

HEMATOLOJİK MALİGNİTELERDE WWOX'IN
PROGNOSTİK ÖNEMİNİN ARAŞTIRILMASI

Halil HANCI

TÜMÖR BİYOLOJİSİ VE İMMÜNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Bahadır BATAR
Tez No:2019/47 - TEKİRDAĞ

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HEMATOLOJİK MALİGNİTELERDE WWOX'IN
PROGNOSTİK ÖNEMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Halil HANCI

TÜMÖR BİYOLOJİSİ VE İMMÜNOLOJİSİ ANABİLİMDALI

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Bahadır BATAR

**Bu Tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyonu tarafından NKUBAP.02.YL.17.137 proje numarası ile
desteklenmiştir.**

TEKİRDAĞ-2019

KABUL ve ONAY

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Dr. Öğr. Üyesi Bahadır BATAR danışmanlığında yürütülmüş bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

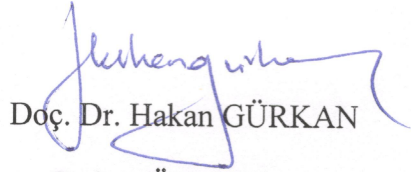
28.03.2019



Dr. Öğr. Üyesi Bahadır BATAR

Namık Kemal Üniversitesi

Jüri Başkanı



Doç. Dr. Hakan GÜRKAN

Trakya Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Mustafa ORAN

Namık Kemal Üniversitesi

Üye

Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Halil HANCI' nın "Hematolojik Malignitelerde Wwox'ın Prognostik Öneminin Araştırılması" başlıklı tezi 28.03.2019 günü saat 13.30'da Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Nilda TURGUT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimi gerçekleştirmemde bilimsel ve klinik olarak bana destek veren, Tümör Biyolojisi ve İmmunolojisi Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam sayın Prof. Dr. Burhan TURGUT'a,

Bilgi ve birikimiyle bana yol gösteren, azimli ve pes etmeyen kişiliği ile her konuda beni yönlendirerek, bana desteğini esirgemeyen, tez çalışmamın gerçekleşmesinde emeklerini asla unutamayacağım, akademik duruşu ve bilim insanı kimliği ile örnek aldığım değerli danışman hocam Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Dr. Öğr. Üyesi Bahadır BATAR'a,

Tez çalışmama ait verilerin analizinde emeği geçen, değerli hocam Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı sayın Dr. Öğr. Üyesi Birol TOPÇU'ya,

Bilimsel ve teknik olarak bana desteklerini esirgemeyen değerli hocam Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı sayın Ahmet ARSLAN'a,

Tezimin gerçekleşmesinde klinik olarak destek veren Hematoloji Bilim Dalı Öğr. Üyesi sayın Dr. Öğr. Üyesi Seval AKPINAR'a ve bölüm çalışanları Bedia Bayraktar, Sevtap Şılga ve Elvan Cambazoğlu'na,

Yüksek lisans eğitimim boyunca emeği geçen Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Bölümü hocalarıma,

Bütün bu yorucu ve güçlüklerle dolu lisansüstü eğitimimde beni daima destekleyen, manevi olarak bana güç veren, beni sabırla bekleyen oğlum ve eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Hancı, H. Hematolojik Malignitelere WWOX'ın prognostik Öneminin Araştırılması, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 2019. WW alanı içeren oksidoredüktaz (WW domain-containing oxidoreductase, WWOX) geni kromozom 16q23.3-q24.1 bölgesinde bulunmaktadır ve yaygın kromozomal frajil bölge, FRA16D, içermektedir. WWOX geni 46 kDa moleküler ağırlığında Wwox tümör baskılayıcı proteini kodlar. Birçok insan kanserlerinde WWOX lokusunda heterozigote kaybı (LOH), WWOX promotor hipermetilasyonu ve sonuç olarak Wwox ifadesi kaybı veya azalması bildirilmiştir. Ayrıca, son çalışmalar çeşitli kanser tiplerinde Wwox eksikliğinin kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermiştir. WWOX ifadesi seviyeleri kronik lenfositik lösemi (KLL) için olası bir biyobelirteç olabilir. KLL'nin klinik özellikleri ve genetik anomalileri iyi tanımlanmıştır, fakat moleküler detaylar halen araştırılmaktadır. Bildiğimiz kadarıyla literatürde KLL'de WWOX'ın tanı ve prognostik önemi ile ilgili kanıtlar bulunmamaktadır. Çalışmamızda, KLL hastalarında ve sağlıklı kontrollerde WWOX ifadesi düzeylerini tanımlamayı ve KLL hastalarında WWOX ifadesini klinik özelliklerine göre analiz etmeyi amaçladık. Bu çalışmayı 40 KLL hastasında ve 26 sağlıklı kontrolde gerçekleştirdik. WWOX ifadesi seviyelerini ters transkriptaz kantitatif PCR (RT-QPCR) tekniğini kullanarak analiz ettik. Sonuçlarımız WWOX ifadesinin KLL hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gösterdi ($P < 0,001$). WWOX düzeyleri ile KLL'deki klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadık ($P > 0,05$). Sonuç olarak, WWOX geninin anormal transkripsiyon varyantları, anormal protein izoformları ile ilişkilendirilebilir ve bu izoformlar, KLL hastalarında WWOX geninin tümör baskılayıcı etkilerini değiştirebilir.

Anahtar kelimeler: Kronik lenfositik lösemi, tümör baskılayıcı, WWOX

ABSTRACT

Hanci, H. Investigating the Prognostic Importance of WWOX in Hematological malignancies, Namık Kemal University, Institute of Health Sciences, Department of Tumor Biology and Immunology Master Thesis, Tekirdag, 2019. The WW domain-containing oxidoreductase (WWOX) gene is located on chromosome 16q23.3-q24.1 and contains the common chromosomal fragile site, FRA16D. The WWOX gene encodes a Wwox tumor suppressor protein with a molecular weight of 46 kDa. Loss of heterozygosity (LOH) at the WWOX locus, promoter hypermethylation of the WWOX promoter, and consequently Wwox expression loss or reduction has been reported in a large fraction of many human cancers. Also, recent studies have shown that Wwox deficiency is associated with poor prognosis in various types of cancer. WWOX expression levels could be a possible biomarker for chronic lymphocytic leukemia (CLL). Clinical features and genetic anomalies of CLL are well defined, but molecular details are still under investigation. As much as we know, there is no evidence for diagnostic and prognostic significance of Wwox in CLL. In our study, we aimed to define the expression levels of WWOX in CLL patients and also to analyze the WWOX expression in CLL patients with regard to their clinical characteristics. We performed this study in 40 CLL patients and 26 healthy controls. We analyzed the WWOX expression levels by using reverse transcriptase-quantitative PCR (RT-QPCR). Our results showed that WWOX expression was significantly higher in CLL patients compared to healthy control group ($P < 0.001$). We did not find any statistically significant difference between WWOX levels and clinical parameters in CLL ($P > 0.05$). In conclusion, abnormal transcription variants of WWOX gene can be associated with abnormal protein isoforms and these isoforms can change the tumor suppressive effects of WWOX gene in CLL patients.

Key words: Chronic lymphocytic leukemia, tumor suppressor, WWOX

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
1.1 Kronik Lenfositik Lösemi	1
1.2 KLL'nin Epidemiyolojisi ve İnsidansı.....	1
1.3 KLL'nin Klinik Özellikleri	1
1.4 KLL Tanısı.....	2
1.5 KLL'nin Evrelendirilmesi ve prognozu	3
1.6 KLL'de Prognostik faktörler.....	4
2.GENEL BİLGİLER	6
2.1 WWOX Geni Ve Gen Ürünü	9
2.2 WWOX, DNA Hasar Cevabı Ve Genomik Kararlılık.....	14
2.3 WWOX'ın Tümör Baskılayıcı Aktivitesi.....	15
2.4 WWOX'ın Kanserde Değişimi.....	15
2.5 Yaygın İnsan Kanselerinde WWOX İfadesi.....	15
2.6 WWOX Anormal Transkriptleri	17
2.7 WWOX, Stres Yanıtlarında Apoptozu Düzenler	17
2.8 WWOX P53 Ailesi Proteinlerinin Fonksiyonel Aktivitelerini Kontrol Eder	19
2.9 WWOX, Protein-Protein Etkileşimleri Yoluyla Birçok Kanser İlişkili Sinyal Yoluna Katılır.....	19
2.10 Kemoterapötik İlaç duyarlılığı, WWOX Aracılı Kanser Hücreleri Ölümüyle ilişkilidir	20
2.11 WWOX ve Hematolojik Maligniteler.....	21

2.12 WWOX Geninin Lösemide Rolü Ve Etki Mekanizmaları	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	24
3.2 Tam Kandan Total RNA İzolasyonu.....	25
3.3 cDNA Sentezi.....	26
3.4 WWOX Ekspresyonu.....	27
3.5 WWOX Ekspresyon Analizi.....	28
3.5 İstatistiksel Analiz.....	29
4.BULGULAR VE SONUÇ	30
4.1 KLL Hastalarına Ait Demografik ve Klinik Veriler	30
4.2 KLL ve Kontrol Gruplarında WWOX mRNA Ekspresyon Düzeyleri	30
4.3 KLL Hastalarına Ait Demografik ve Klinik Özellikler ile WWOX Ekspresyon Düzeyleri Arasındaki İlişki	33
5.TARTIŞMA	35
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. WWOX Geni ve WWOX Proteini.....	7
Şekil 2.2. WWOX Bağlayıcı Proteinler.	11
Şekil 2.3.DDR'de WWOX Etkisinin Hipotetik Modeli.....	14
Şekil 2.4.. WWOX, Tümör Baskılamadaki Rolü.....	16
Şekil 2.5. WWOX Çoklu Sinyal Yolları.....	18
Şekil 2.6. WWOX Sinyal Yolları.....	19
Şekil 2.7. Antikanser ilaca bağlı kanser hücresi apoptozunda WWOX'un potansiyel rolü.	20
Şekil 4.1.Kontrol grubunda WWOX ve G6PD mRNA düzeylerine ait amplifikasyon eğrileri	31
Şekil 4.2. KLL grubunda WWOX ve G6PD mRNA düzeylerine ait amplifikasyon eğrileri	32
Şekil 4.3. KLL ve kontrol gruplarında WWOX mRNA ekspresyon düzeyleri	32
Şekil 4.4. WWOX pozitif ve negatif KLL hastalarındaki klinik özellikler	34
Şekil 4.5. RAİ Sınıflamasına Göre WWOX Negatif Ve WWOX Pozitif KLL Hasta Sayıları	34

