

MELDA SARIMAN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2020

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

(DOKTORA TEZİ)

**MULTİPLE MYELOMA TÜM GENOM TRANSKRİPTOM
DATASININ BİYOENFORMATİK ANALİZİ İLE
BELİRLENEN OLASI İLİŞKİLİ GENLERİN
ARAŞTIRILMASI**

MELDA SARIMAN

**DANIŞMAN
DOÇ.DR.NESLİHAN ABACI**

**GENETİK ANABİLİMDALI
GENETİK PROGRAMI**

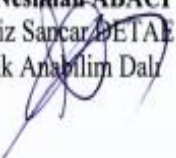
İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

DOKTORA TEZİ ONAYI

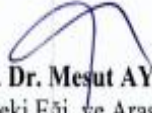
İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı, Genetik Programında Doktora öğrencisi Melda SARIMAN tarafından Doç. Dr. Neslihan ABACI'nın danışmanlığında hazırlanan "Multiple Myeloma Tüm Genom Transkriptom Datasının Biyoenformatik Analizi İle Belirlenen Olası İlişkili Genlerin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 17/01/2020 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.


Doç. Dr. Neslihan ABACI
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Genetik Anabilim Dalı


Doç. Dr. Sema SIRMA EKMEKÇİ
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Genetik Anabilim Dalı


Doç. Dr. Emel ERGÜL
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fak.
Tıbbi Biyoloji A.D.


Doç. Dr. Mesut AYER
S.B.Ü. Haseki Eği. ve Araş. Hastanesi
Hematoloji Bilim 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.

MELDA SARIMAN

(İmza)


İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Doktora sürecimde, bana her zaman ilgi ve sevgiyle yaklaşarak her konuda desteklerini esirgemeyen, tez çalışmam ve projeler dahil her türlü bilimsel imkanı sağlayan, üstün tecrübe ve donanımlı bilgilerinden faydalandığım, hayatımın akademik sürecini şekillendirmemde sağladıkları katkı ve emeklerinden dolayı değerli hocalarım Sayın Doç.Dr.Neslihan Abacı ve Sayın Doç.Dr.Sema Sırma Ekmekçi'ye,

Tez çalışmamda izleme komitesinde yer alan Sayın Doç.Dr.Emel Ergül'e,

Akademik hayata başladığım günden beri her daim desteğini ve sevgilerini gösteren,yüksek lisans çalışmamda sağladıkları akademik imkan ve olanaklar ile her zaman bir parçası olarak hissettiğim İç Hastalıkları AB,Tıbbi Genetik Bilimdalındaki başta değerli hocalarım Sayın Prof.Dr.Şükrü Palanduz,Sayın Prof.Dr.Şükrü Öztürk, Sayın Prof.Dr.Kıvanç Çefle'ye ve tüm Tıbbi Genetik ekibine,

Doktora sürecime başladığım günden beri akademik deneyimlerini esirgemeyen,her daim gülyüzlü,her zaman arkadaşlık, dostluk bağlarını kuvvetle hissettiren değerli Genetik LabII'nin temel taşlarından Dr.Aris Çakiris,Dr.Ferda Paçal ile tez aşamamda sorduğum tüm sorulara cevapsız bırakmayarak her konuda her zaman destek olan Dr.Zeliha Emrence ve Msc Burcu Salman'a

Lab2 ekibinde, tezimin deney aşamalarımda bana destek olan Msc Büşra Karaçam, tüm yüksek lisans öğrencileri ile tez örneklerini benimle paylaşarak sürecime destek olan Dr.İlknur Suer'e

Tez çalışmamda hasta ve kontrol grubumu oluşturmamda bana yardımcı olan her zaman gülyüzlü, hep destek tam destek sağlayan değerli abim Sayın Doç.Dr.Mesut Ayer'e, S.B.Ü Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Bölümü hemşire ve tüm çalışanlarına ve çalışmanın yapılabilmesi için izinleri sağlayan S.B.Ü Haseki Hastanesi Başhekimliğine,

Tez çalışmamda sorularıma sabırla cevap veren, bu süreçte desteklerini esirgemeyen Dr.ÖğretimÜyesi Burçin Güngör, Msc Merve Erkısa, Msc Okan Remzi Akar ve İstinye Üniversitesi kanser araştırma merkezindeki tüm çalışma ekibime,

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesini sağladığı ve bugüne kadar aldığım akademik alt yapı için Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik AD'ye ve bölümde görevli olan tüm hocalarıma,

Hayatta her daim bana olan inançlarından hiç vazgeçmeyen, destek ve sevgilerini hayatımın tamamında hemde bu zorlu akademik süreçte bana hissettirdikleri için canım aileme,

Son olarak çalışmaya gönüllü katılarak bilime katkıda bulunan hastalarım, her zaman olduğu gibi hayatımdaki tüm varlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 30846

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
ÖZET	xvii
ABSTRACT.....	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. PLAZMA HÜCRE DİSKRAZİLERİ	3
2.1.1. Önemi Bilinmeyen Monoklonal Gammopati (MGUS)	3
2.1.2. Multiple Myeloma (MM).....	4
2.1.2.1. MM İnsidansı ve Epidemiyolojisi	4
2.1.2.2. MM Etiyolojisi	4
2.1.2.3. MM Klinik Bulguları ve Tanıda Kullanılan Laboratuvar Testleri.....	6
2.1.2.4. MM Evreleme ve Prognoz	7
2.1.2.5. MM Patogenezi	9
2.1.2.6. MM Tedavi.....	21
2.2. YENİ NESİL DİZELEME VE MULTİPLE MYELOMA TRANSKRİPTOM ÇALIŞMALARI	23
2.2.1. Aday Genlerin Belirlenmesi.....	23
2.2.1.1. TMED9	24
2.2.1.2. KDELR1	25
2.2.1.3. ISG20	26
2.2.1.4. EEF2.....	26
2.2.1.5. ERAP1.....	27
2.2.1.6. TRIB1.....	28

2.2.1.7. DPP7	29
2.2.1.8. RRP1.....	29
2.2.1.9. COPE.....	30
2.2.1.10. OTUD1.....	30
2.2.1.11. HYOU1	31
2.2.1.12. LMAN2	31
2.2.1.13. DNAJC1.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. GEREÇ	33
3.1.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması	33
3.1.2. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler.....	33
3.1.3. Kullanılan Kitler	33
3.1.4. Kullanılan Cihazlar ve Araçlar	34
3.2. YÖNTEM	34
3.2.1. Biyoenformatik Araçlar ile Aday Genlerin Belirlenmesi	35
3.2.2. Fikol- Gradienti ile Mononükleer Hücre İzolasyonu.....	36
3.2.3. RNA İzolasyonu.....	37
3.2.4. RNA Miktarının ve Kalitesinin Belirlenmesi	38
3.2.5. cDNA Sentezi	38
3.2.6. qRT-PZR Tekniği ile Gen Ekspresyon Analizi	40
3.2.7. Primer Dizaynı	41
3.2.8. İstatiksel Analizler	42
3.2.9. Biyoenformatik -R2 Platformu ile Aday Gen Ekspresyon Analizleri.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri	44
4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının RNA Konsantrasyonları ve saflık değerleri.....	46
4.3. Real Time PCR bulguları.....	48
4.4. MM, MGUS ve Kontrol Gruplarının Aday Genlerde mRNA İfadelerinin HeatMap ile Gösterimi.....	50
4.5. Genlerin İstatiksel Analiz Sonuçları	51
4.5.1. DPP7 Geni Sonuçları	51
4.5.2. KDELR1 Geni Sonuçları	53
4.5.3. COPE Geni Sonuçları	55

4.5.4. DNAJC1 Geni Sonuçları.....	57
4.5.5. ERAP1 Geni Sonuçları	59
4.5.6. HYOU1 Geni Sonuçları	61
4.5.7. TMED9 Geni Sonuçları	63
4.5.8. LMAN2 Geni Sonuçları.....	65
4.5.9. OTUD1 Geni Sonuçları	67
4.5.10. ISG20 Geni Sonuçları	69
4.5.11. RRBP1 Geni Sonuçları	71
4.5.12. EEF2 Geni Sonuçları	73
4.5.13. TRIB1 Geni Sonuçları	75
4.6. Spearman Korelasyon Analizi Bulgular	77
4.7. Biyoenformatik Database ile 13 Aday Genin Expresyon Analizi Bulguları	79
4.8. 13 Aday Genin Protein-Protein Etkileşimi	84
5. TARTIŞMA	85
KAYNAKLAR	104
FORMLAR	119
ETİK KURUL KARARI	125
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	128
ÖZGEÇMİŞ	129

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Multiple Myeloma Uluslararası Evreleme Sistemi	7
Tablo 2-2: Durine Salmon Evreleme Sistemi	8
Tablo 2-3: Multiple Myeloma da Görülen Başlıca Genomik Değişiklikler ve Klinik Etkileri	11
Tablo 3-4: Template-Primer Karışımının Hazırlanması için Gerekli Miktarlar	39
Tablo 3-5: Reverse (ters) Transkripsiyon Miksi İçin Gerekli Reaktifler Ve Miktarlar...	39
Tablo 3-6: qRT-PZR Reaktiflerin Hazırlanması	40
Tablo 3-7: qRT-PZR Sıcaklık Kosulları Ve Döngü Sayıları	40
Tablo 3-8: qRT-PZR aşamasında kullanılan 14 genin primer çiftlerine ait diziler	41
Tablo 4-9: MM-MGUS-Kontrol Gruplarının Cinsiyet Dağılımı.....	44
Tablo 4-10: Hasta ve Kontrol Grupları Demografik ve Laboratuvar Bilgileri.....	45
Tablo 4-11: MM ve MGUS Gruplarının RNA Konsantrasyon ve Saflık Değerleri.....	46
Tablo 4-12: Kontrol Grubu RNA Konsantrasyon ve Saflık Değerleri	48
Tablo 4-13: DPP7 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	51
Tablo 4-14: KDELR1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	54
Tablo 4-15: COPE Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	56
Tablo 4-16: DNAJC1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu	58
Tablo 4-17: ERAP1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	60
Tablo 4-18: HYOU1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu	62
Tablo 4-19: TMED9 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	64
Tablo 4-20: LMAN2 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu	66
Tablo 4-21: OTUD1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	68
Tablo 4-22: ISG20 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	70
Tablo 4-23: RRBP1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	72
Tablo 4-24: EEF2 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	74
Tablo 4-25: TRIB1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu.....	76
Tablo 4-26: Spearman Korelasyon Sonuçları	78
Tablo4-27: 13 Aday genin <i>In silico</i> Protein-Protein Etkileşim Analizi Bulguları.....	84

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Hematopoetik Kök Hücreden Plazma Hücresi Farklılaşması	9
Şekil 2-2: MM Oluşumunun Başlatılması ve İlerlemesi	10
Şekil 2-3: MM ve Mikroçevre İlişkisi (10).....	13
Şekil 2-4: 13 Aday Genin Kromozom Üzerindeki Lokalizasyonları	24
Şekil 3-5: Ticari Kit ile RNA İzolasyon Protokolü	38
Şekil 4-6: MM-MGUS-Kontrol Cinsiyet Dağılım Grafiği	44
Şekil 4-7: Real Time PZR Standart Eğri Grafiği	49
Şekil 4-8: Real Time PZR ile 13 Aday Genin Erime Isısı Eğrileri.....	50
Şekil 4-9: 13 Aday Genin Hasta-Kontrollerde mRNA İfadelerinin Heatmap ile Gösterimi	51
Şekil 4-10: DPP7 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	52
Şekil 4-11: DPP7 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	53
Şekil 4-12: KDELR1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	54
Şekil 4-13: KDELR1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	55
Şekil 4-14: COPE Geni Q-Q Plot Görüntüsü	56
Şekil 4-15: COPE Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	57
Şekil 4-16: DNAJC1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü.....	58
Şekil 4-17: DNAJC1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği ..	59
Şekil 4-18: ERAP1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	60
Şekil 4-19: ERAP1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	61
Şekil 4-20: HYOU1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	62
Şekil 4-21: HYOU1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği....	63
Şekil 4-22: TMED9 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	64
Şekil 4-23: TMED9 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	65
Şekil 4-24: LMAN2 Geni Q-Q Plot Görüntüsü.....	66
Şekil 4-25: LMAN2 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği...	67
Şekil 4-26: OTUD1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	68
Şekil 4-27: OTUD1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	69
Şekil 4-28: ISG20 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	70
Şekil 4-29: ISG20 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	71

Şekil 4-30: RRBP1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	72
Şekil 4-31: RRBP1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	73
Şekil 4-32: EEF2 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	74
Şekil 4-33: EEF2 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	75
Şekil 4-34: TRIB1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü	76
Şekil 4-35: TRIB1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği	77
Şekil 4-36: Mixed Bone Marrow—56 MAS5.0-U1133a Datası Aday Genlerin Ekspresyon Sonucu.....	80
Şekil 4-37: Tumor-Myeloma-Chng-161-MAS5.0-u1133a Datası Aday Genlerin Ekspresyon Sonucu.....	81
Şekil 4-38: Tumor Myeloma-Hanamura-542 MAS5.0-u1133p2 Datası Aday Genlerin Ekspresyon Sonucu.....	82
Şekil 4-39: Tumor Myeloma-Shaughnessy—78 MAS5.0-U1133p2 Datası Aday Genlerin Ekspresyon Sonucu.....	83
Şekil 4-40: 13 Aday genin <i>In silico</i> Protein-Protein Etkileşimi (101).....	84

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AKT1	AKT serin/tirozin kinaz 1
ATF6	Aktive edici transkripsiyon faktörü 6
ATM	Ataksi Telenjektazi mutated
ATR	Ataksi Telenjektazi ve Rad3-ilişkili protein
BAFF	B hücresi aktive edici faktör
BIP	İmmunoglobulin bağlayan protein
CAR-T	T hücresi kimerik antijen reseptörü
cDNA	Komplementer deoksiribonükleik asit
CDKN2C	Sikline bağımlı kinaz inhibitör 2C
CD19	Cluster of differentiation 19
CD38	Cluster of differentiation 38
CD138	Cluster of differentiation 138
CD56	Cluster of differentiation 56
CD33	Cluster of differentiation 33
CRAB	Kalsiyum,renal,Anemi,kemik lezyonları
COPE	Koatomer protein kompleks subunit epsilon
Dk	Dakika
DKK1	Dickkopf -1
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNAJC1	DnaJ ısı şoku protein ailesi (Hsp40) üyesi C1
DPP7	Dipeptidyl peptidaz 7
ER	Endoplazmik retikulum
EEF2	Ökaryotik elongasyon uzama faktörü 2
EMA	European medicines agency

ENCODE	The Encyclopedia of DNA elements
ERAP1	Endoplasmik retikulum aminopeptidaz 1
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FIGO	Uluslararası Jinekolog ve Kadın Hastalıkları Federasyonu
FGFR3	Fibroblast büyüme faktör reseptör
GEP	Gen ekspresyon profili
GSK3B	Glikojen sentetaz kinaz 3 beta
HSP70	Isı şoku protein ailesi 70
HYOU1	Hypoxia up-regulated 1
IGH	İmmunoglobulin ağır zinciri
IGF-1	İnsulin büyüme faktörü 1
IL6	İnterlökin 6
ISG20	Interferon stimulate eden ekzonükleaz gen 20
IMiD	İmmunomodülatörler
JAK	Janus kinaz
KDELRL1	KDEL endoplasmic reticulum protein retention reseptör 1
KIF5B	Kinesin aile üyesi 5B
KRAS	Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral onkogen homolog
LMAN2	Lectin, mannose binding 2
MAPK	Mitojen aktivite protein kinaz
MDM2	E3 ubikuitin protein ligaz homologu
MGUS	Önemi bilinmeyen monoklonal gammopati
MM	Multiple myeloma
MRNA	Messenger RNA
ml	Mililitre
MTOR	Rapamisin kinazın mekanik hedefi

MTHFR	Metilen tetrahidrofolat redüktaz
NFKB	Nüklear faktör kappa-B
NRAS	Neuroblastoma RAS viral onkogen homolog
NFKB	Nüklear faktör kappa-B
NCCN	The National Comprehensive Cancer Network
OPG	Osteoprotegerin
OTUD1	OTU deubikuitinaz 1
PBS	Fosfat buffer tuzu
PCL	Plazma hücreli lösemi
PD1	Programlanmış hücre ölüm proteini
PDL1	Programlanmış hücre ölüm ligandı 1
PERK	Protein kinaz R benzer endoplazmik retikulum kinaz
PHD	Plazma hücre diskrazisi
PI3K	Fosfotidilinositol-4,5-Bifosfat 3-Kinaz
qRT-PZR	Kantitatif eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
RAS	v-Ras kirsten rat sarkoma viral onkogen homologu
RAF	proto-onkogen serin/tirozin protein kinaz
RB1	Retinoblastom 1
RNA	Ribonükleik asit
RPKM	Kilobaz milyon başına okuma
RRBP1	Ribozoma bağlanan protein 1
SPE	Serum protein elektroforezi
SMM	Smoldering multiple myeloma
TBP	TATA-box binding protein
TCGA	Kanser genom atlas programı
TMED9	Transmembran P24 trafficking protein 9

TNF	Tümör nekroz faktör
TP53	Tümör protein p53
TRIB1	Tribbles pseudokinaz 1
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
UL	Mikrolitre
UPR	Katlanmamış protein cevabı
WNT	Wingless-tip MMTV integre bölgesi ailesi
XBP1	X-box binding protein 1



ÖZET

Sarıman M. Multiple Myeloma Tüm Genom Transkriptom Datasının Biyoenformatik Analizi ile Belirlenen Olası İlişkili Genlerin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2020.

Plazma hücre diskrazileri grubunda yer alan Multiple Myeloma (MM), kemik iliğinden köken alarak kontrolsüz çoğalan malign plazma hücreleriyle karakteristiktir. Önemi bilinmeyen monoklonal gammopati (MGUS), ise asemptomatik premalign bir plazma diskrazisidir. Multiple Myeloma hastaları ile sağlıklı kemik iliği kontrollerinin hücre havuzlarından transkriptom yapılarak genlerin ekspresyon düzeyleri bir önceki çalışmamızda araştırılmıştır. Transkriptom verilerinden belirlenen 13 aday gen oldukça kıymetli ve özgündür. MM patogenezinde bu genlerin doğrudan ya da dolaylı ilişkilerinin ortaya çıkarılması için yeni hasta ve kontrol gruplarında validasyonlarının yapılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda yeni tanı, tedavi görmemiş 38 MM hastasından ve 23 MGUS ile 16 kontrol grubunun kemik iliği materyallerinden aday genlerin ekspresyon seviyeleri qRT-PCR yöntemi ile incelenmiştir. Sonuçlar SPSS.25 istatistik programında analiz edilmiştir. MM, MGUS ve kontrol grubuna göre *ERAP1*, *HYOU1* ve *OTUD1* genlerinin ifadesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Myeloma patogenezinde ilişkisini araştırdığımız geriye kalan 10 aday genimizin ekspresyon seviyeleri ise kontrol grubuna göre yüksek seviyede eksprese olup istatistiksel analizde anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$ ve $p < 0,001$). Özellikle MGUS'tan MM'e malign hale dönüşümde *COPE* ve *ISG20*'nin erken tanı belirteci olabileceğini öneriyoruz. Literatürdeki veriler doğrultusunda ekspresyonunu yüksek bulduğumuz pek çok aday genin MM patogenezinde ER stres yolu ile ilişkisinin olabileceğini düşünmekteyiz. MM'de son yıllarda proteozom yolağı üzerinden çeşitli tedaviler uygulansa da halen yeni teröpatik hedeflere oldukça ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma ile aday genlerin validasyonu yapılarak halen aydınlatılmayan MM patogenezinde katkıda bulunulmuştur. Ayrıca MM tedavisinde ihtiyaç duyulan *TRIB1* gibi yeni terapötik hedefler içermesi ve MM tanısında prognostik değere sahip olabilecek *TMED9* gibi aday genlerin olması açısından umut verici özellik taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Multiple Myeloma, MGUS, Transkriptom, qRT-PCR, Plazma Hücre Diskrazileri

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 30846

ABSTRACT

Sarıman M,(2020).Investigation of possibly related genes determined from bioinformatic analysis of multiple myeloma whole genome transcriptome data. İstanbul University, Institute of Health Science, Genetics Department. Doctorate Thesis(PhD) . İstanbul.

Taking a part of the plasma cell dyscrasias group, Multiple Myeloma (MM) is characterized by uncontrolled proliferation of malignant plasma cells originating from bone marrow. Monoclonal Gammopathy of undetermined significance (MGUS) is an asymptomatic premalignant plasma dyscrasias. The expression levels of genes have been investigated in our previous study by transcriptome from cell pools of multiple myeloma patients and healthy bone marrow controls. 13 candidate genes detected out of transcriptome data are very valuable and specific. In order to reveal the direct or indirect relevancy of these genes in MM pathogenesis, we validated these genes in new patient and control groups.

In our study, expression levels of candidate genes acquired from the bone marrow of 38 untreated newly diagnosed MM patients, 23 MGUS and 16 control group were examined by qRT-PCR. The results were analyzed in SPSS.25 statistical program. The expression of ERAP1, HYOU1 and OTUD1 genes were not statistically significant according to MM, MGUS and control group. Expression levels of the remaining 10 genes that we investigated in myeloma pathogenesis showed statistically significant elevation compared to control group. Particularly, COPE and ISG20 may be suggested as early diagnostic markers in malignant transformation from MGUS to MM. Performing the validation of candidate genes, our study has added up new insights into the pathogenesis of MM which is still unclear. Our investigations have promising features in terms of containing new therapeutic targets such as TRIB1 needed in MM treatment and TMED9 which may have prognostic value in the diagnosis of MM.

Key Words: Multiple Myeloma, MGUS, Transcriptome, qRT-PCR, Plasma Cell Dyscrasia

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. **30846**

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Plazma hücre diskrazileri (PHD), kemik iliğindeki lenfoplazmositik hücrelerin monoklonal çoğalması sonucu oluşan heterojen bir hematolojik hastalık grubudur (1). Hastaların çoğunda idrar ve plazmasında tespit edilebilen paraprotein olarak adlandırılan hastaya özgü bir monoklonal antikor veya hafif zincir ile karakterizedir (2). Multiple Myeloma (MM) tanısı alan hastaların başlangıç ortalama yaşı 69 olan ikinci yaygın plazma hücre diskrazisidir. Amerika Birleşik Devletlerindeki tüm kanser vakalarının % 1.8'ini ve hematolojik malignitelerin yaklaşık % 17'sini oluşturmaktadır (3). Yeni myeloma vakası sayısı, yılda kadın ve erkek başına 100,000'de 6,9'dur. Ölüm sayısı yılda erkek ve kadın başına 100,000'de 3.3'tür. Bu oranlar yaşa göre belirlenmiş 2012-2016 vakaları ve ölümlerine dayanmaktadır (4). CRAB semptomları olan litik kemik lezyonları, anemi, böbrek yetmezliği ve hiperkalsemi varlığı yada yokluğuna göre asemptomatik MM ve semptomatik MM olarak iki gruba ayrılır. MM hemen hemen tüm hastalarda, önemi bilinmeyen monoklonal gammopati (MGUS) olarak adlandırılan premalign bir aşamadan hastalığa dönüştüğü bilinmektedir. Elli yaşın üzerindeki nüfusun %3'ünden fazlasında bulunur. MGUS, MM veya diğer plazma hücre malignansilerine yılda %1 oranında ilerler (5).

Kompleks karyotipin görüldüğü MM vakalarının yaklaşık %50-%60'ı hiperdiploid olmayan ve genellikle immünoglobulin ağır zinciri (IgH) translokasyonu içeren 4, 8, 11 ve 16 kromozomları aberasyonlarıdır. MM vakalarının kalan yüzdesi hiperdiploid olarak tanımlanır bunlardan en yaygın olarak 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 ve 21 numaralı kromozomların trizomileri ve 8, 13, 14, 16, 17 ve 22 numaralı kromozomların monozomileri görülmektedir (6,7).

Myelomadaki tüm genom dizileme çalışmalarından elde edilen veriler, plazma hücre diskrazilerinin meydana gelmesinin sadece yukarıda bahsedilen sitogenetik aberasyonlar tarafından değil, aynı zamanda genetik heterojeniteyi daha da iyi açıklayan onkojenik mutasyonlar tarafından da yönlendirildiğini göstermektedir (8).

MM görülme sıklığı yaşla birlikte artarken yaşlanan nüfus çağında hastalara tanı koyabilmek ve etkin tedavi sağlamak oldukça önemlidir. MM de geçen on yılda tedavi seçenekleri önemli ölçüde artmıştır. Temel myelom tedavisinin standardı, otolog kök hücre nakli ile birlikte yüksek doz kemoterapi ön planda olsa da immünomodülatör

ilaçlar, proteazom inhibitörleri,monoklonal antikorlar myelom hastalarında prognozu ve sağkalım oranını artırabileceği düşünülmektedir (9).

İnsan genomu hakkında bilginin artması ve teknolojinin ilerlemesi sonucu MM'nin karmaşık hastalık biyolojisini çözmeyi amaçlayan çok sayıda “*omik*” çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan biride “Multiple Myeloma Hastalarının Kemik İliği Myeloma Hücrelerinde Gen İfadesinin Transkriptom Dizileme Yöntemi İle Araştırılması” başlıklı yüksek lisans tez çalışmasıdır(10).Çalışmada myeloma hastalarında kontrol grubuna göre artmış gen ifadesine sahip ve daha önce literatürde myelomanın tanısı ve patogenezinde doğrudan ilişkilendirilmemiş olan 13 aday gen transkriptom analizi sonucu belirlenmiştir.Bu doktora tez çalışmasında yeni tanı ve tedavi görmemiş Multiple Myeloma hastaları ile hastalığın malign olmayan ancak MM oluşumunda ilk basamak olarak görülen plazma hücre diskrazileri grubundan MGUS grubunda da transkriptom çalışmamızda belirlenen aday genlerin konfirmasyonlarının yapılması planlanarak hastalığın patogenezi ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Böylece bugüne kadar doğrudan ilişkilendirilmemiş bu genler sayesinde MM patogenezinin veya MGUS’tan MM dönüşüm mekanizmasında görevli olabilecek yeni biyobelirteçler keşfedilerek,bunlara yönelik yeni tedavi stratejilerinin oluşturulmasına katkıda bulunulacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PLAZMA HÜCRE DİSKRAZİLERİ

Plazma hücreleri (PH), antikorlar salgılayan B hücrelerinden kaynaklanan terminal olarak farklılaşmış ve bölünmeyen birincil görevi enfeksiyonla savaşmak olan bağışıklık hücreleridir (11). PH'ler, tek bir immünoglobülin sınıfında sadece bir çeşit antikor üretebilir, ancak her hücre saniyede birkaç bin antikor üretebilir, bu da onu humoral immün tepkinin ayrılmaz bir parçası haline getirir. Normal plazma hücreleri, farklı ağır zincir (IgM, IgG, IgA, IgD ve IgE) ve hafif zincir (kappa ve lambda) özelliklerine sahip çeşitli antikor üretebilirler. Plazma hücre diskrazilerinde (PHD) yaygın erken bulgu, bir paraprotein veya M proteini olarak adlandırılan, monoklonal bir ağır ve hafif zincir antikorunun varlığıdır. Myelom hücresinin gen sekansı hipermutasyona sahip olduğundan, çoğu uzun ömürlü PH'lerinkine benzer fenotipik özelliklere sahiptirler ve genellikle kemik iliğinin çok sayıda bölmede dağıldığından, germinal merkezde afinite olgunlaşması gerçekleştikten sonra PHD gelişmektedir. Günümüzde, Önemi Bilinmeyen Monoklonal Gammopati (MGUS), Smoldering Multiple Myeloma (SMM), asemptomatik myeloma, Multiple Myeloma, PC lösemi ve amiloidoz gibi PHD alt tipleri vardır (12).

2.1.1. Önemi Bilinmeyen Monoklonal Gammopati (MGUS)

MGUS en sık görülen PH bozukluğudur. Görülme sıklığı yaşla birlikte hızla artar ve 50 yaş ve üzeri bireylerin % 3'ünü ve 70 yaş üstü bireylerin % 10'unu etkiler. MGUS, kemik iliğinde % 10'dan daha az PH içeren ve kemik veya organ hasarı bulunmayan, 30 g / L'den az bir serum M proteini ile karakterize edilir. Her ne kadar genişletilmiş bir immünoglobülin salgılayan hücre klonunun varlığını yansıtsa da, premalignitedir ve acil bir terapötik müdahale gerektirmez(12).

MGUS immünofenotipi CD19 ve CD56 ekspresyonuna dayanarak, iki ayrı plazma hücresi alt popülasyonu görülebilir. Plazma hücrelerinin ilk popülasyonu poliklonaldır ve CD38+, CD138+, CD19+, CD56- olarak gözlenen normal kemik iliği plazma hücrelerine özdeş fenotipe sahiptir. Anormal plazma hücrelerinin ikinci popülasyonu sınırlı intrasitoplazmik hafif zincir ekspresyonu ve CD19 ve/veya CD56 ekspresyonunun olmaması ile karakterizedir. Anormal MGUS klonal plazma hücreleri, MM klonal plazma hücreleri ile aynı fenotipe sahiptir (13).

MGUS klonunun özellikle, sitogenetik anormalliklerin ve/veya DNA anöploidisi, IgG olmayan immünoglobulin üretimi izotipinin ve monoklonal protein miktarının 1.5 g / L karakteristik özelliklerinin belirlenmesi MM ilerlemesinin belirleyicilerindendir (12).

2.1.2. Multiple Myeloma (MM)

MM , > 30 g / L M protein konsantrasyonu, kemik iliğinde % 10'dan fazla PH, organ ve doku hasarı olan ayrıca, kemik iliğinde klonal PH'lerin birikmesine bağlı kalsiyum yükselmesi, böbrek yetmezliği, anemi ve kemik lezyonları ile karakterizedir. PC lösemisinin aksine, Multiple Myelomdaki PH'ler kanda düşük bir frekansta dolaşırlar ve morfolojik olarak kolayca tespit edilemezler. Myeloma hücresi ve normal plazma hücresinin antijenik ekspresyon paternleri farklıdır. Genellikle myeloma hücresinde CD19 ekspresyonu olmaması ve CD38, CD138, CD56 ve CD33'ün anormal ekspresyonu, ile normal hücrelerden akış sitometrisi ile ayırt edilebilmektedir. Normalde PH'ler kemik iliğindeki lökositlerin %5'inden daha azını oluşturur, ancak PH'leri maligne dönüşerek kemik iliğini doldurabilir ve osteoklast aktive edici faktörlerin salınmasıyla kemiğe zarar verebilir. Zamanla kemiklerin birden fazla bölgesinde tümör oluştururlar ve bu da “multiple”çoklu myelom terimini doğurur (12).

2.1.2.1. MM İnsidansı ve Epidemiyolojisi

Amerika Birleşik Devletleri'nde 2019 yılında Multiple Myeloma yeni tanıli tahmini vaka sayısı 32.110 ile tahmini 12.960 ölümlle sonuçlanmıştır. *Amerika Kanser Socitey* göre MM gelişme riski, insanlar yaşlandıkça artmaktadır. Vakaların % 1'inden azı 35 yaşından küçüktür. Myeloma tanısı alan çoğu vaka medyan yaş 69, en sık 65-74 yaşları arasındaki kişilerde görülmektedir. MM insidansı siyah ırkta beyaz ırka göre, erkeklerde kadınlardan daha sıklıkla görülmektedir. Bazı etnik gruplarda yüksek insidans görülürken, Asya toplumunda en düşüktür (3, 14).

2.1.2.2. MM Etiyolojisi

Meta-analizler MM'yi mesleki, yaşam tarzı, klinik, genetik ve epigenetik faktörler dahil olmak üzere çok faktörlü bir hastalık olarak tasvir etmektedir.

Çiftçilik, böcek ilacı maruziyeti, DDT maruziyeti, fenoksiasetik ve klorofenollerin potansiyel zararlı etkilerini ve bunların hepsi de meta-analitik düzeyde artan MM riski ile ilişkilidir. Kuaförleri içeren meta-analizde yaklaşık %40 oranında artmış MM riski olduğu belirlenmiş ve hastalıktan etkilenmeleri kuaförlerin

kullandıkları renklendiriciler, ağartıcılar, saç bakım ürünlerinde bulunan formaldehit, metakrilatlar ve nitrozaminler; ve saç spreylerinden uçucu çözücüler, itici gazlar ve aerosoller, şampuanlar ve saç kremlerinde birçok farklı kimyasal maddeye maruz kalmalarından dolayı bu kadar etkilendikleri düşünülmektedir.

Hasta-kontrol çalışmalarında sadece motor egzozuyla pozitif bir ilişki, petrol ve petrol ürünleri ile ilişki bulunmazken, benzen etkisi tartışmalı olarak hafif fakat anlamlı olmayan bir ilişki meta analiz sonucunda bildirilmiştir.

Yaşam tarzı ile ilgili olarak, hem aşırı kilolu hem de obezite artan MM insidansı ve mortalitesi ile korelasyon gösterirken; bunu da *IGF-1*, adiponektin, enflamatuar sitokin seviyeleri altta yatan sebepler olabilmektedir. Öte yandan sigara kullanımı ve fiziksel aktivite MM riski ile anlamlı derecede ilişkili bulunmamıştır.

Otoimmün bozukluklarda bulunan kronik immün uyarımın ve bununla ilişkili lenfosit aktivasyonunun, muhtemelen MM'ye yol açan malign plazma hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasını indükleyebileceği varsayılmıştır; bununla birlikte primer Sjögren sendromu, romatoid artrit, sedef hastalığı ve polimiyozit / dermatomiyozit gibi otoimmün hastalıklar ile ilgili herhangi bir ilişki gözlenmemiştir. Dikkat çekici bir şekilde, sadece pernisiyöz anemi ve ankilozan spondilit anlamlı derecede artmış MM riski ile ilişkili bulunmuştur. Pernisiyöz anemi ile ilgili olarak, altta yatan biyolojik unsura ek olarak B12 vitamini eksikliğine sahip hastaların kemik iliğinde kromozom anormallikleri veya bağışıklık değişiklikleri ortaya çıkarırken, ankilozan spondilit ile ilgili hastalığa özgü mekanizmalar ortaya çıkmamıştır (15).

Çeşitli çalışmalardan genetik veriler toplanarak, meta-analitik düzeyde bakılmıştır. *P15INK4b* ve *P16INK4a* genlerindeki promotör metilasyonunun, MM için 6,3 kat ve 2,2 kat artmış riskli bulunmuştur. Bu promotör metilasyonlarının transkripsiyonel susturmaya katkı sağlayarak bu genlerin tümör baskılayıcı fonksiyonlarının inhibe edilebileceği ve MM'nin gelişmesine epigenetik faktörlerin etkili olduğunu göstermiştir (16). İltihapla ilişkili olarak, *IL-6* reseptörü ve rs11744523 *IL-6* reseptörü gp130'da modifiye MM riski (rs6684439, rs2229238, rs8192284 polimorfizmleri) ile MM hücreleri için bir büyüme faktörü olarak *IL-6*'nın hastalarda anormal derecede yükselmiş serum *IL-6* düzeyleri de prognozla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (17). Öte yandan *TNF* promotör polimorfizmleri, MM riski ile önemli

ölçüde ilişkili bulunmamıştır. Son olarak, *MTHFR C677T* durumunun, DNA sentezi ve metilasyonunda rolü vurgulanarak MM riskini değiştirdiği görülmüştür (15, 18).

MM'li bir hastanın 25 aile üyesini içeren bir çalışmada, asemptomatik MM'li yedi hastadan iki tanesini ve MGUS'lu diğer iki aile üyesi tanımlanmıştır. Aile grubunda diğer hematolojik kanserler de mevcuttur (19). MM'e sahip olan bir ailenin diğer üyesinde myeloma gelişme riskinin arttığını tespit etmiştir. Hatta birinci derece akrabalar arasında 2,36 göreceli bir risk olduğu görülmüştür (20, 21).

İnsan herpes virüsü (HHV-8), kemik iliğinin dendritik hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli vücut doku hücrelerinden izole edilebilir ve olası bir kemik iliği displazisi nedeni olarak gösterilmiştir. Bu spesifik bir neden olarak kabul görse de ciddi immün fonksiyon bozukluğu ile olası bir ilişkiden başka kanıt bulunamamıştır.

ABD'de popülasyona dayalı kanser ve AIDS çalışmasında, AIDS'lilerde myeloma için riskte 4,5 kat artış bulundu. Avustralya'da benzer bir çalışmada MM'de 12 kat risk artışı bulundu (22).

2.1.2.3. MM Klinik Bulguları ve Tanıda Kullanılan Laboratuvar Testleri

NCCN Multiple Myeloma kılavuzunda belirtildiği üzere semptomatik ve asemptomatik MM'yi tanısı için klinik öykü, fizik muayene ve temel laboratuvar testleri olan hemogram, kreatinin, kreatin klirensi, nütrisyonel faktörler (Fe, B12), kalsiyum, beta-2 mikroglobulin, LDH, serumda immünfiksasyon elektroforezi, protein elektroforezi (total protein, M-protein, albümin), kantitatif immünoglobulin düzeyleri, serbest hafif zincirler, 24 saatlik idrarda total protein ve immünfiksasyon elektroforezi değerlendirmeleri gereklidir.

Serum analizi, kantitatif immünoglobulin seviyelerini (IgG, IgA ve IgM); serum protein elektroforezi (SPE) ve serum immünofiksasyon elektroforezi ile mevcut M-protein tipi hakkında daha spesifik bilgi elde etmek için kullanılır. Özellikle M-proteini olmak üzere çeşitli protein seviyelerindeki değişikliklerin değerlendirilmesi hastalığın ilerlemesini ve tedaviye yanıtı izlemeye yardımcı olur. Litik kemik lezyonları için tam radyografik inceleme veya tüm vücut düşük doz BT, kemik iliği plazma hücresi infiltrasyonunu değerlendirmek için kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisi yapılan diğer tetkiklerdir (3).

Myeloma da hastalıkla ilgili araştırmalardan elde edilen yeni bilgiler sonucu tanı kriterleri günümüzde standardize edilmeye başlanmıştır. MM tanı kriterleri 2014 yılında Uluslararası Myelom Çalışma Grubu [International Myeloma Working Group (IMWG)] tarafından revize edilmiştir. CRAB olarak kısaltılan bu kriterler hiperkalasemi, böbrek yetmezliği, anemi, %70'inde kemikte ağrı ve litik lezyonlardır. CRAB bulgularına SLiM adı altında üç yeni belirteç eklenmiş olup kemik iliğinde %60'ın üzerinde klonal plazma hücre varlığı, serbest hafif zincir oranının 100 mg/L'nin üzerinde olması ve tüm vücut manyetik rezonansında birden fazla 5 mm veya daha büyük odaksal lezyon varlığı bir yada birkaç bulgunun saptanması MM'de kriter olarak belirlenmiştir (23).

2.1.2.4. MM Evreleme ve Prognoz

Tablo 2-1'de Multiple Myelomada Uluslararası Evreleme Sistemi (ISS) ve Tablo 2-2'de Durie-Salmon Evreleme Sistemi evrelemeleri gösterilmiştir. ISS kolayca elde edilebilen serum beta-2 mikroglobulin ve serum albümin laboratuvar testleri ile değerlendirme sistemi olup daha önce tedavi edilmemiş MM hastaları için Durie-Salmon Evreleme Sisteminden daha kolaydır. ISS yakın zamanda serum LDH ve FISH anomalilerini [t (4; 14), t (14; 16), 17p13 delesyonu] yüksek riskli içerecek şekilde revize etmiştir [revised ISS (R-ISS)] ve günümüzde kullanılan evreleme yaklaşımıdır (24).

Tablo 2-1: Multiple Myeloma Uluslararası Evreleme Sistemi

EVRE	ULUSLARARASI EVRELEME SİTEMİ (ISS)	REVİZE EDİLMİŞ -ISS (R-ISS)
I	Serum beta-2 mikroglobulin <3,5 mg/L, Serum albumin ≥3,5 g/dL	ISS evre I ve hem iFISH standart risk kromozomal anomalileri hemde normal serum LDH olanlar
II	I yada III evre kriterlerine uymayanlar	R-ISS I ve III evre kriterlerine uymayanlar
III	Serum beta-2 mikroglobulin ≥5,5 mg/L	ISS evre III ek olarak hem iFISH yüksek riskli kromozomal anomalileri veya yüksek serum LDH olan

Tablo 2-2: Durine Salmon Evreleme Sistemi

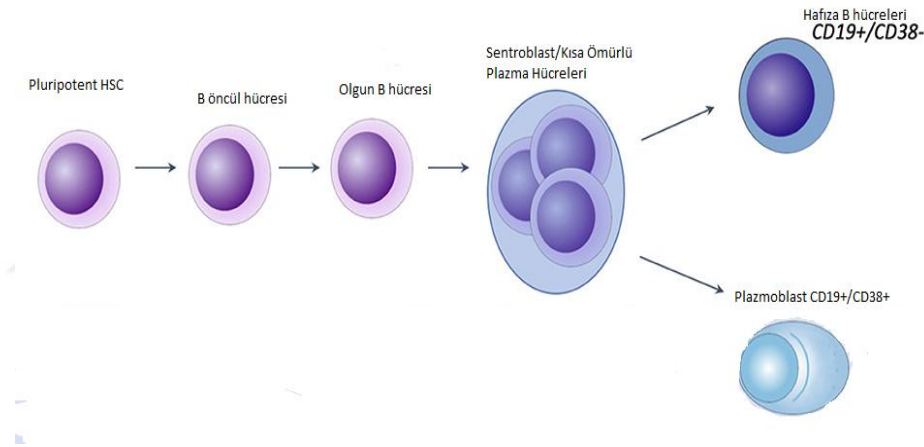
EVRE	DURİNE-SALMON EVRELEME SİSTEMİ
Evre I	Tüm kriterler uygun değildir. - Hb > 10,5 g/dl - Serum kalsiyumu normal aralık içinde < 12mg/dl - Osteoliz yok ya da 1 tek osteoliz - Düşük paraprotein konsantrasyonları (Serum IgG < 50 g/l, IgA < 30 g/l, idrarda hafif zincirler < 4 g/gün)
Evre II	Evre I ve III uymayan bulgular
Evre III	En az 1 kriterin karşılanması gerekir. - Hb < 8.5 g/dl - Serum kalsiyumu ≥ 12mg/dl 3 İleri düzeyde litik kemik lezyonlar - Yüksek paraprotein konsantrasyonları (Serum IgG > 70 g/l, IgA > 50 g/l, idrarda hafif zincirler > 12 g/gün.)
	Her 3 evre için alt tipler - A Serum Kreatinini < 2 mg/dl - B Serum Kreatinini ≥ 2 mg/dl.

NCCN Multiple Myeloma kılavuzuna göre, *FISH* panelinde, en azından, translokasyon (4; 14), t (14; 16), 17p13 delesyonu ve kromozom 1 amplifikasyonu incelenmelidir. Prognozun sitogenetik belirteçlerine ek olarak, gen ekspresyon profili (GEP) prognozu ayırt edebilme ve terapötik kararlara yardımcı olabileceği düşünülmektedir (3).

Birkaç myeloma çalışma grubu, MM hücrelerinin GEP imzalarına dayanan 15-gen, 70-gen ve 92-gen modellerini belirlemişlerdir. Araştırmalar, 15-gen, 70-gen veya 92-gen modellerine dayanan yüksek risk grubundaki hastaların, düşük risk grubuna göre daha kısa sağkalım olduğunu göstermektedir. NCCN’de, GEP’in tanı çalışmaları sırasında klinik uygulamada rutin olarak kullanılmamasına rağmen, GEP’in hastalığın agresifliğini tahmin etmek ve tedaviyi kişiselleştirmek için seçilmiş hastalarda yardımcı olabileceğini kabul etmişlerdir (3, 25, 26, 27).

