmmün Sistem .....                                                       | 7    |
| 2.2.1. B Lenfosit Hücreleri ve Plazma Hücreleri .....                                       | 8    |
| 2.2.2. İmmünoglobulinler.....                                                               | 10   |
| 2.3. Multiple Myeloma .....                                                                 | 12   |
| 2.3.1. Multiple Myeloma Patolojisi .....                                                    | 14   |
| 2.3.2. Multiple Myeloma Epidemiyolojisi ve İnsidansı.....                                   | 16   |
| 2.3.3. Multiple Myeloma Etiyolojisinde Rol Oynayan Risk Faktörleri .....                    | 18   |
| 2.3.4. Multiple Myeloma Tanısında Kullanılan Klinik Kriterler ve Laboratuvar Bulguları..... | 19   |
| 2.3.5. Multiple Myeloma Prognozu ve Evrelemesi .....                                        | 21   |
| 2.3.6. Multiple Myeloma Tedavisi ve Tedaviye Yanıt .....                                    | 23   |
| 2.4. Tezde Araştırılan Genler.....                                                          | 24   |
| 2.4.1. CD74 geni .....                                                                      | 25   |
| 2.4.2. FUS geni .....                                                                       | 26   |
| 2.4.3. MS4A3 geni .....                                                                     | 28   |
| 2.4.4. PRDX5 geni .....                                                                     | 29   |
| 2.4.5. PTPN6 geni .....                                                                     | 32   |

|                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 2.4.6. UNC45B geni.....                                                    | 33  |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                                    | 35  |
| 3.1. Gereç.....                                                            | 35  |
| 3.2. Kemik İliği Örneklerinin Toplanması.....                              | 35  |
| 3.3. Biyoinformatik Analiz Sonuçlarının Yolak Analizinde Kullanılması..... | 36  |
| 3.4. Kemik İliği Materyallerinin Uygun Koşullarda Saklanması .....         | 38  |
| 3.5. RNA İzolasyonu.....                                                   | 39  |
| 3.6. RNA Derişimlerinin Ölçülmesi .....                                    | 40  |
| 3.7. cDNA Sentezi .....                                                    | 40  |
| 3.8. qRT-PZR Tekniği İle Gen Ekspresyon Analizi .....                      | 41  |
| 3.9. İstatistiksel Analiz.....                                             | 44  |
| 4. BULGULAR.....                                                           | 45  |
| 4.1. Hasta Grubuna Ait Bilgiler .....                                      | 45  |
| 4.2. Kontrol Grubuna Ait Bilgiler.....                                     | 47  |
| 4.3. qRT-PZR Bulguları.....                                                | 48  |
| 4.4. Pearson Korelasyonu Analiz Bulguları.....                             | 71  |
| 4.5. ROC Analizi Bulguları .....                                           | 76  |
| 5. TARTIŞMA .....                                                          | 78  |
| KAYNAKLAR .....                                                            | 86  |
| FORMLAR .....                                                              | 104 |
| ETİK KURUL KARARI .....                                                    | 107 |
| İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....                                            | 108 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                             | 109 |

## TABLOLAR LISTESİ

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 2-1: Bazı kanserlerde 2016 yılına ilişkin tahmin edilen insidans ve mortalite verileri.....                       | 13 |
| Tablo 2-2: Durie Salmon Evreleme Sistemi, ISS ve R-ISS.....                                                             | 22 |
| Tablo 2-3: Multiple myeloma tedavisinde kullanılan ilaç örnekleri.....                                                  | 24 |
| Tablo 3-1: Hasta ve kontrol grubu RPKM değerlerinin karşılaştırılması.....                                              | 37 |
| Tablo 3-2: Genomik DNA eleminasyon miksi için gerekli reaktifler ve miktarlar .....                                     | 41 |
| Tablo 3-3: Reverse (ters) transkripsiyon miksi için gerekli reaktifler ve miktarlar .....                               | 41 |
| Tablo 3-4: qRT-PZR reaktifleri .....                                                                                    | 42 |
| Tablo 3-5: qRT-PZR sıcaklık koşulları .....                                                                             | 42 |
| Tablo 3-6: qRT-PZR çalışmasında kullanılan primer çiftlerine ait diziler .....                                          | 43 |
| Tablo 4-1: MM hasta örneklerine ait özellikler .....                                                                    | 45 |
| Tablo 4-2: RNA derişimleri ve saflık değerleri .....                                                                    | 46 |
| Tablo 4-3: Kontrol örneklerine ait özellikler .....                                                                     | 47 |
| Tablo 4-4: RNA derişimleri ve saflık değerleri .....                                                                    | 47 |
| Tablo 4-5: Hasta ve kontrol örneklerin rölatif ifade karşılaştırma ortalamaları .....                                   | 55 |
| Tablo 4-6: CD74 Normallik Testi.....                                                                                    | 56 |
| Tablo 4-7: CD74 gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri .....                                                        | 58 |
| Tablo 4-8: FUS Normallik Testi .....                                                                                    | 59 |
| Tablo 4-9: FUS gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri .....                                                         | 60 |
| Tablo 4-10: MS4A3 Normallik Testi.....                                                                                  | 61 |
| Tablo 4-11: MS4A3 gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri.....                                                       | 63 |
| Tablo 4-12: PRDX5 Normallik Testi.....                                                                                  | 64 |
| Tablo 4-13: PRDX5 gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri.....                                                       | 65 |
| Tablo 4-14: PTPN6 Normallik Testi .....                                                                                 | 66 |
| Tablo 4-15: PTPN6 gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri.....                                                       | 68 |
| Tablo 4-16: UNC45B Normallik Testi .....                                                                                | 69 |
| Tablo 4-17: UNC45B gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri .....                                                     | 70 |
| Tablo 4-18: Hasta örneklerine ait ekspresyon değerleri üzerinden Pearson korelasyon katsayıları ve anlamlılıkları ..... | 72 |

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 4-19: Kontrol örneklere ait ekspresyon değerleri üzerinden Pearson korelasyon katsayıları ve anlamlılıkları ..... | 75 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|



## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2-1: Kansere için risk oluşturan çevresel faktörlerin kanser insidansına etkisi .....                                                                                   | 3  |
| Şekil 2-2: Tümör progresyonu ile ilgili önerilen çeşitli modeller .....                                                                                                       | 5  |
| Şekil 2-3: Türkiye’de yıl ve cinsiyete göre kanser insidans değerleri (Toplam/100.000) 7                                                                                      |    |
| Şekil 2-4: Kan hücrelerinin oluşumu .....                                                                                                                                     | 8  |
| Şekil 2-5: Normal plazma hücresi gelişimi.....                                                                                                                                | 9  |
| Şekil 2-6: İmmünoglobulin yapısı .....                                                                                                                                        | 10 |
| Şekil 2-7: VDJ ve VJ yeniden düzenlenimleri.....                                                                                                                              | 11 |
| Şekil 2-8: Anormal plazma hücrelerinin ürettiği M protein varlığında elektroforezde oluşan M spike görüntüsü .....                                                            | 12 |
| Şekil 2-9: Myeloma başlama ve ilerleme süreçleri.....                                                                                                                         | 14 |
| Şekil 2-10: Multiple myeloma patogenezi ile sinyal yolağı ilişkisi.....                                                                                                       | 15 |
| Şekil 2-11: Dünya ve Türkiye’de multiple myeloma insidans ve mortalite değerlerinin 0-74 yaş aralığındaki erkek ve kadınlarda kümülatif risk açısından karşılaştırılması .... | 16 |
| Şekil 2-12: Türkiye’deki bilinen ve gelecekte beklenen (a) MM insidans tahminleri ile (b) MM mortalite tahminleri.....                                                        | 17 |
| Şekil 2-13: Obezitenin risk faktörü olduğu bazı kanserler .....                                                                                                               | 18 |
| Şekil 2-14: Multiple myeloma’da monoklonal Ig nedeniyle oluşan M spike bulgusunun serum protein elektroforezi ile tespiti .....                                               | 20 |
| Şekil 2-15: Monoklonal antikor varlığında serum immünfiksasyon elektroforezi.....                                                                                             | 21 |
| Şekil 2-16: Tezde ekspresyonu araştırılan genlerin kromozomal lokasyonları .....                                                                                              | 25 |
| Şekil 2-17: CD74 geninin genomik lokasyonu.....                                                                                                                               | 25 |
| Şekil 2-18: FUS geninin genomik lokasyonu .....                                                                                                                               | 26 |
| Şekil 2-19: MS4A3 geninin genomik lokasyonu.....                                                                                                                              | 28 |
| Şekil 2-20: PRDX5 geninin genomik lokasyonu.....                                                                                                                              | 31 |
| Şekil 2-21: PTPN6 geninin genomik lokasyonu.....                                                                                                                              | 32 |
| Şekil 2-22: UNC45B geninin genomik lokasyonu .....                                                                                                                            | 33 |
| Şekil 3-1: Belirlenen genler arasında etkileşimi olanların görüntüsü.....                                                                                                     | 38 |
| Şekil 4-1: Optimize edilmiş primerlerin amplikon uzunluklarını gösteren jel görüntüsü. ....                                                                                   | 48 |
| Şekil 4-2: CD74 genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı .....                                                                                                                    | 49 |
| Şekil 4-3: FUS genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı .....                                                                                                                     | 49 |

|                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4-4: MS4A3 genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı .....                                                                               | 50 |
| Şekil 4-5: PRDX5 genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı .....                                                                               | 50 |
| Şekil 4-6: PTPN6 genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı .....                                                                               | 51 |
| Şekil 4-7: UNC45B genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı.....                                                                               | 51 |
| Şekil 4-8: $\beta$ -aktin genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı .....                                                                      | 52 |
| Şekil 4-9: Standart kontrollere ait standart eğrisi ve amplifikasyon görüntüleri .....                                                    | 52 |
| Şekil 4-10: Hasta grubuna ait amplifikasyon eğrileri .....                                                                                | 53 |
| Şekil 4-11: Kontrol grubuna ait amplifikasyon eğrileri .....                                                                              | 54 |
| Şekil 4-12: Ekspresyonu araştırılan genlerin ortalama rölatif kantitasyon verilerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması ..... | 55 |
| Şekil 4-13: Hasta örneklere ait rölatif ekspresyon değerlerinin heatmap gösterimi .....                                                   | 56 |
| Şekil 4-14: Kontrol örneklere ait rölatif ekspresyon değerlerinin heatmap gösterimi ...                                                   | 56 |
| Şekil 4-15: CD74 normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu).....                                                                               | 57 |
| Şekil 4-16: CD74 normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu) .....                                                                            | 57 |
| Şekil 4-17: CD74 ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması.....                                 | 58 |
| Şekil 4-18: FUS normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu).....                                                                                | 59 |
| Şekil 4-19: FUS normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu).....                                                                              | 60 |
| Şekil 4-20: FUS ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması.....                                  | 61 |
| Şekil 4-21: MS4A3 normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu).....                                                                              | 62 |
| Şekil 4-22: MS4A3 normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu) .....                                                                           | 62 |
| Şekil 4-23: MS4A3 ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması.....                                | 63 |
| Şekil 4-24: PRDX5 normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu).....                                                                              | 64 |
| Şekil 4-25: PRDX5 normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu) .....                                                                           | 65 |
| Şekil 4-26: PRDX5 ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması.....                                | 66 |
| Şekil 4-27: PTPN6 normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu) .....                                                                             | 67 |
| Şekil 4-28: PTPN6 normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu) .....                                                                           | 67 |
| Şekil 4-29: PTPN6 ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması.....                                | 68 |
| Şekil 4-30: UNC45B normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu) .....                                                                            | 69 |

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4-31: UNC45B normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu).....                                             | 70 |
| Şekil 4-32: UNC45B ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması..... | 71 |
| Şekil 4-33: Hasta örneklerde CD74-FUS serpilme diyagramı gösterimi .....                                    | 73 |
| Şekil 4-34: Hasta örneklerde PTPN6-FUS serpilme diyagramı gösterimi .....                                   | 73 |
| Şekil 4-35: Hasta örneklerde PRDX5-FUS serpilme diyagramı gösterimi .....                                   | 74 |
| Şekil 4-36: Hasta örneklerde PTPN6-CD74 serpilme diyagramı gösterimi.....                                   | 74 |
| Şekil 4-37: Kontrol örneklerde CD74-FUS serpilme diyagramı gösterimi.....                                   | 76 |
| Şekil 4-38: FUS geni ROC eğrisi ve analizi verileri .....                                                   | 77 |
| Şekil 4-39: PRDX5 geni ROC eğrisi ve analizi verileri .....                                                 | 77 |



**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

BT: Bilgisayarlı Tomografi

CD: Farklılaşma kümesi (Cluster of differentiation)

CD74: HLA sınıf II doku uyum antijen gama zinciri

ChIP-Seq: Kromatin İmmünopresipitasyon Dizileme (Chromatin Immunoprecipitation Sequencing)

CRAB: Hiperkalsemi, Renal yetmezlik, Anemi, Kemik lezyonu

dL: Desilitre

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

EBV: Epstein-Barr Virüsü

ECM: Myeloma hücre dışı matriks (Extracellular matrix)

EDTA: Etilendiamin tetraasetikasit

EMT: Epitelyal Mezenkimal Geçiş (Epithelial to Mesenchymal Transition)

FISH: Floresan In Situ Hibridizasyon

FUS/TLS: Fused in sarcoma/translocated in liposarcoma

FUS: Fused in sarcoma

GC: Germinal hücre (Germinal cell)

GİS: Gastrointestinal Sistem

gr: Gram

H. pylori: Helicobacter pylori

HBV: Hepatit B virüsü

HCV: Hepatit C virüsü

HLA: İnsan (human) lökosit antijen

Hsp90: Isı şok proteini-90 (Heat shock protein 90)

IFE: İmmünfiksasyon elektroforezi

Ig: İmmünoglobulin

IL-6: İnterlökin 6

IMWG: Uluslararası Miyeloma Çalışma Grubu (International Myeloma Working Group)

ISS: Uluslararası Evreleme Sistemi (International Staging System)

iFISH: İnterfaz FISH (Interphase Fluorescent In situ Hybridization)

KETEM: Kanser Erken Teşhis, Tarama ve Eğitim Merkezleri

Kİ: Kemik iliği

L: Litre

LDH: Laktat dehidrogenaz

mg: Miligram

MGUS: Önemi Bilinmeyen Monoklonal Gamopati (Monoklonal Gammopathy of Undetermined Significance)

MHC: Major histocompatibility complex

ml: Mililitre

MM: Multiple myeloma

MRI, MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme (Magnetic Resonance Imaging)

MS4A3: Membrane Spanning 4-Domains A3

PCL: Plazma hücreli lösemi (Plasma cell leukemia)

PRDX5: Peroxiredoxin5

PTPN6: Protein Tirozin Fosfataz reseptör olmayan tip 6

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

qRT-PZR: Kantitatif eş (gerçek) zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

R-ISS: Revize Uluslararası Evreleme Sistemi (Revised International Staging System)

RNS: Reaktif nitrojen türleri

ROS: Reaktif oksijen türleri

RPKM: Kilobaz başına düşen okuma sayısı (Reads per kilo base per million)

rpm: Round Per Minute

SDF1: Stromal hücre kökenli büyüme faktörü 1

Serum FLC testi: Serum serbest hafif zincir testi (Serum free light-chain test)

SMM: Smouldering multiple myeloma, Asemptomatik myeloma

SNP: Tek nükleotid değişimi (Single Nucleotide Polymorphism)

TGF $\beta$ : Transforme edici büyüme faktör  $\beta$

TNF: Tümör Nekroz Faktör

UNC45B: Unc-45 myosin chaperone B

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

$\mu$ l: Mikrolitre

## ÖZET

Suer, I. Multiple Myeloma Hastalarında PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 ve UNC45B Genlerinin Ekspresyon Analizi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, ASDETAE Genetik ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2018.

Bu tez projesinde, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin desteklediği Multiple Myeloma Hastalarının Kemik İliği Myeloma Hücrelerinde Gen İfadesinin Transkriptom Dizileme Yöntemi İle Araştırılması (Proje No: 7348) başlıklı çalışmanın verileri değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucu elde edilen sinyal iletimi, immun sistem ve hücresel yanıt gibi bazı yollar ile ilişkili PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 genlerinin ve hasta-kontrol örnekleri arasında ekspresyonunun en anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilen UNC45B geninin ekspresyon düzeylerinin qRT-PZR tekniğiyle konfirme edilmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre PTPN6, CD74, MS4A3 ve UNC45B genlerinde hasta grubu (50 örnek) ile kontrol grubu (16 örnek) arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Bununla birlikte FUS ve PRDX5 genlerinin hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı seviyede daha yüksek ifadesi tespit edilmiştir. FUS ve PRDX5 genlerinin fonksiyonları ve kanserdeki önemleri göz önüne alındığında multiple myeloma açısından yeni tedavi seçeneklerine ışık tutabileceklerini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler:Transkriptom, RNAseq, Multiple myeloma, Yolak analizi, qRT-PZR

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: **24651**

## ABSTRACT

SUER I. Expression Analysis of PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 and UNC45B Genes in Multiple Myeloma Patients. İstanbul University, Institute of Health Science, ASDETA Department of Genetics. Doktrate (PhD.) Thesis. İstanbul. 2018.

In this thesis project, the data was evaluated which the study named the Investigation of Gene Expression in Bone Marrow Myeloma Cells by Multiple Myeloma Patients Using Transcriptome Sequencing Method that supported by the İstanbul University Scientific Research Projects Unit (Project No: 7348). Assessment of data revealed that the PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 genes which are associated with some pathways such as signal transduction, immunological system and cellular response and UNC45B gene which is found to be the most significant difference in expression level between patient-control samples and it is aimed to make confirmation of the expression levels of these genes by the qRT-PCR technique. According to the study results, no statistically significant difference was found PTPN6, CD74, MS4A3 and UNC45B genes between the patient group (50 samples) and the control group (16 samples). However, FUS and PRDX5 genes were significantly higher in the patient group than in the control group. Considering the functions of FUS and PRDX5 genes and their importance in cancer, it is thought to be these genes may shed light on new treatment options for multiple myeloma.

Key Words: Transcriptomics, RNAseq, Multiple myeloma, Pathway analysis, qRT-PCR

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University (Scientific Research Projects Unit). Project No: **24651**

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser birçok genetik ve epigenetik değişikliğin oluşmasıyla ortaya çıkan bir hastalık olup, hematolojik malign bir hastalık olan multiple myelomanın da bu şekilde oluştuğu bilinmektedir. Fonksiyonel çalışmalar aracılığıyla kanserin kompleks yapısını anlamak önemlidir. Kanser başlıyarak ilerlemesi için bazı genomik değişiklikler (gen/genlerde mutasyon, kromozomal değişiklik, gen ekspresyon düzeyinde artış/azalış vb.) sonucunda onkogen aktivasyonu veya tümör baskılayıcı gen inaktivasyonu meydana gelmektedir [1, 2]. Hücrenin hayatta kalması ve ölümü arasındaki homeostatik dengenin kurulmasında, DNA'nın korunması ve doğru şekilde tamir edilmesinde rol oynayan gen ve gen ürünleri önem taşımaktadır aksi takdirde DNA hasarları birikerek kanser oluşumu tetiklenmektedir [3]. Literatürde bildirilen DNA hasar yanıtına katılan proteinlerin listesi RNA işleme süreçlerinde rol oynayan proteinleri de içerecek şekilde günden güne artmaktadır [4].

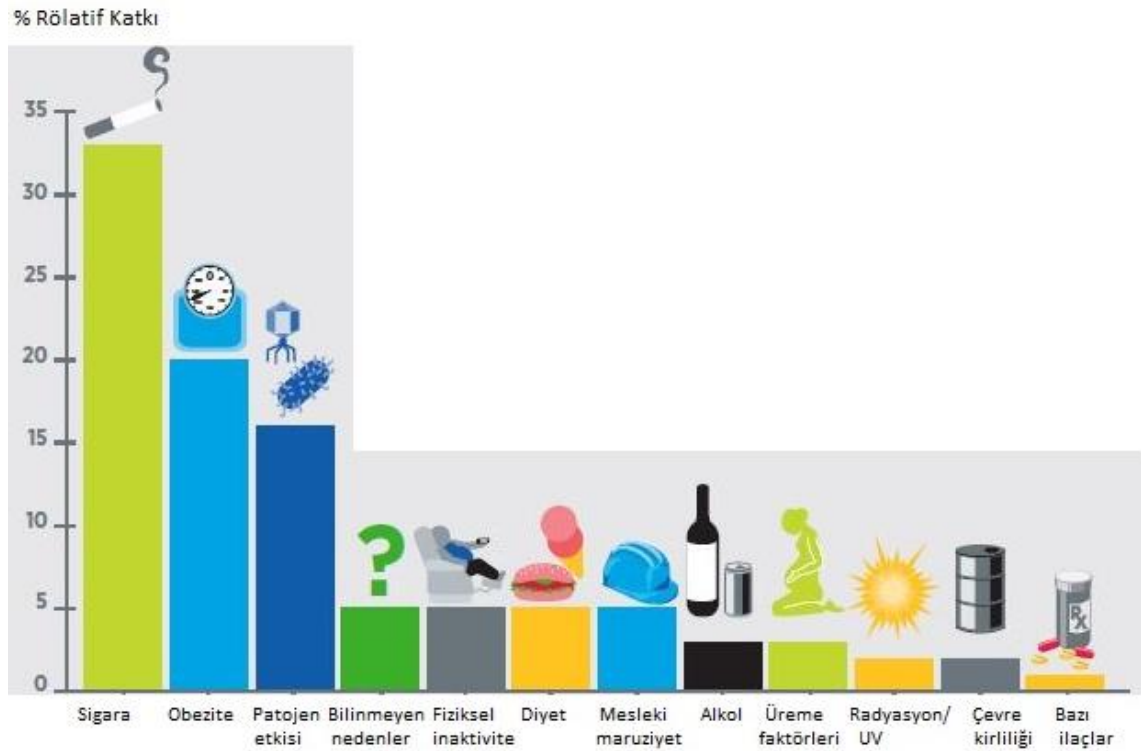
Kemik iliğinde kontrolsüz çoğalan B lenfosit kökenli plazma hücreleriyle karakterize lenfoproliferatif bir hastalık olan multiple myeloma hematolojik kanserlerin %10-13 kadarını oluşturmaktadır [5-7]. Etyopatogeneizde çevresel/kimyasal faktörlerin, viral etmenlerin (HIV vb.) veya genetik faktörlerin rol oynayabileceği bildirilen multiple myeloma hastalarında görülebilen klinik bulguları başlıca anemi, serum ve idrarda saptanan monoklonal protein, kemiklerde litik lezyonlar, kemik ağrıları, hiperkalsemi ve böbreklerde yetmezlik şeklinde sıralamak mümkündür [8-10]. Multiple myeloma kaynaklı ölümlerin her yıl bütün kanser ölümlerinin yaklaşık %1-2'lik payını oluşturduğu bildirilmiştir [10, 11]. Multiple myeloma'da hastalığın etkin tedavisi mevcut olup, yüksek doz tedavi ve otolog kök hücre transplantasyonu ile sağkalımın arttırıldığı bildirilmiştir, ayrıca tedavide klinik bulguları hafifletmek için bifosfonatlar da kullanılabilir [12, 13]. Kanser moleküler mekanizmasında rol oynayan yollar ile bu yollarda bulunan spesifik genlerin tespiti yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacağından oldukça önem taşımaktadır. Aynı şekilde multiple myeloma'da yeni aday genler ile hastalığın patogenezi arasındaki ilişkinin aydınlatılması sayesinde spesifik ilaç tedavisi geliştirilerek sağkalım süresinin arttırılması mümkün olabilir [14].

İstanbul Üniversitesi-Bilimsel Araştırma Projeleri (İÜ-BAP) Birimi'nin desteklediği 'Multiple Myeloma Hastalarının Kemik İliği Myeloma Hücrelerinde Gen İfadesinin Transkriptom Dizileme Yöntemi İle Araştırılması' başlıklı çalışmadan elde edilen transkriptom datası oldukça zengin veri içermektedir (Proje No: 7348) [15]. İÜ-BAP Birimi tarafından desteklenen bir diğer çalışma olan 'Multiple Myeloma'da Tüm Genom Transkriptom Datasında Saptanan Füzyonlarda Belirlenen Bazı Genlerin Ekspresyon Analizi' adlı çalışma ile bu datanın biyoinformatik analiziyle elde edilen veriye dayanarak ErbB ve İnsülin sinyal yolağı ile ilişkili bazı genlerin ekspresyon analizleri yapılmıştır (Proje No: 50404) [16]. Transkriptom dizileme veri analizleri sonucunda multiple myeloma genetiği ile ilişkili aday olabilecek birçok gen belirlenmiştir. Türkiye'de ilk defa multiple myeloma üzerine yapılmış transkriptom çalışması özelliği gösteren bu datadan elde edilen verinin gerekli confirmasyon ve fonksiyonel çalışmalarının yapılması oldukça önem taşımaktadır. Multiple myeloma oluşumu ve ilerlemesinde fonksiyonu olan yolaklar ile bu yolaklarda yer alan genlerin moleküler anlamda aydınlatılmaya çalışılması aktüel bir araştırma alanı olup bu tez projesinde; multiple myeloma transkriptom datasının değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkan sinyal iletimi, immun sistem ve hücrel yanıt gibi bazı yolaklar ile ilişkili PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 genlerinin ve hasta-kontrol örnekleri arasında ekspresyonunun en anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilen UNC45B geninin ekspresyon düzeyleri kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) tekniğiyle konfirme edilerek hastalık patogenezindeki rollerinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kanser Tanımı

Genetik ve epigenetik çeşitli değişikliklerin hücrenin çalışmasını etkileyerek kontrolsüz bölünme ve çoğalmaya yol açması sonucu ya da apoptozun inhibe olması gibi durumlar sonucu oluşan ve günümüzde oldukça önemli bir sağlık sorunu olan kanser hastalığında kimyasal, fiziksel ya da viral çevresel faktörlerin de (sigara ve alkol kullanımı, EBV, HBV, HCV gibi viral ajanlar, obezite ve diyetle bağlı durumlar, asbeste ve ağır metale maruziyet gibi mesleki etmenler, H. pylori gibi bakteriyel ajanlar, radyasyona ve ultra viyole ışınlarına maruz kalmak gibi) riski arttırdığı bilinmektedir (Şekil 2-1) [17, 18].

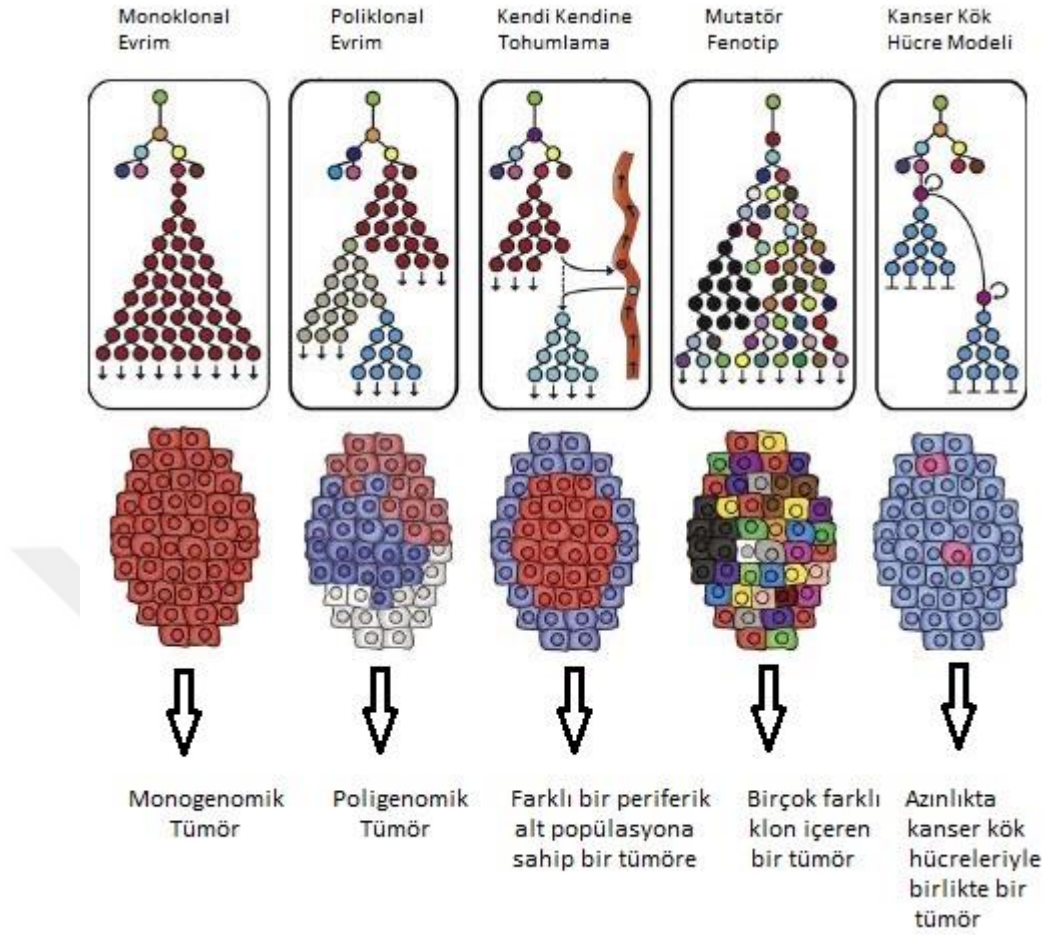


**Şekil 2-1: Kanser için risk oluşturan çevresel faktörlerin kanser insidansına etkisi**

[19]'dan değiştirilerek alınmıştır.

Kanserlerin %5-10 kadarı ailesel genetik mutasyonlara bağlıdır, geri kalan grubun ise kazanılmış genetik değişikliklere ve çevresel faktörlere bağlı olarak geliştiği bilinmektedir [20]. Genetik mutasyonlar hücredeki normal yolunda işleyen hücre

çoğalması ve/veya apoptoz mekanizmalarını bozarak kanser başlangıcına ve gelişmesine katkı sağlarlar. Kanserin gelişmesinde tümör mikroçevresinin de rolü büyüktür. Tümör gelişimi sırasında kazanılan ve kanser hücrelerini normal hücrelerden ayıran başlıca özellikler arasında şunlar sıralanabilir; büyüme sinyali açısından kendine yetebilme, apoptoz mekanizmasından kaçabilme, büyümeyi inhibe edici sinyallere duyarsız kalabilme, kontrolsüz bölünüp çoğalabilme, anjiyogenez yetisi ve metastaz yapabilme yetisi, ilaçlara karşı direnç geliştirme ve ilacı hücre dışına atabilme [21]. Normal koşullarda hücrelerde apoptoza mı yoksa proliferasyona mı gidileceği bazı sinyal yollarının uyarıları ve bazı apoptoz aracı moleküllerin salınımı yardımıyla olmaktadır. Hücre ölümünün uyarılmasında DNA hasarı, oksidatif stres ve hipoksi gibi durumlarda etkilenen pro-apoptotik (Bax vb.) veya anti-apoptotik (Bcl-2 vb.) proteinlerin rol oynadığı intrinsik yol etkili olabileceği gibi ekstrinsik yol da etki gösterebilmektedir. Bcl-2 ifadesinin regülasyonunda da görevli önemli bir tümör baskılayıcı gen olan p53'ün inaktive olması kanserlerin yaklaşık %50 kadarında görülmektedir [22]. Kanser oluşumu ile ilgili çok sayıda model önerilmiştir (Şekil 2-2). Kanser oluşumuna sebep olan mekanizmalar ya bir protoonkogenin onkogene dönerek aşırı eksprese olması, ya translokasyonlar aracılığıyla vücutta normalde bulunmayan yeni kimerik bir protein üretimi durumları ya da bir tümör supresör genin onkogenleri baskılama özelliğini kaybetmesi yollarıyla kanserin ortaya çıkmasında rol oynamaktadırlar [23].



**Şekil 2-2: Tümör progresyonu ile ilgili önerilen çeşitli modeller**

[24]'den değiştirilerek alınmıştır.

Her kanser taşıdığı özellikleri açısından birbirinden farklıdır ve kanser hücreleri farklı hücre yüzey belirteçleri taşıyıp, farklı büyüme yollarını kullanarak farklı oranlarda çoğalabilir ve farklı yönlerde metastaz yapabilir [25]. Kanser hücrelerinin gen ekspresyonu üzerindeki direkt etkileri yanısıra indirekt etkileri de mevcuttur, örneğin kanser hücrelerinin bir diğer kanser hücrelerine ve normal hücrelere bunların aktivitelerini değiştiren sinyaller gönderdikleri bildirilmiştir [26, 27]. Kanserleri histolojik olarak karsinoma, sarkoma, myeloma, lösemi, lenfoma ve karışık tip (Örneğin, karsinosarkoma, teratokarsinoma, adenoskuamöz karsinoma vb.) olmak üzere 6 gruba sınıflandırmak mümkündür [28]. Erken evrede teşhisi sağlanan bazı kanserlerin (örneğin; prostat kanseri ve belli melanom türlerinin) tedavisi mümkün olmakla beraber çoğu zaman agresif ve ileri evre kanser türleri için ne yazık ki tedavi sağlanamamaktadır [29, 30]. Özellikle tekrarlayan (rekürren) ve yayılcı (metastatik)

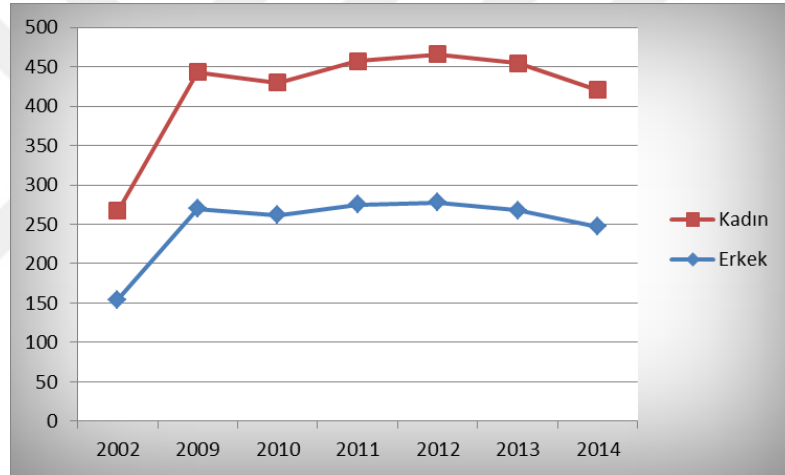
kanserlerde iş daha da karmaşık hal almaktadır [31]. Bir de buna tümörün içerisinde bulunan kanser hücrelerinin bölünme sırasında birbiriyle ortam koşullarının sınırlılığına karşı rekabeti nedeniyle genetik olarak değişerek çeşitlilik oluşturmaları eklenirse tedavide hedefleme daha da kompleks hale gelmektedir [32]. Bu da aynı tümörel oluşumda bazı hücreler örneğin radyoterapiye yanıt verirken bazılarının yanıtız kalması gibi durumlara neden olabilmektedir. Kreso ve arkadaşlarının kemoterapi uygulamasının sessiz halde duran bazı kanser hücrelerini aktive edebileceğini önermeleri de kanser tedavilerinde atılacak adıma karar vermenin hiç kolay olmadığını bir diğer göstergesidir [33].

Ölüm sebebi olarak günümüzde kalp damar hastalıklarından sonra ikinci sırada kanser gelmektedir [19]. Yapılan kanser araştırmaları sayesinde yeni tanı ve tedavi metodlarının gelişmesiyle günden güne kanser insidansında ve kanser kaynaklı ölümlerde azalış seyredilmektedir. Ayrıca yeni tedavi metodları sayesinde kanser hastalarının yaşam kalitesi ve sağkalım süreleri artmaktadır. Amerika’da 1991- 2012 yılları arasında kanser ölümlerinde genel olarak %23’lük bir düşüş izlenmiş olup bu da yaklaşık 1,7 milyonun hayatta kalması anlamını taşımaktadır [34]. Amerika’da 2003’ten 2012’ye kadar olan süreçte kanser insidansının erkekler arasında yılda yaklaşık %1,4 oranında azalmasına karşın kadınlar arasında pek değişmediği ve buna bağlı olarak genel kanser insidansının senelik %0,7 oranda düştüğü bildirilmiştir. Kanser kaynaklı ölüm oranlarının ise senelik %1,5 oranda düştüğü bildirilmiştir. 2003- 2012 yılları arasında erkeklerde prostat kanseri, kolorektal kanser, akciğer kanseri, mide kanseri, gırtlak kanseri, mesane kanseri gibi kanserlerin insidansı azalırken tiroid, karaciğer, myeloma, melanoma, farinks ve lösemi gibi kanserlerin insidansının arttığı bildirilmiştir. Aynı yıllar arasında kadınlarda insidansı azalan kanserler kolorektal, serviks, akciğer, mesane ve yumurtalık kanseri iken, insidansı artan kanserler arasında tiroid, karaciğer, rahim, böbrek, pankreas, melanoma, lösemi ve myeloma bildirilmiştir [35].

Dünya genelindeki her 1:7 ölüm kanser kaynaklıyken Amerika’da bu oran 1:4 şeklindedir. Yaşlı nüfusun artışı yanı sıra eğer kanserle savaş için yeni ve etkili başka erken tanı ve tedaviler geliştirilemezse 2016’da 595,690 kişiyi etkileyen kanser ölümlerinin Amerika’da 2030 yılında 946,833 kişiye çıkması, kanserli hasta sayısının ise 1,7 milyon kişiden 2,3 milyon kişiye yükselmesi öngörülmektedir [19, 36]. 2010 yılında 13,3 milyon olan Dünya genelindeki tüm kanserli hasta sayısının 2030 yılında

21,5 milyona ulaşacağı ve kanserle ilgili çalışmaların maliyetinin de 290 milyar dolardan 458 milyar dolarlara ulaşacağı tahmin edilmektedir [37].

Dünya ile Türkiye’deki kanser insidansları kıyaslanacak olursa, Türk erkeklerindeki kanser insidansının dünyadakine kıyasla daha yüksek olduğu, Türk kadınlarındaki kanser insidansının ise bir miktar daha düşük olduğu görülmektedir. Gelişmiş ülkelere oranla kanser insidansının ülkemizde her iki cinsiyette de daha düşük hıza sahip olduğu bildirilmiştir [38]. Günümüzde yüzlerce çeşidi tanımlanmış olan kanser bulaşıcı olmayan hastalıklar grubunda yer almaktadır ve Türkiye’de KETEM adıyla bilinen çok sayıda kanser erken teşhis, tarama ve eğitim merkezleri kurulmuş olup 2002 yılından beri kanser taramaları konusunda ülkemizde daha sistematik bir yaklaşım izlenmektedir (Şekil 2-3) [39, 40].

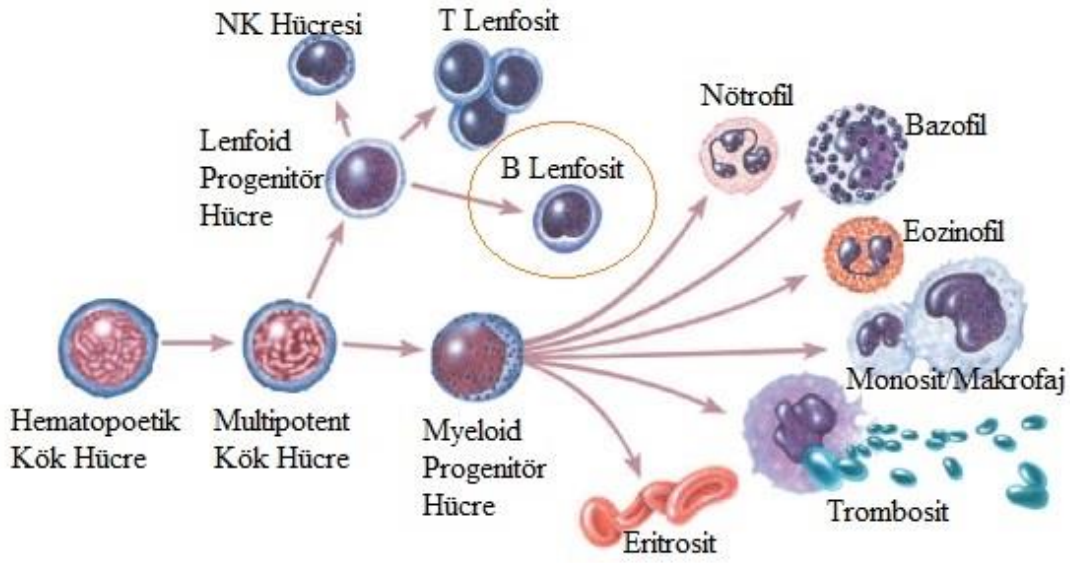


**Şekil 2-3: Türkiye’de yıl ve cinsiyete göre kanser insidans değerleri (Toplam/100.000)**

[41]’den yararlanılarak oluşturulmuştur.

## 2.2. Hematopoez ve İmmün Sistem

Hematopoez, kanda bulunan farklı tipteki hücrelerin kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerden köken almalarını ve olgunlaşmalarını kapsayan bir süreçtir (Şekil 2-4) [42]. Embriyogenezde yolk sac ve mezodermde yer alan hematopoetik kök hücreler (HSC) ilerleyen evrede karaciğer, dalak ve timusa giderek bu bölgelerde lokalize olurlar. Erişkinlikte lokalize olacakları yer kemik iliği olan bu hücreler kendini yenileyebilme ve farklı hücre gruplarına farklılaşabilme yetisine sahiptirler [43].



**Şekil 2-4: Kan hücrelerinin oluşumu**

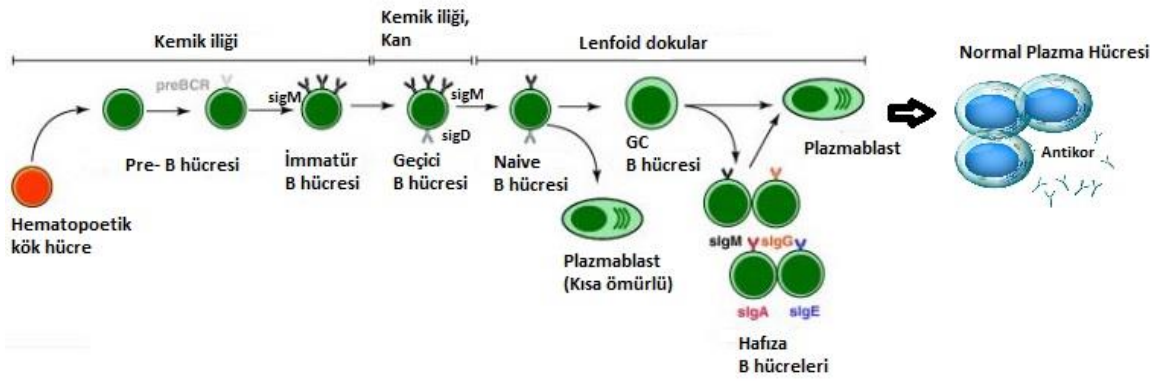
[44]'den değiştirilerek alınmıştır.

Hematolojik kanserler, kemik iliğinde oluşan kan hücrelerindeki genomik değişikliklere bağlı ortaya çıkan malignitelerdir. Bu genomik değişiklikler kromozomal düzeyde (translokasyon, inversiyon, delesyon, duplikasyon vb.) olabileceği gibi gen düzeyinde hatta epigenetik düzeyde de olabilmektedir [23]. Hematolojik kanser grubunda yer alan multiple myeloma da kemik iliğinde bulunan plazma hücre sayısının artışıyla karakterize olup hastaya konulan multiple myeloma ön tanısının kesinleşebilmesi için kemik iliği aspirasyon ve biyopsi materyallerinin incelenmesini gerektirmektedir. Multiple myeloma kesin tanısının konulabilmesi için bazı laboratuvar ve klinik bulgularla senkronize olarak plazma hücresinin kemik iliği aspirasyon materyalinde %10 ve üzeri oranda klonalitesinin tespit edilmesi gerekmektedir [6].