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1. Rai evrelemesi	4
Tablo 2.1. Yaygın İnsan Tümörlerinde WWOX Proteininin İfadesi	8
Tablo 2.2. WWOX Protein-Protein Etkileşimi	12
Tablo 3.1. Kullanılan araç ve gereçler	24
Tablo 3.2. cDNA Protokolü	26
Tablo 3.3. Uygulanan cDNA RT QPCR Protokolü	27
Tablo 3.4. Real-Time PCR protokolü	27
Tablo 3.5. RT QPCR reaksiyonu	28
Tablo 4.1. KLL hastalarının demografik ve klinik özellikleri	30
Tablo 4.2. WWOX ekspresyon düzeyi	31
Tablo 4.3. WWOX pozitif ve negatif KLL hastalarında klinik özellikler	33

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACK1: Aktif cdc-42

AP2 γ : Aktif Protein Transkripsiyon Faktör 2

ATM: Mutasyona Uğramış Ataksitelanjektazi

B2M: β 2 Mikroglobin

CpG: Sitozin Fosfat Guanin

DDR: DNA Hasar Cevabı

DVL2: Dağınık Segment Protein 2

ErbB4: Reseptör Tirozin Protein kinaz 4

FHIT: Frajil Histidin Triad Protein

FMC7: B Hücre Antijen Klonu 7

G6PD: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz

GSK-3 β : Glikojen Sentaz Kinaz 3

HB: Hemoglobin

HIF-1 α : Hipoksi-İndüklenebilir Faktör 1

HLA-DR: İnsan Lökosit Antijen DR

IGVH: İmmüoglobulin Değişken Bölge Ağır Zinciri

ITCH: E3 Ubiquitin-Protein Ligaz

JNK1: c-Jun N-terminal kinaz

LDH: Laktat Dehidrogenaz

LOH: Heterozigotluk Kaybı

LPXY: Lösin Prolin Trozin Motifi

LY: Lenfosit

MAPK: Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinaz

NF-K β : Nükleer Faktör Kappa B

NSCLC: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri

PLT: Trombosit

PML: Progresif Multifokal Lökoensefalopati

PPXY: Prolin Prolin Trozin Motif

RIP: Reseptör Etkileşim Serin Treonin Kinaz

RT-QPCR: Ters Transkriptaz- Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RUNX2: Runt İle İlişkili Transkripsiyon Faktörü 2

SDR: Kısa Zincirli Oksidoreduktaz

TNF α : Tümör Nekroz Faktör α

TP53: Tümör Protein 53

TRADD: TNF Reseptörü Tip 1-İlişkili Protein

TRAF1: TNF Reseptör İlişkili Faktör 1

VEGFR2: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü Reseptörü 2

WBC: Beyaz Kan Hücresi

WWOX: WW alanı İçeren Oksidoreduktaz

YAP: YES İlişkili Protein

ZAP70: Zeta Zincir Reseptör İlişkili Protein Kinaz

ZFRA: Çinko Parmak Benzeri Protein

1. GİRİŞ

1.1 Kronik Lenfositik Lösemi

Kronik Lenfositik Lösemi (KLL), ilerleyen monoklonal B lenfosit birikimi ile karakterize olgun bir B hücre neoplazmidir. KLL, morfolojik olarak küçük, olgun görünümlü lenfositlerin birikimi ile tanımlanır.

1.2 KLL'nin Epidemiyolojisi ve İnsidansı

KLL batı ülkelerinde en sık görülen lösemi tipidir ve tüm lösemilerin %25-30'unu oluşturur.

Ortalama tanı yaşı 71'dir. Yaş ile birlikte insidansı artmaktadır. Hastaların yaklaşık %10'u 50 yaşın altındadır. KLL erkeklerde daha sık görülür. Erkek / kadın oranı yaklaşık olarak 1.3/ 1 ile 1.7/1'dir (Siegel 2019, Hernández 1995).

1.3 KLL'nin Klinik Özellikleri

Hastaların %5-10'u tipik olarak aşağıdakilerden birini veya birkaçını içeren tipik "B" lenfoma semptomları gösterir (Hallek 2018):

- İstenmeyen kilo kaybı- önceki altı ay içinde vücut ağırlığının \geq %10'u
- Enfeksiyon kanıtı olmadan 2 hafta boyunca 38 °C üstü ateş
- Enfeksiyonun kanıtı olmadan gece terlemeleri
- Aşırı yorgunluk

KLL sistemik olarak aşağıdaki semptomları göstermektedir.

- Lenfadenopati- KLL hastasının fizik muayenesinde en sık rastlanan anormal bulgudur, çeşitli seriler arasında hastaların %50-90'ında bulunan lenfadenopatidir.
- Splenomegali- Dalak, vakaların %25-55'inde palp edilebilir şekilde genişleyen ikinci en sık lenfoid organdır.

- Hepatomegali- Karaciğerin genişlemesi, ilk tanı anında olguların %15-25'inde görülebilir (Rai 1975, Binet 1981).
- Deri- KLL de ilk etapta çok belirgin olmayan deri semptomları görülebilir, ancak cilt hassasiyetine bağlı ciltte kırmızı renkte deri lezyonları ve döküntüler izlenebilir.

1.4 KLL Tanısı

Lenfositoz - KLL'de görülen en dikkat çekici laboratuvar anormalliği, periferik kan ve kemik iliğinde lenfositozdur. KLL de lenfosit oranı genellikle $100.000/\mu\text{L}$ ($100 \times 10^9 / \text{L}$) nin üzerindedir.

Sitopeni -Nötropeni, anemi ve trombositopeni, ilk tanı anında görülebilir ve genellikle ciddi değildir. Bunlar otoimmün hemolitik anemi, saf kırmızı hücre aplazisi, otoimmün trombositopeni veya agranülositoz ile ilgili olabilir.

İmmünglobülin anomalileri- Hipogamaglobülinemi, ilk tanı anında hastaların yaklaşık %25'inde bulunur ve hastalığın seyri sırasında hastaların üçte ikisine kadar gelişebilir (Parikh 2015).

Diğer anormal bulgular- Biyokimyasal olarak herhangi bir karakteristik anormallik yoktur, ancak tedavi alan ilerlemiş KLL hastalarının yaklaşık olarak %60'ında artmış serum laktat dehidrojenaz (LDH) ve beta-2 mikroglobulin seviyeleri bulunur (Keating, 1998). Ürik asit, hepatik enzimler (ALT veya AST) ve nadiren kalsiyum yükselmeleri de görülebilir.

Periferik yayma- KLL hastalarının periferik kan yaymasında lenfositoz izlenir. Lösemik hücrelerin çoğu tipik olarak koyu renkli lekeli bir çekirdeğe, kısmen toplanmış (kümeleşmiş) bir kromatine ve ayrılmaz nükleole sahip, küçük, olgun görünen lenfositlerdir. Hafif bir bazofilik sitoplazmanın dar bir sınırı vardır (Hallek 2018).

İmmünofenotip- Genellikle akış sitometrisi ile immünofenotipik analiz, KLL tanısı için anahtar bir bileşendir (Rawstron, Villamor 2007). KLL tanısı, CD5, CD19, CD20, CD23 ve kapa ve lambda immüoglobulin hafif zincirine özgü bir antikorlar paneli kullanılarak tanımlanabilir (Rawstron, Kreuzer 2018).

Üç ana karakteristik immünofenotipik bulgu vardır (Hallek 2018, World health organization 2017):

- B hücresiyle ilişkili antijenlerin, CD19, CD20 ve CD23'ün ifadesi. CD20'nin boyama yoğunluğu genellikle düşüktür.
- T hücrelerinde ve olgun B hücrelerinin alt kümelerinde ifade edilen bir antijen olan CD5'in ekspresyonu.
- Düşük seviyeli yüzey membranı immüoglobülini (yani Smlg zayıf). İmmüoglobulin en sık IgM veya her ikisi de IgM ve IgD'dir ve sadece tek bir immüoglobülin hafif zinciri (yani, kapa veya lambda, ancak ikisini birden değil) bu hücrelerin klonal doğasını doğrular. Nadir durumlarda, birkaç Ig klonu bir arada bulunabilir.

Ek olarak, KLL hücreleri HLA-DR eksprese eder ve siklin D ve CD10 için genellikle negatiftir. FMC7, CD22 ve CD79b ayrıca yaygın olarak negatif veya zayıf bir şekilde eksprese edilir (World health organization 2017). Sitoplazmik immüoglobulin, vakaların yaklaşık % 5'inde saptanabilir. Vakaların yaklaşık % 40'ı CD38'i hücrelerin % 30'unda eksprese eder.

1.5 KLL'nin Evrelendirilmesi ve prognozu

KLL'li hastalar, fizik muayene ve tam kan sayımlarına dayalı olarak Rai ve Binet evreleme sistemlerine göre prognostik olarak gruplandırılmıştır.

Rai evreleme sistemi- Rai sistemi, KLL'de, ilerleyen lenf düğümleri (lenfadenopati), dalak düğümlerini (lenfadenopati) içeren, kan ve kemik iliğinde (lenfositoz) başlayan lösemik lenfositlerin vücut yükünde kademeli ve progresif bir artış olduğu kavramına dayanır (Rai 1987) (Tablo 1).