2.1.2.5. MM Patogenezi

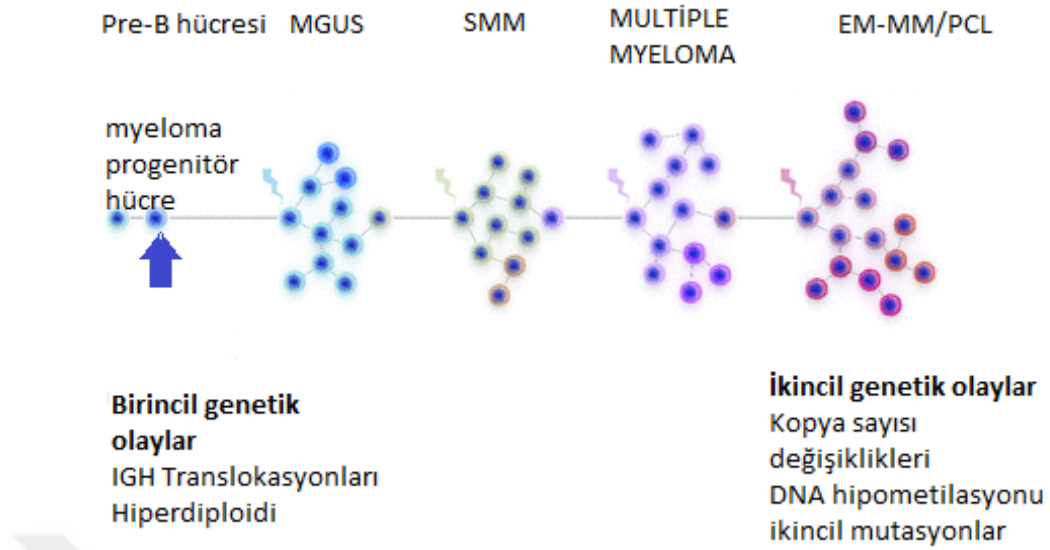
Tüm bağıışıklık hücreleri gibi, B hücreleri de öncelikle kemik iliğinde veya fetal karaciğerde gelişen hematopoetik kök hücrelerden türetilir. Hematopoetik kök hücreler art arda çok güçlü progenitörlere, lenfoid progenitörlerine ve nihayetinde olgunlaşmış B hücrelerine pro-B öncesi, olgunlaşmamış B ve pre-proB hücreleri aşamalarından sonra farklılaşabilirler (28). İmmünoglobulin genlerinin yeniden düzenlenmesini takiben, B hücreleri kemik iliğini saf B hücreleri olarak bırakılır. Kognat antijenleri ile karşılaştığından sonra, aktive edilmiş B hücreleri, germinal merkeze göç eder. Germinal merkezde, işlevsel bir B hücreli reseptörü eksprese eden B hücreleri, antijen sunan hücrelerde sunulan antijene yanıt olarak afinite olgunlaşmasına uğrar. Enfeksiyona cevap verebilen B lenfositleri immunoglobulin salgılayabilen plazma hücrelerine olgunlaşır(29). (Şekil2-1).



Şekil 2-1: Hematopoetik Kök Hücreden Plazma Hücresi Farklılaşması

(29)'dan modifiye edilmiştir.

İmmünoglobulin ağır zincir (IgH) geninin hiperdeğişken bölgelerini kodlayan DNA'nın, oldukça spesifik antikorlar üretmek için somatik hipermutasyona maruz kalmasını gerektirir. Germinal merkezde Ig sınıf dönüşümü (switching) ve doğal mutasyonuna eğilimli olan *IgH* geninin somatik hipermutasyon sırasında meydana gelen ilk onkogenik olaylar sonucunda malign plazma hücrelerinin yani myeloma hücrelerinin oluşumu görülür. Bu hücreler M proteinleri olarak da bilinen anormal-işlevi olmayan immünoglobulin üretmektedirler (30).



Şekil 2-2: MM Oluşumunun Başlatılması ve İlerlemesi

(31)'den modifiye edilmiştir.

MGUS, SMM ve MM'nin hastalık ilerlemesi sırasında, birincil ve ikincil genetik olaylar tümör çeşitliliği ve genetik lezyonlar arttıkça birikebilir, bu olaylar klonal seçim yoluyla gelişmektedir.

MGUS'un evrimi, hem klonal hem de alt-klonal seviyelerde sayısız mutasyon ve genomik değişimler ile kanıtlanmış dallanma evrimi yoluyla gerçekleşir ve böylece MM'nin genomik heterojenitesine katkıda bulunur (31).Şekil 2-2'de gösterilmiştir.

Myelomada Primer Genetik Olaylar

Genel olarak, MM hastalarında primer sitogenetik anomalilerin %40'ı ya translokasyonlar ya da trizomilerden oluşur. MM'li hastalarda primer translokasyonlar genellikle (%90) kromozom 14 üzerinde immüoglobulin ağır zincir (IgH) gen loküsünü ve birkaç partner kromozomdan birini içerir. MM'li hastalarda en yaygın olarak tanımlanan bu partnerler 4, 6, 11, 14 ve 20 numaralı kromozomlardır. Primer translokasyonlar sıklıkla bir hipodiploid karyotip ile ilişkilendirilir. Birincil trizomiler (%45) tipik olarak tek sayılı kromozomları 3, 5, 7, 9, 11, 13 ve 15'i içerir ve bir hiperdiploid karyotipe yol açar. Hastaların yaklaşık %10'unda, hem IgH translokasyonu hem de bir veya daha fazla trizomi tanımlanmıştır (32,33). Tablo2-3'te gösterilmiştir.

Tablo 2-3: Multiple Myeloma da Görülen Başlıca Genomik Değişiklikler ve Klinik Etkileri

Genomik	(Potansiyel) sürücü genler	MM hastalarının frekansı	Prognostik değeri
	<i>Birincil Olaylar</i>		
Translokasyon, Sürücü(driver) Genler	t(11;14): CCND1	%15	Nötral yada karşıt
	t(4;14):FGFR3/MMSET	%15	Karşıt
	t(6;14): CCND3	%2	Nötral
	t(14;16): MAF	%5	Nötral yada karşıt
	t(14;20): MAFB	%1	Karşıt
Kopya Sayısı Varyasyonları	Hiperdiploidi: tri 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 or 21	%50	Sık görülenler
	del13q: RB1, DIS3, mir15a or mir16.1 (potansiyel sürücüler)	%40	Nötral
	<i>İkincil Olaylar</i>		
Kromozom kazanımları : Potansiyel sürücü genler	1q: MCL1, CKS1B, ANP32E or BCL9	%40	Karşıt
	8q: MYC	%15	Nötral
	11q: CCND1	%15	Nötral
Kromozom kayıpları: Potansiyel tümör baskılayıcı genler	1p: CDKN2C yada FAM46C	%30	Karşıt
	12p: CD27	%15	Karşıt
	14q: TRAF3	%10	Belirlenmemiş
	16q: CYLD or WWOX	%30	Nötral
	17p:TP53	%10	Karşıt

Translokasyon	Etkilenmiş MYC	%15	Karşıt
Somatik Mutasyonlar	MAPK yolağı: KRAS, NRAS yada BRAF	%45	Nötral
	NF-κB yolağı: CYLD, TRAF3, LBT yada NIK	%15	Nötral
	RNA metabolizma: DIS3 yada FAM46C	%15	Nötral
	DNA-tamir yolağı: TP53, ATM yada ATR	%10	Karşıt
	Plazma Hücre Farklılaşması: IRF4 yada PRDM1	%10	Sık görülen

Del, delesyon MM, multiple myeloma; t,translokasyon;karşıt:adverse Tri, Trizomi. * T(11; 14)'nin prognostik değeri nötr kabul edilir, ancak bu translokasyon, CCND1 mutasyonu ile birlikte ortaya çıktığında kötü prognoz ile ilişkilidir. (T (14; 16) her ikisine de sahip prognoz üzerindeki olumsuz ve nötr etkiler. del13q zayıf bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir.(33)'ten çevrilmiştir.

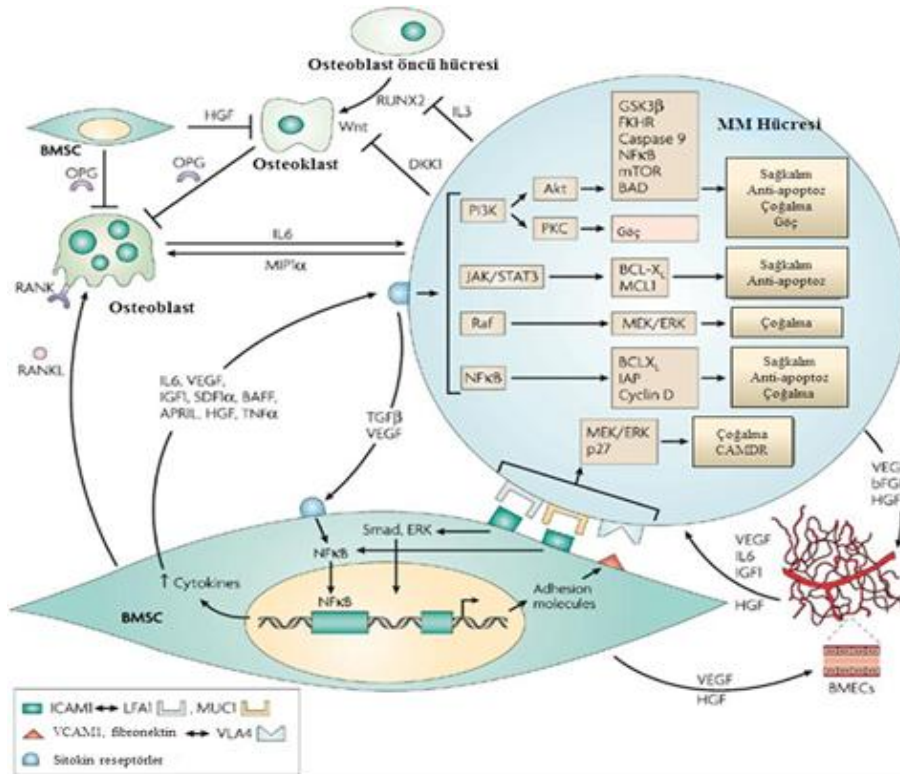
Myelomada İkincil Genetik Olaylar ve Kemik İliği Mikroçevresi

İkincil genetik olaylar Tablo2-3, hastalığın ilerlemesini sağlar ve genellikle SMM, MM ve PCL'de daha yüksek frekanslarda bulunur. İkincil olaylar, myelomun malign fenotipini üretmek için birincil olaylar ile işbirliği yapmaktadır. Bunlar translokasyonları, kopya sayısı varyasyonlarını, heterozigotluk kaybını, edinilmiş mutasyonları ve epigenetik modifikasyonları içerir(33).

İkincil olaylar arasında, 8q23'te onkojen *c-Myc*'yi aktive eden translokasyon t (8; 14) bulunur. MGUS'ta nadirdir veya yoktur, ancak MM'nin %15'inde görülür. Ek olarak, MGUS'da 1q21 (1q kazanç) amplifikasyonunun varlığı tespit edilmemiş, ancak SMM'de %45, yeni tanı MM'de %43 ve relaps MM'de %72 bulunmuştur. *P53* tümör baskılayıcı geninin 17p13'te alel kaybı del (17p) ile etkisizleştirilmesi, MM hastalarının %11'inde ve PCL'nin yaklaşık %40'ında mevcuttur. *TP53* mutasyonlarının çoğunlukla MM'nin ileri evrelerinde gerçekleştiği görülmektedir. Sıklıkla mutasyona uğramış genler arasında *K-RAS*, *N-RAS* ve *FGFR3* bulunur. Diğer genetik anomaliler, mikroRNA ekspresyonundaki değişiklikler gibi epigenetik düzensizliği içerir (34, 35, 36, 37, 38).

Bu ikincil olayların gelişmesinde diğer hematolojik malignitelerin aksine, semptomatik myelomun gelişimi, kemik iliği nişi ve tümörü destekleyen bir mikro çevrenin varlığı ile mümkündür. Kemik iliği mikroçevresinde, myeloma hücreleri kemik iliği stromal hücreleri (BMSC'ler), osteoklastlar, osteoblastlar ve endotel hücreleri dahil olmak üzere yardımcı hücrelerle etkileşime girer. Bir dizi sinyal yolu myelomda aktifleşerek proliferasyon, sağkalım, apoptoz, göç ve ilaç direnci ile ilişkili olarak patogeneze katkıda bulunmaktadır. DNA onarımı, RNA düzenleme, protein homeostazı ve hücre farklılaşması gibi diğer hücresel süreçlerde anormal işleyiş meydana gelmesiyle myelomogeneze katkıda bulunabilir.

Mikro çevredeki hücreler ile etkileşim, sitokinler ve kemokinler dahil olmak üzere çeşitli çözünebilir faktörler üretmek için tümörle ilişkili kanserli olmayan hücreleri harekete geçirir. Otokrin ve parakrin halkalarını birleştiren çözünebilir mediatörlerin yanı sıra fiziksel etkileşimleri içeren hücre-hücre iletişimleri, hem malign olmayan hem de malign hücrelerde *NF- κ B*'yi ve diğer anahtar sinyal yollarını aktive eder. Artan *NF- κ B* sinyalizasyonu, myeloma hücrelerinin büyümesini, hayatta kalmasını ve ilaç direncini destekleyen tümör teşvik eden sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin daha fazla birikmesine yol açar (39).



Şekil 2-3: MM ve Mikroçevre İlişkisi

(10)'dan alınmıştır.

IL-6, MM'de önemli bir büyüme ve hayatta kalma faktörüdür. Myeloma hücrelerinin BMSC'ler ile adhezyonu, *IL-6* ekspresyonunu indükleyen kanonal *NF-κB* yolunu aktive eder. Ek olarak, bir NF-κB hedefli gen tarafından da kodlanan myeloma hücresi kaynaklı *IL-1*, BMSC'lerde kanonal *NF-B* sinyalini indükleyerek *IL-6* üretimini teşvik eder. Ayrıca *IL-6*, tümör mikroçevresinde anjiyogenez ve neovaskülarizasyonu destekleyen vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) üretimini indükler(40).Şekil 2-3'te gösterilmiştir.

Önemli olarak, VEGF izoformlarının bazıları NF-B hedef-genleri tarafından kodlanır. Kemik iliği stromal hücreleri ayrıca, myeloma hücrelerinde anti-apoptotik genlerin NF-κB'ye bağlı ekspresyonunu indükleyen insülin benzeri büyüme faktörü 1'i (IGF1) salgılar. Proinflamatuvar sitokin *TNF*, hem BMSC'lerde hem de myeloma hücrelerinde kanonal *NF-κB* sinyalini aktive eder ve ayrıca kanonal olmayan yol tarafından üretilir. *TNF* sadece proinflamatuvar tümör mikro çevresini desteklemekle kalmaz, aynı zamanda myeloma hücrelerinde *NF-κB* hedefleyerek sağkalım faktörlerinin ekspresyonunu da indükler. MM'deki talidomid ve lenalidomidin terapötik etkinliğinin, kısmen *TNF-α*, *IL-1* ve *IL-6* gibi pro-enflamatuvar sitokinleri inhibe etme kabiliyetine dayandığı öne sürülmüştür.

MM ayrıca, kanonikal yolun *TACI* aracılı indüksiyonuna ilave *BAFFR* yoluyla kanonikal olmayan *NF-κB* sinyalini aktive eden, B hücresi aktiveleştirici faktörün (BAFF) artışı ile de ilişkilidir. Dolayısıyla, *BAFF*'ın myeloma hücrelerinin büyümesini ve hayatta kalmasını desteklediği ve kötü prognoza katkıda bulunduğu düşünülmektedir (41).

Kemik rezorpsiyonu ve kemik oluşumu arasındaki denge MM'deki vakaların çoğunda kaybedilmiş, kemik yıkımı ve osteolitik lezyonların gelişimi ile sonuçlanmıştır. Osteoblastların, MM hücre büyümesini ve sağkalımını destekleyerek MM patogenezinde katkıda bulunabileceği bildirilmiştir. Osteoblastların, *TRAIL* aracılı programlanmış MM hücre ölümünü sağlaması osteoprotegerin'i (OPG) salgılayarak MM hücresi sağkalımını uyarmada olası rolü vardır. Ek olarak, osteoblast aktivitesinin baskılanmasının, hem osteolitik süreçten hem de MM tümör yükünün ilerlemesinden sorumludur. MM'de osteoblast aktivitesinin baskılanmasından sorumlu faktörlerden biri *Dickkopf-1*'dir

(DKK1). *DKK1*, *Wnt* sinyalini önleyen ve β -katenin çekirdeğine yer değiştirmeye yol açan *LRP5/6*'ya bağlanarak hareket eden bir *Wnt* sinyal yolu inhibitörüdür (42, 43).

Farklı mekanizmalar artmış osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonuna katkıda bulunur. Osteoklast aktivasyonuna dahil olduğu bildirilen *RANK* / *RANK-L* / *OPG* ana elementlerdir. *RANK-L* *IL-7*'nin aracılık etmesiyle T hücrelerinden, osteoblastlar ve kemik iliği stromal hücrelerinden eksprese edilebilir. *RANK-L*, osteoklastik hücreler üzerindeki reseptörüne (*RANK*) bağlanarak doğrudan osteoklast farklılaşmasını ve aktivasyonunu indükler. *OPG* diğer yandan azalmış ekspresyon gösterir. *OPG*, kemik kütlelerini korumak için osteoblastlar tarafından üretilen bir reseptördür. Normalde *OPG*, *RANK-L* ile *RANK* arasındaki etkileşimi önleyerek *RANK-L*'nin etkilerini bloke eder. Bozulmuş *OPG-RANK-L* oranı, osteoklastların farklılaşması ve aktivasyonu ile sonuçlanan *RANK-L-RANK* etkileşiminin artmasına neden olur. Myelomda kemik hasarından sorumlu bir diğer önemli faktör *MIP-1a*'dır. *MIP-1a*, sırayla osteoklast *RANK*'ı aktive eden ve *OPG* ile rekabet eden osteoklast kemokin *CXCR5* ve *RANK-L*'yi aktive eder. Osteoklast aktivitesine bağlı kemik rezorpsiyonu bifosfatlar sayesinde bloke edilir fakat lezyonların tamir edilememesi osteoblast farklılaşması ve osteolitik lezyonlarda osteoblast aktivitesi tarafında önemli bir kusur olduğunu göstermektedir. (44, 45).

Myeloma Hücresinin Hücre Yolakları ile İlişkisi

NF-KB (Nükleer Faktor Kappa B)- Kanserde göze çarpan *NF- κ B*'nin anormal aktivasyonu, hücrenin hayatta kalmasına, çoğalmasına ve adezyon yollarına katkıda bulunur. Myelomada, *NF-KB* yolağı vakaların en az %50'sinde yapıcı olarak aktiftir ve MGUS ile daha sonraki hastalık aşamaları arasındaki farklı aktivasyon sıklığı nedeniyle bir sürücü (driver) olması muhtemeldir. *NF- κ B* hem plazma hücrelerinde hem de çevresindeki kemik iliği stromal hücrelerinde yukarı doğru (upregüle) düzenlenebilir. Bu destekleyici hücrelerde, *NF- κ B*, *IL-6*, *BAFF* ve *APRIL* gibi anahtar sitokinlerin salınımını uyarır, parakrin uyarımı ve malign klonal hayatta kalma sinyalleri verir (46). *NF- κ B* yolunun MM'deki önemli rolü hakkındaki bilginin artması bu yolun hedeflenerek yeni ilaçların geliştirilmesi için potansiyel olduğunu göstermektedir. *Bortezomib* veya *NPI-0052* gibi *proteazom* inhibitörleri MM'li hastalarda iyi klinik aktiviteye sahiptir. MM'de, *bortezomib* *c-FLIP* seviyelerini değiştirir, *BCL-2* ailesinin

pro-apoptotik üyelerini stabilize eder, kaspaz aktivitesini arttırarak *NF-kB* aktivasyonuna yol açan iki ana yolu inhibe eder (47).

Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz (MAPK) Yolu-

MAPK yolu, hücre farklılaşması, çoğalması ve hayatta kalmasıyla ilgili oldukça korunmuş bir hücresel sinyalleşme kaskadıdır. Bu yol, *TNF- α* , *IL-6* ve *IGF1* gibi bir dizi enflamatuar sitokin vasıtasıyla uyarılabilir; daha sonra gen ekspresyonunu etkileyen aşağı akışlı kinaz basamaklarını *RAS*, *RAF*, *MEK* ve *MAPK*'yı aktive eder. *MAPK* yolundaki *NRAS* ve *KRAS* iki baskın onkogen, birçok kanserde deregüle olur. Bu genler, myelomada sıklıkla %20-35'lik bir kombine prevalansla mutasyona uğrarlar. *RAS* mutasyonlarının, MGUS'ta nadiren bulundukları ancak ilerleyen hastalıklarda MM gibi daha sık meydana geldikleri için progresyonu temsil etmesi muhtemeldir.

Ek olarak, *RAS* mutasyonları sıklıkla daha agresif bir hastalık fenotipi ile ilişkili ve hayatta kalma sürelerini kısaltan zayıf bir prognostik belirteçtir. *RAS* mutasyonlarının ve birçok kanserde *MAPK* yolunun önemi olması nedeniyle, bu yolağa özgü terapötik inhibitörler keşfi önemlidir (46).

JAK-STAT: JAK-STAT yolu, myeloma örneklerinin %50'sinde ve çevresindeki kemik iliği stromal hücrelerinin bir kısmında yapısal olarak aktive edilir. JAK-STAT aktivasyonunu indüklenmesi, büyüme ve hayatta kalma düzenlenmesi yoluyla myelomagenezde önemli olduğu bilinen *IL-6* ile otokrin ve parakrin etkidedir. JAK-STAT aktivasyonunun bir önemli sonucu, myeloma hastalarında kemo- direnç ile ilgili antiapoptotik proteini *Bcl-xL*'nin yüksek ekspresyonu ile sonuçlanan bir STAT ailesi transkripsiyon faktörünün olan *STAT3*'ün aşırı aktivitesidir (46).

Kanserde *STAT3*'ü hedef alan yöntemler doğrudan ve dolaylı yaklaşımlar olarak sınıflandırılabilir. *STAT3*'ü doğrudan hedef alan ajanlar, STAT proteinlerinin dimerizasyonunu inhibe edebilir, *STAT3* mRNA'yı inhibe edebilir veya *STAT3* DNA bağlanmasına müdahale edebilir. Dolaylı yaklaşımlar, büyüme faktörü reseptörlerine bağlanan ligandları yok etmeye, JAK gibi yukarı akış tirozin kinazların inhibe edilmesini veya *STAT3*'ün negatif regülatörlerinin aktifleştirilmesini içerir. MM'de *in vitro* veya klinik etki gösteren Ruxolitinib, Tofacitinib, Hydrocalamenene, Icariside II ve daha pek çok *STAT3* inhibitörlerinin araştırmaları sürmektedir (48).

Fosfatidilinositol-3 Kinaz (PI3K): Tirozin kinaz reseptörlerine etki eden IL-6 ve IGF-1 gibi bir dizi moleküler sinyal, serin-treonine özgü kinaz AKT'nin fosforilasyonuna yol açan PI3K yolunu aktive edebilir. Ardından AKT, hücre proliferasyonu ve apoptoz direnci dahil olmak üzere birçok işlemi etkileyen *mTOR*, *GSK-3B* ve *FKHR* dahil olmak üzere birkaç aşağı akış hedefini aktive eder. PI3K yolunun düzensizliğinin myelomda fosforile edilmiş AKT'nin yol aktivitesinin bir belirteç olarak önemli olduğu düşünülmektedir. Vakaların yaklaşık %50'sinde gözlenmektedir. MAPK yolunun aksine, PI3K yolu ilgi çekicidir. Ayrıca PI3K / AKT'nin inhibisyonu, MM'de apoptozise yol açar (46). Bu nedenle, PI3K / AKT, anti-myelom ilaç keşfi için ideal bir hedeftir. *CAL-101*, *NVP-BKM120* ve *Perifosine* gibi birçok PI3K / AKT sinyal yolu inhibitörü MM tedavisi için geliştirilerek klinik araştırmaları değerlendirilmektedir. Bununla birlikte MM tedavisi için henüz onaylanmış bir PI3K inhibitörü yoktur (49).

Hücre Döngüsü Düzenlemesi: Myeloma hücrelerinin proliferasyonu, temel olarak siklin D ve INK4 inhibitörleri ailesinden kaynaklanır. Siklin D ekspresyonunun deregülasyonu, MM'nin temel özelliklerinden biridir ve en sık IgH lokus translokasyonlarından kaynaklanır. Daha önce belirtildiği gibi, en sık translokasyon, t (11; 14) 'dir sonuç olarak siklin D1 ekspresyonunda artış gözlemlenir. Hem t (14; 16) hem de t (14; 20) translokasyonları, bir MAF transkripsiyon faktörünün (sırasıyla c-MAF ve MafB) aşırı ekspresyonuna ve t (4; 14) translokasyonuna, MMSET'in deregülasyonu ile sonuçlanır. MAF ailesi üyelerinin aşırı ekspresyonu ve ardından MMSET'in deregüle olması daha sonra siklin D2'nin yeniden düzenlenmesine neden olur. Siklin D3 ekspresyonunun artması, t (6; 14) ile ilişkilidir. Bu nedenle, tüm bu değişiklikler, siklin D ifadesinin deregülasyonu ve sonunda G1 / S geçişinin serbestleştirilmesine neden olur. Ek olarak, hiperdiploid MM'de siklin D1 veya siklin D2 seviyelerinde artış meydana gelir. Hiperdiploid tümörlerin çoğu, iki allel olarak siklin D1'i eksprese eder. Buna siklin D1 genini içeren trizomik kromozom 11 neden olabilir. Bir başka siklin D1 ve siklin D2 yukarı regülasyon mekanizması, *miR-425*, *miR-152* ve *miR24* dahil olmak üzere hiperdiploid tümörlerde spesifik mikro RNA'ların (miRNA) aşağı regülasyonundan olabileceği yönündedir. Bu aşağı regülasyon siklin D1, *FGFR3*, *MafB* ve *TACC3*'ün yukarı regülasyonuna ve ardından hem siklin D1 hem de siklin D2'de bir artışa neden olur. Önemli olarak, siklin D2 yukarı regülasyonuna yol açan tüm translokasyonlar, yani t (4; 14), t (14; 16) ve t (14; 20), myeloma hastalarında

kötü prognoz ile ilişkilidir. Buna karşılık, siklin D1 ve siklin D3'ün translokasyon sonucu artışı ise nötr prognostik etkilere sahip olduğu kabul edilir Myelomda siklin D genlerinin aşırı ekspresyonunun yanı sıra, negatif hücre döngüsü düzenleyici genlerde fonksiyon kaybının da hücre döngüsü düzenlemesini dengesizleştiren önemli bir olay olduğu kanıtlanmıştır(46).

Örneğin, CDKN2C'nin del (1p) ile aşağı (down) regülasyonu veya CDKN2A'nın DNA metilasyon değişiklikleri ile etkisizleştirilmesi, bu genlerin siklinbağımlı kinaz inhibitörlerini kodlamasından dolayı G1/S geçişini serbestleştirebilir. Tümör baskılayıcı gen RB1'in etkisizleştirilmesi negatif bir hücre döngüsü düzenleyicisi de G1/S geçişini etkiler ve monozomi 13 nedeniyle veya sık sık homozigot silinmesi veya mutasyonel inaktivasyon nedeniyle oluşabilir. RB1'in anomalisinin birçok kanserde önemli bir patolojik olay olduğu bilinmektedir (46).

Sonuç olarak, MM'de hücre döngüsünü hedefleyen çalışmaların çoğu, esas olarak Cdk'nin inhibe edilmesine ve dolayısıyla hücre döngüsü girişinin inhibe edilmesine odaklanmıştır. Cdk inhibitörleri için elde edilen prelinik verilere dayanarak, spesifik Cdk4 / 6 inhibitörlerinin, anti-myelom tedavisinde kullanmak için pan-Cdk inhibitörlerine kıyasla daha uygun olabileceği, çünkü Cdk4 / 6'nın MM hastalarında serbest bırakılan ana Cdk'ler olduğu öne sürülmüştür. Spesifik Cdk4 / 6 inhibitör *palbociclib*'in, myelom hastalarında pan-Cdk inhibitörleri *flavopiridol* *SNS-032* veya *dinasiclib* ile karşılaştırıldığında daha iyi olabileceği gösterilmiştir. RB1 de dahil olmak üzere hücre döngüsü düzenleyicilerini hedef alan anti-kanser ilaçlarının geliştirilmesi hızla büyüyen bir alandır (50).

Anormal DNA Onarımı:DNA hasarı yanıtında (*ATM*, *ATR*, *CHK1* / 2 ve *p53* gibi) yer alan genlerdeki değişiklikler, DNA hasarı varlığında hücre döngüsü ilerlemesi ve nihayetinde myelom hücrelerinin genomik instabilitesi ile sonuçlanır. *ATM* ve *ATR* değişiklikleri (mutasyonlar ve silinmeler) küçük bir myelom hasta grubunda, yeni tanı alan hastaların sırasıyla %4.3 ve %1.5'inde meydana gelir. Hem *ATM* hem de *ATR* mutasyonları, bozulmuş bir prognoza doğru bir eğilim ile ilişkilidir. Ek olarak, MM'de *p53* değişiklikleri de tespit edilir. *P53* geni, 17 nolu kromozomda bulunur ve bu kromozomdaki (17p) *p53* delesyonu ile ilişkilendirilir. 17p silinmesinin yanı sıra, *p53* geninde mutasyonlar (*TP53*) da ortaya çıkabilir. Her iki değişiklik de yeni tanı alan hastalarda nadiren saptanır (17p del %9.5 ve *TP53* mutasyonları %3), ancak insidans

hastalığın ilerleyen aşamalarında artmaktadır. Ayrıca, p53 değişiklikleri myelom hastalarının kötü bir sağkalımı ile önemli ölçüde ilişkilidir. Önemli olarak, kombine *ATM*, *ATR* ve *TP53* değişiklikleri myelom hastalarının %14.5'inde mevcuttur ve genel sağkalım üzerinde önemli bir olumsuz etkiye sahiptir. Ayrıca, p53, MDM2 tarafından negatif olarak düzenlenir ve MDM2'nin aşırı ekspresyonu, myelom hücrelerinin çoğalmasına ve hayatta kalmasına neden olur. MDM2 geni, kromozom 12'de bulunur ve myelomda yüksek MDM2 ekspresyonu, kromozom 12 diploidi (%8) veya trizomi (%8) sonucu olabilir. Myelomda MDM2'nin aşırı ekspresyonu için bir başka mekanizma, *miR-192*, *miR-194* ve *miR-215*'in epigenetik susturulmasıdır. Yakın zamanda yapılan bir GEP çalışması, PARP1'in artmış ekspresyonunun myelom hastalarında azalmış sağkalımla ilişkili olduğunu göstermiştir. Başka bir GEP çalışması ise bu geni, yüksek riskli hastalığı tanımlamak için bir ekspresyon imzası olarak kullanılabilecek 15 genden biri olarak tanımlamıştır. PARP inhibitörleri klinik çalışmalarda ümit verici aktivite gösterdiğinden, bu alandaki araştırmalar myelom için çok önemli olabilir (46, 50).

Protein Homeostası:

UPR(yanlış katlanmış protein cevabı), ER'de yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi ile ortaya çıkan evrimsel olarak korunan bir stres tepkisidir. UPR'nin amacı, translasyon durdurma yoluyla de novo protein sentezini azaltarak homeostaziye teşvik ederken, ERAD yoluyla protein katlanmasını ve protein bozulmasını arttırmaya yardımcı olarak seçici olarak şaperonları uyarmaktır. Homeostaz sağlanamıyorsa, kalıcı UPR aktivasyonu apoptoziye neden olur. UPR'nin sinyal transdüsörleri IRE1, ATF6 ve PERK'dir. Aktive edilmiş IRE1, bir endonükleaz olarak işlev görür ve XBP1 mRNA eklenmesi ile sonuçlanır. Eklenmiş XBP1 ve ATF6, ER genişlemesini sürdürmek için lipid biyogeneze, ERAD aktivasyonuna ve şaperonların indüksiyonuna ve redoks dengesini düzenleyen faktörlere yol açan ana transkripsiyonel regülatörlerdir. Alternatif olarak PERK, homeostaz oluşturmak için EIF2a'nın fosforilasyonu yoluyla de novo protein sentezinin baskılanmasına neden olur. Bununla birlikte, eğer UPR zaman içinde sürdürülürse, PERK seçici olarak ATF4 ekspresyonunu indükler, bu da proapoptotik protein CHOP'un ekspresyonunu indükler(51).

Farklı UPR yolları arasında, sadece IRE1-XBP1 kısmı bortezomib duyarlılığına aracılık eder. Aslında, MM'de, eklenmiş XBP1'in kaybı, plazma hücrelerinin

plazmablastlara indirgenmiş Ig üretimiyle, proteotoksik stresi azaltmada ve PI'ye karşı duyarlılığı azaltma ile sonuçlanır. IRE1 endoribonükleaz bölgesinin doğrudan inhibitörleri MM'de umut verici prelinik aktivite göstermişlerdir ve erken dönem klinik çalışmalarının yakında yapılması beklenmektedir (51).

İlgi çeken, dizileme verileri ayrıca, %3'lük düşük bir frekansta olmasına rağmen, UPR geni XBP1'deki mutasyonları da ortaya çıkardı. Transgenik farelerde aşırı eksprese edildiğinde, XBP1'in bir splice formunun myelom benzeri sendromu indüklediği, oysa XBP1 B hücrelerinin eksik olduğu farelerde germinal merkezleri çoğaltabildiği ve inşa edebileceği ancak immünoglobulin salgılayan plazma hücrelerine farklılaşamadığı gösterilmiştir. XBP1'in insan myeloma patogenezindeki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte, son zamanlarda yapılan bir araştırma, myelom örneklerinde XBP1'in splice ve unsplice varyantları arasında yüksek bir oran bulmanın kötü prognozla bağlantılı olduğunu ve bağımsız bir prognostik faktör olarak hizmet ettiği gösterilmiştir (46).

Ubiquitin proteazom yolu, proteinlerin parçalanması için majör bir sistemdir ve proteazom inhibitörü Bortezomib, relaps ve relapse edilen ve refrakter multipl myelomanın tedavisi için FDA tarafından onaylanmıştır. Olağanüstü aktivitesine rağmen, bazı hastalar yanıt vermez ve direnç kazanırlar. Spesifik olarak, ubikitine edilmiş proteinlerin parçalanması için alternatif bir mekanizma aggrezom/ lizozom / otofaji yolağı yoluyla olmaktadır. Bu kaskadda histon deasetilaz (HDAC) 6, bir yandan ubikine edilmiş proteine giderken ve diğerinde *dynein* mikrotübül komplekslerine bağlanır ve böylece ubikine edilmiş proteini aggrezom / lizozom / otofaji mekanizması yoluyla parçalanmasına aracılık eder. Bu iki protein bozulma yolunun, hem normal hücrelerde hem de kanser hücrelerinde ve bunların substrat özelliklerinde göreceli rolleri henüz tanımlanmamıştır (52).

HSP 70

HSP70 gibi yollar, ubiquitin-proteazom ve katlanmamış protein yanıtı (UPR) ve otofaji yolları, neoplastik hücrelerin, endoplazmik retikulumda (ER) immünoglobulin aşırı yükü tarafından üretilen strese göre uyum göstermesine yardımcı olur. Isı şoku proteini 70, gh APAF-1 ve kaspaz 9'u inhibe ederek myelom hücrelerinin sağkalımını artıran yollardan biridir. HSP ekspresyonu, ısı ve diğer stresleyiciler, yani radyasyon ve kemoterapiye maruz kalma ile aktive edilir. HSP70 ailesi 13 proteinden oluşur. Bu ailenin proteinleri şunlardır: HSPA1A ve HSPA1B (birlikte HSP70 veya HSP72 olarak

adlandırılır), HSPA5 (BIP), HSPA8 (HSC70) ve HSPA9. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, yüksek HSP70 seviyelerine sahip tümör hücrelerinin, proteazom inhibitörlerinin faydalı etkisine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu protein, MM tedavisi için yeni bir yaklaşımı temsil eder (53).

2.1.2.6. MM Tedavi

MM tanısı ve tedavisi son on yılda çarpıcı bir şekilde değişmiştir. Terapideki ilerlemeler, genel sağkalımda önemli bir iyileşme sağlamıştır. Bunların, daha iyi hayatta kalmaya yol açan klinik uygulamaya girmeleriyle, geleneksel kemoterapiden daha etkili ve genellikle daha iyi tolere edildiği gösterilmiştir. MM için tedavi alanı, immünomodülatör ilaçlar, proteazom inhibitörleri ve monoklonal antikorlar dahil olmak üzere yeni ajanların geliştirilmesiyle dönüştürülmüştür.

MGUS sahip kişiler, uzun süreli takip gerekmesine rağmen tedavi gerektirmez. MGUS'lu kişilerin küçük bir yüzdesi sonunda tam gelişmiş MM geliştirir. MM'in semptomları geliştiğinde, hemen hemen bütün hastalar için bir veya daha fazla seçenek ile tedavi önerilmektedir.

Son birkaç yılda tanıtılan yeni ilaçlar arasında *Karfilzomib*, *Pomalidomid* ve *Panobinostat* bulunur. Ek olarak, *Elotuzumab* ve *Daratumumab* gibi monoklonal antikorlar umut verici klinik aktivite göstermiştir (54).

İmmünoterapi ve monoklonal antikorlar

MM'deki immün fonksiyon son zamanlarda büyük ilgi yaratmıştır. Monoklonal antikorların yanı sıra, immünomodülatör ilaçlarla (IMiD) kombinasyon halinde kontrol noktası inhibisyonunun değerlendirilmesiyle aktif bir araştırma alanıdır. Etkileyici kalite ve yanıtın dayanıklılığı, kombinasyon halinde kullanılan CD38 hedefleyici antikorlarla ve ayrıca anti-SLAMF7 antikor elotuzumab ile birlikte, monoklonal terapide görülür. Tek bir ajan olarak *Elotuzumab*, hayal kırıklığı yaratan sonuçlar göstermesine rağmen, *Lenalidomid* ve *Bortezomib*(Bz) ile kombinasyon, nüks ve refrakter hastalıkta, yönetilebilir bir toksisite profili ile progresyonsuz sağkalım (PFS) yüksek yanıt oranı ve düzelme göstermiştir. Bunun tersine, *Daratumumab*, hem tek bir ajan olarak hem de kombinasyon halinde, tekrarlayan / refrakter MM'de güçlü aktivite göstermiştir. Ağır ve tedavi almış hastalarda, tek bir ajan olarak *daratumumab* ile yapılan iki ayrı faz II

çalışmasında, kısmi bir cevap verilmiş veya neredeyse üçte birinde daha iyi sonuç alınmıştır (54).

MM'de rol oynayan PD-1 / PD-L1'in in vitro ve in vivo güçlü kanıtlarına rağmen, tek ajan *Nivolumabın* hayal kırıklığı yarattığı ortaya çıkmıştır. Buna karşılık, kontrol noktası inhibitörlerinin IMiD'lerle kombinasyonları, çift refrakter hastalığı olan hastalarda bile, gelişmiş klinik aktivite göstermiştir. Ancak, yeni tanı almış ve tekrarlayan MM olan hastalarda sırasıyla *Lenalidomid* (NCT02579863) ve *Pomalidomid* (NCT02576977) ile *Pembrolizumab* kombinasyonunu değerlendiren 2 faz III çalışması, erken analiz sonrası kontrole karşılaştırıldığında, toksisite ve inferior sağkalım nedeniyle sonlandırılmıştır. Kontrol noktası inhibitörlerinin daratumumab ve elotuzumab ile kombinasyonları da başlatılmış, ancak pembrolizumab ile görülen beklenmedik ciddi toksisite, bu çalışmalarla birlikte FDA tarafından klinik olarak durdurulmasına neden olmuştur (NCT01592370, NCT02252263, NCT02726581) (54).

B hücresi olgunlaşma antijeni de dahil olmak üzere birçok başka hedefler çalışma aşamasındadır. B hücresi olgunlaşma antijeni (BCMA, ayrıca TNFRSF17 veya CD269 olarak da adlandırılır) malign plazma hücreleri üzerindeki güçlü ve oldukça homojen ifadesini, önemli etki mekanizmalarıyla birlikte dikkate alarak, özellikle bu yaklaşım için uygun olan genç hastalarda kimerik antijen reseptörü-T-hücre (CAR-T) tedavisi için ideal bir terapötik hedefi temsil eder (55). Tümör hücresinin ölümüne aracılık edebilen kimerik antijen reseptörü (CAR-T) hücresel tedavisi ile myelom hücreleri üzerinde spesifik olarak eksprese edilmiş antijenleri hedef alan aktif T hücreleri kullanılmaktadır (56).

BCMA dışındaki MM hücreleri üzerindeki diğer hedefler erken preklinik gelişimdedir. Anti-myeloma aktivitesi gösteren BCMA'yı hedefleyen CAR-T hücrelerinin insan klinik denemesinde ilk kez 2016 yılında yayınlandı. Bazı son faz 1/2 denemeleri, proteazom inhibitörleri, IMiD'ler ve CD38'i hedefleyen monoklonal antikorlar üzerinde ilerleyen MM hastalarında ümit verici ön sonuçlar göstermiştir. CAR-T hücre tedavisi, pediatrik ve genç erişkin hastadaki relaps / refrakter B-ALL tedavisi için ve yaygın büyük B hücreli lenfoma (DLBCL) tedavisinde FDA ve EMA tarafından zaten onaylanmıştır, ancak faz 1/2 denemelerinde relaps / refrakter MM (RRMM) tedavisi için 2019'da değerlendirme kapsamındadır (57).

2.2. YENİ NESİL DİZELEME VE MULTİPLE MYELOMA TRANSKRİPTOM ÇALIŞMALARI

Genom çapında ekspresyonu RNA sekanslama teknolojisi olan transkriptom profillemeye ile kanserin karmaşık ilişkisini araştırmada oldukça kolaylık sağlamaktadır. Transkriptom, hücre içerisindeki dinamik işleyişin bütün transkriptlerin çeşidinin ve miktarının eş zamanlı olarak incelenmesine olanak sağlar. Bir örnekteki mRNA miktarına göre, transkriptte olan genlerin bir grubuna veya tamamının ekspresyon düzeyine, tek nükleotid değişimlerini (SNP), insersiyonları, delesyonları, translokasyonları ve kodlanmayan RNA'ları da incelemek mümkündür (58).