### 2.2.1. B Lenfosit Hücreleri ve Plazma Hücreleri

Hematopoetik kök hücrelerden köken alan B lenfositler olgunlaşmamış halde Pro-B olarak kemik iliğinde üretilip ardından Pre-B (öncü B) hücrelerine dönüştürülüp kana dökülmekte ve böylece olgunlaşma süreçleri başlamaktadır. IgM ve IgD üretimi yapabilen olgun B lenfositleri CD19, CD20, CD45 açısından pozitifken, CD138, CD27, CD56 ve CD38 açısından negatiftir. Olgun B lenfositler lenfoidlerde antijenik yanıt

olarak hafıza B hücrelerine dönüşmekte buradan da germinal merkez hücreleri ya plazmablasta ya da hafıza B hücrelerine dönüşmektedir [45]. Kısa ömürlü bu plazmablast oluşuktan sonra Ig üretmek üzere kemik iliğine yerleşmektedir. Normal koşullarda miktarı %5'ten az olan bu hücreler 1 ayda yıkılarak atılmaktadır. Post germinal merkez plazma hücreesindeki herhangi bir malign değişim, Ig genlerindeki somatik hipermutasyon ve benzeri durumlar sonucunda anormal plazma hücreleri oluşmakta ve uzun ömürlü olan bu hücreler birikerek plazmasitomlara yol açmakta böylece multiple myeloma oluşmaktadır (Şekil 2-5) [46, 47]. Normal plazma hücreleri CD138, CD27, CD19 ve CD38 açısından pozitifken, CD56 negatif ve CD20, CD45 +/- olabilmektedir. Anormal plazma hücrelerinde ise CD138, CD56, CD38 pozitif iken ve CD20 +/-, CD19 negatiftir [48-50].

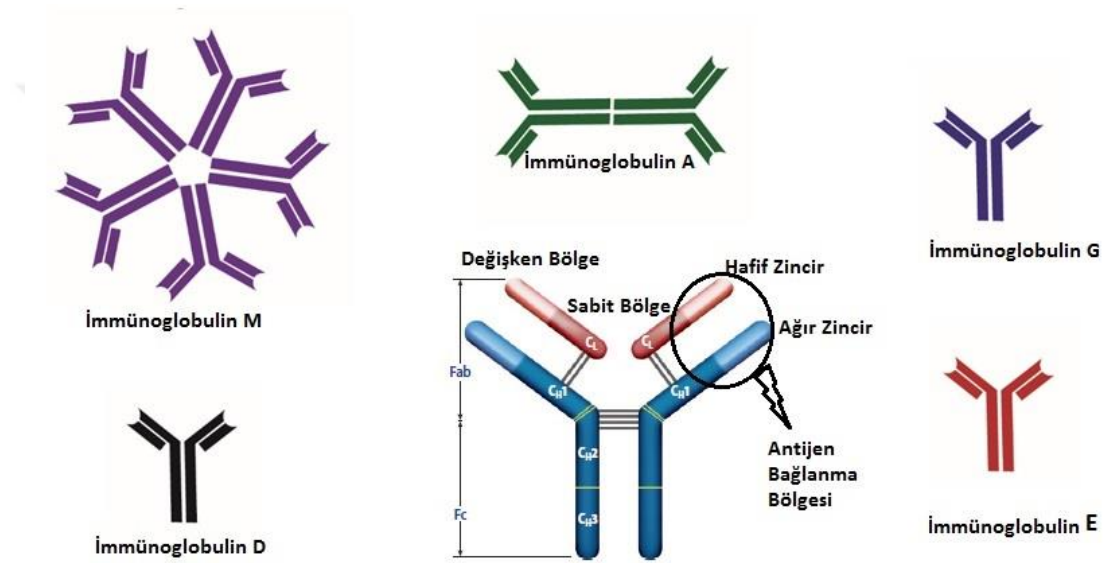


**Şekil 2-5: Normal plazma hücresi gelişimi**

[51, 52]'den değiştirilerek alınmıştır.

### 2.2.2. İmmünoglobulinler

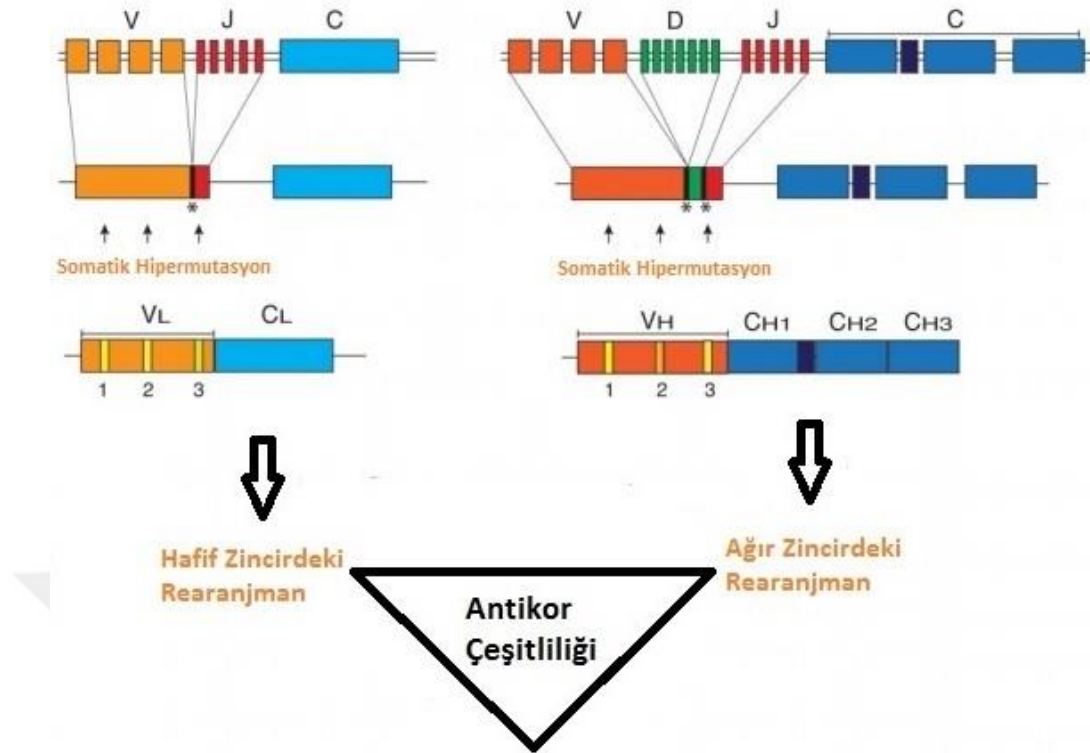
İmmünoglobulin(Ig)'ler, vücuda giren antijenik maddelere karşı yanıt olarak kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerin farklılaşmasıyla oluşan B hücrelerinden köken alan plazma hücreleri tarafından üretilen antikor özellikteki glikoprotein yapıdaki moleküllerdir [53, 54]. İki adet ağır iki adet ise hafif olacak şekilde 4 zincirden oluşan immünoglobulinler ağır zincirlerinin tipine göre IgG (Gama), IgA (Alfa), IgD (Delta), IgE (Epsilon), IgM (Mü) olmak üzere 5 farklı tipte sınıflandırılmaktadır, hafif zincirlerinin tipine göre ise  $\kappa$ (kappa) ve  $\lambda$ (lambda) olmak üzere 2 farklı tiptedir (Şekil 2-6) [55].



**Şekil 2-6: İmmünoglobulin yapısı**

[56, 57]'den değiştirilerek alınmıştır.

Ig lokusunda V, D, J ve C segmentlerinden meydana gelen yeniden düzenlenimler sayesinde çok sayıda antijene spesifik immünoglobulin üretilmektedir [58, 59]. Bu durum Ig genindeki değişken bölgeleri kodlayan ekzonların, ağır (H) zincirler için değişken (V), çeşitlilik (D) ve birleşme (J) bölümlerinin veya hafif (L) zincirler için V ve J bölümlerinin değişik kombinasyonlarla birleştirilmesiyle oluşturulmaktadır, C segmenti ise sabit olup değişmemektedir. Bu 'VDJ ve VJ rekombinasyonları' sayesinde çok sayıda çeşitlilikte antikor üretilmektedir (Şekil 2-7) [59, 60].



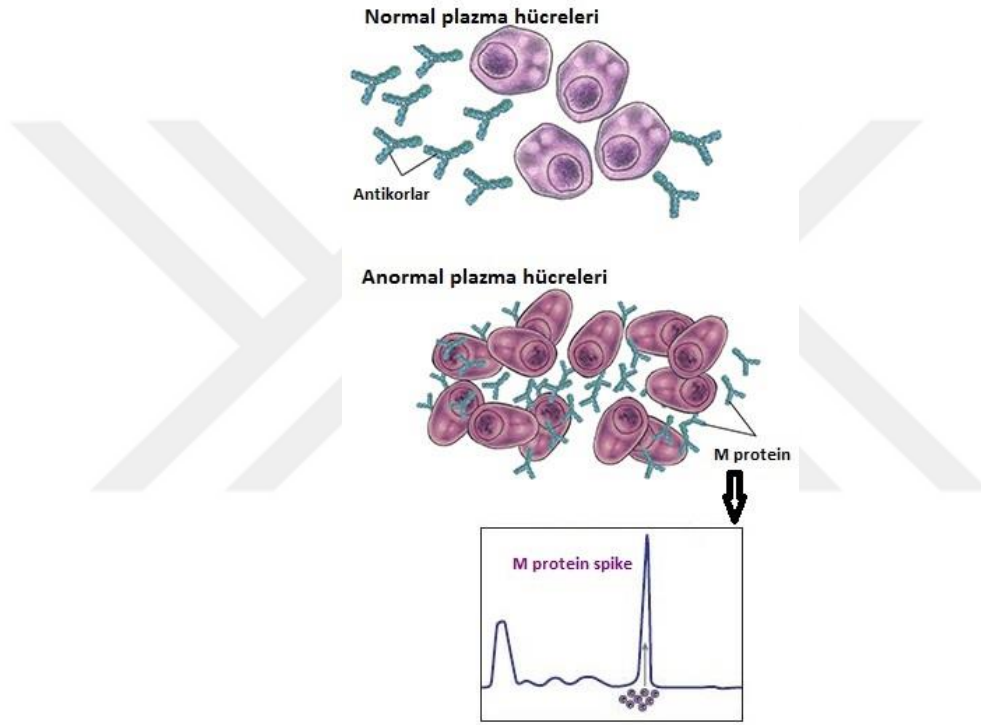
**Şekil 2-7: VDJ ve VJ yeniden düzenlenimleri**

[61] 'den değiştirilerek alınmıştır.

Vücuda giren yabancı moleküllere (antijenlere) karşı Ig üreten plazma hücrelerinin oluşmasında bir homeostaz söz konusudur. Bu dengenin çeşitli genetik değişikliklerle bozulmasıyla plazma hücreleri malign karakter kazanarak monoklonal (M) protein (monoklonal immünoglobulin ya da  $\kappa$  ve/veya  $\lambda$  hafif zincir) üretmektedir [62]. Çoğunlukla IgG (%52), IgA (%20-21) veya hafif zincir (%11; ' $\kappa$  hafif zincir %6,  $\lambda$  hafif zincir %5') tipinde olan bu M proteini nadiren IgD (%2) ve IgE (%<0,01) tipinde de olabilmektedir. Bu M proteini IgM (%12) tipinde olduğunda hastalık 'Waldenström makroglobülinemisi' adını almaktadır [63, 64].

### 2.3. Multiple Myeloma

Multiple myeloma (MM, Plazma hücre myelomu, Semptomatik myeloma, Kahler hastalığı), kemik iliğinde normalde %5'ten daha az miktarda bulunması gereken plazma hücrelerinin kemik iliği veya diğer doku ve organlarda birikimi ve bu hücrelerin de anormal şekilde artmış monoklonal immünoglobulin (M protein, paraprotein) üretimi ya da immünoglobulin hafif zincir üretimi ile seyreden plazma hücre neoplazileri grubunda bulunan malign bir hastalıktır (Şekil 2-8) [65, 66].



**Şekil 2-8: Anormal plazma hücrelerinin ürettiği M protein varlığında elektroforezde oluşan M spike görüntüsü**

[64, 67]'den değiştirilerek alınmıştır.

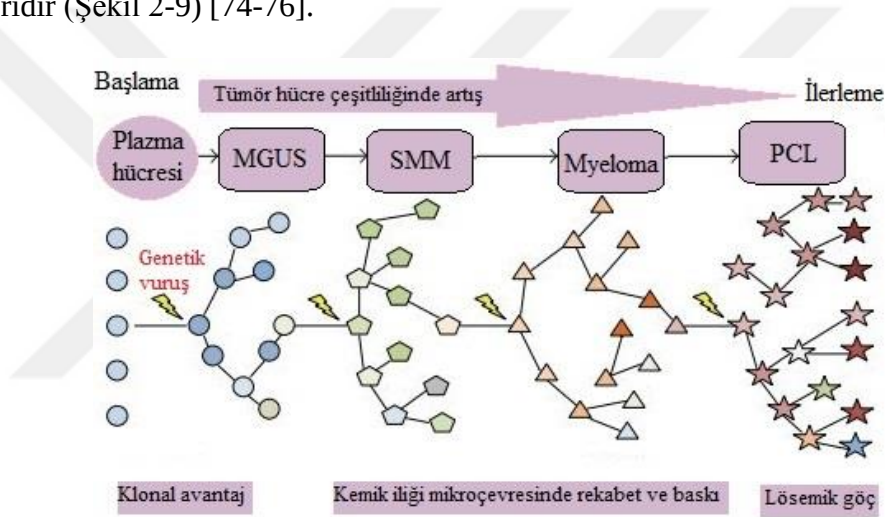
Tek klondan köken alan plazma hücrelerinin bu şekilde malign birikimiyle M proteinleri de kan ve idrarda birikerek kemik iliği, böbrek ve diğer organlarda hasara yol açmaktadır [68, 69]. Bunun yanısıra M protein üretimi multiple myeloma hastalarının %2-3'ünde görülmemekte ve bu gruba non-sekretuar grup adı verilmektedir [58, 70]. Multiple myelomanın kemik iliği dışında görülmesi 'ekstramedüller (ekstraskletal) myeloma' olarak bilinmektedir ve bu tip myeloma daha çok nazofarengeal bölge gibi baş-boyun bölgesini veya karaciğer, böbrek gibi yumuşak dokuları tutabilmektedir [64].

Tüm hematolojik maligniteler içerisinde %10-13 oranıyla ikinci sırada olan multiple myelomanın hematolojik malignansilere bağlı ölümler arasındaki payı %15-20 kadardır [5, 7, 71]. Multiple myelomanın dünyadaki tüm yeni kanser vakalarının %1,8'inden ve tüm kansere bağlı ölümlerin ise %2,1 kadarından sorumlu olduğu öngörülmüştür [72]. Multiple myeloma için 2016 yılında her iki cinsiyette toplamda insidansın 30,330 olması, mortalitenin ise 12,650 olması öngörülmüştür (Tablo 2-1) [19]. Bu sayılar 2017 için yeni vaka sayısı 30,280 olarak mortalite ise 12,590 olarak şeklinde bildirilmiştir [69]. Günümüzde dünyada yaklaşık 750.000 myeloma hastasının yaşadığı bilinmektedir (180.000'i ABD'de olmak üzere) ve Amerikan kanser topluluğu tarafından ABD için 2018'de toplam 30,770 vakaya tanı konulacağı öngörülmüştür [64].

**Tablo 2-1: Bazı kanserlerde 2016 yılına ilişkin tahmin edilen insidans ve mortalite verileri** [19]'den değiştirilerek alınmıştır.

| Kanser Adı      | 2016 yılındaki insidans |               |               | 2016 yılındaki mortalite |              |              |
|-----------------|-------------------------|---------------|---------------|--------------------------|--------------|--------------|
|                 | Toplam                  | Erkek         | Kadın         | Toplam                   | Erkek        | Kadın        |
| Lösemi          | 60,140                  | 34,090        | 26,050        | 24,400                   | 14,130       | 10,270       |
| <b>Myeloma</b>  | <b>30,330</b>           | <b>17,900</b> | <b>12,430</b> | <b>12,650</b>            | <b>6,430</b> | <b>6,220</b> |
| Larenks         | 13,430                  | 10,550        | 2,880         | 3,620                    | 2,890        | 730          |
| Meme            | 249,260                 | 2,600         | 246,660       | 40,890                   | 440          | 40,450       |
| Prostat         | 180,890                 | 180,890       | -             | 26,120                   | 26,120       | -            |
| Melanoma        | 76,380                  | 46,870        | 29,510        | 10,130                   | 6,750        | 3,380        |
| Kolon ve rektum | 95,270                  | 47,710        | 47,560        | 49,190                   | 26,020       | 23,170       |

Neoplastik B hücrelerinin kemik iliği mikro ortamıyla etkileşiminin hastalığın ilerlemesinde kritik bir rol oynadığı karmaşık ve ölümcül bir hematolojik malignansi olan multiple myelomanın tanısı, hastalığın ilerleyerek semptomların ortaya çıkması uzun sürebildiğinden yani erken evrede pek semptom vermediğinden çoğunlukla geç evrelerde konulmaktadır [73]. Oluşumunda birden fazla aşama olan multiple myelomanın öncesinde sessiz ve tedavi gerektirmeyen iki evre görülmektedir. Bunlar, B lenfosit hücresinde meydana gelen ve hücreyi ölümsüz hale getirerek plazma hücrelerinin artmasına yol açan bir genetik vuruş ile oluşan önemi bilinmeyen monoklonal gamopati (MGUS) ve zamanla kazanılan başka değişikliklerle geçilen bir evre olan semptom vermeyen smoldering multiple myeloma (SMM, asemptomatik myeloma) evreleridir (Şekil 2-9) [74-76].



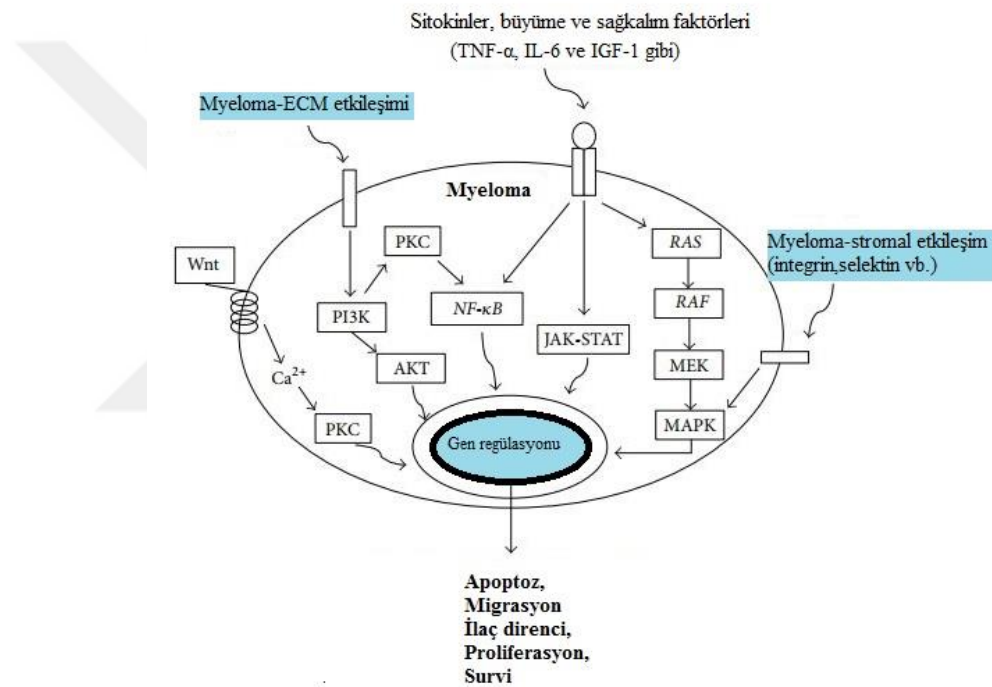
**Şekil 2-9: Myeloma başlama ve ilerleme süreçleri**

[77]'den değiştirilerek alınmıştır.

### 2.3.1. Multiple Myeloma Patolojisi

Multiple myelomada tipik olarak M protein (paraprotein) adı verilen monoklonal immünoglobulin, idrar ve/veya serumda tespit edilmektedir, bunun yanı sıra kemiklerde görülen litik lezyonlar da tipiktir [70, 78, 79]. M proteini tabiri üretilen tek tip immünoglobulini ifade etmek için kullanılır ve en sık görülen tipi IgG'dir. Örneğin; 100 hastadan 52-53 tanesinde IgG, 20-25 tanesinde IgA ve 1-2 tanesinde IgD olacak şekilde M protein üretirken 20 tanesinde serum ile idrarda sadece hafif zincir mevcuttur [80]. Myeloma patogenezinde yer alan çeşitli yollar eksojen veya endojen faktörler tarafından uyarılabilmektedir. Eksojen faktörlere örnek olarak myeloma stromal etkileşimleri, Wnt proteinleri, sitokinler (IL-6), büyüme faktörleri (VEGF, SDF1) ve

myeloma hücre dışı matriks (ECM) etkileşimleri verilebilir. Endojen faktörler olarak ise RAS, RAF ve NF- $\kappa$ B genleri gibi bazı genlerde meydana gelen mutasyonlar ile kromozomlarda oluşan translokasyonel değişimler örnektir [77]. MM'nin oluşumu ve devamlılığında kemik iliği mikroçevresinin rolünün büyük olduğu kabul görmektedir, özellikle IL-6 gibi önemli bazı sitokinlerin salınımı ile MM'de etkili olduğu bildirilen JAK/STAT sinyal yolağının aktivasyonu kolaylaştırarak malign hücre sağkalımı artmaktadır [81, 82]. Bunun yanısıra IL-6'nın MEK/MAPK, PI3-K/Akt ve JAK/STAT sinyal yollarını da kullanarak MM hücrelerinin büyümesi ile sağ kalımını desteklediği ve anjiyogeneze katkı sağlandığı bilinmektedir (Şekil 2-10) [83].



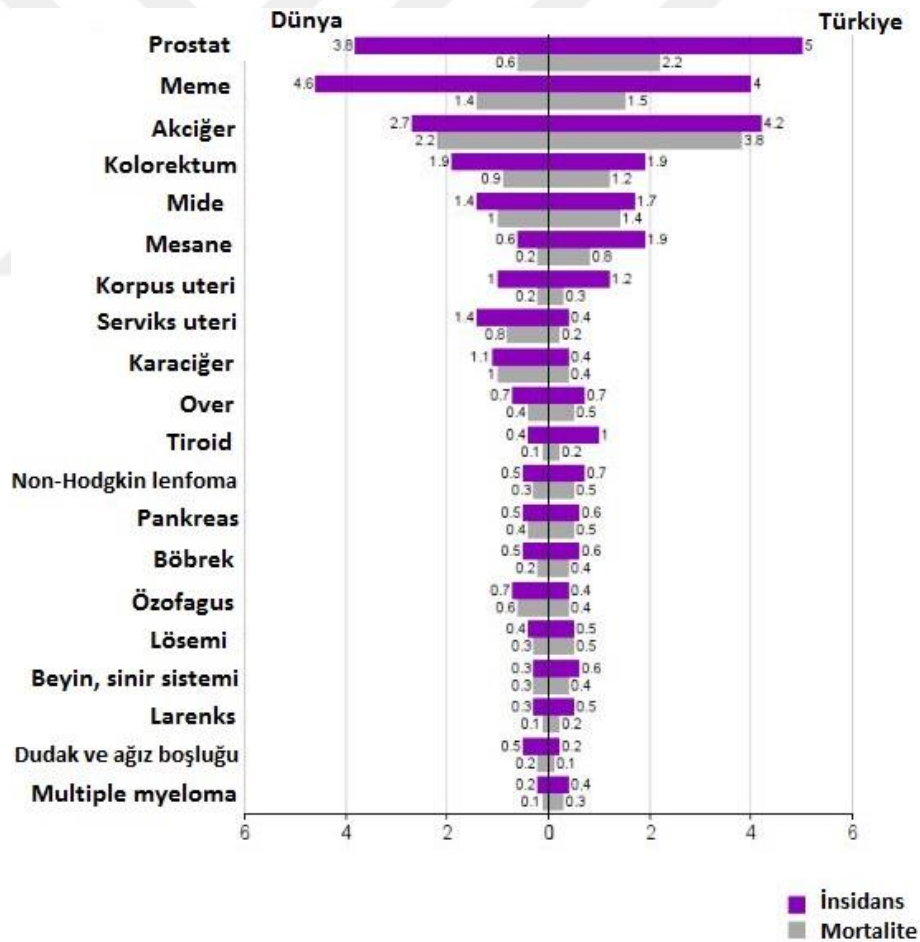
**Şekil 2-10: Multiple myeloma patogenezi ile sinyal yolağı ilişkisi**

[77]'den değiştirilerek alınmıştır.

Siklin-D ekspresyonunda artış, p53 geninde delesyon veya mutasyon, c-myc geninde ekspresyon artışı ve kemik iliği mikro çevresindeki faktörlerin etkisi de myeloma patogeneziyle ilişkilendirilmiş faktörlerdendir [78]. Kemiklerde litik lezyonların oluşumu multiple myelomada osteoklast aktive eden sitokin ajanlar (IL-1, RANK, TNF vb.) aracılığıyla osteoklast hücrelerinin uyarımına ve osteoblast hücrelerinin baskılanmasına bağlıdır [84].

### 2.3.2. Multiple Myeloma Epidemiyolojisi ve İnsidansı

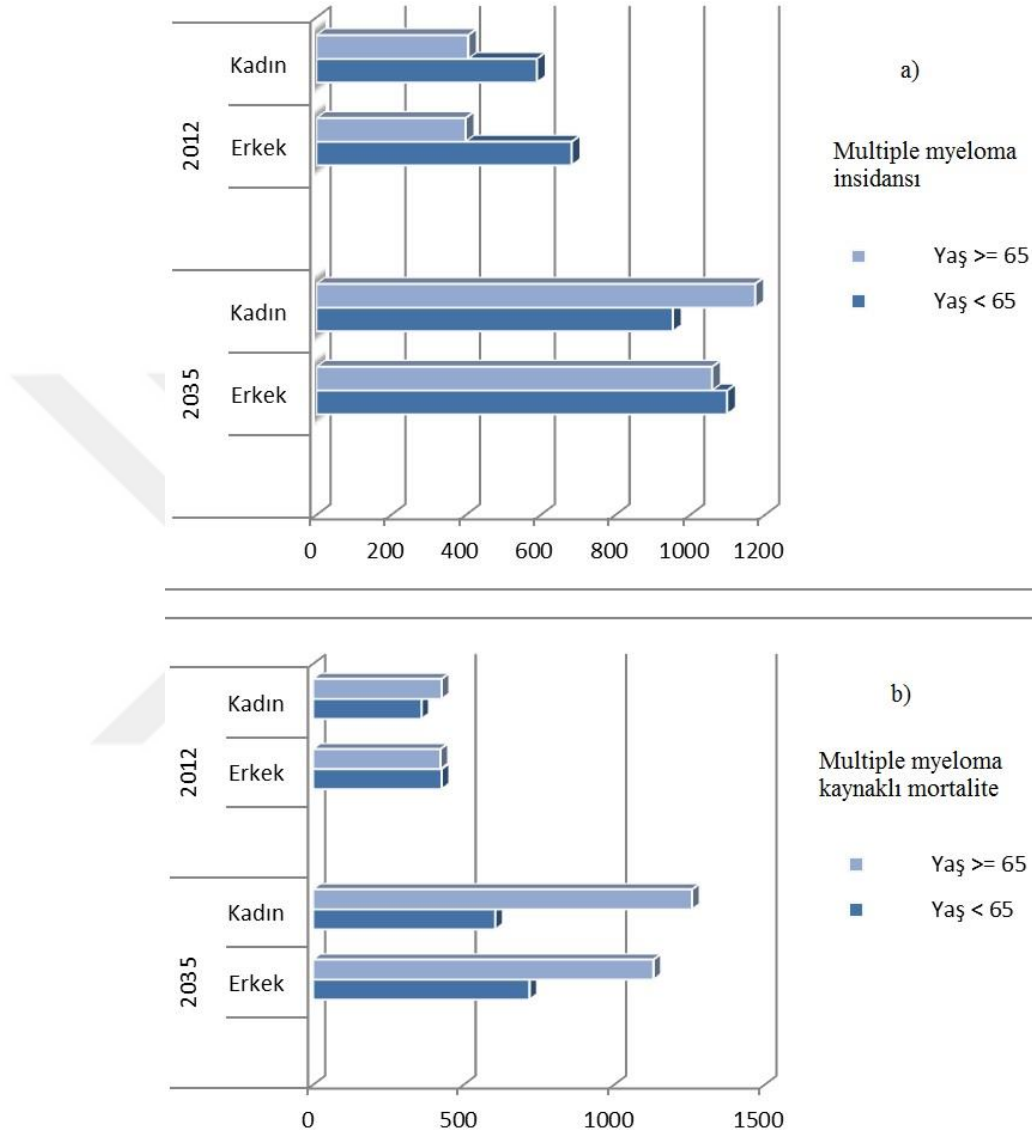
Beyaz ırkta yaklaşık 4-4,2/100.000 olan insidans siyah ırkta bunun 2 katı kadardır ve mortalite oranları da siyah ırkta daha fazladır. Multiple myeloma, Afrika ve Amerikalı bireylerde sık görülürken Asya kökenlilerde daha nadirdir [85, 86]. Erkeklerde kadınlara kıyasla daha sık görülen (3'e 2 şeklinde) multiple myeloma daha çok ileri yaşlarda ortaya çıkmakla birlikte nadiren bile olsa 40 yaş öncesinde de görülebilmektedir (%5'ten az vakada) [87, 88]. 60-70 yaş aralığındaki bireylerde diğer yaşlara kıyasla daha sık görülmektedir [89]. Tanı alma yaşının ortalama 69 olduğu ve hastaların çoğunun ortalama 75 yaşlarında öldüğü bildirilmektedir [72]. Türkiye'de kadın ve erkeklerde en sık görülen 10 kanser arasında MM bulunmamaktadır ancak Dünya'da sık görülen ilk 20 kanser türü arasında yer almaktadır. Dünya ve Türkiye'deki MM insidans ve mortalite karşılaştırması Şekil 2-11'de verilmiştir [41, 90].



Şekil 2-11: Dünya ve Türkiye'de multiple myeloma insidans ve mortalite değerlerinin 0-74 yaş aralığındaki erkek ve kadınlarda kümülatif risk açısından karşılaştırılması

[90]'dan değiştirilerek alınmıştır.

Yaşlı nüfus artışına bağlı olarak Türkiye’de de 2012 yılında görülen MM insidansı ile mortalite sayısının ileride hem kadınlarda hem de erkeklerde artması öngörülmektedir [90, 91] (Şekil 2-12).



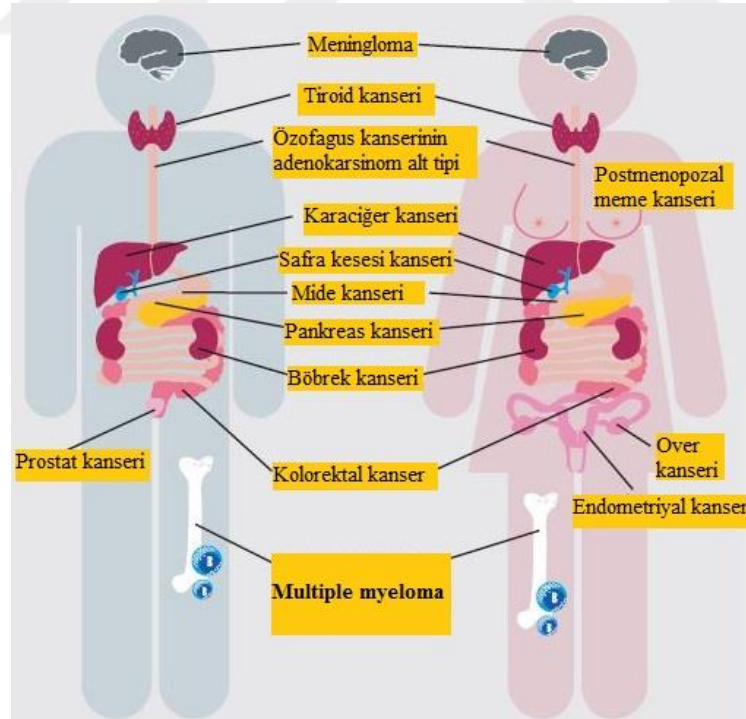
**Şekil 2-12: Türkiye’deki bilinen ve gelecekte beklenen (a) MM insidans tahminleri ile (b) MM mortalite tahminleri**

[90, 91]’deki verilerden oluşturulmuştur.

### 2.3.3. Multiple Myeloma Etiyolojisinde Rol Oynayan Risk Faktörleri

Multiple myeloma ile ilişkilendirilen ve B hücrelerinin plazma hücrelerine dönüşümü sırasında veya sonrasında bir takım moleküler ve sitogenetik değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Vakaların çoğunda immüoglobulin ağır zincir geninin (IgH) kromozomal translokasyonu görülmektedir [71]. Bunun yanı sıra hiperdiploidi (46-76 kromozom) ve non-hiperdiploidi [hipodiploid (44-45 kromozom), psödodiploid (44/45 ila 46/47 kromozom) ve yakın (near) tetraploid veya hipotetraploid (75 ya da daha fazla kromozom)] görülen sitogenetik değişiklikler arasındadır. Siklin D aile üyelerinden (CCND1, CCND3 vb.) en az birinin ekspresyonunun artması da sık karşılaşılan bir durumdur. Genetik değişikliklere ek olarak bazı genlerin promotor bölgelerinin hipermetilasyonu gibi epigenetik düzeyde değişiklikler de bilinmektedir [11].

Etiyolojide rol oynayan genetik faktörlerin yanı sıra cinsiyet, ileri yaş, köken (ırk), bazı toksik kimyasal maddeler ile radyasyona maruziyet, ağır metal içeren deniz ürünlerinin sık tüketimi gibi çevresel faktörlerin riski arttırdığı da bilinmektedir [92, 93]. Obezite gibi faktörler birçok kanserin oluşmasına katkı sağladığı gibi multiple myeloma açısından da risk faktörleri arasındadır (Şekil 2-13) [19, 94].



Şekil 2-13: Obezitenin risk faktörü olduğu bazı kanserler

[19]'dan değiştirilerek alınmıştır.

Normal bir bireyde multiple myelomanın ortaya çıkma riski, MGUS veya SMM olan bireye kıyasla daha düşüktür. MGUS'lu bir bireyde hastalığın MM'ye ilerleme riski %1 kadardır, SMM'li bir bireyde ise bu risk yaklaşık %10'lara kadar çıkmaktadır. Toplumda MGUS'u olan birey sayısı 50 yaş sonrası %3 olarak 70 yaş sonrası ise %5 olarak bilinmektedir [95, 96]. Ailede MM öyküsü olması, birinci derece akraba için riski yaklaşık 3-4 kat arttırabildiği gibi petrol, kozmetik ve deri sanayi gibi alanlarda çalışmak, ağır metal ve asbest gibi maddelere maruziyet durumları da riskin artışı ile ilişkilendirilmiş olmakla beraber tek başına hiçbir multiple myeloma gelişmesi için yeterli değildir [97, 98].

#### 2.3.4. Multiple Myeloma Tanısında Kullanılan Klinik Kriterler ve Laboratuvar Bulguları

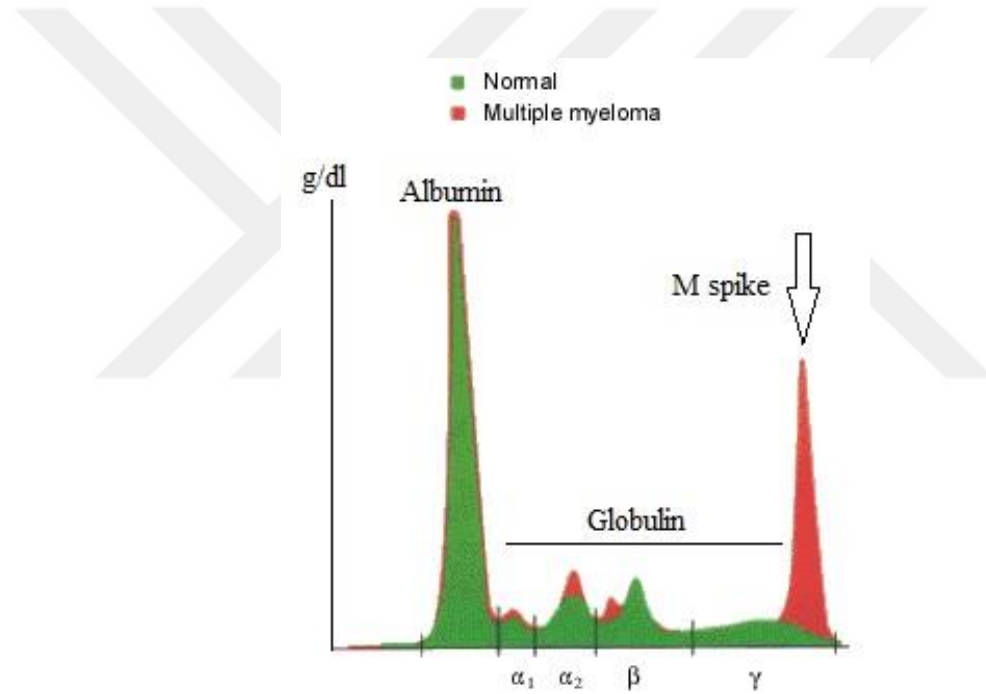
Hastalarda görülen klinik bulgular çok değişken olmakla birlikte sıklıkla; **CRAB** olarak kısaltılan 'hiperkalsemi (Kalsiyum  $>11,5\text{mg/dL}$ ), böbrekte yetmezlik (Kreatinin  $>2\text{mg/dL}$ , Kreatinin klirensi  $< 40\text{mL/dk}$ , **renal yetmezlik**), **anemi** (Hemoglobin  $<10\text{g/dL}$ , çoğunlukla normositik nadiren makrositik anemi), **kemikte ağrı ve fraktürler**' sıklıkla görülmekle birlikte solunum ve nörolojiyle ilgili semptomlar, enfeksiyonlara karşı dirençsizlik (sıklıkla pnömoni) ve pıhtılaşma sorunları (seyrek olarak nötropeni ve trombositopeni) gibi belirtiler de görülmektedir [99].

Uluslararası Myeloma Çalışma Grubu (IMWG) tarafından güncellenen bu tanı kriterlerine ek olarak **SLİM kriterleri** gibi bazı özel biyobelirteçlerin de değerlendirilmesiyle MM tanısı hızla konulabilmektedir. Biyobelirteçler arasında kemik iliğindeki plazma hücre klonunun  $\geq 60\%$  olması, serbest hafif zincir (FLC) oranının  $\geq 100\text{mg/L}$  olması, MRI'da kemikte birden fazla ( $\geq 5\text{mm}$ ) lezyonal odak gözlenmesi bulgularından bir ya da bir kaçının bulunması MM tanı belirteçleri arasında yer almaktadır [100].

Kemik ağrısı yaklaşık hastaların %50'sinden çoğunda hastaneye başvuru sebebi olmakta ve çoğu vakada bu ağrı bel, sırt, göğüs ve pelvik kemiklerde yerleşim bulmaktadır. Hastalarda sık görülen bir diğer bulgu ise kemik iliğinde plazma hücrelerinin artışına ve böbrek yetmezliğine bağlı gelişen anemi ile artmış serum kreatinin ve kalsiyum düzeyidir [101, 102]. Artmış M protein düzeyinin ciltte morarma,

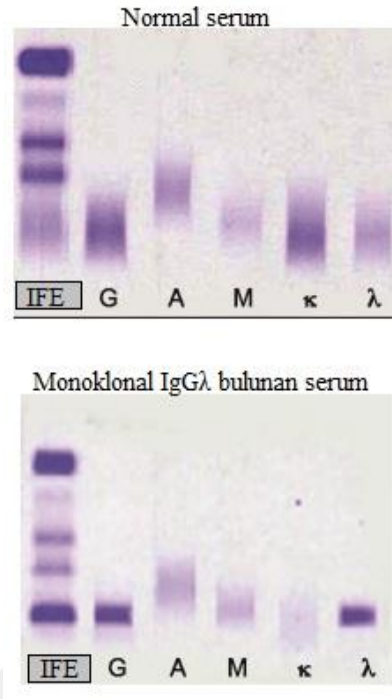
baş ağrısı, GİS'te kanama, bulanık görme ve uyuklama gibi bulgulara yol açabildiği bildirilmiştir [64].

Bu şikayetlerden bir ya da bir kaç ile başvuran hastalardan tanı konulabilmesi için öncelikle tam kan sayımı, röntgen, MRI, BT, artmış M protein tespiti için serum protein elektroforezi (Şekil 2-14), serum immunfiksasyon elektroforezi (Şekil 2-15), 24 saatlik idrar immunfiksasyon elektroforezi, serum serbest hafif zincir testi (serum FLC) ve idrar serbest hafif zincir testi (idrara FLC) gibi testler istenmektedir. Özellikle Bence Jones proteini tespitinde 24 saatlik idrar immunfiksasyon elektroforezinin daha etkili olduğu belirtilmiştir. Myeloma tanısının konulması sürecinde en önemli aşamalardan biri de kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisinin yapılmasıdır [103].



**Şekil 2-14: Multiple myeloma’da monoklonal Ig nedeniyle oluşan M spike bulgusunun serum protein elektroforezi ile tespiti**

[104, 105]’ten değiştirilerek alınmıştır.



**Şekil 2-15: Monoklonal antikor varlığında serum immüfiksasyon elektroforezi**  
[106]'dan değiştirilerek alınmıştır.

### 2.3.5. Multiple Myeloma Prognozu ve Evrelemesi

Hastalığın evresinin tespiti hastanın tedavi sürecinin şekillenmesinde yol gösterici olduğundan önemlidir. Prognozun iyi olması sağkalım süresinin uzaması açısından oldukça önemlidir ve hastalığın ileri yaşta görülmesi, del 13, monozomi 13, del 17 (p53 kaybı), IgH translokasyonları 't(4;14), t(14;16), t(14;20)' gibi genetik değişikliklerin görülmesi, laboratuvar bulgusu olarak artmış serum kreatinin,  $\beta$ -2 mikroglobulin proteini ve laktat dehidrogenaz seviyeleri, azalmış serum albumin seviyesi gibi durumlar kötü prognostik veridir [107, 108].

Myeloma evreleme sistemi 1975'ten bu yana 3 farklı değişim geçirmiştir. 1975'te Durie Salmon Evreleme Sistemi, 2005'te Uluslararası Evreleme Sistemi (ISS) ve 2015'te ise Revize edilmiş Uluslararası Evreleme Sistemi (R-ISS) geliştirilmiştir (Tablo 2-2) [64].

**Tablo 2-2: Durie Salmon Evreleme Sistemi, ISS ve R-ISS**

[64, 109]' den değiştirilerek oluşturulmuştur.

|          | <u>Durie-Salmon Evreleme Sistemi</u>                                                                                                                                                                                                     | <u>ISS</u>                                                | <u>R-ISS</u>                                             |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b>1</b> | Hemoglobin >10,5g/dL,<br>Serum kalsiyum düzeyi normal veya ≤12mg/dL,<br>Kemik grafisinde normal görüntü veya soliter lezyon,<br>M protein seviyesinin düşük olması (IgG <5g/dL, IgA <3g/dL, İdrarda hafif zincir <4g/24saat              | Serum β2mikroglobulin <3,5mg/L,<br>Serum albumin ≥3,5g/dL | ISS evre 1 ve hem iFISH hem de LDH açısından normal risk |
| <b>2</b> | Durie-Salmon evre 1 veya 3'e uymayan bulgular                                                                                                                                                                                            | ISS evre 1 veya 3'e uymayan bulgular                      | R-ISS 1 ve 3'e uymayan bulgular                          |
| <b>3</b> | Hemoglobin <8,5gr/dL,<br>Serum kalsiyumu >12mg/dL,<br>>3 litik kemik lezyonları,<br>M protein seviyesinin yüksek olması (IgG >7g/dL, IgA >5g/dL, İdrarda hafif zincir >12gr/24saat<br>(Bunlardan bir ya da bir kaçının bir arada olması) | Serum β2mikroglobulin ≥5,5mg/L                            | ISS evre 3 ve hem iFISH hem de LDH açısından yüksek risk |



Her 3 evre için Durie Salmon evrelemesinde alt tipler

A- Böbrek bozukluğu yok (Serum kreatinin ≤2mg/dL),

B- Böbrek bozukluğu var (Serum kreatinin >2mg/dL)



iFISH'te kromozom anomalisi açısından

Normal risk- Yüksek riskli kromozomal anomali olmaması

Yüksek risk- del(17p) ve/veya t(4;14) ve/veya t(14;16) olması

LDH açısından

Normal risk- Serum LDH > Referans değer

Yüksek risk- Serum LDH > Referans değer

### 2.3.6. Multiple Myeloma Tedavisi ve Tedaviye Yanıt

Günümüzde multiple myeloma tedavisinde kullanılan tedavi yolları hastalığı tamamen ortadan kaldırmaya yetecek seviyede olmasa da hastalığa özgü şiddetli ağrı gibi belli başlı bulguları ortadan kaldırmakta ve hastalığın ortaya çıkarabileceği komplikasyonları aza indirmektedir [103]. Birçok tedavi stratejileri geliştirilmişse de hala multiple myeloma için morbidite oranları yüksek olup sağkalım düşüktür [110-112]. Tedavi stratejisinde genel olarak melphalan-prednizon gibi ilaçların kullanımını takiben diğer kemoterapötik ve/veya steroidleri kullanarak yüksek doz tedavi, kök hücre transplantasyonu ve radyasyon terapilerini içeren yaklaşımlar izlenmektedir [113]. Otolog kök hücre transplantasyonu, radyasyon tedavisi, cerrahi yöntemlerin kullanımı ve çeşitli ilaçların kullanımıyla birlikte sağkalım süresi 10 yıla kadar uzatılmış olsa da ne yazık ki kesin tedavisi henüz bulunmamaktadır [114, 115]. Mevcut tedavi stratejileriyle hastalıkta görülen şiddetli ağrı bulgularının ortadan kaldırılması, hastalığın ilerleyişinin önlenmesi, sağkalım süresinin uzatılması ve hastanın yaşam kalitesinin yükseltilmesi hedeflenmektedir [116]. Tedavide kullanılan başlıca ilaçlar çoğunlukla kombine olarak kullanılmaktadır ve bu ilaç grupları proteazom inhibitörlerini (Bortezomib, Carfilzomib, Ixazomib), immünomodülatör ajanları (IMiDs) (Thalidomide, Lenalidomide, Pomalidomide), epigenom modülatörlerini (histon deasetilaz inhibitörleri; Panobinostat, Vorinostat), hücre lizis mediatörlerini (monoklonal antikorlar; Daratumumab, Elotuzumab), kemoterapötikleri (Cyclophosphamide, Melphalan) ve kortikosteroidleri (Dexamethasone, Prednisolone ) içermektedir (Tablo 2-3) [116, 117]. Özellikle immünomodülatör ajanlardan olan Bortezomib, Lenalidomid ve Talidomid multiple myeloma başlangıç tedavisinden ileri tedavi evrelerini de kapsayacak şekilde kullanım gören önemli ilaçlardır [19].