Rai sisteminde ilk tanı sırasından aşamalı olarak:

- Evre 0 (lenfositoz) - %25
- Evre I ve II (lenfadenopati, organomegali) - %50
- III ve IV arasındaki evreler (anemi, trombositopeni) - %25

Tablo 1.1. Rai evrelemesi

Risk Düzeyi	Evre	Teşhiste klinik değerlendirme
Düşük	0	Periferik kan ve kemik iliğinde lenfositoz
Orta	I	Lenfositoz ve lenfadenopati
	II	Lenfositoz ve splenomegali veya Hepatomegaly
Yüksek	III	Lenfositoz ve anemi (Hb >11 gr/dl)
	IV	Lenfositoz ve trombositopeni (>100.000 / μ L)

1.6 KLL'de Prognostik faktörler

KLL'de evre dışında birçok prognostik parametre saptanmıştır. Bunlar; t(4;11), del(6q23), t(8;14), t(11;14), t(11;18), del(11q22), (11q23 MLL), del(13q14), del(17p13) gibi sitogenetik değişikliklerle birlikte; diğer gen mutasyonlarının, tümör baskılayıcı genleri, onkogenleri, DNA hasar onarımını, RNA işlenmesini ve hücrel sinyal yollarını etkilediği bulunmuştur. Ancak bu tür mutasyonların prognostik önemi iyi karakterize edilmemiştir. KLL hücreleri tanımlanmış ortalama 20 somatik nokta mutasyonuna sahipken, dokuz gen önemli ölçüde daha yüksek bir oranda mutasyona uğramıştır.

Bu dokuz gen dört ana hücrel sinyalleşme yolunun temel bileşenleridir:

- DNA hasarı ve hücre döngüsü kontrolü (örneğin, *ATM*, *TP53*)
- NOTCH sinyali (örneğin, *NOTCH1*, *FBXW7*)
- İnflamatuar yolaklar (örneğin, *MYD88*, *DDX3X*, *MAPK1*)
- RNA ekleme ve işleme (örneğin, *SF3B1*, *DDX3X*)

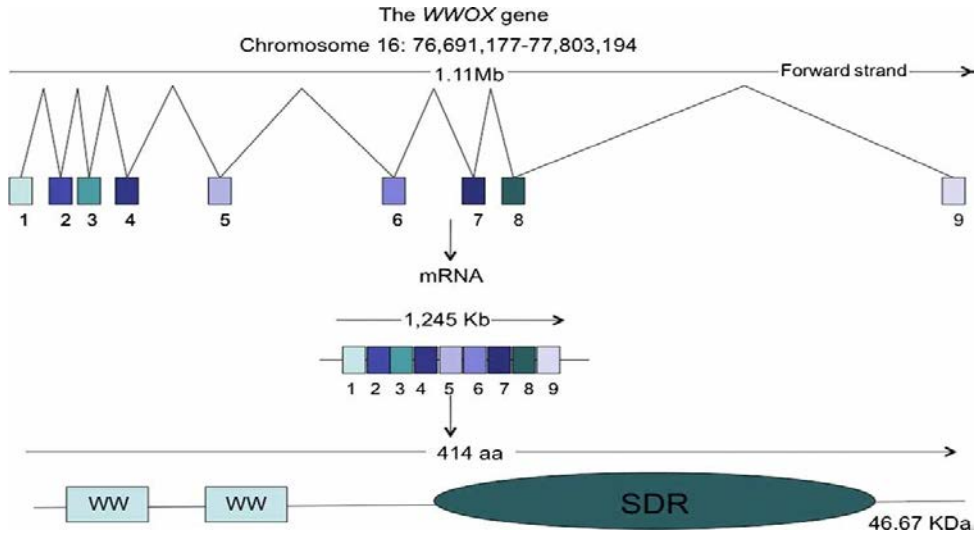
Bununla birlikte diğer diagnostik faktörler; TNF α , VEGFR2, immun globin ağır zincir gen mutasyonları (IGVH), FMC7, ZAP70 ve CD38 pozitifliği de KLL prognozunda oldukça önemli faktörlerdir.

2. GENEL BİLGİLER

Kromozomal frajil bölgeler, DNA sentezinin kısmi inhibisyonunu takiben metafaz kromozomları üzerinde boşluklar ve kırılmalar gösteren spesifik lokuslardır. Nadir frajil bölgeler, bireylerin küçük bir kısmında görülür ve Mendelian tarzda kalıtılır. Nadir frajil bölgeler, popülasyonun %5'inden daha azında bulunur ve sıklıkla iki veya üç nükleotid tekrarından oluşur. Çoğalma sırasında sıklıkla komşu genleri etkileyen spontan kırılmaya duyarlıdırlar. Klinik olarak, en önemli nadir frajil bölge, frajil X sendromu ile ilişkili olan FRAXA'dır FMR1 genindeki FRAXA gibi bazıları, insan genetik bozuklukları ile ilişkilidir ve insanlardaki sık mutasyon mekanizması olarak nükleotid tekrar artışlarının tanımlanmasına yol açmıştır. Aksine, tüm bireylerde yaygın frajil bölgeler bulunur ve en büyük frajil bölgeler sınıfını temsil eder. Kromozom yapısının ilgi çekici bir bileşeni olarak kabul edilen yaygın frajil bölgeler, genomun replikasyon stresine özellikle duyarlı olan ve sıklıkla tümör hücrelerinde yeniden düzenlenmiş bölgeleri olarak yeni bir önem kazanmıştır. Son yıllarda, yaygın frajil bölgelerin genomik özelliklerinin ve kararlılıklarını etkileyen hücresel süreçlerin anlaşılmasına yönelik çok ilerleme kaydedilmiştir. Bugüne kadar insan genomunda 120'den fazla frajil bölge tespit edilmiştir (Lukusa 2007, Durkin 2007).

Yaygın frajil bölgeler kanser çalışmalarında ilgi çekicidir, çünkü bunlar sıklıkla kanserlerde etkilenirler. FRA3B (FHIT geni) ve FRA16D (WWOX geni) yaygın frajil bölgeler iyi bilinen örneklerdir ve araştırmalarda önemli bir odak noktası olmuştur. Bu frajil bölgelerdeki kırılma noktalarında yüksek sıklıkta delesyonlar meme, akciğer ve mide kanserleri gibi birçok kanserle ilişkilidir (Durkin 2007).

WWOX geni, FRA16D'nin yaygın frajil bölgesini kapsar (Ried 2000). Genomik analizler, WWOX'ın büyük intronlar ile ayrılmış dokuz ekzondan oluşan 1.1 Mb'yi kapsayan büyük bir gen olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 2.1) (Sara Del Mare 2009).



Şekil 2.1. WWOX Geni ve WWOX Proteini.

İnsan *WWOX* geni 16q23 kromozomunda yerleşir. *WWOX*, 414 amino asitlik *Wwox* proteini ve 1,245 bç mRNA transkriptini kodlayan dokuz ekzon içeren bir genidir. *Wwox* proteini iki N-terminal WW alanı ve bir merkezi kısa zincir dehidrojenaz/redüktaz alanı (SDR) içerir. *WWOX* mRNA'sının alternatif kırılması ile yedi farklı transkript üretilir (Sara Del Mare 2009).

Wwox proteini bir tümör baskılayıcı olarak davranır. *Wwox*'ın tümör baskılayıcı mekanizması apoptozu (Chang 2007, Aqeilan, Pekarsky 2004) ve hücre dışı matriksin modülasyonunu içerir (Gourley 2009). *Wwox* proteini ifadesinin kaybı, yüksek tümör agresifliği (G3; yüksek hücre proliferasyonu indeksi) ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Donati ve ark., 2007). İlginç bir şekilde, *Wwox* ifadesi, tümör histopatolojisi (skvamöz hücreli karsinomlara karşılık adenokarsinomlar) ile de ilişkilidir (Aqeilan, Croce 2007) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Yaygın İnsan Tümörlerinde Wwox Proteininin İfadesi

Kanser Tipi	Kayıp Veya Azalma
Akciğer (NSCLC)	%85
Skvamöz hücreli karsinom	%59
Adenokarsinomlar	%39
Prostat	%84
Mide	%65 (%33 hücre serileri)
Göğüs	%63
Ovaryum	%30
Hepatoselüler	%72 hücre serileri

WWOX lokusundaki genetik değişiklikler heterozigozite kaybı (LOH), homozigot delesyonlar ve translokasyonlar yoluyla gerçekleşir (Gardenswartz 2014). LOH veya WWOX geninin bir allelinin bir kısmının kaybı, hepatoselüler karsinomların %52'sinde, prostat karsinomlarının %53'ünde, göğüs karsinomlarının %67'sinde ve aynı zamanda akciğer ve mide kanserinde bildirilmiştir (Gardenswartz 2014, Paige 2001). Ekzon 4 ve 9 arasında homozigot delesyon kolon, ovaryum, küçük hücreli akciğer kanseri ve pankreas kanseri hücre serileri ile karakterize edilmiştir (Paige 2001, Finnis 2005).