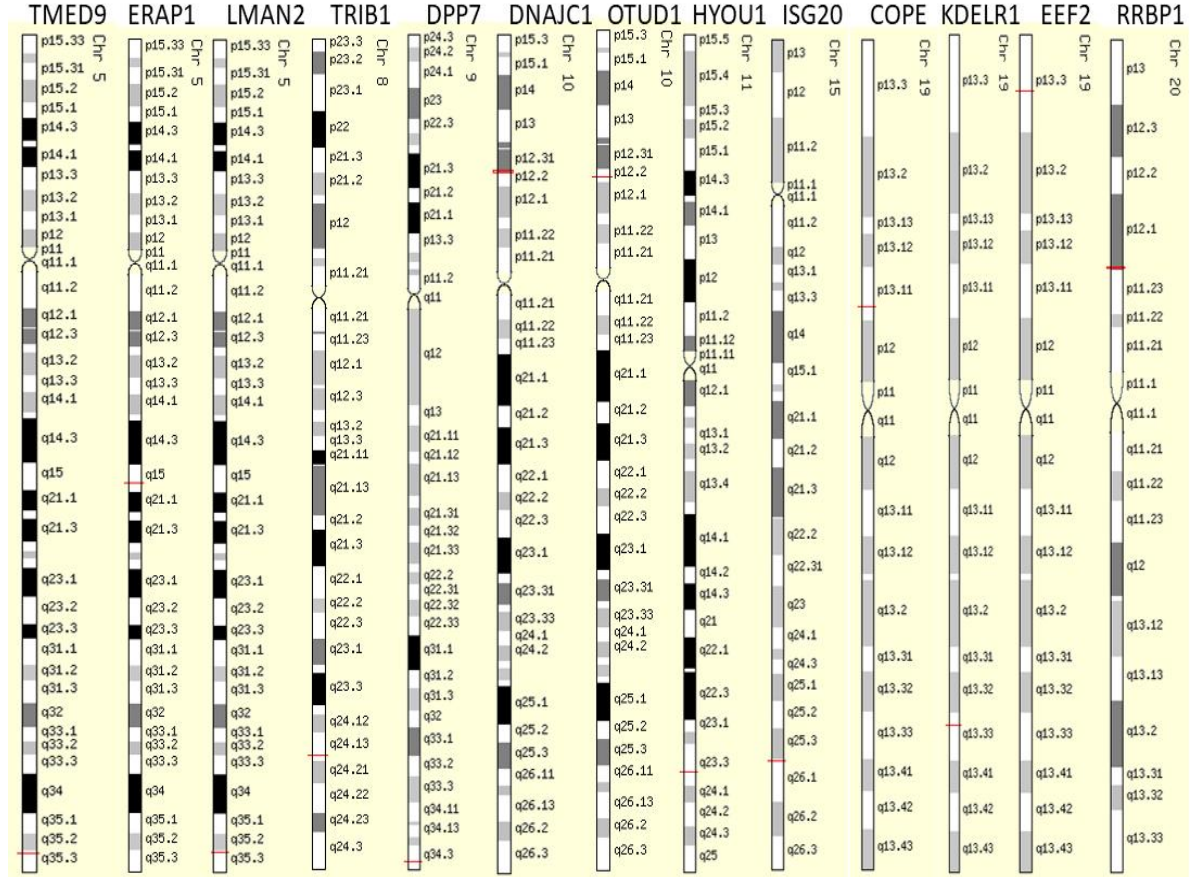
İlk büyük ölçekli ($n = 765$) tüm genom çalışmasını içeren büyük kohort çalışmaları, MM'de mevcut olan klonal ve alt klonal heterojenite ile ilgili önemli bir bilgi birikimi sağlamıştır. İntraklonal değişkenlik, MM'de gösterilen kanserin önemli bir özelliğidir. 877 hastanın çalışmasında, MGUS plazma hücrelerinin MM ve nüks MM ile benzerlik paylaştığını doğrulamış, bununla birlikte MM ilerlemesi sırasında son zamanlarda aktive edilen genleri ve yolları tanımlanmıştır (59, 60).

Transkriptomik çalışmalar, farklı sonuçların öne sürdüğü MM alt gruplarını karakterize ederek MM-MGUS-SMM biyolojisinin deşifre olmasına büyük ölçüde katkıda bulunmuştur. Mikroarray ve daha yakın zamanda RNA sekanslama çalışmaları kodlayıcı ve kodlayıcı olmayan genlerin, alternatif splicing olaylarının ve mutasyonlarının ekspresyonunun yanı sıra myelom hücresinin biyolojisi, hastalığın prognoz ve tedavi ile ilgili yeni bilgiler sağlamıştır. Elde edilen bu yeni verilerde myeloma patogenezinde etkili yeni aday genlerin belirlenmesi yeni tedavi hedefleri yaratmaktadır. İlerleyen yıllarda hastalarda gen ekspresyon profilinin tamamen açığa kavuşturulması sonucu kişiselleştirilmiş tıp alanında bireye özel tedavi planlanmasında çok önemli olacaktır (60).

2.2.1. Aday Genlerin Belirlenmesi

Bir önceki çalışmamızda yeni tanıli tedavi almamış myeloma hastalarının myeloma hücrelerinin transkriptom profilini belirledik. Transkriptomik profilimiz, tüm transkriptlerin, alternatif yeni ekleme varyantlarının, mutasyonların ve füzyon genlerinin diferansiyel ekspresyonunu değerlendirmek için veriler sunmaktadır. Bu sonuçlar myeloma patogenezinin anlaşılmasına katkıda bulunacak prognostik ve yeni tedaviler için değerli bilgiler sağlamaktadır (61). Çeşitli biyoenformatik araçlar

kullanarak RPKM değeri sağlıklı kontrol grubu hücrelerine göre yüksek ekspresyona sahip 13 aday gen belirlenmiştir. Bu genlerin kromozomlar üzerindeki lokasyonları görselleştirilerek Şekil 2-4'te verilmiştir (62).



Şekil 2-4: 13 Aday Genin Kromozom Üzerindeki Lokalizasyonları

2.2.1.1. TMED9

P24 proteinleri tüm ökaryotlarda korunmuştur. Lümenal bir N-terminal GOLD (Golgi dinamikleri için) domeni, sarmal-sarmal bölgesi, tek bir transmembran alanı ve bağlanan kısa bir sitoplazmik kuyruk içerir (63).

Kargo reseptörleri familyası içeren TMED (transmembran emp24 domeni), yakın zamanda çin hamsteri yumurtalık hücrelerinde Golgi kaynaklı veziküllerde ve *S. cerevisiae*'de bulunmuş ve oligomerik dimerik ve monomerik integral membran proteinleri olarak tanımlanmıştır (64). P24 /TMED proteinleri ve p24 benzeri proteinlerin Emp24-gp25Lp24 bölgeleri, *Chordata*'da 285 protein içinde bulunur, bu proteinlerin işlevi tam olarak anlaşılmamıştır ve pankreas hücrelerinde insülin sekresyonunu içerebilir (65, 66).

Özellikle TMED9 erken salgılama yolağında, veziküler protein trafiğine dahil olduğu görülüyor. COPI'da, erken salgılama yolağının zarlarına koatomer alımında rol alan vezikül aracılı retrograd taşınmada bulunur. ARFGAP2'nin koatomer bağımlı aktivitesini artırır. Cis-Golgi membranlarında p24 komplekslerinin spesifik tutulmasında çok önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir; özellikle cis-Golgi ağındaki TMED2 ve TMED10'un birleşik lokalizasyonuna katkıda bulunur. ER-Golgi ara bölmesi ve Golgi aygıtı gibi hücre içi membranların organizasyonu ile ilgili olabilir (67).

2.2.1.2. KDEL R1

Endoplazmik retikulum (ER) lümeni, lipid metabolizması, kalsiyum depolaması, protein katlanması ve değiş-tokuşu dahil, temel hücresel fonksiyonların bir bölgesidir. Luminal ER yerleşik proteinleri, bu önemli hücresel fonksiyonları yerine getirir ve KDEL reseptörleri ile etkileşime girmesi ile bilinen karboksi-terminal ER tutma dizileri (ERS'ler) tarafından homeostatik şartlar altında tutulmaktadır. Memeli genomu ile yakından ilişkili hepsi ER ve Golgi çevresinde lokalize olan üç KDEL reseptörü KDEL R1, KDEL R2 ve KDEL R3 vardır. KDEL R'nin, cis-Golgi'den çözünen ER'de yerleşik proteinleri geri kazanan bir şaperonu geri alma reseptörü olarak görev yaptığı bulunmuştur (68). ER'de yerleşik proteinler arasındaki genel bir özellik, bir C-terminal tetrapeptid, Lys-Asp-Glu-Leu (KDEL) veya ER-tutma sinyali olarak ilgili motifler bulundurulur. ER proteinleri Golgi'ye ulaştığında, KDEL reseptörleri (KDEL R'ler) KDEL'i ve ilgili motifleri tanır ve onları Golgi-ER retrograd taşınmasına yol açan koatomer protein kompleksi I (COPI) veziküllerine paketler. Bu nedenle, ER stresi üzerinden ER şaperonları için potansiyel bir kaçış mekanizması olarak KDEL R geri alma, taşınmada karışıklığına neden olabilir (69).

Hücre içi taşıma işlemlerinin kontrolündeki ilişki düzeylerinden dolayı, KDEL R'ler hücre stresi koşulları ve hücresel stres yanıtının düzenlenmesi ile ilişkilidir, bununla birlikte özel sonucu KDEL R ekspresyon seviyesine ve ilgili hücre tipine büyük ölçüde bağlıdır. KDEL reseptörü 1'in (KDEL R) başlangıçta çözünür endoplazmik retikulum (ER) içeren proteinlerin cis-Golgi'nin ara bölmesinden ER'ye geri dönmesinden sorumlu olduğu bulunmuştur. Bu retrograd taşıma, çözünebilir ER yerleşik proteinlerin C terminallerinde KDEL benzeri bir motif içermesini veya bunu yapan ER yerleşik proteinlerle bir kompleks oluşturmasını gerektirir. Daha yeni bir

çalışma, KDEL fonksiyonunun, şaperona bağlı KDEL'nin, hücre içi sinyal kaskadları için kritik olabilecek bir olgu olan Golgi kompleksindeki Src ailesi kinazlarının aktivasyonunu tetiklediğini bildirerek motif tanımanın ötesine geçtiğini göstermiştir (70, 71).

2.2.1.3. ISG20

ISG20 proteini, 15q26.1 (NC_000015.10) kromozomunda bulunan ISG20 geni tarafından kodlanır ve hem tip I hem de II interferonlar, çift sarmallı RNA, östrojen ve tiroid hormonları ve ayrıca virüs kodlanmış transkripsiyon faktörleri tarafından uyarılır. ISG20, esas olarak çift sarmallı RNA veya tek sarmallı DNA yerine tek sarmallı hedeflenerek güçlü bir 3 ila 5 'eksonükleaz aktivitesi sergiler. ISG20, çeşitli virüslere karşı host immün tepkilerinde merkezi bir rol oynar. Özellikle, ISG20'nin sarı humma virüsü (YFV), sığır viral diyare virüsü (BVDV), veziküler stomatit virüsü (VSV), ensefalomiyokardit virüsü (EMCV), influenza virüsü ve insan immün yetmezlik virüsü tip 1 (HIV-1) de dahil olmak üzere birçok pozitif iplikli RNA virüsünün replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (72, 73, 74, 75, 76, 77). İlk olarak 1997 yılında Celine Gongora ve meslektaşları tarafından IFN ile indüklenen bir promyelositik lösemi nükleer cisimcik (PML-NB) ile ilişkili protein olarak tanıtılmıştır. PML-NB'nin onkogeneze ve gen transkripsiyonunda yaygın bir şekilde yer aldığı ve fonksiyonun bağlayıcı proteinine göre değiştiği bildirilmektedir (73). RNA'lar ve ribozom biyogenezinde RNA stabilitesinin kontrolüne yol açmaktadır. Eksonükleaz ISG20, esas olarak nükleolus ve *kajal* (Coiled) gövdelerinde lokalizedir. ISG20, tip I ve tip II IFN'ler tarafından uyarılabilir. ISG20 ekspresyonunun enfeksiyon sırasında ve çeşitli kanser türlerinde yükseldiği gösterilmiştir. Ancak, bu proteinin tam fonksiyonu ve etki mekanizması aydınlatılamamıştır (78).

2.2.1.4. EEF2

Ökaryotik uzama faktörü 2 (EEF2), polipeptit zincir uzatma aşamasında önemli rol oynayan bir gendir. Ökaryotik uzama faktörü 2 kinaz (EEF2K), EEF2'nin fosforilasyonu yoluyla protein sentezini negatif olarak modüle eden ve böylece uzamayı engelleyen EEF2'nin protein sentezini negatif olarak modüle eden bir Ca^{2+} / kalmodulin (CaM) bağımlı kinazdır. EEF2K, hücresel besin maddesi ve enerji durumu ile düzenlenir. Besin tükenmesi, EEF2K'nin AMPK yoluyla aktivasyonu ve TORC1 sinyal

yollarının inhibisyonu ile ilişkilidir, bu da artan otofaji ve hücre sağkalımı ile sonuçlanır (79).

Kanser hücresi metabolizmasının en önemli özelliklerinden biri yüksek seviyede protein biyosentezidir.

Her ne kadar başlangıç basamağı, kanserde serbest bırakılan sinyal iletim yolları tarafından en çok hedeflenen gibi görünmekle birlikte, translasyonda uzama basamağının deregülasyonu da tümörigenezde yer alır. Hücreler, EEF2 aktivitesinin, hücre döngüsü ilerlemesi ve genotoksik stres gibi çoklu biyolojik koşullar altında veya antiproliferatif etkilere neden olan endojen karbon monoksit tepkisi gibi düzenlenmesi yoluyla uzama aşamasında kontrol translasyon seviyelerini kontrol eder. Daha önce, EEF2'nin gastrik ve kolorektal kanserlerin çoğunda aşırı eksprese edildiği bildirilmiştir. Akt ve bir G2 / M regülatörünün, CDC2 proteinlerinin aktivasyonu ile bağlantılı olarak hücre döngüsünün G2 / M'nin in vivo kanser hücresi büyümesi ilerlemesini sağladığını ve bunun in vitro olarak arttırıldığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, tümör oluşumunda EEF2'nin rolü büyük ölçüde bilinmemektedir ve EEF2'nin molekül hedefli kanser tedavisinin hedef bir molekül olup olmadığı belirsizdir (80).

2.2.1.5. ERAP1

ER'de yerleşik aminopeptidaz ERAP1 5.kromozomun q15 bölgesinde lokalizedir. İmmün aktivasyon ve inflamasyon, kan basıncı regülasyonu ve antijenik peptid repertuarının şekillendirilmesinde yer alan çinko bağımlı çok işlevli tip II integral membran enzimlerindendir.

ERAP1'in antijen işlemedeki rolü hem fare hem de insanlarda geniş bir şekilde incelenmiştir. ERAP1, 9-merden daha uzun peptitleri tercihli olarak ayırırken 8-mer ve daha kısa peptitler ile neredeyse etkisiz hale gelir. Kristalografik ve enzimolojik çalışmalar, bu enzimin mekanizmasının ortaya çıkmasına büyük ölçüde katkıda bulunmuştur. Ek olarak, çoklu in vitro çalışmalar, tek tek veya birleşik polimorfik ERAP1 tortularının peptit kırpma üzerindeki rolünü ele alarak enzimatik aktiviteyi nasıl modüle ettikleri belirlenmiştir. ERAP1'in tüm bireylerde eksprese edilmesi ancak yüksek polimorfizminden dolayı, hem popülasyonlar içinde hem de popülasyonlar arasındaki farklı ERAP1 varyantlarının sıklığı çok değişken olmasındandır. ERAP1 polimorfizminin, MHC-I ile ilişkili hastalıklar için bir risk faktörü olduğu ve genellikle her hastalığın MHC aleliyle epistasis duyarlılığı olduğu keşfedilmesi, ERAP1

polimorfizmi ve özel hastalıkla ilişkili MHC arasındaki fonksiyonel etkileşime odaklanmayı keskinleştirmektedir (81).

Bazı ERAP1 polimorfizmleri, ERAP1'in yapısından ziyade ekspresyon seviyesini ve aynı zamanda bütün bireylerde yaygın olarak eksprese edilen bu enzimin iki izoformunun nispi seviyelerini etkiler. ERAP1 ekspresyonundaki farklılıkların peptit bölünmesi üzerinde belirgin bir etkisi olmasına rağmen, değiştirilmiş izoform seviyelerinin etkisi daha az açıktır. İki izoform arasındaki post-transkripsiyonel dinamiklerdeki farklılıkların, izoform oranlarını etkileyen polimorfizmin, ERAP1 proteininin ekspresyonu üzerindeki dolaylı bir etkisi ile sonuçlandığı görülmektedir (81).

ERAP1 ve ERAP2 genlerinin ikisi de interferonlar (IFN'ler) ve Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF α) ile düzenlenir. Servikal karsinomda ERAP1, numunelerin %85'inde yüksek seviyelerde, kalan numunelerde düşük seviyelerde eksprese edilmiştir. Düşük ERAP1 ekspresyonu servikal karsinom hastalarında daha kötü genel sağkalım ve metastaz varlığı ilişkisi bulunmuştur (82).

2.2.1.6. TRIB1

Tribbles, başlangıçta *Drosophila*'da oogenez için gerekli evrimsel olarak korunmuş bir protein ailesi olarak tanımlanmıştır. Tribbles ailesinin üç üyesi Trib1, Trib2 ve Trib3 insan kinomu içinde benzersiz olan ökaryotik psödoenzimlerin önemli bir alt dalını temsil eder. TRIB proteinleri, hücre içi hücre sinyali düzenler. Hepsi merkezi bir serin / treonin kinaz benzeri molekülleri olup treonin kinaz benzeri bölge ve E3 ubiquitin ligazlar için bir C-terminal bağlanma bölgesi bulunur. Bununla birlikte, bu proteinler, karakteristik adenosin trifosfat bağlama bölgesinin ve katalitik çekirdek motifinin korunmuş kalıntıların olmaması nedeniyle katalitik olarak etkin değildir. Doğrudan fosforile edici proteinler yerine, bu gen ailesi, farklı hücre mediatörleriyle etkileşime girdikten sonra hedeflenen proteinlerin bozulmasını sağlayarak birkaç hücre yolunu düzenleyen bir adaptör proteini görevi görür. Hücre içi olarak TRIB1, transkripsiyon / translasyon ve izoform oluşumu gibi işlemlerden sorumlu C / EBP transkripsiyon faktörleri ailesinin düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. TRIB1 aynı zamanda, hepsi kanser gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayan, büyüme, proliferasyon, farklılaşma, göç ve apoptoz gibi anahtar hücre işlemlerini aktive eden / inhibe eden mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolunun bilinen bir

regülatörüdür. TRIB1 lösemi ile güçlü bağlantısı nedeniyle myeloid onkogen olarak tanımlanmıştır (83).

2.2.1.7. DPP7

DPP7/DPP2 5.5-7.0 arasında geniş bir pH optimumunda hücre içi veziküllere lokalizedir. Çözünebilir serin proteaz bir proform içerir ve molekül ağırlığı 58 kDa olan 492 amino asit uzunluğundadır. DPP7'nin, DPP7 aktivitesinin azalmasının hücrelerin durgun lenfositlerde ve fibroblastlarda G0 - fazlarından çıkmalarına neden olduğu ve p53 ve c-Myc düzenlemesiyle apoptozun indüklenmesine neden olduğu için apoptozda rol oynadığı bildirilmiştir (84).

DPP7 inhibisyonundan sonra hücre döngüsü deregülasyonuna işaret eden diğer kanıtlar, lenfositlerde gözlemlenen ERK-1 ve -2'nin artan fosforilasyonudur. ERK-1 ve -2 progresyon ve lenfosit aktivasyonudur. Birlikte DPP2 inhibisyonu yoluyla apoptoz indüksiyonu için tifosforilasyon gerekir. Bu DPP7 inhibisyonu, ERK'yi aktifleştiren ve apoptozu indükleyen örtüşmeyen yolları eşzamanlı olarak aktive edilebilir. ERK fosforilasyonunun aktivasyon ve anejri indüksiyonunda rapor edilmiş olsa bile, kendi başına fosforilasyonun bir gereklilik olduğu belirtilmiştir (85).

2.2.1.8. RRBP1

Ribozom bağlayıcı protein 1 (RRBP1), esasen endoplazmik retikulum (ER) zarının bir ribozom bağlayıcı proteinini kodlar. Bir transmembran alanı, bir asidik sargılı bobin COOH terminal alanı, bir ribozom alanı ile 1,410 amino asitten oluşmaktadır. RRBP1, yeni doğan proteinlerin taşınması ve salgılanması için çok önemlidir. Araştırmalar, bu genin ER proliferasyonunda, salgı yollarında ve salgı hücre farklılaşmasında ve ER-mikrotübül etkileşimlerinin aracılık etmesinde rol oynadığını göstermektedir. Salgı dokularında prokollajen biyosentezinde ve salgı dokularında terminal farklılaşmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, RRBP1 seviyesinin tümörgenesis gelişimini etkilediğini ortaya koymaktadır (86, 87).

RRBP1, endoplazmik retikulum strese yanıtının ve ilişkili UPR'nin bir üyesi olduğu mayalarda çalışılmıştır. Ayrıca birkaç kanser hücresi hattında yüksek oranda eksprese edilen bir motor proteini olan KIF5B ile etkileşime girdiği de gösterilmiştir. RRBP1'in tümör oluşumunda ve ilerlemedeki muhtemel rolü ile ilgili olarak, RRBP1

aşırı ekspresyonu kolorektal kanserde ve akciğer kanserinde sık sık meydana geldiği çalışmalarda gösterilmiştir (88).

2.2.1.9. COPE

Bu genin ürünü, koatomer protein kompleksinin epsilon alt birimidir. Koatomer, dislizin motiflerine bağlanan ve Golgi-klathrin kapalı veziküllerle tersinir bir şekilde bağlanan bir sitozolik protein kompleksidir. Koatomer kompleksi alfa, beta, gama, delta, epsilon ve zeta alt birimlerinden (α , β , β' , γ , δ , ϵ ve ζ) oluşmaktadır. Alternatif olarak, farklı izoformları kodlayan eklenmiş transkript varyantları tanımlanmıştır.

Ökaryotik hücrelerde, üç vezikül bazlı protein kargo trafik sistemi sistemini içermektedir. Klathrin kaplı veziküller, plazma membranından trans-golgi ağına ve trans-golgi ağından endozomlara taşınmaya izin verir. Koatomer II (COPII) kapalı veziküller, Golgi anterograd taşıyarak ER'ye geçerler. Buna göre, koatomer (COPI) kapalı veziküller, esas olarak Golgi ve ER veya Golgi bölümleri arasındaki membran trafiğine katılmaktadır. COPI kaplanması oluşumu, GTP-bağlı formunda, hedef membrana ekleyen ve vezikül tomurcuklanmadan önce koatomer tasarımı yapan GTPase ARF1'e (ADP-ribosilasyon faktörü 1) göre tasarlanmıştır. ARF ile GTP hidrolizi, COPI proteinlerinin kaplanmasıyla ve hedef membranla vezikül füzyonu ile ilişkilidir (89).

2.2.1.10. OTUD1

İnsan genomunun analizi, ~ 460 fonksiyonel proteazların büyük bir kısmını hesaba katarak ~ 80 fonksiyonel DUB varlığını gösterir. Bunlar arasında, insanlarda kodlanan en az 14 aktif OTU ailesi deubiquitinaz vardır. OTU alanını içeren protein 1 alternatif olarak DUBA-7 olarak adlandırılır ve OTU (DUB) ailesine aittir.

Her yerde kullanımı olan ubiquitinasyon işlemi oldukça dinamik bir süreçtir ve deubikuitinazlar (DUBs) olarak bilinen özel enzimlerin etkisiyle bu işleyiş tersine çevrilebilir. DUB'lar, hedef proteinler üzerindeki lizin kalıntıları ve ubiquitin C-terminal glisinini arasındaki izopeptid bağı parçalayarak E3 ligazlarının etkisine karşı çıkarlar (90).

OTU DUB'lar, NF-kB yolu, interferon yolu, DNA hasarı tepkisi vb. dahil olmak üzere birçok sinyal yolunda önemli roller oynar. DUB'ler, kovalent olarak eklenmiş ubiquitini proteinlerden uzaklaştıran, böylece substrat aktivitesini ve / veya bolluğunu kontrol eden önemli enzimlerdir. Birkaç çeşit dehidrataz enzimi, kanserlerin gelişimi ve

ilerlemesi ile ilişkilendirilmiş ve prostat kanseri, foliküler lenfoma kolonu ve meme kansinomlarında yukarı doğru düzenlenmiş olduğu bulunmuştur (91).

OTUD1 farklı akış aşağı yüzeylerini düzenleyerek immün tepkilerde ve meme kanserinde önemli roller oynar. OTUD1 bir metastaz baskılayıcısıdır ve yüksek ekspresyonu, kanser kök hücrelerini (CSC) kendi kendini yenileyerek sınırsız çoğalmasını engelleyebilir ve metastazı önleyebilir. OTUD1, apoptozu arttırmak ve hücre proliferasyonunu azaltmak için hücrelerde p53'ün yaygınlaşmasını doğrudan bastırmıştır. Piao ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada OTUD1'in p53 stabilitesini ve aktivitesini düzenlemede önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. Bu sonuçlar OTUD1'in p53'ün yeni bir düzenleyicisi olduğunu göstermektedir (92).

2.2.1.11. HYOU1

HYOU1 proteini, ısı şoku ve ER stres proteini ailelerinin bir üyesi olan oksijen ayarlı protein 150 (ORP150- GRP170) olarak bilinen bir ER yerleşik şaperon proteinidir. HYOU1'in hücre gelişimindeki biyolojik fonksiyonu bugüne kadar büyük ölçüde belirsizdir. Çalışmalar HYOU1'in apoptozisin düzenlenmesinde rol oynayabileceğini ve inhibisyonunun hızlandırılmış apoptoz ile korele olduğunu göstermiştir. Ek olarak, bu genin hipoksi ile indüklenen hücresel bozulmada önemli bir sitoprotektif rolü olduğunu gösteren hücresel deneyler vardır (93).

HYOU1 proteininin prostat kanseri, mesane kanseri ve meme kanseri, kolorektal kanser ve diğer tümörlerde yukarı regüle edildiği ve yüksek HYOU1 ekspresyonunun yüksek invazyon ve kötü prognoz ile pozitif ilişkili olduğu bildirilmiştir. Aşırı eksprese edilmiş HYOU1 proteini, anti-tümör ilaçların neden olduğu tümör hücresi apoptozunu önemli ölçüde inhibe edebilir ve tümör hücrelerinin kemoterapiye direncini artırabilir. HYOU1'in azalmış ekspresyonu, tümör hücrelerinin proliferasyonunu ve tümör progresyonunu ertelemeyi önemli ölçüde önleyebilir (94).

2.2.1.12. LMAN2

ERGIC-53 ile aynı aileye ait olan LMAN2 geni, Endoplazmik Retikulum (ER) ile Golgi aygıtı arasında dolaşan ve glikoproteinlerin taşınmasında ve sınıflandırılmasında bir kargo reseptörü olarak görev yapmaktadır. LMAN2/VIP36, bir tip I membran proteinidir. Erken salgılama yolu içinde hareket ederek yüksek mannoz glikanlarını bağlar. LMAN2'nin yüksek mannoz tip oligosakkaridasyon

glikoproteinlerle ilişkisi olmasına rağmen, *Frontal Affinite Kromatografi* kullanılan ileri analizlerde rCRD özelliğine sahip şeker glikozilasyon ve D1 mannoz dallarında trimlenme göstermiştir. Salgı (sekretuar) proteinlerinin kalite kontrolleri sırasında LMAN2 ile interaksiyon içinde oldukları belirlenmiştir (95). Örneğin 80 kDa İmmunoglobulin Binding Protein (BIP) LMAN2'ye bağlanır. Bu genin yüksek eksprese edildiği yerler plazma membran, endozomlar ve golgi yapılarında lektin ile birlikte bulunur (96).

2.2.1.13. DNAJC1

Bu gen tarafından kodlanan membran proteini, moleküler şaperon BiP'yi bağlayan DNAJ/ ERj1p benzeri bir ısı şok proteinidir. Ek olarak kodlanan protein, serpin alfa-antikimotripsin ve alfa-1 antitripsin inhibitörü ağır zincirini bağladığı gösterilen iki SANT alanı içerir (97).

DNAJ1 ayrıca başlangıçta protein sentezini modüle edebilir ve membrana bağlı bir transkripsiyon faktörü olduğu tahmin edilmektedir. Ek olarak DNAJ1, gen ifadesinde çift düzenleyici bir role sahiptir. DNAJ1, BiP ve DNAJ1'nin sitozolik alanı içindeki bir başka yüklü oligopeptit yokluğunda çeviriyi inhibe eder ve nükleer import faktörü importun bağlanmasına ve çekirdeğin içine aktarılmasına aracılık ederek genomik DNA üzerinde böylece müteakip eylem için yolu oluşturur. Bu gene ilişkin Gen Ontolojisi ek açıklamaları arasında kromatin bağlama ve ATPase aktivatör aktivitesi bulunur (98).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 2017/1425 numaralı bu tez çalışması onaylanmıştır. Kemik iliği materyali alınırken gönüllü onam formları imzalatıldıktan sonra örnekler çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma esnasında iyi klinik ve laboratuvar uygulamaları esaslarına uyularak, Helsinki Bildirgesi dikkate alınmıştır. Kontrol grubu, yeni tanılı ve tedavi görmemiş MM grubu, MGUS grubu olmak üzere bu çalışma için gönüllülerden 4 ml EDTA'lı tüpe kemik iliği materyali alınmıştır.

Çalışmamızda Haseki Hastanesi Hematoloji Polikliniğinde 2018-2020 arasında takibi yapılan yeni tanılı ve ilaç tedavisi almamış 38 MM ve 23 MGUS hastası çalışmaya dahil edildi. İstanbul Üniversitesi BAP No: 24651 “Multiple Myeloma Hastalarında PTPN6, FUS, CD74, MS4A3, PRDX5 ve UNC45B Genlerinin Ekspresyon Analizi” başlıklı tez projesinden Haseki hastanesinden temin edilen hasta-kontrol grubunun RNA örneklerinin bir kısmı çalışmaya dahil edildi. Geriye kalan hasta ve kontrol grubu kemik iliği örnekleri yeni hastalardan toplandı. Daha önce myeloma tedavisi görmüş hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

9 sağlıklı kemik iliği donör vericisi, 7 MGUS olmayan olmak üzere toplamda 16 kontrol grubu oluşturulmuştur. MGUS olmayan gruptaki bireyler plazma hücre diskrazisi yönünden incelemeye alınan ancak yapılan testlerde hematolojik olarak herhangi bir maligniteye sahip olmayan özellikle plazma hücre diskrazileri olmayan, mikrobiyolojik-bulaşıcı hastalık incelemeleri negatif ve romatolojik yönden herhangi bir rahatsızlığı bulunmayan gönüllülerin kemik iliği materyallerinden oluşmaktadır.

3.1.2. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Fikol-Histopak 1,077 g/ml (Sigma)

PBS (Phosphate Buffered Saline)

3.1.3. Kullanılan Kitler

PureLink RNA Mikro kiti (Invitrogen cat:12183-016) - Total RNA İzolasyonu

Roche Transcriptor High Fidelity cDNA sentezi (ref:05091284001)

SensiFAST SYBR No-ROX kiti-qRT-PCR

Sigma Marka (50nmol) 14 reverse-forward olmak üzere 28 primer

3.1.4. Kullanılan Cihazlar ve Araçlar

Real Time PCR Cihazı LC480

Allegra 25r Soğutmalı Santrifuj

Allegra X22 Santrifuj

Buzdolabı -20C

Buzdolabı 4C

Buz Makinesi

Çeker Ocak

Dikey Derin Dondurucu (-80)

PCR Cihazı Eppendorf

Pipet seti 0,2-2, 2-20, 20-100, 100-1000 Eppendorf

PCR Cihazı Techne 520

Pipet Takımı (Gilson)

Santrifuj Hettich Rotina 38

Santrifuj Thermo Labofuj 400

Spektrofotometre ND-2000c (Thermo Fisher Scientific)

3.2. YÖNTEM

Kemik iliği materyallerinden RNA izolasyon kiti kullanılarak total RNA elde edildi. Bu örneklerden daha sonra reverse transkriptaz enzimi ile cDNA sentezi yapıldı. Transkriptom datadan belirlenen 13 aday gene ait primer çiftleri kullanılarak qRT-PCR ile hasta ve kontrollerde bu genlerin kantitasyonu yapıldı. İstatiksel analizleri gerçekleştirildi. Ayrıca bu aday genler biyoenformatik araçlar yardımıyla başka datalarda bu genlerin sonuçları ve protein-protein etkileşimleri görselleştirildi.

3.2.1. Biyoenformatik Araçlar ile Aday Genlerin Belirlenmesi

BAP 7348 numaralı ‘Multiple Myeloma Hastalarının Kemik İliği Myeloma Hücrelerinde Gen İfadesinin Transkriptom Dizileme Yöntemi İle Araştırılması’ başlıklı yüksek lisans tezi ve projesi bir plazma hücre diskrazisi olan Multiple Myeloma’da Türkiye’de yeni nesil dizileme ile transkriptom yapılan ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. MM grubu 4 yeni tanılı- tedavi görmemiş olgudan, kontrol grubu 4 sağlıklı kemik iliği vericisinin kemik iliği materyallerinden RNA dizilenmesi yüksek lisans tezinde gerçekleştirilmiştir(10).

Projenin devamı niteliğinde olan bu doktora tez çalışmasında ise transkriptom datasından biyoenformatik analizler sonucunda myeloma patogeneze dolaylı yada doğrudan katkıda bulunabilecek pek çok sayıda aday gen tespit edilmiştir. Elde edilen ham data oldukça kıymetli olup bu verilerin konfirmasyonunun sağlanması doğrultusunda çok sayıda lisansüstü araştırma projesinin çıkmasına da olanak sağlamıştır.

7348 nolu BAP projesinin ham verilerinde bulunan *nonspesifik* diziler, *duplikasyon* bölgeleri, *homopolimer* dizileri ve adaptörlerin uzaklaştırılması amacıyla çeşitli biyoenformatik araçlar kullanıldı. ‘*Quality score*’ denilen kalite puanlamasında 30 dan düşük olan diziler ham verilerden uzaklaştırıldı. İşlenmiş datalar biyoenformatik görüntüleme araçlarında analizleri yapılarak (Feb.2009) GRCh37/hg19’a haritalandı. RNA dizilemenin dikkat edilmesi gereken noktalarından birisi farklı uzunluktaki transkriptlerin karşılaştırılmasında normalizasyon için geliştirilen biyoenformatik algoritmalar ile çözüm sağlanmasıdır(10).

Bizde transkriptom datamızdaki tüm transkriptlerin gen ifadelerini *RPKM* (*reads per kilobase per million*) adı verilen bir gene haritalanan okuma sayısı, ilgili gen bölgesinin uzunluğu ve genoma haritalanan dizilemenin toplam okuma sayısının matematiksel ilişkisine dayanarak okumalarımızı normalize ettik.

Bu tez projesinde; RPKM değerleri MM grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en yüksek olanlar kontrol örnekleri ise sıfır olacak şekilde filtreleme yapılarak sadece MM grubunda ekspresyonu en yüksek olan ilk 500 gen belirlenmiştir. Bu aday genler *Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) MSigDB (Broad Institute)*”, Panther, ve KEGG gibi biyoenformatik veri tabanları sayesinde birbirleriyle olan ilişkileri, moleküler özellikleri, hücre içerisindeki biyolojik işlevleri ve hangi

yolaklarda yer aldıkları analiz edilmiştir. Bununla birlikte bu genlerin protein-protein etkileşimleri *String v11* programında analizi sonucu bu aday genlerden hangilerinin birlikte eksprese oldukları bunun yanı sıra veri tabanlarından alınan yada deneysel olarak belirlenenler ile 3D protein yapıları hakkında bilgi edinildi. Tüm bu analizler ve literatur taraması neticesinde MM ile daha önceden ilişkilendirilmiş genlerde filtrelenerek ortaya çıkan MM’de doğrudan çalışılmamış aday genler listelenmiştir. Son on yılda Yeni Nesil Dizileme yöntemleri ile birlikte biyoenformatik yazılım ve algoritmalar gelişmiş olsa da transkriptom datalarında elde edilen gen ifadelerinin konfirmasyonunun kantitatif PCR yada başka bir dizileme platformu ile doğrulanması önerilmektedir(10).

Bu tez çalışması için RPKM değerleri myeloma-kontrol grubu sonucu karşılaştırılarak 13 aday gen belirlenmiştir. *LMAN2*, *TMED9*, *COPE* genleri endoplazmik retikulum ve golgi arasındaki veziküler transport ile ilişkilidir. *ERAP1*, MHC sınıf I antijen işlenmesi ve sunumunda; *OTUD1* deubikitinleyici enzimler ubiquitin bağlantılarını spesifik olarak parçalayan proteazlardır. *ISG20* bir interferon stimule ekzonükleaz genidir. *DPP7* geni bazı oligopeptitlerin bozunmasında, *RRBP1* geni endoplazmik retikuluma salgı yollarında ve salgı hücre farklılaşmasında ve proliferasyonunda, *HYOU1* ısı şoku protein 70 ailesine ait olup geninin proteini endoplazmik retikuluma protein katlanma ve sekresyonda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. *TRIB1* MAP kinazların aktivasyonunu düzenler, ancak kinaz aktivitesi yoktur. *DNAJC1* geni protein biyosentezinde işleyişinde görevlidir. *KDELRL1* geni veziküler geri dönüşüm yoluyla luminal endoplazmik retikuluma bulunan proteinlerinin tutulması için gereklidir. Protein biyosentezinde görevli ve ilişkisi daha önceden MM’de bildiren *EEF2* geni ile birlikte yukarıda belirtilen toplamda 13 aday genin ekspresyon düzeyleri qRT-PZR tekniğiyle yeni tanı MM-MGUS- kontrol grubunda doğrulanarak hastalık patogeneizindeki rolünün ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

3.2.2. Fikol- Gradienti ile Mononükleer Hücre İzolasyonu

Kemik iliği aspirasyon yapılan her MM, MGUS ve kontrol örnekleri gün içinde hiç bekletilmeden yoğunluğu 1,077 g/ml Fikol-Histopak kullanılarak mononükleer hücrelerine ayrıştırıldı. 4 ml EDTA’lı tüpe alınan kemik iliği örneği 15’lik steril tüpe aktararak üzerine 1:1 oranında PBS (Phosphate Buffered Saline) ile dilüe edildi. 15’lik

başka bir stril tüpte 1:2 oranında Fikol-Histopak konuldu. Üzerine dilüe edilen örnek pasteur pipeti yardımıyla ile 45 °'lik açılı ile yavaş yavaş tabakalandırıldı. Hiç bekletmeden 25°C 25 dk 1800 rpm'de frensiz santrifüj kullanılarak santrifüj işlemi gerçekleştirildi.

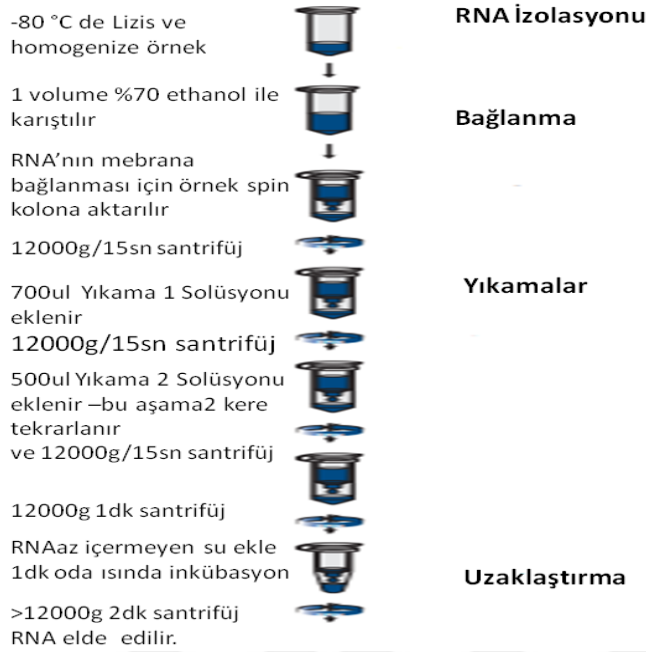
Bu aşamada tüpte oluşan tabakalar en altta eritrositler, fikol, fikolün üzerinde beyaz bir halka şeklinde mononükleer hücreler, en üst kısımda da plazma bulunmaktadır. Pasteur pipeti yardımıyla lenfositleri içeren Buffy coat (Beyaz bir bulut görüntüsü) tabakası ayrı bir 15 ml falcone dikkatlice alındı.

Üzerine 2:1 oranında PBS ilave edilerek 25°C 10dk 1800rpm'de santrifüj edilerek süpernatant kısmı atıldı. Daha sonra 10ml PBS eklenerek oda ısısında 5 dk 1800rpm'de santrifüj edildi. Bu basamak hücrelerde kalan eritrositlere bağlı olarak 2-3 kez yıkama yapılabilir. Fakat hücre kaybı sebebiyle pek önerilmez. En son aşamada tüpteki pellet kısmı hücre yoğunluğuna göre üzerine *beta merkaptotanol* içeren *RLT* solüsyonuna alınarak iyice homojen görününceye kadar pipetaj yapıldı. Hücreler hastaların biyopsi sonucu kesinleşinceye kadar -80°C de saklandı.

RNA izolasyon kitinin *Lysis Buffer* Solüsyonundan hazırlanan *RLT* içerisine 1 ml *Lysis Buffer* +10 µl beta-merkaptotanol (β-ME) olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.2.3. RNA İzolasyonu

Tanısı konan MM, MGUS grubu ve kontroller RLT içinde dondurulan kemik iliği mononükleer hücrelerinden PureLink RNA Mikro kiti (Invitrogen cat:12183-016) ile total RNA izolasyonu protokolüne uygun gerçekleştirildi (Şekil3-5). Çalışma süresince total RNA örnekleri degradasyonu engellemek amacıyla -80°C de saklanmıştır.



Şekil 3-5: Ticari Kit ile RNA İzolasyon Protokolü

3.2.4. RNA Miktarının ve Kalitesinin Belirlenmesi

RNA kalitesi ve miktarının belirlenmesi için NanoDrop ND-2000c (Thermo Fisher Scientific) ile absorbans değerleri ng/ul olarak ölçümlendi. İzolasyon aşamasında fenol, protein, genomik DNA kontaminasyonu olup olmadığını tespit etmek amacıyla A260/280 ve A260/230 oranları değerlendirildi. A260/280 oranı 2, A260/230 oranı 2-2,4 olmalıdır.

Degradasyonu olan ve miktarı yetersiz olan örnekler çalışmaya alınmadı. Bu duruma karşı alınan önlemlerden biri trizolde ve biri *RLT* içerisinde -80°C' de saklanan yedek örneklerdi. Yedeklere dönülerek RNA izolasyonları yeniden gerçekleştirilip kaliteli bir RNA elde edilince çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2.5. cDNA Sentezi

RNA ölçümleri yapılan ve miktarları yeterli gelen tüm örnekler 500ng konsantrasyona eşitlenerek Roche Transcriptor High Fidelity cDNA sentez (ref:05091284001) kiti kullanılarak total RNA'dan cDNA sentezi yapılmıştır.

- 1- 0,2ml steril tüplerde template–primer karışımının hazırlanması aşaması Tablo 3-4'te gösterildi. Bu basamakta RNA degradasyonu önlemek amacıyla buz üzerinde çalışılmıştır.

Tablo 3-4: Template–Primer Karışımının Hazırlanması için Gerekli Miktarlar

İçerik	Her bir reaksiyon için kullanılan miktar
Total RNA +RNAaz içermeyen su (8 numara)	9,4ul
Random Hekzamer primer (600pmol/ul) (6numara)	2ul
Total Hacim	11,4ul

2-Herbir örnek template oluşumu için 10 dk 65°C de Thermal cycler da inkübe edildikten sonra reaksiyon sonlanması için hemen buz üzerine alındı.