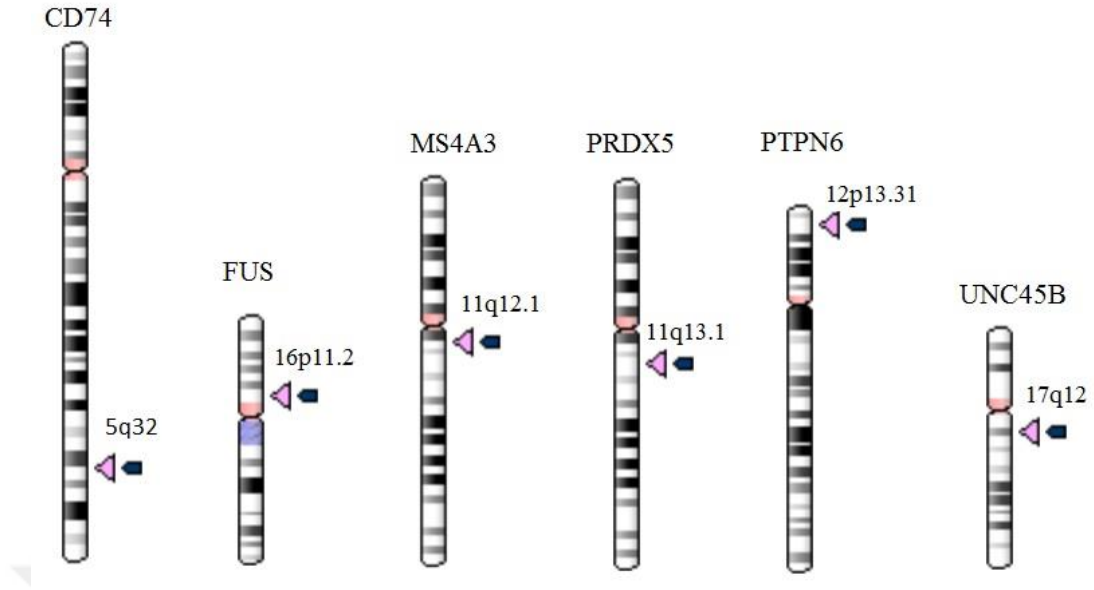
**Tablo 2-3: Multiple myeloma tedavisinde kullanılan ilaç örnekleri**

[19, 64]'ten değiştirilerek alınmıştır.

|                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Melphalan</b> (Alkeran)                                                        |
| <b>Cyclophosphamide</b> (Cyloxan)                                                 |
| <b>Prednisone</b> (Prednisolone)                                                  |
| <b>Dexamethasone</b> (Decadron)                                                   |
| <b>Bortezomib</b> (Velcade)- Tek veya kombine kullanım                            |
| <b>Thalidomide</b> (Thalomid)- Dexamethasone ile kombine kullanım                 |
| <b>Lenalidomide</b> (Revlimid)- Dexamethasone ile kombine kullanım                |
| <b>Carfilzomib</b> (Kyprolis)- Tek veya kombine kullanım                          |
| <b>Ixazomib</b> (Ninlaro)- Lenalidomide ve Dexamethasone ile kombine kullanım     |
| <b>Pomalidomide</b> (Pomalyst)- Tek veya kombine kullanım                         |
| <b>Panobinostat</b> (Farydak)- Bortezomib ve Dexamethasone ile kombine kullanım   |
| <b>Daratumumab</b> (Darzalex)                                                     |
| <b>Elotuzumab</b> (Empliciti)- Lenalidomide ve Dexamethasone ile kombine kullanım |

#### 2.4. Tezde Araştırılan Genler

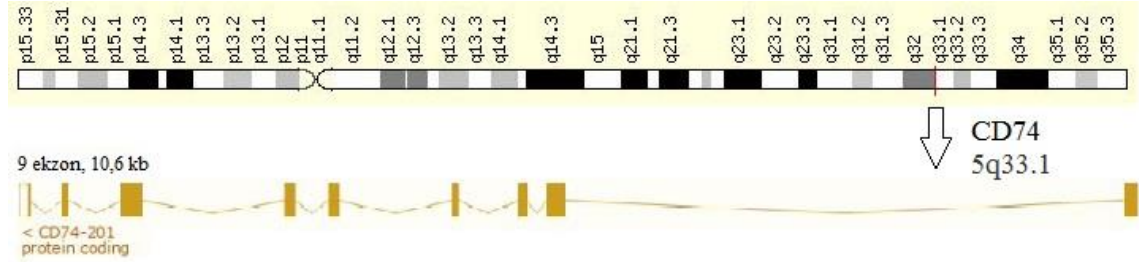
Multiple myeloma'da kullanılan prognostik belirteçlerin çoğalmasının yeni tedavi stratejilerine katkısı yanı sıra erken tanıyı da hızlandırabilme potansiyeli bulunmaktadır, bu nedenle aday gen çalışmaları oldukça önem taşımaktadır [118]. Bu tez projesinde; multiple myeloma transkriptom datasının değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkan sinyal iletimi, immün sistem ve hücresel yanıt gibi bazı yollar ile ilişkili CD74, FUS, MS4A3, PRDX5, PTPN6 genlerinin ve hasta-kontrol örnekleri arasında ekspresyonunun en anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilen UNC45B geninin ekspresyon düzeyleri qRT-PZR tekniğiyle konfirme edilerek hastalık patogenezindeki rollerinin ortaya konulması amaçlanmıştır (Şekil 2-16).



**Şekil 2-16: Tezde ekspresyonu araştırılan genlerin kromozomal lokasyonları**  
[119]'den değiştirilerek alınmıştır.

#### 2.4.1. CD74 geni

9 ekzonlu CD74 geni 5q32 bölgesinde lokalize olup 4 farklı protein varyantına sahiptir (Şekil 2-17) [120].



**Şekil 2-17: CD74 geninin genomik lokasyonu**

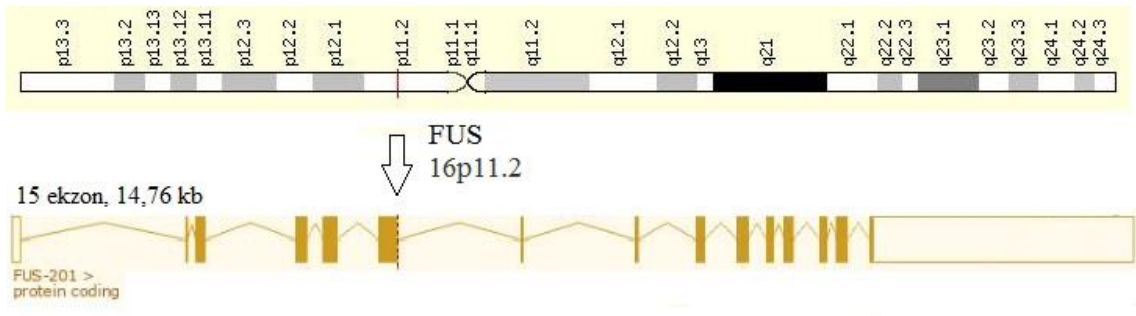
[121, 122]'den değiştirilerek alınmıştır.

Non-polimorfik tip 2 transmembran glikoproteini olan CD74'ün, MHC sınıf II şaperonu olmasının yanı sıra MHC sınıf II olmayan proteinler için de fizyolojik ve patolojik öneme sahip biyolojik görevleri mevcuttur [123, 124]. Bazı yollarda sinyal molekülü olduğu bildirilen CD74, NF- $\kappa$ B yolağı üzerinden B hücre olgunlaşması sürecine katkı sağlamaktadır [125]. B hücre gelişiminde önemli regülatör göreve sahip olduğu bilinen CD74 ekspresyonunun MM'de ve KLL'de yüksek seviyelerde görüldüğü

bilinmekle birlikte hücre migrasyonu, hücre çoğalması ve survi ilişkili yollara katkı sağladığı çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir [126-130]. CD74-kanser ilişkisi, multiple myeloma gibi myeloid kökene sahip hematolojik kanserlerin yanı sıra diğer birçok myeloid kanserle, lenfatik kanserle ve solid tümörle (prostat, GİS, meme, böbrek, akciğer, mesane, pankreas) bildirilmiştir [129, 131]. Normal dokularla az ekspresyonu görülen CD74 hem kanser hem de immünolojik hastalıklar için önemli bir terapötik hedef olarak düşünülmüştür. Anti-CD74 monoklonal antikor (mAb) tedavisinin prelinik etkinliği B-lenfomada bildirilmiştir [129].

#### 2.4.2. FUS geni

RNA ve DNA'ya bağlanabilen FET gen ailesi FUS/TLS, EWSR1 ve TAF15 genlerinden oluşmaktadır ve hem miRNA biyogenezinin düzenlenmesinde hem de bazı RNA ilişkili süreçlerde rol oynayan multifonksiyonel proteinleri kodlarlar [132, 133]. FET proteinlerinin etkileşim halinde olduğu çok sayıda hücresel protein arasında Gemin proteinleri, SR proteinleri, U1 snRNP kompleks (küçük nükleer ribonükleik parçacıklar), Sm proteinleri, heterojen nükleer ribonükleoprotein (hnRNP), diğer RNA-bağlama proteinleri ve transkripsiyonla ilişkili proteinler sayılabilir [134-137]. FET proteinlerinden olan FUS'un çeşitli hormon reseptörleri (retinoid X, tiroid hormonu, östrojen ve glukokortikoid reseptörleri) ile de ilişkisi bildirilmiştir [138]. FUS geni 16p11.2 kromozomal lokasyonda yerleşmiş 15 ekzonlu bir gendir (Şekil 2-18) [139].



**Şekil 2-18: FUS geninin genomik lokasyonu**

[139, 140]'tan değiştirilerek alınmıştır.

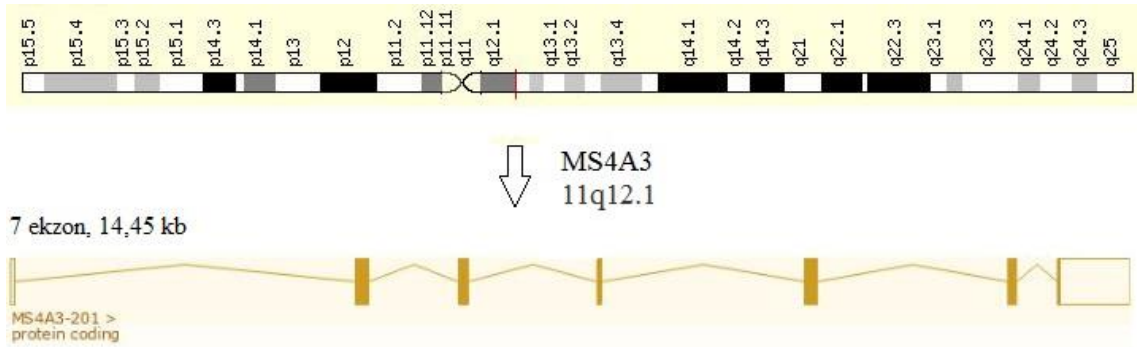
Pre-mRNA kırılması, mRNA stabilitesinin sağlanması ile işlenmiş mRNA'nın sitoplazmaya transportundan sorumlu olan heterojen nükleer ribo-nükleoprotein (hnRNP) kompleksinin çok fonksiyonlu bir protein bileşenini kodlayan FUS geninin ürünü olan, DNA ve RNA bağlayıcı özellikteki FUS/TLS (Fused in sarcoma/translocated in liposarcoma) proteini çok sayıda hücresel olayda (nükleo-sitoplazmik iletim, transkripsiyon, translasyon, kırılma, miRNA biyogenezi vb.) rol oynamaktadır [141-144]. FUS'un kırılma faktörleri ya da pre-mRNA'nın doğrudan kendisiyle etkileşerek kırılma (splicing) mekanizmasında rol oynadığı düşünülmektedir [145]. FUS/TLS proteininde meydana gelen bir takım değişikliklerin bazı transkriptlerin normalden farklı kırılmasına yol açtığı bildirilmiştir [146, 147]. Yapılan ChIP-seq çalışmalarıyla çok fazla genle ilişkisi olduğu gösterilen FUS proteininin transkripsiyon başlama bölgelerinde zengin olduğu bildirilmiştir. RNA polimeraz II'nin C-terminal bölgesindeki Ser2 fosforilasyonunu düzenleyen ve RNA polimeraz II'nin dağılımını da etkileyebilen FUS'un ifadesi azaltıldığında (knockdown), FUS'un lokalize olduğu transkripsiyon başlama bölgelerinin yakınında RNA polimeraz II'nin birikerek transkripsiyonu duraksattığı bildirilmiştir [148].

FUS geni ilk olarak miksoïd liposarkomada t(12;16)(q13; p11)'da oluşturduğu füzyon gen (DNA hasarı indüklenabilir transkript 3 proteini olan DDIT3, CHOP veya GADD153'i kodlayan füzyon gen) içerisinde tanımlanmıştır [149]. FUS genindeki bazı mutasyonların Amyotrofik lateral sklerozis (ALS)'e neden olduğu bildirilmiştir [150, 151]. Bu mutasyonlardan %3-5 kadarı aileseldir [141]. FUS proteininin nükleer lokalizasyon sinyal (NLS) bölgesinde mutasyon bulunan ALS hastalarında, bu protein sitoplazmada birikme ve yığın oluşturma eğilimi göstermektedir [152, 153].

hPOMp75 ve FUS'un aynı proteinler olduğunun keşfedilmesiyle FUS'un DNA tamirindeki rolü de aydınlanmıştır [141]. FUS'un, nükleer faktör kappa B p65 (NF- $\kappa$ B p65) ile etkileşimi sonucunda da CBP ile p300 histon asetiltransferazları bağlayarak bu yolla histon asetilasyonunu ve transkripsiyonu azaltmada rol oynamaktadır [145, 154]. FUS ya da EWSR1 gibi FET proteinlerinin ekspresyonlarının durdurulması (knockout) sonucunda iyonize radyasyona hassasiyeti ile DNA kırıklarının arttığı bildirilmiştir ve mevcut DNA hasarının tamirinde azalma olduğu komet testi (comet-tail assay) gibi testlerle gösterilmiştir [143, 155-157].

### 2.4.3. MS4A3 geni

Transmembran proteini kodlayan MS4A3 geni, toplam 18 üyesi olduğu bildirilmiş MS4A (membranı kateden domain 4A) ailesinin ortak yapısal özelliklerini taşıyan üyelerinden biri olup, bu ailenin üyeleri adeta reseptör kompleksleriyle ilişkili bir alt birim rolü oynayarak, hücre yüzey sinyal molekülleri ve hücre içi adaptör proteinleri olarak işlev görerek sinyal iletimine katkı sağlamaktadır. Bu proteinlerin hücresel survi ve proliferasyonda önemli düzenleyici rollere sahip oldukları bilinmektedir [158, 159]. Doğal (innate) bağışıklık sistemi gibi çeşitli yollarla ilişkili olan ve 11q12 kromozomal bölgesine lokalize (Şekil 2-19) bulunan MS4A3 geninin hematopoietik hücre ve dokularda ifade olması yanı sıra hematopoietik kök hücre farklılaşması sürecinde ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir [160, 161].



**Şekil 2-19: MS4A3 geninin genomik lokasyonu**

[162, 163]'ten değiştirilerek alınmıştır.

MS4A ailesi arasında 7q36.1 kromozomal bölgesine lokalize olan Tmem176A ve B isimli üyeler de bildirilmiştir [164]. MS4A ailesinin iyi bilinen üyeleri arasında yer alan MS4A1, 2 ve 3'ün ifadesi daha çok hematopoietik hücrelerle sınırlıyken, çeşitli tümör tipleri gibi non-hematopoietik hücrelerde de ifadesi bildirilmiş olan MS4A aile üyeleri bulunmaktadır. MS4A proteinlerinin hücresel sinyal yollarında (hücre döngüsü ve farklılaşma ile ilişkili iyon kanalı aktivitesi vb.) önemli rollere sahip olabileceği düşünülmektedir. Her geçen gün MS4A aile üyelerinin büyüme ve farklılaşma gibi birçok hücresel süreçte rol oynadığına yönelik literatür bilgisi artmaktadır, bu durum günümüzde araştırmacıları 'MS4A ailesi-neoplazi' ilişkisinin araştırılmasına yönlendirmektedir [159]. Mikroarray teknolojisi kullanılarak MS4A3 ekspresyonunun malign dokular ile normal dokularda karşılaştırılmasına yönelik

yapılan çalışmada MS4A3 ifadesinin meme, over ve prostat gibi karsinomlarda farklı düzeylerde görüldüğü bildirilmiştir. Bu nedenle tümör hücrelerinin hayatta kalmasına MS4A3'ün ne tür katkısı olduğunu anlamaya yönelik ileri hücre hattı çalışmalarının yapılmasının faydalı olacağı önerilmiştir [165].

Normal plazma hücrelerinde yüksek ifadesi bilinen MS4A4A'nın ekspresyonunun, çeşitli myeloid lösemi alt tiplerinde olmadığı veya çok az seviye olduğu bildirilmiştir. Multiple myeloma ve mantle hücreli lenfoma gibi hastalıklarda immünoterapötik olarak aktive edilmiş çeşitli tümör ilişkili makrofajların MS4A4A antikoru tedavisiyle hedeflenmesinin potansiyel öneme sahip olabileceği bildirilmiştir [166]. U937T insan myeloid hücre hattında yapılan gen ekspresyon profillemesi çalışması sonucunda MS4A3 geninin ekspresyonunun düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu genin ise hematolojik ve solid bazı tümörlerde artmış ekspresyonu bilinen bir onkogen olan EVI1 geni tarafından doğrudan hedeflendiği gösterilerek bu durumun da EVI1 aracılı agresif tümör progresyonunda rolü olduğu bildirilmiştir [167-169]. Zheng ve arkadaşlarının skuamöz hücreli akciğer kanserli dokularda yaptıkları tüm ekzom dizileme sonucunda MS4A3 geninde missens mutasyon tespit edilmiş olmakla birlikte MS4A3'ün patogenezdaki fonksiyonunu ortaya koyabilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır [170]. Ayrıca MS4A ailesi üyelerindeki bazı polimorfizmlerin Alzheimer ve artrit gibi çeşitli hastalıklara yatkınlık sağlaması yanısıra bu genlerin ifadelerindeki değişikliklerin de kanser gibi bazı malign hastalıklarla ilişkili olabileceği bildirilmiştir [171-173].

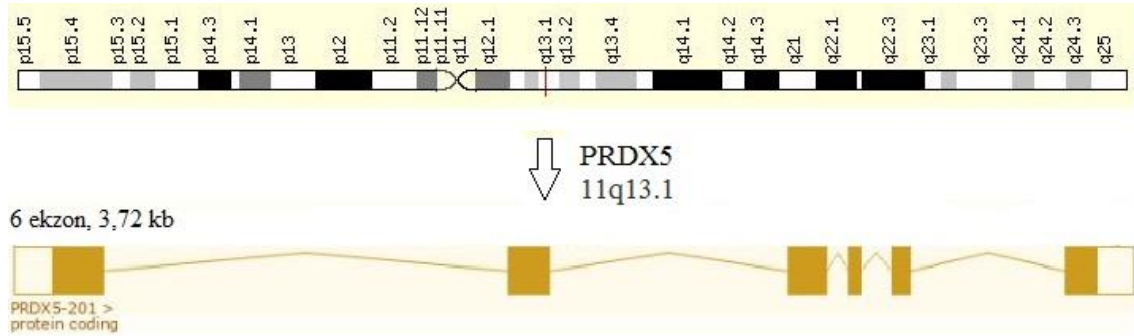
#### **2.4.4. PRDX5 geni**

Vücutta oksidan (serbest radikaller) ve antioksidan maddelerin belli miktarlarda bulunmasının enfeksiyonla savaşta (fagositoza katkı sağlayarak), malign hücrelerin yok edilmesinde (makrofajlara ve sitotoksik lenfositlere yardımla), detoksifikasyonda ve hatta büyüme ilişkili faktör ve sitokinlerin salınımını aktive ederek hücre büyümesinde sinyal iletiliç rolleri bildirilmiştir [174-177]. Reaktif oksijen türlerinin (ROS'un) hücredeki normal düzeyinin hücre sinyal yollarında iş görmesine örnek olarak hidrojen peroksitin protein-tirozin fosfatazı oksitlemesi sonucu tirozin kinaz bağımlı sinyal yollarının aktive olması verilebilir [178]. Ancak bu homeostazın bozulmasıyla nükleik asit, lipid ve protein gibi önemli hücresel bileşiklerin yapısı bozulabilmekte ve bu sebeple çok sayıda (250'den fazla sayıda) hastalık ile bozukluğun (dolaşım sistemi,

sindirim sistemi gibi sistemsel bozukluklar, infertilite, kanser vb.) edinildiği bilinmektedir [179-181]. Kararsız yapıda olmaları nedeniyle bazı moleküllerle reaksiyona girme eğilimleri tipik olan oksijen (ROS) ya da nitrojen (RNS) köken alan serbest radikaller, iç (mitokondride ATP üretimi sırasında oluşan sitokrom oksidaz, ER'de detoksifikasyon sırasında oluşan NADPH gibi serbest radikaller vb.) veya dış (alkol, sigara, UV ışınları, mikrodalga ışınları ve parfüm, insektisit gibi enfeksiyöz ve inflamatuvar uyaranlara maruziyet vb.) kaynaklara bağlı oluşabilmektedir [180, 182]. Hücre içerisinde ROS'un artmasının genomik instabiliteye neden olduğu bunun da birçok malign hastalık için zemin hazırladığı bilinmektedir [183]. ROS, kolon, karaciğer ve meme kanseri gibi kanserlerde tümör oluşumundan ilerlemesine kadar birçok evreye katkı sağlamaktadır [176]. Hücrede ROS düzeyinin artışında çeşitli ilaç tedavileri, hormonal tedaviler, bazı onko-proteinlerin (cMyc vb.) ekspresyonunun artması gibi nedenler etken olabilmektedir [184]. ROS oluşumunun artmasının kolon kanserinde kanserli hücrelerin çoğalma ve dokulara invaze olma potansiyelini arttırdığı, EMT markerlarını yöneterek hücre göçünü tetiklediği tespit edilmiştir. Bundan dolayı hücredeki artmış ROS düzeyinin bir takım koruyucu antioksidan enzimler (glutatyon peroksidaz, katalaz, peroksiredoksinler vb.) aracılığıyla indirgenmesi önem taşımaktadır. Örneğin kolorektal kanserde PRDX5 gibi ROS azaltıcı enzimlerin tanıda biyobelirteç olarak kullanılabileceği önerilmiştir [179, 185, 186]. Bunun yanı sıra peroksiredoksinlerin (PRDX'lerin) ifadelerindeki artışın kanserli hücre canlılığı, çoğalması ve metastazını arttırarak tümör progresyonunda rolü olduğu da bildirilmiştir [186, 187]. PRDX'ler (tiol bağımlı peroksidazlar), hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda hücrelerdeki peroksitlerin temizlenmesini sağlayıcı antioksidan enzimler olarak bildirilmiştir [188]. Peroksiredoksin ailesi tipik 2-sisteinli (PRDX 1,2,3,4), atipik 2-sisteinli (PRDX5) ve atipik 1-sisteinli (PRDX6) 6 üyeye sahiptir [189-191].

Apoptoz, hücre farklılaşması ve proliferasyon gibi önemli hücresel süreçlerde rol oynayan antioksidan enzim grubundaki peroksiredoksin ailesinin bir üyesi olan PRDX5 geninin kodladığı antioksidan özellikteki enzimatik ürün; hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), nitrik asit ( $HNO_2$ ), hidroksil ( $OH^\cdot$ ), peroksil ( $ROO^\cdot$ ), hidroperoksil ( $HO_2^\cdot$ ) gibi oksidanların zararsız hale dönüştürülmesinde veya detoksifikasyonunda rol oynamaktadır [182, 192, 193]. Bunu peroksizom reseptörü ile etkileşerek ve antioksidan moleküllerin korunumunu sağlayarak gerçekleştirmektedir. PRDX5 mitokondri, sitozol, peroksizom ve nükleusta bulunmaktadır [194]. Sitoprotektif etkisi bilinen, sahip olduğu

yapı ve katalitik özellik nedeniyle çok sayıda substrata özgünlük gösteren PRDX5'i kodlayan genin kromozomal lokasyonu 11q13.1 olarak bildirilmiştir (Şekil 2-20) [195, 196].



**Şekil 2-20: PRDX5 geninin genomik lokasyonu**

[192, 197]'den değiştirilerek alınmıştır.

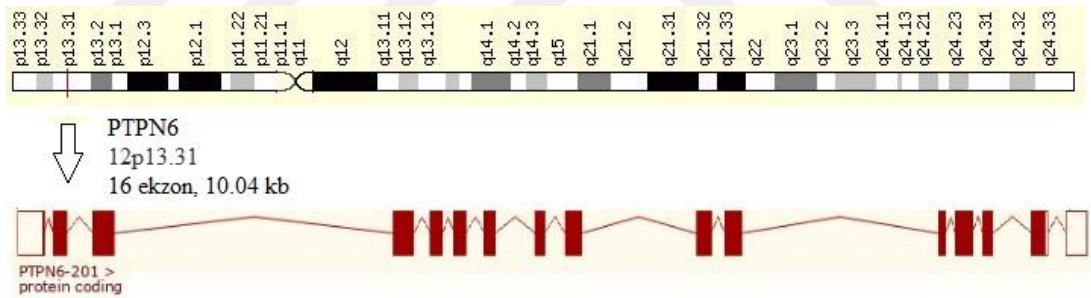
PRDX5 geni PMP20, prx V, ACR1, AOEB166, PRXV gibi çeşitli sinonim isimler ile de anılmaktadır [196]. Antioksidan enzimlere ait transkripsiyonel işlemlere yardım eden bir transkripsiyon faktörü olan Foxo3a'nın endotel hücrelerinde PRDX5 transkripsiyonunu düzenlemek için PGC-la ile birleştiği bildirilmiştir [198]. Kısa ve uzun transkriptlere sahip olan PRDX5'in hidrojen peroksiti elemine etme fonksiyonuyla hücreyi hem hücre içi hem de hücre dışı strese karşı koruduğu ve bağışıklık regülasyonuna katkı sağladığı bilinmektedir [199]. PRDX5 ifadesinin artması ya da azalmasının hücre canlılığını etkilediği bildirilmiştir [200]. Hücresel yaşlanma sürecinde, mitokondrisi hasarlı hücrelerde, miyokard hasarlarında, iyonizan radyasyona maruz kalan kemik iliği makrofajlarında, androjen eksikliği görülen prostatta, korneal endotelyal distrofide, nörodejenerasyonel durumlarda, adrenokortikal karsinomlarda, sigara veya kokain gibi madde maruziyeti durumlarında PRDX5 ifadesinin azaldığı ve bu durumun da oksidatif hasara ve bir takım kimyasal veya ilaçlarla indüklenen apoptoza karşı hassasiyeti arttığı bildirilmiştir [196].

PRDX5'in, ERK-Drp1 aracılı mitokondriyal fragmentasyonu önleyerek amiloid-beta oligomer kaynaklı nöronal hücre ölümünü önlediği bildirilmiştir [201]. Oksidanlara veya hipoksiye maruz kalan kanser hücrelerindeki PRDX5 ifade artışına oksidatif stresin indüklediği ekspresyonel mekanizmada rol oynayan Ets1 ve 2 transkripsiyon faktörlerinin HMGB1 ile iş birliği yapmasının yol açtığı tespit edilmiştir [202].

### 2.4.5. PTPN6 geni

Protein tirozin fosfataz (PTP) ailesi çeşitli hücrel olaylarda (hücre döngüsü, proliferasyonu ve farklılaşması vb.) düzenleyici olarak rol oynayan sinyal molekülleridir [203]. Bunlar hematopoetik sistemde ifade olup çok sayıda sinyal yolğunun regülasyonunda görev yapmaktadırlar [204]. Tirozin fosforilasyonunda rol oynayan protein tirozin kinaz ve protein tirozin fosfatazların ifade düzeylerinde meydana gelen değişiklikler anormal tirozin fosforilasyonuna yol açmakta ve hücrel süreçlerde bir takım patolojilere neden olabilmektedir [205, 206]. Hematopoetik hücrelerde işlevi bilinen SHP-1 ve SHP-2 (SH2 bölgesi içeren fosfataz 1 ve 2) gibi protein tirozin fosfatazlar negatif sinyal yollarındaki genlerin ekspresyonlarını azaltarak inhibitör rolü oynamanın yanı sıra pozitif sinyal yollarındaki genlerin ekspresyonlarını arttırarak da hücre büyümesinde etkili olmaktadır [207].

PTP ailesi üyelerinden olan PTPN6, 12p13.31 kromozom bölgesinde lokalize olup çeşitli sinonim isimlere (SHP1, SHP-1L, SHP-1, HCP, HCPH, PTP-1C, SH-PTP1, HPTP1C) sahiptir (Şekil 2-21) [208].



**Şekil 2-21: PTPN6 geninin genomik lokasyonu**

[209, 210]'dan değiştirilerek alınmıştır.

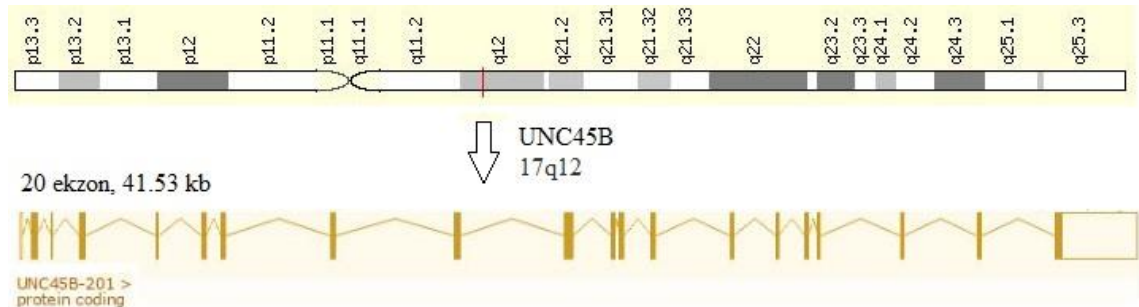
SHP-1, PTPN6 geninin kodladığı sitozolik bir protein tirozin fosfatazdır. Kanserle sıklıkla karşılaşılan durumlardan olan artmış tirozin fosforilasyonu protein tirozin kinazlarda meydana gelen anormal ekspresyon ve sonuç olarak reseptörün anormal aktivasyonuna veya fosfotirozin rezidülerinin defosforilasyonunda rol oynayan protein tirozin fosfatazların azalmış ekspresyonuna bağlı olabilmektedir [207]. SHP-1'in aktivasyon ve proliferasyondaki rolü nedeniyle kimerik antijen reseptörü-T (CAR-T) hücreleri gibi immünoterapide genetik manipülasyon açısından verimli bir şekilde kullanılabileceği önerilmektedir [211, 212]. Protein tirozin fosfatazların yüksek

korunmuş ve pozitif yüklü aktif bölgeye sahip olması gibi zor yanları nedeniyle çok sayıda ilaç firması başarı elde edemese de bu yönü aşılabılırsa ilaç olarak geliştirilebileceği düşünülmektedir [213].

Multiple myeloma, lösemi, solid tümör ve lenfoma gibi çok sayıda tümör hücresinde yapısal olarak aktif olan STAT-3, kanser hücrelerinin canlı kalarak çoğalması, ilaçlara direnç göstermesi ve metastazı (yayılımı) gibi durumların yönetilmesinde rol oynadığı bilinen bir yoldur [214, 215]. Capillarisin (CPS) adı verilen biyoaktif bir bileşiğin bazı hastalıklarda anti-kanserojen, anti-serbest radikal ve anti-mikrobiyal aktiviteleri gösterilmiş olup Lee ve arkadaşları yaptıkları çalışmada SHP-1 ve SHP-2 genlerini siRNA aracılığıyla susturdıklarında CPS'nin JAK1 ve STAT3 aktivasyonunu inhibe etme yetisinin de baskılandığını göstermişlerdir [216]. CPS, STAT3 yolağı yanısıra tümör hücrelerinde NF- $\kappa$ B yolağının da güçlü bir inhibitörü olarak bildirilmiştir [217]. Buna benzer şekilde MM hücrelerinde STAT3 ve onun regüle ettiği bazı genlerin (bcl-xL, bcl-2, siklin D1 ve survivin) ekspresyonunun azaltılmasının, betulinik asit kullanılarak SHP-1'in ekspresyonunun artırılması yoluyla da sağlanabileceği gösterilmiştir [218].

#### 2.4.6. UNC45B geni

Tip-2 miyozinin katlanarak birikmesinde görev alan Hsp90 (heat shock protein 90) şaperonu ile kompleks oluşturarak iş gören ko-şaperon bir ürün kodlayan 17q12 kromozomal lokasyona sahip UNC45B geninin çizgili kasta yüksek seviyede eksprese olduğu bildirilmiştir (Şekil 2-22) [219-221].



**Şekil 2-22: UNC45B geninin genomik lokasyonu**

[221, 222]'den değiştirilerek alınmıştır.

Smyd1b, Unc45b ve Hsp90 etkileşerek miyofibrilogeneze (sarkomer oluşumuna) katkı sağlamaktadır. Kasta kasılmaları sağlayıcı yapı olan sarkomer oluşumu miyozin gibi sarkomerik proteinlerin belli bir düzende kompleks oluşturmasını gerektirmektedir ve bu homeostazın bozulmasıyla yapı düzgün oluşamamaktadır [223]. Miyozin katlanması ve toplanmasına yardımcı olan Hsp90a1, Unc45b ve Smyd1b proteinleri ‘MMR’ olarak kısaltılan hatalı miyozin katlanmasına yanıt sürecine de katkıda bulunmaktadır [224]. İskelet ve kalp kaslarında ifade edilen ve miyozin şaperonu olan UNC45B proteini *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*)’ta erken embriyonik dönemde sitokinezde rol oynamaktadır [225, 226]. *C.elegans*’ta UNC45B ifade seviyesindeki artma ve azalmanın miyofibril organizasyonunu bozarak olumsuz etkilere yol açtığı tespit edilmiştir [227]. Zebra balığı embriyolarında Unc45b susturulması sonucu sarkomerlerde miyozin filamentinin kaybına bağlı olarak kardiyak bozukluk ile paraliz gibi durumlar olduğu ve Z ile M bantlarının bozulmasına bağlı aktin protein birikimi tespit edildiği bildirilmiştir [228]. Ayrıca bu gendeki fonksiyon kaybına neden olan bir mutasyon (Arg805Trp) ‘dominant juvenil katarakt’ oluşumu ile de ilişkilendirilmiştir [229]. UNC45B proteininin ökaryotik hücrelerde sitozolik bir protein olduğu ve Hsp90 ile kompleks oluşturarak primer işlev olarak miyozin katlanmasını arttıran pozitif bir efektör olduğu gösterilmiştir. UNC45B’nin Hsp90 ile birleşmesinin miyozin ile etkileşimi kolaylaştırdığı bildirilmiştir [230]. UNC45B’nin N-terminal kısmında Hsp90’ın C terminalindeki MMEVD motifine bağlanmayı sağlayan TPR (three tetratricopeptide repeats) motifi, orta kısmında görevi bilinmeyen ancak korunmuş özellik gösteren ve Wnt sinyal yolağında önemli rolü olan  $\beta$  kateninle homoloji gösteren dizi içeren domain ile miyozin bağlamayı sağlayan C-terminal kısmında UCS (Unc45/Cro1/She4) domaini bulunmaktadır [226, 230]. Bazı canlılarda (*Drosophila melanogaster* ve *C. Elegans* gibi), UNC45’in bir izoformu eksprese olurken çoğu canlı da ise A ve B olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır.

Farelerde atriumdaki düz kas miyozin sayısının UNC45A ifade seviyesi ile ters orantılı, UNC45B ifade seviyesi ile doğrusal orantılı olarak bulunduğu bildirilmiştir [231]. İskemik kalp yetmezliği olanlarda yapılan bir çalışmada UNC45 seviyesinin arttığının tespiti bu molekülün kalp kasındaki önemini vurgular nitelik taşımaktadır [232].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

#### 3.2. Kemik İliği Örneklerinin Toplanması

İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (İ.Ü.-BAP) Birimi'nin desteklediği 'Multiple Myeloma Hastalarının Kemik İliği Myeloma Hücrelerinde Gen İfadesinin Transkriptom Dizileme Yöntemi İle Araştırılması' başlıklı çalışmadan elde edilen transkriptom datası oldukça zengin veri içermektedir (Proje No: 7348) [15]. İ.Ü.-BAP Birimi tarafından desteklenen bir diğer çalışma olan 'Multiple Myeloma'da Tüm Genom Transkriptom Datasında Saptanan Füzyonlarda Belirlenen Bazı Genlerin Ekspresyon Analizi' adlı çalışma ile bu datanın biyoinformatik analiziyle elde edilen veriye dayanarak ErbB ve İnsülin sinyal yolağı ile ilişkili bazı genlerin ekspresyon analizleri yapılmıştır (Proje No: 50404) [16]. Transkriptom dizileme veri analizleri sonucunda multiple myeloma genetiği ile ilişkili aday olabilecek birçok gen belirlenmiştir. Türkiye'de ilk defa multiple myeloma üzerine yapılmış transkriptom çalışması özelliği gösteren bu datadan elde edilen verinin gerekli confirmasyon ve fonksiyonel çalışmalarının yapılması oldukça önem taşımaktadır.

Bu tez projesi için 23/12/2016 tarih ve 22 sayılı toplantıda İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onay alındıktan sonra yeni tanı konmuş ve henüz tedaviye başlanmamış multiple myeloma hastalarına ve sağlıklı donörlere ait kemik iliği toplama işlemlerine başlanmıştır. Hasta ve kontrol grubunun onam formlarına imzaları alındıktan sonra 4 ml EDTA'lı tüpe kemik iliği uygun ortam şartlarında alınmıştır. Çalışmaya alınan hasta grubu 50 multiple myeloma (yeni tanı konmuş ve henüz tedaviye başlanmamış) hastasından oluşmaktadır. Çalışmada kontrol grubu sayısının sadece sağlıklı donör ile sınırlı tutulması planlanmış ancak sayının oldukça yetersiz kalması nedeniyle kontrol grubuna MGUS olan bireylerden alınan kemik iliği örnekleri de dahil edilmiştir. Sonuç olarak kontrol grubu olarak 8 sağlıklı donör ve 8 MGUS bireye ait olacak şekilde toplam 16 örnek çalışmaya alınmıştır. Sağlıklı kontrol örnekler, hasta bir bireye kemik iliği transplantasyonu için kemik iliği nakline hazırlanan gönüllü sağlıklı donörlerden alınan kemik iliği nakil örneği içerisinde bu çalışma için 4 ml kemik iliği alınarak temin edilmiştir.

Çalışma İstanbul Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiş olup aşağıda belirtilen ekipman ve olanakları kullanılmıştır.