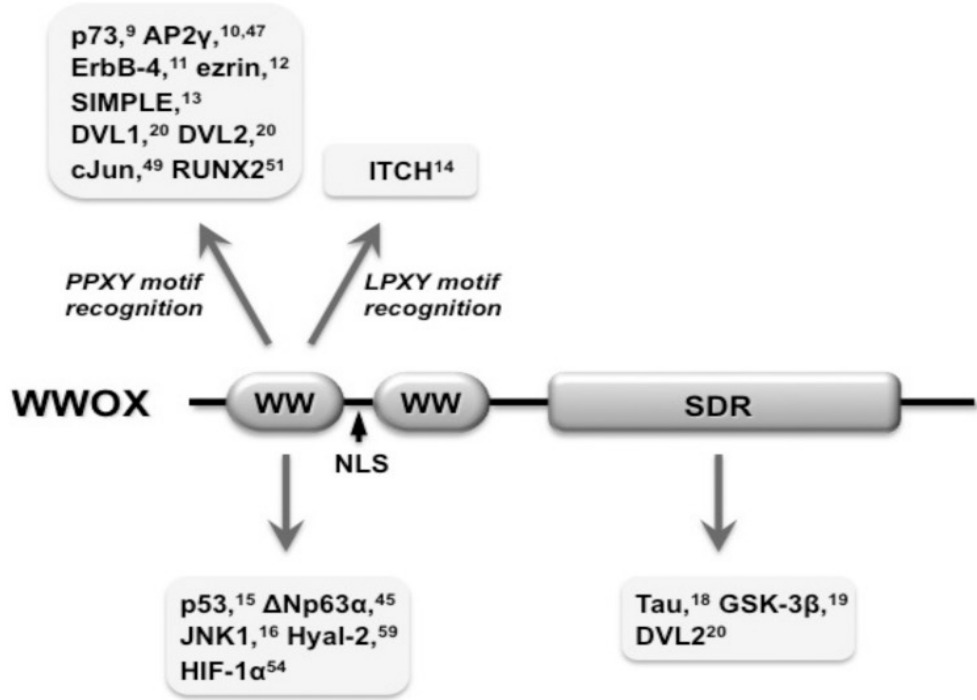
2.1 WWOX Geni Ve Gen Ürünü

WWOX geni, 1245 bp'lik bir açık okuma çerçevesini kodlayan dokuz ekzonu kapsayan 1 Mbç'den daha büyük bir genomik lokus içerir; protein dizisi, seksosteroid metabolizmasında rol oynayabilecek 17 β -hidroksisterol reduktaz 3'e homolog olan iki WW alanı ve bir kısa zincirli dehidrogenaz / redüktaz (SDR) domaini içerir. WWOX promoter bölgesi sıklıkla kanserlerde hipermetile edilir. WWOX çoğu organda ifade edilir, ancak meme, ovaryum, testis ve prostat gibi hormonal olarak düzenlenmiş salgı epitel hücrelerinde en yüksek seviyelerde ifade edilir (Aqeilan, Croce 2007, Ramos 2006).

WWOX, prolinden-zengin ligand PPxY'yi bağlar ve bir dizi proteinin, ilk WW alanı ile etkileşime girer; ligand içeren bu proteinler arasında daha ayrıntılı olarak tarif edilen p73, Ap2a, Ap2, ErbB4, Jun ve Runx2 vardır. WW bölgeleri, bir çift yüksek oranda korunmuş triptofan kalıntısına sahip ~40 amino asitten oluşan ve üç iplikçikli antiparalel β yaprak konformasyonunu gösteren küçük protein modülleridir (Bork 1994). WW bölgelerinin protein-protein etkileşimleri, transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesi, protein ubiquitinasyon ve hücre büyümesi kontrolü dahil olmak üzere çeşitli hücre fonksiyonları ile bağlantılı olduğu bulunmuştur (Bork 1994, Sudol 1995). WW bölgeleri, peptid ligandları için bağlanma spesifitesine göre dört gruba ayrılabilir (Ilsley 2002). Distrophin, Yes-related protein (YAP65) ve Nedd4 E3 ubiquitin ligaz gibi grup IWD etki alanlarına sahip proteinlerin Pro-Pro-X-Tyr (PPXY) içeren peptid motifleri ile etkileştiği gösterilmiştir. Leu-Pro-X-Tyr (LPXY). Grup II WW alanları, PPLP motiflerine bağlanmaya aracılık eder ve grup III WW alanları, PPR motiflerine bağlanmaya aracılık eder. Grup IV WW alanları, p (S / T) P motiflerini tanır. I. Grup WW alanları en yoğun olarak incelenmiştir. WWOX proteininin ilk WW alanının, p73, aktivatör protein 2 γ (AP2), ErbB-4, ezrin, lizozom / geç endozomun küçük zar proteini (SIMPLE) gibi çeşitli PPXY motif içeren proteinlerle etkileştiği rapor edilmiştir (Lo 2015) (Şekil 2.2). PPXY motifi ile (Abu-Odeh 2014) WW alan etkileşimi, I. Grup WW alanlarındaki tirozin kalıntılarının fosforilasyonu ile düzenlenebilir (Ilsley 2002). WWOX'un ilk WW bölgesinde Tyr33'ün fosforilasyonu p53, c-Jun N-terminal kinaz 1 (JNK1) ve p73'e bağlanmasında çok önemli olduğu gösterilmiştir (Aqeilan Pekarsky 2004, Chang 2005, Chang 2003, Lo 2015) (Şekil

2.2). Ancak, p53 ve JNK1'de PPXY veya LPXY tanımlanmamıştır. Src, birinci WW alanında Tyr33'te WWOX'ı fosforillemektedir (Aqeilan Pekarsky 2004). Yapısal analizler, WWOX'ın birinci WW alanı içindeki Tyr33'ün, hedef proteinlerin PPXY motifleri içindeki prolin kalıntıları ile anahtar moleküller arası temasa geçtiğini ortaya çıkarmıştır. WWOX ikinci WW alanı tirozin triptofan bir değiştirme ile atipik bir yapıya sahiptir. Yakın tarihli bir çalışma, WWOX'ın ikinci WW alanının, birinci WW alanının, reseptör tirozin kinaz ErbB-4'ün hücre içi alanı içindeki PPXY motiflerine bağlanmasını arttırmak için bir tandem modül bağlamında bir şaperon olarak hizmet ettiğini göstermiştir (Schuchardt 2013).

C-terminal SDR alan Tau hiperfosforizasyon'un düzenlenmesi için Tau ile WWOX bağlanmasına aracılık ettiği gösterilmiştir (Sze 2004) (Şekil 2.2). WWOX ayrıca GSK-3 β aracılı Tau fosforilasyonunu inhibe etmek için SDR alanı yoluyla glikojen sentaz kinaz 3 β 'ye (GSK-3 β) bağlanır(Wang 2012) (Şekil 2.2). Birçok SDR ailesi proteinleri, hücrel metabolizmayı ve redoks fonksiyonlarını düzenleyen reaksiyonları katalize eder. WWOX, steroid metabolizmasını ve redoks dengesini düzenlemek için, Tau, GSK-3 β ve DVL2 gibi etkileşimli proteinlerine bağlanma yoluyla enzimatik işlevini yerine getirip getirmediği açık bir şekilde karakterize edilir.



Şekil 2.2. WWOX Bağlayan Proteinler.

WWOX proteininin ilk WW alanı, belirtilen proteinlerdeki PPXY veya LPXY motiflerine bağlanır. WWOX ayrıca, ilk WW alanı üzerinden PPXY veya LPXY motifine sahip olmayan birçok proteinle de etkileşime girer. Bu proteinler arasında p53, Δ Np63 α , JNK1, Hyal-2 ve HIF-1 α bulunur. Tau, GSK-3 β ve DVL2'nin WWOX'in C- terminal SDR alanına bağlanması gösterilmektedir (Lo 2015).

WWOX ile etkileşen çeşitli proteinler ve fonksiyonları Tablo 2.2'de gösterilmiştir (Sara Del Mare 2009).

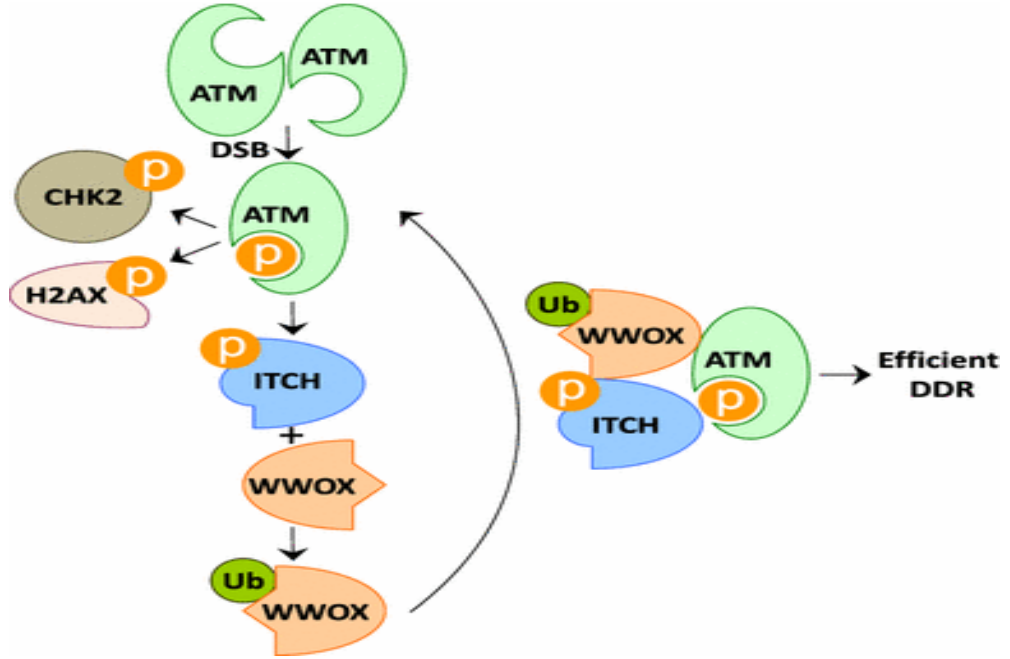
Tablo 2.2. WWOX Protein-Protein Etkileşimi