3- cDNA sentezinin gerçekleşmesi için Tablo 3-5'te gösterildiği gibi buz üzerinde reaktifler kullanılarak reverse (ters) transkripsiyon için hazırlanan mix'den 8,6 ul herbir örneğin üzerine eklenerek hafifçe pipetaj yapıldı.

Tablo 3-5-Reverse (ters) Transkripsiyon Miksi İçin Gerekli Reaktifler Ve Miktarlar

İçerik	Her bir reaksiyon için kullanılan miktar
5X Tampon Buffer (2 numara)	4ul
RNase İnhibitör (3 numara)	0.5ul
DNTP mix(10Mm) (4 numara)	2ul
0,1M Dithiothreitol (DTT) (7numara)	1ul
High Fidelity Reverse Transkriptaz Enzim (1 numara)	1.1ul
Final Hacim	20ul

4-Daha sonra cDNA sentezinin gerçekleşmesi amacıyla reaktifleri hazırlanan örnekler 29 °C 10 dk - 48 °C 60 dk - 5dk 85°C *Thermal Cyclers*'da inkübe edildi hemen gerçek zamanlı PZR işleminde kullanılmak üzere -20°C'ye kaldırılmıştır.

3.2.6. qRT-PZR Tekniği ile Gen Ekspresyon Analizi

MM, MGUS ve kontrol RNA'larından elde edilen cDNA'lardan boya olarak çift iplikli DNA'ya bağlanabilen SYBR Green ile transkriptom datadan belirlenen 13 aday genin ve 1 housekeeping genin ekspresyon düzeyleri qRT-PZR ile belirlendi. Kullanılan 5 standart, housekeeping gen ve her örnek her gen için 96 kuyulu platede çift tekrarlı olarak çalışıldı. *SensiFAST SYBR No-ROX* kitinin Tablo3-6'da gösterildiği şekilde reaksiyonları hazırlanarak *LightCycler 480* cihazında (LightCycler, Roche Diagnostics GmbH, Germany) qRT-PZR (Kantitatif Eş Zamanlı PZR) yöntemiyle kantitasyon yapıldı. RNA kalite ve miktarının normalizasyonu için housekeeping gen olarak, TATA binding protein (TBP) geni kullanıldı. Standartlar *TBP*'nin 10^3 stoğundan 5 seri dilüsyon olacak şekilde hazırlandı.

Tablo 3-6: qRT-PZR Reaktiflerin Hazırlanması

Reaktifler	Her bir reaksiyon için kullanılan hacim (ul)
2x SensiFAST SYBR No-ROX Mix	5ul
10 uM Forward Primer	1ul
10 uM Reverse Primer	1ul
Nükleaz İçermeyen Su	1ul
cDNA	2ul
Final Volum	10ul

Tablo 3-7: qRT-PZR Sıcaklık Kosulları Ve Döngü Sayıları

Real Time PCR Basamakları	Sıcaklık –zaman—döngü sayıları
Ön denatürasyon	95°C'de 5dk (1 döngü)
Amplifikasyon	95°C'de 10sn 65°C'de 20sn (45döngü)

	72°C'de 10sn
Melting Curve Analizi	95°C'de 5sn 65°C'de 1 dk (1 döngü) 97°C'de sürekli
Soğutma	40°C'de 30sn

qRT-PCR sıcaklık profili ,zaman ve döngü sayıları Tablo3-7'de gösterilmiştir.Sadece *EEF2* ve *Trib1* genlerinin amplifikasyonları 66°C de gerçekleştirildi. Daha sonra 95°C 5 sn ısıtılıp, 65°C düşürülen ısı 97°C'ye kadar tekrar kademeli olarak çıkartıldı.Böylece içerisindeki her 1°C artışta optik ölçümler yapılarak melting curve (erime eğrisi) analizi yapıldı.

3.2.7. Primer Dizayını

Bu aşamada 13 aday geninin primer çiftleri *Ensemble*, *NCBI*, *Primer3*, *Primer Blast*, *UCSC* gibi biyoenformatik araçlar kullanılarak tasarlandı.Özellikle primer çiftlerinin *self/heterodimer* oluşturmamasına özen gösterildi.*In silico* primer dizayını esnasında ileri (forward) ve geri (reverse) primerlerin doğruluğu *BLAST* programında kontrolü yapıldı. Transkriptom datadan belirlenen 13 aday genin ve 1 housekeeping genin primer çiftleri Sigma firmasına sentezlettirilmiş olup dizileri Tablo3-8'de gösterilmiştir

Liyofilize olarak gelen primerler üretici firmanın protokolüne göre sulandırıldı. İlk olarak 100 pmol/µl stok primerler sonrasında 1:10 oranında dilüe edilerek 10 pmol/µl şeklinde hazırlandı.

Tablo 3-8: qRT-PZR aşamasında kullanılan 14 genin primer çiftlerine ait diziler

Primer Adı	Primer Dizisi	Baz Sayısı
KDEL1 FORWARD	5'- GTC GTT CCC ACA GCC ATT CT -3'	20
KDEL1 REVERSE	5'- AAG CCC TCG AAA TGG TAG CG -3'	20
DNAJC1 FORWARD	5'- GGA TGC TGG GCA GTT TTA TGC-3'	21
DNAJC1 REVERSE	5'- TGT GTT CGG TTC CTG TTT TCC -3'	21

DPP7 FORWARD	5'- ATC AAC CTG ACC TTC GCC AG -3'	20
DPP7 REVERSE	5'- GCA CTC AGG TTC CTC CGA AT -3'	20
ISG20 FORWARD	5'- TCA TGA CCT GAA GCA CGA CT -3'	20
ISG20 REVERSE	5'- ATC GTT GCC CTC GCA TCT TC -3'	20
COPE FORWARD	5'- AGA CGA GCT GTT CGA CGT AA -3'	20
COPE REVERSE	5'- GAG GTA GTC AGC AAA CAT GCG -3'	21
HYOU1 FORWARD	5'- CAG CAC CGT ATG CAC CAT TG -3'	20
HYOU1 REVERSE	5'- AGG ACG GTT TTG AGC CGA TT -3'	20
OTUD1 FORWARD	5'- TCC ACA TCA TTC CAG ACG GC -3'	20
OTUD1 REVERSE	5'- CAT GGT AGA CAC CGT GGG AC -3'	20
RRBP1 FORWARD	5'- TGC CAA GAA GAA GTC TGG TTC A -3'	22
RRBP1 REVERSE	5'- TTC AGA ATC GCC ACA GGG TC -3'	20
EEF2 FORWARD	5'- GGG AGA CAC GCT TCA CTG AT -3'	20
EEF2 REVERSE	5'- GCA GTC CAC CAC CAC CAA TG -3'	20
ERAP1 FORWARD	5'- TGC CTT CAA AGC AAG TTT CTC -3'	21
ERAP1 REVERSE	5'- TCC ACT CTT GGT TAT CTT GCT G -3'	22
LMAN2 FORWARD	5'- AGG GCT CTA TCT GGA ACC AC -3'	20
LMAN2 REVERSE	5'- GGT CTC ATC ATT GGG GTA GGT G -3'	22
TRİB1 FORWARD	5'- TTG GGG ACA TGC ACT CCT ATG -3'	21
TRİB1 REVERSE	5'- GAG GAT CTC AGG GCT CAC GTA -3'	21
TMED9 FORWARD	5'- CAC ATC GGA GAG ACG GAG AA -3'	20
TMED9 REVERSE	5'- CCA GGG GTA TGG GAA GTG AA -3'	20
TBP-FORWARD	5'-ACT TGA CCT AAA GAC CAT TGC AC-3'	23
TBP-REVERSE	5'-CTT GAA GTC CAA GAA CTT AGC TGG-3'	24

3.2.8. İstatiksel Analizler

Hedef genlerin ekspresyon seviyesi $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak rölatif kantitasyon yapıldı. İstatistiksel analizler 'SPSS 25' programında yapıldı. Ölçülebilir değişkenlerin dağılımı için ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanarak dağılımda normal dağılıma uymadığı için non-parametrik sayısal bağımsız değişkenlerin analizi

için ‘*Mann-Whitney U Testi*’ kullanıldı. Çoklu grup ortalamalarının karşılaştırırken ‘*Kruskal Walls Testi*’ kullanıldı. P değeri 0,05’ten küçük olan veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. 13 genin ekspresyon sonuçlarının birbiri ile ilişkisinin belirlenmesinde ‘*Spearman Korelasyon Testi*’ kullanıldı.

3.2.9. Biyoenformatik -R2 Platformu ile Aday Gen Ekspresyon Analizleri

R2 platformu (<http://r2platform.com> veya <http://r2.amc.nl>) bir genomik analiz ve görselleştirme platformudur (99). R2, aynı zamanda, açıklamalı bir tek veri kümesi veya bir dizi veri kümesi temelinde, her türlü analizi yapmaya olanak sağlar. R2, 191.000’den fazla insan örneği ve 12.000’den fazla fare örneği için mRNA gen ekspresyon profilleri içermektedir. Örnekler veri setleri olarak gruplandırılmıştır. Her veri kümesi, doku tipi, tümör tipi veya hücre hattı deneyleri gibi kendine has özelliklere sahiptir. Sık sık yeni veri setleri platformu eklenir ve güncellenir. Data seti içerisinde gen ekspresyonu hakkında bilgi sağlanması istenen gen yada gen grupları oluşturularak platformda bu datalardan görselleştirilerek YY_plot, XY_plot, bar grafikleri çizdirilebilmektedir(99).

Bizde Multiple Myeloma patogeneze katkıda bulunmak için belirlediğimiz 13 aday genimizin yüksek hacimli verileri olan çalışmalarda olup olmadığı incelemek istedik. Bunun içinde 13 aday genimizin ekspresyon değerlerini diğer myeloma mikroyarray çalışmalarında R2 platformu yardımıyla görselleştirme imkanı bulduk.

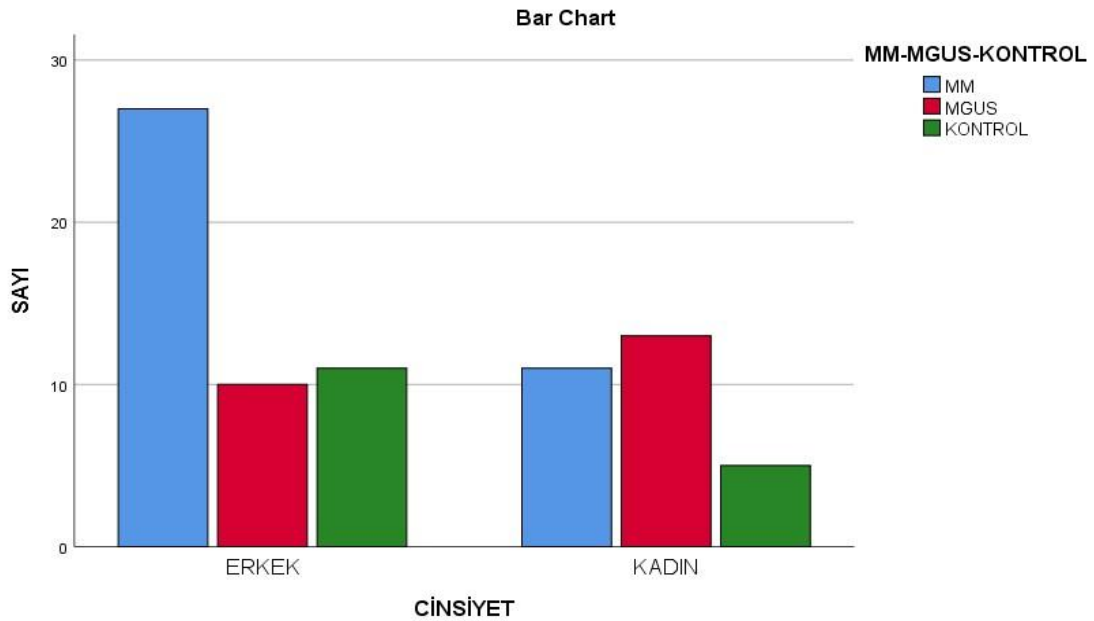
4. BULGULAR

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri

İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalında deneysel basamaklar gerçekleştirilmiştir. Multiple Myeloma grubunda 27 erkek (%71) -11 kadın (%29) mevcuttur (Tablo4-9)(Şekil4-6).Yaş ortalaması $63,6 \pm 11,6$ yıl idi. MGUS grubu 10 (%43,5) erkek-13 kadından (%56,5) $63,9 \pm 12,3$ oluşmaktadır. Yaş ortalaması $64,2 \pm 13$ idi. Kontrol grubu 11erkek (%69) -5 kadın (%31) mevcuttur. Yaş ortalaması $51,1 \pm 18,3$ idi.

Tablo 4-9: MM-MGUS-Kontrol Gruplarının Cinsiyet Dağılımı

		MM	MGUS	KONTROL	TOTAL
CİNSİYET	ERKEK	27	10	11	48
	KADIN	11	13	5	29
Total		38	23	16	77



Şekil 4-6: MM-MGUS-Kontrol Cinsiyet Dağılım Grafiği

Tablo 4-10: Hasta ve Kontrol Grupları Demografik ve Laboratuvar Bilgileri

	MM (n=38)	MGUS (n=23)	Kontrol (n=16)
Yaş Ortalaması	63,6±11,6	64,2±13	51,1±18,3
Karyotip Analizi	N=4 anomali N=31 normal	N=20 normal	N=16 normal
t(11;14)(q13;q32)	N=4 anomali N=31 normal	N=21 normal	N=16 normal
Del 17p13.1 (p53)	N=1 anomali N=33 normal	N=21 normal	N=16 normal
Del 13q14.3 (RB1)	N=7 anomali N=28 normal	N=21 normal	N=16 normal
t(4;14) (p16.3;q32)	N=31 normal	N=2 anomali N=21 normal	N=16 normal
Monozomi 7	N=2 anomali N=33 normal	N=21 normal	N=16 normal
Trizomi 8	N=1anomali N=33 normal	N=1 anomali N=21 normal	N=16 normal
Multiple Myeloma Tipi	IgA/Kappa MM-(N=4) IgA/Lambda MM-(N=5) IgG/Kappa MM-(N=10) IgG/Lambda MM-(N=9) IgD/Kappa MM-(N=1) IgD/Lambda MM-(N=1) Kappa Hafif Zincir Myelomu-(N=3) Lambda Hafif Zincir Myelomu-(N=1) Bilinmeyen-(N=4)		

Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri ve genetik laboratuvar bulguları Tablo4-10’da gösterilmiştir.

4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının RNA Konsantrasyonları ve saflık değerleri

Çalışmaya alınan 38 MM, 23 MGUS ve 16 Kontrol kemik iliği örneklerinin RNA izolasyon sonrasında Nanodrop cihazında ölçülen RNA konsantrasyon ve saflık değerleri Tablo4-11 ve Tablo4-12’de verilmiştir.

Tablo 4-11: MM ve MGUS Gruplarının RNA Konsantrasyon ve Saflık Değerleri

Multiple Myeloma (MM) Grubu	RNA konsantrasyonu ng/ul	A260/280	Örnekler Multiple Myeloma (MM) Hasta	RNA konsantrasyonu ng/ul	A260/280
MM1	239,1	2,05	MM21	184,4	2,03
MM2	640,6	2,05	MM22	648,8	2,02
MM3	164	2,03	MM23	300,3	2,01
MM4	656	2,05	MM24	104,6	2,06
MM5	504,2	2,05	MM25	43,9	2,03
MM6	394,6	2,05	MM26	52,7	2,03
MM7	330,6	2,04	MM27	56,5	2,05
MM8	724	2,07	MM28	205,9	2,05
MM9	243,4	2,04	MM29	454,6	2,03
MM10	337,8	2,05	MM30	132,2	2,04
MM11	369,9	2,04	MM31	28,1	2,05
MM12	463,2	2,06	MM32	186,1	2,04

MM13	591,2	2,05	MM20	525,2	2,05
MM14	1512,9	2,04	MM33	92,8	2,05
MM15	1287,2	2,04	MM34	160,1	2,07
MM16	561,4	2,05	MM35	619,7	2,05
MM17	579,7	2,02	MM36	86,7	2,06
MM18	643,6	2,02	MM37	1703,3	2,04
MM19	81,8	2,03	MM38	31,8	1,98
MGUS Grubu	RNA konsantrasyonu ng/ul	A260/280	Örnekler (MGUS) Hasta	RNA konsantrasyonu ng/ul	A260/280
MGUS1	71,0	2,06	MGUS13	53,2	2,05
MGUS2	26	1,98	MGUS14	75,8	1,97
MGUS3	41	2,02	MGUS15	288,1	2,04
MGUS4	40	2,01	MGUS16	73	2,06
MGUS5	50,4	2,05	MGUS17	116,3	2,05
MGUS6	317,6	2,06	MGUS18	383,7	2
MGUS7	589,3	2,04	MGUS19	122	2,06
MGUS8	329,7	2,05	MGUS20	134,6	2,06
MGUS9	160,3	2,03	MGUS21	929,7	2,1
MGUS10	24,4	1,98	MGUS22	260,3	2,1
MGUS11	56,9	2,02	MGUS23	58	2,1
MGUS12	89,1	2,07			

Tablo 4-12: Kontrol Grubu RNA Konsantrasyon ve Saflık Değerleri

Kontrol Grubu	RNA konsantrasyonu ng/ul	A260/280	Örnekler Kontrol	RNA konsantrasyonu ng/ul	A260/280
K1	197,4	2,04	K9	42	2,1
K2	343,7	2,06	K10	121,3	2,07
K3	79,7	2,09	K11	231,9	2,05
K4	217,3	2,08	K12	299,7	1,98
K5	142,6	2,00	K13	170,9	2,04
K6	489,2	2,04	K14	472,2	1,98
K7	35,1	2,1	K15	47	1,98
K8	48	1,98	K16	97,6	2,02

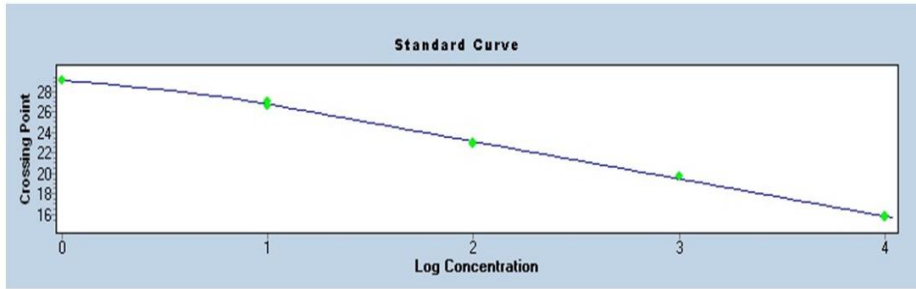
4.3. Real Time PCR bulguları

13 aday genin tüm gruplarda mRNA ifade düzeyleri ,housekeeping gen (internal kontrol) olarak TBP geni kullanılarak rölatif kantitasyon ile belirlendi. Ensemble, NCBI, Primer 3, Primer Blast, Oligo analyzer (IDT) gibi çeşitli biyoenformatik araçlar kullanılarak 13 aday genin primer çiftleri dizayn edildi. Primer çiftlerinin bu programlarda in silico olarak dizaynında GC içeriği, primer bağlanma ısısı (T_m), baz uzunluğu, primer dimer oluşumu, primerin bağlanma bölgesinde varyasyon olmamasına ve çoğaltılacak olan bölgenin uzunluğuna dikkat edildi. PZR optimizasyonları yapılan 11 aday genin primer çifti için optimum bağlanma (annealing) sıcaklığının 65°C olduğu, geriye kalan *EEF2* ve *TRIB1* genlerinin primer çiftlerinin ise 66°C’de çalıştığı belirlendi.

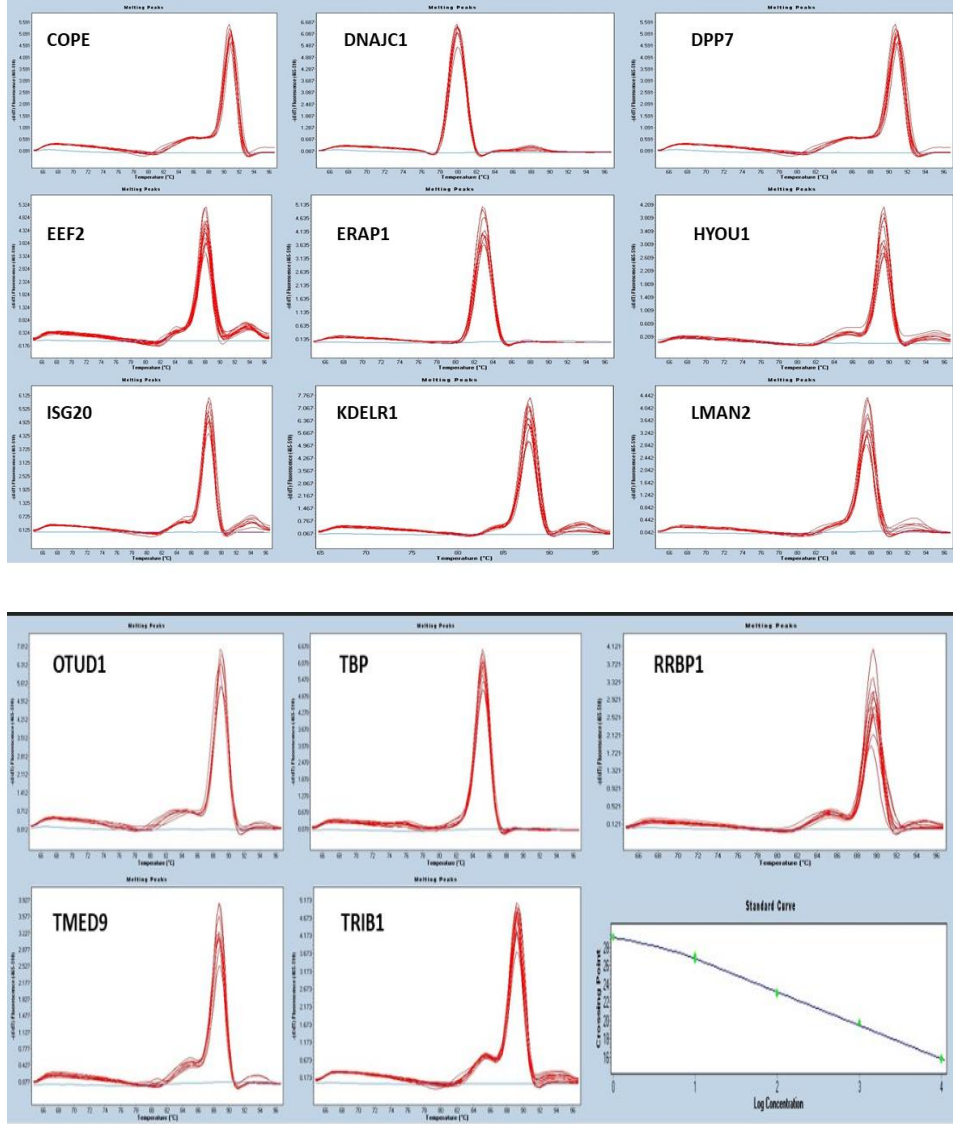
Amplifikasyonun ardından erime eğrisi (melting curve) analizi için 95°C’de 5 saniye, 65°C’de 1 dakika ve 97°C’de sürekli (1 döngü) programı uygulandı. Çift iplikli

DNA'ya bağlanan floresan boyaların ışıma vermesi tekniğine dayanarak yapılan SYBER Green yönteminde yanlış bölgelere bağlanma olup olmadığını tespit edebilmek için erime eğrisi analizi yapıldı. 13 aday gene ait non-spesifik bağlanma tespit edilmedi.

Şekil4-7'de görülen TBP ait oluşturulan standart eğri grafiğidir. Şekil4-8 de her bir gene ait erime ısısı eğrisi gösterilmektedir.



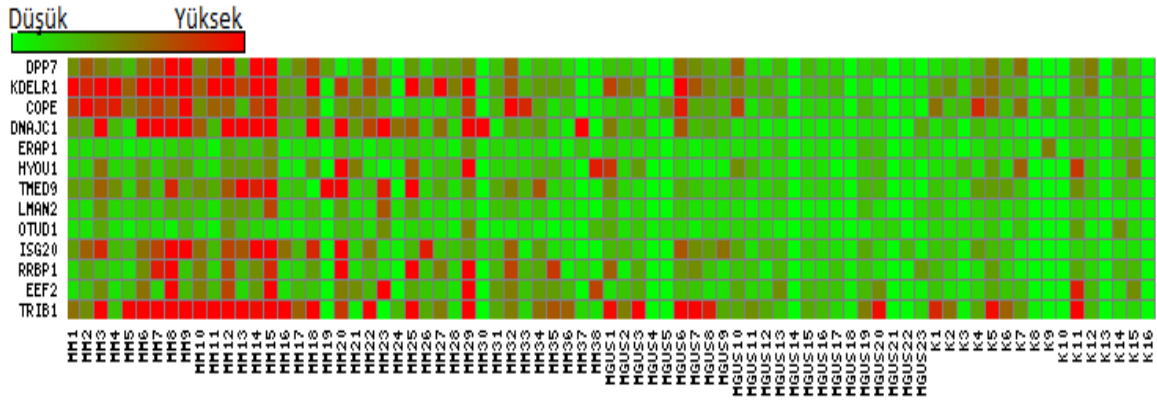
Şekil 4-7: Real Time PZR Standart Eğri Grafiği



Şekil 4-8: Real Time PZR ile 13 Aday Genin Erime Isısı Eğrileri

4.4. MM, MGUS ve Kontrol Gruplarının Aday Genlerde mRNA İfadelerinin HeatMap ile Gösterimi

mRNA ekspresyon analizi gerçekleştirilen 13 aday genin ve 38 MM (MM şeklinde gösterilmiştir), 23 MGUS (MGUS ile gösterilmiştir) ve 16 kontrol (K ile gösterilmiştir) örneklerinin herbirinin $2^{-\Delta\Delta CT}$ sonucu ısı haritası şeklinde gösterildi. (Şekil4-9). Matrix2png programı aracılığıyla heatmap histogram görüntüsü oluşturuldu (100). Renk seçiminde yeşil renk düşük ekspresyon-kırmızı renk yüksek ekspresyon olarak belirlenmiştir. Böylece kontrol grubunda sıklıkla görülen yeşil renk düşük ekspresyon sonucunu, hasta gruplarına doğru gidildikçe artan kırmızı renklerin olması ise artan ekspresyonun varlığını göstermektedir.



Şekil 4-9: 13 Aday Genin Hasta-Kontrollerde mRNA İfadelerinin Heatmap ile Gösterimi

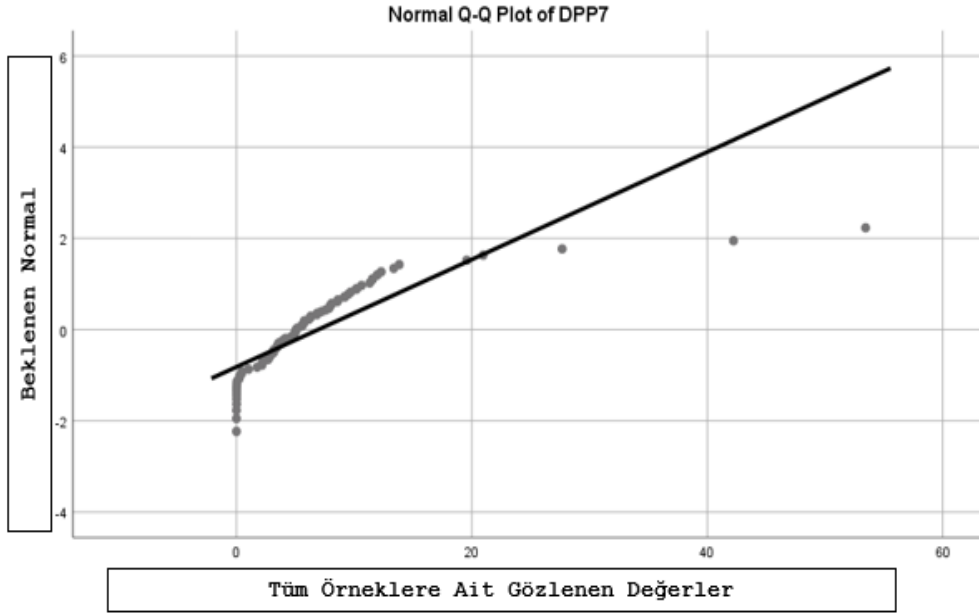
4.5. Genlerin İstatiksel Analiz Sonuçları

4.5.1. DPP7 Geni Sonuçları

DPP7 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-10). DPP7 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-13’de tüm grupları içermektedir.

Tablo 4-13: DPP7 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

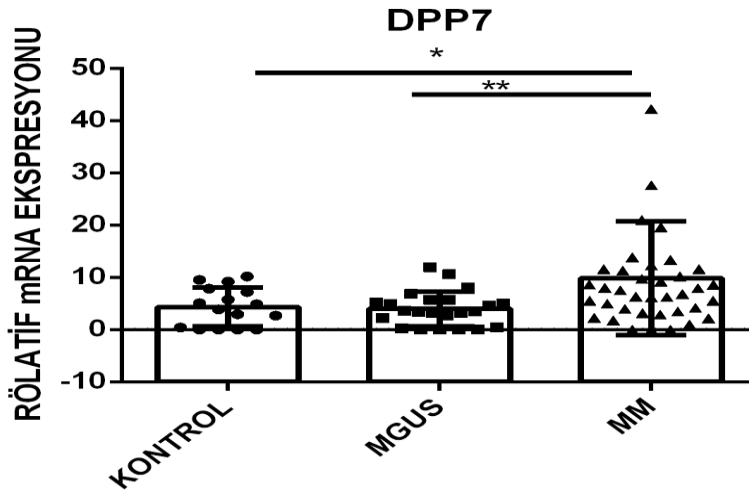
Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
DPP7	0,206	77	0,000	0,659	77	0,000
DPP7					İstatistik	Standart Hata
	Ortalama				6,95267	0,966923
	Ortalama %95 Güven Aralığı			Alt sınır	5,02688	
				Üst Sınır	8,87846	
	Medyan				5,06303	
	Standart Sapma				8,484714	
	Minimum				,002	
	Maksimum				53,446	



Şekil 4-10: DPP7 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

DPP7 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $9,852 \pm 1,768$, MGUS grubunda ise $3,970 \pm 0,687$, kontrol grubunda ise $4,353 \pm 0,919$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 7,190 MGUS grubu medyan değeri 3,53 kontrol grubunda ise medyan değeri 4,377 bulundu.

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak DPP7 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi şekilde gösterildi ve istatiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.



Şekil 4-11: DPP7 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

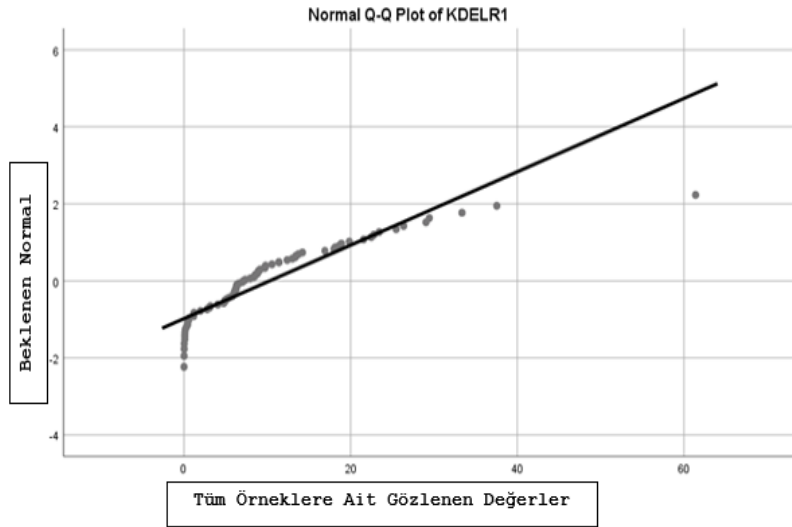
MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak DPP7 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-11’de gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi. ‘Mann-Whitney U’ testi sonucuna göre DPP7 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,028$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,005$ ’ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,891$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre DPP7 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,007$ anlamlı bulundu.

4.5.2. KDELR1 Geni Sonuçları

KDELR1 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi *Shapiro-Wilk* ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan *Mann-Whitney U Testi* ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-12). KDELR1 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-14’de tüm grupları içermektedir.

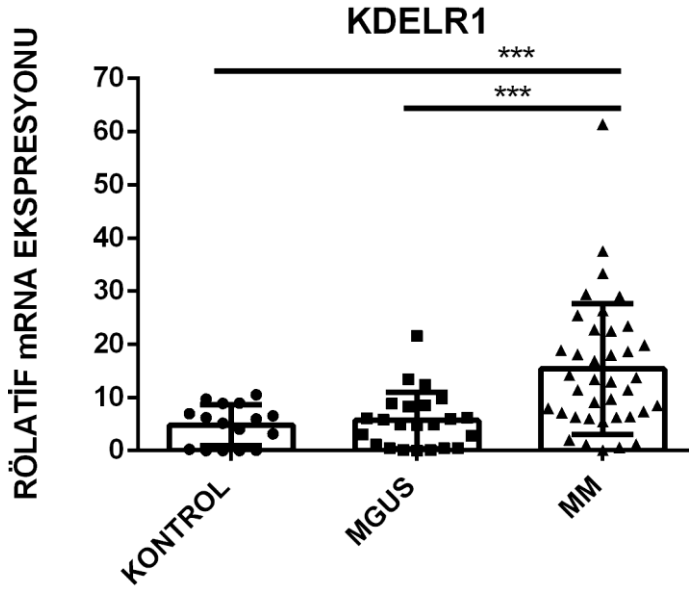
Tablo 4-14: KDEL R1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
KDEL R1	0,181	77	0,000	0,813	77	0,000
KDEL R1				İstatistik	Standart Hata	
Ortalama				10,27476	1,195906	
Ortalama %95 Güven Aralığı			Alt sınır	7,89291		
			Üst Sınır	12,65662		
Medyan				7,16020		
Standart Sapma				10,494036		
Minimum				0,000		
Maksimum				61,393		



Şekil 4-12: KDEL R1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

KDEL R1 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $15,372 \pm 1,992$, MGUS grubunda ise $5,666 \pm 1,100$, kontrol grubunda ise $4,791 \pm 0,950$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 13,178 MGUS grubu medyan değeri 4,924 kontrol grubunda ise medyan değeri 5,574 bulundu.



Şekil 4-13: KDEL R1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

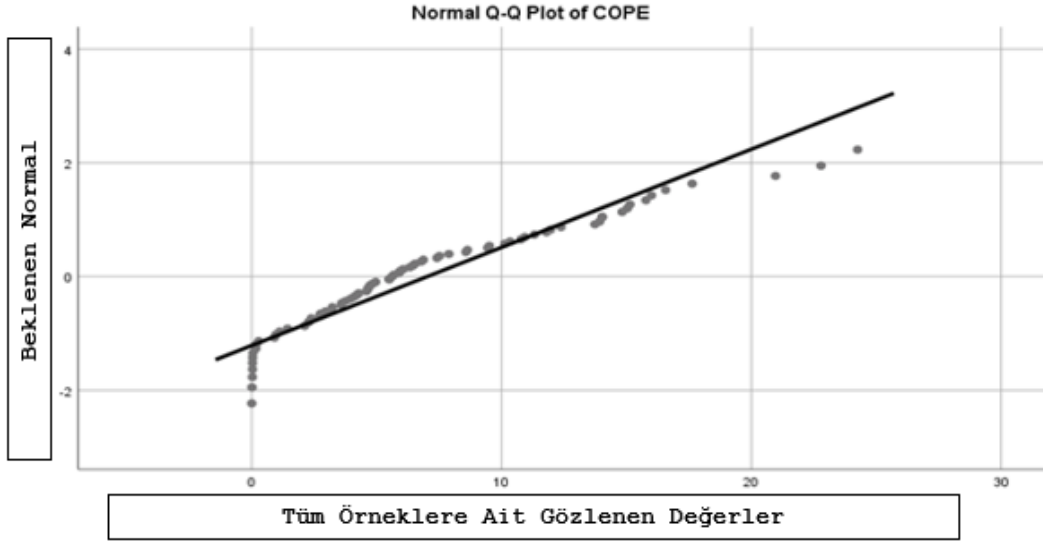
MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak KDEL R1 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-13’de gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi. Mann-Whitney U Testi sonucuna göre KDEL R1 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,000$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,000$ ’ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,732$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre KDEL R1 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,000$ anlamlı bulundu.

4.5.3. COPE Geni Sonuçları

COPE değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-14). COPE gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-15’de tüm grupları içermektedir.

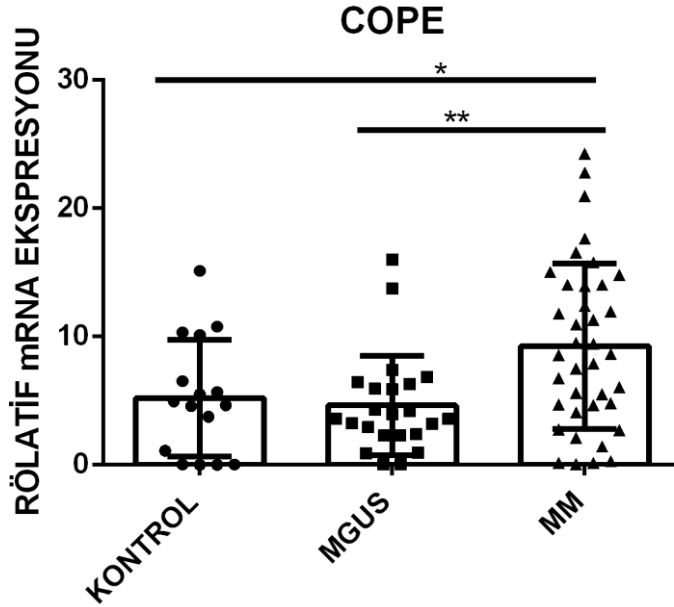
Tablo 4-15: COPE Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
COPE	0,135	77	0,001	0,918	77	0,000
COPE				İstatistik	Standart Hata	
Ortalama				7,03204	0,660395	
Ortalama %95 Güven Aralığı			Alt sınır	5,71675		
			Üst Sınır	8,34733		
Medyan				5,61778		
Standart Sapma				5,794945		
Minimum				0,000		
Maksimum				24,251		



Şekil 4-14: COPE Geni Q-Q Plot Görüntüsü

COPE geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $9,254 \pm 1,046$, MGUS grubunda ise $4,630 \pm 0,807$, kontrol grubunda ise $5,205 \pm 1,135$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 8,604 MGUS grubu medyan değeri 3,605 kontrol grubunda ise medyan değeri 4,808 bulundu.



Şekil 4-15: COPE Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak COPE geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil 4-15’de gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

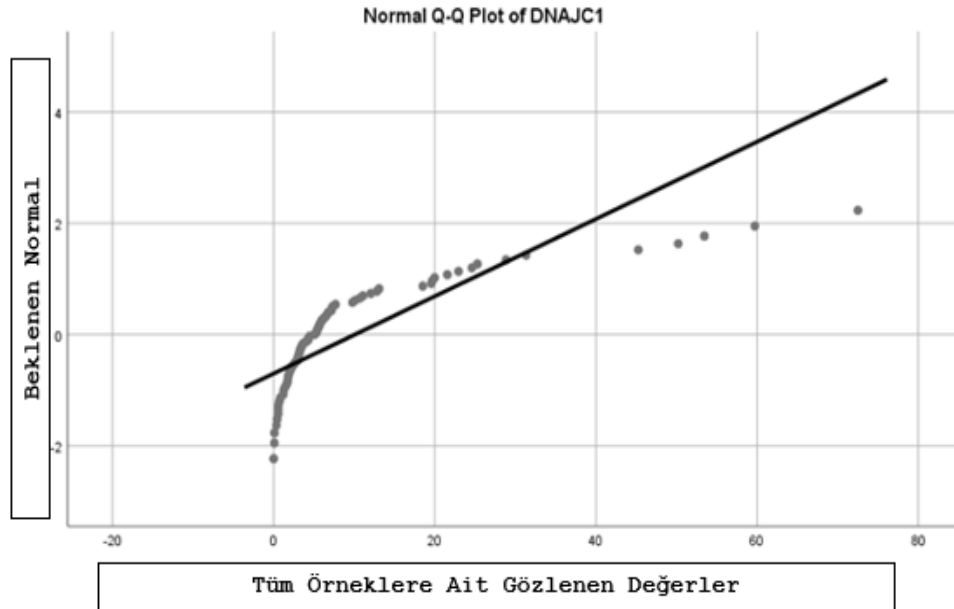
Mann-Whitney U Testi sonucuna göre COPE geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,021$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,004$ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,724$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre COPE geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,005$ anlamlı bulundu.

4.5.4. DNAJC1 Geni Sonuçları

DNAJC1 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-16). DNAJC1 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-16’da tüm grupları içermektedir.

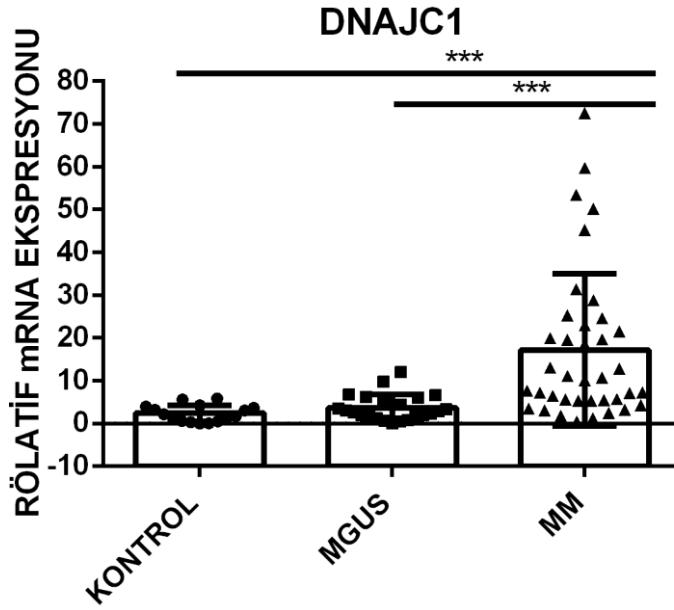
Tablo 4-16: DNAJC1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
DNAJC1	0,281	77	0,000	0,655	77	0,000
DNAJC1					İstatistik	Standart Hata
Ortalama					10,10660	1,640939
Ortalama %95 Güven Aralığı				Alt sınır	6,83838	
				Üst Sınır	13,37481	
Medyan					5,06303	
Standart Sapma					14,399181	
Minimum					,001	
Maksimum					72,505	



Şekil 4-16: DNAJC1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

DNAJC1 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $17,224 \pm 2,88$, MGUS grubunda ise $3,751 \pm 0,633$, kontrol grubunda ise $2,389 \pm 0,483$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 10,414 MGUS grubu medyan değeri 2,969 kontrol grubunda ise medyan değeri 1,957 bulundu.



Şekil 4-17: DNAJC1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak DNAJC1 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-17’de gösterildi ve istatiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

Mann-Whitney U Testi sonucuna göre DNAJC1 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,000$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,000$ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,177$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre DNAJC1 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,000$ anlamlı bulundu.