- Derin dondurucu (-80°C, Nüve)
- Buzdolabı (+4°C ve -20°C, Bosch)
- Hassas terazi (ATX224- Shimadzu)
- Distile su cihazı (Millipore)
- Su banyosu (Armed)
- Çeker Ocak (Tezsan)
- Spektrofotometre (NanoDrop ND-2000c, Thermo Fisher Scientific)
- Laminar flow kabin (Hepa filtreli) (Thermo, Scientific)
- Soğutmalı santrifüj (Beckman Coulter)
- PZR cihazı (BioRad)
- Vorteks (Dlab MX-S)
- Light Cycler 480 Real Time PZR cihazı (Roche)
- Mini santrifüj (Nüve)
- Otomatik pipetler (Eppendorf) (Axygen)
- Jel görüntüleme sistemi (Gel Doc XRt- Bio Rad)
- Jel elektroforez sistemi (Elite 300 plus- Wealtec)

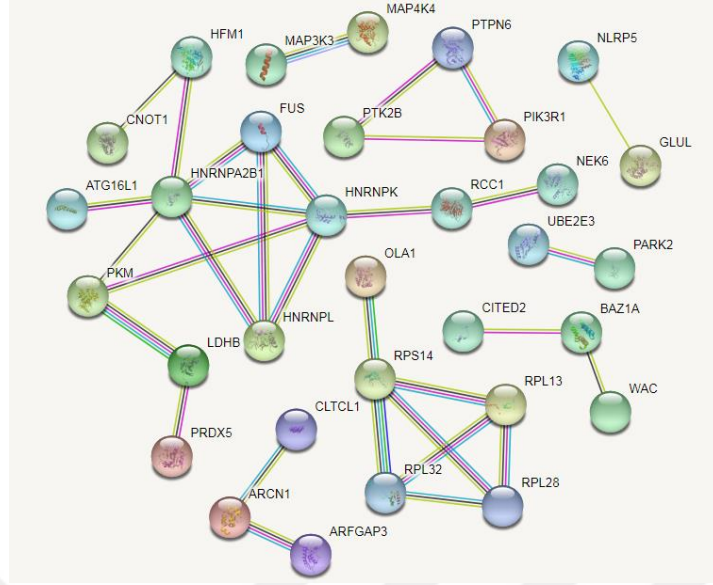
### 3.3. Biyoinformatik Analiz Sonuçlarının Yolak Analizinde Kullanılması

İ.Ü. BAP Birimi'nin desteklediği 7348 numaralı projeden elde edilen transkriptom datası 'CLC Genomics Workbench(v6.01), NextGene(v2.3.2)' gibi yazılımlar aracılığıyla analiz edilmiştir ve transkripte olan tüm genlerin ekspresyon düzeyleri belirlenmiş olup bu genlerin ekspresyon düzeylerini normalize etmek için RPKM değerleri (kilobaz başına düşen okuma sayısı) ' $RPKM = (10^9 \times C) / (N \times L)$ ' formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Formüldeki simgeler şunları ifade etmektedir 'C; bir gene haritalanmış okuma sayısı', 'N; dizilemeden elde edilen toplam okuma sayısı', 'L; bir gen için baz çifti değerinden ekzon uzunluğu') [15]. Yeni Nesil Dizileme teknoloji verilerinde kullanılan bir değer olan RPKM, kilobaz başına düşen okuma sayısı olup RNA dizilemesiyle genlerin ekspresyonlarını belirlemek için ilgili gen bölgesinin uzunluğu ve okumaların sayısı dikkate alınarak elde edilen bir normalizasyon değeridir

[233]. Bu tez projesinde; RPKM değerleri hastalarda sıfır kontrol örneklerde ise sıfırın dışında olacak şekilde filtreleme yapılarak 77 gen belirlenmiştir (Tablo 3-1). Bunlar arasında birbiri ile etkileşim halinde olanlar Şekil 3-1’de gösterilmiştir. Bu 77 gen Reactome, GeneMania, Panther, Pathway Commons ve KEGG gibi yolak analiz araçları kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda ortaya çıkan sinyal iletimi, immün sistem ve hücreyel yanıt gibi bazı yolaklar ile ilişkili PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 genlerinin ve hasta-kontrol örnekleri arasında ekspresyonunun en anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilen UNC45B geninin ekspresyon düzeyleri qRT-PZR tekniğiyle konfirme edilerek hastalık patogenezindeki rollerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

**Tablo 3-1: Hasta ve kontrol grubu RPKM değerlerinin karşılaştırılması**

| RPKM değeri |               |             | RPKM değeri |               |             | RPKM değeri |               |             |
|-------------|---------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|---------------|-------------|
| Gen adı     | Kontrol Grubu | Hasta Grubu | Gen adı     | Kontrol Grubu | Hasta Grubu | Gen adı     | Kontrol Grubu | Hasta Grubu |
| UNC45B      | 252,54        | 0           | ATG16L1     | 2,66          | 0           | DTWD2       | 0,43          | 0           |
| RPS14       | 110,91        | 0           | PID1        | 2,64          | 0           | ARCN1       | 0,43          | 0           |
| RPL13       | 66,19         | 0           | REPIN1      | 2,48          | 0           | NEK6        | 0,41          | 0           |
| LCN2        | 55,40         | 0           | LDHB        | 2,32          | 0           | C1orf151    | 0,40          | 0           |
| RPL28       | 46,63         | 0           | COMMD9      | 2,28          | 0           | GYG1        | 0,36          | 0           |
| FUS         | 36,23         | 0           | PSAP        | 2,23          | 0           | MAP3K3      | 0,35          | 0           |
| CITED2      | 27,29         | 0           | PHKG2       | 2,03          | 0           | ZNF667      | 0,34          | 0           |
| PRDX5       | 24,58         | 0           | SH2D3C      | 1,93          | 0           | KIAA1715    | 0,34          | 0           |
| RPL32       | 21,62         | 0           | EDEM2       | 1,63          | 0           | RGS12       | 0,31          | 0           |
| CD74        | 21,09         | 0           | TMEM41B     | 1,53          | 0           | DGKG        | 0,30          | 0           |
| HNRNPA2B1   | 20,42         | 0           | NFKBIZ      | 1,18          | 0           | THUMP2      | 0,30          | 0           |
| PTPN6       | 18,58         | 0           | ARFGAP3     | 1,07          | 0           | RIN3        | 0,22          | 0           |
| RCC1        | 17,26         | 0           | C5orf34     | 0,92          | 0           | GOLGA3      | 0,22          | 0           |
| HMGB2       | 17,00         | 0           | C14orf43    | 0,91          | 0           | DIDO1       | 0,22          | 0           |
| PKM2        | 15,74         | 0           | OLA1        | 0,81          | 0           | TMCC1       | 0,21          | 0           |
| MS4A3       | 15,31         | 0           | IKZF2       | 0,77          | 0           | NLRP5       | 0,21          | 0           |
| NSUN5       | 10,27         | 0           | PTK2B       | 0,71          | 0           | SMEK2       | 0,19          | 0           |
| GLUL        | 8,69          | 0           | PIK3R1      | 0,69          | 0           | GALNT14     | 0,17          | 0           |
| ATP2A3      | 8,36          | 0           | UBE2E3      | 0,63          | 0           | GIGYF2      | 0,16          | 0           |
| HNRNPK      | 8,30          | 0           | SPAG1       | 0,62          | 0           | CNOT1       | 0,12          | 0           |
| HDGF        | 7,57          | 0           | MTL5        | 0,59          | 0           | CLTCL1      | 0,12          | 0           |
| ADRA2C      | 6,66          | 0           | WAC         | 0,59          | 0           | MAP4K4      | 0,07          | 0           |
| HFM1        | 6,16          | 0           | C13orf18    | 0,57          | 0           | ARID1B      | 0,06          | 0           |
| CLEC11A     | 5,49          | 0           | BAZ1A       | 0,53          | 0           | ZFHX3       | 0,05          | 0           |
| EIF4G2      | 4,35          | 0           | PHACTR2     | 0,53          | 0           | PARK2       | 0,01          | 0           |
| HNRNPL      | 4,09          | 0           | CENPN       | 0,49          | 0           |             |               |             |



**Şekil 3-1: Belirlenen genler arasında etkileşimi olanların görüntüsü**

[234] veritabanı aracılığıyla oluşturulmuştur.

### 3.4. Kemik İliği Materyallerinin Uygun Koşullarda Saklanması

Çalışmaya dahil edilen multiple myeloma teşhisi konulmuş tedavi görmemiş hastalar ile sağlıklı kemik iliği donörü kontrol bireylerin ve MGUS'lu bireylere ait kemik iliği örnekleri alınmadan önce gönüllü onam formu doldurarak imzalaması istenmiştir. Kemik iliği toplama işleminin ardından elde edilen materyaller, biyopsi sonuçları multiple myeloma olarak kesinleşip çalışmaya başlanıncaya kadar, 'QIAamp RNA Blood Mini kiti' ile üretici firmanın protokolüne göre sırasıyla şu işlemler uygulanarak -80°C'de saklanmıştır;

- Falcon tüp içerisine 1 hacim kemik iliği üzerine 5 hacim Buffer EL eklenmiş ve 10-15 dakika kadar buz üzerindeki falkon tüp birkaç kez alt-üst edilerek kırmızı kan hücrelerinin (eritrositlerin) parçalanması için beklenmiştir.
- 2000 rpm'de 10 dakika 4°C'de santrifüj edilerek çöktürülmüştür. Süpernatant atılarak beyaz küreleri (lökosit hücrelerini) içeren pellet üzerine tekrar 1000 µl kadar Buffer EL eklenip pelletin çözülmesi sağlanmıştır.
- 1,5 ml'lik ependorf tüplere konulan karışım 3000 rpm'de 2 dakika 4°C'de santrifüj edilerek süpernatant atılmıştır. Beyaz küreleri içeren pellet üzerinde kalan sıvı eritrosit artıkları içerdiğinden ve bu da RNA izolasyonu sırasında

RNA'nın kolona bağlanmasını etkileyebileceğinden dolayı pipet yardımıyla tamamen çekilerek uzaklaştırılmıştır.

- 1 ml Buffer RLT içerisine 10 µl beta-merkaptoetanol ( $\beta$ -ME) olacak şekilde hazırlanan solüsyondan 600 µl alınarak beyaz kürelere ait pellet pipetaj yapılarak çözülmüştür, lizat iyice homojen görününceye kadar pipetle karıştırma işlemine devam edilmiştir. RNA izolasyonu yapıncaya kadar bu şekilde -80°C'de saklanmıştır.

### 3.5. RNA İzolasyonu

-80°C'de Buffer RLT ve  $\beta$ -ME solüsyonu içerisinde saklanan lökositlerden 'QIAamp RNA Blood Mini kiti' ile üretici firmanın protokolüne uygun olarak RNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir.

- -80°C'den çıkartılan lizatın tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra lizat tek seferde QIAshredder (lila renk) kolona yüklenmiştir. 3 dakika 13.000 rpm'de oda sıcaklığında satrifüj edildikten sonra kolon atılmıştır.
- Toplama tüpünde biriken lizat üzerine Buffer RLT miktarı kadar (600 µl) %70'lik etil alkol (EtOH) eklenip pipetaj yapılmış ve karışım QIAamp (beyaz renk) kolona yüklenmiştir.
- 1 dakika 10.000 rpm'de oda sıcaklığında satrifüj edilmiştir. Kolona tek seferde 700 µl'den fazla yükleme yapılamadığından işlem kalan karışım için bir kez daha tekrarlanmıştır.
- Kolon yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne geçirilerek içine 700 µl Buffer RW1 eklenmiş ve 1 dakika 10.000 rpm'de oda sıcaklığında satrifüj edilmiştir.
- Yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne geçirilen kolonun içine 500 µl Buffer RPE eklenmiştir (Konsantre halde bulunan Buffer RPE içerisine ilk kullanımdan önce 4 katı kadar %100'lük ethanol ilave edilerek karıştırılmıştır).
- 1 dakika 10.000 rpm'de oda sıcaklığında satrifüj edilmiştir.
- Kolon tekrar yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne geçirilerek içine 500 µl Buffer RPE eklenmiş ve bu kez 4 dakika 14.000 rpm'de oda sıcaklığında satrifüj edilmiştir.
- Ethanolün tamamen uzaklaştırılması için yeni bir 2 ml'lik toplama tüpü üzerine alınan kolon 2 dakika 14.000 rpm'de oda sıcaklığında satrifüj edilmiştir.

- QIAamp (beyaz renk) spin kolon 1,5 ml'lik ependorf tüp üzerine konularak tam filtre üzerine gelecek şekilde 50 µl nükleaz içermeyen su (RNase free water) eklenmiş 1 dakika beklenerek ardından 2 dakika 10.000 rpm'de oda sıcaklığında sentrifüj edilmiştir.
- QIAamp (beyaz renk) spin kolon atılmış, alttaki ependorf tüpte RNA elde edilmiştir.
- Elde edilen RNA'nın 1-2 µl kadarı RNA derişiminin ölçümünde kullanılmış, arta kalan RNA ise kullanılacağı zamana kadar -80°C'de saklanmıştır.

### 3.6. RNA Derişimlerinin Ölçülmesi

İzole edilen RNA örneklerinin NanoDrop ND-2000c (Thermo Fisher Scientific) spektrofotometre ile absorbans değerleri ölçülmüştür. Spektrofotometrik olarak ölçülen 260-280 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri kullanılarak, RNA örneklerinin derişim ve saflıkları hesaplanmıştır (RNA saflığı açısından en ideal  $260/280 = 2$ ). RNA derişimi; absorbans değerinin, DNA katsayısı ve sulandırma katsayısıyla çarpılmasıyla hesaplanmıştır ' $\text{RNA derişimi } (\mu\text{g/ml}) = \text{OD}_{260} \times \text{Seyreltme katsayısı} \times 40 \mu\text{g/ml} / 1000$ ' formülü kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır.

### 3.7. cDNA Sentezi

RNA konsantrasyonları cDNA sentezi için yeterli olan örneklerin, 'QIAGEN RT2 First Strand Kit' kullanılarak üretici firmanın protokolüne göre cDNA sentezleri gerçekleştirilmiştir.

Total 1000 ng (1µg) RNA kullanılacak şekilde Tablo 3-2'deki reaktifler kullanılarak hazırlanan miks 0,2 ml'lik ependorf tüplere dağıtılarak 5 dakika 42°C'de inkübe edilmiştir ve ardından hızlıca en az 1 dakika buza alınmıştır.

Tablo 3-3'teki reaktifler kullanılarak reverse (ters) transkripsiyon miksi hazırlanmıştır. 10 µl genomik DNA eliminasyon miksi içeren her bir ependorf tüpe 10'ar µl revers transkripsiyon miksi dağıtılmıştır. Hafifçe pipetaj yapılmıştır. Tüpler 42°C'de 15 dakika inkübe edilmiş, sonrasında hızlıca reaksiyonun sonlanması için 95°C'de 5 dakika bekletilmiştir. Elde edilen cDNA'ların üzerine 91 µl RNAaz

içermeyen su ilave edilerek toplam 111 µl cDNA elde edilmiştir ve gerçek zamanlı PZR işleminde kullanılıncaya kadar -20°C'ye kaldırılmıştır.

**Tablo 3-2: Genomik DNA eliminasyon miksi için gerekli reaktifler ve miktarlar**

| Reaktifler                    | Hacim (µl) | Son Konsantrasyon |
|-------------------------------|------------|-------------------|
| <b>RNA</b>                    | Değişken   | 25 ng-5 µg        |
| <b>Buffer GE</b>              | 2 µl       |                   |
| <b>PZR için nükleazsız su</b> | Değişken   |                   |
| <b>Toplam</b>                 | 10 µl      |                   |

**Tablo 3-3: Reverse (ters) transkripsiyon miksi için gerekli reaktifler ve miktarlar**

| Reaktifler                           | Hacim (µl) |
|--------------------------------------|------------|
| <b>5X Buffer BC3</b>                 | 4 µl       |
| <b>Control P2</b>                    | 1 µl       |
| <b>RE3 Reverse Transcriptase Mix</b> | 2 µl       |
| <b>PZR için nükleazsız su</b>        | 3 µl       |
| <b>Toplam</b>                        | 10 µl      |

### 3.8. qRT-PZR Tekniği İle Gen Ekspresyon Analizi

RNA örneklerinden hazırlanan cDNA'lar, hedef gen ekspresyon seviyesi analizi için yapılan qRT-PZR (Kantitatif Eş Zamanlı PZR)'de kullanılmıştır. Bu reaksiyon SYBR Green metodu (Light Cycler 480 SYBR Green I Master) kullanılarak her standart, her internal kontrol gen ve her örnek gen için 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Kantitasyon için LightCycler 480 cihazı (LightCycler, Roche Diagnostics GmbH, Germany) kullanılmıştır. qRT-PZR reaktifleri ve sıcaklık koşulları sırasıyla Tablo 3-4 ve 3-5'te verilmiştir.

**Tablo 3-4: qRT-PZR reaktifleri**

| Reaktif               | Hacim( $\mu$ L)/reaksiyon |
|-----------------------|---------------------------|
| SYBR Green Master Mix | 5                         |
| Nükleazsız su         | 2                         |
| RT Primer prob F      | 0,5                       |
| RT Primer prob R      | 0,5                       |
| cDNA örneği           | 2                         |
| <b>Total</b>          | <b>10</b>                 |

**Tablo 3-5: qRT-PZR sıcaklık koşulları**

|                   |           |
|-------------------|-----------|
| 95°C'de 5 dakika  | ×1 döngü  |
| 95°C'de 10 saniye |           |
| 60°C'de 20 saniye | ×40 döngü |
| 72°C'de 25 saniye |           |
| 40°C'de 20 saniye | ×1 döngü  |

Tezde ekspresyonu değerlendirilecek genlere özgü dizayn edilen ve dizileri Tablo 3-6'da belirtilen primer çiftleri IDT firmasına sentezlettirilmiştir. Liyofilize halde teslim alınan primerler üretici firmanın protokolüne göre sulandırılarak 100 pmol/ $\mu$ l stok primerler elde edilmiş ve PZR'de kullanılmak üzere 1:10 oranında dilüe edilerek 10 pmol/ $\mu$ l şeklinde hazırlanmıştır.

Tablo 3-6: qRT-PZR çalışmasında kullanılan primer çiftlerine ait diziler

| Primer Adı           | Primer Dizisi                | Baz Sayısı | Referans |
|----------------------|------------------------------|------------|----------|
| <b>CD74- F</b>       | 5'-TGTGATGCACCTGCTCCAG-3'    | 19         | *        |
| <b>CD74- R</b>       | 5'-GGAAGCTCCCCTTCAGTGG-3'    | 19         | *        |
| <b>FUS- F</b>        | 5'-TTCCAGCAGAGCAGTCAG-3'     | 19         | *        |
| <b>FUS- R</b>        | 5'-TGGGGAGTTGACTGAGTTCC-3'   | 20         | *        |
| <b>MS4A3- F</b>      | 5'-TGTCTACCAGCCCATAGATGG-3'  | 21         | *        |
| <b>MS4A3- R</b>      | 5'-TGGTATGGGTATTGCAAGGAAC-3' | 22         | *        |
| <b>PRDX5- F</b>      | 5'-GTTCAAGGGCAAGAAGGGTG-3'   | 20         | *        |
| <b>PRDX5- R</b>      | 5'-CCACCTGGACTCCCTTGG-3'     | 18         | *        |
| <b>PTPN6- F</b>      | 5'-GTCATCGTCATGACCACCC-3'    | 19         | *        |
| <b>PTPN6- R</b>      | 5'-CAGAGTAGGGCCCATAAGCA-3'   | 20         | *        |
| <b>UNC45B- F</b>     | 5'-CTCAAGGTGGTGGCAAGG-3'     | 18         | *        |
| <b>UNC45B- R</b>     | 5'-GATTGGAGACAGCAGCGATC-3'   | 20         | *        |
| <b>βeta actin- F</b> | 5'-GCCTCGCCTTTGCCGATC-3'     | 18         | [235]    |
| <b>βeta actin- R</b> | 5'-CCCACGATGGAGGGGAAG-3'     | 18         | [235]    |

\* Ensemble, Primer 3, Primer Blast, SNP Check, UCSC in silico PCR, Oligo analyzer (IDT) gibi çeşitli internet programları kullanılarak bu tez projesi için tasarlanan primerleri ifade etmektedir.

Amplikon uzunluklarının gösterilmesi için %2'lik agaroz jel (Agarosio Agarose, SL-AGQ30, AB-Analitica) hazırlanarak jel elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Elite 300 plus (Wealtec) elektroforez sisteminde 80 volt ve 350 amper koşullarında 50 dakika yürütme işleminin ardından Gel Doc XRt (Bio-Rad) jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir.

### 3.9. İstatistiksel Analiz

RT-PZR’de normalizasyon için  $\beta$ -aktin geni kullanılmıştır. Hedef gen ekspresyon seviyesi analizleri yapılan genler delta-delta Ct ( $\Delta\Delta Ct$ ) değerleri hesaplanarak rölatif kantitasyon yöntemiyle incelenmiştir.

İstatistiksel analizler ‘SPSS 21’ aracılığıyla ‘Student t Testi’ yerine non-parametrik alternatifi olan ‘Mann-Whitney U Testi’ kullanılarak yapılmıştır ve veriler ortalama ‘ $\pm$  standart hata’ olarak gösterilmiştir. ‘p değeri 0,05’ten küçük olan’ veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. ‘Matrix2png arayüzü’ kullanılarak cluster histogram görüntüsü oluşturulmuştur [236].

Gen ifadelerinin birbiri ile ilişkili olup olmadığının değerlendirilmesine yönelik ‘Pearson Korelasyon testi’ kullanılmıştır. İstatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edilen genlerin hasta ile sağlıklı bireyi birbirinden ayırt etme gücünü belirlemeye yönelik ‘ROC (Receiver Operating Characteristic)’ analizi yapılmıştır. Grafik çizimlerinde ‘SPSS 21 ve Graph Pad Prism 5’ programlarından yararlanılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hasta Grubuna Ait Bilgiler

Hematoloji bölümü tarafından yeni tanı konulan ve henüz ilaç tedavisine başlanmamış olan 50 hasta patoloji tarafından multiple myeloma oldukları kesinleştikten sonra bu tez projesi çalışmasına dahil edilmiştir. Bu hastalara ait özellikler Tablo 4-1’de gösterilmiştir. Çalışma için İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onay verilmiştir. Hasta ve kontrol bireylere ait gönüllü onam formları temin edilmiştir. Tüm deneysel çalışmalar İstanbul Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Bilim Dalı bünyesindeki Moleküler Genetik Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir. Hasta grubuna ait yaş ortalamasının  $64,16 \pm 1,55$  olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 4-1: MM hasta örneklerine ait özellikler**

|                       |                             |    |
|-----------------------|-----------------------------|----|
| Yaş                   | ≤ 60 Yaş                    | 16 |
|                       | >60 Yaş                     | 34 |
| Cinsiyet              | Kadın                       | 18 |
|                       | Erkek                       | 32 |
| MM tipi               | IgA/Kappa Multipl Myelom    | 5  |
|                       | IgA/Lambda Multipl Myelom   | 3  |
|                       | IgG/Kappa Multipl Myelom    | 10 |
|                       | IgG/Lambda Multipl Myelom   | 8  |
|                       | Ig D/Kappa Multipl Myelom   | 1  |
|                       | Ig D/Lambda Multipl Myelom  | 1  |
|                       | Kappa hafif zincir myelomu  | 5  |
|                       | Lambda hafif zincir myelomu | 3  |
|                       | Bilinmeyen                  | 14 |
| Kİ plazma hücre oranı | ≤ % 30                      | 31 |
|                       | > % 30                      | 13 |
|                       | > % 60                      | 6  |
| Durie Salmon Evresi   | Evre 1A                     | 17 |
|                       | Evre 1B                     | 2  |
|                       | Evre 2A                     | 18 |
|                       | Evre 2B                     | 10 |
|                       | Evre 3A                     | 1  |
|                       | Bilinmeyen                  | 2  |

Hasta bireylere ait kemik iliği örneklerinden elde edilen RNA konsantrasyonları Tablo 4-2’de verilmiştir.

**Tablo 4-2: RNA derişimleri ve saflık değerleri**

| Örnek adı | RNA kons. | Ünite | 260/280 | Örnek adı | RNA kons. | Ünite | 260/280 |
|-----------|-----------|-------|---------|-----------|-----------|-------|---------|
| H1        | 233       | ng/µl | 2,06    | H26       | 203,5     | ng/µl | 2,08    |
| H2        | 685,7     | ng/µl | 2,08    | H27       | 142,9     | ng/µl | 2,1     |
| H3        | 168,2     | ng/µl | 2,05    | H28       | 444,4     | ng/µl | 2,07    |
| H4        | 870       | ng/µl | 2,09    | H29       | 581       | ng/µl | 2,08    |
| H5        | 540       | ng/µl | 2,1     | H30       | 1500,1    | ng/µl | 2,07    |
| H6        | 535,6     | ng/µl | 2,07    | H31       | 1301,7    | ng/µl | 2,09    |
| H7        | 244,3     | ng/µl | 2,08    | H32       | 160,5     | ng/µl | 2,12    |
| H8        | 400,7     | ng/µl | 2,06    | H33       | 538,5     | ng/µl | 2,05    |
| H9        | 431,6     | ng/µl | 2,06    | H34       | 527,7     | ng/µl | 2,06    |
| H10       | 343,9     | ng/µl | 2,09    | H35       | 622,8     | ng/µl | 2,11    |
| H11       | 598       | ng/µl | 2,07    | H36       | 180,7     | ng/µl | 2,01    |
| H12       | 590,5     | ng/µl | 2,05    | H37       | 596       | ng/µl | 2,07    |
| H13       | 1022,2    | ng/µl | 2,07    | H38       | 170,1     | ng/µl | 1,99    |
| H14       | 402,3     | ng/µl | 2,07    | H39       | 624,1     | ng/µl | 2,09    |
| H15       | 1205,2    | ng/µl | 2,04    | H40       | 366,1     | ng/µl | 2,09    |
| H16       | 606,9     | ng/µl | 2,07    | H41       | 847       | ng/µl | 2,06    |
| H17       | 246,6     | ng/µl | 2,11    | H42       | 183       | ng/µl | 2,03    |
| H18       | 437,5     | ng/µl | 2,07    | H43       | 447       | ng/µl | 2,03    |
| H19       | 377,7     | ng/µl | 2,09    | H44       | 586,3     | ng/µl | 2,07    |
| H20       | 406,7     | ng/µl | 2,08    | H45       | 321,7     | ng/µl | 2,04    |
| H21       | 344,8     | ng/µl | 2,07    | H46       | 234,3     | ng/µl | 2,07    |
| H22       | 71,6      | ng/µl | 2,11    | H47       | 195       | ng/µl | 2,09    |
| H23       | 387       | ng/µl | 2,09    | H48       | 141,9     | ng/µl | 2,06    |
| H24       | 238,5     | ng/µl | 2,1     | H49       | 185,5     | ng/µl | 2,08    |
| H25       | 130,3     | ng/µl | 2,08    | H50       | 177,1     | ng/µl | 2,06    |

#### 4.2. Kontrol Grubuna Ait Bilgiler

Kontrol grubu olarak kemik iliği vericisi olan **sağlıklı donörler** ile patolojik inceleme sonucunda **MGUS** olarak belirlenen bireylerden alınan kemik iliği kullanılmıştır. 8 sağlıklı donör ve 8 MGUS olmak üzere toplam 16 kontrol örnek çalışılmıştır. Sağlıklı donörlere ait kemik iliği örnekleri İstanbul Tıp Fakültesi Hematoloji Bölümü'nden, MGUS örnekleri ise Haseki Eğitim Araştırma Hastanesi Hematoloji Bölümü'nden sağlanmıştır (Tablo 4-3). Kontrol grubuna ait yaş ortalamasının  $51,81 \pm 4,26$  olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 4-3: Kontrol örneklere ait özellikler**

|                                            |          |    |
|--------------------------------------------|----------|----|
| Yaş                                        | ≤ 60 Yaş | 10 |
|                                            | > 60 Yaş | 6  |
| Cinsiyet                                   | Kadın    | 9  |
|                                            | Erkek    | 7  |
| MGUS kontroller için Kİ plazma hücre oranı | ≤ % 1    | 2  |
|                                            | > % 1    | 3  |
|                                            | % 5-9    | 3  |

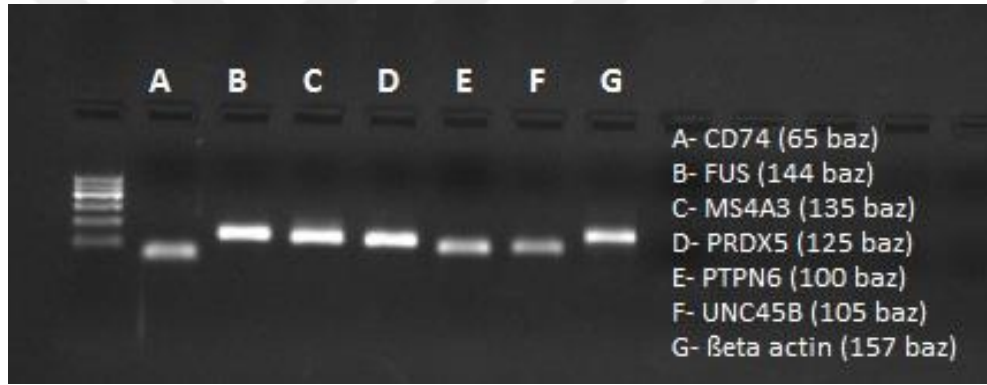
Sağlıklı donör ve MGUS bireylere ait kemik iliği örneklerinden elde edilen RNA konsantrasyonları Tablo 4-4'te verilmiştir.

**Tablo 4-4: RNA derişimleri ve saflık değerleri**

| Örnek adı | RNA kons. | Ünite | 260/280 | Örnek adı | RNA kons. | Ünite | 260/280 |
|-----------|-----------|-------|---------|-----------|-----------|-------|---------|
| K1        | 256,1     | ng/μl | 2,04    | K9        | 163,2     | ng/μl | 2,08    |
| K2        | 347,2     | ng/μl | 2,08    | K10       | 903,2     | ng/μl | 2,06    |
| K3        | 183,1     | ng/μl | 2,1     | K11       | 579,4     | ng/μl | 2,09    |
| K4        | 225,1     | ng/μl | 2,11    | K12       | 334,9     | ng/μl | 2,09    |
| K5        | 155,3     | ng/μl | 2,03    | K13       | 597,2     | ng/μl | 2,09    |
| K6        | 140       | ng/μl | 2,2     | K14       | 329,5     | ng/μl | 2,07    |
| K7        | 183,3     | ng/μl | 2,02    | K15       | 109       | ng/μl | 2,02    |
| K8        | 485,6     | ng/μl | 2,06    | K16       | 126,1     | ng/μl | 2,01    |

### 4.3. qRT-PZR Bulguları

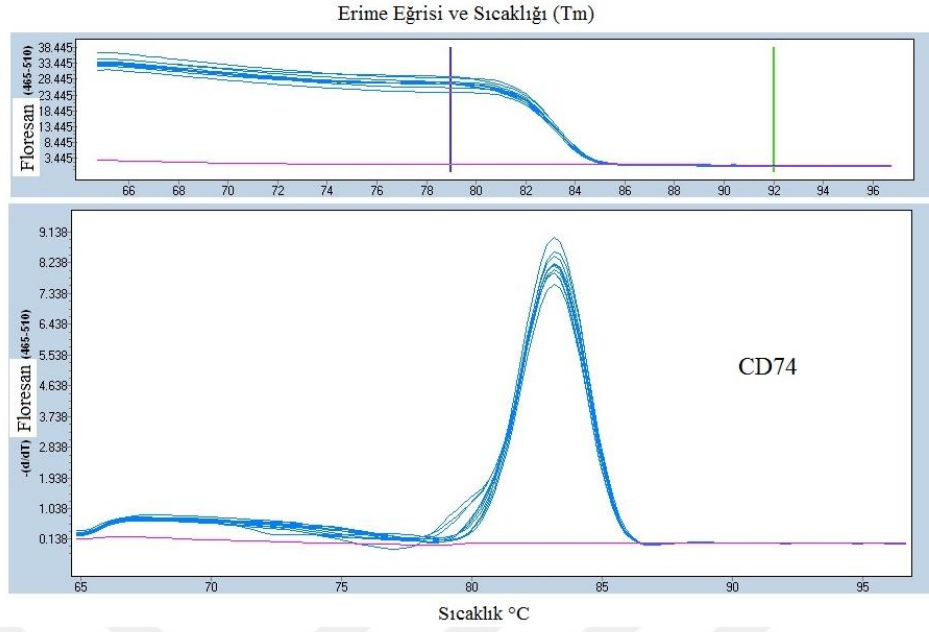
PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 ve UNC45B genlerinin ifade düzeyleri rölatif kantitasyon yöntemiyle incelenmiş ve referans gen (internal kontrol) olarak  $\beta$ -aktin geni kullanılmıştır. Tüm bu gen bölgelerini çoğaltmaya spesifik olan primer dizilerinin tasarlanması aşamasında Ensemble, NCBI, Primer 3, Primer Blast, SNP Check, UCSC in silico PCR, Oligo analyzer (IDT) gibi çeşitli internet programları kullanılmıştır. Primerlerin dizayn edilme aşamasında GC içeriği, primer bağlanma ısısı ( $T_m$ ), primer uzunluğu, primer dimer durumu, primerin bağlanma alanında SNP olmaması ve amplikon uzunluğu gibi özelliklere dikkat edilmiştir. PZR Optimizasyon denemeleri sonucunda bütün primerler için optimum bağlanma (annealing) sıcaklığının 60°C olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-1).



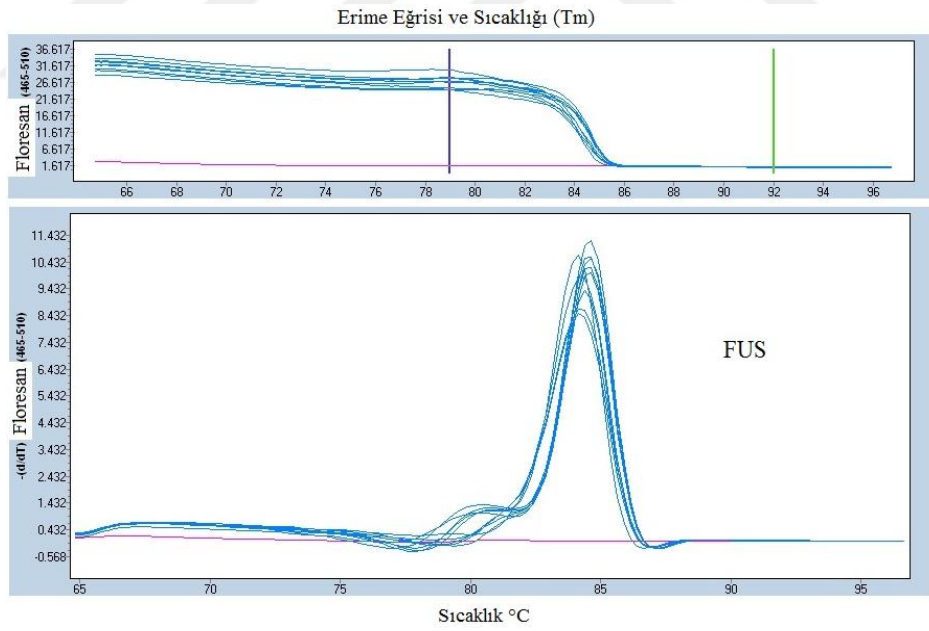
**Şekil 4-1: Optimize edilmiş primerlerin amplikon uzunluklarını gösteren jel görüntüsü.**

\*İlk kuyuda 100 bp Ladder (Gel Pilot- Qiagen) yürütülmüştür.

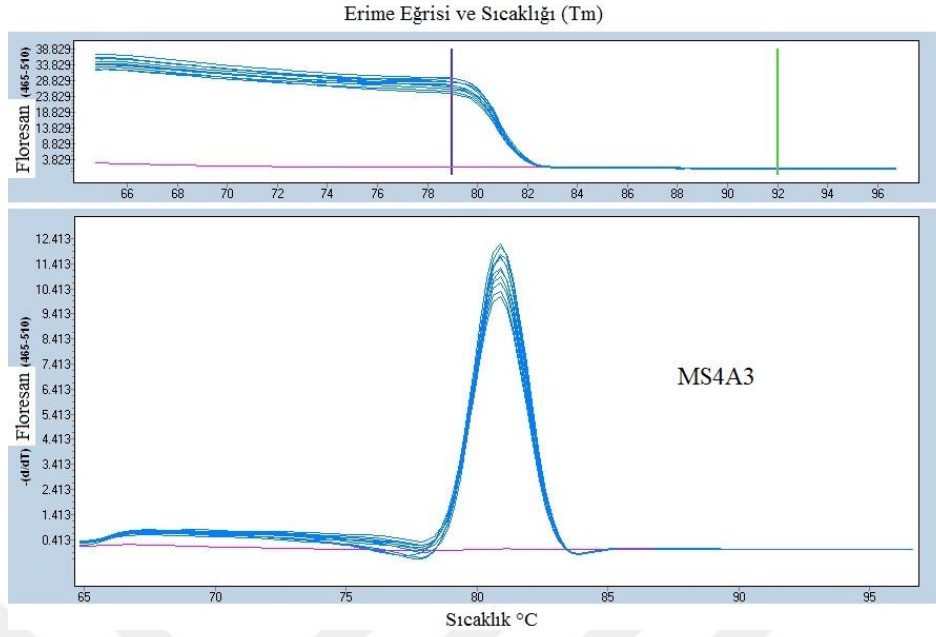
Amplifikasyonun ardından erime eğrisi (melting curve) analizi için uygulanan program 95°C'de 5 saniye, 65°C'de 1 dakika ve 97°C'de sürekli (1 döngü) olacak şekilde uygulanmıştır. SYBR Green gibi çift iplikli DNA'ya bağlanarak ışıma veren floresan boyalar ile yapılan ekspresyon çalışmalarında yanlış bölgelere bağlanma olup olmadığını anlamak için gerçekleştirilen erime eğrisi analizi sonucunda Şekil (4-2), (4-3), (4-4), (4-5), (4-6), (4-7) ve (4-8)'de gösterildiği üzere çalışılan genlere ait non-spesifik bağlanma tespit edilmemiştir. Erime eğrisi analizi için LightCycler Software 4.0'daki 'Melt Curve Genotyping' programı kullanılmıştır.



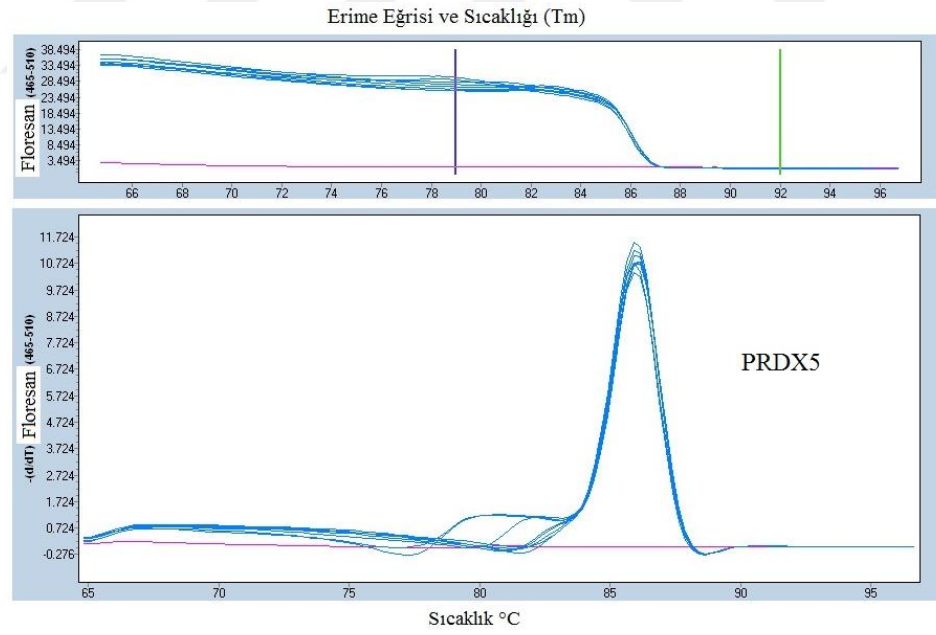
**Şekil 4-2: CD74 genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı**



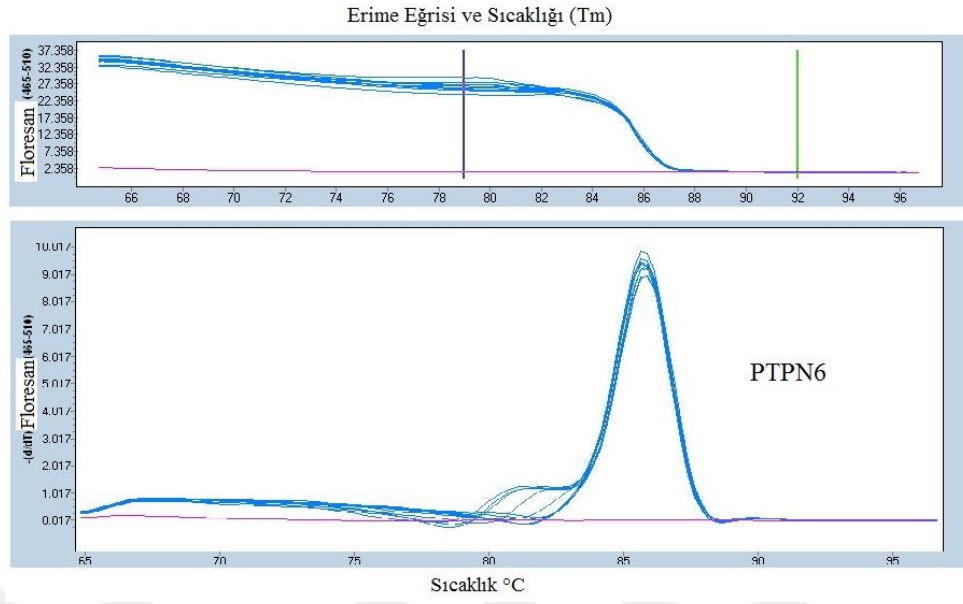
**Şekil 4-3: FUS genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı**



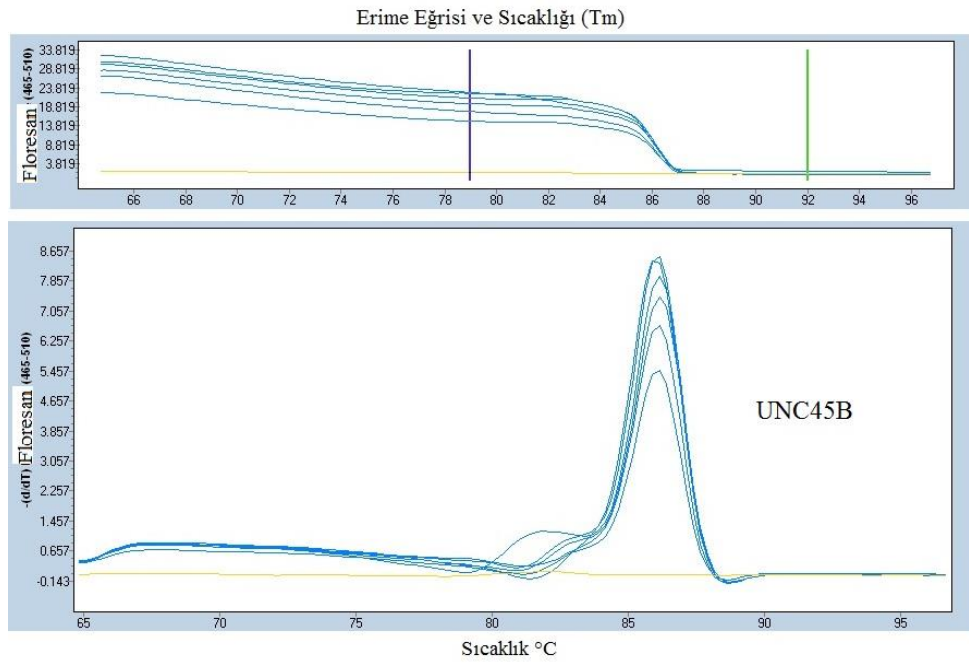
Şekil 4-4: MS4A3 genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı



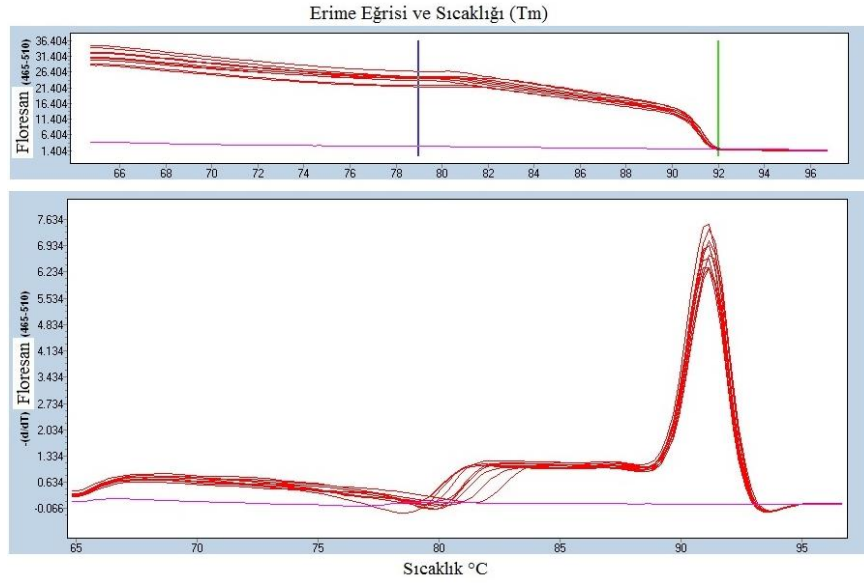
Şekil 4-5: PRDX5 genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı



**Şekil 4-6: PTPN6 genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı**

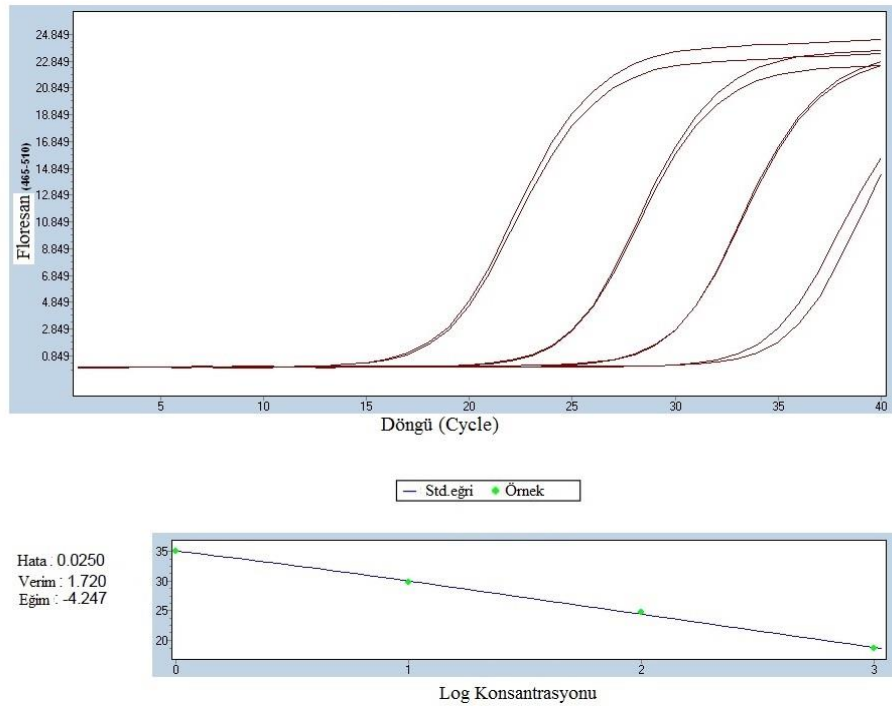


**Şekil 4-7: UNC45B genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı**

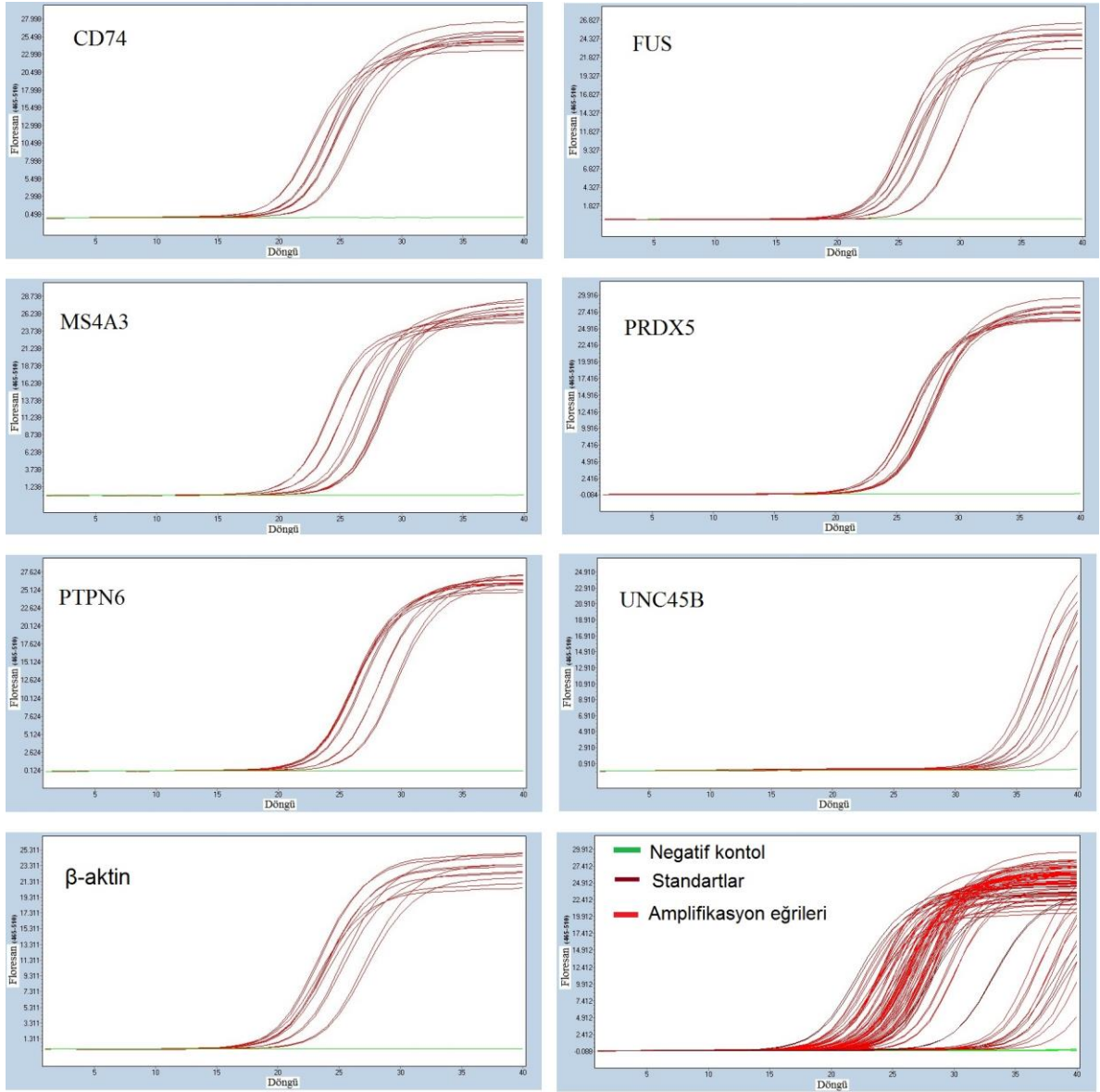


**Şekil 4-8:  $\beta$ -aktin genine ait erime eğrisi ve sıcaklığı**

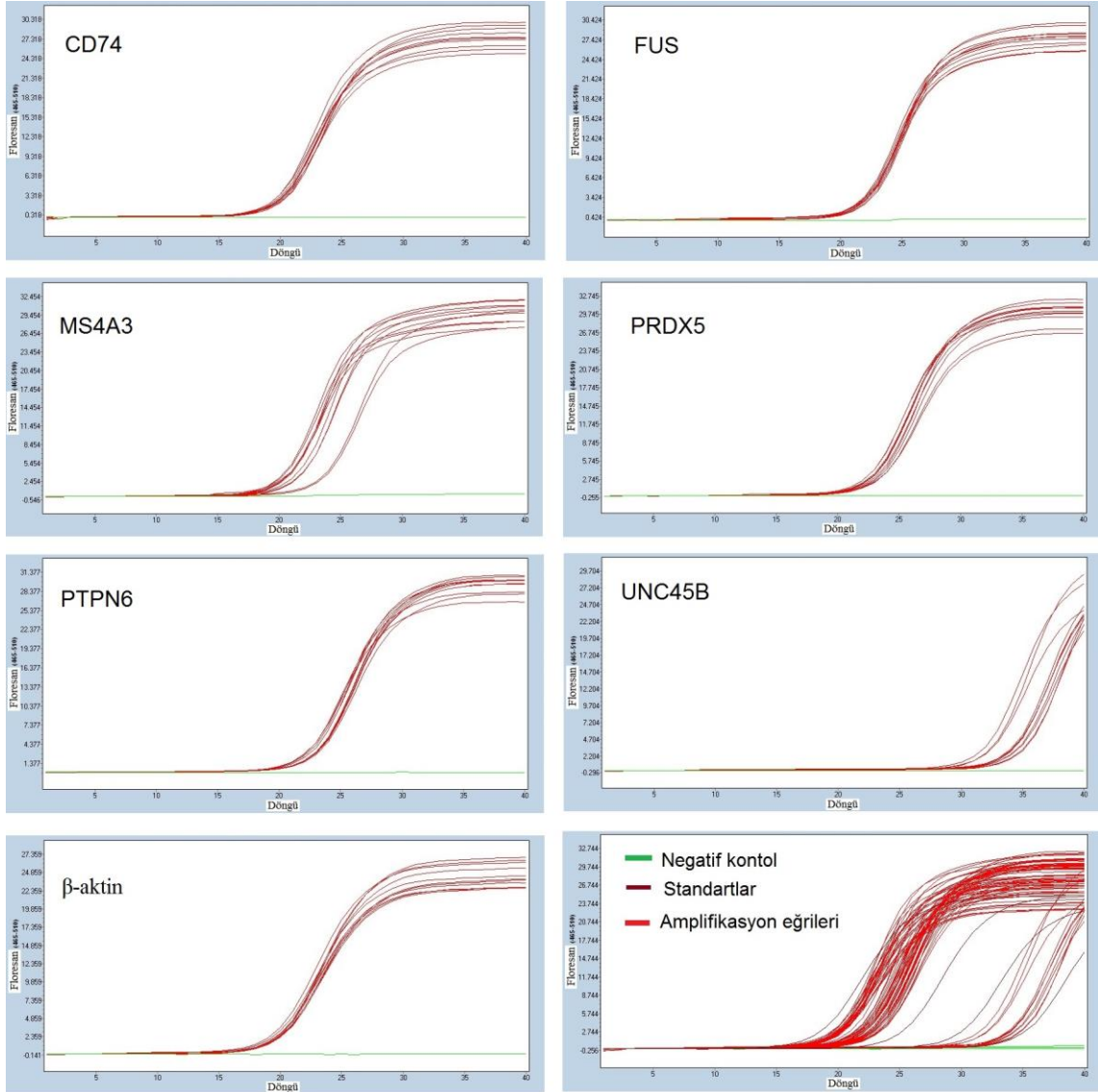
Eş zamanlı PZR analizi Light Cycler 480 (LC480 Real-Time PCR System, Roche Applied Science) cihazı ile yapılmıştır. Analiz LightCycler Software 4.0'daki 'Abs Quant/2nd Derivative Max' programı ile sağlanmıştır. Hedef gen, referans gene oranlanarak  $\Delta\Delta C_t$  hesaplamasıyla normalizasyon gerçekleştirilmiş ve gen anlatım düzeyi analiz edilmiştir. Standart ve çalışılan örnekler için eş zamanlı PZR görüntüleri Şekil 4-9, 4-10, 4-11'de gösterilmiştir.



**Şekil 4-9: Standart kontrollere ait standart eğrisi ve amplifikasyon görüntüleri**



**Şekil 4-10: Hasta grubuna ait amplifikasyon eğrileri**  
(Tek plate görüntüsü)



**Şekil 4-11: Kontrol grubuna ait amplifikasyon eğrileri**

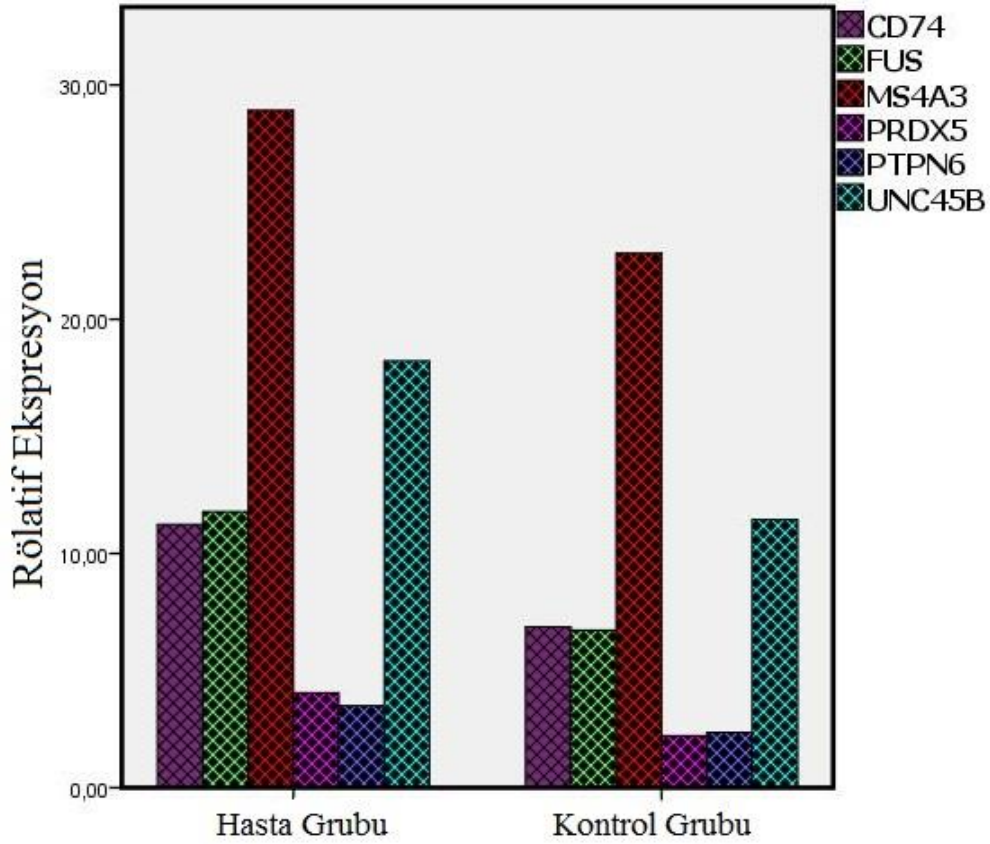
(Tek plate görüntüsü)

Çalışmanın örnek büyüklüğü 50'si hasta (18 kadın, 32 erkek) 16'sı kontrol (sağlıklı donör ve MGUS) (9 kadın, 7 erkek) grubu olmak üzere toplam 66'dır. İncelenen değişkenlerin gruplarına göre normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk normallik testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılımın sağlanmadığı durumda parametrik bir test olan Student t Testi yerine non-parametrik alternatifi olan Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır. p değeri 0,05'ten küçük olan sonuçlar anlamlı sayılmıştır. House-keeping bir gen olan  $\beta$ -aktin geninin internal kontrol olarak kullanılmasıyla ve iki tekrarlı olacak şekilde hem  $\beta$ -aktin geninin hem de diğer ifadesi

araştırılan genlerin çalışılmasıyla elde edilen Ct (cycle threshold) verileri ile  $\Delta\Delta Ct$  değeri hesaplanarak normalize edilmiştir. Elde edilen bu değerin kıyaslanmasıyla rölatif kantitasyon uygulanmıştır. Tablo 4-5 ve Şekil 4-12’de elde edilen ortalama rölatif kantitasyon değerleri ve grafiği gösterilmektedir.

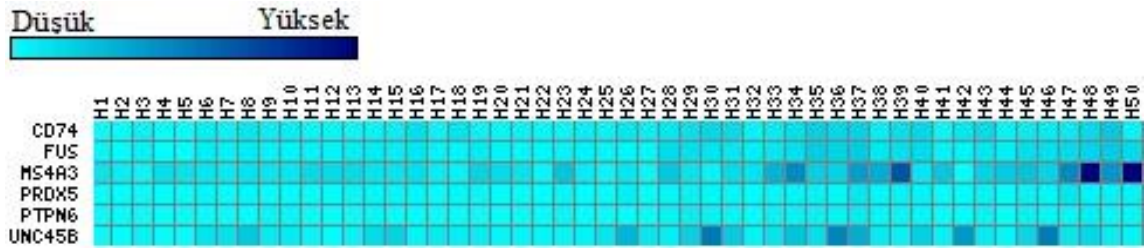
**Tablo 4-5: Hasta ve kontrol örneklerin rölatif ifade karşılaştırma ortalamaları**

|        | <b>Hasta<br/>(Multiple myeloma)</b> | <b>Std. hata</b> | <b>Kontrol<br/>(Sağlıklı Donör+MGUS)</b> | <b>Std. hata</b> |
|--------|-------------------------------------|------------------|------------------------------------------|------------------|
| CD74   | 11,24                               | ± 1,09           | 6,86                                     | ± 0,80           |
| FUS    | 11,78                               | ± 1,12           | 6,73                                     | ± 0,96           |
| MS4A3  | 28,92                               | ± 4,45           | 22,82                                    | ± 3,11           |
| PRDX5  | 4,05                                | ± 0,38           | 2,22                                     | ± 0,18           |
| PTPN6  | 3,50                                | ± 0,29           | 2,36                                     | ± 0,16           |
| UNC45B | 18,22                               | ± 2,78           | 11,44                                    | ± 3,18           |

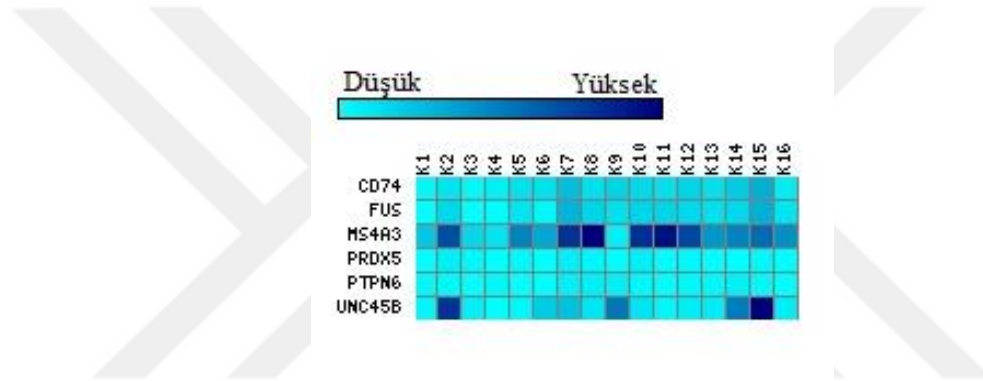


**Şekil 4-12: Ekspresyonu araştırılan genlerin ortalama rölatif kantitasyon verilerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması**

Ekspresyon analizi yapılan genlerin ifade düzeylerinin hasta ve kontrol örneklerdeki heatmap gösterimi için Matrix2png üzerinden cluster histogram görüntüsü oluşturulmuştur (Şekil 4-13 ve 4-14).



Şekil 4-13: Hasta örneklere ait rölatif ekspresyon değerlerinin heatmap gösterimi



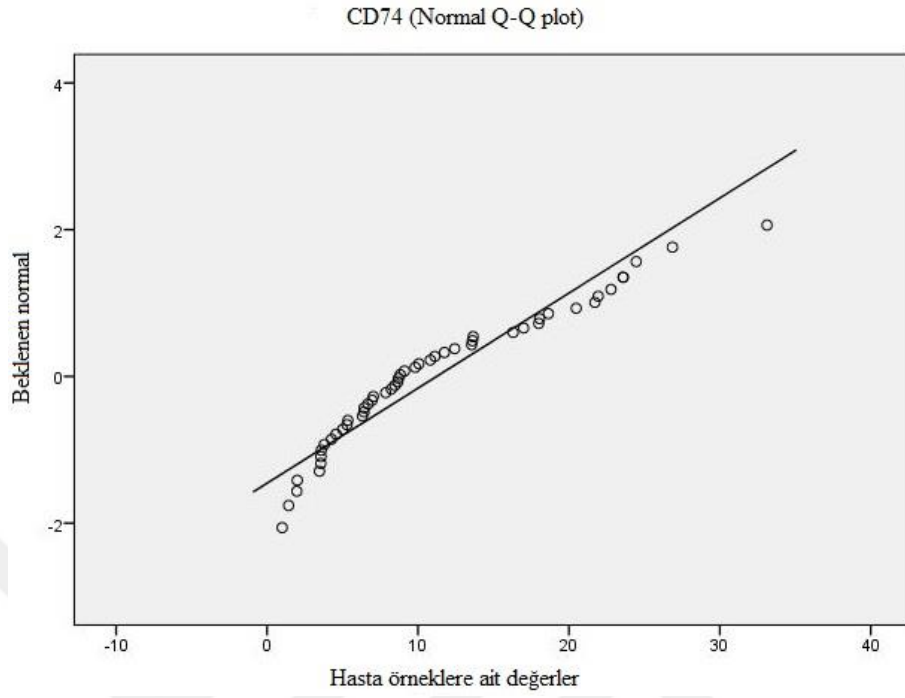
Şekil 4-14: Kontrol örneklere ait rölatif ekspresyon değerlerinin heatmap gösterimi

#### ➤ CD74 genine ait bulgular

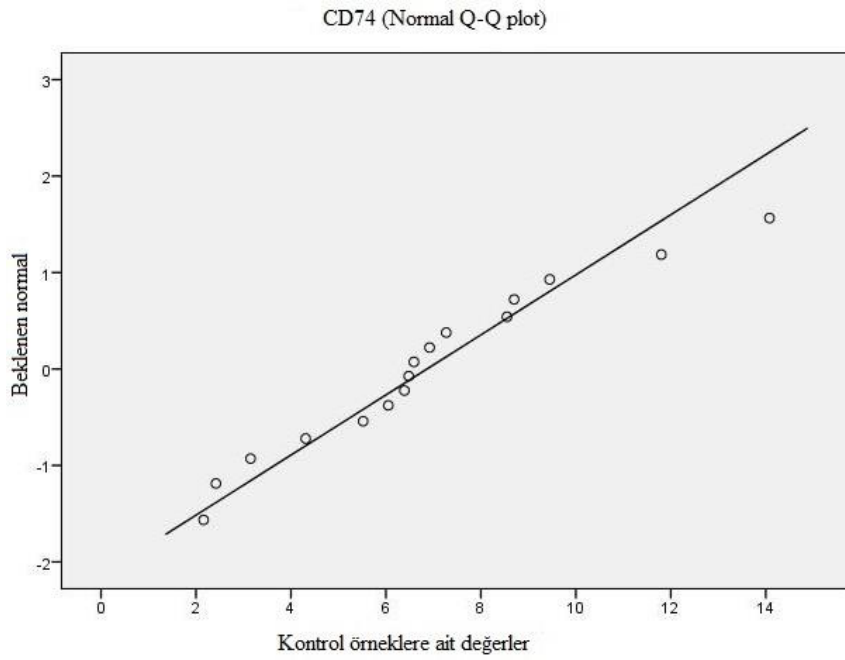
Hasta ve kontrol gruplarına göre CD74 değişkeninin normal dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk normallik Testi ile değerlendirilmiştir (Tablo 4-6). Gruplardan biri normal dağılmadığından ( $p=0,002$ ) Student t Testi yerine non-parametrik alternatifi olan Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının Q-Q grafikleri de test sonuçlarını desteklemektedir (Şekil 4-15 ve 4-16). CD74 gen ekspresyonunun tanımsal istatistiki verileri Tablo 4-7’de belirtilmiştir.

Tablo 4-6: CD74 Normallik Testi

|      |         | Shapiro-Wilk |          |
|------|---------|--------------|----------|
|      |         | İstatistik   | p değeri |
| CD74 | Hasta   | 0,918        | 0,002    |
|      | Kontrol | 0,954        | 0,562    |



**Şekil 4-15: CD74 normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu)**

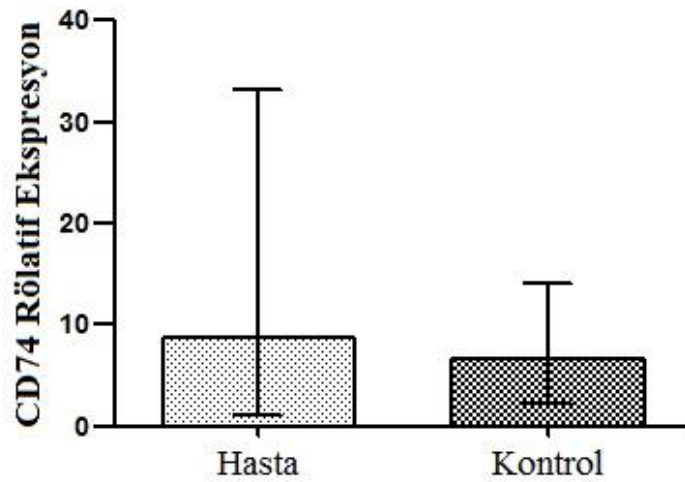


**Şekil 4-16: CD74 normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu)**

**Tablo 4-7: CD74 gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri**

| CD74    |                            |           | İstatistik | Standart Hata |
|---------|----------------------------|-----------|------------|---------------|
| Hasta   | Ortalama                   |           | 11,239     | 1,092         |
|         | Ortalama %95 Güven Aralığı | Alt sınır | 9,045      |               |
|         |                            | Üst Sınır | 13,432     |               |
|         | Standart Sapma             |           | 7,719      |               |
|         | Minimum                    |           | 1,000      |               |
|         | Maksimum                   |           | 33,130     |               |
|         | Medyan                     |           | 8,760      |               |
| Kontrol | Ortalama                   |           | 6,865      | 0,803         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı  | Alt sınır | 5,154      |               |
|         |                            | Üst Sınır | 8,576      |               |
|         | Standart Sapma             |           | 3,211      |               |
|         | Minimum                    |           | 2,160      |               |
|         | Maksimum                   |           | 14,080     |               |
|         | Medyan                     |           | 6,535      |               |

CD74 ifade düzeyi ortalamalarının güven aralıklarının hasta grubunda  $11,239 \pm 1,092$  olduğu kontrol grubunda ise  $6,865 \pm 0,803$  aralığında olduğu, medyan değerlerinin ise hasta grubunda 8,760 kontrol grubunda ise 6,535 olduğu tespit edilmiştir. Mann-Whitney U Testi sonucuna göre 0,071 anlamlılık düzeyinde hasta ve kontrol gruplarının medyan değerlerinin anlamlı şekilde **farklılaşmadığı** saptanmıştır (Şekil 4-17).



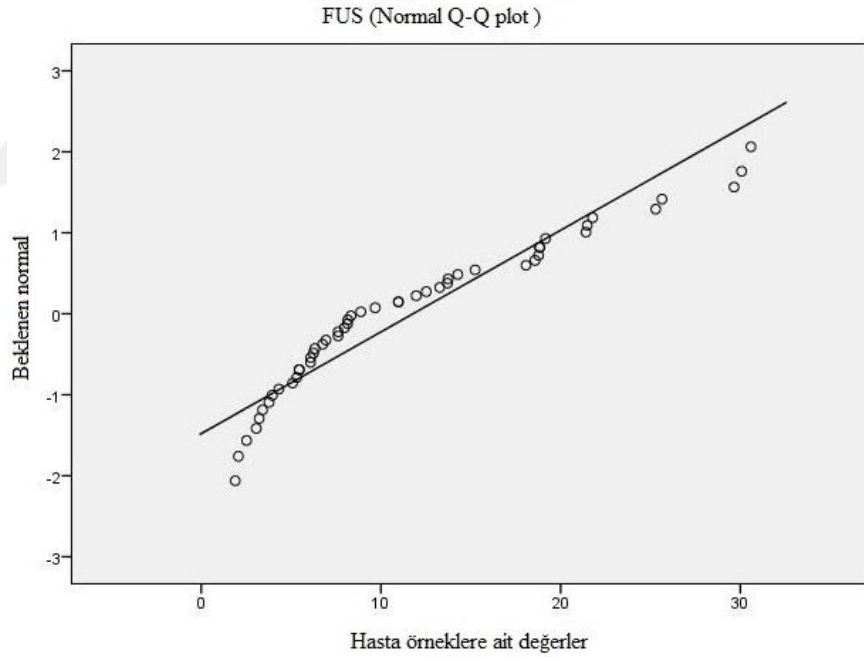
**Şekil 4-17: CD74 ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması**

➤ **FUS genine ait bulgular**

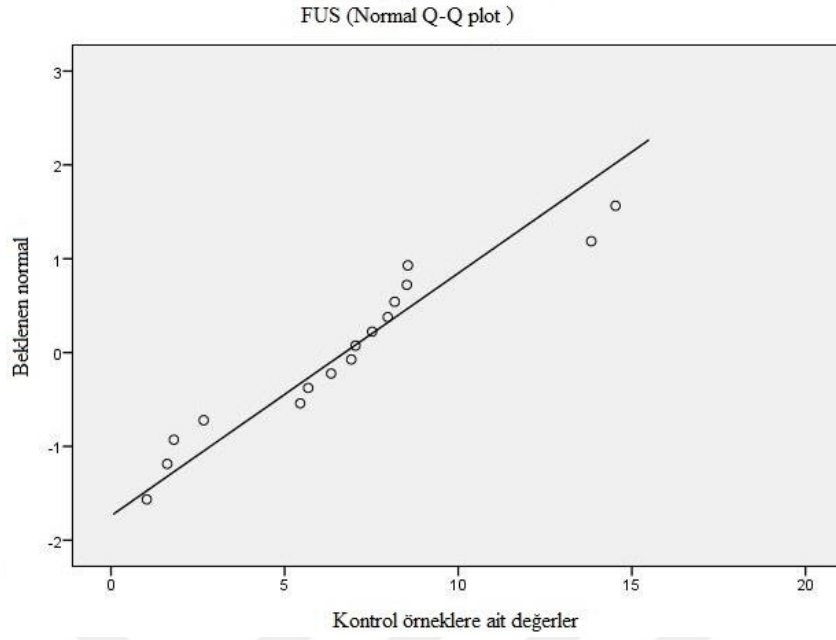
Hasta ve kontrol gruplarına göre FUS değişkeninin normal dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk normallik Testi ile değerlendirilmiştir (Tablo 4-8). Gruplardan biri normal dağılmadığından ( $p=0,001$ ) Student t Testi yerine non-parametrik alternatifi olan Mann-Whitney U Testi kullanılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının Q-Q grafikleri de test sonuçlarını desteklemektedir (Şekil 4-18 ve 4-19). FUS gen ekspresyonunun tanımsal istatistik verileri Tablo 4-9’da belirtilmiştir.

**Tablo 4-8: FUS Normallik Testi**

|     |         | Shapiro-Wilk |          |
|-----|---------|--------------|----------|
|     |         | İstatistik   | p değeri |
| FUS | Hasta   | 0,904        | 0,001    |
|     | Kontrol | 0,921        | 0,175    |



**Şekil 4-18: FUS normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu)**

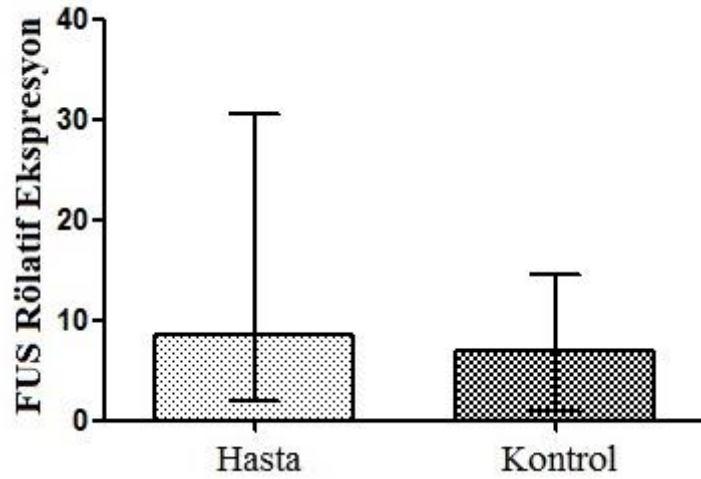


**Şekil 4-19: FUS normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu)**

**Tablo 4-9: FUS gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri**

| FUS     |                           |           | İstatistik | Standart Hata |
|---------|---------------------------|-----------|------------|---------------|
| Hasta   | Ortalama                  |           | 11,782     | 1,126         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 9,519      |               |
|         |                           | Üst Sınır | 14,045     |               |
|         | Standart Sapma            |           | 7,963      |               |
|         | Minimum                   |           | 1,890      |               |
|         | Maksimum                  |           | 30,590     |               |
|         | Medyan                    |           | 8,605      |               |
| Kontrol | Ortalama                  |           | 6,728      | 0,967         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 4,667      |               |
|         |                           | Üst Sınır | 8,789      |               |
|         | Standart Sapma            |           | 3,867      |               |
|         | Minimum                   |           | 1,030      |               |
|         | Maksimum                  |           | 14,530     |               |
|         | Medyan                    |           | 6,980      |               |

FUS ifade düzeyi ortalamalarının güven aralıklarının hasta grubunda  $11,782 \pm 1,126$  olduğu kontrol grubunda ise ortalama  $6,728 \pm 0,967$  aralığında olduğu , medyan değerlerinin ise hasta grubunda 8,605 kontrol grubunda ise 6,980 olduğu tespit edilmiştir. Mann-Whitney U Testi sonucuna göre 0,044 anlamlılık düzeyinde hasta ve kontrol gruplarının medyan değerlerinin anlamlı şekilde **farklılaştığı** saptanmıştır ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4-20).



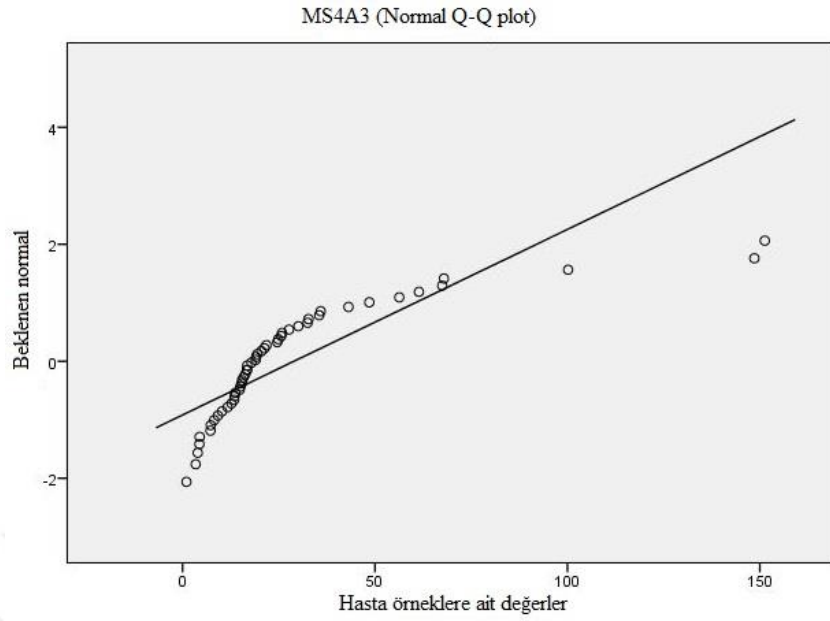
**Şekil 4-20: FUS ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması**

#### ➤ MS4A3 genine ait bulgular

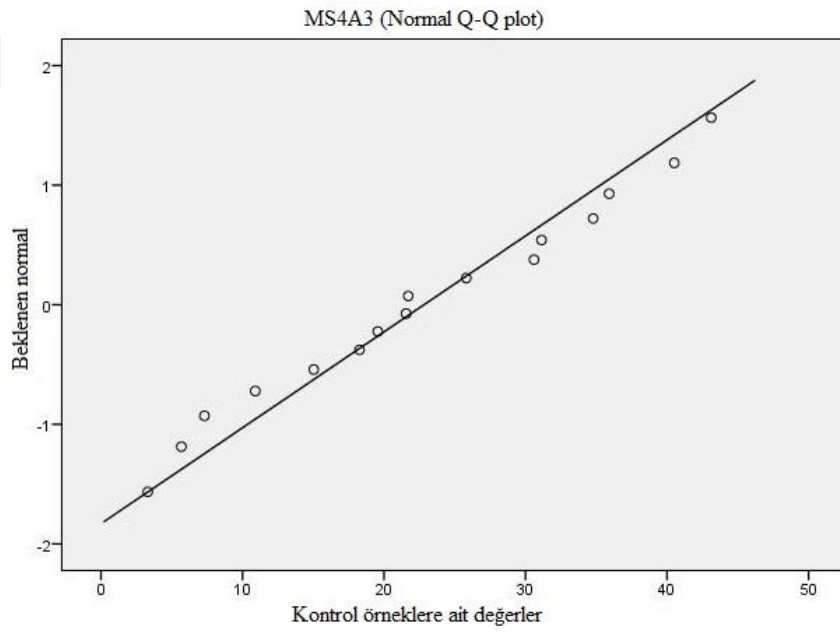
Hasta ve kontrol gruplarına göre MS4A3 değişkeninin normal dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk normallik Testi ile değerlendirilmiştir (Tablo 4-10). Gruplardan biri normal dağılmadığından ( $p=0,000$ ) Student t Testi yerine non-parametrik alternatifi olan Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının Q-Q grafikleri de test sonuçlarını desteklemektedir (Şekil 4-21 ve 4-22). MS4A3 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik verileri Tablo 4-11’de belirtilmiştir.

**Tablo 4-10: MS4A3 Normallik Testi**

|       |         | Shapiro-Wilk |          |
|-------|---------|--------------|----------|
|       |         | İstatistik   | p değeri |
| MS4A3 | Hasta   | 0,677        | 0,000    |
|       | Kontrol | 0,963        | 0,720    |



Şekil 4-21: MS4A3 normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu)

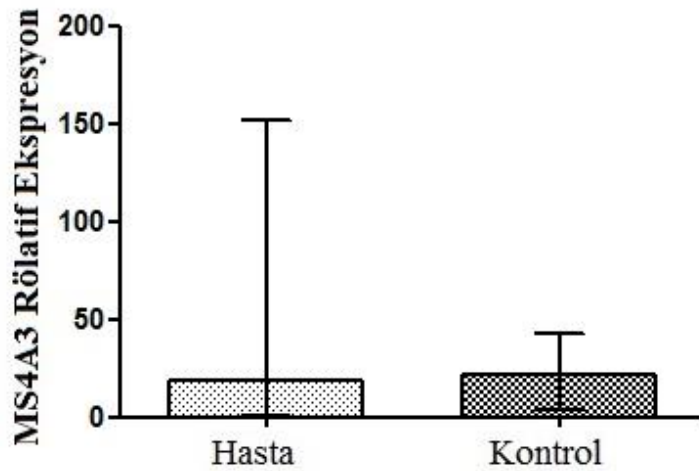


Şekil 4-22: MS4A3 normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu)

**Tablo 4-11: MS4A3 gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri**

| MS4A3   |                           |           | İstatistik | Standart Hata |
|---------|---------------------------|-----------|------------|---------------|
| Hasta   | Ortalama                  |           | 28,924     | 4,458         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 19,965     |               |
|         |                           | Üst Sınır | 37,882     |               |
|         | Standart Sapma            |           | 31,523     |               |
|         | Minimum                   |           | 0,990      |               |
|         | Maksimum                  |           | 151,280    |               |
|         | Medyan                    |           | 18,44      |               |
| Kontrol | Ortalama                  |           | 22,824     | 3,116         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 16,182     |               |
|         |                           | Üst Sınır | 29,465     |               |
|         | Standart Sapma            |           | 12,464     |               |
|         | Minimum                   |           | 3,300      |               |
|         | Maksimum                  |           | 43,120     |               |
|         | Medyan                    |           | 21,64      |               |

MS4A3 ifade düzeyi ortalamalarının güven aralıklarının hasta grubunda  $28,924 \pm 4,458$  olduğu kontrol grubunda ise  $22,824 \pm 3,116$  aralığında olduğu, medyan değerlerinin ise hasta grubunda 18,44 kontrol grubunda ise 21,64 olduğu tespit edilmiştir. Mann-Whitney U Testi sonucuna göre 0,731 anlamlılık düzeyinde hasta ve kontrol gruplarının medyan değerlerinin anlamlı şekilde **farklılaşmadığı** saptanmıştır (Şekil 4-23).



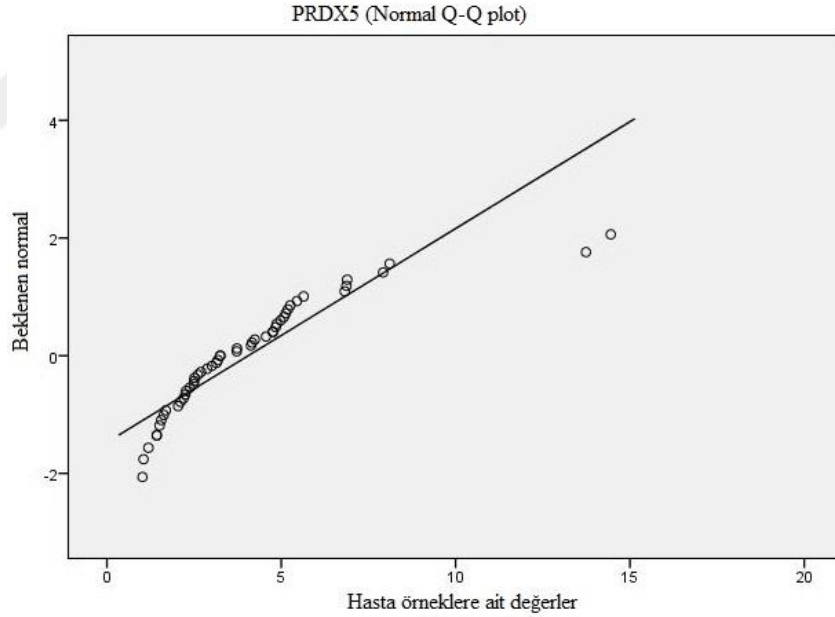
**Şekil 4-23: MS4A3 ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması**

➤ **PRDX5 genine ait bulgular**

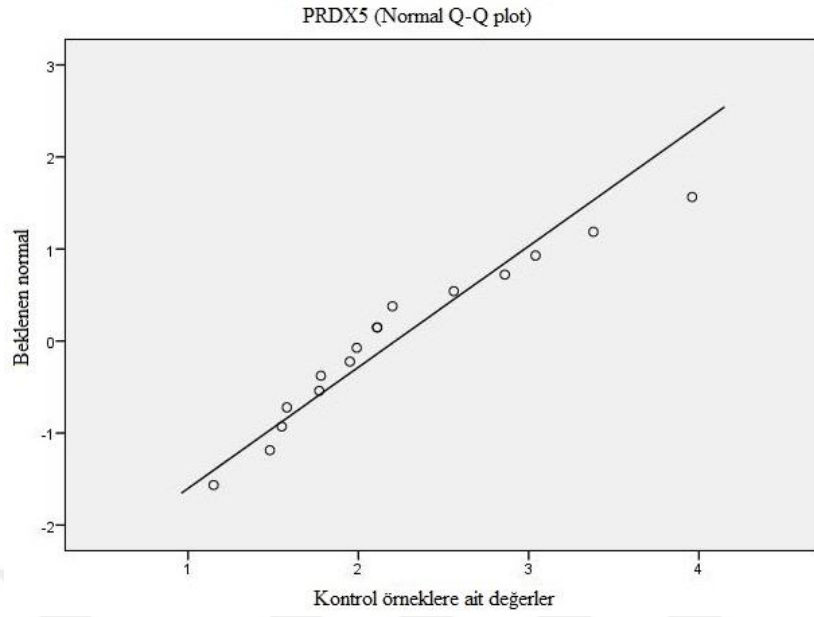
Hasta ve kontrol gruplarına göre PRDX5 değişkeninin normal dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk normallik Testi ile değerlendirilmiştir (Tablo 4-12). Gruplardan biri normal dağılmadığından ( $p=0,000$ ) Student t Testi yerine non-parametrik alternatifi olan Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının Q-Q grafikleri de test sonuçlarını desteklemektedir (Şekil 4-24 ve 4-25). PRDX5 gen ekspresyonunun tanımsal istatistiki verileri Tablo 4-13'te belirtilmiştir.

**Tablo 4-12: PRDX5 Normallik Testi**

|       |         | Shapiro-Wilk |          |
|-------|---------|--------------|----------|
|       |         | İstatistik   | p değeri |
| PRDX5 | Hasta   | 0,809        | 0,000    |
|       | Kontrol | 0,929        | 0,237    |



**Şekil 4-24: PRDX5 normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu)**

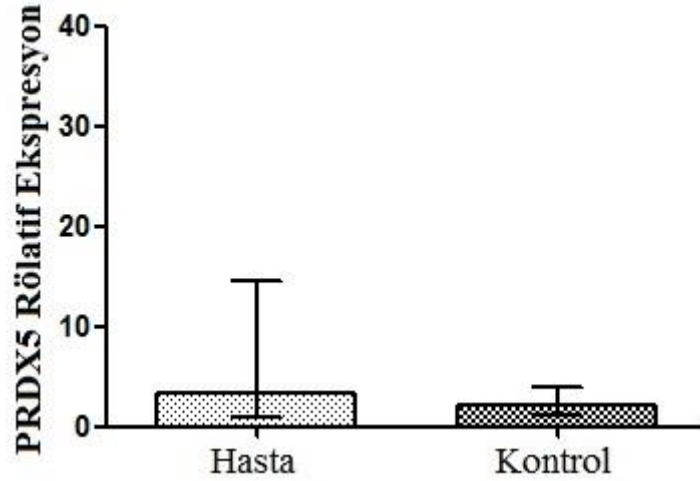


Şekil 4-25: PRDX5 normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu)

Tablo 4-13: PRDX5 gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri

| PRDX5   |                           |           | İstatistik | Standart Hata |
|---------|---------------------------|-----------|------------|---------------|
| Hasta   | Ortalama                  |           | 4,051      | 0,389         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 3,269      |               |
|         |                           | Üst Sınır | 4,834      |               |
|         | Standart Sapma            |           | 2,753      |               |
|         | Minimum                   |           | 1,020      |               |
|         | Maksimum                  |           | 14,450     |               |
|         | Medyan                    |           | 3,250      |               |
| Kontrol | Ortalama                  |           | 2,217      | 0,190         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 1,812      |               |
|         |                           | Üst Sınır | 2,622      |               |
|         | Standart Sapma            |           | 0,760      |               |
|         | Minimum                   |           | 1,150      |               |
|         | Maksimum                  |           | 3,960      |               |
|         | Medyan                    |           | 2,050      |               |

PRDX5 ifade düzeyi ortalamalarının güven aralıklarının hasta grubunda  $4,051 \pm 0,389$  olduğu kontrol grubunda ise  $2,217 \pm 0,190$  aralığında olduğu, medyan değerlerinin ise hasta grubunda 3,250 kontrol grubunda ise 2,050 olduğu tespit edilmiştir. Mann-Whitney U Testi sonucuna göre 0,003 anlamlılık düzeyinde hasta ve kontrol gruplarının medyan değerlerinin anlamlı şekilde **farklılaştığı** saptanmıştır ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4-26).