WWOX Etkileşimi	Fonksiyon	Refs.
P73	Pro-apoptotik transkripsiyon faktörü	Aqeilan ve diğ. 2004c
BASİT	Lizozom / geç endozomun küçük zar proteini.	Ludes-Meyers ve diğ. 2004
Ap2a ve γ	Meme tümörlerinde sıklıkla aşırı eksprese edilen, meme hücre proliferasyonu ve gelişiminde rol oynayan transkripsiyon faktörleri	Aqeilan ve diğ. 2004b
ErbB4 hücre içi bölgesi (ICD)	Reseptör tirozin kinaz. Ligand bağlanması, mitojenez ve farklılaşma dahil olmak üzere çeşitli hücre sel tepkileri uyarır	Aqeilan ve diğ. 2005
AÇK1	Cdc42 - düzenlenmiş kinaz. Aşırı ekspresyonu tümör oluşumu ile ilişkilidir	Mahajan ve diğ. 2005
C-Jun,	C - Fos ile birlikte transkripsiyon faktörü, AP1 oluşturur. Çoklu hücre tiplerinde proliferasyon, farklılaşma ve apoptozisi düzenler	Gaudio ve diğ. 2006
Ezrin	Hücre adezyonuna, motiliteye ve hücre sağkalımına katılan membran sitoskeletal çapraz	Jin ve diğ. 2006

WFOX Etkileşimi	Fonksiyon	Refs.
	bağlayıcı	
Runx2	Osteoblast farklılaşması ve iskelet morfojenезinin başlıca transkripsiyon düzenleyicisi	Aqeilan ve diğ. 2008
Dvl-2	Non-kanonik Wnt sinyal yolunda yer alan, proliferasyonu ve hücre büyümesini sağlayan β - kateninini stabilize eder.	Şişe ve diğ. 2009
P53, Mdm2 non-PPxY bağımlı	DNA onarımında, büyüme durgunluğunda ve apoptozda yer alan transkripsiyon faktörü	Chang ve diğ. 2007
Jnk (c - jun N - terminal kinaz) non - PPxY bağımlı	MAP kinazlar üyesi, pro- ve anti-apoptotik fonksiyonları ortaya çıkarır	Chang ve diğ. 2003
Tau non - PPxY bağımlı	Tau gen mutasyonları Alzheimer hastalığı gibi çeşitli nörodejeneratif bozukluklarla ilişkilendirilmiştir.	Sze ve diğ. 2004

2.2 WWOX, DNA Hasar Cevabı Ve Genomik Kararlılık

Genomik instabilite hemen hemen tüm kanserlerin ayırt edici bir özelliğidir ve hem kanser gelişiminde hem de tedaviye yanıtta önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Hanahan 2011, Negrini 2010). DNA hasar cevabı (DDR) DNA hasarına yanıt olarak genomun bütünlüğünü korur. DDR, DNA hasarının tamir edilemeyecek kadar büyük olması durumunda, hücre döngüsünün durdurulması, ardından DNA onarımı veya apoptoz ile sonuçlanan karmaşık bir sinyalizasyon işlemidir (Abu-Odeh 2014, Bartek 2007, Harper 2007). WWOX ifadesinin kaybolmasının DDR'yi ve belki de genom stabilitesini etkileyebilir. Gerçekten de normal primer hücrelerde ve kanser hücrelerinde, WWOX kaybının, DNA hasar kontrol noktası kinaz ATM ve bozulmuş DNA onarımı ile sonuçlandığı gösterilmiştir. Bu bulgular, DNA hasar sinyallemesinin modüle edilmesinde ve genomik stabilitenin korunmasında, FRA16D, WWOX gen ürününün doğrudan işlevini ortaya koymaktadır (Aqeilan. Abu-Remaileh 2014) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. DDR'de WWOX Etkisinin Hipotetik Modeli.

DNA hasarını takiben, ATM, ITCH aracılı K63'e bağlı ubiquitinlemeyi ve WWOX'un çekirdeğe translokasyonunu olumlu bir şekilde geliştirir. Nükleer

WFOX, ATM ile fiziksel olarak etkileşir ve ATM monomerizasyonuna ve aktivasyonuna pozitif bir ileri döngü şeklinde aracılık eder. WFOX kaybolduğunda ATM işlevi engellenir (Aqeilan. Abu-Remaileh 2014).

2.3 WFOX'ın Tümör Baskılayıcı Aktivitesi

WFOX sıklıkla insan tümörlerinin çoğunda inaktive olur, bunun bir tümör baskılayıcı olarak işlev görebileceği öne sürülmüştür. Öte yandan, bazı kanser türlerinde WFOX ifadesi kaybının esas olarak FRA16D içindeki yerleşimine bağlı olduğu ve tümör oluşumu ile ilişkili olmayan bir ikincil olay olabileceği öne sürülmüştür. WFOX'ın tümör baskılayıcı fonksiyonunun mekanizması apoptozu içerir. WFOX, tümör ilerlemesinde önemli bir rol oynar, çünkü tümör göçü, invazyon ve metastazda rol oynayan farklı proteinler ile etkileşime girer ve bunları modüle eder (Gourley2009).

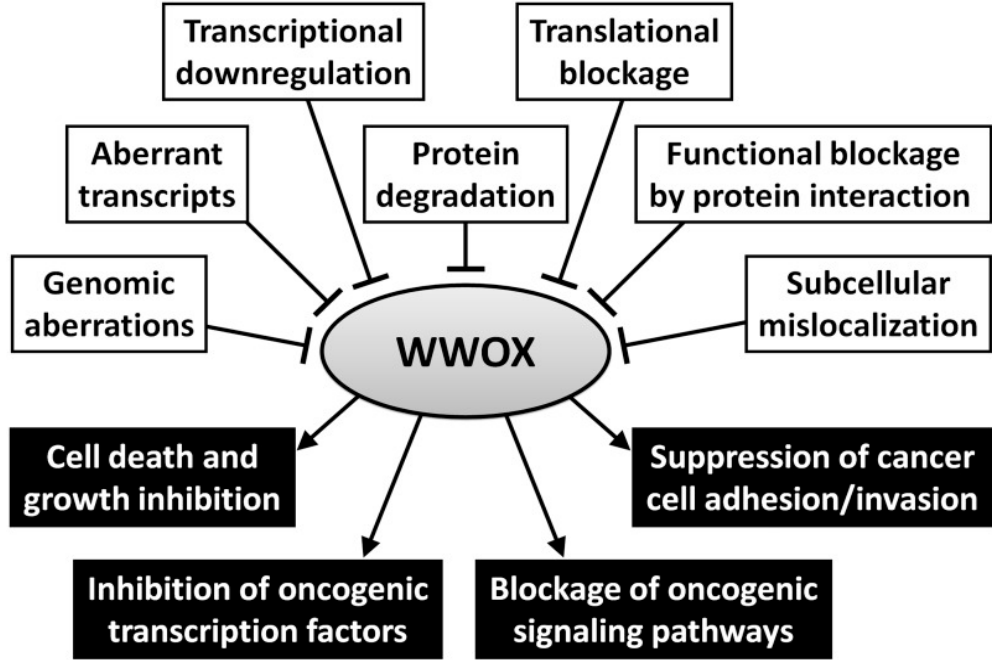
2.4 WFOX'ın Kanserde Değişimi

WFOX'un kanserdeki anormal ifadesi yaygın bir olaydır (Gardenswartz 2014). Çeşitli raporlar, meme (Guler 2004, Guler 2005), prostat (Qin 2006), gastrik (Aqeilan, Kuroki 2004), akciğer (Donati 2007, Yendamuri 2003) ve pankreatik (Kuroki 2004, Nakayama 2008) karsinomlar dahil olmak üzere çok sayıda kanser türü WFOX kaybı veya düşük ifadesi ile ilişkilidir. WFOX anormal ifadesi, hematopoetik malignitelerde olduğu gibi osteosarkomlarda da (Kurek 2010, Yang 2010) bildirilmiştir (Ishii 2005, Fu 2011). WFOX'un bu kanserlerdeki değişimi esas olarak kromozomal delesyonlar ve translokasyonların bir sonucu olarak genomik modifikasyonlardan kaynaklanmaktadır (Gardenswartz 2014). Ek mekanizmalar arasında regülatör dizinin hipermetilasyonu (Iliopoulos 2005) ve protein yıkımı (Mahajan 2005) bulunmaktadır.

2.5 Yaygın İnsan Kanserlerinde WFOX İfadesi

WFOX ifadesi kaybının kanser gelişimi ile olan korelasyonuna ilişkin birçok çalışmalar vardır. Bunlar arasında WFOX yokluğunun kötü prognozla ilişkilendirilmesi de yer almaktadır (Aarhus 2008, Lange2009). WFOX ifadesi,

genomik, transkripsiyonel, transkripsiyon sonrası, translasyonel ve post-translasyonel seviyelerde ortadan kaldırılabilir (Chang, Lan 2015) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4.. WWOX, Tümör Baskılamadaki Rolü.

Birçok şekilde downregüle veya fonksiyonel olarak inhibe edilebilir. Alt paneldeki siyah kutular, WWOX'ın antikanser mekanizmalarını sunarken, üst paneldeki beyaz kutular, WWOX'ı aşmak için kanser hücrelerinin potansiyel mekanizmalarını gösterir (Chang, Lan 2015).

Epigenetik ve post-translasyonel modifikasyonlar dahil diğer mekanizmaların da kanser hücrelerinde WWOX seviyelerinin düzenlenmesinden sorumlu olduğu gösterilmiştir. WWOX'ın hipermetilasyona aracılık eden susturulması, pankreatik [Kuroki ve ark., 2004], meme ve akciğer karsinomları gibi çeşitli kanser türlerinde bildirilmiştir [Iliopoulos ve ark.,2005]. Ayrıca, epigenetik modülasyon yaklaşımları kullanılarak WWOX ekspresyonunun restorasyonu hem in vitro hem de in vivo olarak tümör oluşumunu baskılamaktadır (Cantor et al., 2007). WWOX protein seviyelerini muhtemelen kanser hücrelerinde düzenleyen başka bir mekanizma, WWOX

polyubiquitination'dır (Mahajan ve diğ. 2005), Ack1'in WWOX polyubiquitination'ı geliştirdiğini ve böylece bozulmasına yol açtığını göstermiştir.