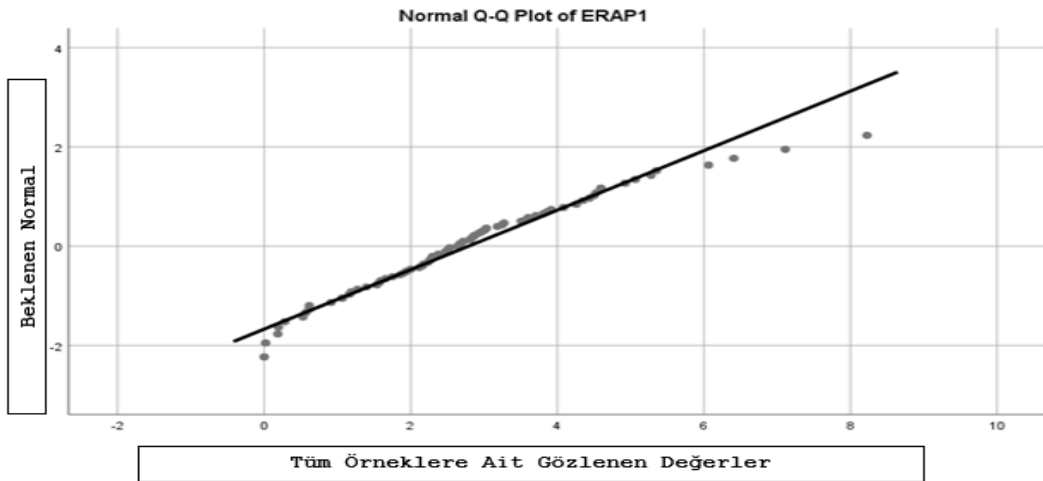
4.5.5. ERAP1 Geni Sonuçları

ERAP1 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı.

Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-18). ERAP1 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-17’de tüm grupları içermektedir.

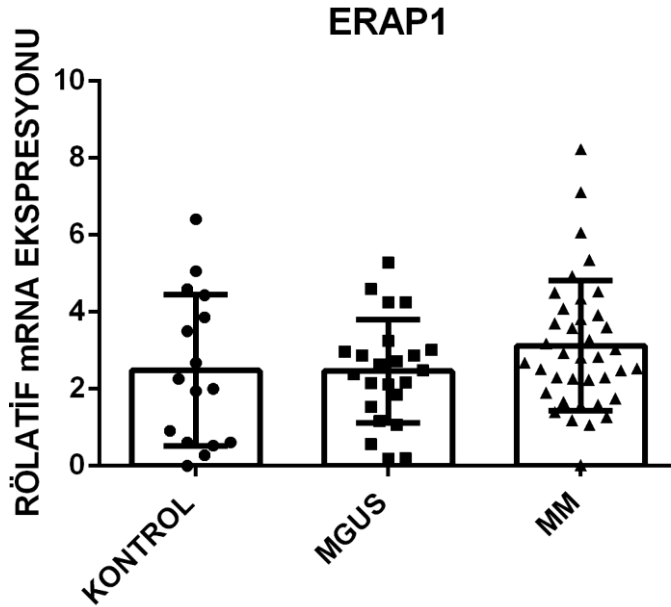
Tablo 4-17: ERAP1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
ERAP1	0,092	77	0,173	0,966	77	0,040
ERAP1					İstatistik	Standart Hata
	Ortalama				2,78974	0,190188
	Ortalama %95 Güven Aralığı			Alt sınır	2,41095	
				Üst Sınır	3,16854	
	Medyan				2,63902	
	Standart Sapma				1,668895	
	Minimum				0,000	
	Maksimum				8,225	



Şekil 4-18: ERAP1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

ERAP1 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $2,459 \pm 0,279$, MGUS grubunda ise $3,119 \pm 0,27$, kontrol grubunda ise $2,482 \pm 0,492$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 2,817 MGUS grubu medyan değeri 2,474 kontrol grubunda ise medyan 2,132 bulundu.



Şekil 4-19: ERAP1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak ERAP1 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-19’da gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

Mann-Whitney U Testi sonucuna göre ERAP1 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,225$, MM-MGUS grubu arasında $p=0,176$ ve MGUS-Kontrol grubu $p=0,808$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre ERAP1 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,280$ anlamlı bulunmamıştır.

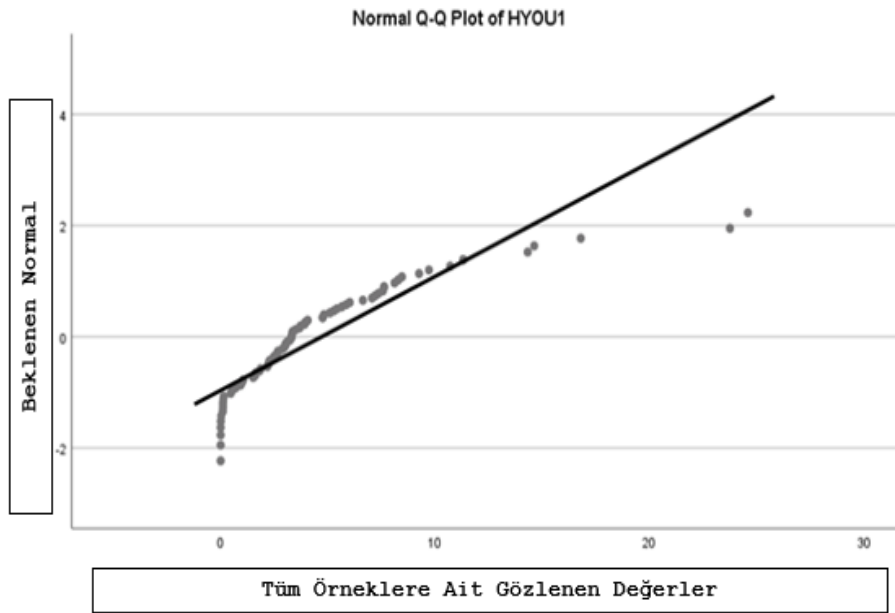
4.5.6. HYOU1 Geni Sonuçları

HYOU1 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı.

Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-20). HYOU1 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-18’de tüm grupları içermektedir.

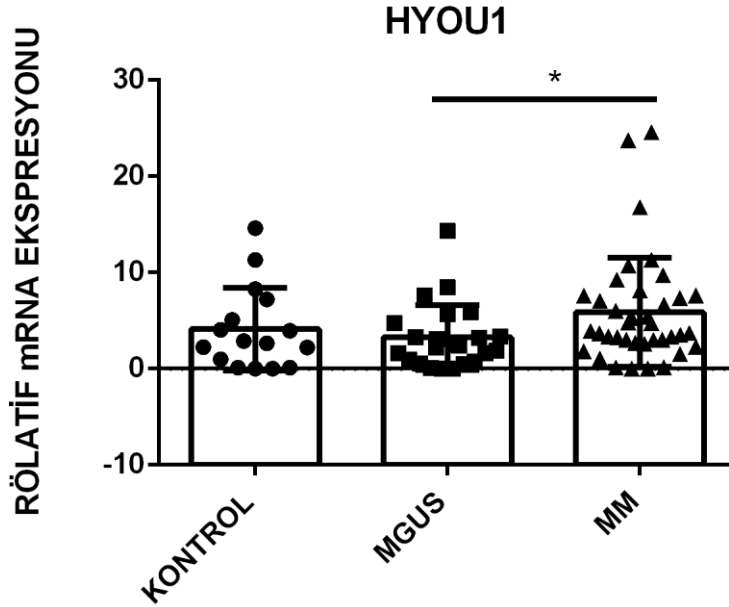
Tablo 4-18: HYOU1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
HYOU1	0,177	77	0,000	0,798	77	0,000
HYOU1					İstatistik	Standart Hata
Ortalama					4,71577	0,556227
Ortalama %95 Güven Aralığı				Alt sınır	3,60795	
				Üst Sınır	5,82359	
Medyan					3,29436	
Standart Sapma					4,880874	
Minimum					0,000	
Maksimum					24,590	



Şekil 4-20: HYOU1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

HYOU1 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $5,862 \pm 0,914$, MGUS grubunda ise $3,243 \pm 0,704$, kontrol grubunda ise $4,108 \pm 1,073$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 3,824 MGUS grubu medyan değeri 2,428 kontrol grubunda ise medyan değeri 2,762 bulundu.



Şekil 4-21: HYOU1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak HYOU1 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-21’de gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

Mann-Whitney U Testi sonucuna göre HYOU1 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,188$ ve MGUS-Kontrol grubu $p=0,648$ anlamlı bulunmamıştır. MM-MGUS grubu arasında $p=0,022$ anlamlı bulundu. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre HYOU1 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,064$ anlamlı bulunmamıştır.

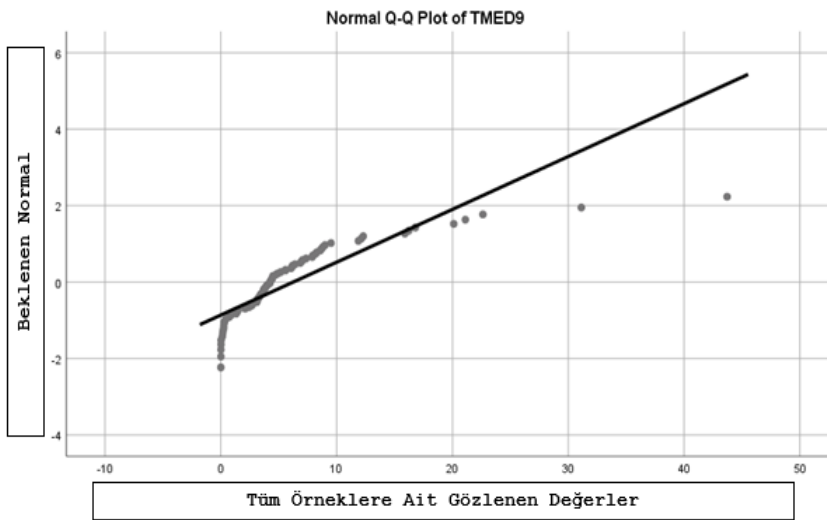
4.5.7. TMED9 Geni Sonuçları

TMED9 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri

de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-22). TMED9 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-19’da tüm grupları içermektedir.

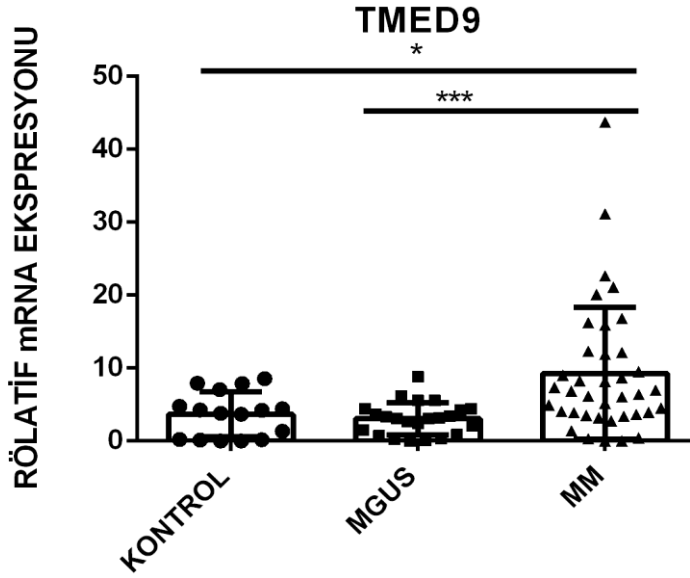
Tablo 4-19: TMED9 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
TMED9	0,196	77	0,000	0,720	77	0,000
TMED9					İstatistik	Standart Hata
Ortalama					6,25025	0,824094
Ortalama %95 Güven Aralığı					Alt sınır	4,60893
					Üst Sınır	7,89158
Medyan					4,25748	
Standart Sapma					7,231399	
Minimum					0,001	
Maksimum					43,713	



Şekil 4-22: TMED9 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

TMED9 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $9,277 \pm 1,468$, MGUS grubunda ise $3,049 \pm 0,464$, kontrol grubunda ise $3,662 \pm 0,770$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 6,638 MGUS grubu medyan değeri 3,095 kontrol grubunda ise medyan değeri 4,019 bulundu.



Şekil 4-23: TMED9 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak TMED9 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-23’de gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

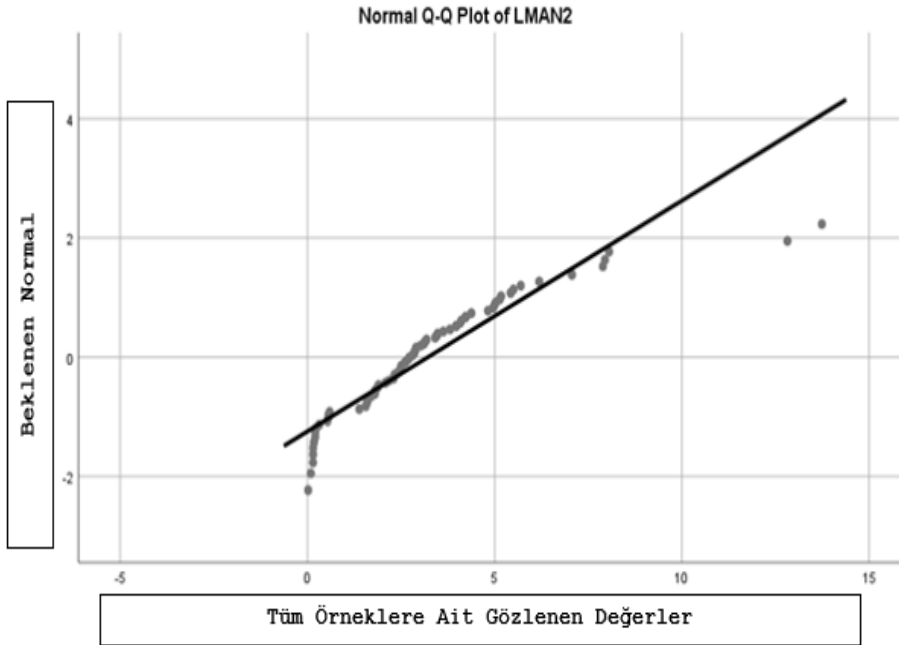
Mann-Whitney U Testi sonucuna göre TMED9 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,013$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,000$ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,648$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre TMED9 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,001$ anlamlı bulundu.

4.5.8. LMAN2 Geni Sonuçları

LMAN2 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-24). LMAN2 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-20’da tüm grupları içermektedir

Tablo 4-20: LMAN2 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

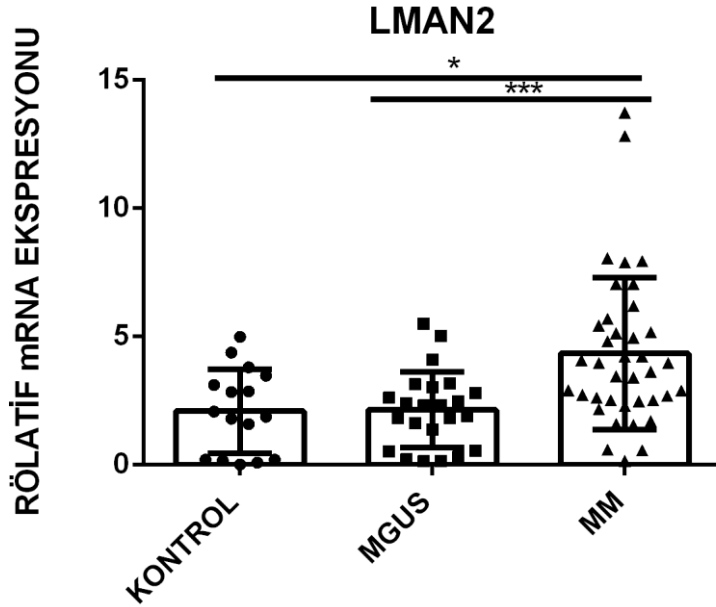
	Normallik Testi					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
LMAN2	0,129	77	0,003	0,864	77	0,000
LMAN2					İstatistik	Standart Hata
	Ortalama				3,21962	0,294547
	Ortalama %95 Güven Aralığı			Alt sınır	2,63298	
				Üst Sınır	3,80627	
	Medyan				2,73208	
	Standart Sapma				2,584640	
	Minimum				,019	
	Maksimum				13,737	



Şekil 4-24: LMAN2 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

LMAN2 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $4,340 \pm 0,480$, MGUS grubunda ise $2,149 \pm 0,309$,

kontrol grubunda ise $2,096 \pm 0,409$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 3,801 MGUS grubu medyan değeri 2,313 kontrol grubunda ise medyan değeri 1,981 bulundu.



Şekil 4-25: LMAN2 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak LMAN2 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-25'te gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

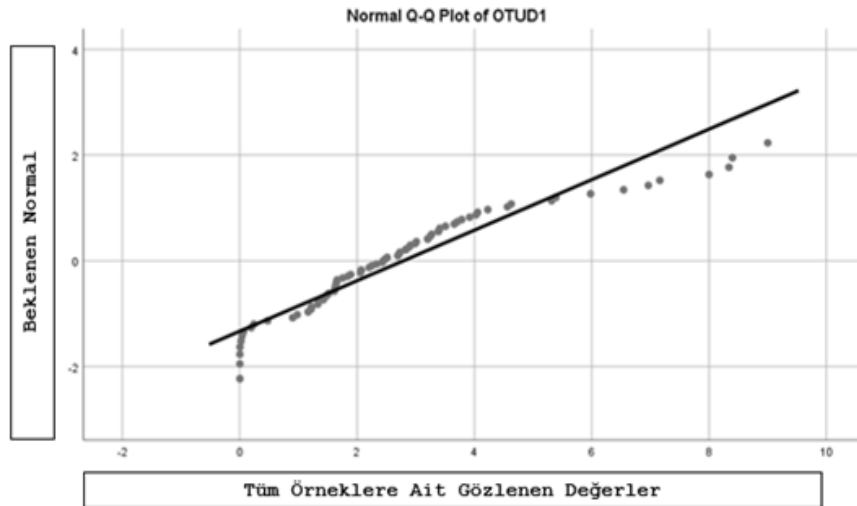
Mann-Whitney U Testi sonucuna göre LMAN2 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,005$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,001$ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,819$ ise anlamlı bulunmamıştır. 'Kruskal Walls' testi sonucuna göre LMAN2 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,001$ anlamlı bulundu.

4.5.9. OTUD1 Geni Sonuçları

OTUD1 değişkeninin 77 örneklemde (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-26). OTUD1 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-21'de tüm grupları içermektedir.

Tablo 4-21: OTUD1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

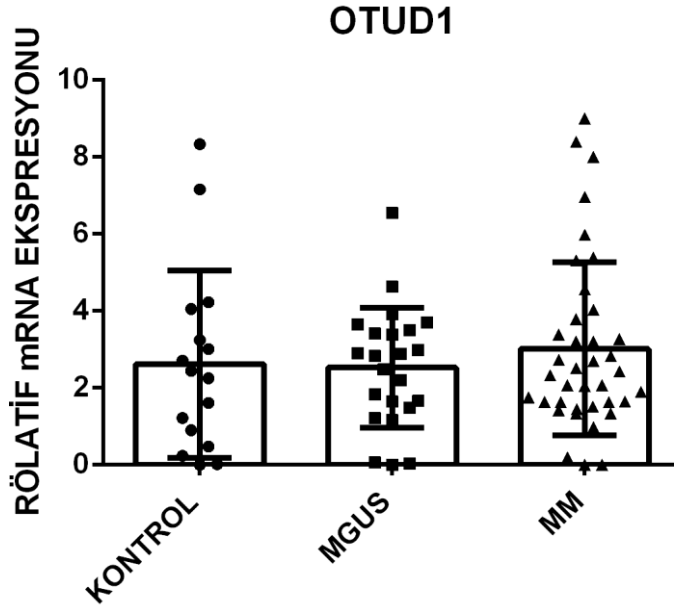
Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
OTUD1	0,123	77	0,005	0,902	77	0,000
OTUD1					İstatistik	Standart Hata
	Ortalama				2,78842	0,238532
	Ortalama %95 Güven Aralığı		Alt sınır	2,31334		
			Üst Sınır	3,26350		
	Medyan				2,44528	
	Standart Sapma				2,093114	
	Minimum				0,001	
	Maksimum				9,000	



Şekil 4-26: OTUD1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

OTUD1 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $3,016 \pm 0,364$, MGUS grubunda ise $2,528 \pm 0,325$,

kontrol grubunda ise $2,620 \pm 0,607$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 2,378 MGUS grubu medyan değeri 2,828 kontrol grubunda ise medyan değeri 2,347 bulundu.



Şekil 4-27: OTUD1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak OTUD1 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-27’de gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

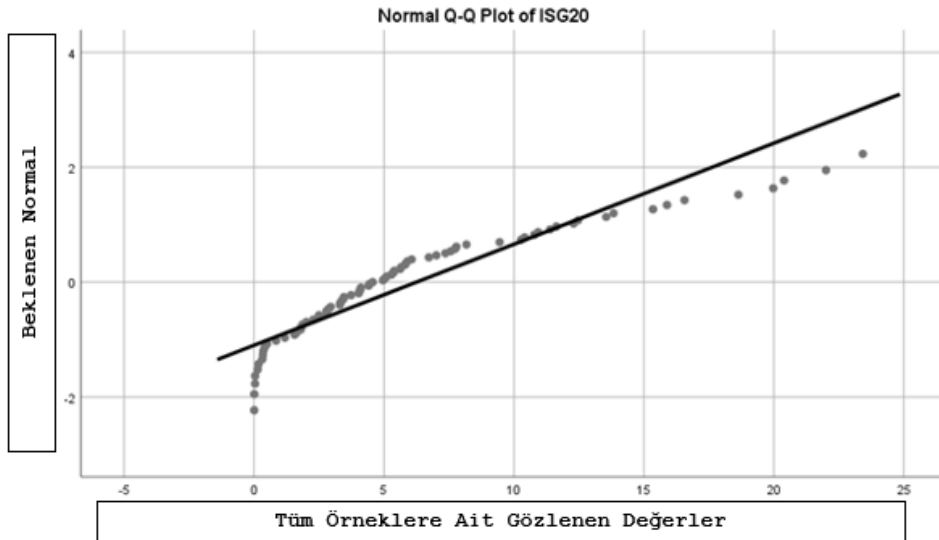
Mann-Whitney U Testi sonucuna göre OTUD1 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,472$, MM-MGUS grubu arasında $p=0,888$ ve MGUS-Kontrol grubu $p=0,711$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre OTUD1 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,800$ anlamlı bulunmamıştır.

4.5.10. ISG20 Geni Sonuçları

ISG20 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-28). ISG20 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-22’de tüm grupları içermektedir.

Tablo 4-22: ISG20 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

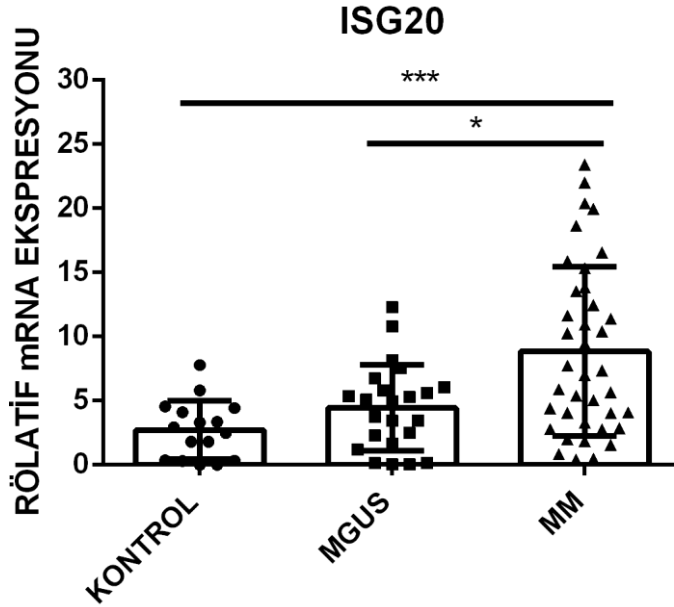
Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
ISG20	0,176	77	0,000	0,871	77	0,000
ISG20					İstatistik	Standart Hata
	Ortalama			6,25331		0,648104
	Ortalama %95 Güven Aralığı		Alt sınır	4,96250		
			Üst Sınır	7,54412		
	Medyan			4,56305		
	Standart Sapma			5,687088		
	Minimum			0,004		
	Maksimum			23,425		



Şekil 4-28: ISG20 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

ISG20 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $8,834 \pm 1,069$, MGUS grubunda ise $4,49 \pm 0,694$, kontrol

grubunda ise $2,714 \pm 0,569$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 7,187 MGUS grubu medyan değeri 4,958 kontrol grubunda ise medyan değeri 2,722 bulundu.



Şekil 4-29: ISG20 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak ISG20 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-29’da gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

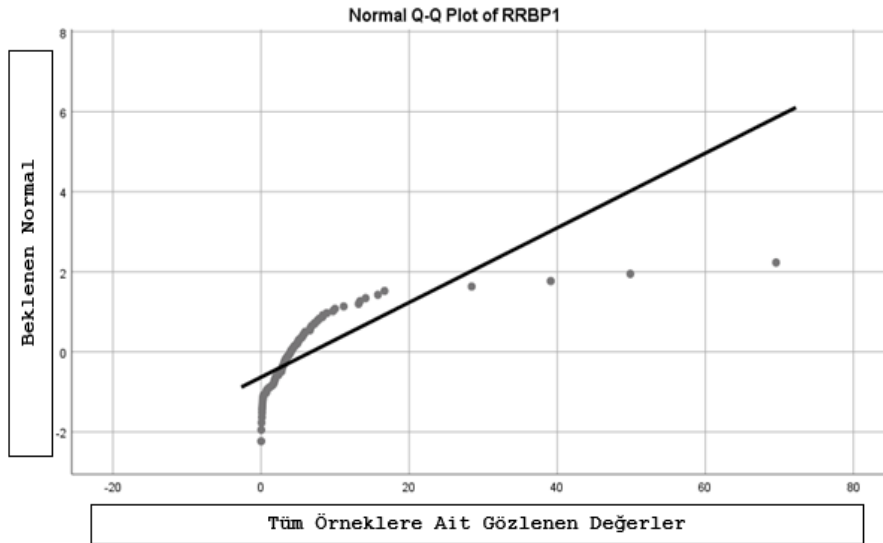
Mann-Whitney U Testi sonucuna göre ISG20 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,001$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,012$ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,095$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre ISG20 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,001$ anlamlı bulundu.

4.5.11. RRBP1 Geni Sonuçları

RRBP1 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-30). RRBP1 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-23’de tüm grupları içermektedir.

Tablo 4-23: RRBP1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

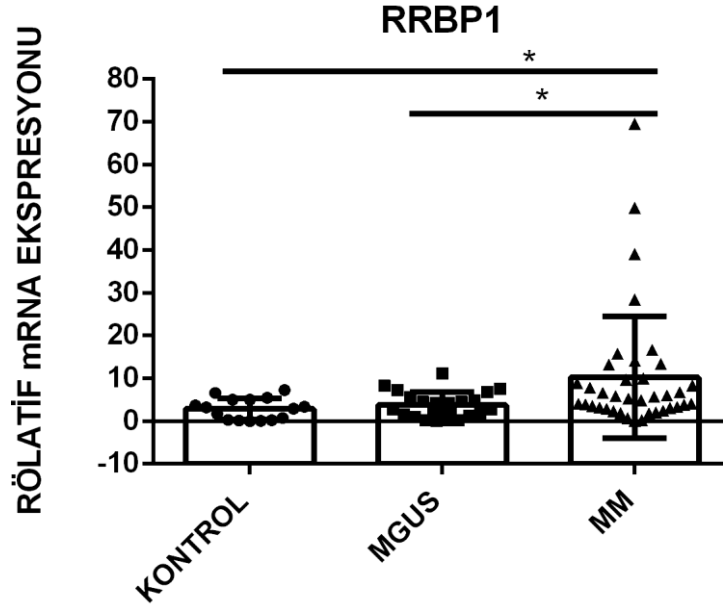
Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
RRBP1	0,273	77	0,000	0,531	77	0,000
RRBP1					İstatistik	Standart Hata
	Ortalama				6,78030	1,221852
	Ortalama %95 Güven Aralığı		Alt sınır		4,34677	
			Üst Sınır		9,21383	
	Medyan				4,02782	
	Standart Sapma				10,721712	
	Minimum				0,025	
	Maksimum				69,551	



Şekil 4-30: RRBP1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

RRBP1 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $10,244 \pm 2,31$, MGUS grubunda ise $3,775 \pm 0,623$,

kontrol grubunda ise $2,871 \pm 0,621$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 5,506 MGUS grubu medyan değeri 2,989 kontrol grubunda ise medyan değeri 3,066 bulundu.



Şekil 4-31: RRBP1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak RRBP1 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-31’de gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

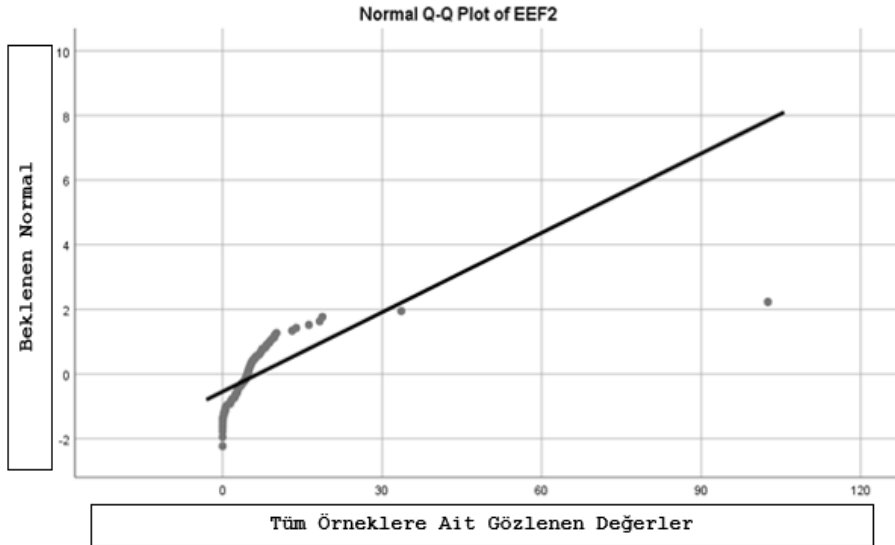
Mann-Whitney U Testi sonucuna göre RRBP1 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,006$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,019$ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,416$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre RRBP1 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,007$ anlamlı bulundu.

4.5.12. EEF2 Geni Sonuçları

EEF2 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-32). EEF2 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-24’te tüm grupları içermektedir.

Tablo 4-24: EEF2 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

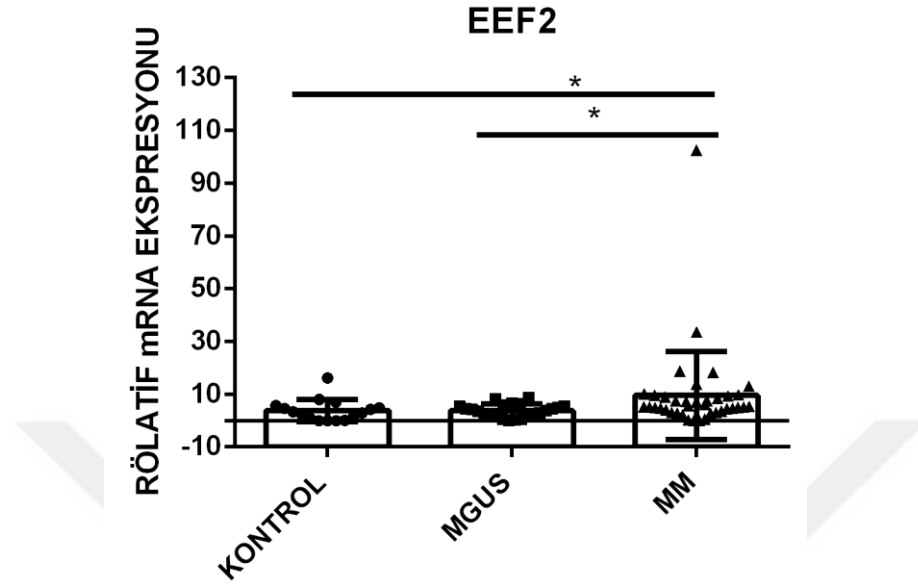
Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
EEF2	0,297	77	0,000	0,381	77	0,000
EEF2					İstatistik	Standart Hata
	Ortalama			6,63790		1,392762
	Ortalama %95 Güven Aralığı		Alt sınır	3,86398		
			Üst Sınır	9,41183		
	Medyan			4,62675		
	Standart Sapma			12,221439		
	Minimum			0,000		
	Maksimum			102,537		



Şekil 4-32: EEF2 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

EEF2 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $9,571 \pm 2,707$ MGUS grubunda ise $3,718 \pm 0,521$, kontrol

grubunda ise $3,867 \pm 1,046$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 5,278 MGUS grubu medyan değeri 3,863 kontrol grubunda ise medyan değeri 3,149 bulundu.



Şekil 4-33: EEF2 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak EEF2 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-33’de gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

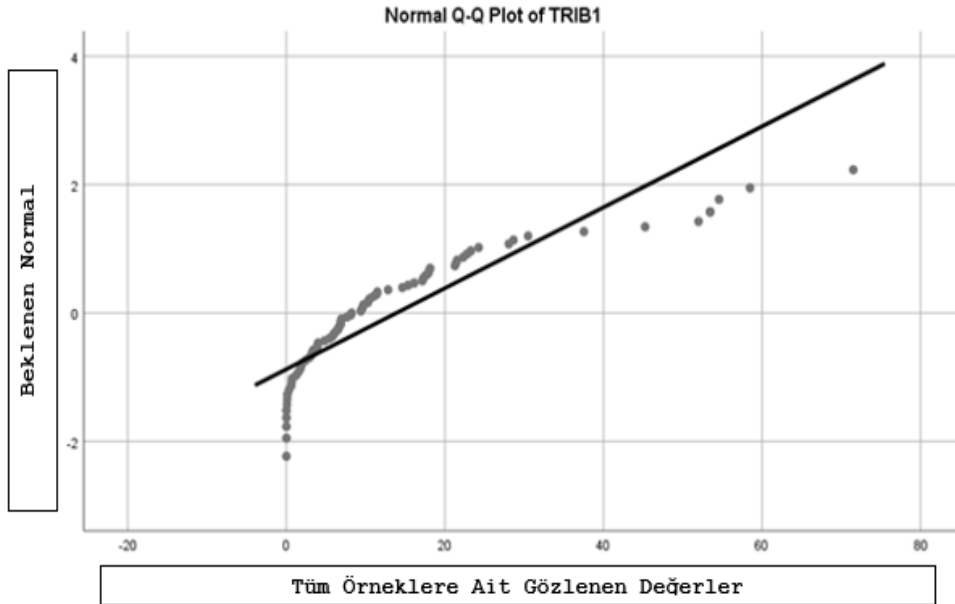
.Mann-Whitney U Testi sonucuna göre EEF2 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,014$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,010$ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,617$ ise anlamlı bulunmamıştır. ‘Kruskal Walls’ testi sonucuna göre EEF2 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,008$ anlamlı bulundu.

4.5.13. TRIB1 Geni Sonuçları

TRIB1 değişkeninin 77 örnekleme (MM, MGUS ve Kontrol gruplarında) normallik testi Shapiro-Wilk ile belirlendi. Data grubunun normal dağılım göstermemesi sebebiyle non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U Testi ile yapıldı. Q-Q grafikleri de analiz sonuçları ile uyumlu bulundu (Şekil4-34). TRIB1 gen ekspresyonunun tanımsal istatistik sonuçları Tablo4-25’te tüm grupları içermektedir.

Tablo 4-25: TRIB1 Geni Normallik Testi ve Tanımsal İstatistik Sonucu

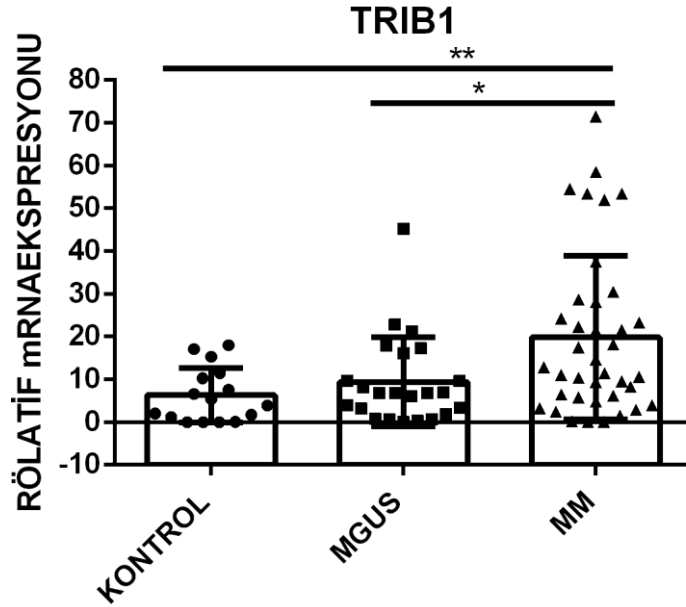
Normallik Testi						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri	İstatistik	Örnek sayısı	P değeri
TRIB1	0,197	77	0,000	0,783	77	0,000
TRIB1					İstatistik	Standart Hata
	Ortalama			13,88395		1,808944
	Ortalama %95 Güven Aralığı		Alt sınır	10,28113		
			Üst Sınır	17,48678		
	Medyan			8,22491		
	Standart Sapma			15,873418		
	Minimum			0,000		
	Maksimum			71,506		



Şekil 4-34: TRIB1 Geni Q-Q Plot Görüntüsü

TRIB1 geninin mRNA ifadesinin tüm gruplarda ayrı ayrı ortalamaları ve standart sapmaları MM grubunda $19,788 \pm 3,092$, MGUS grubunda ise $9,399 \pm 2,170$,

kontrol grubunda ise $6,305 \pm 1,593$ olarak hesaplandı. MM grubu medyan değeri 12,104 MGUS grubu medyan değeri 6,821 kontrol grubunda ise medyan değeri 4,685 bulundu.



Şekil 4-35: TRIB1 Geni Kontrol-MGUS-MM Rölatif mRNA Ekspresyon Grafiği

MM-MGUS-Kontrol grupların ortalama $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak TRIB1 geninin Graph Pad Prism Software (version 6.01) programında rölatif mRNA düzeyi Şekil4-35'te gösterildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirtildi.

Mann-Whitney U Testi sonucuna göre TRIB1 geninin ifadesi, MM-Kontrol grubu $p=0,004$ ve MM-MGUS grubu arasında $p=0,021$ anlamlı bulundu. MGUS-Kontrol grubu $p=0,304$ ise anlamlı bulunmamıştır. 'Kruskal Walls' testi sonucuna göre TRIB1 geninin ifadesi Kontrol-MGUS-MM grupları arasında $p=0,005$ anlamlı bulundu.

4.6. Spearman Korelasyon Analizi Bulgular

Çalışmada MM-MGUS-Kontrol gruplarından elde edilen sonuçların hepsi ve tüm genlerin birbiri ile ilişkisinin analizinde data normal dağılıma uymadığından Spearman Korelasyon testi ile analiz edildi. Genlerin birbiri ile ilişkileri sonucu zayıf-orta derecede ilişkili, iyi derecede ilişkili ve çok iyi derecede ilişkili olarak Tablo4-26'da gösterildiği üzere $p<0,001$ ** pozitif yönlü korelasyonlar elde edilmiştir.

Tablo 4-26: Spearman Korelasyon Sonuçları

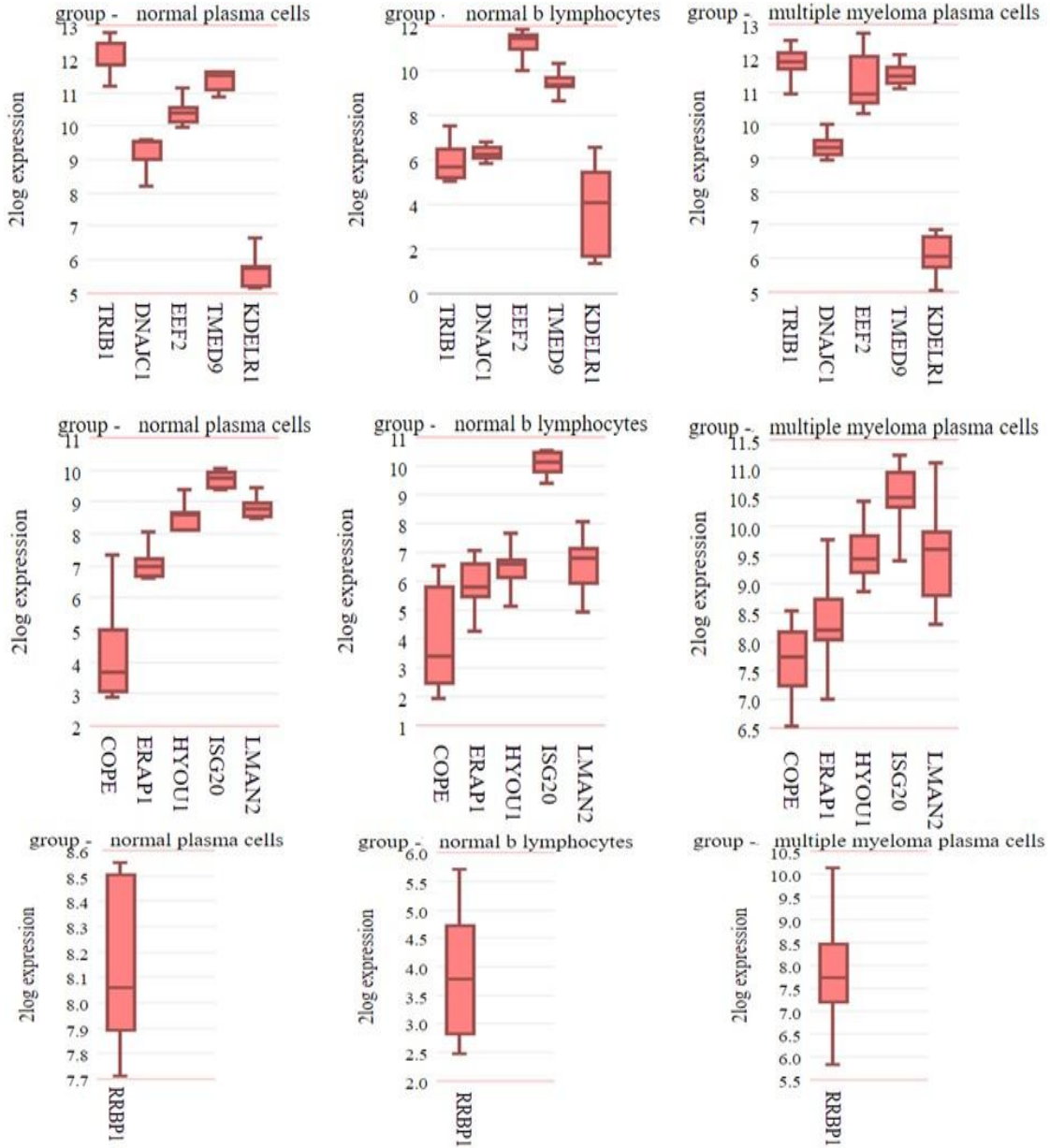
N=77		KDELR1	COPE	ERAP1	LMAN2	DPP7	DNAJC1
KDELR1	Spearman korelasyonu	1,000	,755"	,475"	,791"	,830"	,733"
	P değeri	.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
COPE	Spearman korelasyonu	,755"	1,000	,449"	,681"	,768"	,494"
	P değeri	0,000	.	0,000	0,000	0,000	0,000
ERAP1	Spearman korelasyonu	,475"	,449"	1,000	,698"	,482"	,522"
	P değeri	0,000	0,000	.	0,000	0,000	0,000
LMAN2	Spearman korelasyonu	,791"	,681"	,698"	1,000	,624"	,686"
	P değeri	0,000	0,000	0,000	.	0,000	,000
DPP7	Spearman korelasyonu	,830"	,768"	,482"	,624"	1,000	,572"
	P değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	.	0,000
DNAJC1	Spearman korelasyonu	,733"	,494"	,522"	,686"	,572"	1,000
	P değeri	0,000	0,000	0,000	00,000	,000	.
HYOU1	Spearman korelasyonu	,571"	,492"	,632"	,585"	,539"	,378"
	P değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
TMED9	Spearman korelasyonu	,709"	,638"	,628"	,766"	,680"	,601"
	P değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
OTUD1	Spearman korelasyonu	,464"	,416"	,539"	,520"	,364"	,322"
	P değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,004
ISG20	Spearman korelasyonu	,832"	,736"	,544"	,740"	,767"	,665"
	P değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
RRBP1	Spearman korelasyonu	,725"	,549"	,638"	,735"	,623"	,645"
	P değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
EEF2	Spearman korelasyonu	,554"	,541"	,625"	,655"	,548"	,400"
	P değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
TRIB1	Spearman korelasyonu	,808"	,646"	,500"	,738"	,737"	,629"
	P değeri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

N=77		HYOU1	TMED9	OTUD1	ISG20	RRBP1	EEF2	TRIB1
KDELR1	Spearman korelasyonu	,571"	,709"	,464"	,832"	,725"	,554"	,808"
	P değeri	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
COPE	Spearman korelasyonu	,492"	,638"	,416"	,736"	,549"	,541"	,646"
	P değeri	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
ERAP1	Spearman korelasyonu	,632"	,628"	,539"	,544"	,638"	,625"	,500"
	P değeri	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
LMAN2	Spearman korelasyonu	,585"	,766"	,520"	,740"	,735"	,655"	,738"
	P değeri	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
DPP7	Spearman korelasyonu	,539"	,680"	,364"	,767"	,623"	,548"	,737"
	P değeri	,000	,000	,001	,000	,000	,000	,000
DNAJC1	Spearman korelasyonu	,378"	,601"	,322"	,665"	,645"	,400"	,629"
	P değeri	,001	,000	,004	,000	,000	,000	,000
HYOU1	Spearman korelasyonu	1,000	,521"	,655"	,484"	,632"	,700"	,586"
	P değeri	.	,000	,000	,000	,000	,000	,000
TMED9	Spearman korelasyonu	,521"	1,000	,393"	,631"	,638"	,639"	,588"
	P değeri	,000	.	,000	,000	,000	,000	,000
OTUD1	Spearman korelasyonu	,655"	,393"	1,000	,389"	,390"	,497"	,464"
	P değeri	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000
ISG20	Spearman korelasyonu	,484"	,631"	,389"	1,000	,669"	,542"	,778"
	P değeri	,000	,000	,000	.	,000	,000	,000
RRBP1	Spearman korelasyonu	,632"	,638"	,390"	,669"	1,000	,632"	,717"
	P değeri	,000	,000	,000	,000	.	,000	,000
EEF2	Spearman korelasyonu	,700"	,639"	,497"	,542"	,632"	1,000	,598"
	P değeri	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000
TRIB1	Spearman korelasyonu	,586"	,588"	,464"	,778"	,717"	,598"	1,000
	P değeri	,000	,000	,000	,000	,000	,000	.