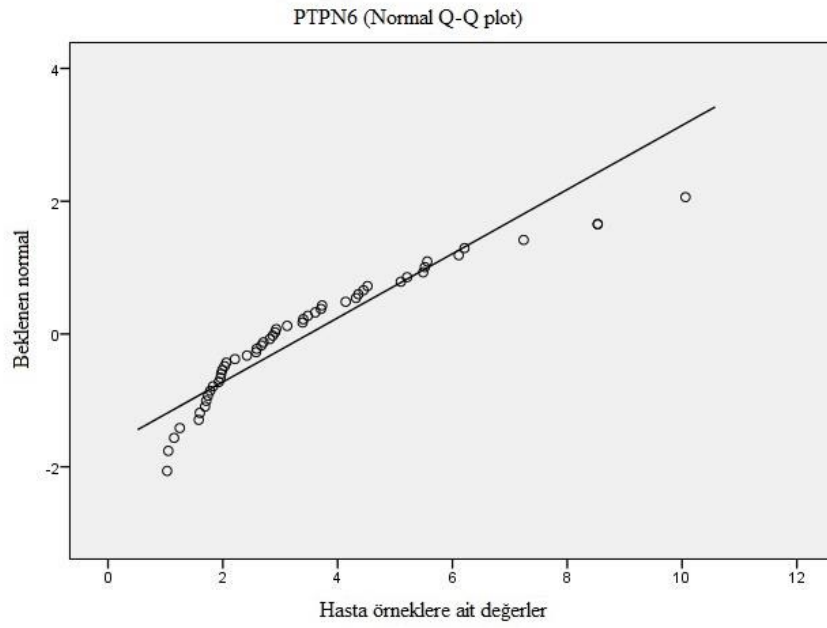
**Şekil 4-26: PRDX5 ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması**

#### ➤ PTPN6 genine ait bulgular

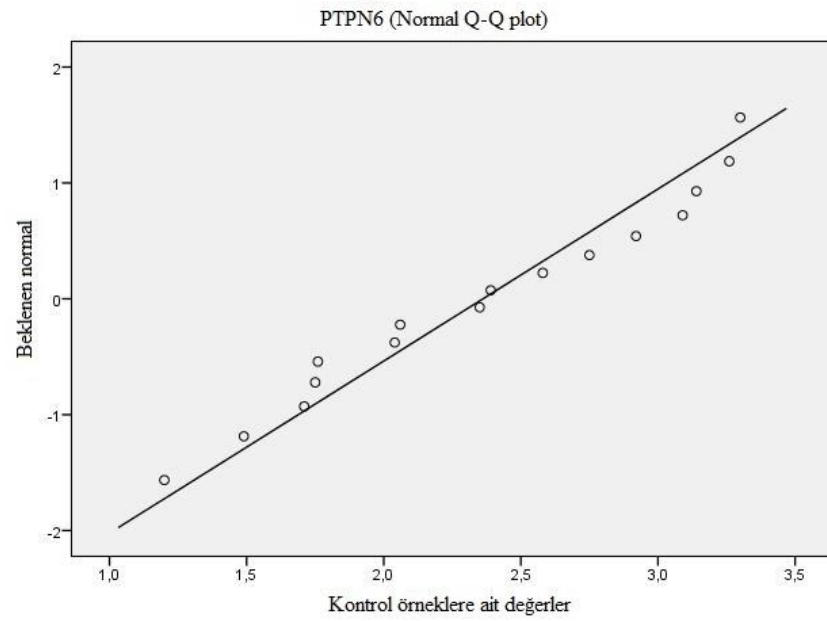
Hasta ve kontrol gruplarına göre PTPN6 değişkeninin normal dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk normallik Testi ile değerlendirilmiştir (Tablo 4-14). Gruplardan biri normal dağılmadığından ( $p=0,000$ ) Student t Testi yerine non-parametrik alternatifi olan Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının Q-Q grafikleri de test sonuçlarını desteklemektedir (Şekil 4-27 ve 4-28). PTPN6 gen ekspresyonun tanımsal istatistiki verileri Tablo 4-15'te belirtilmiştir.

**Tablo 4-14: PTPN6 Normallik Testi**

|       |         | Shapiro-Wilk |          |
|-------|---------|--------------|----------|
|       |         | İstatistik   | p değeri |
| PTPN6 | Hasta   | 0,882        | 0,000    |
|       | Kontrol | 0,945        | 0,421    |



**Şekil 4-27: PTPN6 normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu)**

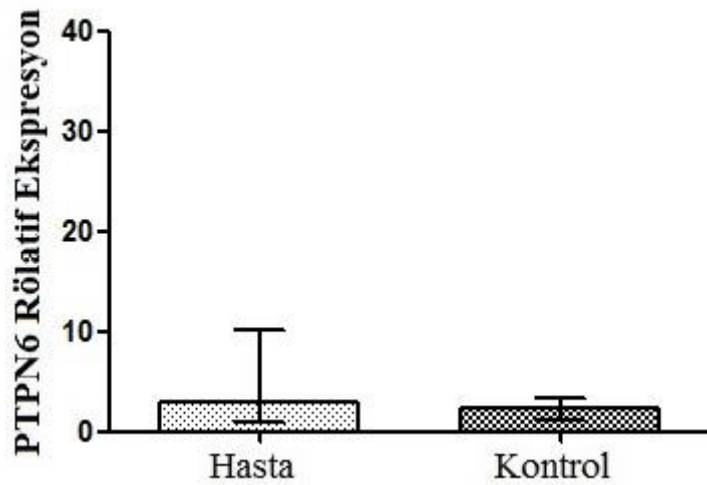


**Şekil 4-28: PTPN6 normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu)**

**Tablo 4-15: PTPN6 gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri**

| PTPN6   |                           |           | İstatistik | Standart Hata |
|---------|---------------------------|-----------|------------|---------------|
| Hasta   | Ortalama                  |           | 3,497      | 0,293         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 2,909      |               |
|         |                           | Üst Sınır | 4,085      |               |
|         | Standart Sapma            |           | 2,070      |               |
|         | Minimum                   |           | 1,030      |               |
|         | Maksimum                  |           | 10,060     |               |
|         | Medyan                    |           | 2,890      |               |
| Kontrol | Ortalama                  |           | 2,362      | 0,168         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 2,003      |               |
|         |                           | Üst Sınır | 2,721      |               |
|         | Standart Sapma            |           | 0,673      |               |
|         | Minimum                   |           | 1,200      |               |
|         | Maksimum                  |           | 3,300      |               |
|         | Medyan                    |           | 2,370      |               |

PTPN6 ifade düzeyi ortalamalarının güven aralıklarının hasta grubunda  $3,497 \pm 0,293$  olduğu kontrol grubunda ise  $2,362 \pm 0,168$  aralığında olduğu, medyan değerlerinin ise hasta grubunda 2,890 kontrol grubunda ise 2,370 olduğu tespit edilmiştir. Mann-Whitney U Testi sonucuna göre 0,074 anlamlılık düzeyinde hasta ve kontrol gruplarının medyan değerlerinin anlamlı şekilde **farklılaşmadığı** saptanmıştır (Şekil 4-29).



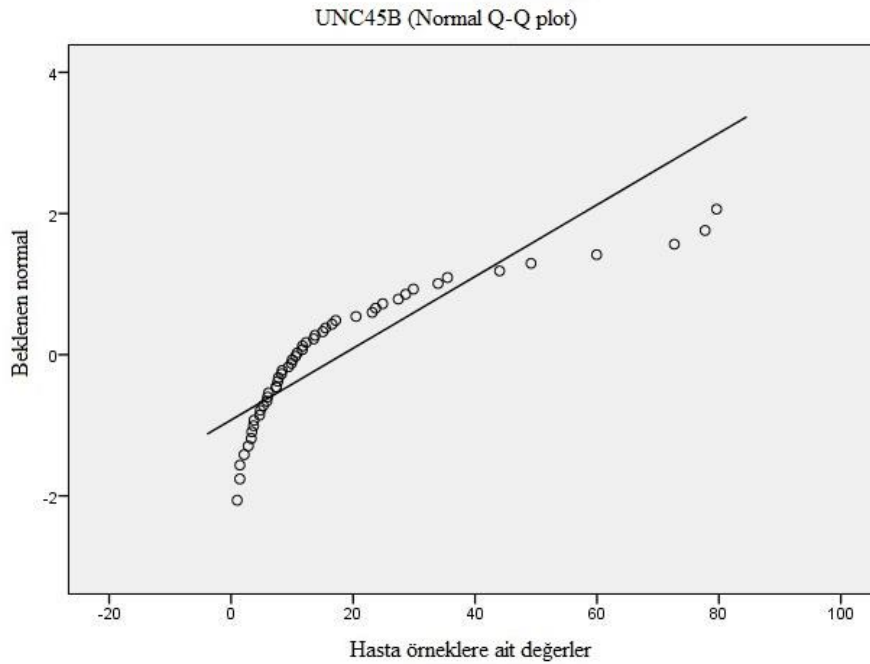
**Şekil 4-29: PTPN6 ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması**

➤ **UNC45B genine ait bulgular**

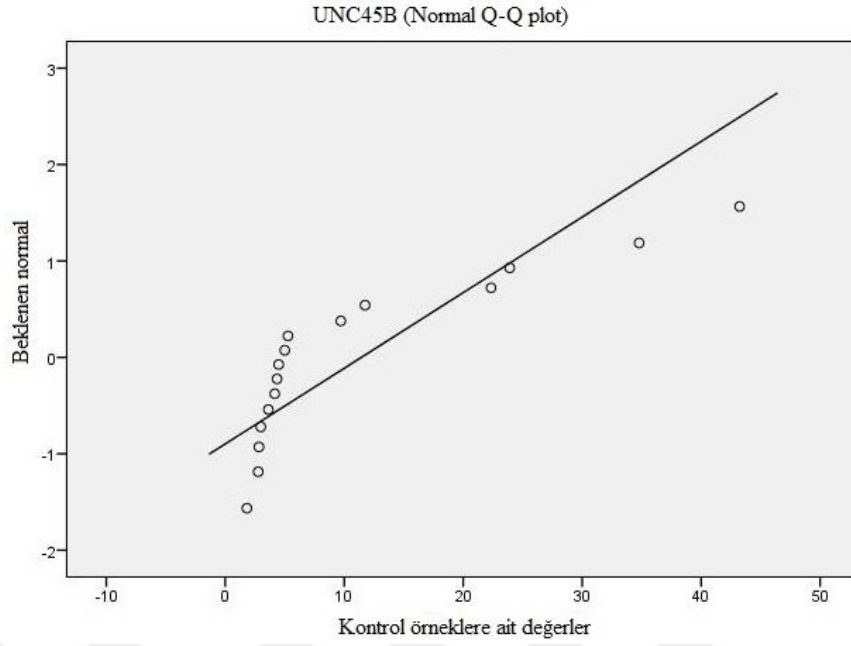
Hasta ve kontrol gruplarına göre UNC45B değişkeninin normal dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk normallik Testi ile değerlendirilmiştir (Tablo 4-16). Gruplar normal dağılmadığından ( $p=0,000$ ) Student t Testi yerine non-parametrik alternatifi olan Mann-Whitney U Testi uygulanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının Q-Q grafikleri de test sonuçlarını desteklemektedir (Şekil 4-30 ve 4-31). UNC45B gen ekspresyonunun tanımsal istatistiki verileri Tablo 4-17’de belirtilmiştir.

**Tablo 4-16: UNC45B Normallik Testi**

|        |         | Shapiro-Wilk |          |
|--------|---------|--------------|----------|
|        |         | İstatistik   | p değeri |
| UNC45B | Hasta   | 0,753        | 0,000    |
|        | Kontrol | 0,735        | 0,000    |



**Şekil 4-30: UNC45B normal Q plot görüntüsü (Hasta grubu)**

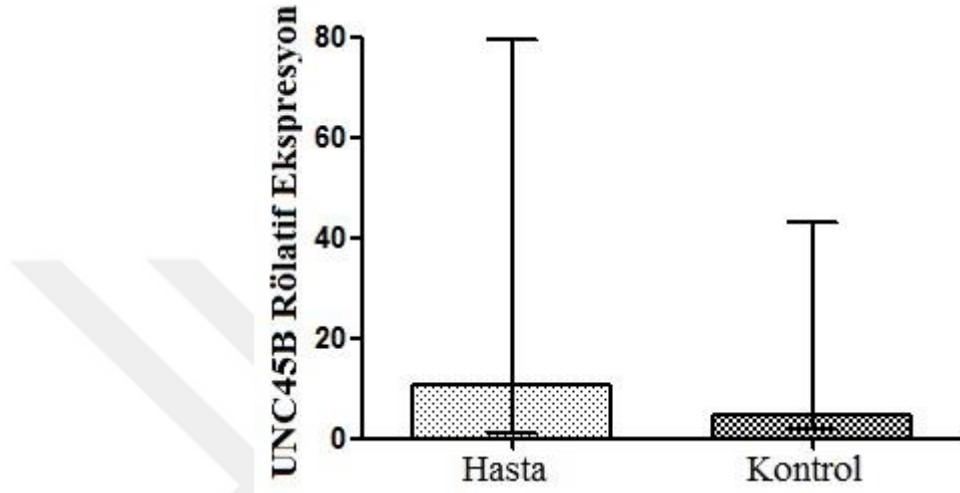


**Şekil 4-31: UNC45B normal Q plot görüntüsü (Kontrol grubu)**

**Tablo 4-17: UNC45B gen ekspresyonunun tanımsal istatistikleri**

| UNC45B  |                           |           | İstatistik | Standart Hata |
|---------|---------------------------|-----------|------------|---------------|
| Hasta   | Ortalama                  |           | 18,220     | 2,784         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 12,626     |               |
|         |                           | Üst Sınır | 23,814     |               |
|         | Standart Sapma            |           | 19,683     |               |
|         | Minimum                   |           | 1,000      |               |
|         | Maksimum                  |           | 79,620     |               |
|         | Medyan                    |           | 10,71      |               |
| Kontrol | Ortalama                  |           | 11,439     | 3,188         |
|         | Ortalama%95 Güven Aralığı | Alt sınır | 4,645      |               |
|         |                           | Üst Sınır | 18,234     |               |
|         | Standart Sapma            |           | 12,751     |               |
|         | Minimum                   |           | 1,820      |               |
|         | Maksimum                  |           | 43,230     |               |
|         | Medyan                    |           | 4,745      |               |

UNC45B ifade düzeyinin hasta örneklerde ortalama  $18,220 \pm 2,784$  olduğu kontrol örneklerde ise ortalama  $11,439 \pm 3,188$  olduğu, medyan değerlerinin ise hasta grubunda 10,71 kontrol grubunda ise 4,745 olduğu tespit edilmiştir. Mann-Whitney U Testi sonucuna göre 0,085 anlamlılık düzeyinde hasta ve kontrol gruplarının medyan değerlerinin anlamlı şekilde **farklılaşmadığı** saptanmıştır (Şekil 4-32).



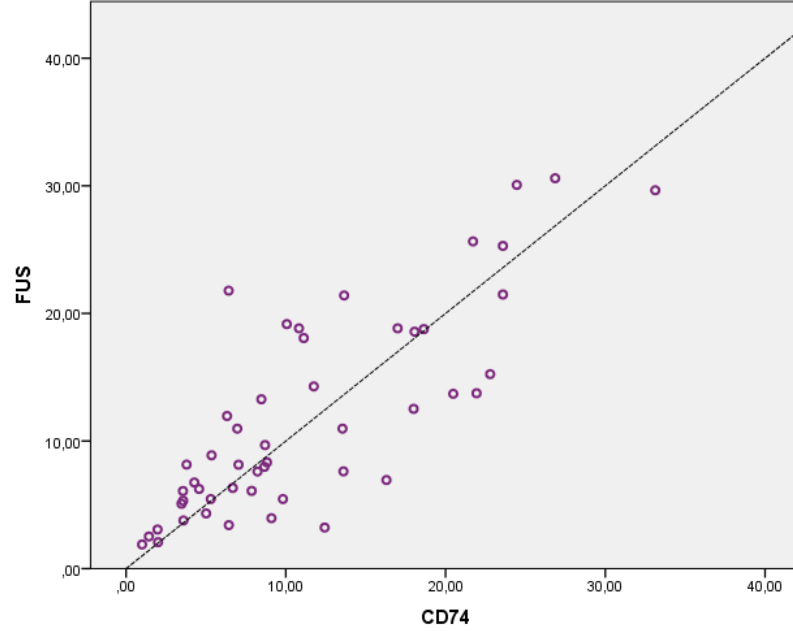
Şekil 4-32: UNC45B ekspresyonlarının medyan değerlerinin hasta ve kontrol örneklerde karşılaştırılması

#### 4.4. Pearson Korelasyonu Analiz Bulguları

Tezde çalışılan hasta grubu için ekspresyonu araştırılan tüm genler arasındaki ilişki Pearson Korelasyon katsayıları hesaplanarak incelenmiş ve test edilmiştir. Pearson Korelasyon tablosunda orta ve yüksek düzeyde güçlü ve anlamlı ( $p < 0,05$ ) korelasyon katsayıları koyu renkle işaretlenerek gösterilmiştir (Tablo 4-18).

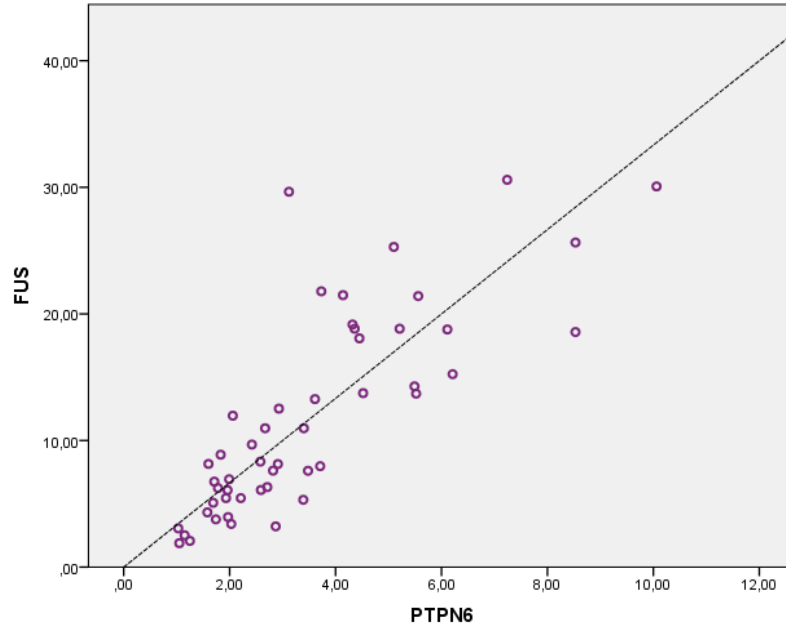


- CD74 ile FUS genleri arasındaki korelasyon katsayısı ‘0,806’ olarak tespit edilmiş olup bu iki gen arasında 0,000 anlamlılık düzeyinde güçlü bir doğrusal ilişki saptanmıştır ( $r=0,806$ ) (Şekil 4-33).



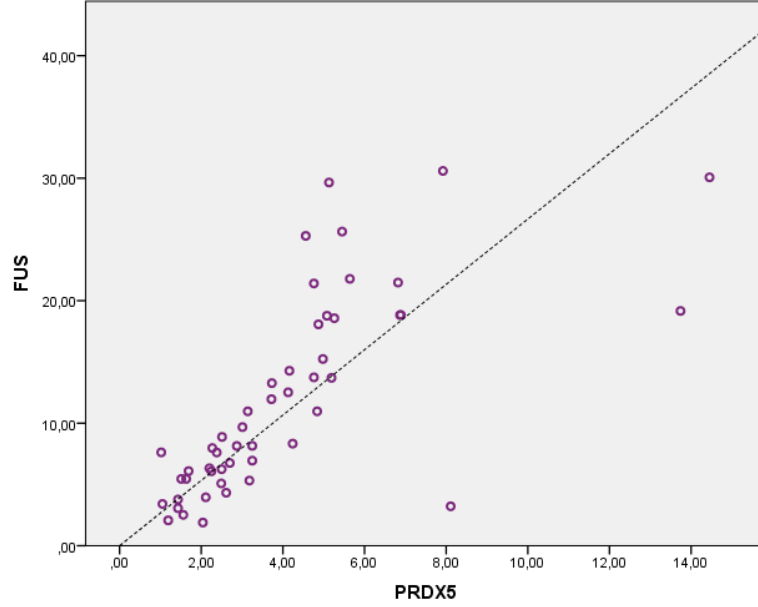
**Şekil 4-33: Hasta örneklerde CD74-FUS serpilme diyagramı gösterimi**

- PTPN6 ile FUS genleri arasındaki korelasyon katsayısı ‘0,805’ olarak tespit edilmiş olup bu iki gen arasında 0,000 anlamlılık düzeyinde güçlü bir doğrusal ilişki bulunmaktadır ( $r=0,805$ ) (Şekil 4-34).



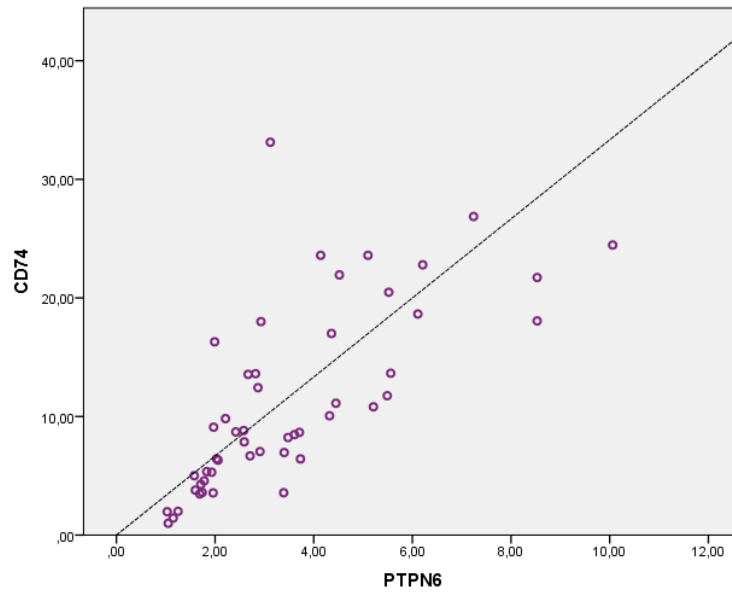
**Şekil 4-34: Hasta örneklerde PTPN6-FUS serpilme diyagramı gösterimi**

- PRDX5 ile FUS genleri arasındaki korelasyon katsayısı ‘0,715’ olarak tespit edilmiş olup bu iki gen arasında 0,000 anlamlılık düzeyinde orta derece doğrusal bir ilişki bulunmaktadır ( $r=0,715$ ) (Şekil 4-35).



**Şekil 4-35: Hasta örneklerde PRDX5-FUS serpilme diyagramı gösterimi**

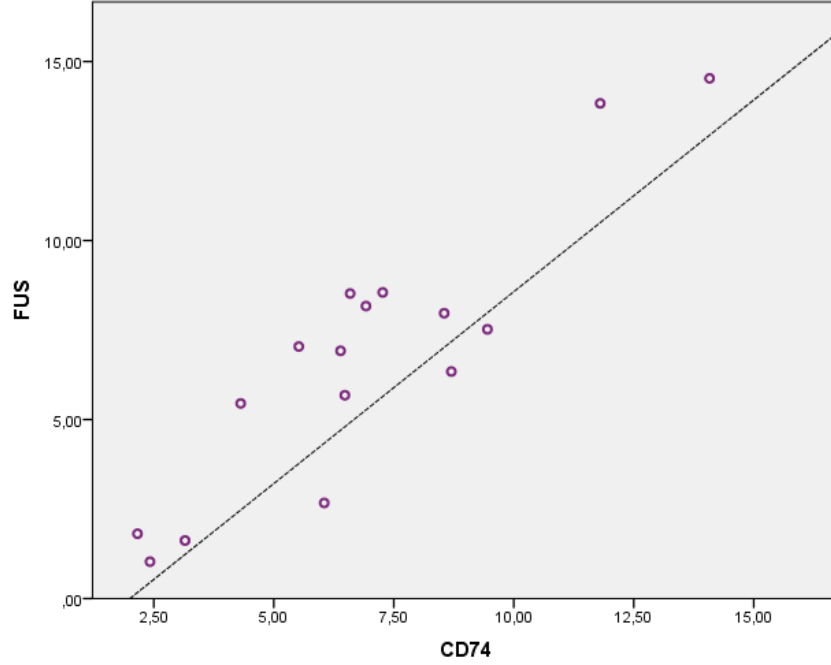
- PTPN6 ile CD74 genleri arasındaki korelasyon katsayısı ‘0,713’ olarak tespit edilmiş olup bu iki gen arasında 0,000 anlamlılık düzeyinde orta derece doğrusal bir ilişki bulunmaktadır ( $r=0,713$ ) (Şekil 4-36).



**Şekil 4-36: Hasta örneklerde PTPN6-CD74 serpilme diyagramı gösterimi**



Sonuç olarak; CD74 ile FUS genleri arasındaki korelasyon katsayısı ‘0,907’ olarak tespit edilmiş olup bu iki gen arasında 0,000 anlamlılık düzeyinde güçlü bir doğrusal ilişki bulunmaktadır ( $r=0,907$ ) (Şekil 4-37).

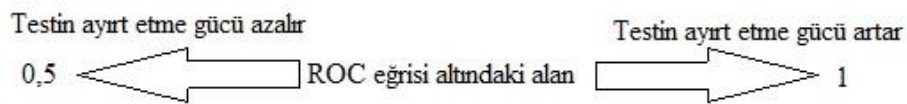


Şekil 4-37: Kontrol örneklerde CD74-FUS serpilme diyagramı gösterimi

#### 4.5. ROC Analizi Bulguları

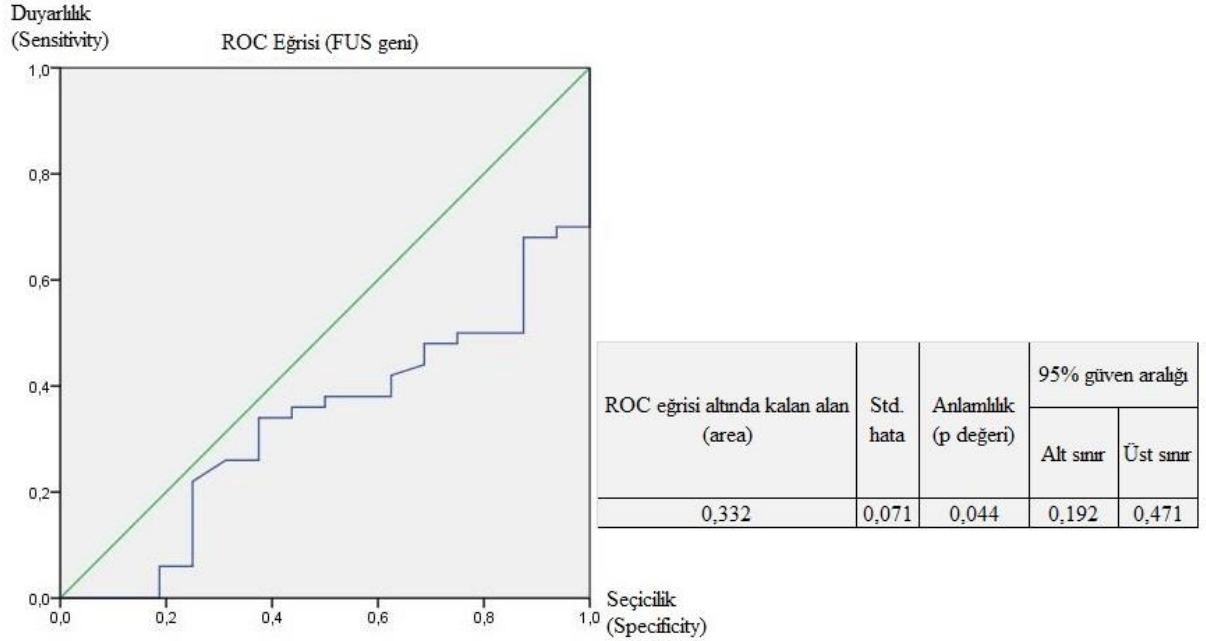
Ekspresyon seviyesi açısından hasta ve kontrol örnekler arasında anlamlı ( $p<0,05$ ) farklılık olduğu tespit edilen FUS ve PRDX5 genleri için multiple myeloma açısından testin ayırt etme gücünü belirlemeye yönelik ROC analizi yapılmıştır.

ROC eğrisinde ‘area’ olarak belirtilen ve ROC eğrisinin alt kısmında kalan alan ne kadar büyükse testin ayırt etme gücü o kadar artmaktadır.

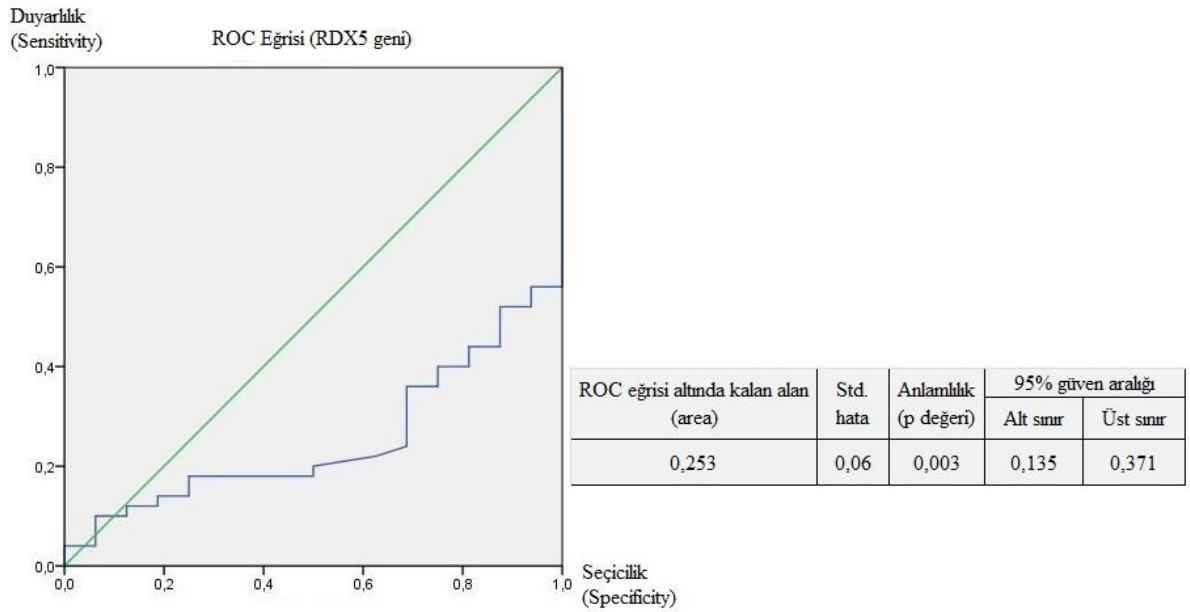


ROC analiziyle elde edilen bulgulara göre hem FUS geni (area=0,332 ;  $p=0,044$ ) (Şekil 4-38) hem de PRDX5 geni (area=0,253 ;  $p=0,003$ ) (Şekil 4-39) kullanılarak yapılan testlerin anlamlı ( $p<0,05$ ) olduğu fakat tanı koyma güçlerinin zayıf olduğu tespit edilmiştir.

Testlerde anlamlı çıkan genlerin, X eksenini bir eksi seçicilik Y eksenini de duyarlılık oranlarından oluşan ROC eğrisine göre tanı gücünün düşük olarak saptanmasının hasta ve kontrol grubundaki birim sayıları arasındaki dengesizlikten kaynaklandığı düşünülmektedir. Kontrol grubunun birim sayısı arttığında ROC eğrisi altında kalan alanın da büyüyeceği öngörülmektedir.



Şekil 4-38: FUS geni ROC eğrisi ve analizi verileri



Şekil 4-39: PRDX5 geni ROC eğrisi ve analizi verileri

## 5. TARTIŞMA

Birçok kanserde sadece kanserli hücreyi hedeflemek yeterli olamamakta ve beraberinde mikroçevreye özgü değişikliklerin de hedeflenmesini gerektirmektedir. Tedavi aşamasında kemik iliği mikroçevresinin etkilerinin de göz önünde bulundurularak çözüm uygulamayı gerektiren hastalıklar arasında yer alan multiple myeloma ile ilgili tedavide hedeflenebilecek aday gen arayışı güncel araştırma alanları arasındadır [237]. Yeni nesil teknikler kullanılarak çalışılan tüm genom dizileme, tüm ekzom dizileme, RNA transkriptom gibi çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin tedavi açısından yeni stratejik gelişmelere ön ayak olmasıyla klinikte hastalığın daha iyi bir şekilde yönetimi sağlanabilir [238]. Bu yüzden kansere özgü markerların (belirteçlerin) tanı ve tedavi takibinde kullanımı da klinik açısından bilgilendirici bir unsur olup hastalıklara özgü yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine katkı sağlayacağından dolayı oldukça önemlidir [239]. Bu tez projesinde; multiple myeloma transkriptom dasetinin değerdendirilmesi sonucu PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 ve UNC45B genlerinin ekspresyon düzeylerinin tüm kemik iliği aspiratından elde edilen materyalde qRT-PZR tekniğıyle de konfirme edilerek hastalık patogeneindeki rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.

T ve B hücre gelişiminde rolü olan CD74'ün çeşitli inflamatuvar hastalıklarda (tip I diyabet, karaciğer fibrozisi, ve Alzheimer vb.) ve kalp iskemisi gibi durumlarda da ekspresyonunun arttığı bilinmektedir. Bu sebeple CD74 ekspresyonunun prognostik faktör olarak malign hastalıklarda kullanılabileceğı düşünölmüştür [240, 241]. Tümörün klinik açıdan agresifliğı ve artmış malign özellik taşıması ile CD74 ekspresyonunun ilişkili olduğı bildirilmiştir [242]. Normal B hücrelerinde görölen CD74 ekspresyonu, Hodgkin Reed-Sternberg hücreleri gibi malign B hücrelerinde ve non-hematolojik tümör hücrelerinde de bildirilmiştir [243]. Bazı insan karsinom hücre hatlarında (akciğer, kolon, böbrek ve yumurtalık kaynaklı) düşük seviyede CD74 ekspresyonu gözlenirken, bazı melanom hücre hatlarının ise orta seviyede CD74 eksprese ettiğı bildirilmiştir [129]. Tümör progresyonunda rolü olduğı bilinen ancak hasta sağkalımında direkt etkili bir faktör olup olmadığı henüz tam olarak bilinmeyen CD74 ile ilgili Choi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 3 mesane kanseri hücre hattında (BJAB, T24ve 5637) CD74 ekspresyonu western blot analiziyle araştırılmıştır. CD74 ekspresyonunun BJAB hücre hattında anlamlı sevide olduğı ancak T24 ve

5637'de ise neredeyse yok olduğu bildirilmiştir ve aynı çalışmada 3 hücre hattında da CD74 ligandı olan MIF'ın yüksek ekspresyonunun gözlemlendiği belirtilmiştir [243]. CD74 ekspresyonu, malign gastrointestinal sistem hücrelerinde ve pankreas kanserinde normal hücrelerdekine kıyasla anlamlı düzeyde artmış olarak bildirilmiştir [244]. Lenfoma hücrelerinde CD74 ifadesindeki azalmanın hücre yüzeyindeki Fas reseptör ifadesini ve kaspaz 3 ile 8'in aktivitesini arttırdığı bu yolla FasL ilişkili hücre ölümüne karşı hassasiyetin arttığı bildirilmiştir bu durum CD74 hedeflenerek hematolojik hastalıklarda yeni tedavi rejimleri geliştirilebileceğini düşündürmüştür [245]. Solid tümörlerde yüksek ekspresyona sahip olan, p53 fonksiyonunu inhibe edebilen ve tümör progresyonunda önemli rol oynadığı bilinen makrofaj migrasyon inhibitör faktörü (MIF) için CD74'ün önemli bir reseptör olduğu bildirilmiştir [246]. Multiple myeloma için immünoterapötik ajan olarak milatuzumab (anti-CD74 antikoru) geliştirilmiş ve hastalığın stabilize edilmesinde başka ilaçlarla kombine olarak kullanılabileceği önerilmiştir [113]. Milatuzumab'ın kronik lenfositik lösemide hücre ölümünü belirgin bir şekilde uyardığı bildirilmiştir [247]. MM hastalarında, milatuzumab'ın elotuzumab gibi diğer antikorlardan daha az immünojenik etkisi olduğu bildirilmiştir [248]. Bu immünoterapötik ajanın CD74'e bağlanmasıyla B hücre proliferasyonu ile migrasyon ve adezyon molekülü ekspresyonlarının değişime uğraması söz konusu olmakla birlikte tümörel hücrelerde CD74 ekspresyonu artarak anti tümöral etki tetiklenmektedir [249, 250].

Hematopoetik sistemde hücre yenilenmesi ve farklılaşmasında belli bir homeostaz sağlanabilmesi için hücre döngüsünün her basamakta normal şekilde ilerlemesi önem taşımaktadır [161]. Hematopoietik hücrelerde negatif hücre döngüsü düzenleyicisi olan MS4A3 ekspresyonundaki aşırı artışın hücreyi G0/G1 fazında tutmasına neden olabileceği önerilmiştir. MS4A3 geninin eksprese olduğu hücrelerde hücre döngüsünde G1'den S fazına geçişin modülasyonunda, CDK2 (siklin bağımlı kinaz 2) ile siklin-A'nın fosforilasyon seviyesinin düzenlenmesinde ve KAP-CDK2 kompleksine bağlanarak CDK bağımlı fosfataz'ın (KAP'ın) fosfataz aktivitesinin arttırılmasında görevi olduğu belirlenmiştir [159, 160, 165, 251, 252]. Böylece CDK2 defosforilasyonu sonucu KAP aktivitesi arttırılarak hücre döngüsü durdurulmaktadır [251]. Literatürde MS4A3'ün ifadesindeki artışın hücre bölünmesinde G0/G1 evresinde duraksama yaşanmasına yol açtığı bildirilmiş olmasına karşın Kutok ve arkadaşları bazı malign hastalıklarda MS4A3'ün ifadesinin artmış bazılarında ise azalmış olduğunu ve

bunun da hücre tipi gibi çeşitli faktörlere bağlı olabileceğini bildirmişlerdir [165]. MS4A genlerinin hücre gelişiminde önemli süreçlerde eksprese edilen proteinleri kodluyor olması kanserin tanı ve tedavisinde hem belirteç hem de hedef olarak kullanılabileceği gerçeğini güçlendirmektedir. Monoklonal antikor tedavilerinde MS4A ailesi üyeleri arasında hedef olarak kullanılan örnekler bulunmaktadır. Bu anlamda bazı otoimmün hastalıklar ile B-hücreli non-Hodgkin lenfoma ve mantle hücreli lenfoma gibi hastalıklarda Rituximab ve Ofatumumab gibi monoklonal antikorlarla MS4A1'in hedeflenmesi önemli bir örnek olarak verilebilir [253, 254]. Malign hematopoetik kök hücre klonlarının oluşumuyla ortaya çıkan bir hastalık olan akut myeloid lösemi (AML)'de yüksek ifadesi görülen ve kötü prognostik belirteç olan EVI1 (Ecotropic Virus Integration site 1) transkripsiyon faktörünün MS4A3 ekspresyonunu engelleyerek hücrelerde çoğalma ve apoptoz gibi aşamaları etkilediği bildirilmiştir. Jiang ve arkadaşları çalışmalarında lösemi tedavisinde MS4A3 aracılı TGF $\beta$ /EMT sinyal yolu aracılığıyla EVI1'in potansiyel bir hedef olabileceğini bildirmişlerdir [255]. Hematopoetik kök ve progenitör hücrelerde lenfoid farklılaşmayı yönettiği bildirilmiş olan SATB1 geninin artmış ekspresyonu sonucu MS4A3 ifadesinin oldukça düştüğü görülmüştür. Ayrıca aynı çalışmada hematopoezde erken miyeloid farklılaşma evresinin araştırılmasında MS4A3'ün önemi vurgulanmıştır. Klinik anlamda MS4A3 uygulama alanının oluşması için çok sayıda ileri çalışma gerekmektedir [256].

JAK/STAT3 sinyal yolağının multiple myelomada sürekli aktivasyonu ve bu yolağı baskılayan PTPN6 (SHP-1) gibi bazı genlerdeki hipermetilasyon durumu literatürde MM hücre hattı çalışmalarında bildirilmiştir [257, 258]. Beldi-Ferchiou ve arkadaşları MM hastalarının plazma hücreleri ile sağlıklı kontrollerin plazma hücreleri arasında PTPN6 (SHP-1), SOCS-1 ve SHP-2 genlerinin ekspresyonlarını karşılaştırmış ve hastalarda kontrollere kıyasla oldukça düşük eksprese olduklarını göstererek bu durumun JAK/STAT3 yolağı aktivasyonunda rol oynadığını ve multiple myeloma devamlılığına katkı sağladığını ileri sürmüşlerdir [259]. Ayrıca PTPN6 (SHP-1) gibi JAK/STAT3'ü baskıladığı bildirilmiş olan bazı genlerdeki anormal metilasyon paterninin MGUS'tan MM'ye geçişe katkısı olabileceği önerilmiştir [260]. Beldi-Ferchiou ve arkadaşları da azalmış SHP-1 ve SHP-2 ekspresyonlarının artmış kemik iliği invazyonu ile birlikte seyrettiğini bildirerek bu tip hastalarda MGUS-MM geçişinin daha hızlı seyredebileceğini önermişlerdir [259]. C.elegans'ta fonksiyonel çalışmalarla Unc-45b'nin ifadesinin ubiquitin/proteazom yolağı aracılığıyla düzenlendiği ve artmış

ifadesinin sonucunda kastaki kalın filamentlerde defekt oluşması ile miyozin ekspresyonu azalmasına bağlı kısmi paraliz geliştiği bildirilmiştir [227, 261]. Kastaki miyozin formasyonuna katkı sağladığı bilinen UNC45B'nin adezyon kompleksleri ile pre-miyofibril taslaklarının oluşumunda rol oynayan kas dışı miyozinlerin spesifik bazı işlevlerine de aracılık ettiği bildirilmiştir. Bu nedenle sadece kasta miyozin katlanması değil kasın erken gelişiminde de UNC45B'nin katkısı olduğu bildirilmiştir [262]. Miyozinin fonksiyonunu görebilmesinde olduğu kadar stabil kalmasında da UNC45 öneme sahiptir [263]. Fare iskelet miyogenik hücre (C2C12 hücreleri) hattı çalışmalarında çizgili kasta sarkomer organizasyonuna katkı sağlayan UNC45'in genel hücre tiplerinde proliferasyona da etkisi olduğu ortaya konulmuştur [264]. Ayrıca in vivo ortamda hücresel stres durumlarında UNC45'in koruyucu rol üstlendiği de bildirilmiştir [265]. 2011 yılında Ni ve arkadaşları Hsp90'ın in vitro olarak miyozine bağlanma konusunda UNC-45 ile yarıştığını böylece miyozin şaperon aktivitesini inhibe ettiğini ve UNC45 yapısındaki üç alandan en önemlisinin UCS alanı olduğunu önermişlerdir [266]. Bu önceden Barral ve arkadaşları tarafından önerilen miyozine bağlanan UNC45'in TPR alanı aracılığıyla HSP90'ı da yapıya katarak miyozin katlanmasının kolaylaşmasını sağladığı hipoteze ters düşmekle birlikte [267], 2013 yılında Gazda ve arkadaşları tarafından *C.elegans*'ta yapılan çalışmalarla UNC45 UCS ve TPR alanları aracılığıyla Hsp90'nın miyozine kademeli olarak bağlandığı ileri sürülmüştür [268]. Artmış UNC45A ekspresyonu over ve meme kanseri ile ilişkilendirilmiş olup susturulması sonucu proliferasyon ve migrasyonun azaldığı bildirilmiştir [269, 270]. Huntington hastalıklı *Drosophila* modellerinde UNC45 ile süperoksit dismutazın kompleks olarak artmış ifadesi sonucunda kardiyak bozukluğun iyileştiği ve amiloid birikimin azaldığı bundan dolayı bu molekülün agregat oluşumunun önüne geçilmesi amacıyla kullanılabileceği önerilmiştir [271, 272]. FET proteinleri, hastalıklarda değişikliğe uğrayan bazı hücresel yollarda regülatör rol oynamaktadır, bu protein ailesinin bir üyesi olan FUS da bu noktada önem kazanmaktadır. RNA bağlayıcı bu proteinlerde görülen aktivite kayıpları, ekspresyon değişiklikleri, gen mutasyonları, translokasyonlar sonucunda hücre proliferasyonu ve apoptozu etkilendiğinden, bu değişiklikler kanser ve nörodejeneratif hastalık gibi hastalıkların ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilmiştir [273]. Özellikle translokasyonlar birçok kanserde bildirilmiştir (kemik sarkomu, Ewing sarkomu, miksoid liposarkom, fibromiksoid sarkom, küçük yuvarlak hücreli tümör, miksoid kondro-sarkom ve akut

lösemi vb.) ve bu FET füzyon proteinleri tümörigenezi yönetebilecek güçte onkogenik özellik taşımaktadırlar [274-276]. Prostat kanserinde Brooke ve arkadaşları tarafından FUS/TLS ekspresyonunda artış olduğu belirlenmiştir. Bu artış sonucunda anti-proliferatif Cdk inhibitörü p27 seviyesi artmakta ve siklin D1 ve Cdk6 gibi proliferatif faktörlerin seviyeleri azalmaktadır. Böylece apoptoz uyarılmakta ve hücre büyümesi bloke edilmektedir buna karşın FUS/TLS geninin ifadesinin azaltılmasıyla hücre proliferasyonun arttığı bildirilmiştir [277]. Haile ve arkadaşları ise tümörde androjene bağlı büyümeyi FUS/TLS düzeyindeki azalmanın negatif yönde etkilediğini bildirmiştir [278]. FUS geninin aşırı ekspresyonu artmış histon metilasyonu ve telomer kısalmasına neden olmaktadır. Telomer fonksiyonunun bozulması da nörodejeneratif hastalıkları tetiklemesi açısından önem taşımaktadır [279, 280]. Ichikawa ve arkadaşları tarafından t(16;21) (p11;q22) ile FUS'un ERG geniyle oluşturduğu füzyon sonucunda miyeloid progenitör hücrelerin kendini yenileme ve çoğalma yetisindeki artışla karakterize bir hastalık olan akut miyeloid lösemi olduğu bildirilmiştir [276]. Normal FUS(wt-FUS)'un aşırı ekspresyonu gibi FUS'taki yanlış anlamlı (missense) mutasyonlar da ALS ve fronto-temporal lob dejenerasyonu gibi bir grup sinirsel hastalığa neden olabilmektedir. Sephton ve arkadaşları tarafından bu iki farklı etkenin hastalığa neden olma mekanizmasını anlamaya yönelik oluşturulan transgenik fare modelleri üzerinde yapılan çalışmada normal FUS'un fazla eksprese olmasının nükleer olayları gen ekspresyonu seviyesinde etkilediği tespit edilirken, mutant FUS'un ise sinaptik homeostazı bozarak dentritik uçlarda toksisite oluşturduğu anlaşılmıştır [142]. Kanserde daha çok FUS/TLS ifadesindeki artış ve bu genin katıldığı translokasyonlar bildirilmişken, ALS'de ise FUS/TLS'nin meydana getirdiği lokalizasyon bozuklukları ve/veya hücrel inklüzyon oluşumu gibi hasarlarda bu gendeki mutasyonların ve ifadesinin azalmasının önemli katkısı olduğu belirtilmiştir [273]. FUS, hücre döngüsü süreçlerini etkileyebilen genlerin (siklin D1 gibi) transkripsiyon aşamasından itibaren düzenlenmesini sağlayarak DNA hasar cevabını etkileyebilmektedir [281, 282]. İyonize radyasyonun yol açtığı DNA hasarı tamir edilirken siklin D1 (CCND1) ekspresyonunun inhibe olabilmesi için DNA hasarı olduğunda ekspresyonu indüklenen CCND1 promotorundaki kodlamayan RNA'ların (ncRNA) FUS ile bağlanması gerekmektedir. Böylece CCND1 gen ekspresyonu azalmakta, CBP/p300'e bağlı asetilasyon inhibe olabilmektedir [283, 284].