Ack1, prostat kanseri hücrelerinde upregüle edilen bir tirozin kinazdır; bu nedenle aşırı ekspresyonu, prostat kanserinde WWOX'ın downregülasyonuna yol açabilir (Qin et al., 2006). Bu veriler, kanser hücrelerinde WWOX ekspresyonu kaybının, genomik, epigenetik ve post-translasyonel modifikasyonlara bağlı olabileceğini göstermektedir.

2.6 WWOX Anormal Transkriptleri

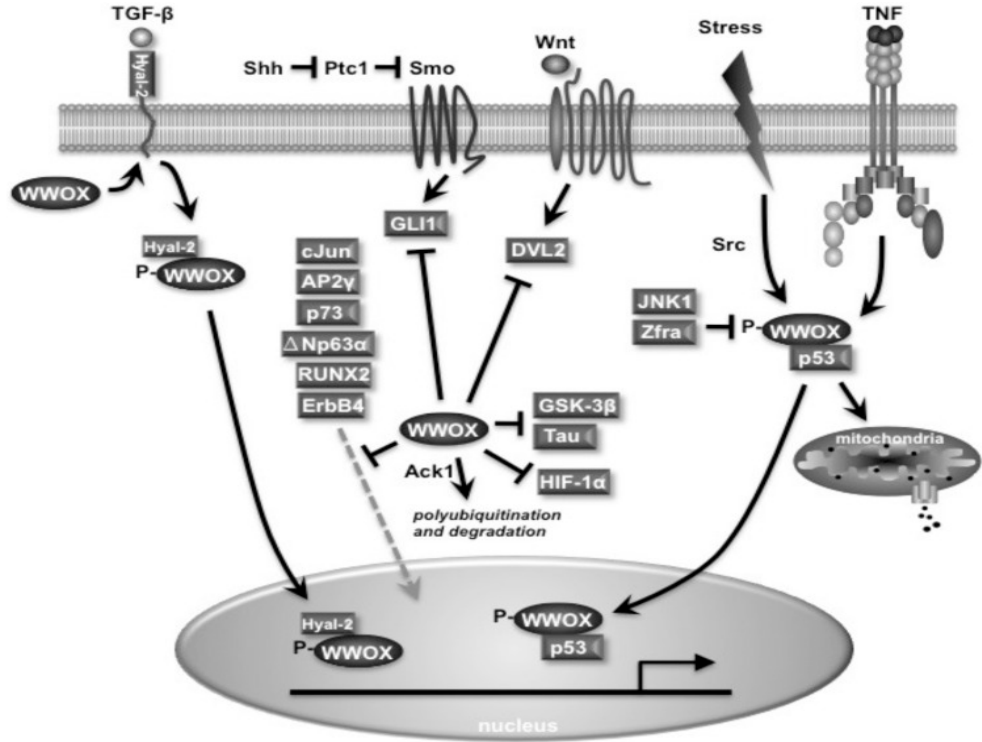
Normal ve kanser hücrelerinde birkaç WWOX transkripti tespit edilmiştir. Tam uzunlukta WWOX mRNA'sı normal dokularda ifade edilen tek transkripttir ve WW alanlarını ve SDR alanını içeren tam uzunlukta Wwox proteinini kodlar. Tümörlerde en yaygın olarak ifade edilen transkriptler, tam uzunlukta WWOX mRNA ve dört adet anormal şekilde eklenmiş mRNA'dır (transkript varyantları 2–4). Transkript varyantları 2–4, sadece kanser dokularında eksprese edilirler. Çeşitli karsinom hücre serilerinde, multipl miyeloma hücre serileri ve primer göğüs tümörlerinde ekzon 6 ile 8 ve 5 ile 8'in delesyonuyla anormal olarak eklenmiş WWOX transkriptlerinin ortak oluşumu saptanmıştır. Sonraki çalışmalar, ek anormal transkriptlerin (transkript varyantları 2 ve 5) varlığını bildirmiştir (Driouch ve arkadaşları, 2002 ; Ried ve arkadaşları, 2000). Daha önemlisi, bu anormal mRNA formları normal dokularda saptanmamıştır (Ried ve ark. 2000 , Bednarek ve ark. 2001 , Paige ve ark. 2001 , Driouch ve ark. 2002).

Veriler, WWOX allelinin, birçok tümör tipinde bozulma için bir hedef olduğunu ve WWOX ifadesinin, ekzonların homozigot delesyonu, transkripsiyonal regülasyon ve anormal kırılma dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla değiştirilebileceğini göstermektedir.

2.7 WWOX, Stres Yanıtlarında Apoptozu Düzenler

Önemli kanıtlar, WWOX'ın hücrel apoptozun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. WWOX, WW ve SDR alanlarıyla L929 fibroblastlarındaki tümör nekroz faktörünün (TNF) sitotoksik fonksiyonunu artırır. WWOX tarafından TNF sitotoksitesinin artması, apoptoz inhibitörleri Bcl-2 ve

Bcl-xL'nin aşağı yönlü regülasyonuna bağlı olmakla birlikte proapoptotik p53'ün upregülasyonundan kaynaklanmaktadır (Chang, Pratt 2001). WWOX stres yanıtları sırasında fiziksel olarak p53 ile etkileşir ve her iki protein de sinerjik olarak hücre ölümüne neden olur (Lo 2015) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. WWOX Çoklu Sinyal Yolları.

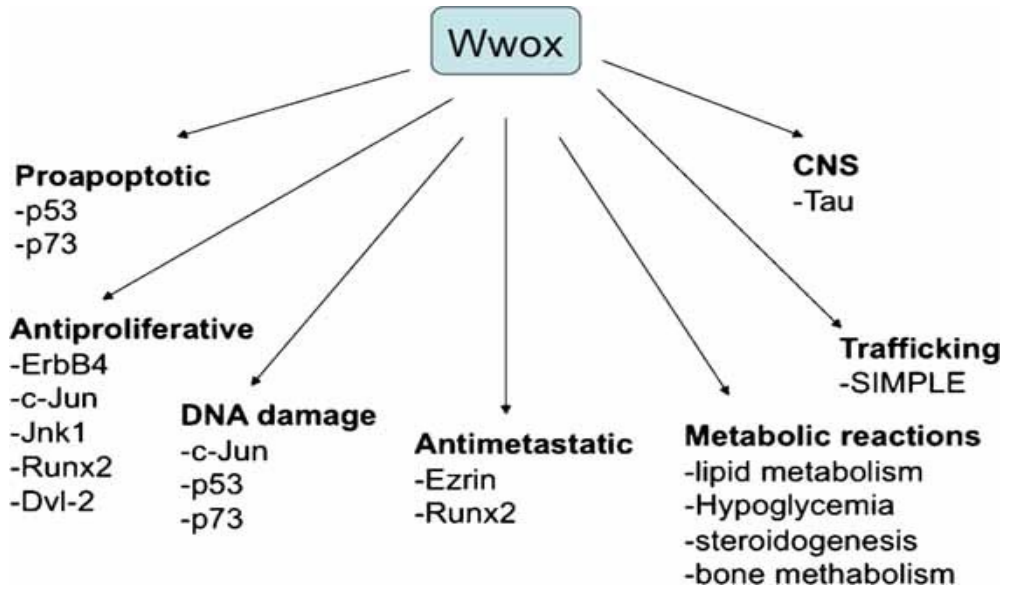
WWOX, p73, ΔNp63α, AP2γ, ErbB4, RUNX2 ve c-Jun'un transaktivasyon fonksiyonunu sitoplazmada inhibe eder, böylece hedef genlerin promotor bölgesine bağlanmasını önler. WWOX'ın strese bağlı aktivasyonu, mitokondri ve çekirdeklere Tyr33 fosforilasyonunu ve translokasyonunu içerir. Tirozin kinaz Src, WWOX'u fosforlar. Tyr33'te WWOX'ın fosforilasyonu, Ser46-fosforile edilmiş p53'ü bağlanması ve stabilize edilmesi için gereklidir. Aktif WWOX – p53 kompleksleri daha sonra apoptosisi teşvik ettikleri çekirdeğe translokasyon yaparlar. JNK1 ve ZFRA, WWOX'un apoptotik işlevini karşılar. Tau ve GSK-3β, WWOX ile C üzerinden etkileşime giriyor-terminal SDR alanı. WWOX ayrıca, sırasıyla GLI1, DVL1 / DVL2 ve HIF-1α ile etkileşerek Hedgehog (shh) sinyalini, Wnt / β-

katenin eksenini ve glikoz metabolizmasını düzenler. Ack1, WWOX'ın ubiquitin / proteozom yoluyla bozulması için WWOX'un Tyr287 fosforilasyonunu uyarır (Lo 2015).

2.8 WWOX P53 Ailesi Proteinlerinin Fonksiyonel Aktivitelerini Kontrol Eder

WOX'ın çeşitli hücrel fizyolojik fonksiyonları kontrol etmek için transkripsiyonel faktör aktivitelerini düzenlediği gösterilmiştir. Belirlenen ilk transkripsiyon faktörü, iyi bilinen bir proapoptotik aracı olan p53'dür (Chang, Pratt 2001). p53, apoptoz, hücre döngüsü kontrolü, DNA onarımı, hücrel yaşlanma, anjiyogenez ve metabolizmada yer alan çok sayıda hedef genleri düzenleyen güçlü bir tümör baskılayıcı olarak işlev görür.