4.7. Biyoenformatik Database ile 13 Aday Genin Expresyon Analizi Bulguları

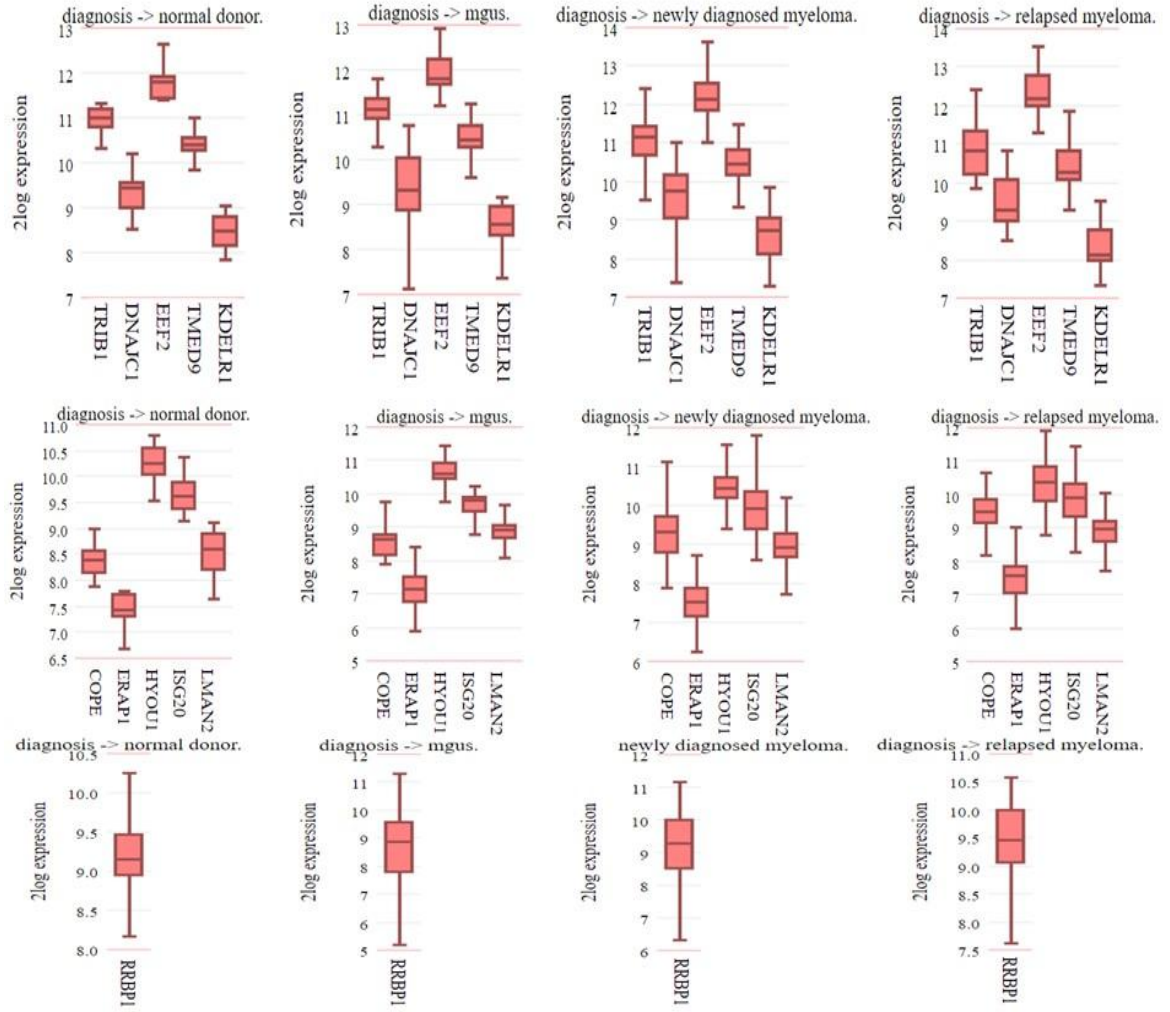
“R2 Genomics Analysis and Visualization Platform” adlı biyoenformatik program ile aşağıda analiz edilen 4 myeloma mikroarray çalışması hakkında kısa bilgiler ve 13 aday genin (çalışmada var ise) her bir çalışmadaki 2 log ekspresyon sonucu görselleştirilerek XY_Plot grafiği şeklinde sunulmuştur (99).

“Mixed Bone Marrow—56 MAS5.0-U1133a” (2007) *mikroarray* çalışmasında 10 Waldenstroms makroglobulinemisi (WM), 12 MM ve 11 kronik lenfositik lösemili (KLL) olan kemik iliği örneklerinden oluşur. Tüm örnekler yeni tanı almış tedavi edilmemiş hastalara karşılık gelmektedir. Ek olarak, periferik kandan 8 normal B lenfosit örneği ve sağlıklı donörlerin kemik iliğinden 5 normal plazma hücresi de klonal popülasyonların GEP regülasyonunun normal durumuyla karşılaştırılmıştır (Şekil4-36). Pubmed link 17252022, Geo ID:GSE6691



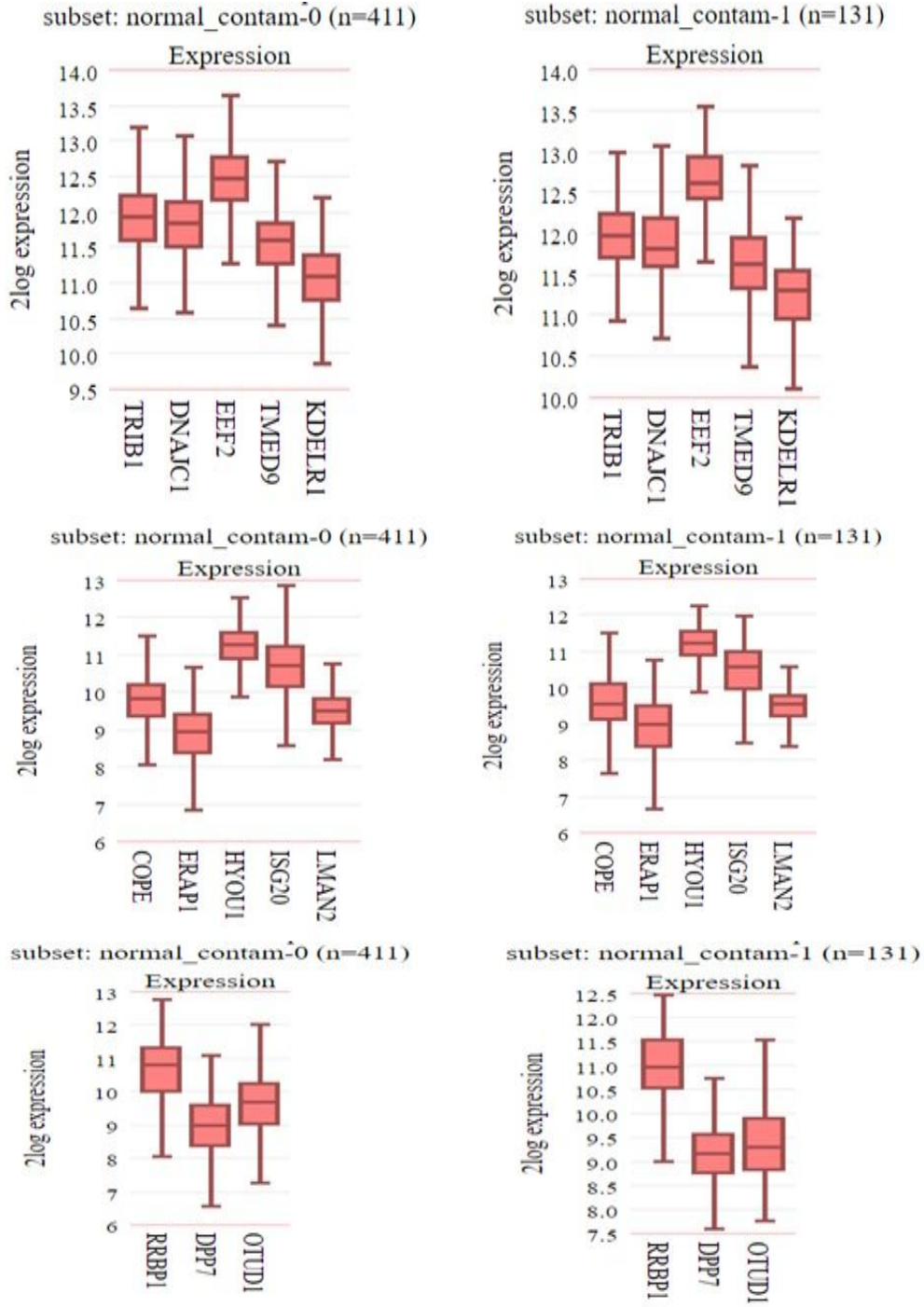
Şekil 4-36: Mixed Bone Marrow—56 MAS5.0-U1133a Datası Aday Genlerin Ekspresyon Sonucu

“Tumor-Myeloma-Chng-161-MAS5.0-u133a” (2006) *mikroarray* çalışmasında 53 Hiperdiploidi MM (37 yeni tanıli tedavi almamış-16 relaps tedavi almıştır), 37 Non-Hiperdiploid MM (29 yeni tanıli tedavi almamış -8 relap tedavi almıştır) hastalarında spesifik sitogenetik faktörlerle gen ekspresyon profili gösterilmiştir. (Şekil4-37). Pubmedlink:17409404,Geo ID:GSE6477



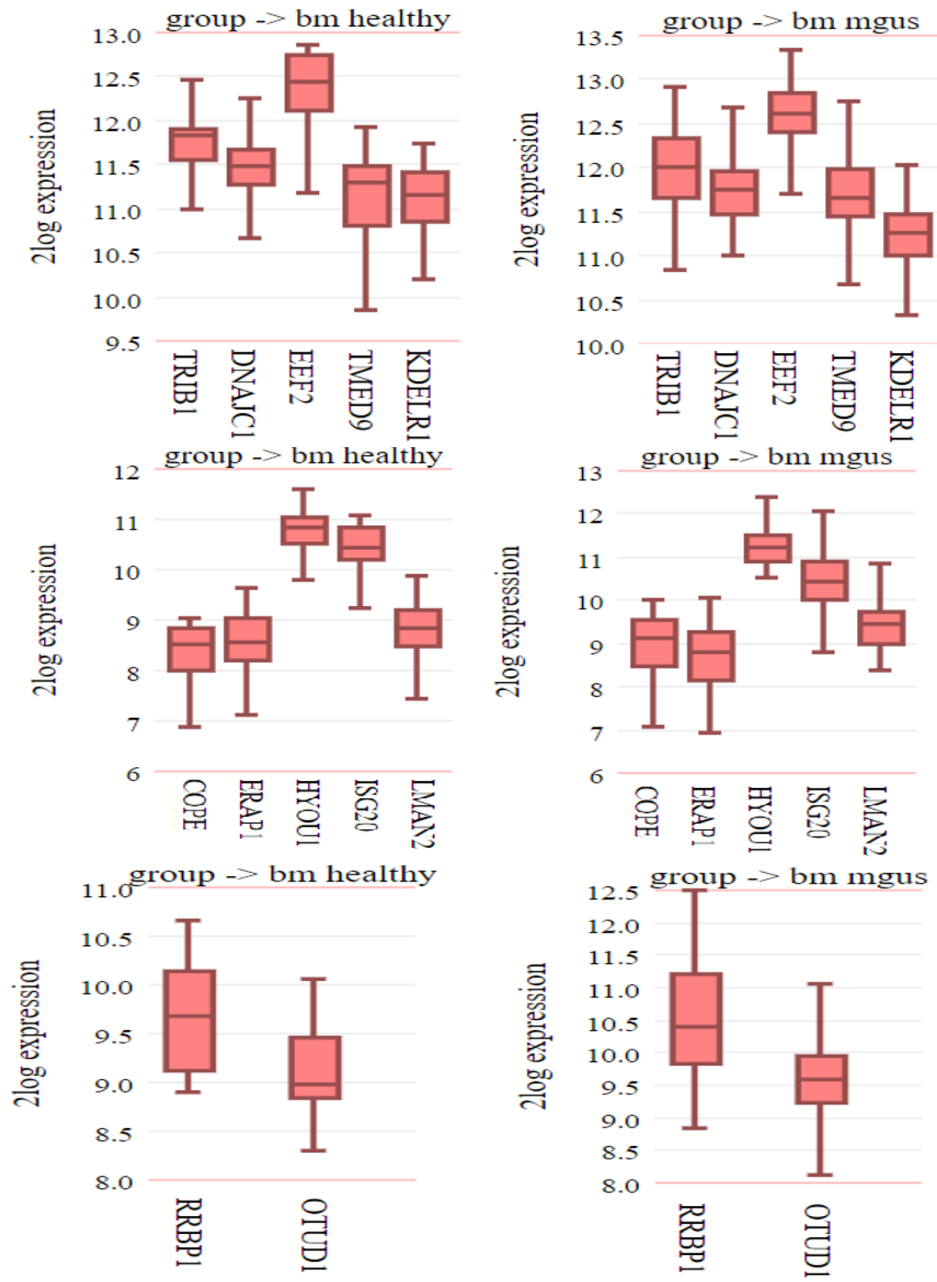
Şekil 4-37: Tumor-Myeloma-Chng-161-MAS5.0-u133a Verisi Aday Genlerin Ekspresyon Sonucu

“Tumor Myeloma-Hanamura-542 MAS5.0-u133p2” (2006) mikroarray çalışmasında 351 yeni tanıli tedavi almamış MM hastası ve relaps olgularında gen ekspresyon profili belirlenmiştir (Şekil4-38).Pubmedlink:17409404, Geo ID:GSE6477



Şekil 4-38: Tumor Myeloma-Hanamura-542 MAS5.0-u133p2 Datası Aday Genlerin Ekspresyon Sonucu

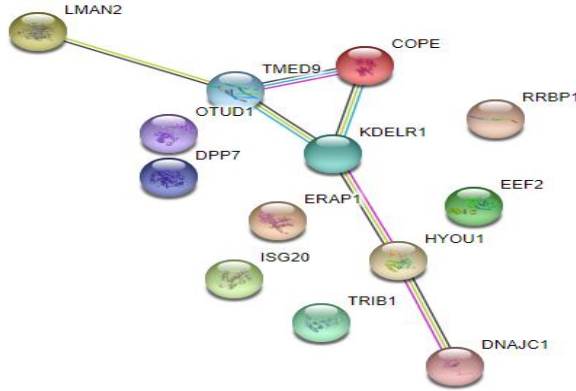
“Tumor Myeloma-Shaughnessy—78 MAS5.0-U1133p2” (2006) mikroarray çalışmasında 44 MGUS, 12 Smoldering Myeloma, 22 sağlıklı kemik iliği donörü olmak üzere toplamda 78 örneğin gen ekspresyon profili karşılaştırılmıştır (Şekil4-39). Pubmed link 17023574,Geo ID:GSE5900



Şekil 4-39: Tumor Myeloma-Shaughnessy—78 MAS5.0-U1133p2 Datası Aday Genlerin Ekspresyon Sonucu

4.8. 13 Aday Genin Protein-Protein Etkileşimi

Biyoenformatik araçlardan biri olan, *String versiyon11* ile 13 aday genin proteinlerinin *in silico* olarak etkileşimleri analiz edilerek görselleştirilmiştir. (Şekil4-40) Bu genlerin protein-protein analiz sonucu Tablo4-27’de verilmiştir.



Şekil 4-40: 13 Aday genin *In silico* Protein-Protein Etkileşimi (101).

Tablo4-27: 13 Aday genin *In silico* Protein-Protein Etkileşim Analizi Bulguları

Bağlantı (nod)sayısı	13
Kenarların sayısı	6
Toplam Bağlantı derecesi	0,923
Ortalama lokal kümeleme katsayısı	0,282
PPI-kuvvetlendirilmiş -p-değeri	0,000536

String versiyon 11 sitesinde yapılan analizde beklenenden çok daha fazla anlamlı etkileşim bulunmuştur. Proteinlerin kendi aralarında, genomdan alınan benzer büyüklükte rastgele bir protein seti için beklenenden daha fazla etkileşime sahip olduğu anlamına gelmektedir. Böyle bir zenginleştirme, proteinlerin bir grup olarak en azından kısmen biyolojik olarak bağlı olduğunu göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Multiple Myeloma ve Önemi Bilinmeyen Monoklonal Gammopati kemik iliği B hücre kökenli plazma hücre diskrazilerindendir (102). MM tanısı ve tedavisi son on yılda genel sağkalımda önemli bir iyileşme sağlamıştır. Hastalık tanısında klinik evrelemeye ek olarak yeni biyobelirteçler eklenerek güncellenmiştir (103). Kanser Genom Atlası (TCGA), ENCODE gibi büyük çaplı analizler sayesinde, kanserli dokuya ait belirli mutasyon, protein, RNA seviyeleri ve fonksiyonel elementlerin belirlendiği katalog oluşturulmuştur. Son yıllarda özellikle mikroyarray ve transkriptomun gen ekspresyon analizinde kullanılmasıyla yüksek hacimli veri üretilmesini sağlayan ilerlemeler myelomanın moleküler biyolojisini aydınlatmada yeni bilgiler elde etmemizi sağlamıştır (104). Bu nedenle MM'nin ve MGUS'un moleküler biyolojisini, belirli mutasyonları, kromozomal aberasyonlarını ve gen ekspresyon paternini daha iyi anlamamız, hematolojik olan bu maligniteyi önleme, tanı ve tedavi stratejilerini geliştirmemize eşsiz katkılar sunacaktır.

Tez çalışmasında da daha önce Multiple Myeloma'da ön tanıli tedavi görmemiş olgulardaki kemik iliği malign hücrelerinin transkriptom profili belirlenmiştir. Transkriptom datada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek RPKM değerlerine sahip olan (ekspresyon düzeyleri yüksek) literatürde Myeloma ile ilişkisi henüz belirlenmemiş ya da dolaylı olarak belirlenen 13 aday gen tespit edilmiştir. Bu datadan elde edilen sonuçları yeni tanıli ve tedavi görmemiş MM grubu hastalarında ve premalign bir diskrazi olan MGUS hastalarında konfirmasyonları yapılmıştır. MGUS'tan MM geçişi ve myeloma gen ekspresyon paternini, MM'de erken tanı ve tedavi stratejilerine katkıda bulunmayı amaçladık.

Aday genlerimizden ilki, DPP7 (DPP2) geni tarafından kodlanan proteininin dinlenme evresinde lenfositlerde eksprese edilen bir post prolin ayrıştırma aminopeptidazı olduğu bilinmektedir (105). Bu enzim DASH grubu içinde sadece asidik PH'da optimum çalışmaktadır. Hücre içinde sıklıkla eksprese edilen bir enzim olup lizozomda ve intralizozomal vezikülde lokalize olduğu bildirilmiştir (106). Hücrenin G0 fazından (durgun evre) hücre döngüsüne geçiş önemli olup, G0 fazının sağlanamaması durumunda proliferasyona yol açarak kanserli hücrelerde tümör genezi sebep olabilir. DPP7 genin kodladığı protein sayesinde durgun lenfositler G0 fazında bekleyebilir.

DPP7 geninin aktivitesi azaldığında durgun lenfositler G0 fazından hücre döngüsü fazına geçerek proliferasyona sebep olur. Bu aşama p53 ve cmyc genleri ise *upregüle* (yukarı düzenleme) olarak apoptozu tetiklediği bildirilmiştir (105).

DPP7'nin inhibisyonu KLL hastalarının hücrelerinde %60'ında apoptozu indüklediği ve pozitif prognostik belirteç varlığı olarak iyi huylu bir hastalık seyri ile ilişkili bulunmuştur. Deanne ve ark yaptığı çalışmada DPP7 ve HSP90'nın ilişkili olduğu bulunmuştur. DPP7'nin AAG-17 molekülü ile inhibisyonu sonucu indüklenen apoptozu karşı direncin, R-KLL B hücrelerinin HSP90 inhibisyonu ile Go evresine hücrenin tersine geri döndüğü gösterilmiştir. HSP90, BCR sinyalleşmesi için kritik olan alıcı proteinleri stabilize eden bir şaperondur. HSP90-inhibisyonu sonucu ZAP-70 ve AKT'ın tükenmesine yol açar. Ayrıca KLL hücrelerinde BCR sinyalinin bozulması onları anti-u ile BCR stimülasyonuna cevap veremez hale getirir. Bu nedenle HSP90'nın R-KLL B hücrelerindeki inhibisyonu Go evresine geri getirir. DPP7'nin KLL ve diğer kanserlerin patogeneğinde işlevsel olarak yer alıp almadığı şuan bilinmemektedir (107, 108).

Pankaj ve ark. Kolorektal kanserlerde (KK) klinik validasyonlarını yaptıkları çalışmada DPP7 geninin kötü prognozun anlamlı bir belirteci olabileceği belirlenmiştir. Anlamlı olmamasına rağmen, DPP7 normal dokuda biraz daha yüksek seviyelerde eksprese edildi. Bu, ekspresyonun sadece durgun bir lenfosit ve fibroblast alt grubuyla sınırlı olmasından dolayı olabilir. Daha düşük DPP7 ekspresyonu olan hastalar çalışmada genel sağkalımı daha düşüktür. DPP7 ekspresyonu, KK tümör dokularında aşağı regüle edildiğinden, mesane kanserinde daha yüksek miktarlarda eksprese ettiği gösterilen PCMT1 geni ile ters korelasyon göstermiştir (109). Bizim bulgularımıza göre DPP7 geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 2,2 kat anlamlı olarak artığı ($p=0,028$), MGUS ile MM grubu arasında 2,4 kat anlamlı ($p=0,005$) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında ($p=0,819$) ise anlamlı bir artış olmadığı yönündedir. Her üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında DPP7 geninin ekspresyonunun MM-MGUS-kontrol arasında ($p=0,007$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur. Bu durumda DPP7 geninin hasta gruplarındaki anlamlı artışı literatüre göre Go fazında kanser hücrelerin kalarak prolifer olmaması beklenmektedir. Bununla birlikte DPP7 geninin fizyolojik görevleri ile ilgili oldukça az yayın bulunmaktadır. DPP7 geninin Go evresindeki görevi dışında tartışmalı olarak intralizozomal olarak kısa

peptidlerin transferine katkıda bulunduğu, ayrıca glikoz homeostasında görevli olabileceği öne sürülmüştür (110).

KDEL reseptörleri, ER stresi ve proteostazı ile doğal olarak bağlantılıdır. Literatürde farklı KDELR'lerin farklı deneysel metastaz fenotiplerine aracılık ettiğini göstermiştir. KDELR3'ün embriyonik melanoblast geninin, hem fare hem de insan melanom hücrelerinde metastaz arttırıcı olduğunu, bunun tam tersi KDEL1'in ise, baskıladığını gösterilmiştir. Kerrie ve ark yaptığı bu Deri kutanöz melanom hastalarında (TCGA) KDELR1 ekspresyonunun analizinde erken evre melanom hastaları ile geç evre metastatik melanom hastaları arasında anlamlı fark görülmemiştir. Öte yandan KDELR3'ün bu hasta grupları arasında ekspresyon seviyeleri anlamlı bulunmuştur. Bu veriler, KDELR ailesi üyeleri arasında KDELR3 ve KDELR1'in, en azından metastatik yeterliliğe göre farklı rollere sahip olması gerektiğini göstermektedir (111).

Hela hücrelerinde yapılan bir ER şaperonu olan immünoglobulin bağlama proteini BiP'nin, yanlış katlanmış bir proteinin, erken salgılama yolağından tamamen kaçmayıp KDEL reseptörü tarafından ER sonrası kompartmanlardan alınarak ER'ye geri verildiğini bildirmişlerdir. Bir mutant KDEL reseptörünün ekspresyonu ile gösterilen ER stres yanıtı sırasında geri kazanım sınırlı olduğunda, ER şaperonları salgı yolundan daha fazla kaçır ve yoğun ER stres yanıtı BiP kaybını telafi etmek için uyarıldı görülmüştür. MAPK kaskadlarına aracılık eden KDEL reseptörünün sinyal fonksiyonunun, ER stres yanıtı sırasında hücrelerin kaderini belirleyen kritik faktörlerden biri olduğunu belirlemektedirler. KDEL reseptörünün bu çalışmada gösterilen MAPK aktivitesini modüle etme yolunun, ER stres tepkisinin fizyolojik olduğu kadar patolojik birçok biyolojik sürece de katılabileceği anlamına gelen diğer çeşitli durumlarda da yer alabileceğidir (112).

Bizim bulgularımıza göre KDELR1 geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 3.1 kat anlamlı olarak artığı ($p=0,000$), MGUS ile MM grubu arasında 2.7 kat anlamlı ($p=0,000$) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında ($p=0,732$) ise anlamlı bir kat artış olmadığı yönündedir. Her üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında KDELR1 geninin ekspresyonunun MM-MGUS-kontrol arasında ($p=0,000$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur. Paraproteinin aşırı üretimi, MM hücrelerini sürekli ER stresine maruz bırakarak myelom hücrelerini hayatta kalma için UPR'ye oldukça bağımlı hale getirir. Ancak sürekli ER stresi, hücrelerin bu ekstra

yüke adapte olmasını sağlayan diğer stres yollarının kullanılmasını da yönlendirir. MM hücrelerinin UPR'ye bağımlılığı, UPR'yi dolaylı olarak hedefleyen tedavileri hastalığın tedavisinde ve hastaların yaşam beklentisini iyileştirmede etkili hale getirmiştir. Birçok B hücresi kanserlerinde UPR'ye bağımlı olmasından dolayı, Bortezomib (Bz) gibi inhibitörler hastalığın tedavisinde etkilidir. Bununla birlikte, Bz direncinin ortaya çıkması MM tedavisini giderek zorlaştırmıştır. Bz direncinin kesin nedenini belirlemek zordur (113). KDELRL1'nin MM'de Bz dirençli hücrelerin ER stresinde ve UPR'de aydınlatılamamış direnç kısmında görevli olabileceğini düşünmekteyiz.

COPE geni, epsilon alt birimini oluşturduğu koatomer proteinini kodlar. Koatomer proteini Golgi membranlarından tomurcuklanma tersi yönde (cis –trans) yönde ER'a doğru retrolisin ile ilişkilendirilmiş proteinlerin taşınması için gereklidir (114).

COPE geni, 142 Pankreatik duktal karsinoma dokusu ve 104 normal pankreatik doku örneğinden yapılan transkriptom analizi sonucu normal dokuya göre düşük eksprese bulunarak potansiyel prognostik rolünün olabileceği belirlenmiştir. Ayrıca, düşük COPE ekspresyon seviyesine sahip hastalar, yüksek ekspresyon grubuna kıyasla daha düşük hayatta kalma sağlamıştır (114, 115). Literatürde Obstruktif Uyku Apnesi (OUA) hastalarında yapılan pilot bir çalışmada serumda COPE-Ab düzeylerinin kardiyovasküler ve serebrovasküler olaylarla ilişkisinin olup olmadığını değerlendirilmiştir. Buna göre, beklenmedik bir şekilde OUA hastalarında COPE-Ab düzeylerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir. COPE-Ab düzeyleri OUA ve kardiyovasküler ve/veya inme, hipertansiyon ve yüksek vücut kitle indeksi olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. OUA'lı hastaların tek değişkenli ve çok değişkenli lojistik regresyon analizleri, yüksek COPE-Ab seviyesini kardiyovasküler ve/veya inme için önemli bir belirleyici olarak tanımlamışlardır. OUA'lı hastalarda her ne kadar COPI ve dolaşımdaki COPE-Ab kesin hücrel mekanizmaları, mevcut çalışma ile ortaya çıkmamış olsa da lipid inflamasyonu bu hasta popülasyonunda yüksek COPE-Ab seviyeleri ile ilişkili anahtar bir unsur olabilir. Önceki çalışmalar, Arf1-COPI veziküler taşıma makinelerinin, vezikül kaçakçılığı yolu içindeki damlacık morfolojisini ve lipid depolamayı / kullanımını düzenlediğini bildirmiştir. Bu, COPI ile lipid depolaması (örneğin, ateroskleroz ile ilgili) hastalıkları arasında bir bağlantı olduğu anlamına gelir ki OUA'ya sıklıkla obezite eşlik eder; bu

nedenle, serum COPI ve alt birimi COPE seviyeleri, OUA'lı hastalarda hücrelerde aşırı lipidleri depolamak için yükseltilebilir. Bununla birlikte pekçok OUA hastasının yaşadığı kronik aralıklı hipoksinin, hücresel düzeyde lipid peroksidasyonu yoluyla lipid metabolizmasını düzenlediği bilinmektedir (116). Başka bir çalışmada, aralıklı hipoksinin OUA'lı hastalarda makrofaj alımını ve interleukin-6 ve tümör nekroz faktörü-alfa salgılanmasını artırarak, ateroskleroz gelişimine yol açan yağ dokusu iltihabına neden olduğu bulunmuştur (117).

Kanserli dokularda lipojenezin artmasına neden olan değiştirilmiş bir lipid metabolizması, uzun zamandan beri transforme edilmiş hücrelerin önemli bir özelliği olarak kabul edilmiştir ve sonuç olarak, lipid biyogenezinde yer alan metabolik yollar önemli terapötik hedefler olarak ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte, kanser hücrelerinin artan lipogeneze metabolik yollardan bağlandığı mekanizmalar yeterince anlaşılmamıştır. Son on yılda, lipid metabolizma yollarının, miyelom dahil olmak üzere meme, kolorektal, prostat, yumurtalık gibi birçok kanserin görülme sıklığındaki artışlarla ilgili olduğu kabul edilmiştir. Kanser hücreleri glikoz metabolizmasının dışında lipid metabolizması yolunu da kullanmaktadır. Kanser hücrelerinde ATP sitrat liyaz (ACLY), asetil-CoA karboksilaz (ACC), yağ asidi sentaz (FASN) gibi lipid metabolizmasında görevli olan lipojenik enzimlerin ekspresyonunun arttırılması yoluyla endojen lipojenezin arttırılmasını ve eksojen lipid alımını tetikler (118, 119,120 121). Bizim bulgularımıza göre COPE geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 1,7 kat anlamlı olarak arttığı ($p=0,021$), MGUS ile MM grubu arasında 2 kat anlamlı ($p=0,004$) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında ($p=0,724$) ise anlamlı bir kat artış olmadığı yönündedir. Her üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında COPE geninin ekspresyonunun MM-MGUS-kontrol arasında ($p=0,005$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca MM kemik iliği mikroçevresindeki çeşitli hücreler ve onlardan salgılanan sitokin, interlökin, büyüme faktörleri ile ilişkili olarak tümör proliferasyonunu ve sağkalımını sağladığı bilinmektedir. Myeloma hücrelerinde COPE artışının, endokrin veya metabolik sinyallere bağlı olarak MM kemik hominginde, tümör ilerlemesinde, ilaca direnç, nüks veya osteolizde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (122). Bizde bu bilgiler doğrultusunda elde ettiğimiz COPE geninin gruplar arasındaki anlamlı ekspresyon artışının myeloma patogenezinde önemli bir prognostik belirteç olabileceğini düşünmekteyiz.

DNAJC1 (MTJ1)'in gen ürünü, protein katlanması, apoptoz, immün düzenlemesi ve muhtemelen kromatin remodelinginde rol oynayan bir transmembran ısı şoku proteinidir (123). Jurkat hücrelerinde DNA'ya çeşitli dozlarda 123I-iyododeoksiüridin (123IUdR), α -ve γ - radyasyon verilerek mikroyarray yöntemi uygulanarak farklı radyasyon kalitelerini ayırt etmek ve biyobelirteçleri tanımlamak amaçlı yapılan çalışmada DNAJC1'nin, γ -ışınlama işleminden 24 saat sonra ve 6 saat sonra ışınlanmamış kontrol ile karşılaştırıldığında $>1,5$ kat değişimiyle önemli ölçüde artan bir gen ekspresyonu gösterdiğini ortaya koymuştur. Bunun aksine, 123IUDR maruz kaldıktan sonra DNAJC1'de herhangi bir değişiklik olmamıştır (124).

Glikoz düzenlenmiş protein 78'in (GRP78/BİP) hücre yüzeyi ekspresyonu, çeşitli kanser türlerinde meydana gelir. Primer kutanöz melanomundaki hücre yüzeyi BİP'in DNAJC1 gibi diğer proteinlerle birleşmesi hücre çoğalmasını uyarır. Bu çalışmada, invaziv primer kutanöz melanomlarda BİP ve DNAJC1 ekspresyon paternini tanımlamışlar. BİP ekspresyonunun hem hastanın hayatta kalması hem de tümör invazyonu ile koreledir. Orta derecede bir DNAJC1 ekspresyonunun, hastanın sağkalımının azalması ile ilişkili olduğu bulunmuştur; ancak, BİP ve DNAJC1 ekspresyon paterni arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. DNAJC1'in, tümör agresifliğini arttırmada BİP üzerinde modifiye edici olduğu gösterilmiştir (125).

1097 meme kanseri doku örneği ve 1981 metastatik meme kanserinde (TCGA datası) yapılan karşılaştırmalı transkriptomik analiz sonucunda meme kanseri bazal tipte DNAJC1 genin upregüle olduğu bulunmuştur (126). Bizim bulgularımıza göre DNAJC1 geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 7,5 kat anlamlı olarak artığı ($p=0,000$), MGUS ile MM grubu arasında 4,6 kat anlamlı ($p=0,000$) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında ($p=0,177$) ise anlamlı bir kat artış olmadığı yönündedir. Her üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında DNAJC1 geninin ekspresyonunun MM-MGUS-kontrol arasında ($p=0,000$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte bu gen ile ilişkili literatürde oldukça az çalışma bulunmaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda bir ısı şoku proteini olan DNAJC1 geninin Er stress üzerinden myeloma patogenezinde prognostik bir belirteç olabileceğini düşünmekteyiz.

TMED9 (p24a2, p25) endoplazmik retikulum zarı üzerinde eksprese edilen taşıyıcı proteindir ve veziküler transportta rol oynadığı düşünülmektedir. İnsan

hücrelerinde veya kanserde işlevi hakkında çok az şey bilinmektedir (127). TMED9'un diğer TMED proteinleri ile kompleksler oluşturduğu gösterilmiştir ancak metastazdaki rolü büyük ölçüde keşfedilmemiştir. Mishra ve ark. TMED9'un transkripsiyonel olarak TMED3 tarafından negatif olarak düzenlendiğini ve TMED9'un metastatik fonksiyona sahip olduğunu ayrıca TMED3 ile ilgili epistatik bir şekilde çalıştığını göstermektedir. TMED9 ve TMED3, antagonist davranışları kontrol etmek için birbirlerini dengelediği ve metastatik düzenlenmede rol oynadığını belirlenmiştir. *WNT-TCF* sinyalinin TMED9'u baskıladığı ve TMED9'un *WNT-TCF* yolundaki diğer molekülleri baskılamaktadır. Bu nedenle, TMED9 sadece TMED3 WNT ile karşılıklı olarak baskıcı bir etkileşim sergilemekle kalmaz, aynı zamanda pro-metastatik sinyalleri de pozitif olarak düzenlemektedir. İnsan kolon kanseri hücrelerinde pro-metastatik durumların pozitif kontrolünde özellikle uzak metastazda, TMED9'un ilişkili olabileceği ve protein salgılanmasında düzenleyici olabileceği ileri sürülmüştür (128).

Mucin 1 Böbrek hastalığı çerçeve kayması mutasyonu sebebiyle oluşan bir proteinopati olup, hücre içi MUC1-fs birikmesi sonucu oluşur. Hücre içi katlanmamış proteinler ATF6 üzerinden UPR aktive eder. Çalışmada MUC1-fleri hasta hücreleri, *knock in* fare böbrek modeli ve hasta böbrek organoidleri oluşturulmuştur. Küçük bir molekül olan *BRD4780*'i sayesinde hatalı katlanmış proteinlerin kargo reseptörleri tarafından tutulması ve lizozoma yönlendirilmesi sağlanarak mutant hücreler yok edilmiştir. MUC1-fs, erken salgı yolunun TMED9 kargo reseptörü içeren veziküllerde tutulur. *BRD4780*, TMED9'u bağlar ve MUC1-fs'yi serbest bırakarak lizozomal bozulma için yeniden yönlendirir. Bulgular *BRD4780*'i Mucin 1 Böbrek hastalığı ve diğer toksik proteinopatilerin tedavisinde ümit verici olmuştur (129).

Hepatosellüler karsinoma (HCC) hastalarında daha yüksek TMED9 mRNA ve protein seviyeleri belirgin şekilde gözlenmiş bununla onkogenik yolu modüle ettiği ve tümör genezi sağlayan hastalarda kötü prognoza sahip olduğu bulunmuştur. Ek olarak, Tayvanlılarda yapılan çalışmada TMED9 seviyesi yüksek olan hastalarda kötü prognoz bildirilmiştir. TMED9'un HCC hücrelerinde hedef proteinlerin yeniden düzenleyerek ER'den Golgi'ye gidiş yönünü değiştirmiştir. Ayrıca protein fonksiyonlarını veya stabiliteilerini modüle etmek için katlama, olgunlaşma ve translasyon sonrası modifikasyonlarını da değiştirebildiği belirtilmiştir. TMED9 ekspresyonunun değişmesi,

fonksiyonel proteinlerin metabolizmasını etkiler ve HCC'nin tümör oluşumunu artırır. Bu yeni bulgular kanserde yeni hedefler kazanmamızı sağlamaktadır (130).

Bizim bulgularımızda da hepatosellüler karsinoma çalışmasında olduğu gibi TMED9 geni mRNA düzeyinde anlamlı bulunmuştur. TMED9 geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 2,5 kat anlamlı olarak arttığı ($p=0,013$), MGUS ile MM grubu arasında 4,3 kat anlamlı ($p=0,000$) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında ($p=0,648$) ise anlamlı bir kat artış olmadığı yönündedir. Her üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında TMED9 geninin ekspresyonunun MM-MGUS-kontrol arasında ($p=0,001$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur.

MM ve MGUS arasında kontrol grubu ile kıyaslandığındaki sonuçlara göre TMED9 ekspresyonu artışı, MGUS'tan MM dönüşümde hücre içinde kritik görevinin olabileceğini göstermektedir. Hücre içerisinde MM hastalarında paraproteinlerin artması ER-golgi trafiğinde çeşitli değişiklikler meydana geldiğini düşündürmektedir. Hücrede bozulan protein homeostazı sebebiyle kargo reseptörleri, ısı şoku proteinleri, ER stres, UPR yolları aktive olmaktadır. Tam bu noktada TMED9 bugüne kadar MM ile ilişkilendirilmemiş genler arasında olup, MGUS ile MM arasında prognostik bir belirteç olabilir.

LMAN2/VIP36, bir tip I membran proteindir. VIP36 çeşitli glikoproteinlerin transportunda görevli bir kargo reseptörüdür. Salgı (sekretuvar) proteinlerinin kalite kontrolleri sırasında LMAN2 ile interaksiyon içinde oldukları belirlenmiştir (70). Örneğin 80 kDa İmmunoglobulin Binding Protein (BIP) LMAN2'ye bağlanır. Bu genin yüksek eksprese edildiği yerler plasma membran, endosomlar ve golgi yapılarında lektin ile birlikte bulunur (96). LMAN2'nin lektin ile bulunması özellikle MM hastaların da enfeksiyona karşı doğuştan gelen (*innate*) sistemlerinin güçlü olduğunun bir belirteci olabilir. Çünkü kompleman sistemin mannan bağlayıcı lektin yolu, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bir parçasıdır ve sadece sağlıklı bireyler için değil aynı zamanda tedavi sırasında kanser hastaları için yüksek enfeksiyon riskini de etkileyebilir (131). Bizim bulgularımızda LMAN2/VIP36 geni mRNA düzeyinde anlamlı bulunmuştur. LMAN2 geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 2 kat anlamlı olarak arttığı ($p=0,005$), MGUS ile MM grubu arasında 2 kat anlamlı ($p=0,001$) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında ($p=0,819$) ise anlamlı bir değişim yoktur. Her

üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında LMAN2 geninin ekspresyonunun MM-MGUS-K arasında ($p=0,001$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur. Erken salgı yolunda LMAN2 geninin kontrollere göre artması myelomada enfeksiyon riski açısından pozitif bir ilişkiye sahip olabileceğini düşünmekteyiz. Bu da hastaların sağ kalımlarını etkileyebilecek önemli bir belirteç olabilir.