Walbrecq ve arkadaşları glial hücrelerde, hücrede aşırı artması sonucu hücreyi apoptoza sürükleyen ROS'un üretimi ve yağ asidi oksidasyonu gibi metabolik olaylarda önemi bilinen ve enzimatik/non-enzimatik antioksidanları içeren bir organel olan peroksizomlardaki PRDX5'in fonksiyonunu anlamaya yönelik yaptıkları hücre hattı çalışmasında oksidan maddelerin ortaya çıkardığı oksidatif strese maruz bırakılan hücreleri PRDX5'in koruduğunu bulmuşlardır [285-287]. Peroksiredoksinlerin ROS'un zararlı etkilerini elemine edici yönü yanı sıra bazı çalışmalarda ise ROS'tan bağımsız olarak bazı peroksiredoksinlerin artmış ifadelerinin çeşitli kanserlerde tümör oluşumu, gelişimi ve metastazı gibi süreçlere katkı sağlama potansiyeli bildirilmiştir [288, 289]. Örneğin; over kanserinde artmış PRDX1, PRDX2 ve PRDX6 ekspresyonu, prostat kanserinde artmış PRDX2, PRDX3 ve PRDX4 ekspresyonu, meme kanserinde artmış PRDX5 ekspresyonu, kolorektal kanserde artmış PRDX2 ve PRDX5 ekspresyonu bildirilmiştir [290, 291]. HT29, HCT15, HCT116 ve SW480 kolorektal kanser hücreleri ile yapılan çalışmada SW480 hücreleri hariç diğer hücre hatlarında PRDX5 ekspresyonunun yüksek olduğu, SW480 hücrelerinde ise PRDX5 ifadesinin tespit edilmediği bildirilmiştir. Aynı çalışmada fare deneylerinde subkutan olarak farelerin sol taraflarına SW480 hücreleri, sağ taraflarına ise HT29 hücreleri enjekte edilerek tümör oluşumu gözlenmiştir. Sağ taraftaki tümör kitlesinin sol tarafa kıyasla daha büyük olması nedeniyle PRDX5'in tümör progresyonunda rolü olabileceği önerilmiştir. Kolon kanseri hücre hatlarındaki çalışmaya benzer şekilde over ve prostat kanserlerinde de bazı peroksiredoksinlerin (PRDX1, PRDX 2, PRDX 3 ve PRDX6) ifadeleri yüksek tespit edilmiştir ve bazılarının da (PRDX 1, PRDX 2, ve PRDX 5) kanserin ileri evresiyle ve lenf nodu metastazıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir [292]. Peroksiredoksin-2'nin artmış ifadesinin radyasyon ile bazı ilaçlara karşı dirençte rol oynaması yanı sıra azalmış ifadesinin ise apoptoza eğilimi arttırdığı bildirilmiştir [293]. PRDX1, PRDX3, PRDX4 ve PRDX5 ekspresyonları meme kanseri prognozu ile PRDX3 ve PRDX5'in yüksek ekspresyonu ise endometriyal kanserlerde hastalığın ileri evresi ve kötü prognozu ile ilişkilendirilmiştir [294]. Mitokondride lokalize PRDX3'ün, mitokondriyi oksidatif stresten ve oksidatif stresin yan etkilerinden koruduğu bilinmektedir, ayrıca çeşitli malignansilerde artmış ekspresyonu da bildirilmiştir [289]. Kanserde mitokondrideki peroksiredoksin seviyesi artışı nedeniyle kanser tedavisinde peroksiredoksin proteinlerinin hedef olarak kullanılabilecek aday moleküller olabileceği önerilmiştir [295]. Peroksiredoksinlerin ekspresyonunun artmasının kemoterapiye

dirence yol açması yanı sıra radyoterapiye dirençte de rol oynadığı bildirilmiştir [296]. Akciğer kanserinde hücrelerin apoptozdan korunmasında PRDX5'in önemli olduğu vurgulanmıştır [297]. Kim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mide kanserinde PRDX5 ifade düzeyinin artışı ile tümör boyutu ve lenfatik invazyonun artışı arasında anlamlı bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada PRDX5 ekspresyonu görülen mide kanserli hastalarda aynı genin ekspresyonu görülmeyen hastalara kıyasla 5 yıllık sağ kalımlarının daha kötü olduğu ve bu kanser açısından PRDX5'in kötü prognostik marker olarak değerlendirilebileceği de vurgulanmıştır [291]. MM hücre hattı olan IM9 hücrelerinde Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) antioksidanına hücreler maruz bırakılarak oksidatif strese neden olan ROS üretiminin artması ve bu yolla da apoptozun artırılması amaçlanmıştır. Bu maddenin dozu arttıkça hücrelerde PrdxV seviyesinin azaldığı buna bağlı olarak da EGCG'nin antikanser etkilerinin PrdxV'i önemli bir şekilde hedeflediği önerilmiştir [298].

Bu tez çalışması kapsamında tüm kemik iliği aspiratından elde edilen materyalde, multiple myelomalı hasta ve kontrol örnekler arasında CD74, FUS, MS4A3, PRDX5, PTPN6 ve UNC45B genlerinin ifade düzeylerinin değerlendirilerek karşılaştırılması sağlanmıştır. Sonuç olarak CD74, MS4A3, PTPN6 ve UNC45B genleri açısından multiple myeloma hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı düzeyde bir farklılık tespit edilmemiştir. Bununla birlikte FUS ve PRDX5 genlerinin hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı seviyede daha yüksek ifadesi tespit edilmiştir (Anlamlılık düzeyleri sırasıyla  $p=0,044$  ve  $p=0,003$ ) (sırasıyla yaklaşık 1,7 kat ve 2 kat kadar).

Transkriptom çalışması sonucu elde edilen bulgulara FUS ve PRDX5 genlerinin hasta grubundaki ifadelerinin kontrol grubuna kıyasla daha düşük olması buna karşın qRT-PZR sonucu elde edilen verinin hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla artmış ifade şeklinde tespit edilmesi, transkriptom çalışmasında kullanılan örnek sayısı azlığı nedeniyle örnek havuzu (pool) oluşturma durumundan kaynaklanabilir. Ayrıca transkriptom çalışmasında kemik iliği plazma hücreleri akım sitometri tekniği ile ayrıştırılarak elde edilen RNA materyali kullanılmıştır ancak bu tez projesi kapsamında bütçe kısıtlılıkları nedeniyle plazma hücreleri ayrıştırılmadığından tüm kemik iliği aspiratından elde edilen total RNA materyalinde konfirmasyon sağlanmıştır. Transkriptom datasında hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla daha az ifade edildiği

belirlenmiş olan FUS ve PRDX5 genlerinin qRT-PZR çalışmasında ifadelerinin hastalarda daha yüksek tespit edilmesinin sebeplerinden bir diğeri de bu olabilir.

FUS geni DNA hasar yanıtının bir komponenti olduğundan, kanserde birikimi görülen DNA hasarlarının onarımında rol oynaması nedeniyle de önem taşımaktadır [4, 141]. Multiple myeloma hasta örneklerinde kontrollere kıyasla FUS'un ifadesindeki artışın multiple myelomadaki DNA hasarlarına yanıt olarak gelişmiş olabileceği düşünülmektedir. Tüm memeli dokularında eksprese olan PRDX5 geninin ifadesinin artması (hücreleri oksidatif strese dayanıklı kılar) veya azalması (hücreleri oksidatif strese dayanıksız kılar) çeşitli bozukluklarla ilişkilendirilmiştir [196]. Kanser hücrelerinin apoptozdan korunmasında rolü olabileceği bildirilmiş olan PRDX5'in ifadesinin çalışmamızda da MM hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla artmış olarak bulunması, bu genin malign plazma hücrelerinin apoptozdan kaçmasında rolü olabileceğini düşündürmektedir. PRDX5 geninin kanser patogenezindeki rolünü aydınlatmaya yönelik yapılan diğer çalışmalar gibi bizim çalışmamızın bulguları da multiple myeloma açısından tüm kemik iliği aspiratından elde edilen total RNA'da ilk çalışma özelliği göstermekle birlikte literatürü destekler nitelik taşımaktadır.

FUS ve PRDX5 genlerinin fonksiyonları ve kanserdeki önemleri göz önüne alındığında multiple myeloma açısından yeni tedavi seçeneklerine ışık tutabileceklerini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Yi L, Li J. CRISPR-Cas9 therapeutics in cancer: promising strategies and present challenges. *Biochim Biophys Acta*, 2016. **15**; **1866(2)**: p. 197-207.
2. Manier S, Salem KZ, Park J, Landau DA, Getz G, Ghobrial IM. Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017. **14(2)**: p. 100-113.
3. Campos-Melo D, Droppelmann CA, Volkening K, Strong MJ, Strong MJ. RNA-binding proteins as molecular links between cancer and neurodegeneration. *Biogerontology*. , 2014 Dec. **15(6)**: p. 587.
4. Dutertre M, Lambert S, Carreira A, Amor-Gueret M, Vagner S. DNA damage: RNA-binding proteins protect from near and far. *Trends Biochem Sci*, 2014. **39(3)**: p. 141-9.
5. Angtuaco EJ, Fassas AB, Walker R, Sethi R, Barlogie B. Multiple myeloma: clinical review and diagnostic imaging. *Radiology*, 2004. **231(1)**: p. 11-23.
6. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia*, 2009. **23(1)**: p. 3-9.
7. Brenner H, Long-term survival rates of cancer patients achieved by the end of the 20th century: a period analysis. *Lancet*, 2002. **360(9340)**: p. 1131-5.
8. Dispenzieri A, Lacy QM, Greipp RP. İçinde Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, Means RT, editor. *Multiple Myeloma. Wintrobe's Clinical Hematology*. Volume 2-12th ed. USA, Philadelphia; Lippincott W & Wilkins; 2009. Chapter 99. p. 2372-2438.
9. Atamer T. İçinde Büyüköztürk K, editor. *Plazma Hücre Neoplazmaları. İç Hastalıkları Cilt 2*. İstanbul Nobel Tıp Kitapevi, 2007. Bölüm 89. p. 717-729.
10. Binsfeld, M., Fostier K, Muller J, Baron F, Schots R, Beguin Y, ve ark. Cellular immunotherapy in multiple myeloma: lessons from preclinical models. *Biochim Biophys Acta*, 2014. **1846(2)**: p. 392-404.
11. Braggio E, Maiolino A, Gouveia ME, Magalhães R, Souto Filho JT, Garnica M, ve ark. Methylation status of nine tumor suppressor genes in multiple myeloma. *Int J Hematol*, 2010. **91(1)**: p. 87-96.
12. Garcia IN. Role of hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2015. **15(2)**: p. 86-91.
13. Durie BG. *Hastalık ve Tedavi Seçeneklerinin Kısa bir İncelemesi Multipl Miyelom Kemik İliği Kanseri*. 2008-2009 Baskısı. Erişim tarihi: 12.10.2016.
14. de la Puente P, Muz B, Azab F, Luderer M, Azab AK. Molecularly targeted therapies in multiple myeloma. *Leuk Res Treatment*, 2014: p. 976567.
15. Sarıman M, Abacı N, Sırma Ekmekçi S, Çakiris A, Perçin Paçal F, Üstek D ve ark. Investigation of Gene Expressions of Myeloma Cells in the Bone Marrow of Multiple Myeloma Patients by Transcriptome Analysis. *Balkan Med J*, 2018.
16. Ozturk D, Coskunpinar E, Osmanbaşoğlu E, Çetin G, Yenerel M, Ayer M ve ark. Investigation of ErbB and Insulin Signaling Pathways in the Pathogenesis of Multiple Myeloma. *Haseki Tıp Bulteni-Medical Bulletin of Haseki*, 2018. **56(2)**: p. 109-113.

17. Koutsogiannouli E, Papavassiliou AG, Papanikolaou NA. Complexity in cancer biology: is systems biology the answer? *Cancer Medicine*, 2013. **2(2)**: p. 164-177.
18. Clavel J. Progress in the epidemiological understanding of gene-environment interactions in major diseases: cancer. *Comptes Rendus Biologies*, 2007. **330(4)**: p. 306-317.
19. Davidson NE, Armstrong SA, Coussens LM, Cruz-Correa MR, DeBerardinis RJ, Doroshow JH ve ark. AACR Cancer Progress Report 2016. *Clin Cancer Res*, 2016. **22 Suppl 19**: p. 1-137.
20. National Institutes of Health. *The Genetics of Cancer*. Erişim 12.12.2017, <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics>
21. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000. **100(1)**: p. 57-70.
22. Holohan C, Van Schaeybroeck S, Longley DB, Johnston PG. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nat Rev Cancer.*, 2013 Oct. **13(10)**: p. 714-26.
23. Pala FS. Hematolojik Kanserlerde FISH Uygulamaları. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2005. **22(3)**: p. 132-136.
24. Navin NE, Hicks J. Mutational processes molding the genomes of 21 breast cancers. *Cell*, 2012. **149(5)**: p. 979-93.
25. Nik-Zainal S. Mutational Processes Molding the Genomes of 21 Breast Cancers. *Cell*, 2012. **149**: p. 979-993.
26. Camussi G ve ark. Exosome/microvesicle-mediated epigenetic reprogramming of cells. *Am J Cancer Res*, 2011. **1(1)**: p. 98-110.
27. Deregibus MC ve ark. Endothelial progenitor cell derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. *Blood*, 2007. **110(7)**: p. 2440-8.
28. National Cancer Institute. *Cancer Classification*. Erişim Tarihi: 16.12.2017, <https://training.seer.cancer.gov/disease/categories/classification.html#container>
29. Carter HB, Epstein J, Partin AW. Influence of age and prostate-specific antigen on the chance of curable prostate cancer among men with nonpalpable disease. *Urology*, 1999 Jan. **53(1)**: p. 126-30.
30. Jaimes N, Marghoob AA. An update on risk factors, prognosis and management of melanoma patients. *G Ital Dermatol Venereol*, 2012. **147(1)**: p. 1-19.
31. Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med*, 2006. **12(8)**: p. 895-904.
32. Marusyk A, Polyak K. Tumor heterogeneity: causes and consequences. *Biochim Biophys Acta*, 2010. **1805(1)**: p. 105-17.
33. Kreso A ve ark. Variable clonal repopulation dynamics influence chemotherapy response in colorectal cancer. *Science*, 2013. **339(6119)**: p. 543-8.
34. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2016*. Atlanta, GA, 2016.
35. Ryerson AB, Ehemann CR, Altekruse SF, Ward JW, Jemal A, Sherman RL ve ark. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2012, featuring the increasing incidence of liver cancer. *Cancer*, 2016. **122(9)**: p. 1312-37.
36. American Cancer Society. *Cancer facts and figures 2014*. Atlanta, GA, 2014.
37. Bloom DE, Cafiero ET, Jané-Llopis E, Abrahams- Gessel S, Bloom LR, Fathima S ve ark. *The Global Economic Burden of Non-communicable Diseases*. Geneva: World Economic Forum, 2011.

38. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, *Türkiye Kanseri İstatistikleri*, Ankara. Erişim tarihi: 04.12.2017, [http://kanser.gov.tr/Dosya/ca\\_istatistik/2014-RAPOR\\_uzun.pdf](http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/2014-RAPOR_uzun.pdf).
39. Jakab M ve ark. Dünya Sağlık Örgütü, Bulaşıcı Olmayan Hastalıklarda Daha İyi Sonuçlar, Sağlık Sistemi için Zorluklar ve Fırsatlar, No.2 Türkiye Ülke Değerlendirmesi. 2014. Erişim 04.12.2017, [https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/BOH\\_%C3%9Cke\\_raporu\\_TR.pdf](https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/BOH_%C3%9Cke_raporu_TR.pdf)
40. Sawyers CL, Abate-Shen C, Anderson KC, Barker A, Baselga J, Berger NA ve ark. AACR Cancer Progress Report 2013. *Clin Cancer Res*, 2013. **19(20 Suppl)**: p. S4-98.
41. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü, *Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2015*. Ankara. Erişim: 14.12.2017, [http://www.saglikistatistikleri.gov.tr/dosyalar/SIY\\_2015.pdf](http://www.saglikistatistikleri.gov.tr/dosyalar/SIY_2015.pdf),
42. *Leukemia, Lymphoma, Myeloma. Toward a new understanding*. 2014. Erişim tarihi: 20.10.2018: p. 1-5. <https://www.cancer.gov/about-nci/legislative/hearings/2001-leukemia-lymphoma-multiple-myeloma-new-understanding.pdf>,
43. Faramarz N ve ark. Hematopathology- Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics, and Molecular Approaches. 1st Edition ed. 2008: *Academic Press*.
44. [https://stemcells.nih.gov/info/Regenerative\\_Medicine/2006Chapter2.htm](https://stemcells.nih.gov/info/Regenerative_Medicine/2006Chapter2.htm), Erişim 10.11.2018.
45. Raja KR, Kovarova L, Hajek R. Review of phenotypic markers used in flow cytometric analysis of MGUS and MM, and applicability of flow cytometry in other plasma cell disorders. *British Journal of Haematology*, 2010. **149(3)**: p. 334-351.
46. Cambier JC, Gauld SB, Merrell KT, Vilen BJ. B-cell anergy: from transgenic models to naturally occurring anergic B cells? *Nat Rev Immunol*, 2007. **7(8)**: p. 633-43.
47. Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. *Nat Rev Immunol*, 2015. **15(3)**: p. 149-59.
48. Bonilla-Valentín FJ, Cerra J, Cáceres-Perkins W, Alsina M. Case Report of IgM Multiple Myeloma: Diagnosing a Rare Hematologic Entity. *Cancer Control*, 2018. **25(1)**: p. 1073274817744448.
49. Cao FF, Chen F, Hu YP, Zhang JH. Immunophenotype in multiple myeloma cells detected by multiparameter flow cytometry. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2012. **20(3)**: p. 620-3.
50. Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B-cell biology and development. *J Allergy Clin Immunol*, 2013. **131(4)**: p. 959-71.
51. Tangye SG. Staying alive: regulation of plasma cell survival. *Trends Immunol*, 2011. **32(12)**: p. 595-602.
52. <https://www.news-medical.net/news/20171211/Two-immunotherapy-approaches-for-multiple-myeloma-show-hope.aspx>, Erişim tarihi: 23.10.2018.
53. Katzel JA, Hari P, Vesole DH. Multiple myeloma: charging toward a bright future. *CA Cancer J Clin*, 2007. **57(5)**: p. 301-18.
54. Özsan GH. Multiple myelom biyolojisi *Türkiye Klinikleri J Hem Onc*, 2008(Special Topics,1): p. 5-8.
55. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson and Thompson Genetics in Medicine. 6th ed. W.B. Saunders Company; 2001. pp. 277-288.

56. <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/immune-development/b-cell-activation-and-the-germinal-centre>, Erişim tarihi: 19.06.2018.
57. <http://a.static-abcam.com/CmsMedia/Media/antibody-isotypes-cms.jpg>, Erişim tarihi: 19.06.2018.
58. Hoffman R, Benz EJ Jr, Silberstein LE, Heslop HE, Weitz JI, Anastasi J. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. 2013: p. 1303-1337.
59. Faiman B. Myeloma genetics and genomics: practice implications and future directions. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2014. **14(6)**: p. 436-40.
60. Cogné M, Silvain C, Khamlichi AA, Preud'homme JL. Structurally abnormal immunoglobulins in human immunoproliferative disorders. *Blood*, 1992. **79(9)**: p. 2181-95.
61. Feederle R, Schepers A. Antibodies specific for nucleic acid modifications. *RNA Biol*, 2017. **14(9)**: p. 1089-1098.
62. Harousseau JL, Shaughnessy J, Richardson P. Multiple myeloma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2004: p. 237-56.
63. Mollee P. Current trends in the diagnosis, therapy and monitoring of the monoclonal gammopathies. *Clin Biochem Rev*, 2009. **30(3)**: p. 93-103.
64. Durie BGM. *Multiple Myeloma Cancer of the Bone Marrow. Concise Review of the Disease and Treatment Options*. 2018 Edition. Erişim Tarihi: 16.10.2018, <https://www.myeloma.org/sites/default/files/images/publications/UnderstandingPDF/concisereview.pdf>
65. Ludwig H, Meran J, Zojer N. Multiple myeloma: an update on biology and treatment. *Ann Oncol*, 1999. **10 Suppl 6**: p. 31-43.
66. Hengeveld PJ, Kersten MJ. B-cell activating factor in the pathophysiology of multiple myeloma: a target for therapy? *Blood Cancer J*, 2015. **5**: p. e282.
67. <https://peoplebeatingcancer.org/multiple-myeloma-and-your-bones-diagnostics-therapies-and-dangers/>, Erişim tarihi: 23.10.2018.
68. Dimopoulos MA, Terpos E. Multiple myeloma. *Ann Oncol*, 2010. **21 Suppl 7**: p. 143-50.
69. National Cancer Institute. *Plasma Cell Neoplasms (Including Multiple Myeloma) Treatment*. Güncelleme: 2010. Erişim tarihi: 16.12.2017, <https://www.cancer.gov/types/myeloma/hp/myeloma-treatment-pdq>
70. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE ve ark. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings*, 2003. **78(1)**: p. 21-33.
71. Smith D, Yong K. Multiple myeloma. *BMJ*, 2013. **346**: p. f3863.
72. National Cancer Institute. *Cancer Stat Facts: Myeloma*. Erişim Tarihi: 16.12.2017, <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html>
73. Fairfield H, Falank C, Avery L, Reagan MR. Multiple myeloma in the marrow: pathogenesis and treatments. *Ann N Y Acad Sci*, 2016. **1364**: p. 32-51.
74. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol*, 2003. **121(5)**: p. 749-57.
75. Landgren O ve ark. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood*, 2009. **113(22)**: p. 5412-7.

76. Brenner H, Gondos A, Pulte D. Recent major improvement in long-term survival of younger patients with multiple myeloma. *Blood*, 2008. **111(5)**: p. 2521-6.
77. Prideaux S. M, Conway O'Brien E, Chevassut TJ. The genetic architecture of multiple myeloma. *Adv Hematol*, 2014: p. 864058.
78. Altuntaş F., Kaynar L., Eser B., Sarı İ., Kaptan B., Özkan M ve ark. Multipl Myeloma Tedavisinde Üç Farklı Konvansiyonel Kemoterapi Protokolünün Karşılaştırılması. *Türk Onkoloji Dergisi*, 2004. **19**: p. 9-14.
79. Vallet S ve ark. Myeloma Bone Disease: Update on Pathogenesis and Novel Treatment Strategies. *Pharmaceutics*, 2018. **10(4)**.
80. Michels TC, Petersen KE. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician*, 2017. **95(6)**: p. 373-383.
81. Mitsiades CS, Mitsiades NS, Munshi NC, Richardson PG, Anderson KC. The role of the bone microenvironment in the pathophysiology and therapeutic management of multiple myeloma: interplay of growth factors, their receptors and stromal interactions. *Eur J Cancer*, 2006. **42(11)**: p. 1564-73.
82. Shain KH, Yarde DN, Meads MB, Huang M, Jove R, Hazlehurst LA ve ark. Beta1 integrin adhesion enhances IL-6-mediated STAT3 signaling in myeloma cells: implications for microenvironment influence on tumor survival and proliferation. *Cancer Res*, 2009. **69(3)**: p. 1009-15.
83. Hideshima T, Nakamura N, Chauhan D, Anderson KC. Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3-K/Akt signaling in multiple myeloma. *Oncogene*, 2001. **20(42)**: p. 5991-6000.
84. Roodman GD. Pathogenesis of myeloma bone disease. *Leukemia*, 2009. **23(3)**: p. 435-41.
85. Alexander DD, Mink PJ, Adami HO, Cole P, Mandel JS, Oken MM ve ark. Multiple myeloma: a review of the epidemiologic literature. *Int J Cancer*, 2007. **120 Suppl 12**: p. 40-61.
86. Howe HL, Wingo PA, Thun MJ, Reis LA, Rosenberg HM, Feigal EG ve ark. Annual report to the nation on the status of cancer (1973 through 1998), featuring cancers with recent increasing trends. *J Natl Cancer Inst*, 2001. **93(11)**: p. 824-42.
87. Rajkumar SV, Kyle RA. Multiple myeloma: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc*, 2005. **80(10)**: p. 1371-82.
88. Kumar SK ve ark. Multiple myeloma. *Nat Rev Dis Primers*, 2017. **3**: p. 17046.
89. Gedik Ş., Gür S., Yılmaz G., Akova Y. Multipl Myelom, Hiperviskozite Sendromu ve Santral Retinal Ven Tıkanıklığı İlişkisi. *M Ret-Vit*. **13**, 2005: p. 147-151.
90. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) GLOBOCAN 2012. Erişim tarihi: 14.12.2017, [http://globocan.iarc.fr/old/bar\\_dev.asp?population1=222900&population2=199792&sex=0&statistic=3&number=20&window=1&grid=1&info=1&color1=5&color1e=&color2=4&color2e=&submit=%C2%A0Execute](http://globocan.iarc.fr/old/bar_dev.asp?population1=222900&population2=199792&sex=0&statistic=3&number=20&window=1&grid=1&info=1&color1=5&color1e=&color2=4&color2e=&submit=%C2%A0Execute)
91. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) GLOBOCAN 2012. Erişim tarihi: 14.12.2017 [http://globocan.iarc.fr/old/burden.asp?selection\\_pop=201792&Text-p=Turkey&selection\\_cancer=17270&Text-c=Multiple+myeloma&pYear=23&type=1&window=1&submit=%C2%A0Execute](http://globocan.iarc.fr/old/burden.asp?selection_pop=201792&Text-p=Turkey&selection_cancer=17270&Text-c=Multiple+myeloma&pYear=23&type=1&window=1&submit=%C2%A0Execute)
92. Berenson JR ve ark. American Society of Clinical Oncology clinical practice guidelines: the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol*, 2002. **20(17)**: p. 3719-36.

93. Kyle RA ve ark. American Society of Clinical Oncology 2007 clinical practice guideline update on the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology*, 2007. **25(17)**: p. 2464-2472.
94. Avgerinos KI, Spyrou N, Mantzoros CS, Dalamaga M. Obesity and Cancer Risk: Emerging biological mechanisms and perspectives. *Metabolism*, 2018. S0026-0495(18): p.30232-4.
95. Sirohi B, Powles R. Multiple myeloma. *Lancet*, 2004. **363(9412)**: p. 875-87.
96. Kyle RA ve ark. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med*, 2002. **346(8)**: p. 564-9.
97. Lynch HT ve ark. Familial multiple myeloma: a family study and review of the literature. *J Natl Cancer Inst*, 2001. **93(19)**: p. 1479-83.
98. Mahindra A, Hideshima T, Anderson KC. Multiple myeloma: biology of the disease. *Blood Rev*, 2010. **24 Suppl 1**: p. S5-11.
99. Fauci B ve ark. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, editor. K. Biberoğlu. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2013.
100. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A ve ark. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*, 2014. **15(12)**: p. e538-48.
101. Marlow CF, Sharma S, Babar F, Lin J. Severe Hypocalcemia and Hypomagnesemia with Denosumab in Advanced Chronic Kidney Disease: Case Report and Literature Review. *Case Rep Oncol Med*, 2018. p. 2059364.
102. Heher EC ve ark. Kidney disease and multiple myeloma. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2013. **8(11)**: p. 2007-17.
103. <https://labtestsonline.org.tr/conditions/multipl-miyelom>, Erişim tarihi: 28.10.2018.
104. <https://www.pathologystudent.com/a-monoclonal-immunoglobulin-is-present-now-what/>, Erişim tarihi: 28.10.2018.
105. <https://bpac.org.nz/BT/2011/July/serum-protein.aspx>, Erişim tarihi: 28.10.2018.
106. <http://www.wikilite.com/figures/figure-43-serum-immunofixation-electrophoresis>, Erişim tarihi: 28.10.2018.
107. San Miguel JF, García-Sanz R. Prognostic features of multiple myeloma. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 2005. **18(4)**: p. 569-583.
108. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*, 2011. **86(1)**: p. 57-65.
109. Palumbo A ve ark. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol*, 2015. **33(26)**: p. 2863-9.
110. Rollig C, Knop S, Bornhauser M. Multiple myeloma. *Lancet*, 2015. **385(9983)**: p. 2197-208.
111. Wang H, Yang S, Zhou H ve ark. Alopentine executes antitumor effects against multiple myeloma through dual apoptotic mechanisms. *J Hematol Oncol*, 2015. **8**: p. 26.
112. Kristinsson SY, Landgren O, Dickman PW, Derolf AR, Björkholm M. Patterns of survival in multiple myeloma: a population-based study of patients diagnosed in Sweden from 1973 to 2003. *J Clin Oncol*, 2007. **25(15)**: p. 1993-9.
113. Kaufman JL, Niesvizky R, Stadtmauer EA, Chanan-Khan A, Siegel D, Horne H ve ark. Phase I, multicentre, dose-escalation trial of monotherapy with milatuzumab (humanized anti-CD74 monoclonal antibody) in relapsed or refractory multiple myeloma. *Br J Haematol*, 2013. **163(4)**: p. 478-86.

114. Mimura N, Hideshima T, Anderson KC. Novel therapeutic strategies for multiple myeloma. *Exp Hematol*, 2015. **43(8)**: p. 732-41.
115. Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK ve ark. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*, 2008. **111(5)**: p. 2516-20.
116. Dowling M, Kelly M, Meenaghan T. Multiple myeloma: managing a complex blood cancer. *Br J Nurs*, 2016. **25(16)**: p. S18-28.
117. Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *Blood*, 2008. **111(6)**: p. 2962-72.
118. Smith D, Yong K. Advances in understanding prognosis in myeloma. *Br J Haematol*, 2016. **175(3)**: p. 367-380.
119. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gap/phegeni>, Erişim tarihi: 18.11.2018.
120. <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/CD74ID45843ch5q33.html>, Erişim tarihi: 20.07.2018.
121. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CD74&keywords=CD74>, Erişim tarihi: 25.07.2018.
122. [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000019582;r=5:150401637-150412929;t=ENST00000009530](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000019582;r=5:150401637-150412929;t=ENST00000009530), Erişim tarihi: 25.07.2018.
123. Matza D, Lantner F, Bogoch Y, Flaishon L, Hershkovich R, Shachar I. Invariant chain induces B cell maturation in a process that is independent of its chaperonic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002. **99(5)**: p. 3018-3023.
124. Borghese F, Clanchy FI. CD74: an emerging opportunity as a therapeutic target in cancer and autoimmune disease. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2011. **15(3)**: p. 237-251.
125. Stein R, Mattes MJ, Cardillo TM, Hansen HJ, Chang CH, Burton J, Govindan S, Goldenberg DM. CD74: A new candidate target for the immunotherapy of B-Cell neoplasms. *Clinical Cancer Research*, 2007. **13(18)**: p. 5556s-5563s.
126. Bach JP ve ark. The Role of Macrophage Inhibitory Factor in Tumorigenesis and Central Nervous System Tumors. *Cancer*, 2009. **115(10)**: p. 2031-2040.
127. Starlets D, Gore Y, Binsky I, Haran M, Harpaz N, Shvidel L ve ark. Cell-surface CD74 initiates a signaling cascade leading to cell proliferation and survival. *Blood*, 2006. **107(12)**: p. 4807-16.
128. Binsky I, Haran M, Starlets D, Gore Y, Lantner F, Harpaz N ve ark. IL-8 secreted in a macrophage migration-inhibitory factor- and CD74-dependent manner regulates B cell chronic lymphocytic leukemia survival. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007. **104(33)**: p. 13408-13.
129. Burton JD, Ely S, Reddy PK, Stein R, Gold DV, Cardillo TM ve ark. CD74 is expressed by multiple myeloma and is a promising target for therapy. *Clinical Cancer Research*, 2004. **10(19)**: p. 6606-6611.
130. Leth-Larsen R, Lund R, Hansen HV, Laenkholm AV, Tarin D, Jensen ON, Ditzel HJ. Metastasis-related Plasma Membrane Proteins of Human Breast Cancer Cells Identified by Comparative Quantitative Mass Spectrometry. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2009. **8(6)**: p. 1436-1449.
131. Schroder B. The multifaceted roles of the invariant chain CD74-More than just a chaperone. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research*, 2016. **1863(6)**: p. 1269-1281.
132. Cassidy LA, Maher LJ. Having it both ways: transcription factors that bind DNA and RNA. *Nucleic Acids Research*, 2002. **30(19)**: p. 4118-4126.

133. Kim KY ve ark. A multifunctional protein EWS regulates the expression of Drosha and microRNAs. *Cell Death and Differentiation*, 2014. **21(1)**: p. 136-145.
134. Meissner M, Lopato S, Gotzmann J, Sauermann G, Barta A. Proto-oncoprotein TLS/FUS is associated to the nuclear matrix and complexed with splicing factors PTB, SRm160, and SR proteins. *Experimental Cell Research*, 2003. **283(2)**: p. 184-195.
135. Yamazaki T, Chen S, Yu Y, Yan B, Haertlein TC ve ark. FUS-SMN protein interactions link the motor neuron diseases ALS and SMA. *Cell Rep*, 2012. **2(4)**: p. 799-806.
136. Saito R, Smoot ME, Ono K, Ruscheinski J, Wang PL ve ark. A travel guide to Cytoscape plugins. *Nat Methods*, 2012. **9(11)**: p. 1069-76.
137. Leichter M, Marko M, Ganou V, Patrino-Georgoula M, Tora L, Guialis A. A fraction of the transcription factor TAF15 participates in interactions with a subset of the spliceosomal U1 snRNP complex. *Biochim Biophys Acta*, 2011. **1814(12)**: p. 1812-24.
138. Powers CA, Mathur M, Raaka BM, Ron D, Samuels HH. TLS (translocated-in-liposarcoma) is a high-affinity interactor for steroid, thyroid hormone, and retinoid receptors. *Molecular Endocrinology*, 1998. **12(1)**: p. 4-18.
139. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FUS>, Erişim tarihi: 25.07.2018.
140. [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000089280;r=16:31180110-31194871;t=ENST00000254108](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000089280;r=16:31180110-31194871;t=ENST00000254108), Erişim tarihi: 25.07.2018.
141. Sama RR, Ward CL, Bosco DA. Functions of FUS/TLS from DNA repair to stress response: implications for ALS. *ASN Neuro*, 2014. **6(4)**.
142. Sephton CF, Tang AA, Kulkarni A, West J, Brooks M, Stubblefield JJ ve ark. Activity-dependent FUS dysregulation disrupts synaptic homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014. **111(44)**: p. E4769-78.
143. Mastrocola AS, Kim SH, Trinh AT, Rodenkirch LA, Tibbetts RS. The RNA-binding protein fused in sarcoma (FUS) functions downstream of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) in response to DNA damage. *J Biol Chem*, 2013. **288(34)**: p. 24731-41.
144. Morlando M, Dini Modigliani S, Torrelli G, Rosa A, Di Carlo V, Caffarelli E ve ark. FUS stimulates microRNA biogenesis by facilitating co-transcriptional Drosha recruitment. *EMBO J*, 2012. **31(24)**: p. 4502-10.
145. Schwartz JC, Cech TR, Parker RR. Biochemical Properties and Biological Functions of FET Proteins. *Annu Rev Biochem*, 2015. **84**: p. 355-79.
146. Orozco D, Tahirovic S, Rentzsch K, Schwenk BM, Haass C, Edbauer D. Loss of fused in sarcoma (FUS) promotes pathological Tau splicing. *EMBO Rep*, 2012. **13(8)**: p. 759-64.
147. Qiu H ve ark. ALS-associated mutation FUS-R521C causes DNA damage and RNA splicing defects. *J Clin Invest*, 2014. **124(3)**: p. 981-99.
148. Schwartz JC, Ebmeier CC, Podell ER, Heimiller J, Taatjes DJ, Cech TR. FUS binds the CTD of RNA polymerase II and regulates its phosphorylation at Ser2 (vol 26, pg 2690, 2012). *Genes & Development*, 2013. **27(6)**: p. 699-699.
149. Crozat A, Aman P, Mandahl N, Ron D. Fusion of Chop to a Novel Rna-Binding Protein in Human Myxoid Liposarcoma. *Nature*, 1993. **363(6430)**: p. 640-644.

150. Walker AK, Atkin JD. Stress Signaling from the Endoplasmic Reticulum: A Central Player in the Pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Iubmb Life*, 2011. **63(9)**: p. 754-763.
151. Lai SL ve ark. FUS mutations in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology of Aging*, 2011. **32(3)**.
152. Bosco DA, Lemay N, KoH K, Zhou H, Burke C. Mutant FUS proteins that cause amyotrophic lateral sclerosis incorporate into stress granules. *Human Molecular Genetics*, 2010. **19(21)**: p. 4160-4175.
153. Vance C, Scotter EL, Nishimura AL, Troakes C, Mitchell JC. ALS mutant FUS disrupts nuclear localization and sequesters wild-type FUS within cytoplasmic stress granules. *Human Molecular Genetics*, 2013. **22(13)**: p. 2676-2688.
154. Uranishi H, Tetsuka T, Yamashita M, Asamitsu K, Shimizu M ve ark. Involvement of the pro-oncoprotein TLS (translocated in liposarcoma) in nuclear factor-kappa B p65-mediated transcription as a coactivator. *J Biol Chem*, 2001. **276(16)**: p. 13395-401.
155. Hicks GG, Singh N, Nashabi A, Mai S, Bozek G ve ark. Fus deficiency in mice results in defective B-lymphocyte development and activation, high levels of chromosomal instability and perinatal death. *Nat Genet*, 2000. **24(2)**: p. 175-9.
156. ParonettoMP, MinanaB, Valcarcel J. The Ewing sarcoma protein regulates DNA damage-induced alternative splicing. *Mol Cell*, 2011. **43(3)**: p. 353-68.
157. Wang WY, Pan L, Su SC, Quinn EJ, Sasaki M ve ark. Interaction of FUS and HDAC1 regulates DNA damage response and repair in neurons. *Nat Neurosci*, 2013. **16(10)**: p. 1383-91.
158. Luo B, Tseng CC, Adams GB, Lee AS. Deficiency of GRP94 in the hematopoietic system alters proliferation regulators in hematopoietic stem cells. *Stem Cells Dev*, 2013. **22(23)**: p. 3062-73.
159. Eon Kuek L, Leffler M, Mackay GA, Hulett MD. The MS4A family: counting past 1, 2 and 3. *Immunol Cell Biol*, 2016. **94(1)**: p. 11-23.
160. Donato JL, Ko J, Kutok JL, Cheng T, Shirakawa T, Mao XQ ve ark. Human HTm4 is a hematopoietic cell cycle regulator. *Journal of Clinical Investigation*, 2002. **109(1)**: p. 51-58.
161. Kutok JL, Yang X, Folkerth R, Adra CN. Characterization of the expression of HTm4 (MS4A3), a cell cycle regulator, in human peripheral blood cells and normal and malignant tissues. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2011. **15(1)**: p. 86-93.
162. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MS4A3&keywords=MS4A3>, Erişim tarihi: 25.07.2018
163. [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000149516;r=11:60056587-60071128;t=ENST00000278865](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000149516;r=11:60056587-60071128;t=ENST00000278865), Erişim tarihi: 25.07.2018.
164. Condamine T, Le Texier L, Howie D, Lavault A, Hill M, Halary F ve ark. Tmem176B and Tmem176A are associated with the immature state of dendritic cells. *J Leukoc Biol*, 2010. **88(3)**: p. 507-15.
165. Kutok JL, X Yang, R Folkerth and CN Adra. Characterization of the expression of HTm4 (MS4A3), a cell cycle regulator, in human peripheral blood cells and normal and malignant tissues. *J Cell Mol Med*, 2011. **15(1)**: p. 86-93.
166. Sanyal R, Polyak MJ, Zuccolo J, Puri M, Deng L, Roberts L ve ark. MS4A4A: a novel cell surface marker for M2 macrophages and plasma cells. *Immunol Cell Biol*, 2017. **95(7)**: p. 611-619.

167. Patel J, Appaiah H, Burnett R, Bhat-Nakshatri P, Wang G, Mehta R ve ark. Control of EVI-1 oncogene expression in metastatic breast cancer cells through microRNA miR-22. *Oncogene*, 2011. **30(11)**: p. 1290-1301.
168. Vazquez I, Maicas M, Cervera J, Agirre X, Marin-Bejar O, Marcotegui N ve ark. Down-regulation of EVI1 is associated with epigenetic alterations and good prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica-the Hematology Journal*, 2011. **96(10)**: p. 1448-1456.
169. Heller G, Rommer A, Steinleitner K, Etzler J, Hackl H, Heffeter P ve ark. EVI1 promotes tumor growth via transcriptional repression of MS4A3. *Journal of Hematology & Oncology*, 2015.**8**.
170. Zheng CX, Gu ZH, Han B, Zhang RX, Pan CM, Xiang Y ve ark. Whole-exome sequencing to identify novel somatic mutations in squamous cell lung cancers. *International Journal of Oncology*, 2013. **43(3)**: p. 755-764.
171. Hollingworth P, Harold D, Sims R, Gerrish A, Lambert J-C, Carrasquillo MM ve ark. Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, 2011. **43(5)**: p. 429.
172. Cuajungco MP, Podevin W, Valluri VK, Bui Q, Nguyen VH, Taylor K. Abnormal accumulation of human transmembrane (TMEM)-176A and 176B proteins is associated with cancer pathology. *Acta Histochemica*, 2012. **114(7)**: p. 705-712.
173. Ye L, Yao X-D, Wan F-N, Qu Y-Y, Liu Z-Y, Shen X-X ve ark. MS4A8B Promotes Cell Proliferation in Prostate Cancer. *Prostate*, 2014. **74(9)**: p. 911-922.
174. Devasagayam TPA, Tilak JC ve ark. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*, 2004. **52**: p. 794-804.
175. Valko M, Leibfritz D ve ark. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007. **39(1)**: p. 44-84.
176. Grek CL, Tew KD. Redox metabolism and malignancy. *Curr Opin Pharmacol*, 2010. **10(4)**: p. 362-8.
177. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*, 2012. **24(5)**: p. 981-90.
178. Fourquet S, Huang ME, D'Autreaux B, Toledano MB. The dual functions of thiol-based peroxidases in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging and signaling. *Antioxid Redox Signal*, 2008. **10(9)**: p. 1565-76.
179. Kim B, Kim YS, Ahn HM, Lee HJ, Jung MK, Jeong HY ve ark. Peroxiredoxin 5 overexpression enhances tumorigenicity and correlates with poor prognosis in gastric cancer. *Int J Oncol*, 2017. **51(1)**: p. 298-306.
180. Finkel T. Oxidant signals and oxidative stress. *Curr Opin Cell Biol*, 2003. **15(2)**: p. 247-54.
181. Hanschmann EM, Godoy JR, Berndt C, Hudemann C, Lillig CH. Thioredoxins, glutaredoxins, and peroxiredoxins--molecular mechanisms and health significance: from cofactors to antioxidants to redox signaling. *Antioxid Redox Signal*, 2013. **19(13)**: p. 1539-605.
182. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Dergisi*, 2016. **4(1)**: p. 50-59.