2.9 WWOX, Protein-Protein Etkileşimleri Yoluyla Birçok Kansere İlişkili Sinyal Yoluna Katılır

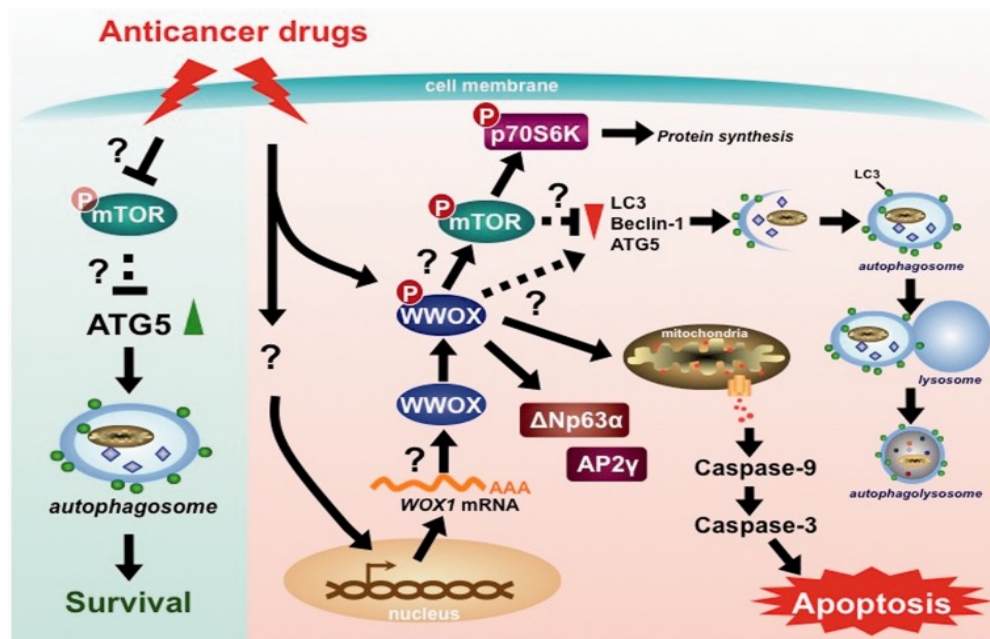


Şekil 2.6. WWOX Sinyal Yolları

WWOX, farklı yollardan birkaç ortakla etkileşimde bulunma kabiliyeti sayesinde birçok fonksiyonda yer alır. WWOX, WW alanı aracılığıyla, PP x Y -

içeren proteinlerin bir spektrumu ile ilişkilendirebilir ve işlevlerini modüle edebilir. Örneğin, WWOX, p53 ve p73 pro-apoptotik aktivitelerini artırır ve ErbB4, c-Jun ve Runx2 dahil olmak üzere hücre çoğalmasında rol alan transkripsiyon faktörlerinin transaktivasyon aktivitesini azaltır. WWOX, sitoplazmada Dvl - 2'yi tutarak Wnt / β - katenin yolunu etkileyebilir. WWOX, ortakları nedeniyle, DNA hasarında ve hücre ticaretinde de rol oynayabilir. WWOX *-knockout* fareler, hipoglisemi, hipokolestezi, ayrıca morfolojik steroidogenesis ve kemik defektleri de dahil olmak üzere geniş bir yelpazedeki metabolik kusurları sergiler, bu da WWOX'un farklı metabolik süreçlerde kilit bir düzenleyici olduğunu gösterir (Sara Del Mare 2009) (Şekil 2.6.).

2.10 Kemoterapötik İlaç duyarlılığı, WWOX Aracılı Kanser Hücresi Ölümüyle ilişkilidir.



Şekil 2.7. Antikanser ilaca bağlı kanser hücresi apoptozunda WWOX'un potansiyel rolü.

Sağ (kırmızı alan): duyarlı hücrelerde, anti-kanser ilaçları WWOX ifadesini artırır ve otofajiyi baskılayarak kanser hücrelerini apoptoza duyarlı hale getirir. mTOR sinyali genellikle hücre büyümesini teşvik etmek için

düşünülür. mTOR aktivitesi, antikanser ilaçla tedavi edilmiş SCC hücrelerinde geçici olarak upstream düzenlenir. MTOR aktivasyonunun sürdürülmemesi, hücrelerin ölüme karşı savunmasız kalmasının neden olup olmadığı belirsizdir. WWOX ayrıca $\Delta Np63\alpha$ ve AP2 γ ile etkileşir ve apoptozu arttırmak için sitoplazmada bunları sıralar. Sol (yeşil alan): Bazal otofaji, sitoplazmada çok sayıda otofagozom varlığının kanıtladığı gibi, kemoterapiye direnç kanser hücrelerinde aktiftir. Antikanser ilaç tedavisini takiben, Beclin-1 ve Atg12-Atg5'in ifade seviyeleri artmıştır ve bu hücrelerde otofaji sağlam kalmaktadır. İlaça dirençli hücreler, hücre sel biyosentetik işlemlerin pıhtılaşmalarını antimetabolitler ile aşmak ve metabolik stres üzerine hücre canlılığını sürdürmek için bir hayatta kalma mekanizması olarak otofajik yolu kullanabilirler. Kanser hücrelerinde WWOX ifadesinin uyarılmaması, kemoterapi direncine yol açabilir (Chang, Lan 2014) (Şekil 2.7).

2.11 WWOX ve Hematolojik Maligniteler

Lösemiler, hematopoetik kök ve progenitör hücre popülasyonundaki birkaç hücreden kaynaklanan oligoklonal veya monoklonal hastalıklardır. Yükselen diğer karsinogenez modellerinde olduğu gibi, lösemi gelişimi çoklu genetik ve epigenetik olayları içeren evrimsel bir süreçtir. Solid tümörlerin araştırılması kromozomal anormalliklerin aşırı heterojenitesini ortaya çıkarmış olsa da (Struski 2002, Heerema 1998), özgül hematolojik malignitelerde göreceli olarak basit kromozomal değişiklikler söz konusudur. Bu değişiklikler arasında kronik miyeloid lösemide (KML) BCR-ABL translokasyonu (Druker 2002, Clarkson 2003), akut lösemide ALL1 değişiklikleri (Croce 1999, Schichman 1995), T hücreli lösemide TCL1 translokasyonları (Croce 1999) ve akut promyelositik lösemide PML translokasyonları (Salomoni 2002) delesyonlar, translokasyonlar, nokta mutasyonları veya CpG adası metilasyonunu içeren tümör süpresör genleri ve proto onkojenlerinin değişimleri, çeşitli organlarda tümör gelişimine katkıda bulunur. Solid ve hematopoietik malignitelerde çok sayıda genomik değişiklik incelenmiş ve giderek artan sayıda aday tümör baskılayıcı genler keşfedilmiştir (Soussi 1996, Liu 2002). Solid tümörlerde değişen genler sıklıkla hematopoetik malignitelerde etkilenir.

Replikasyon stresi koşulları, tüm yaygın frajil bölgelerin ekspresyonunu etkilediğinden ve iki veya daha fazla sayıda yaygın frajil bölgedeki homozigot delesyonlar sergileyen bir dizi kanser hücresi serisi hematopoitik bozukluklarında WWOX ve FHIT genlerinin ifadesi incelenmiştir. Son çalışmalarda, DNA demetilasyonu ve histon asetilasyonu ve epigenetik değışime ve RNA girişim yollarına fonksiyonel bağlantılar gibi yeni modifikasyonlar belirlemiştir (Iizuka 2003). Bu çalışma, iki genin ekspresyonunun kaybolmasının veya değıştirilmesinin, hematopoitik tümörlerde, anormal ters transkripsiyon-PCR ürünleri ve/veya bu frajil lokuslarda epigenetik modifikasyon ile sonuçlanan mekanizmalar yoluyla uyumlu olarak meydana gelebileceğine dair kanıt sağlamaktadır.

2.12 WWOX Geninin Lösemideki Rolü ve Etki Mekanizmaları

Bugüne kadar, çok sayıda çalışma göğüs, özofagus, pankreas ve tiroid kanseri dahil olmak üzere çeşitli karsinomlarda WWOX ifadesinde azalma ya da kayıplar olduğunu göstermiştir (Yang 2010, Wang 2009). Önemli bir şekilde, akciğere ve meme kanseri gibi tümörlerde WWOX'un restorasyonu veya upregülasyonu, bunları *in vitro* ve *in vivo* olarak apoptoza karşı duyarlı hale getirebilir (Fabbri 2005, Iliopoulos 2007). WWOX hayvan modelleri çalışmaları, WWOX için bir allelin inaktivasyonunun normal hücrelerin malign transformasyona yatkınlığını hızlandırdığını göstermektedir (Aqeilan, Hagan 2007).