Kwon Sh ve ark. hücre içindeki GPRC5B proteinlerinin daha sonra ekzomal salınımından önce Golgi kompleksinde biriktiğini ve L-tipi lektin LMAN2'nin GPRC5B ve fiziksel birleşmesine müdahale ederek özellikle trans Golgi ağından (TGN) GPRC5B'nin eksozom salınımını engellediğini tespit etmişler. LMAN2'nin yıkılması, eksozomlarda önemli bir GPRC5B-HA artışı ile sonuçlanmıştır. LMAN2'nin, L tipi bir lektin olarak hareket ederek vezikül taşınımında kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. LMAN2'nin, eksozom kargo proteinleri içeren veziküllerin trafiğini kontrol ederek GPRC5B'nin eksozom salınımını önleyebileceğini göstermektedir. LMAN2, eksozom kargo yüklemesinin negatif regülatörü olduğu ilk olarak rapor edilmiştir (132). MM gibi paraprotein bulguları olan bir hastalıkta bu proteinlerin homeostazı ile ilişki olarak hastalarda LMAN2'nin anlamlı artışı açıklayabiliriz.

ISG20 hücre içi olarak eksprese edilir ve periferik kan lökositleri, vasküler endotel hücreleri, lenf düğümleri, dalak, timus, ince bağırsak ve akciğerler gibi çok çeşitli hücre tipleri ve organları tarafından salgılanır. Önceki çalışmalar, ISG20'nin virüs enfeksiyonuna hücresel cevaba katıldığını ve antiviral aktivitesinin NF- κ B ve IRF1 aktivasyonu ile indüklendiğini gösterilmiştir. ISG20'nin birçok infekte edebilen patojene özellikle de hepatit virüslerine cevap veren önemli bir immün efektör moleküldür. Yapılan çalışmada sağlıklı kontroller ile hepatit B virüsü taşıyan hastalarla ISG20 seviyeleri karşılaştırıldığında hastalarda daha yüksek seviyededir. ISG20 ekspresyonu ise sadece interferonlar tarafından değil, aynı zamanda çift sarmallı RNA tarafından da indüklendiği önceki bulgularla uyumlu bulunmuştur. ISG20 serumda esas olarak bağışıklık sisteminin farklı hücreleri tarafından üretilir. ISG20'nin tümör genizdeki biyolojik fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır. Servikal ve meme kanseri hücre hatlarında bir ISG20 indüksiyonu olup, servikal tümörlerde normal servikal dokuları kıyaslandığında ISG20'nin yukarı regüle olduğu bulunmuştur. ISG20 glioblastoma ve hepatosellüler karsinoma gibi virüslere bağlı kanserler de dahil olmak üzere biyopsi örneklerinde gösterilmiştir (133).

HEPG2-Tr hücrelerinde tiroid hormonu tarafından ISG20'nin yukarı regüle edildiğini ortaya çıkarmıştır. Çalışmanın fonksiyonel analizlerinde ISG20'nin ekspresyona zorlanması hem *in vivo* hem *in vitro* metastaz ve anjiogenezde önemli ölçüde yükselmesine yol açtığı, hepatosellüler karsinoma örneklerinde ise ISG20'nin aşırı ekspresyonunun vasküler invazyona, alfa fetoprotein ve tümör boyutu gibi klinik parametrelerle pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmada hepatosellüler karsinomanın bir alt kümesinde ISG20'nin tiroid hormona bağımlı daha yüksek ekspresyon göstermesinin yanında onkogenik rolünde desteklediği bildirilmiştir (134).

Zheng ve ark Osteoartrit sinoviyal fibroblastlarda estradiol ve proenflamatuar sitokinlerle stimülasyonun ardından ISG20 ekspresyonunun hem mRNA düzeyinde hemde protein seviyesinde önemli ölçüde arttırdığını bulmuşlardır. ISG20'nin siRNA ile susturulması, IL-1 alfa, IL-6 ve IL-10 ekspresyonunu inhibe etmiştir. Böylece, ISG20'nin ekspresyonu estradiol ve proenflamatuar faktörler tarafından düzenlenirken, ISG20 de diğer enflamatuar faktörlerin ekspresyonunu düzenlediği görülmüştür (135).

Bu bilgi doğrultusunda MM patogenezinde ISG20'nin artışının çeşitli interlökinlerin artışına sebep olarak myeloma hücresinin hayatta kalma ve proliferasyonun artmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

ISG20 ekspresyonunun gliomada klinik önemini belirlemek için yapılan çalışmada Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırmasına ve moleküler alt tiplerine göre analizleri gerçekleştirilmiştir. Bulgular gliomada tümör derecesi arttıkça ISG20 ekspresyon seviyesinin arttığını yönündedir. Ayrıca ISG20 ekspresyonu, 1p / 19q-birlikte-delesyonu olmayanlara kıyasla 1p / 19q-birlikte-delesyonu olan gliomalarda yukarı regüle edilmiştir. Genel olarak, bu sonuçlar ISG20 ekspresyonunun IDH mutant tümörlerinde baskılandığını ve daha yüksek tümör malignitesi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. ISG20 destekli glioma progresyonunun mekanizması anlamak için tüm transkriptom analizleri biyoenformatik araçlar ile analiz edilmiş sonuçta 21.468 gen arasından CGGA'daki 570 gen, TCGA'daki 1925 gen ISG20 ekspresyonu ile anlamlı korelasyon göstermiştir. Yolak analizlerinde ise bu genlerin immün cevap, doğuştan immün cevap, T hücre aktivasyonu, inflamatuvar yanıt, antijen sunumu ve işleme, Tip I ve tip II IFN sinyal yoluyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca protein işleme ve modifikasyonu, proteazom sentezi ve galaktoz metabolizmasının düzenlenmesi gibi temel metabolik yollarda rol oynamaktadır. ISG20 ekspresyonunun pek çok sitokinle

ilişkisinin bulunduğu immun hücrelerinden tümör infiltrasyonuna sebep olduğu da çalışmada belirtilmiştir. İlave olarak ISG20 düzeylerinin PD1/PDL1 ve CTLA4 ekspresyonu ile pozitif bir korelasyonu tespit edilmiştir, bu da T hücre fonksiyonunun daha da inhibe eder ve tümörün immun yanıtlardan kaçmasına yol açar (136).

ISG20 geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 3,2 kat anlamlı olarak artışı ($p=0,005$), MGUS ile MM grubu arasında 2 kat anlamlı ($p=0,001$) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında 2 kat artış olmasına ($p=0,095$) rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir değişim yoktur. Her üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında ISG20 geninin ekspresyonunun MM-MGUS-K arasında ($p=0,001$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda literatürü destekleyici yönde diğer tümörlerde olduğu gibi ekspresyon paterninin yukarı regüle olduğu belirlenmiştir. ISG20 de diğer enflamatuar faktörlerin ekspresyonunu düzenlediği özellikle IL-6 üzerinde etkisinin olması MM pathogezinde anahtar rol oynayarak aday gen olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca ISG20'nin literatürdeki glioma çalışmasında olduğu gibi bizimde çalışmamızda MGUS-MM arasında ($p=0,001$) oldukça anlamlı bir ekspresyon artışının olması premalign olarak bilinen MGUS'tan MM'e dönüşümde bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Ribozom bağlayıcı protein 1 (RRBP1) esas olarak ER membranında lokalize olan yeni sentezlenen proteinlerin memeli hücrelerinde ise taşınması ve salgılanması için kritiktir. Son zamanlarda RRBP1'in, BIP gibi UPR sinyalleme moleküllerinin regülasyonu ve aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF6) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Akciğer kanserinde RRBP1 ve BIP arasında güçlü bir korelasyon gözlenmiştir. RRBP1'in, kinesin ailesi üyesi 5B (KIF5B) ile etkileşim yoluyla kanser hücrelerinde perinükleer otofagozomların birikmesine dahil olabileceği de önerilmektedir. Yukarıdaki kanıta göre RRBP1, ER stresi, UPR ve otofajinin sinyal ağında anahtar bir molekül olabilir. Yapılan çalışmada kolorektal kanserde RRBP1 ekspresyonunun prognostik biyobelirteç rolü ile birlikte *in vivo-in vitro* çalışmalar ile de RRBP1'in KK üzerindeki agresifliğini değerlendirmişlerdir. Yüz seksen bir KK hastası ve 123 bitişik dokudan alınan normal dokuların mRNA ekspresyonları RRBP1 geni için KK grubunda anlamlı olarak yukarı regüle bulunmuştur ($p<0,05$).

Kromozom anomalilerinin RRBP1'in mRNA değişiklikleri arasında bir korelasyon olup olmadığını iki veri kümesi (GSE40967 ve TCGA'dan bir veri kümesi) kullanılarak analiz edildiğinde kromozom kazançlarının sıklığı kayıplardan daha yüksek bulunmuştur (Ptrend <0.001). GSE40967 veri setinde sadece 160 hastada RRBP1 mRNA ekspresyonu ve karşılık gelen kromozomal aberasyon verileride mevcuttur. Kromozomal kazanımları olan hastalarda RRBP1 mRNA düzeyi en yüksek, ardından normal kromozomal ve kromozom kaybı olanlarda en düşük RRBP1 mRNA düzeyleri ile tespit edilerek kromozomal aberasyonları arasında RRBP1 mRNA doz yanıtı gösterilmiştir. TCGA'dan bir veri kümesi RRBP1 mRNA seviyeleri ile kromozomal aberasyonları (Ptrend <0.001) arasında bir doz yanıtı bu datada gösterilmiştir. Somatik mutasyonları veya kromozom anormallikleri olan genlerin, özellikle dozaj etkisi olan genler için kanser gelişimini ve ilerlemesini sağlama olasılığının daha yüksek olduğu ileri sürülmektedir .Bu verilerle entegre edilerek RRBP1'in kromozomal bölgelerinin KK'da kaybedilenden daha sık kazanıldığını ve RRBP1 kromozomal kazanımlarının RRBP1'in mRNA seviyeleri ile pozitif ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu bulgular RRBP1'in KK'nin başlatılmasında ve/veya ilerlemesinde bir *driver* olarak görevli olabileceğini düşündürmektedir. *İn vivo* ve *in vitro* sonuçlar RRBP1 knockdown yada overeksprese edilen KK hücrelerinde proliferasyon ve progresyona katkı sağladığı düşünülmektedir.Özellikle KK kohortundan elde edilen sonuçlarla birlikte,RRBP1'in bir onkogen işlevi görebileceği belirtilmiştir (137). Bizim çalışmamızda da MM ve MGUS grubundaki hastalarda monozomi 7 ile RRBP1 arasında korelasyon bulunmuştur. (p=0,035).

Birçok çalışma RRBP1'in kanser gelişimini teşvik ettiği mekanizmayı açıklamaya çalışmaktadır. Lee ve ark. RRBP1-ALK'da tekrarlayan karsinogenez mekanizmasının ilk kanıtlayan ekiptir.Bazı raporlarda, tümör hücrelerinde RRBP1 protein ekspresyonundaki artış, gen amplifikasyonu ve/veya yüksek transkripsiyon nedeniyle artmıştır. Mevcut araştırma raporu ayrıca RRBP1'in kanser gelişimini desteklediğininve katkıda bulunduğunu kanıtlamaktadır, ancak spesifik etki mekanizması henüz açıklığa kavuşturulmamıştır.Epitelial over kanseri hastalarda aşırı RRBP1 ekspresyonu olanların hastalığın FIGO evresi, histolojik derece, histolojik tip ve lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, verilerde RRBP1 aşırı ekspresyonu olan epitelial over kanseri hastalarının OS (genel sağkalım) ve (hastalısız sağkalım) DFS'yi önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir.Bu bulgulardan RRBP1'in

epitelyal yumurtalık kanserinin ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını ve epitelyal yumurtalık kanserinin prognozu üzerinde derin bir etkisi olduğunu sonucu çıkartılmıştır (138).

Tsai ve ark. RRBp1'in kanserojen mekanizmasının UPR yolu ile ilişkili olduğunu ve RRBp1'in ER stresini hafifletebileceğini ve tümör oluşumunda hayatta kalmasına yardımcı olabileceğini ifade etmektedir. Tümör oluşumu sırasında, adaptif stres tepkileri UPR'lere neden olur ve sağkalım kaskad mekanizmalarının aktivasyonunu başlatır. Akciğer kanseri hastaları dokusu (n=87) ve bitişik sağlıklı dokudan RRBp1 mRNA düzeyleri karşılaştırıldığında hastalarda ekspresyonunun arttığını tespit etmiştir. GSE10072 veritabanı kullanılarak tümör biyopsilerinde RRBp1 ve BİP ekspresyonu arasında güçlü bir korelasyon bulmuştur. Sonuçlarda ayrıca RRBp1'in ATF6 ve BİP dahil UPR bileşenlerinin mRNA stabilitesinin düzenlenmesinde rol oynayabileceğini göstermiştir. RRBp1, tümör hücresi hayatta kalması için kritiktir, bu da akciğer kanseri tedavisinde RRBp1 geninin önemli bir hedef ve yeni terapötiklerin geliştirilmesi için bir aday olabileceği bildirilmiştir (139).

Her-2 pozitif meme kanserinde RRBp1 ekspresyonu ile histolojik derece, Her -2, P53 ve meme kanserinde moleküler alt tipler arasında anlamlı ve daha kısa sağkalım ile ilişkili olduğu böylece bu genin prognozun öngörülmesi için potansiyel olarak önemli bir hedef olduğunu göstermektedir (140). Yine RRBp1'in prostat kanseri hastalarında da yüksek oranda eksprese edildiği prognoz ile ilişkili olduğu ve potansiyel bir biyobelirteç olarak işlev görebileceği bildirilmiştir (141).

Son zamanlarda, KK, meme kanseri ve özafagus, akciğer kanserinde, RRBp1'in yukarı regülasyonu sıklıkla gözlemlendiği bildirilmektedir. MM de ise Multipl Miyelom Araştırma Vakfı CoMMpass Çalışması (NCT01454297), 1143 yeni tanılı MM hastaları ve 8 yıl boyunca her 3 ayda bir gözlemsel olarak yapılan klinik bir çalışmanın sonucunda hastalığın başlangıcında RRBp1'in nadiren mutasyona uğramasına rağmen, nüksetme sırasında sık sık mutasyona uğradığı bildirilmiştir. Bu gen MM'de hastalığın ilerlemesi veya tedavi direncini temsil edebilir (142). Bizim bulgularımızda RRBp1 geni mRNA düzeyinde ekspresyonu anlamlı bulunmuştur. RRBp1 geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 3,5 kat anlamlı olarak artmış (p=0,006), MGUS ile MM grubu arasında 2,7 kat anlamlı (p=0,019) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında (p=0,416) ise anlamlı bir değişim yoktur. Her üç grup

birbiri ile karşılaştırıldığında RRBp1 geninin ekspresyonunun MM-MGUS-K arasında ($p=0,007$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur. Çeşitli kanserlerde RRBp1 ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalarda RRBp1'in aşırı ekspresyonunun tümör gelişiminde önemli bir prognostik belirteç olabileceği hipotezini desteklemesi ile birlikte şimdiye kadar RRBp1'in myeloma patogenezindeki rolü anlaşılamamıştır. Bu çalışmada RRBp1 ekspresyonunun MM de hasta ve kontrol ayrıca MGUS ve MM grupları arasında mRNA seviyelerinde yukarı regüle olduğunu tespit ettik. Ek olarak, RRBp1'in yeni bir prognostik belirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağını doğrulamak için ileri çalışmalara ihtiyaç duymaktayız.

TRIB1 geni, çoklu maligniteler, plazma trigliseritler ve koroner arter hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. Bu psödo-kinazın klinik önemine rağmen, TRIB1'in düzenlenmesi hakkında çok az bilgi vardır. Önceki çalışmalar TRIB1 mRNA'sının kararsız olduğunu bildirmiştir, bu da TRIB1'in transkripsiyon sonrası düzenlemeye tabi olabileceğini ima etmektedir. TRIB ailesinin çeşitli kanser türlerinde rol oynadıkları görülmüştür. İlk çalışmalar, bu ailenin myeloid lösemi ile ilişkili olduğunu ve TRIB1'in bir fonksiyon kazanımının lösemik dönüşümü teşvik ettiğini göstermiştir. TRIB1 ayrıca pankreas kanserinde yukarı regüle edilmesi proliferasyon ve hayatta kalmayı desteklemektedir. Kanserlere katkısına ek olarak, genom çapında assosiasyon çalışmaları (GWAS), TRIB1 lokusunun lipit özellikleri, kardiyovasküler hastalık ve karaciğerde yağ birikimi ile karaciğerde yağ birikimi ile fonksiyonel bir ilişkisini ortaya çıkarmıştır. Memeli tribbl ailesi hem fizyolojik hem de patolojik süreçler için önemli olup özellikle TRIB1'i düzenleyen mekanizmaların netleştirilmesi ve aydınlatılması için gereklidir (143).

İnsanlarda, TRIB gen ailesi birçok farklı kanserde, özellikle melanom, akciğer, karaciğer ve akut lösemilerde rol oynamaktadır. Bu çalışmaların hepsi, TRIB transkripsiyonunun, translasyonunun veya protein döngüsünün hastalık *driver* olarak anormal düzenlenmesine işaret eder. TRIB2 lenfoid hücre kompartımanında en yüksek, miyeloid hücre kompartımanında en yüksek TRIB1 ve incelenen tüm hücre tiplerinde TRIB3 ekspresyonu sabit bulunmuştur. İlginç bir şekilde insan TRIB1 geni, MYC onkogeniyle aynı kromozomal lokusta (8q24.13) bulunur ve bu nedenle, MYC (ve potansiyel olarak TRIB1) kanser duyarlılık genleri, 8q24 amplikonun, birden çok kanser türünde en yaygın şekilde çoğalabilen bölgedir. TRIB1 ekspresyonunun prostat kanseri

hücrelerinin hayatta kalması için gerekli olduğu gösterilmiştir ve agresif bir hastalık fenotipi ile kötü prognozla bağlantılıdır. TRIB1 ayrıca glioma, meme, yumurtalık ve foliküler tiroid kanseri etiyolojisinde rol oynar. TRIB psödokinazları ve protein-protein etkileşimleri, hem metabolik hem de proliferatif hastalıklarda terapötik müdahale için yeni ve potansiyel olarak önemli farmakolojik fırsatlar sunmaktadır (144).

Çeşitli malignitelerle ilişkili bir *scaffold* proteini olan psödokinaz Tribbles 1'in (TRIB1) hepatosellüler karsinoma da mekanizması araştırıldığında TRIB1, HCC dokularında ve hücre hatlarında düşük p53 seviyeleri ile korelasyon içinde yukarı regüle edildiği bulunmuştur. TRIB1 kazanımı ve fonksiyon deneylerinin kaybı, TRIB1'in p53'ün aşağı regülasyonu ile birlikte HCC hücre canlılığını desteklediğini ve indüklenmiş HCC hücre göçü, istilası ve epitelyal-mezenkimal geçişi teşvik ettiğini göstermiştir. TRIB1'in ektopik ekspresyonu p-katenin ve bunun efektörleri c-myc ve MMP7'yi p53'e bağlı bir şekilde yukarı regüle etmiştir. TRIB1 susturulması, tümör büyümesini inhibe ederek p53 ve p-katenin sinyalleşmesinin modülasyonunu içerecek bir mekanizma yoluyla in vivo apoptozu teşvik ettiği gösterilmiştir (145).

3D sferoid hücre kültürü modelinde TRIB1'inin prostat kanseri hücrelerindeki rolü araştırılarak TRIB1'in RNA aracılı susturulması, 3D koşullar altında seçici olarak prostat kanseri hücresi büyümesini baskılamıştır. Mikroarray sonucunda TRIB1'in prostat kanserinde endoplazmik retikulum (ER) yolaklarıyla ilişkili olduğunu ve prostat tümör oluşumu için kritik olan ER şaperon BİP'in ekspresyonu için gerekli olduğunu ortaya konulmuştur. İnsan prostat kanserinin bir ksenograft modelinde, TRIB1'in eksikliğinde tümör oluşumunu inhibe olduğu bildirilmiştir. Bu gözlemleri destekleyerek, prostat kanserinin klinik örneklerinde TRIB1'in aşırı ekspresyona sahiptir. TRIB1-ER şaperon ekseninin prostat tümör oluşumunu ve tümörde yayılan hücrelerin hayatta kalmasını sağladığını göstermiştir. TRIB1, MEK-ERK yolu ve C / EBP regülasyonu yoluyla lökomogeneze aracılık eder. Buna karşılık, TRIB1'in eksikliği prostat kanseri hücrelerindeki ERK fosforilasyonunu veya C / EBP protein seviyelerini etkilememiştir. Bu bilgiler TRIB1'e bağlı malign transformasyon mekanizmasının lösemi ve prostat kanserinde farklı olabileceğini düşündürmektedir (146).

Kolorektal kanser çalışmasında hasta dokuları ve bitişik sağlıklı doku örnekleri karşılaştırıldığında TRIB1 proteini ekspresyonu daha yüksek saptanmıştır. TRIB1 aşırı ekspresyonu, hastalarda PrognoScan veritabanında analiz edilerek kötü prognoz ile

korele bulunmuştur. Ek olarak, TRIB1'in yüksek ekspresyonu, kolorektal kanser hücre motilitesini ve *adezyon* yeteneğini artırırken, TRIB1'in susturulması bu etkileri azaltmıştır. İleri çalışmalarda TRIB1 aracılı migrasyon ve kolorektal kanser hücrelerinin istilası, FAK / Src ve ERK yolunun aktivasyonu yoluyla MMP2'nin yukarı regülasyonu gerektiğini ortaya koymuştur. Tüm sonuçlar, TRIB1'in FAK / Src ve ERK yolları yoluyla MMP-2'yi aktive ederek kolorektal kanserde hücre hareketliliğini arttırdığını göstermektedir. TRIB1 kolorektal kanser için potansiyel bir diagnostik ve terapötik hedef olabileceği belirtilmiştir (147).

Makrofajlar M1 ve M2 olmak üzere iki alt gruptan oluşur. M1 makrofajları bakteriyel ve viral enfeksiyonlara karşı pro-enflamatuar, M2 makrofajları anti-enflamatuar ve tümör ilerlemesi ile ilişkili hücrelerdir. Trib1, Trib2 ve Trib3, monosit / makrofaj proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozda önemli rolleri olan psödokinaz proteinlerini kodlar. Trib1, kemik iliğinde M2 makrofaj farklılaşmasını indükleyen kritik bir faktördür. Kemik iliği mononükleer hücrelerinde MM hastalarının ilerleyen progresyonlu ve remisyonda olan gruplarında Trib1, Trib2 ve Trib3 genlerinin RT-PZR sonuçları, ilerleyici hastalığı olan hastalarda Trib1 ekspresyon düzeylerinin remisyondakilere göre çok daha yüksek eksprese olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık, Trib2 ve Trib3 ifadesi MM hastasının klinik durumu ile ilişkili değildir. MM tümör hücrelerinin monosit / makrofaj farklılaşmasını ve Trib gen ekspresyonunu etkileyip etkilemediğini belirlemek için taze MM tümör hücrelerini saflaştırılmış sağlıklı insan monositleriyle birlikte ko-kültür yapılmış ve Trib1, Trib2 ve Trib3 genlerinin ekspresyonu analiz edilmiştir. Trib 1'in ifadesi 7 günlük ko-kültür sırasında artmış, Trib2 ve Trib3'ün ifadesi değişmemiştir. MM hücrelerinin, monositlerde M2 farklılaşmasını uyaran Trib1 gen ekspresyonunu arttırmak için monositleri indüklediğini gösterilerek M2 hücreleri, sırayla, Trib1 ekspresyonu, monosit farklılaşması ve tümör hücresi büyümesi üzerinde pozitif bir geri besleme döngüsü sağlayarak tümör ilerlemesini indüklediği bildirilmiştir. Sonuç olarak Trib1'in MM tedavisi için yeni bir potansiyel terapötik hedef olarak düşünülebileceğini önermiştir (148). Bizim bulgularımızda TRIB1 geni mRNA düzeyinde ekspresyonu anlamlı bulunmuştur. TRIB1 geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 3,1 kat anlamlı olarak artmış ($p=0,004$), MGUS ile MM grubu arasında 2,1 kat anlamlı ($p=0,021$) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında ($p=0,304$) ise anlamlı bir değişim yoktur. Her üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında TRIB1 geninin ekspresyonunun MM-MGUS-K arasında

($p=0,005$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur. Literatürdeki veriler doğrultusunda TRIB1'nin MM patogenezinde ER stres yolunun düzenlenmesinde rolü olabileceğini düşünmekteyiz.

EEF2, uzun peptit-tRNA'nın ribozomun A'dan P'ye translokasyonunu katalize eden ve protein sentezinin uzama aşamasında önemli bir rol oynayan bir gendir. EEF2'nin bağırsak, akciğer, pankreas ve meme kanserleri, glioblastoma multiforme ve Hodkin dışı lenfoma gibi çeşitli solid tümör tiplerinde aşırı eksprese edildiğini gösterilmiştir. EEF2'nin EEF2'ye özgü shRNA tarafından *knockdown* edilmesi, bu tümör hücrelerinin büyümesini inhibe etmiştir. EEF2'nin hücre döngüsünde G2 / M'nin ilerlemesini desteklediğini ve *in vitro* ve *in vivo* tümör hücresi büyümesini arttırdığını gösterilmiştir. EEF2 ifade eden tümör taşıyan hastalarda EEF2'ye özgü IgG otoantikorunun saptanabildiğini bildirmiştir. Bu tür hastalarda EEF2'ye özgü CD4+ yardımcı T hücrelerinin kendiliğinden ortaya çıktığı ileri sürülmektedir. Bu nedenle, klinik ortamlarda EEF2 peptit aşısı, EEF2'ye özgü CD8+ CTL'leri indükleyecek ve CTL'ler, spontan olarak indüklenen CD4+ yardımcı T hücreleri ile işbirliği içinde EEF2 ifade eden tümör hücrelerini ortadan kaldıracaktır. EEF2 hedefli immünoterapi kanser için umut verici bir tedavi stratejisi olabileceği literatürde bildirilmiştir (149,150). Halka açık veri tabanları (Oncomine ve TCGA) kullanarak yedi elongasyon faktörünün ekspresyon seviyelerinin kapsamlı analizi için bir pan-kanser yaklaşımı gerçekleştiren Hassan ve ark, ayrıca *Kaplan-Meier Plotter* (KM Plotter) ve *SurvExpress* veritabanlarında bulunan sağkalım verilerini kullanarak farklı kanser tiplerinde bu faktörlerin prognostik önemini belirlemişlerdir. EEF2, 10 veri kümesinde daha yüksek seviyelerde ifade edilmiştir. Çoğu faktörün aşırı ifadesi meme (EEF1D, EEF1E1 ve EEF2) ve akciğer kanserinde (EEF1A2, EEF1B2, EEF1G, EEF1E1) kötü prognoz olarak öngörülmektedir. SurvExpress analizi, bu faktörlerin transkript düzeylerinin yüksek riskli hastalarda düşük riskli gruba göre, yalnızca belirli kanser türlerinde olduğundan daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Genel olarak, EEF1A2'ye ek olarak; EEF1G, EEF1D, EEF1E1 ve EEF2, farklı kanser türlerinde önemli ölçüde yukarı regüle edilir ve spesifik kanserlerde daha iyi ve daha kötü sağkalım sonuçlarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (151). EEF2, akciğer adenokarsinomunda komşu tümör olmayan akciğer dokusuna göre yüksek oranda eksprese edildiği bulunmuştur. EEF2'nin aşırı ekspresyonu, akciğer adenokarsinomu'nun hastalık ilerlemesi ile ilişki anlamına gelecektir. *In vitro* çalışmada, EEF2 ekspresyonunun susturulması, mitokondriyal

elongasyon hücresel otofaji ve sisplatin duyarlılığını arttırmıştır. Ayrıca, akciğer adenokarsinomu hücrelerinde EEf2 sumilasyon ilaç direnci ile korele bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda, EEf2'nin akciğer adenokarsinomunda bir anti-apoptotik markör olduğunu ileri sürmüştür (152). 87 Akut Myeloid Lösemi (AML) hastası ve 21 sağlıklı gönülden alınan kemik iliği veya plazma örneklerinden EEf2 ekspresyonuna bakılarak AML hastalarında belirgin şekilde EEf2 aşırı eksprese edildiği bulunmuştur. EEf2'nin aşırı ekspresyonu kötü prognoz ile korelasyon gösterdiği ve hem OS hem de DFSin AML hastaları için bağımsız bir prognostik faktör olarak işlev görebileceği bildirilmiştir (153). Küçük hücreli dışı akciğer kanseri 130 hasta ve 50 sağlıklı bireyde serum EEf2 düzeylerini belirlemek için enzime bağlı bir immün sorbent yöntemi uygulanarak hastalarının serumundaki ortalama EEf2 düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuş ($p < 0.01$) ve III, IV. evrede I.,II.evreye göre EEf2 anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$).Tümör boyutu ≥ 2 cm, < 2 cm'den daha yüksekti ($P < 0.01$). Ayrıca, ameliyattan iki hafta sonra, EEf2 azalması anlamlı bir eğilim olarak görülmüştür ($p < 0.05$). Ökaryotik uzama faktörü 2 (EEf2), akciğer kanseri hastalarının sınıflandırılmasının yanı sıra erken tanı, doğrulama ve prognoz için belirli klinik değerlere sahip olabileceği bildirilmiştir (154).

EEf2 geni bulgularımız mRNA düzeyinde ekspresyonu anlamlı bulunmuştur. EEf2 geninin rölatif ekspresyonu MM grubunun kontrol grubuna göre 2,5 kat anlamlı olarak artmış ($p=0,014$), MGUS ile MM grubu arasında 2,5 kat anlamlı ($p=0,010$) artış olduğu, MGUS ile kontrol grubu arasında ($p=0,617$) ise anlamlı bir değişim yoktur. Her üç grup birbiri ile karşılaştırıldığında EEf2 geninin ekspresyonunun MM-MGUS-K arasında ($p=0,008$) anlamlı bir değişime sahip olduğu bulunmuştur. Multiple Myeloma ve MGUS arasında anlamlı artışın olması MGUS'tan MM'e dönüşümün takibinde erken tanı belirteci olabileceğini ayrıca MM'de de çoğu kanser türünde olduğu gibi aşırı eksprese edildiği görüldüğü için insan kanserlerinde terapötik hedefler ve prognostik biyobelirteçler açısından umut verici olabileceğini düşünmekteyiz.

Ayrıca "R2 Genomics Analysis and Visualization Platform" adlı biyoenformatik program kullanılarak 13 aday genin literatürde yapılmış olan MM, MGUS, sağlıklı plazma hücreleri ve myeloma hücre hatlarındaki mikroarray tabanlı ekspresyon çalışmalarının sonuçlarında görselleştirilerek (Şekil4-36,4-37,4-38,4-39) bulgular kısmında sunulmuştur (99). Bu mikroarray çalışmalarının sonucuna göre aday

genlerimizin çoğunun data setlerinde de myeloma gruplarında eksprese olduğunu görmekteyiz. Sonuç olarak bizi destekleyen çalışmalar olsa da mikroarray ve real time yöntemlerinin analiz ve normalizasyon farklılıklarından dolayı tam bir kıyaslama yapmak mümkün olmamaktadır. Ayrıca data setinde belirlenen çalışma grupları farklılıklarında göz önünde bulundurulduğunda bu analizler bize sadece diğer myeloma çalışmalarını biyoenformatik olarak inceleme fırsatı vererek aday genlerimizin bu çalışmalarda myeloma hücrelerinde eksprese edilip edilmediğini göstermektedir.

Çalışmamız myeloma transkriptom datamızdan belirlediğimiz 13 aday genin qrt-pcr ile MM, MGUS ve kontrol gruplarında gerçekleştirilen validasyonları sonucunda *ERAP1*, MHC sınıf I antijen işlenmesi ve sunumu, *OTUD1* deubikitinleyici enzimlerden ubiquitin bağlantılarını spesifik olarak parçalayan proteaz, *HYOU1* (MGUS ve MM arasında artışı anlamlı bulunsa da kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır) ısı şoku protein 70 ailesi üyesi proteini endoplazmik retikulumda protein katlanma ve sekresyonda görevli olan bu 3 gen hasta ve kontrol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aday genlerimizden 10 tanesi MM-MGUS-Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gördük. *LMAN2*, *TMED9*, *COPE*, *RRBP1*, *DNAJC1*, *KDELRL1* gibi genleri proteinlerinin özellikle endoplazmik retikulum ve golgi de transportta görevli olması MM de hastalığın tanısında önemli olan paraprotein oluşumunun sebebiyle ER-golgi trafiğinde patogeneze görevli olabileceklerini işaret etmektedir. MM’de hücrede bozulan protein homeostazı sebebiyle bu genlerin ER stresle ilişkisinin olduğunu ancak bunun ileride yapacağımız fonksiyonel çalışmalarla açığa kavuşacağını düşünmekteyiz.

Elde ettiğimiz bu bulgular MM genetiğinde MM ile doğrudan ilişkilendirilmemiş olan bu genlerin MGUS ile MM arasında ve kontrol ile MM arasında myeloma patogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunmuştur. Özellikle günümüzde hedefe yönelik yeni tedaviler MM de ihtiyaç duyulması sebebiyle transkriptom datadan valide edilen aday genlerin bireyselleştirilmiş tıp ve tedavi açısından ilerleyen zamanlarda literatüre katkısı oldukça önemli olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Wahed, A. ve Dasgupta, A. *Hematology and Coagulation, A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice*, 2015, içinde Bölüm 8, Application of Flow Cytometry in the Diagnosis of Hematological Disorders sayfa 133-145.
2. Rossi, A., Voigtlaender, M., Janjetovic S., Thiele B., Alawi M., März M., ve ark. Mutational landscape reflects the biological continuum of plasma cell dyscrasias. *Blood Cancer J.* 2017 ;**7(2)**:e537. doi: 10.1038/bcj.2017.19.
3. Ulusal kapsamlı kanser ağı sitesi içinde-multiple myeloma kılavuzu- 2020 (web page on the internet) Erişim (29.12.2019), <https://www.nccn.org>.
4. NIH Surveillance, Epidemiology, and End Results Program /SEER Stat Fact Sheets: Myeloma. (web page on the internet) Erişim (29.12.2019) <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html>.
5. Rajkumar V. S. Multiple myeloma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol.* 2018;**93(8)**:981-1114. doi: 10.1002/ajh.25117.
6. Rajan A. M., Rajkumar S. V. Interpretation of cytogenetic results in multiple myeloma for clinical practice. *Blood Cancer J.* 2015;**5**:e365. doi:10.1038/bcj.2015.92..
7. Kumar S., Fonseca R., Ketterling R. P., Dispenzieri A., Lacy M. Q., Gertz M. A., ve ark. Trisomies in multiple myeloma: impact on survival in patients with high-risk cytogenetics. *Blood.* 2012;**119(9)**:2100-5. doi: 10.1182/blood-2011-11 390658.
8. Maura F., Bolli N., Angelopoulos N., Dawson K. J., Leongamornlert D., Martincorena I., ve ark. Genomic landscape and chronological reconstruction of driver events in multiple myeloma. *Nat Commun.* 2019;**10(1)**:3835. doi: 10.1038/s41467-019-11680-1.
9. Kehler M., Koob S., Strauss A., Wirtz D. C., Schmolders J. Multiple Myeloma - Current Status in Diagnostic Testing and Therapy. *Z Orthop Unfall.* 2017 ;**155(5)**:575-586. doi: 10.1055/s-0043-110224.
10. Sarıman M. Multiple Myeloma Hastalarının Kemik İliği Myeloma Hücrelerinde Gen İfadesinin Transkriptom Yöntemi İle İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi, (2013) İstanbul

11. Shapiro-Shelef M., Calame K. Plasma cell differentiation and multiple myeloma. *Curr Opin Immunol.* 2004;**16(2)**:226-34.
12. Soh K. T., Tario J. D. Jr, Wallace P. K. Diagnosis of Plasma Cell Dyscrasias and Monitoring of Minimal Residual Disease by Multiparametric Flow Cytometry. *Clin Lab Med.* 2017 ;**37(4)**:821-853. doi:10.1016/j.cll.2017.08.001.
13. Tete S. M., Bijl M., Sahota S. S., Bos NA. Immune defects in the risk of infection and response to vaccination in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma. *Front Immunol.* 2014;**5**:257.
14. Siegel R. L., Miller K. D, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019;**69**:7-34.
15. Sargentanis T. N., Zagouri F., Tsilimidos G., Tsagianni A., Tseliou M., Dimopoulos M. A., ve ark Risk Factors for Multiple Myeloma: A Systematic Review of Meta-Analyses. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2015;**(10)**:563-77.e1-3. doi: 10.1016/j.clml.2015.06.003.
16. Wang X., Zhu Y. B., Cui H. P., ve ark. Aberrant promoter methylation of p15 (INK4b) and p16 (INK4a) genes may contribute to the pathogenesis of multiple myeloma: a meta-analysis. *Tumour Biol* 2014; **35**:9035-43.
17. Lauta V. M. A review of the cytokine network in multiple myeloma: diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. *Cancer* 2003; **97**:2440-52.
18. Li B., Wang X. D., Sun X., ve ark. Lack of association between TNF-alpha promoter polymorphisms and multiple myeloma: a meta-analysis. *Leuk Res* 2013; **37**:50-7.
19. Lynch H.T., Sanger W.G., Pirruccello S. ve ark. Familial multiple myeloma: a family study and review of literature. *J Natl Cancer Inst* 2001;**93(19)**:1479-83.
20. Eriksson M., Hallberg B. Familial occurrence of haemorrhagic malignancies and other diseases in multiple myeloma: a case control study. *Cancer Causes Control* 1992;**3(1)**:63-7.
21. Brown L. M., Linet M. S., Greenberg R. S. ve ark. Multiple myeloma and family history of cancer among blacks and whites in the US. *Cancer* 1999;**85(11)**:2385-90.
22. Goedert J. J., Cote T. R., Virgo P. ve ark. Spectrum of AIDS-associated malignant disorders. *Lancet* 1998;**352**:1833- 9.
23. Rajkumar S. V., Dimopoulos M. A., Palumbo A., Blade J., Merlini G., Mateos M. V., ve ark. International Myeloma Working Group updated criteria for the

- diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;**15(12)**:e538-48. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5.
24. Palumbo A., Avet-Loiseau H., Oliva S., et al. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol* 2015;**33**:2863-2869
 25. Dhodapkar M. V., Sexton R., Waheed S., Usmani S., Papanikolaou X., Nair B., et al. Clinical, genomic, and imaging predictors of myeloma progression from asymptomatic monoclonal gammopathies (SWOG S0120). *Blood.* 2014;**123(1)**:78-85. doi: 10.1182/blood-2013-07-515239.
 26. Decaux O., Lodé L., Magrangeas F., Charbonnel C., Gouraud W., Jézéquel P., et al. Intergroupe Francophone du Myélome. Prediction of survival in multiple myeloma based on gene expression profiles reveals cell cycle and chromosomal instability signatures in high-risk patients and hyperdiploid signatures in low-risk patients: a study of the Intergroupe Francophone du Myélome. *J Clin Oncol.* 2008;**26(29)**:4798-805. doi: 10.1200/JCO.2007.13.8545
 27. Kuiper R., Broyl A., de Knecht Y., van Vliet M. H., van Beers E. H., van der Holt B., et al. A gene expression signature for high-risk multiple myeloma. *Leukemia.* 2012;**26(11)**:2406-13. doi: 10.1038/leu.2012.127.
 28. Barwick B. G., Gupta V. A., Vertino P. M., Boise L. H. Cell of Origin and Genetic Alterations in the Pathogenesis of Multiple Myeloma. *Front Immunol.* 2019;**10**:1121. doi: 10.3389/fimmu.2019.01121
 29. De Smedt E., Lui H., Maes K., De Veirman K., Menu E., Vanderkerken K et al. The Epigenome in Multiple Myeloma: Impact on Tumor Cell Plasticity and Drug Response. *Front Oncol.* 2018;**8**:566. doi: 10.3389/fonc.2018.00566.
 30. Boyle E. M., Davies F. E., Leleu X., Morgan G. J. Understanding the multiple biological aspects leading to myeloma. *Haematologica.* 2014;**99(4)**:605-12. doi: 10.3324/haematol.2013.097907.
 31. Engelhardt M., Terpos E., Kleber M., Gay F., Wäsch R., Morgan G., et al. European Myeloma Network. European Myeloma Network recommendations on the evaluation and treatment of newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Haematologica.* 2014;**99(2)**:232-42. doi: 10.3324/haematol.2013.099358.
 32. Kumar S. K., Rajkumar S.V. The multiple myelomas - current concepts in cytogenetic classification and therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018;**15(7)**:409-421.

33. Castaneda O., Baz R. Multiple Myeloma Genomics - A Concise Review. *Acta Med Acad.* 2019;**48(1)**:57-67. doi: 10.5644/ama2006-124.242.
34. Kuehl W. M., Bergsagel P. L. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. *Nat Rev Cancer.* 2002;**2**:175-187.
35. Avet-Loiseau H., Attal M., Moreau P., ve ark. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myelome. *Blood.* 2007;**109**:3489-3495.
36. Corthals S. L., Sun S. M., Kuiper R., ve ark. MicroRNA signatures characterize multiple myeloma patients. *Leukemia.* 2011;**25**:1784-1789
37. Hanamura I., Stewart J. P., Huang Y., ve ark. Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization: incidence increases from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood.* 2006;**108**:1724-1732.
38. Bozkurt S., Okay M., Sağlam F., Haznedaroğlu Cİ. Retrospective evaluation of chromosome 1 anomalies in hematological malignancies: A single center study. *Genetics&Applications.* 2019;**3**:17-24.
39. Webb S. L., Edwards C. M. Novel therapeutic targets in myeloma bone disease. *Br J Pharmacol.* 2014;**171(16)**:3765-76. doi: 10.1111/bph.12742.
40. Terpos E., Ntanasis-Stathopoulos I., Gavriatopoulou M., Dimopoulos M. A. Pathogenesis of bone disease in multiple myeloma: from bench to bedside. *Blood Cancer J.* 2018;**8(1)**:7. doi: 10.1038/s41408-017-0037-4.
41. Bianchi G., Munshi N. C. Pathogenesis beyond the cancer clone(s) in multiple myeloma. *Blood.* 2015;**125(20)**:3049-58. doi: 10.1182/blood-2014-11-568881.
42. Kawano Y., Moschetta M., Manier S., Glavey S., Görgün G. T., Roccaro A. M., ve ark. Targeting the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Immunol Rev.* 2015;**263(1)**:160-72. doi: 10.1111/imr.12233.
43. Toscani D., Bolzoni M., Accardi F., Aversa F., Giuliani N. The osteoblastic niche in the context of multiple myeloma. *Ann N Y Acad Sci.* 2015;**1335**:45-62. doi: 10.1111/nyas.12578.
44. Fairfield H., Falank C., Avery L., Reagan M. R. Multiple myeloma in the marrow: pathogenesis and treatments. *Ann N Y Acad Sci.* 2016;**1364**:32-51. doi: 10.1111/nyas.13038.