183. Slupphaug G, Kavli B, Krokan HE. The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage. *Mutat Res*, 2003. **531(1-2)**: p. 231-51.
184. Graves JA, Metukuri M, Scott D, Rothermund K, Prochownik EV. Regulation of reactive oxygen species homeostasis by peroxiredoxins and c-Myc. *J Biol Chem*, 2009. **284(10)**: p. 6520-9.
185. Jiao L, Li DD, Yang CL, Peng RQ, Guo YQ, Zhang XS ve ark. Reactive oxygen species mediate oxaliplatin-induced epithelial-mesenchymal transition and invasive potential in colon cancer. *Tumour Biol*, 2016. **37(6)**: p. 8413-23.
186. Ahn HM, Yoo JW, Lee S, Lee HJ, Lee HS, Lee DS. Peroxiredoxin 5 promotes the epithelial-mesenchymal transition in colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017. **487(3)**: p. 580-586.
187. Ow SH, Chua PJ, Bay BH. Epigenetic regulation of peroxiredoxins: Implications in the pathogenesis of cancer. *Exp Biol Med.*, 2017. **242(2)**: p. 140-147.
188. Pirson M, Clippe A, Knoops B. The curious case of peroxiredoxin-5: what its absence in aves can tell us and how it can be used. *Bmc Evolutionary Biology*, 2018. **18**.
189. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 2000. **408(6809)**: p. 239-247.
190. Neumann CA, Cao J, Manevich Y. Peroxiredoxin 1 and its role in cell signaling. *Cell Cycle*, 2009. **8(24)**: p. 4072-8.
191. Rhee SG. Cell signaling. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a necessary evil for cell signaling. *Science*, 2006. **312(5782)**: p. 1882-3.
192. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PRDX5&keywords=PRDX5>, Erişim tarihi: 25.07.2018.
193. Rhee SG, Chae HZ and Kim K. Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic Biol Med*, 2005. **38(12)**: p. 1543-52.
194. Byun JM, Kim SS, Kim KT, Kang MS, Jeong DH, Lee DS ve ark. Overexpression of peroxiredoxin-3 and -5 is a potential biomarker for prognosis in endometrial cancer. *Oncol Lett*, 2018. **15(4)**: p. 5111-5118.
195. Sensi M, Pietra G, Molla A, Nicolini G, Vegetti C, Bersani I ve ark. Peptides with dual binding specificity for HLA-A2 and HLA-E are encoded by alternatively spliced isoforms of the antioxidant enzyme peroxiredoxin 5. *Int Immunol*, 2009. **21(3)**: p. 257-68.
196. Knoops B, Goemaere J, Van der Eecken V, Declercq JP. Peroxiredoxin 5: structure, mechanism, and function of the mammalian atypical 2-Cys peroxiredoxin. *Antioxid Redox Signal*, 2011. **15(3)**: p. 817-29.
197. [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000126432;r=11:64318088-64321811;t=ENST00000265462](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000126432;r=11:64318088-64321811;t=ENST00000265462), Erişim tarihi: 25.07.2018.
198. Olmos Y, Valle I, Borniquel S, Tierrez A, Soria E, Lamas S ve ark. Mutual Dependence of Foxo3a and PGC-1 alpha in the Induction of Oxidative Stress Genes. *Journal of Biological Chemistry*, 2009. **284(21)**: p. 14476-14484.
199. Sensi M, Pietra G, Molla A, Nicolini G, Vegetti C, Bersani I ve ark. Peptides with dual binding specificity for HLA-A2 and HLA-E are encoded by alternatively spliced isoforms of the antioxidant enzyme peroxiredoxin 5. *International Immunology*, 2009. **21(3)**: p. 257-268.

200. Knoop B, Goemaere J, Van der Eecken V, Declercq JP. Silencing of peroxiredoxin 3 and peroxiredoxin 5 reveals the role of mitochondrial peroxiredoxins in the protection of human neuroblastoma SH-SY5Y cells toward MPP+. *Neurosci Lett*, 2008. **433(3)**: p. 219-24.
201. Kim B, Park J, Chang KT, Lee DS. Peroxiredoxin 5 prevents amyloid-beta oligomer-induced neuronal cell death by inhibiting ERK-Drp1-mediated mitochondrial fragmentation. *Free Radic Biol Med*, 2016. **90**: p. 184-94.
202. Shiota M, Izumi H, Miyamoto N, Onitsuka T, Kashiwagi E, Kidani A ve ark. Ets regulates peroxiredoxin1 and 5 expressions through their interaction with the high-mobility group protein B1. *Cancer Science*, 2008. **99(10)**: p. 1950-1959.
203. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PTPN6#diseases>, Erişim tarihi: 25.07.2018.
204. Abram CL, Lowell CA. Shp1 function in myeloid cells. *J Leukoc Biol*, 2017. **102(3)**: p. 657-675.
205. Tonks NK. Protein tyrosine phosphatases: from genes, to function, to disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006. **7(11)**: p. 833-46.
206. Julien SG, Dubé N, Hardy S, Tremblay ML. Inside the human cancer tyrosine phosphatome. *Nat Rev Cancer*, 2011. **11(1)**: p. 35-49.
207. Dempke WCM, Uciechowski P, Fenchel K, Chevassut T. Targeting SHP-1, 2 and SHIP Pathways: A Novel Strategy for Cancer Treatment? *Oncology*, 2018. **95(5)**: p. 257-269.
208. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5777>, 25.07.2018.
209. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PTPN6&keywords=ptpn6>, Erişim tarihi: 25.07.2018.
210. [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000111679;r=12:6946468-6961316;t=ENST00000318974](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000111679;r=12:6946468-6961316;t=ENST00000318974), Erişim tarihi: 25.07.2018.
211. Watson HA, Wehenkel S, Matthews J, Ager A. SHP-1: the next checkpoint target for cancer immunotherapy? *Biochem Soc Trans*, 2016. **44(2)**: p. 356-62.
212. Atanackovic D, Radhakrishnan SV, Bhardwaj N, Luetkens T. Chimeric Antigen Receptor (CAR) therapy for multiple myeloma. *Br J Haematol*, 2016. **172(5)**: p. 685-98.
213. Zeng LF, Zhang RY, Yu ZH, Li S, Wu L, Gunawan A ve ark. Therapeutic potential of targeting the oncogenic SHP2 phosphatase. *J Med Chem*, 2014. **57(15)**: p. 6594-609.
214. Darnell JE. Transcription factors as targets for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 2002. **2(10)**: p. 740-749.
215. Aggarwal BB, Sethi G, Ahn KS, Sandur SK, Pandey MK, Kunnumakkara AB ve ark. Targeting signal-transducer-and-activator-of-transcription-3 for prevention and therapy of cancer: modern target but ancient solution. *Ann N Y Acad Sci*, 2006. **1091**: p. 151-69.
216. Lee JH, Chiang SY, Nam D, Chung WS, Lee J, Na YS ve ark. Capillarisin inhibits constitutive and inducible STAT3 activation through induction of SHP-1 and SHP-2 tyrosine phosphatases. *Cancer Lett*, 2014. **345(1)**: p. 140-8.
217. Han S, Lee JH, Kim C, Nam D, Chung WS, Lee SG ve ark. Capillarisin inhibits iNOS, COX-2 expression, and proinflammatory cytokines in LPS-induced RAW 264.7 macrophages via the suppression of ERK, JNK, and NF-kappaB activation. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2013. **35(1)**: p. 34-42.

218. Pandey MK, Sung B, Aggarwal BB. Betulinic acid suppresses STAT3 activation pathway through induction of protein tyrosine phosphatase SHP-1 in human multiple myeloma cells. *International Journal of Cancer*, 2010. **127(2)**: p. 282-292.
219. Srikakulam R, Winkelmann DA. Chaperone-mediated folding and assembly of myosin in striated muscle. *Journal of Cell Science*, 2004. **117(4)**: p. 641-652.
220. Hawkins TA, Haramis AP, Etard C, Prodromou C, Vaughan CK ve ark. The ATPase-dependent chaperoning activity of Hsp90a regulates thick filament formation and integration during skeletal muscle myofibrillogenesis. *Development*, 2008. **135(6)**: p. 1147-1156.
221. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=UNC45B&keywords=UNC45B>, Erişim tarihi: 25.07.2018.
222. [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000141161;r=17:35147817-35189345;t=ENST00000268876](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Summary?db=core;g=ENSG00000141161;r=17:35147817-35189345;t=ENST00000268876), Erişim tarihi: 25.07.2018.
223. Paone C, Rudeck S, Etard C, Strähle U, Rottbauer W, Just S. Loss of zebrafish Smyd1a interferes with myofibrillar integrity without triggering the misfolded myosin response. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018. **496(2)**: p. 339-345.
224. Etard C ve ark. Loss of function of myosin chaperones triggers Hsf1-mediated transcriptional response in skeletal muscle cells. *Genome Biology*, 2015. **16**.
225. Kachur T, Ao W, Berger J, Pilgrim D. Maternal UNC-45 is involved in cytokinesis and colocalizes with non-muscle myosin in the early *Caenorhabditis elegans* embryo. *Journal of Cell Science*, 2004. **117(22)**: p. 5313-5321.
226. Etard C, Behra M, Fischer N, Hutcheson D, Geisler R, Strähle U. The UCS factor Steif/Unc-45b interacts with the heat shock protein Hsp90a during myofibrillogenesis. *Dev Biol*, 2007. **308(1)**: p. 133-43.
227. Bernick EP, Zhang PJ, Du S. Knockdown and overexpression of Unc-45b result in defective myofibril organization in skeletal muscles of zebrafish embryos. *BMC Cell Biol*, 2010. **11**: p. 70.
228. Wohlgemuth SL, Crawford BD, Pilgrim DB. The myosin co-chaperone UNC-45 is required for skeletal and cardiac muscle function in zebrafish. *Developmental Biology*, 2007. **303(2)**: p. 483-492.
229. Hansen L, Comyn S, Mang Y, Lind-Thomsen A, Myhre L, Jean F ve ark. The myosin chaperone UNC45B is involved in lens development and autosomal dominant juvenile cataract. *European Journal of Human Genetics*, 2014. **22(11)**: p. 1290-1297.
230. Srikakulam R, Liu L, Winkelmann DA. Unc45b forms a cytosolic complex with Hsp90 and targets the unfolded myosin motor domain. *PLoS One*, 2008. **3(5)**: p. e2137.
231. Kwartler CS, Chen J, Thakur D, Li S, Baskin K, Wang S ve ark. Overexpression of smooth muscle myosin heavy chain leads to activation of the unfolded protein response and autophagic turnover of thick filament-associated proteins in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 2014. **289(20)**: p. 14075-88.
232. Stanley BA, Liu P, Kirshenbaum LA, Van Eyk JE. Proteomic analysis of ischemic heart failure patients reveals increases in a myosin assembly protein (UNC-45). *Circulation Research*, 2005. **97(2)**.

233. Wagner GP, Kin K, Lynch VJ. Measurement of mRNA abundance using RNA-seq data: RPKM measure is inconsistent among samples. *Theory in Biosciences*, 2012. **131(4)**: p. 281-285.
234. <https://string-db.org/cgi/network.pl?taskId=kdlWg2OFnGLE>, Erişim: 18.11.2018.
235. Suer I ve ark. Characterization of stem-like cells directly isolated from freshly resected laryngeal squamous cell carcinoma specimens. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2014. **9(4)**: p. 347-53.
236. Pavlidis P, Noble WS. Matrix2png: a utility for visualizing matrix data. *Bioinformatics*, 2003. **19(2)**: p. 295-6.
237. Ghobrial IM, Detappe A, Anderson KC, Steensma DP. The bone-marrow niche in MDS and MGUS: implications for AML and MM. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2018. **15(4)**: p. 219-233.
238. du Pont SR ve ark. Genomics of Multiple Myeloma. *Journal of Clinical Oncology*, 2017. **35(9)**: p. 963-967.
239. Ueda Y, Enomoto T, Kimura T, Miyatake T, Yoshino K, Fujita M ve ark. Serum biomarkers for early detection of gynecologic cancers. *Cancers (Basel)*, 2010. **2(2)**: p. 1312-27.
240. Su H, Na N, Zhang X, Zhao Y. The biological function and significance of CD74 in immune diseases. *Inflamm Res*, 2017. **66(3)**: p. 209-216.
241. Otterstrom C, Soltermann A, Opitz I, Felley-Bosco E, Weder W, Stahel RA ve ark. CD74: a new prognostic factor for patients with malignant pleural mesothelioma. *Br J Cancer*, 2014. **110(8)**: p. 2040-6.
242. Schröder B. The multifaceted roles of the invariant chain CD74-More than just a chaperone. *Biochim Biophys Acta*, 2016. **1863(6)**: p. 1269-81.
243. Choi JW, Kim Y, Lee JH, Kim YS. CD74 expression is increased in high-grade, invasive urothelial carcinoma of the bladder. *International Journal of Urology*, 2013. **20(2)**: p. 251-255.
244. Gold DV ve ark. Enhanced expression of CD74 in gastrointestinal cancers and benign tissues. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2011. **4(1)**: p. 1-12.
245. Berkova Z, Wang S, Ao X, Wise JF, Braun FK, Rezaeian AH ve ark. CD74 interferes with the expression of fas receptor on the surface of lymphoma cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2014. **33**.
246. Stein R, Mattes MJ, Cardillo TM, Hansen HJ, Chang CH, Burton J ve ark. CD74: a new candidate target for the immunotherapy of B-cell neoplasms. *Clin Cancer Res*, 2007. **13(18:2)**: p. 5556s-5563s.
247. Hertlein E, Triantafillou G, Sass EJ, Hessler JD, Zhang X, Jarjoura D ve ark. Milatuzumab immunoliposomes induce cell death in CLL by promoting accumulation of CD74 on the surface of B cells. *Blood*, 2010. **116(14)**: p. 2554-8.
248. Zonder JA, Mohrbacher AF, Singhal S, van Rhee F, Bensinger WI, Ding H ve ark. A phase 1, multicenter, open-label, dose escalation study of elotuzumab in patients with advanced multiple myeloma. *Blood*, 2012. **120(3)**: p. 552-9.
249. Frolich D, Blassfeld D, Reiter K, Giesecke C, Daridon C, Mei HE ve ark. The anti-CD74 humanized monoclonal antibody, milatuzumab, which targets the invariant chain of MHC II complexes, alters B-cell proliferation, migration, and adhesion molecule expression. *Arthritis Research & Therapy*, 2012. **14(2)**.

250. Martin P, Furman RR, Rutherford S, Ruan J, Ely S, Greenberg J ve ark. Phase I study of the anti-CD74 monoclonal antibody milatuzumab (hLL1) in patients with previously treated B-cell lymphomas. *Leukemia & Lymphoma*, 2015. **56(11)**: p. 3065-3070.
251. Chinami M, Y Yano, X Yang, S Salahuddin, K Moriyama, M Shiroishi ve ark. Binding of HTm4 to cyclin-dependent kinase (Cdk)-associated phosphatase (KAP).Cdk2.cyclin A complex enhances the phosphatase activity of KAP, dissociates cyclin A, and facilitates KAP dephosphorylation of Cdk2. *J Biol Chem*, 2005. **280(17)**: p. 17235-42.
252. Kutok JL, Yang X, Folkerth RD ve ark. The cell cycle associated protein, HTm4, is expressed in differentiating cells of the hematopoietic and central nervous system in mice. *J Mol Histol*, 2005. **36(1-2)**: p. 77-87.
253. Glennie MJ, French RR, Cragg MS, Taylor RP. Mechanisms of killing by anti-CD20 monoclonal antibodies. *Mol Immunol*, 2007. **44(16)**: p. 3823-37.
254. Beers SA, Chan CHT, French RR, Cragg MS, Glennie MJ. CD20 as a Target for Therapeutic Type I and II Monoclonal Antibodies. *Seminars in Hematology*, 2010. **47(2)**: p. 107-114.
255. Jiang M, Zou X, Huang W. Ecotropic viral integration site 1 regulates the progression of acute myeloid leukemia via MS4A3-mediated TGFbeta/EMT signaling pathway. *Oncol Lett*, 2018. **16(2)**: p. 2701-2708.
256. Ishibashi T, Yokota T, Satoh Y, Ichii M, Sudo T, Doi Y ve ark. Identification of MS4A3 as a reliable marker for early myeloid differentiation in human hematopoiesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018. **495(3)**: p. 2338-2343.
257. Morgan GJ, Walker BA, Davies FE. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer*, 2012. **12(5)**: p. 335-48.
258. Chim CS, Fung TK, Cheung WC, Liang R, Kwong YL. SOCS1 and SHP1 hypermethylation in multiple myeloma: implications for epigenetic activation of the Jak/STAT pathway. *Blood*, 2004. **103(12)**: p. 4630-5.
259. Beldi-Ferchiou A, Skouri N, Ben Ali C, Safra I, Abdelkefi A, Ladeb S. Abnormal repression of SHP-1, SHP-2 and SOCS-1 transcription sustains the activation of the JAK/STAT3 pathway and the progression of the disease in multiple myeloma. *PLoS One*, 2017. **12(4)**: p. e0174835.
260. Stanganelli C, Arbelbide J, Fantl DB, Corrado C, Slavutsky I. DNA methylation analysis of tumor suppressor genes in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Ann Hematol*, 2010. **89(2)**: p. 191-9.
261. Landsverk ML, Li S, Hutagalung AH, Najafov A, Hoppe T, Barral JM ve ark. The UNC-45 chaperone mediates sarcomere assembly through myosin degradation in *Caenorhabditis elegans*. *J Cell Biol*, 2007. **177(2)**: p. 205-10.
262. Myhre JL, Hills JA, Jean F, Pilgrim DB. Unc45b is essential for early myofibrillogenesis and costamere formation in zebrafish. *Developmental Biology*, 2014. **390(1)**: p. 26-40.
263. Lee CF, Melkani GC, Bernstein SI. The UNC-45 Myosin Chaperone: From Worms to Flies to Vertebrates. *International Review of Cell and Molecular Biology*, Vol 313, 2014. **313**: p. 103-144.
264. Price MG, Landsverk ML, Barral JM, Epstein HF. Two mammalian UNC-45 isoforms are related to distinct cytoskeletal and muscle-specific functions. *Journal of Cell Science*, 2002. **115(21)**: p. 4013-4023.

265. Melkani GC, Lee CF, Cammarato A, Bernstein SI. Drosophila UNC-45 prevents heat-induced aggregation of skeletal muscle myosin and facilitates refolding of citrate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010. **396(2)**: p. 317-322.
266. Ni W, Hutagalung AH, Li S, Epstein HF. The myosin-binding UCS domain but not the Hsp90-binding TPR domain of the UNC-45 chaperone is essential for function in *Caenorhabditis elegans*. *J Cell Sci*, 2011. **124(18)**: p. 3164-73.
267. Barral JM, Hutagalung AH, Brinker A, Hartl FU, Epstein HF. Role of the myosin assembly protein UNC-45 as a molecular chaperone for myosin. *Science*, 2002. **295(5555)**: p. 669-671.
268. Gazda L, Pokrzywa W, Hellerschmied D, Lowe T, Forne I, Mueller-Planitz F ve ark. The Myosin Chaperone UNC-45 Is Organized in Tandem Modules to Support Myofilament Formation in *C. elegans*. *Cell*, 2013. **152(1-2)**: p. 183-195.
269. Bazzaro M, Santillan A, Lin Z, Tang T, Lee MK, Bristow RE ve ark. Myosin II co-chaperone general cell UNC-45 overexpression is associated with ovarian cancer, rapid proliferation, and motility. *American Journal of Pathology*, 2007. **171(5)**: p. 1640-1649.
270. Guo W, Chen D, Fan Z, Epstein HF. Differential Turnover of Myosin Chaperone UNC-45A Isoforms Increases in Metastatic Human Breast Cancer. *Journal of Molecular Biology*, 2011. **412(3)**: p. 365-378.
271. Melkani GC, Trujillo AS, Ramos R, Bodmer R, Bernstein SI, Ocorr K. Huntington's disease induced cardiac amyloidosis is reversed by modulating protein folding and oxidative stress pathways in the *Drosophila* heart. *PLoS Genet*, 2013. **9(12)**: p. e1004024.
272. Lee CF, Melkani GC, Bernstein SI. The UNC-45 myosin chaperone: from worms to flies to vertebrates. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2014. **313**: p. 103-44.
273. Campos-Melo D, Droppelmann CA, Volkening K, Strong MJ. RNA-binding proteins as molecular links between cancer and neurodegeneration. *Biogerontology*, 2014. **15(6)**: p. 587-610.
274. Rabbitts TH, Forster A, Larson R, Nathan P. Fusion of the dominant negative transcription regulator CHOP with a novel gene FUS by translocation t(12;16) in malignant liposarcoma. *Nat Genet*, 1993. **4(2)**: p. 175-80.
275. LawWJ, Cann KL, Hicks GG. TLS, EWS and TAF15: a model for transcriptional integration of gene expression. *Brief Funct Genomic Proteomic*, 2006. **5(1)**: p. 8-14.
276. Ichikawa H, Shimizu K, Hayashi Y, Ohki M. An RNA-binding protein gene, TLS/FUS, is fused to ERG in human myeloid leukemia with t(16;21) chromosomal translocation. *Cancer Res*, 1994. **54(11)**: p. 2865-8.
277. Brooke GN ve ark. FUS/TLS Is a Novel Mediator of Androgen-Dependent Cell-Cycle Progression and Prostate Cancer Growth. *Cancer Research*, 2011. **71(3)**: p. 914-924.
278. Haile S, Lal A, Myung JK, Sadar MD. FUS/TLS is a co-activator of androgen receptor in prostate cancer cells. *PLoS One*, 2011. **6(9)**: p. e24197.
279. Zhu H, Belcher M, van der Harst P. Healthy aging and disease: role for telomere biology? *Clin Sci (Lond)*, 2011. **120(10)**: p. 427-40.
280. Takahama K, Takada A, Tada S, Shimizu M, Sayama K, Kurokawa R ve ark. Regulation of telomere length by G-quadruplex telomere DNA- and TERRA-binding protein TLS/FUS. *Chem Biol*, 2013. **20(3)**: p. 341-50.

281. Zhou BB, Elledge SJ. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective (Reprinted from Nature, vol 408, pg 433-439, 2001). *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2001: p. S25-S31.
282. Fu M, Wang C, Li Z, Sakamaki T, Pestell R. Minireview: Cyclin D1: Normal and abnormal functions. *Endocrinology*, 2004. **145(12)**: p. 5439-5447.
283. Wang X, Arai S, Song X, Reichart D, Du K, Pascual G ve ark. Induced ncRNAs allosterically modify RNA-binding proteins in cis to inhibit transcription. *Nature*, 2008. **454(7200)**: p. 126-U11.
284. Schwartz JC, Cech TR, Parker RR. Cech, and R.R. Parker, Biochemical Properties and Biological Functions of FET Proteins. *Annual Review of Biochemistry*, Vol 84, 2015. **84**: p. 355-379.
285. Ivashchenko O, Van Veldhoven PP, Brees C, Ho Y, Terlecky SR, Fransen M. Intraperoxisomal redox balance in mammalian cells: oxidative stress and interorganellar cross-talk. *Molecular Biology of the Cell*, 2011. **22(9)**: p. 1440-1451.
286. Islinger M, Grille S, Fahimi HD, Schrader M. The peroxisome: an update on mysteries. *Histochemistry and Cell Biology*, 2012. **137(5)**: p. 547-574.
287. Walbreccq G, Wang B, Becker S, Hannotiau A, Fransen M, Knoops B. Antioxidant cytoprotection by peroxisomal peroxiredoxin-5. *Free Radical Biology and Medicine*, 2015. **84**: p. 215-226.
288. Li L, Zhang YG, Chen CL. Anti-apoptotic role of peroxiredoxin III in cervical cancer cells. *Febs Open Bio*, 2013. **3**: p. 51-54.
289. Whitaker HC, Patel D, Howat WJ, Warren AY, Kay JD, Sangan T. Peroxiredoxin-3 is overexpressed in prostate cancer and promotes cancer cell survival by protecting cells from oxidative stress. *British Journal of Cancer*, 2013. **109(4)**: p. 983-993.
290. Tehan L, Taparra K, Phelan S. Peroxiredoxin Overexpression in MCF-7 Breast Cancer Cells and Regulation by Cell Proliferation and Oxidative Stress. *Cancer Investigation*, 2013. **31(6)**: p. 374-384.
291. Kim B, Kim YS, Ahn HM, Lee HJ, Jung MK, Jeong HY. Peroxiredoxin 5 overexpression enhances tumorigenicity and correlates with poor prognosis in gastric cancer. *International Journal of Oncology*, 2017. **51(1)**: p. 298-306.
292. Ahn HM, Yoo JW, Lee S, Lee HJ, Lee HS, Lee DS. Peroxiredoxin 5 promotes the epithelial-mesenchymal transition in colon cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017. **487(3)**: p. 580-586.
293. Yo YD, Chung YM, Park JK, Ahn CM, Kim SK, Kim HJ. Synergistic effect of peroxiredoxin II antisense on cisplatin-induced cell death. *Experimental and Molecular Medicine*, 2002. **34(4)**: p. 273-277.
294. Byun JM, Kim SS, Kim KT, Kang MS, Jeong DH, Lee DS ve ark. Overexpression of peroxiredoxin-3 and-5 is a potential biomarker for prognosis in endometrial cancer. *Oncology Letters*, 2018. **15(4)**: p. 5111-5118.
295. Song IS, Kim HK, Jeong SH, Lee SR, Kim N, Rhee BD ve ark. Mitochondrial Peroxiredoxin III is a Potential Target for Cancer Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011. **12(10)**: p. 7163-7185.
296. Knoops B, Goemaere J, Van der Eecken V, Declercq JP. Peroxiredoxin 5: Structure, Mechanism, and Function of the Mammalian Atypical 2-Cys Peroxiredoxin. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2011. **15(3)**: p. 817-829.

297. Kropotov A, Gogvadze V, Shupliakov O, Tomilin N, Serikov VB, Tomilin NV ve ark. Peroxiredoxin V is essential for protection against apoptosis in human lung carcinoma cells. *Experimental Cell Research*, 2006. **312(15)**: p. 2806-2815.
298. Ren L, Yang HY, Choi HI, Chung KJ, Yang U, Lee IK ve ark. The Role of Peroxiredoxin V in (-)-Epigallocatechin 3-gallate-Induced Multiple Myeloma Cell Death. *Oncology Research*, 2011. **19(8-9)**: p. 391-398.



## FORMLAR

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
TIBBİ GENETİK BİLİM DALI**

### MOLEKÜLER ARAŞTIRMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

**Araştırmanın Adı:** Multiple Myeloma Hastalarında PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 ve UNC45B Genlerinin Ekspresyon Analizi

**Hastalık Adı:** Multiple Myeloma

**Araştırmanın süresi:** 2 yıl

**Versiyon no:**

**Tarih:**

**Araştırmanın konusu:** Multiple Myeloma, kemik iliğinin kanseridir. Nedeni immün (bağışıklık) sisteminde görevli beyaz kan hücreleri'nin (lökositler, vücudun savunma ve bağışıklık sisteminde görevli olan hücrelerdir) bir türü olan, plazma hücrelerinin kontrolsüz büyümesidir. Normalde plazma hücreleri immünoglobulin veya antikor adı verilen bağışıklık sistemine ait maddeleri üretirler. Ancak, Multiple Myeloma' da plazma hücreleri kontrolsüz bir şekilde çoğalırlar ve çok aşırı miktarda tek tip immünglobülin (antikor) üretirler. Diğer tür immünglobülinlerde ise tehlikeli düzeyde azalma meydana gelir; bu durumda hasta enfeksiyonlara karşı duyarlı hale gelir. Dahası, kanser hücreleri kemiklerde ve kemik iliklerinde toplanarak, kemik dokusunu harap eden tümörler (kitleler) meydana getirirler, bu durum kemiklerin zayıflamasına ve kırıklara neden olabilir. Multiple myeloma meme, akciğer, prostat, mide ve barsak kanserlerine göre çok daha seyrek olarak karşınıza çıkmaktadır. Genellikle ileri yaş hastalığıdır. En sık görüldüğü yaş grubu 65-70' tir. Hastalığın ilk başlarında herhangi bir şikayet olmayabilir. Bununla birlikte Multiple Myeloma geliştikçe kemik ağrıları, özellikle sırt, kaburga ve bazen de kollarıda görülmektedir. Ciddi böbrek şikayetleri, halsizlik, bulantı, kanamaların artması özellikle burun ve diş etlerinde meydana gelebilir. Tanının konmasında doktorunuzun şüphelenmesi ve kan tahlilleri yönlendiricidir. Kanser hücrelerinin kemik iliğini işgal etmesine bağlı olarak, normal kırmızı kan hücrelerinin üretimi azalır ve hastada kansızlık (anemi) ortaya çıkar. Kan testlerinde ayrıca artmış immünoglobulinlerden (antikor) dolayı protein miktarında artış saptanır. 24 saatlik idrarda hastalığa yönelik anormal proteinler saptanabilir. Vücuttaki uzun kemiklerin, kafatası ve göğüs röntgenlerinin çekilmesi myeloma tanısının konmasında destekleyici bilgiler verir ve kemiklerdeki zayıflamayı ortaya koyar. Plazma hücrelerinin anormal derecede arttığını ispatlamak için kemik iliği biyopsisi yapılmalıdır. Hastaların yaklaşık olarak %15'i tanı konulduktan sonraki ilk üç ay içinde yaşamlarını yitirirler. Çoğu hastada ise hastalık 2-5 yıl süresinde yavaş yavaş ilerlemekte ve durumun aniden kötüleştiği bir dönemle sona ermektedir.

**Araştırmanın Amacı:** Yapacağımız genetik çalışmamızda hastalığın ortaya çıkış nedenlerini anlayabilmek için Multiple Myeloma hücrelerinin tümör (kitleler)

oluşumunda etkisi olan aday genlerin ifadesini moleküler yöntemlerle incelemek istiyoruz. Sonuçta hastalığın tedavisi için yeni ilaçların geliştirilmesine olanak sağlanması bakımından bilime önemli katkıda bulunacağını düşünüyoruz. Böylece bir çalışmaya katılmak karar vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz. Aşağıdaki **Moleküler Araştırmalar için Bilgilendirilmiş Olur Formunu** okuduktan sonra çalışmaya katılma karar verirsiniz, formu lütfen imzalayınız.

**1. Yapılacak işlemin tanımı ve izlenecek yöntem:** Araştırmanın amacı size yukarıda belirtilen hematolojik hastalığa yol açan genetik faktörleri tanımlamaktır. Bu çalışma Prof. Dr. Şükrü ÖZTÜRK tarafından yürütülecektir.

Yapılan genetik çalışmalar, bu hastalığa genetik faktörlerin yol açabileceğini düşündürmektedir. Hastalığa neden olan gen ve genlerin tanımlanabilmesi amacı ile yapılacak analizler için sizden kemik iliği örneği alınmanız gerekecektir. Eldeki örneklerin yetersiz olması ya da kullanılamaması durumunda sizden yeniden doku (kemik iliği) örnekleri istenmeyecektir, sadece rutin analiz için gönderilecek olan materyalde araştırmalar yapılacaktır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmada gönüllü katılım esas alınmıştır.

## 2. Olası riskler ve faydalar:

Kemik iliği alınması sırasında oluşabilecek riskler:

- (1) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyulması.
- (2) İğne batması sonrasında çok nadiren enfeksiyon gelişebilir.

Yapılacak genetik çalışmada getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilgi kesinlikle gizli kalacaktır. Ancak yaptığımız testlerin sizin veya ailenizin bir bireyinin gelecekte bu genetik hastalıktan etkileneceğini ortaya çıkarabileceğini belirtmek isteriz. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizde psikolojik sorun da yaratabilir. Sizde böyle bir gen bulunduğunu saptadığımızda bulgularımızı istediğiniz takdirde size bildireceğiz. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninize bağlı olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne ya da babanın biyolojik kimliğinin saptanmasıdır. Bu durumlarda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Olası yararlar: Bu çalışmanın esas amacı sizde saptanan Multiple Myeloma hastalığına neden olan veya ortaya çıkmasını kolaylaştıran genetik faktörleri öğrenmektir. Biz bu aşamada size doğrudan ya da dolaylı bir yarannın olup olmayacağını henüz bilmemekteyiz. Fakat kesin olan bu hastalığın nedenleri konusunda daha çok şey öğrenebileceğimiz ve böylece gelecekte diğer hastalara daha çok yardımcı olabileceğimizeyizdir.

Diğer seçenekler: Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

**İzin:** Sayın Dr ..... tarafından ..... (kurum adı) ..... (anabilim dalı adı, ünite adı vb.)' da tıbbi bir araştırma

yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. .... (Doktor ismi),

..... (telefon ve adres)' ten arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersen, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde 'katılımcı (denek)' olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

#### **GÖNÜLLÜ ONAY FORMU**

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı-İmzası-Tarih .....

Tanık olan kişinin Adı-Soyadı-İmzası-Tarih .....

Araştırmacının Adı-Soyadı-İmzası-Tarih .....

## ETİK KURUL KARARI



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 1521

Konu : Prof. Dr. Şükrü ÖZTÜRK hk.

Tarih : 28.12.2016

Sayın Prof. Dr. Şükrü ÖZTÜRK  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

İlgi : İç Hastalıkları Anabilim Dalının 16/12/2016 gün ve 454488 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Doktora Öğrencisi İlnur SUER' in yürüteceği 2016/1346 dosya numaralı "Multiple Myeloma Tüm Genom Transkriptom Datasının Biyoinformatik Analizi Sonucunda Elde Edilen Yolaklardan Sinyal İletimi ve İmmun Sistem İle İlgili Genlerin Konfirmasyonu" başlıklı çalışma kurulumuzun 25/11/2016 gün ve 20 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuştur.

İlgi değişikliği isteminiz, Çalışmanın ismi "Multiple Myeloma Hastalarında PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 ve UNC45B Genlerinin Ekspresyon Analizi" olarak değişmesi hakkında, kurulumuzun 23/12/2016 tarih ve 22 sayılı toplantısında yeniden görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar

Etik Kurul Başkanı

## İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

### MULTİPLE MYELOMA HASTALARINDA PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 VE UNC45B GENLERİNİN EKSPRESYON ANALİZİ

#### ORJİNALLIK RAPORU

|                   |                     |            |                  |
|-------------------|---------------------|------------|------------------|
| % <b>1</b>        | % <b>1</b>          | % <b>1</b> | % <b>0</b>       |
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR   | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

|          |                                                                                                                                                                                                                    |             |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>1</b> | <b>birimler.dpu.edu.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                     | <% <b>1</b> |
| <b>2</b> | <b>polen.itu.edu.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                                                                                                                                                        | <% <b>1</b> |
| <b>3</b> | <b>TOYGAR, Şükrü Anıl, AKYÜREK, Çağdaş Erkan and TURAÇ, İlkay Sevinç. "HASTA HAKLARI UYGULAMALARINA İLİŞKİN TARAFLARIN GÖRÜŞLERİ: BİR EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ ÖRNEĞİ", Gazi Üniversitesi, 2015.</b><br>Yayın | <% <b>1</b> |
| <b>4</b> | <b>"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015</b><br>Yayın                                                                                                                        | <% <b>1</b> |
| <b>5</b> | <b>Ozge Can Kaplan, Dilek Betül Arslan, Sevim Cengiz, Anı Kıcık et al. "Determination of Diffusion Weighted Magnetic Resonance</b>                                                                                 | <% <b>1</b> |

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

|                 |                                                                |                  |            |
|-----------------|----------------------------------------------------------------|------------------|------------|
| <b>Adı</b>      | İlknur                                                         | <b>Soyadı</b>    | SUER       |
| <b>Doğ.Yeri</b> | Erzincan                                                       | <b>Doğ.Tar.</b>  | 20.01.1987 |
| <b>Uyruğu</b>   | T.C                                                            | <b>TC Kim No</b> |            |
| <b>Email</b>    | <a href="mailto:ilknursuer@gmail.com">ilknursuer@gmail.com</a> | <b>Tel</b>       |            |

### Eğitim Düzeyi

|                 | Mezun Olduğu Kurumun Adı              | Mez. Yılı |
|-----------------|---------------------------------------|-----------|
| <b>Doktora</b>  | İstanbul Üniversitesi                 | 2018      |
| <b>Yük.Lis.</b> | İstanbul Üniversitesi                 | 2014      |
| <b>Lisans</b>   | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi      | 2009      |
| <b>Lise</b>     | Yabancı Dil Ağırlıklı Kurtuluş Lisesi | 2004      |

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

|    | Görevi | Kurum | Süre (Yıl - Yıl) |
|----|--------|-------|------------------|
| 1. |        |       | -                |
| 2. |        |       | -                |
| 3. |        |       | -                |

| Yabancı Dilleri | Okuduğunu Anlama* | Konuşma* | Yazma* | KPDS/ÜDS Puanı | (Diğer) Puanı |
|-----------------|-------------------|----------|--------|----------------|---------------|
|                 |                   |          |        |                |               |
|                 |                   |          |        |                |               |

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

|                      | Sayısal | Eşit Ağırlık | Sözel |
|----------------------|---------|--------------|-------|
| <b>LES Puanı</b>     |         |              |       |
| <b>(Diğer) Puanı</b> |         |              |       |

### Bilgisayar Bilgisi

| Program | Kullanma becerisi |
|---------|-------------------|
|         |                   |
|         |                   |
|         |                   |

### Yayınları/Tebligleri/Sertifikalari/Ödülleri

- Serhat Seveli, Esra Aydemir, Sukru Gulluoğlu, **Ilknur Suer**, Omer Faruk Bayrak, Mustafa Ozen- MicroRNA profiling in prostate cancer cell lines expressing cancer stem cell markers- Clinical Genetics **2010**; 78 (Suppl. 1): 90-94 (Poster)
- Ozen M, Karatas OF, **Suer I**, Yuceturk B, Yilmaz M, Cansiz H, Ittmann M- mir-145 regulates stem cell characteristics of human laryngeal squamous cell carcinoma- ASHG-**2014**- (Poster)
- **Suer I**, Karatas OF, Yuceturk B, Yilmaz M, Guven G, Buge O, Cansiz H, Ozen M.Characterization of stem-like cells directly isolated from freshly resected laryngeal squamous cell carcinoma specimens. Curr Stem Cell Res Ther. **2014**;9(4):347-53. PMID: 24678693
- Karatas OF, Guzel E, **Suer I**, Ekici ID, Caskurlu T, Creighton CJ, Ittmann M, Ozen M. miR-1 and miR-133b are differentially expressed in patients with recurrent prostate cancer. PLoS One. **2014** Jun 26;9(6):e98675. doi: 10.1371/journal.pone.0098675. PMID: 24967583
- Yilmaz M, **Suer I**, Karatas OF, Ozen M - LOXL4 Expression in Normal and Tumor Tissue Samples of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma- Tıbbi Genetik Kongresi-**2015**- (Poster)
- B Yüçetürk, **İ Suer**, ES Aslan, M Özen. Genetik Miras. Türkiye Klinikleri Journal of Nutrition and Dietetics-Special Topics 1 (3), 6-10.
- **İ Suer**, R Çelik, A Yüksel. İnsan Genomunun Gizemleri. Türkiye Klinikleri Journal of Nutrition and Dietetics-Special Topics 1 (3), 1-5
- M Yilmaz, **I Suer**, OF Karatas, H Cansiz, M Ozen. Differential expression of LOXL 4 in normal and tumour tissue samples of laryngeal squamous cell carcinoma Clinical Otolaryngology 41 (3), 206-210.
- Karatas OF, Yuceturk B, **Suer I**, Yilmaz M, Cansiz H, Solak M, Ittmann M, Ozen M. Role of miR-145 in human laryngeal squamous cell carcinoma. Head Neck. **2016** Feb;38(2):260-6. doi: 10.1002/hed.23890. PMID: 26083661
- Karatas OF, **Suer I**, Yuceturk B, Yilmaz M, Hajiyev Y, Creighton CJ, Ittmann M, Ozen M. The role of miR-145 in stem cell characteristics of

human laryngeal squamous cell carcinoma Hep-2 cells. *Tumour Biol.* **2016** Mar;37(3):4183-92. doi: 10.1007/s13277-015-4219-z. PMID: 26490990

- Karatas OF, **Suer I**, Yuceturk B, Yilmaz M, Oz B, Guven G, Cansiz H, Creighton CJ, Ittmann M, Ozen M. Identification of microRNA profile specific to cancer stem-like cells directly isolated from human larynx cancer specimens. *BMC Cancer.* **2016** Nov 5;16(1):853. PMID: 27816053
- **Suer**, A. Koparır, R. Celik, A. Onul, M. Ozen, A. Yuksel- Revealing a novel mutation in GALC gene with Krabbe disease- ASHG-**2016**- (Poster)
- Ozen M, Karatas OF, **Suer I**, Yuceturk B, Yilmaz M, Oz B, Guven G, Cansiz H, Creighton C.J, Ittmann M.- Identification of microRNAs differentially expressed in Human Larynx Cancer Stem-Like Cells- - ASHG-**2016**- (Sözlü Sunum)
- Celik R, **Suer I**, Koparır A, Onul A, Yüksel A, Ozen M- Delineation of a Marker Chromosome by aCGH in a Patient with Undiagnosed Intellectual Disabilities and Neurodevelopmental Disorder- ASHG-**2016**- (Poster)
- **İlknur Suer**, Murat Kaya, Gulcin Bagatır Ozan, Birsen Karaman, Kıvanc Cefle, Sukru Ozturk, Sukru Palanduz- A Novel Insertional Translocation in a Patient with Infertility and Undiagnosed Mild Intellectual Disability- Erciyes Tıp Genetik Günleri- Kayseri **2018**- (Poster)
- Murat Kaya, **İlknur Suer**, Gulcin Bagatır Ozan, Kıvanc Cefle, Sukru Ozturk, Sukru Palanduz- Chromosome abnormalities of idic(Y)(q11.2) in Infertility- Erciyes Tıp Genetik Günleri- Kayseri **2018**- (Sözlü Sunum)
- Gülçin Bağatır Ozan, Murat Kaya, Burak Dön, **İlknur Suer**, Meliha Nalçacı, Mustafa Yenerel, Kıvanç Çefle, Ali Uçur, Ayşegül Bayrak, Şükrü Öztürk, Şükrü Palanduz- Akut Myeloid Lösemi ve 3q Kromozomal Yeniden Düzenlenmeleri- 3.Ulusal Uygulamalı Biyolojik Bilimler Kongresi (UBBK)- Eskişehir **2018**- (Sözlü Sunum)
- **İlknur Suer**, Ömer Faruk Karataş, Murat Kaya, Şükrü Öztürk- Larenks Kanseri Primer Hücre Kültüründe Oluşturulan Küre (Sphere)’lerde Oct4 ve Klf4 Ekspresyon Analizi- 7. Kök Hücre Sempozyumu- İstanbul **2018**- (Sözlü Sunum)
- **Suer I**, Guzel E, Karatas OF, Creighton CJ, Ittmann M, Ozen M. MicroRNAs as prognostic markers in prostate cancer. *The Prostate.* 2018;1–7. PMID: 30345533