45. Raje NS., Bhatta S., Terpos E. Role of the RANK/RANKL Pathway in Multiple Myeloma. *Clin Cancer Res.* 2019 Jan;**25(1)**:12-20
46. Prideaux S. M., Conway O'Brien E., Chevassut T. J. The genetic architecture of multiple myeloma. *Adv Hematol.* 2014;**2014**:864058. doi: 10.1155/2014/864058.
47. Demchenko Y. N., Kuehl W. M. A critical role for the NFkB pathway in multiple myeloma. *Oncotarget.* 2010;**1(1)**:59-68.
48. Phyllis S. Y. Chong, Wee-Joo Chng, and Sanjay de Mel. STAT3: A Promising Therapeutic Target in Multiple Myeloma. *Cancers (Basel).* 2019; **11(5)**: 731.
49. Han K., Xu X., Chen G., Zeng Y., Zhu J., Du X., ve ark. Identification of a promising PI3K inhibitor for the treatment of multiple myeloma through the structural optimization. *J Hematol Oncol.* 2014;**7**:9. doi: 10.1186/1756-8722-7-9.
50. Maes A., Menu E., Veirman K., Maes K., Vand Erkerken K., De Bruyne E. The therapeutic potential of cell cycle targeting in multiple myeloma. *Oncotarget.* 2017;**8(52)**:90501-90520. doi: 10.18632/oncotarget.18765.
51. Bianchi G., Anderson K. C. Contribution of Inhibition of Protein Catabolism in Myeloma. *Cancer J.* 2019 ;**25(1)**:11-18. doi: 10.1097/PPO.0000000000000349.
52. Catley L., Weisberg L., Kiziltepe T., ve ark. Aggresome induction by proteasome inhibitor bortezomib and a tubulin hyperacetylation by tubulin deacetylase (TDAC) inhibitor LBH 589 are synergistic in myeloma cells. *Blood* 2006;**108**:3441-9.
53. Zehessan A. A., Asghar N., Muhammad S. S., Moatter T., Therapeutic Targets and signaling pathways for diagnosis Of myeloma, 2018
54. Gandolfi S., Prada C. P., Richardson P. G. How I treat the young patient with multiple myeloma. *Blood.* 2018;**132(11)**:1114-1124. doi:10.1182/blood-2017-05-693606.
55. Cohen A. D. CAR T-cell therapy against B-cell maturation antigen in multiple myeloma. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2018;**16(12)**:804-806.
56. Franssen L. E., Mutis T., Lokhorst H. M., van de Donk N. W. C. J. Immunotherapy in myeloma: how far have we come? *Ther Adv Hematol.* 2019;**10**:2040620718822660.
57. Moreau P., Sonneveld P., Boccadoro M., Cook G., Mateos M. V., Nahi H., ve ark. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for multiple myeloma: a consensus

- statement from The European Myeloma Network. *Haematologica*. 2019;**104(12)**:2358-2360. doi: 10.3324/haematol.2019.224204.
58. Sarıman M., Ekmekci S. S., Abacı N., Çakiris A., Paçal F. ve ark. Yeni Nesil Dizileme Teknolojisi ile Transkriptom Analizi. *Dergi Pak, Deneysel tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 2015;**(5)**, 10,51-59.
 59. Hoang PH. , Dobbins SE. , Cornish AJ., Chubb D. , Law PJ., Kaiser M., Houlston RS. Whole-genome sequencing of multiple myeloma reveals oncogenic pathways are targeted somatically through multiple mechanisms. *Leukemia*. 2018;**32(11)**:2459-2470.
 60. Szalat R., Loiseau A. H., Munshi C. N. Gene Expression Profile in Clinical Practice, *Clin Cancer Res*. 2016; **22(22)**: 5434–5442. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0867.
 61. 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*. 2019;**36(1)**:23-31. doi: 10.4274/balkanmedj.2018.0356.
 62. The Human Gene Database-GeneCards- internette.Erişim (13.12.2019) <https://www.genecards.org-genomic locations>.
 63. Gomez-Navarro N., Miller E. Protein sorting at the ER-Golgi interface. *J Cell Biol*. 2016;**215(6)**:769-778.
 64. Stamnes M. A., Craighead M. W., Hoe M. H., Lampen N., Geromanos S., Tempst P., ve ark. Integral Membrane Component Of Coatomer-Coated Transport Vesicles Defines a Family Of Proteins Involved In Budding. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;**92**:8011–5.
 65. Goldberg J. Decoding of sorting signals by coatomer through a GTPase switch in the COPI coat complex. *Cell*. *Cell Press*; 2000;**100(6)**:671–9.
 66. Zhang L., Volchuk A. p24 family type 1 transmembrane proteins are required for insulin biosynthesis and secretion in pancreatic beta-cells. *FEBS Lett*. 2010;**584(11)**:2298–304.
 67. Luo R., Ha V. L., Hayashi R., Randazzo P. A. Arf GAP2 is positively regulated by coatomer and cargo. *Cell Signal*. 2009;**21(7)**:1169-79. doi: 10.1016/j.cellsig.2009.03.006.

68. Kathleen A. T. KDEL Receptors Are Differentially Regulated to Maintain the ER Proteome under Calcium Deficiency. *Cell Reports*. 2018; **25**: 1829–1840
69. Yuan-Li T., Dat P. H., He Z., Anthony J. C., Shan W., Tsam K. P., ve ark. Endoplasmic reticulum stress activates SRC, relocating chaperones to the cell surface where GRP78/CD109 blocks TGF- β signaling. *PNAS*, 2018; **115 (18)**: E4245-E4254;
70. Pulvirenti, T. ve ark. A traffic-activated Golgi-based signalling circuit coordinates the secretory pathway. *Nat. Cell Biol.*2008; **10**:912–922
71. Kamimura D., Katsunuma K., Arima Y., Atsumi T., Jiang J. J., Bando H., ve ark. KDEL receptor 1 regulates T-cell homeostasis via PP1 that is a key phosphatase for ISR. *Nat Commun*. 2015;**6**:7474. doi: 10.1038/ncomms8474.
72. Schneider W. M., Chevillotte M. D., Rice C. M. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu Rev Immunol*. 2014; **32**:513-545.
73. Gongora C., David G., Pintard L., Tissot C., Hua T. D., Dejean A., ve ark. Molecular cloning of a new interferon-induced PML nuclear body-associated protein. *J Biol Chem*. 1997; **272**:19457-19463.
74. Horio T., Murai M., Inoue T., Hamasaki T., Tanaka T., Ohgi T. Crystal structure of human ISG20, an interferon-induced antiviral ribonuclease. *FEBS Lett*. 2004; **577**:111-116.
75. Espert L., Rey C., Gonzalez L., Degols G., Chelbi-Alix M. K., Mechti N., ve ark. The exonuclease ISG20 is directly induced by synthetic dsRNA via NF-kappaB and IRF1 activation. *Oncogene*. 2004; **23**:4636-4640.
76. Degols G., Eldin P., Mechti N. ISG20, an actor of the innate immune response. *Biochimie*. 2007; **89**:831-835.
77. Zhou Z., Wang N., Woodson S. E., Dong Q., Wang J., Liang Y., ve ark. Antiviral activities of ISG20 in positive-strand RNA virus infections. *Virology*. 2011; **409**:175-188.
78. Gao M., Lin Y., Liu X., Li Y., Zhang C., Wang Z., ve ark. ISG20 promotes local tumor immunity and contributes to poor survival in human glioma. *Oncoimmunology*. 2018;**8**(2):e1534038. doi: 10.1080/2162402X.2018.1534038.
79. Eukaryotic Elongation Factor 2 Kinase (eEF2K) in Cancer. *Cancers (Basel)*. 2017;**9**(12). pii: E162. doi: 10.3390/cancers9120162.
80. Oji Y., Tatsumi N., Fukuda M., Nakatsuka S., Aoyagi S., Hirata E., ve ark. The translation elongation factor eEF2 is a novel tumor associated antigen overexpressed

in various types of cancers. *Int J Oncol.* 2014;**44**(5):1461-9. doi: 10.3892/ijo.2014.2318

81. López de Castro J. A. How ERAP1 and ERAP2 Shape the Peptidomes of Disease-Associated MHC-I Proteins. *Front Immunol.* 2018;**9**:2463. doi:10.3389/fimmu.2018.02463.
82. Compagnone M., Cifaldi L., Fruci D. Regulation of ERAP1 and ERAP2 genes and their dysfunction in human cancer. *Hum Immunol.* 2019;**80**(5):318-324. doi: 10.1016/j.humimm.2019.02.014.
83. Moya L., Lai J., Hoffman A., Srinivasan S., Panchadsaram J., Chambers S., ve ark. Australian Prostate Cancer BioResource. Association Analysis of a Microsatellite Repeat in the TRIB1 Gene With Prostate Cancer Risk, Aggressiveness and Survival. *Front Genet.* 2018;**9**:428. doi: 10.3389/fgene.2018.00428.
84. Wagner L., Klemann C., Stephan M., von Hörsten S. Unravelling the immunological roles of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) activity and/or structure homologue (DASH) proteins. *Clin Exp Immunol.* 2016;**184**(3):265-83. doi: 10.1111/cei.12757.
85. Mele D. A., Bista P., Baez D. V., Huber B. T. Dipeptidyl peptidase 2 is an essential survival factor in the regulation of cell quiescence. *Cell Cycle.* 2009;**8**(15):2425-34
86. Li T., Wang Q., Hong X., Li H., Yang K., Li J., Lei B. RRBP1 is highly expressed in prostate cancer and correlates with prognosis. *Cancer Manag Res.* 2019;**11**:3021-3027. doi: 10.2147/CMAR.S186632.
87. Liang X., Sun S., Zhang X., Wu H., Tao W., Liu T., ve ark. Expression of ribosome-binding protein 1 correlates with shorter survival in Her-2 positive breast cancer. *Cancer Sci.* 2015;**106**(6):740-6. doi: 10.1111/cas.12666.
88. Pan Y., Cao F., Guo A., Chang W., Chen X., Ma W., ve ark. Endoplasmic reticulum ribosome-binding protein 1, RRBP1, promotes progression of colorectal cancer and predicts an unfavourable prognosis. *Br J Cancer.* 2015;**113**(5):763-72. doi: 10.1038/bjc.2015.260.
89. Rohde H. M., Cheong F. Y., Konrad G., Paiha K., Mayinger P., Boehmelt G. The human phosphatidylinositol phosphatase SAC1 interacts with the coatamer I complex. *J Biol Chem.* 2003;**278**(52):52689-99.

90. D'Arcy P., Wang X., Linder S. Deubiquitinase inhibition as a cancer therapeutic strategy. *Pharmacol Ther.* 2015; **147**:32-54. doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.002.
91. Carneiro A. P., Reis C. F., Morari E. C., Maia Y. C., Nascimento R., Bonatto J. M., ve ark. A putative OTU domain-containing protein 1 deubiquitinating enzyme is differentially expressed in thyroid cancer and identifies less-aggressive tumours. *Br J Cancer.* 2014;**111**(3):551-8. doi: 10.1038/bjc.2014.331.
92. Deng J., Hou G., Fang Z., Liu J., Lv X. D. Distinct expression and prognostic value of OTU domain-containing proteins in non-small-cell lung cancer. *Oncol Lett.* 2019;**18**(5):5417-5427. doi: 10.3892/ol.2019.10883
93. Li X., Zhang N. X., Ye H. Y., Song P. P., Chang W., Chen L., ve ark. HYOU1 promotes cell growth and metastasis via activating PI3K/AKT signaling in epithelial ovarian cancer and predicts poor prognosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;**23**(10):4126-4135. doi: 10.26355/eurrev_201901_17914.
94. Zhou Y., Liao Q., Li X., Wang H., Wei F., Chen J., ve ark. HYOU1, Regulated by LPLUNC1, Is Up-Regulated in Nasopharyngeal Carcinoma and Associated with Poor Prognosis. *J Cancer.* 2016 ;**7**(4):367-76. doi: 10.7150/jca.13695.
95. Fiedler K., Simons K. Characterization of VIP36, an animal lectin homologous to leguminous lectins. *J Cell Sci.* 1996 Jan;**109** (Pt1):271-6. PubMed PMID: 8834812.
96. Nawa D., Shimada O., Kawasaki N., Matsumoto N., Yamamoto K. Stable interaction of the cargo receptor VIP36 with molecular chaperone BiP. *Glycobiology.* 2007;**17**(9):913-21.
97. Sung Y. J., Pérusse L., Sarzynski M. A., Fornage M., Sidney S., Sternfeld B., ve ark. Genome-wide association studies suggest sex-specific loci associated with abdominal and visceral fat. *Int J Obes (Lond).* 2016;**40**(4):662-74. doi: 10.1038/ijo.2015.217.
98. Dudek J., Greiner M., Müller A., Hendershot L. M., Kopsch K., Nastainczyk W., ve ark. ERj1p has a basic role in protein biogenesis at the endoplasmic reticulum. *Nat Struct Mol Biol.* 2005;**12**(11):1008-14.
99. R2:Genomics Analysis and Visualization Platform, İnternette.Erişim (12.10.2019) (<http://r2.amc.nl>)
100. Pavlidis, P. and Noble W. S. Matrix2png: A Utility for Visualizing Matrix Data. *Bioinformatics.* 2003; **19**: 295-296

101. STRING:functional protein association networks.İnternette,Erişim (18.12.2019) (<https://string-db.org>)
102. Dispenzieri A., Lacy Q. M., Greipp R. P. Chapter 99: Multiple Myeloma. İçinde Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, Means RT, Jr, editor. Wintrobe's Clinical Hematology-Volume 2. 12th ed. USA, Philadelphia; Lippincott W & Wilkins; 2009. pp. 2372-2438 .
103. Landgren O., Rajkumar SV. New Developments in Diagnosis, Prognosis, and Assessment of Response in Multiple Myeloma. *Clin Cancer Res.* 2016;**22(22)**:5428-5433. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0866
104. Cavo M., Terpos E., Bargay J., Einsele H., Cavet J., Greil R., de Wit E. Themultiple myeloma treatment landscape: international guideline recommendations andclinical practice in Europe. *Expert Rev Hematol.* 2018;**11(3)**:219-237. doi:10.1080/17474086.2018.1437345.
105. Mele D. A., Bista P., Baez D. V., Huber B. T. Dipeptidyl peptidase 2 is an essential survival factor in the regulation of cell quiescence. *Cell Cycle.* 2009;**8(15)**:2425-34.
106. Busek, P.Sedo A.*Evolution of Molecular Biology of Brain Tumors and Therapeutic Implications.*2013;içinde bölüm8- Dipeptidyl Peptidase-IV and Related Proteases in Brain Tumor.doi.org/10.5772/53888
107. Danilov A. V., Danilova O. V., Brown J. R., Rabinowitz A., Klein A. K., Huber B. T. Dipeptidyl peptidase 2 apoptosis assay determines the B-cell activation stage and predicts prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Exp. Hematol.* 2010;**38**:1167–1177. doi: 10.1016/j.exphem.2010.08.008.
108. Klener, P., et al., Possible Prognostic-Significance of the Assessment of Dipeptidyl- peptidase-Ii in Peripheral-Blood Lymphocytes of Patients with Chronic Lymphocyt- ic-Leukemia. *Neoplasma*, 1987. **34(5)**: 581-586.
109. Ahluwalia P., Mondal A. K., Bloomer C., Fulzele S., Jones K., Ananth S., ve ark. Identification and Clinical Validation of a Novel 4 Gene-Signature with Prognostic Utility in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci.* 2019;**20(15)**. pii: E3818. doi: 10.3390/ijms20153818.
110. Danilova, O. V., ve ark. Neurogenin 3-specific dipeptidyl peptidase-2 deficiency causes impaired glucose tolerance, insulin resistance, and visceral obesity. *Endocrinology*, 2009. **150(12)**: 5240-8

111. Kerrie L. M., Antonella S., Howard H. Y., Aleksandra M. M., Helen T. M., Theresa G., ve ark. Melanoblast transcriptome analysis reveals novel pathways promoting melanoma metastasis. *bioRxiv*,2019. doi: 10.1101/721712
112. Yamamoto K., Hamada H., Shinkai H., Kohno Y., Koseki H., Aoe T. The KDEL receptor modulates the endoplasmic reticulum stress response through mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *J Biol Chem*. 2003;**278**(36):34525-32.
113. Nikesitch N., Lee J. M., Ling S., Roberts T. L. Endoplasmic reticulum stress in the development of multiple myeloma and drug resistance. *Clin Transl Immunology*. 2018;**7**(1):e1007. doi: 10.1002/cti2.1007.Review
114. de La Vega L. A., Stockert R. J. The cytoplasmic coatomer protein COPI. A potential translational regulator. *J. Biol. Chem*. 1999;**274**(44):31135e8.
115. Magouliotis D. E., Tasiopoulou V. S., Dimas K., Sakellaridis N., Svokos K. A., Svokos A. A., ve ark. Transcriptomic analysis of the Aquaporin (AQP) gene family interactome identifies a molecular panel of four prognostic markers in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreatology*. 2019;**19**(3):436-442. doi: 10.1016/j.pan.2019.02.006.
116. Matsumura T., Terada J., Kinoshita T., Sakurai Y., Yahaba M., Ema R., ve ark. Circulating Anti-Coatomer Protein Complex Subunit Epsilon (COPE) Autoantibodies as a Potential Biomarker for Cardiovascular and Cerebrovascular Events in Patients with Obstructive Sleep Apnea. *J Clin Sleep Med*. 2017;**13**(3):393-400. doi: 10.5664/jcsm.6488.
117. Poulain L., Thomas A., Rieusset J., Casteilla L., Levy P. Arnaud C Visceral white fat remodelling contributes to intermittent hypoxia-induced atherogenesis. *Dematteis M Eur Respir J*. 2014; **43**(2):513-22.
118. Baenke F., Peck B., Miess H., Schulze A. Hooked on fat: the role of lipid synthesis in cancer metabolism and tumour development. *Dis Model Mech* 2013;**6**: 1353-1363 .
119. Nomura D. K., Cravatt B. F. Lipid metabolism in cancer. *Biochim Biophys Acta*.2013; **1831**: 1497-1498.
120. Zhang F., Du G.Dysregulated lipid metabolism in cancer. *World J Biol Chem*. 2012; **3**: 167-174.

121. Baumann J., Sevinsky C., Conklin D. S. Lipid biology of breast cancer. *BiochimBiophysActa*.2013; **1831**: 1509-1517.
122. Kawano Y., Moschetta M., Manier S., Glavey S., Görgün G. T., Roccaro A. M., ve ark. Targeting the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Immunol Rev*.2015; **263**:160–72. doi:10.1111/imr.12233
123. Misra U. K., Gonzalez-Gronow M., Gawdi G., Pizzo S. V. The role of MTJ-1 in cell surface translocation of GRP78, a receptor for alpha 2-macroglobulin-dependent signaling. *J Immunol*. 2005;**174**(4):2092-7.
124. Unverricht-Yeboah M., Giesen U., Kriehuber R. Comparative gene expression analysis after exposure to 123I-iododeoxyuridine, γ - and α -radiation-potential biomarkers for the discrimination of radiation qualities. *J Radiat Res*. 2018;**59**(4):411-429. doi: 10.1093/jrr/rry038.
125. Papalas J. A., Vollmer R. T., Gonzalez-Gronow M., Pizzo S. V., Burchette J., Youens K. E., ve ark. Patterns of GRP78 and MTJ1 expression in primary cutaneous malignant melanoma. *Mod Pathol*.2010;**23**(1):134-43. doi: 10.1038/modpathol.2009.152.
126. Zoppino F. C. M., Guerrero-Gimenez M. E., Castro G. N., Ciocca D. R. Comprehensive transcriptomic analysis of heat shock proteins in the molecular subtypes of human breast cancer. *BMC Cancer*. 2018;**18**(1):700. doi: 10.1186/s12885-018-4621-1.
127. Emery, G. , Parton, R.G. , Rojo, M. , Gruenberg, J. The trans-membrane protein p25 forms highly specialized domains that regulate membrane composition and dynamics. *J Cell Sci*. 2003; **116**(23): 4821–32.
128. Mishra S., Bernal C., Silvano M., Anand S., Ruiz I. A. A. The protein secretion modulator TMED9 drives CNIH4/TGF α /GLI signaling opposing TMED3-WNT-TCF to promote colon cancer metastases. *Oncogene*. 2019;**38**(29):5817-5837. doi: 10.1038/s41388-019-0845-z.
129. Dvela-Levitt M., Kost-Alimova M., Emani M., Kohnert E., Thompson R., Sidhom E. H., ve ark. Small Molecule Targets TMED9 and Promotes Lysosomal Degradation to Reverse Proteinopathy. *Cell*. 2019;**178**(3):521-535.e23. doi: 10.1016/j.cell.2019.07.002.
130. Yi-Cieh Y., Tsung-Ching L., Michael H. TMED9 is a poor prognosis marker in hepatocellular carcinoma patients that modulates oncogene trafficking and promote

- tumorigenesis. *The faseb journal*. 2019 abstract no:496.37 internet.erişim 12.12.2019 https://www.fasebj.org/doi/abs/10.1096/fasebj.2019.33.1_supplement.496.37
131. Eleutherakis-Papaiakevou E., Dimopoulos M. A., Kastritis E., Christoulas D., Roussou M., Migkou M., ve ark. Low circulating mannan-binding lectin levels correlate with increased frequency and severity of febrile episodes in myeloma patients who undergo ASCT and do not receive antibiotic prophylaxis. *Bone Marrow Transplant*. 2017;**52(11)**:1537-1542. doi: 10.1038/bmt.2017.172.
 132. Kwon S. H., Oh S., Nacker M., Mostov K. E., Lipschutz J. H. Adaptor Protein CD2AP and L-type Lectin LMAN2 Regulate Exosome Cargo Protein Trafficking through the Golgi Complex. *J Biol Chem*. 2016;**291(49)**:25462-25475.
 133. Van Tong H., Hoan N. X., Binh M. T., Quyen D. T., Meyer C. G., Song L. H., ve ark. Interferon-stimulated gene 20 kDa protein serum levels and clinical outcome of hepatitis B virus-related liver diseases. *Oncotarget*. 2018;**9(45)**:27858-27871. doi: 10.18632/oncotarget.25559.
 134. Lin S. L., Wu S. M., Chung I. H., Lin Y. H., Chen C. Y., Chi H. C., ve ark. Stimulation of Interferon-Stimulated Gene 20 by Thyroid Hormone Enhances Angiogenesis in Liver Cancer. *Neoplasia*. 2018;**20(1)**:57-68. doi:10.1016/j.neo.2017.10.007.
 135. Zheng Z., Wang L., Pan J. Estradiol and proinflammatory cytokines stimulate ISG20 expression in synovial fibroblasts of patients with osteoarthritis. *Intractable Rare Dis Res*. 2017;**6(4)**:269-273. doi: 10.5582/iridr.2017.01062.
 136. Gao M., Lin Y., Liu X., Li Y., Zhang C., Wang Z., ve ark. ISG20 promotes local tumor immunity and contributes to poor survival in human glioma. *Oncoimmunology*. 2018;**8(2)**:e1534038. doi: 10.1080/2162402X.2018.1534038.
 137. Pan Y., Cao F., Guo A., Chang W., Chen X., Ma W., ve ark. J. Endoplasmic reticulum ribosome-binding protein 1, RRBP1, promotes progression of colorectal cancer and predicts an unfavourable prognosis. *Br J Cancer*. 2015;**113(5)**:763-72. doi: 10.1038/bjc.2015.260.
 138. Ma J., Ren S., Ding J., Liu S., Zhu J., Ma R., ve ark. Expression of RRBP1 in epithelial ovarian cancer and its clinical significance. *Biosci Rep*. 2019;**39(7)**. pii: BSR20190656. doi: 10.1042/BSR20190656.
 139. Tsai H. Y., Yang Y. F., Wu A. T., Yang C. J., Liu Y. P., Jan Y. H., ve ark. Endoplasmic reticulum ribosome-binding protein 1 (RRBP1) overexpression is

- frequently found in lung cancer patients and alleviates intracellular stress-induced apoptosis through the enhancement of GRP78. *Oncogene*. 2013;**32(41)**:4921-31. doi: 10.1038/onc.2012.514.
140. Liang X., Sun S., Zhang X., Wu H., Tao W., Liu T., ve ark. Expression of ribosome-binding protein 1 correlates with shorter survival in Her-2 positive breast cancer. *Cancer Sci*. 2015;**106(6)**:740-6. doi: 10.1111/cas.12666.
 141. Li T., Wang Q., Hong X., Li H., Yang K., Li J., ve ark. RRBP1 is highly expressed in prostate cancer and correlates with prognosis. *Cancer Manag Res*. 2019;**11**:3021-3027. doi: 10.2147/CMAR.S186632.
 142. Sheri S., Austin C., Sara N., Jessica A., Daniel P., Christophe L., ve ark. Molecular characterization of baseline and serial multiple myeloma patients from the MMRF CoMMpass study. In: Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2018; *Cancer Res* 2018;**78**. 2018 Apr 14-18; Chicago, IL. Philadelphia (PA): AACR.
 143. Soubeyrand S., Martinuk A., Lau P., McPherson R. TRIB1 Is Regulated Post-Transcriptionally by Proteasomal and Non-Proteasomal Pathways. *PLoS One*. 2016;**11(3)**:e0152346. doi: 10.1371/journal.pone.0152346.
 144. Eyers P. A., Keeshan K., Kannan N. Tribbles in the 21st Century: The Evolving Roles of Tribbles Pseudokinases in Biology and Disease. *Trends Cell Biol*. 2017;**4**:284-298. doi: 10.1016/j.tcb.2016.11.002.
 145. Ye Y., Wang G., Wang G., Zhuang J., He S., Song Y., ve ark. The Oncogenic Role of Tribbles 1 in Hepatocellular Carcinoma Is Mediated by a Feedback Loop Involving microRNA-23a and p53. *Front Physiol*. 2017;**8**:789. doi: 10.3389/fphys.2017.00789.
 146. Mashima T., Soma-Nagae T., Migita T., Kinoshita R., Iwamoto A., Yuasa T., ve ark. TRIB1 supports prostate tumorigenesis and tumor-propagating cell survival by regulation of endoplasmic reticulum chaperone expression. *Cancer Res*. 2014;**74(17)**:4888-97. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3718.
 147. Wang Y., Wu N., Pang B., Tong D., Sun D., Sun H., ve ark. TRIB1 promotes colorectal cancer cell migration and invasion through activation MMP-2 via FAK Src and ERK pathways. *Oncotarget*. 2017;**8(29)**:47931-47942. doi: 10.18632/oncotarget.18201.

148. Chen H., Li M., Vardanyan S., Gottlieb J., Wang C., Delijani K., ve ark. Increased M2 Macrophages and Higher Levels Of The Tribble Family Member Trib1 In Monocytes Are Associated With Progressive Disease In Multiple Myeloma (MM) Patients. *Myeloma:biology and pathophysiology,excluding therapy.Blood*.2013; **(21)**: 122 3127 doi.org/10.1182/blood.V122.21.3127.3127
149. Nakajima H., Murakami Y., Morii E., Akao T., Tatsumi N., Odajima S., ve ark. Induction of eEF2-specific antitumor CTL responses in vivo by vaccination with eEF2-derived 9mer-peptides. *Oncol Rep.* 2016;**35(4)**:1959-66. doi: 10.3892/or.2016.4589.
150. Oji Y., Tatsumi N., Fukuda M., Nakatsuka S., Aoyagi S., Hirata E., ve ark. The translation elongation factor eEF2 is a novel tumor associated antigen overexpressed in various types of cancers. *Int J Oncol.* 2014;**44(5)**:1461-9. doi:10.3892/ijo.2014.2318.
151. Hassan M. K., Kumar D., Naik M., Dixit M. The expression profile and prognostic significance of eukaryotic translation elongation factors in different cancers. *PLoS One.* 2018;**13(1)**:e0191377. doi: 10.1371/journal.pone.0191377.
152. Chen C. Y., Fang H. Y., Chiou S. H., Yi S. E., Huang C. Y., Chiang S. F., ve ark. Sumoylation of eukaryotic elongation factor 2 is vital for protein stability and anti-apoptotic activity in lung adenocarcinoma cells. *Cancer Sci.* 2011;**102(8)**:1582-9. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.01975.x.
153. Xu L., Wang J., Yao Z., Zhang P., Ye J., Tan H. Expression of eEF2 is associated with prognostic outcome in acute myeloid leukemia patients *Int J Clin Exp Med* 2018;**11(9)**:9612-9620
154. Sun H. G., Dong X. J., Lu T., Yang M. F., Wang X. M. Clinical value of eukaryotic elongation factor 2 (eEF2) in non-small cell lung cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;**14(11)**:6533-5. PubMed PMID: 24377563.

FORMLAR

MULTİPLE MYELOMA TÜM GENOM TRANSKRİPTOM DATASININ BİYOENFORMATİK ANALİZİ İLE BELİRLENEN OLASI İLİŞKİLİ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hastanın Adı Soyadı:

Tarih:

Adresi:

Telefon:

Gönderen doktor:

Yaşı ve Cinsiyeti:

Sigara:

Alkol:

Meslek:

Tanı:

Kullandığı ilaçlar :

Laboratuvar bulguları:

Hemogram :

Biyopsi (kemik iliği) :

M protein düzeyi(gr/dl) :

Kemik lezyonu :

var ☐

yok ☐

Bence jones proteini :

var ☐

yok ☐

Bilinen Genetik rahatsızlığı var mı ? Varsa belirtiniz.

NOT : Tedaviye başlanmamış hastalardan 4 ml EDTA'lı kemik iliği , 10 ml EDTA'lı periferik kan ve 5ml vakumlu tüpe periferik kan alınması rica olunur.

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER ARAŞTIRMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: Multiple Myeloma Transkriptom Datasının Biyoenformatik Analizi İle Belirlenen Olası İlişkili Genlerin Araştırılması

Hastalık Adı: Multiple Myeloma

Araştırmanın süresi: 2 yıl

Versiyon no: 1

Tarih: 04.12.2017

Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı: 15

'Multiple Myeloma Transkriptom Datasının Biyoenformatik Analizi İle Belirlenen Olası İlişkili Genlerin Araştırılması' adını verdiğimiz çalışmaya katılma üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla ve nasıl yapılacağını anlamanız ve katılıp katılmama doğrultusundaki kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Araştırma hakkında sözlü olarak size aktaracağım bilgiler yazılı olarak da bir sonraki bölümde sunulacaktır. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz. Bu belgedeki son bölüm onay işlemleri ile ilgilidir. Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz lütfen bu bölümü imzalayınız. Okuma ve yazma konusunda engelleriniz olduğu takdirde bir tanğın gözetiminde bu belgeyi onaylamanız istenecek ve gerektiğinde parmak izinin alınacaktır.

Araştırmanın Konusu:

Multiple Myeloma, kemik iliğinin kanseridir. Nedeni immün (bağışıklık) sistemde 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 immünglobulin (antikor) üretirler. Diğer tür immünglobulinlerde 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 sağlaması bakımından hastalıkla ilişkili yeni genlerin keşfinin bilime önemli katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

Böylesi bir çalışmaya katılma kararı vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz. Aşağıdaki Moleküler Araştırmalar için Bilgilendirilmiş Olur Formunu okuduktan sonra çalışmaya katılma kararı vererseniz formu lütfen imzalayınız.

1.Yapılacak işlemin tanımı ve izlenecek yöntem:

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı'nda ve Haseki Hastanesi Hematoloji Servisinde yeni tanı konmuş ve henüz tedaviye başlanmamış 10 Multiple Myeloma hastasından ve ilik alınan hastalarla akrabalık ilişkisi olmayan 5 sağlıklı kişiden kemik iliği kontrol (donör) grubu olarak örnekler temin edilecektir (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 edilecektir). Araştırmanın amacı size yukarıda belirtilen hematolojik hastalığa yol açan genetik faktörleri tanımlamaktır. Bu çalışma Doç. Dr. Neslihan ABACI tarafından Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde yürütülecektir.

Yapılan genetik çalışmalar, bu hastalığa genetik faktörlerin yol açabileceğini düşündürmektedir. Hastalığa neden olan gen ve genlerin tanımlanabilmesi amacı ile yapılacak analizler için sizden tanı testleriniz yapılırken kemik iliği ve kan örnekleri almamız gerekecektir. Eldaki 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. Sizden alınan kemik iliğinden ve kanlardan elde edilecek biyoloji materyal (DNA/RNA/ Serum) örnekleri yukarıda bahsi geçen başka bir çalışma için kullanılmayacaktır.

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

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 yararının 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.

Uygulanacak işlemin yapısı ve amacı hakkında, olası riskleri ve yararları tarafımdan,

(Doktor Adı)

hastaya,

(Gönüllü Adı)

anlatılmıştır. Sorulan sorular tarafımdan cevaplandırılmış ve cevaplandırılmaya devam edilecektir. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek yeni riskler ve/veya yararlar tarafımdan katılımcıya iletilecektir.

Tarih :

Doktorun imzası:

Araştırma süresince 24 saat ulaşılacak kişiler: Doç.Dr.Neslihan ABACI

Doktora Öğrencisi Melda SARIMAN

Ulaşılacak Tel. No.' ları: Dahili hat: (0212) 414 20 00 - 31316

Doç.Dr.Neslihan ABACI : 05359680862

Doktora Öğrencisi Melda SARIMAN: 05355229781

Ulaşım Adresi: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Aziz Sancar Deneysel Tıp
Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilimdalı LabII

Vakıf Gureba Caddesi Şehremini 34093 - İSTANBUL

Elektronik Posta Adresi: neslihanabaci@gmail.com /melda_sariman@yahoo.com.tr

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 sorununun 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 reddedersem, bu durumun tıbbi bakımuma ve hekim ile olan ilişkiye 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 -----

-

İletişim Bilgileri

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

-

İletişim Bilgileri

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

İletişim Bilgileri

ETİK KURUL KARARI

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

**Sayı : 1557****Tarih : 29.12.2017****Konu: Doç. Dr. Neslihan ABACI hk.**

Sayın Doç. Dr. Neslihan ABACI
Genetik

İlgi : Genetik Anabilim Dalının 01/12/2017 gün ve 45103 sayılı yazı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Melda SARIMAN' ın yürüteceği 2017/1425 dosya numaralı "Multiple Myeloma Tüm Genom Transkriptom Datasının Biyoenformatik Analizi ile Belirlenen Olası İlişkili Genlerin Araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 22/12/2017 tarih ve 21 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yagiz ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

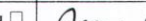
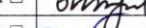
Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Multiple Myeloma Tüm Genom Transkriptom Datasının Biyoenformatik Analizi İle Belirlenen Olası İlişkili Genlerin Araştırılması"
-----------------------	---

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	04.12.2017		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama	
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
KARAR BELGELERİ	Diğer:	☒	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgular Raporu Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD	
	Karar No:21	Tarih: 22/12/2017		
İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalında görevli Doç. Dr. Neslihan ABACI'nın sorumluluğunda ve Melda SARIMAN'ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	İZİNLİ
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	İZİNLİ
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyostatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile ilişki
 ** :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C.Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığının izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.



T.C.
İSTANBUL VALİLİĞİ
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
S.B.Ü. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi
TUEK



PROT NO: 43

15/02/2018

TUTANAK

İl Sağlık Müdürlüğünün 29/01/2018 tarih ve E.85 sayılı yazısına istinaden, İstanbul Üniversitesi doktora öğrencisi Melda SARIMAN'ın "Multiple Myeloma Tüm Genom Transkriptom Datasının Biyoenformatik Analizi İle Belirlenen Olası İlişkili Genlerin Araştırılması" adlı tez çalışmasını Hastanemiz bünyesinde yapabilme isteği ile ilgili yazı görüşülmek üzere Hastanemiz Başhekimini Prof. Dr. Gökhan Tolga ADAŞ Başkanlığında, Prof. Dr. Ayşe Özlem ÇOKAR, Prof. Dr. Hüsamettin YAŞAR, Doç. Dr. Zafer TÜRKÖĞLÜ ve Doç. Dr. Doğan ATLIHAN'dan teşekkül Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulumuz 15/02/2018 günü saat 08:00' da toplandı.

Görüşme sonucu: İl Sağlık Müdürlüğünün 29/01/2018 tarih ve E.85 sayılı yazısına istinaden, İstanbul Üniversitesi doktora öğrencisi Melda SARIMAN'ın "Multiple Myeloma Tüm Genom Transkriptom Datasının Biyoenformatik Analizi İle Belirlenen Olası İlişkili Genlerin Araştırılması" adlı tez çalışmasını Hastanemiz bünyesinde yapabilme isteğinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiş olup, iş bu tutanak tarafımızdan imza altına alınmıştır. 15/02/2018

Başkan
Prof. Dr. Gökhan Tolga ADAŞ
Başhekim
DR38458

Başkan Yardımcısı
Prof. Dr. Ayşe Özlem ÇOKAR
SAUM Eğitim Koordinatörü
DR46817

Üye
Doç. Dr. Zafer TÜRKÖĞLÜ
İlde Hast. Kln. Eğ. ve İdari Sor.
DR106978

Üye
Prof. Dr. Hüsamettin YAŞAR
K.B.B. Hast. Kln. Eğ. Sor.
DR27217

Üye
Doç. Dr. Doğan ATLIHAN
Ortopedi ve Trav. Kln. Eğ. Sor.
DR40897

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

"MULTİPLE MYELOMA" TÜM GENOM TRANSKRİPTOM DATASININ BİYOENFORMATİK ANALİZİ İLE BELİRLENEN OLASI İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 2	% 1	% 1	% 2
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	YETKİN, Özkan, AKSOY, Yüksel, TURHAN, Hasan, İN, Erdal, KARAHAN, Mukadder, KILIÇ,Talat, HACIEVLİYAGİL, Süleyman Savaş and GÜNEN, Hakan. "Akciğer ve kalp hastalıklarında plazma BNP düzeyinin prognostik değeri", Türk Tüberküloz ve Toraks Derneği, 2007. Yayın	<% 1
2	www.thd.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
3	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
4	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<% 1
5	istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	Submitted to Erciyes Üniversitesi	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Melda	Soyadı	Sarıman
Doğ.Yeri	Bursa	Doğ.Tar.	1985
Email	melda.sariman@istinye.edu.tr	Uyruğu	TC

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü	2020
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü	2013
Lisans	Marmara Üniversitesi	2008
Lise	Bandırma Anadolu Lisesi	2003

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Uzman Biyolog	İstinye Üniversitesi –ARGE Kanser Araştırma ve Uygulama Merkezi	2018-
2.	Biyolog	İstanbul Tıp Fakültesi-Çocuk Biyokimya	2010-2012
3.			

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	iyi	iyi	iyi	YÖKDİL	68,75

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	73,47557	71,45470	
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

1-Sarıman M, Abacı N, Sırma Ekmekçi S, Çakiris A, Perçin Paçal F, Üstek D, Ayer M, Yenerel MN, Beşışık S, Çefle K, Palandüz Ş, Öztürk Ş. Investigation of Gene Expressions of Myeloma Cells in the Bone Marrow of Multiple Myeloma Patients by Transcriptome Analysis .Balkan Med J. 2018. doi: 10.4274/balkanmedj.2018.0356.

2-Gül N, Soyluk Ö, **Sarıman M**, Abacı N, Ekmekci SS, Aral F, Tanakol R, Gül A: MEFV gene p.Met694Val variation is not associated with subacute thyroiditis in Turkish patients. Int J Clin Exp Med 2016;9(7):14758-14761.

3-Sarıman M, Ekmekci S.S, Abacı N, Çakiris A, Paçal F, Emrence Z, et al. "Transcriptome Analysis Using Next Generation Sequencing", Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi, cilt 4, ss51-59, 2015

Tebliğleri/ Sertifikaları

1- Sarıman M, Karacam B, Ayer M, Ekmekci SS, Suer İ, Cefke K, Palanduz S, Öztürk S, Abacı N. Investigation Of TMED9-ERAP1 Candidate Gene Expressions Obtained From Multiple Myeloma Transcriptome Data by QRT-PCR. 1st International Multidisciplinary Cancer Research Congress. 18 - 22 September 2019 Diyarbakır/Turkey **(sözlü bildiri)**

2-Sarıman M, Abacı N, Sırma Ekmekçi S, Çakiris A, Perçin Paçal F, Üstek D, Ayer M, Yenerel MN, Beşışık S, Çefle K, Palandüz Ş, Öztürk Ş. 'Multiple Myeloma hastalarının Myeloma hücrelerinde RNA dizileme ve insilico analizler' XV.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi .26-29 Ekim 2017.Ölüdeniz/Fethiye **.(sözlü bildiri)**

3-Emrence Z, Sarıman M, Çınar S, Salman B, Biberoğlu E, Abacı N, Ekmekci SS. 'Akut Miyeloid Lösemide NOL7 anlatımı ve Akut Promiyelositik Lösemi Hücrelerinde NOL7'nin All Trans Retinoik Asit direncinde rolü' XV.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi .26-29 Ekim 2017.Ölüdeniz/Fethiye **.(sözlü bildiri)**

4- Emrence Z, Sarıman M, Çınar S, Salman B, Biberoğlu E, Abacı N, Ekmekci SS. "The role of *NOL7* Gene in All Trans Retinoid Acid Resistance of Acute Myeloid Leukemia Cells'. European Human Genetic Conference 2017 May 27-30, Copenhagen, Denmark. **(poster)**

5-Sarıman M, S. Sırma Ekmekci, N. Abacı, A. Cakiris, F. Pacal Percin, D. Ustek, M. Ayer, M. Yenerel, S. Besisik Kalayoglu, K. Cefle, S. Palanduz, S. Ozturk. "Investigation of gene expression of myeloma cells in bone marrow of multiple myeloma patients by transcriptome analysis" The European Human Genetic Conference 2016 May 21-24 Barcelona, Spain. **(poster)**

6-Sema Sırma Ekmekci , Neslihan Abacı , **Melda Sarıman** , Zeliha Emrence , Burcu Salman , Ferda Paçal, Aris Çakiris , Ahmet Gül. 'SLCO2A1 mutasyonuna bağlı gelişen ve yüksek inflamasyon yanıtı ile juvenil idiyopatik artriti taklit eden pakidermoperiostoz vakaları' XV.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi .26-29 Ekim 2017.Ölüdeniz/Fethiye **.(poster)**

7-Neslihan Abacı , Sema Sırma Ekmekçi , **Melda Sarıman** , Zeliha Emrence , Burcu Salman , Ferda Paçal , Aris Çakiris , Ahmet Gül. ‘Klinik bulguları ağır seyreden ailevi Akdeniz ateşi hastalarında MEFV mutasyonu bulunmayan ailelerde tüm exom dizileme analizi. XV.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi .26-29 Ekim 2017.Ölüdeniz/Fethiye .**(poster)**

8-C.Güven, E. Taşkın Güven, **M Sarıman**, Z. Emrence, S. Sırma Ekmekçi, N. Abacı, H. Akçakaya. ‘*Doksorubisin Tarafından AMPK’ in İnhibisyonuyla Kardiyomiyositlerdeki Ölüm Artışında TLR4’ün Rolü* ‘42.Ulusal Fizyoloji Kongresi 05-08 Eylül 2016 Düzce Üniversitesi

9-**Sarıman M**, Çatal S,Yorgancıoğlu G,Aydın Sayitoğlu M,Özbek U.’Glukokortikoid Reseptör Geni (GCCR) BcII Polimorfizminin Sağlıklı Türk Populasyonunda Görülme Sıklığı ‘.VII.Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, Çanakkale ,Türkiye ,6-9 Mayıs 2008.**(poster)**

10-Yorgancıoğlu G, Çatal S, **Sarıman M** ,Aydın Sayitoğlu M,Özbek U. Sağlıklı Pediatrik Populasyondaki ‘Glukokortikoid Reseptör Geni (GCCR) N363S Polimorfizmi Sıklıkları.’ VII.Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, Çanakkale ,Türkiye ,6-9 Mayıs 2008.**(poster)**

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