Yukarıda belirtilen tüm sonuçlar, WWOX veya onun protein ürününün lösemide tümör oluşumunda fonksiyonel rolünü doğrulamıştır, özellikle primer hematopoetik malignitelerde WWOX ifadesinin azalması veya yokluğu da bildirilmiştir (Ishii, Vecchione 2003, Ishii, Furukawa 2004). Bu, WWOX'un, lösemide bir tümör baskılayıcı olarak işlev görebileceğini, ayrıca FRA16D üzerindeki özel konumu nedeniyle, karsinojenler tarafından aktivasyona yatkın olduğunu düşündürmektedir. WWOX'un tümör oluşumunda biyolojik rolü üzerine yapılan çalışmalar, tümör hücre sel metabolizmasındaki işlevinin, Bcl-2, Bcl-xL ve kaspaz gibi hücre apoptoz kontrolünde rol oynayan faktörlerle etkileşerek hücre canlılığını modüle edebileceğini göstermiştir (Yang 2008, Kosla 2011). WWOX ve apoptoz sinyal yolları arasında yakın bir ilişki olduğu gösterilmiştir. WWOX

restorasyonu Jurkat ve K562 hücrelerinde hücre proliferasyonunu ve koloni oluşumunu baskılar. WWOX restorasyonu Jurkat ve K562 hücrelerinde apoptozu teşvik eder. Bcl-2, Bax, kaspaz-3 ve -9, WWOX aracılı apoptozda rol alır. Sitokrom c salımı Jurkat ve K562 hücrelerinde WWOX aracılı apoptozun bir sonucudur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Bu tez çalışması Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince kullanılan cihazlar ve markaları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan araç ve gereçler

KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER	
	MARKA
Mikropipet	Eppendorf Research® plus
Mikrosantrifüj	Beckman coulter microfuge 16
Vortex	Biosan v-1 plus vortex
Spektrofotometre	All Sheng nano 100 micro Spectrophotometer
RT-QPCR	Qiagen rotor gene Q

Araştırmamız Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Hematoloji polikliniğine gelen 18-70 yaş grubundaki erkek ve kadın cinsiyetteki KLL tanısı almış fakat herhangi bir tedavi başlanmamış 40 hasta ve 18-70 yaş grubunda herhangi bir malignitesi bulunmayan 26 sağlıklı gönüllü grubunda gerçekleştirilmiştir. Hasta ve kontrollere ait kan örnekleri Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Anabilim Dalı'ndaki uzman hekimleri tarafından rutin kontrol kan tetkikleri istemleri esnasında kan alma birimi tarafından alınmıştır. Deneysel çalışmalar Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Sağlıklı gönüllülerden ve KLL hastalarından alınan 2 ml lik edta'lı kandan thermo fischer scientific invitrogen purelink RNA mini kit kullanılarak kit protokolüne uygun olarak total RNA izolasyonu yapılmıştır.

3.2 Tam Kandan Total RNA İzolasyonu

Her bir örnek için %1'lik 2-merkaptetanol içeren liziz tampon taze hazırlanmalıdır. RNA izolasyonu işlem basamakları aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir:

- 1- 0.2 ml tam kan 1.5 ml lik RNaz free tüpüne konur.
 - 2- 0.2ml kana 2- merkaptetanol ile hazırlanmış liziz tampon eklenir.
 - 3- Kan hücrelerinin iyice liziz olabilmesi için vortexlenir ve oda sıcaklığında 12000 xg de 2 dakika santrifüj edilir.
 - 4- Supernatant yeni ve temiz 1.5 ml lik mikrosantrifüj tüpüne transfer edilir.
 - 5-200 µl %100'lük etanol eklenir ve vortex veya pipetleme yardımıyla karışım sağlanır.
 - 6- Örnek, spin kolona transfer edilir. Oda sıcaklığında 12000 xg'de 15 saniye santrifüj edilir.
 - 7- Spin kolona 700 µl wash buffer 1 eklenir ve oda sıcaklığında 15 saniye santrifüj edilir. Sıvı kısım ve toplama tüpü uzaklaştırılır. Yeni toplama tüpü içeren spin kolona konur.
 - 8- 500 µl alkol içeren wash buffer 2 spin kolona eklenir.
 - 9- Oda sıcaklığında 12000 xg de 15 saniye santrifüj edilir.
 - 10- 8. ve 9. basamaklar tekrar edilir.
 - 11- RNA bağlanmış spin kolon oda sıcaklığında 12000 xg de 1 dakika santrifüj edilir. Toplama tüpü uzaklaştırılır. Spin kolon recovery tüpe yerleştirilir.
 - 12- 30 µl -3x100 µl RNaz free water spin kolonun merkezine konur.
 - 13- Oda sıcaklığında 1 dakika enkübe edilir.
 - 14-Spin kolon ve recovery tüpler 2 dakika 12000 xg de oda sıcaklığında santrifüj edilir.
 - 15- Ayırıştırılmış RNA uygun -80 derecede saklanır veya işleme alınır.
- Elde edilen RNA'ların allsheng nano 100 nanodrop spektrofotometre cihazı kullanılarak konsantrasyon ve A260/280 saflık oranları ölçüldü.

3.3 cDNA Sentezi

Elde edilen RNA'lardan high-capacity cDNA reverse transcription kit (applied biosystems) protokolüne uygun olarak master mix hazırlandı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. cDNA Protokolü

Bileşen	MİKTAR	
	RNAase İnhibitörlü	RNAase İnhibitörsüz
25xdNTP Mix (100nM)	2.0 µL	2.0µL
100X RT Random Primers	0.8µL	0.8µL
Multiscribe Reverse Transkriptaz	2.0µL	2.0µL
RNAase İnhibitör	1.0µL	
Nükleazsız Su	3.2µl	4.2µl
Toplam Herbir Reaksiyon İçin	10.0µl	10.0µl

Her Bir Örnek İçin (cDNA sentezi)

RT Buffer=2 µl

dNTP=0.8 µl

RT Random Primer=2 µl

Reverstranscriptase=1 µl

dH2O=4.2 µl

Toplam Hacim=10 µl

Hazırlanan pcr master mix, high-capacity cDNA reverse transcription kit (applied biosystems) kullanılarak real time pcr cycler (Qiagen Rotor-Gene Q) cihazında cDNA sentezinde kullanıldı (Tablo 3.3).

RT-QPCR reaksiyonu için kullanılan WWOX ve G6PD primer dizileri aşağıda gösterilmiştir. G6PD referans house keeping gen olarak kullanılmıştır.

G6PD revers primer: GGC CAG CCA CAT AGG AGT T

G6PD forward primer: GCA AAC AGA GTG AGC CCT TC

WWOX revers primer: TCT GGG ACA GCA GCA CAG TA

WWOX forward primer: GAG GCC TTT CAC CAA GTC C

3.5 WWOX Ekspresyon Analizi

WWOX gen ekspresyonu düzeyleri real time pcr (Qiagen Rotor-Gene Q) cihazında analiz edildi. RT-QPCR reaksiyonu Tablo 3.5’de gösterilmiştir.

Tablo 3.5. RT QPCR reaksiyonu

BASAMAK	SICAKLIK	SÜRE	DÖNGÜ
		2	
UDG Aktivasyon	50 °C	DAKİKA	HOLD
		2	
Dual Lock DNA Polimeraz	95 °C	DAKİKA	HOLD
Denaturasyon	95 °C	15 SANİYE	
		15	
Bağlanma	55-60 °C	SANİYE	40
		1	
Uzama	72 °C	DAKİKA	

Qiagen Rotor-Gene Q real time pcr cihazında referans cycle threshold değeri=0.03 kabul edilerek quantitation SYBR gree prosedürü ile amplifikasyon eğrileri değerlendirildi.

Hasta ve gönüllü kontrollere ait WWOX ve referans G6PD eşik döngüsü (cycle threshold, Ct) değerleri alınarak her bir analiz için;

$\Delta Ct = Ct_{\text{wwox}} - Ct_{\text{g6pd}}$ değerleri hesaplandı.

$2^{-\Delta Ct}$ Değerleri hesaplanarak göreceli WWOX ekspresyon düzeyleri hesaplandı.

3.5 İstatistiksel Analiz

Verilerin bilgisayara aktarılmasında ve analizlerinde PASW Statistics 18 for Windows istatistik paket programı kullanıldı. Değişkenler ortalama, standart sapma, medyan, minimum-maksimum değer, frekans ve yüzde ile ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. Ayrıca, Roc Curve analizi ile cut-off ekspresyon değeri belirlendi. Değişkenlerin karşılaştırılmasında Bağımsız örneklem t testi kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR VE SONUÇ

4.1 KLL Hastalarına Ait Demografik ve Klinik Veriler

KLL hastalarının demografik ve klinik özelliklerinin dağılımları Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. KLL hastalarının demografik ve klinik özellikleri

	KLL	
	(n=40)	
Cinsiyet E/K	27/13	
Yaş	59,6	33-76
Evre (RAI) %		
Evre 0	45	
Evre 1	22,5	
Evre 2	27,5	
Evre 3	2,5	
Evre 4	2,5	
WBC (10*3/uL)	23,6	(8,9-49,1)
LY (10*3/uL)	69,9	(49,2-90,9)
HB (g/DL)	14,1	(9,3-17,3)
PLT (10*3/uL)	246,6	(97-864)
LDH (IU/L)	204,2	(126-304)
B2M (mg/L)	2,8	(1,7-5,6)
CD38 (%)	3,2	(0,06-36,5)

4.2 KLL ve Kontrol Gruplarında WWOX mRNA Ekspresyon Düzeyleri

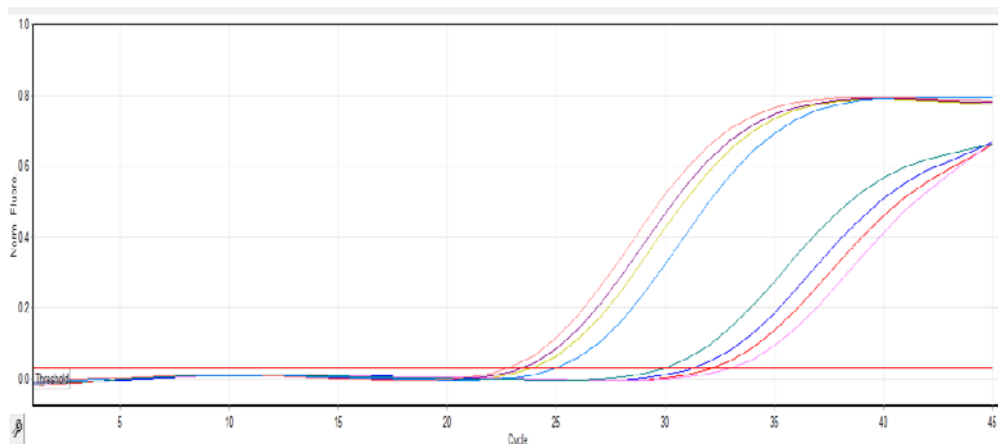
KLL ve kontrol gruplarındaki WWOX mRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında, KLL grubundaki WWOX mRNA ekspresyon düzeylerinin

kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (P<0,001) (Tablo 4.2).

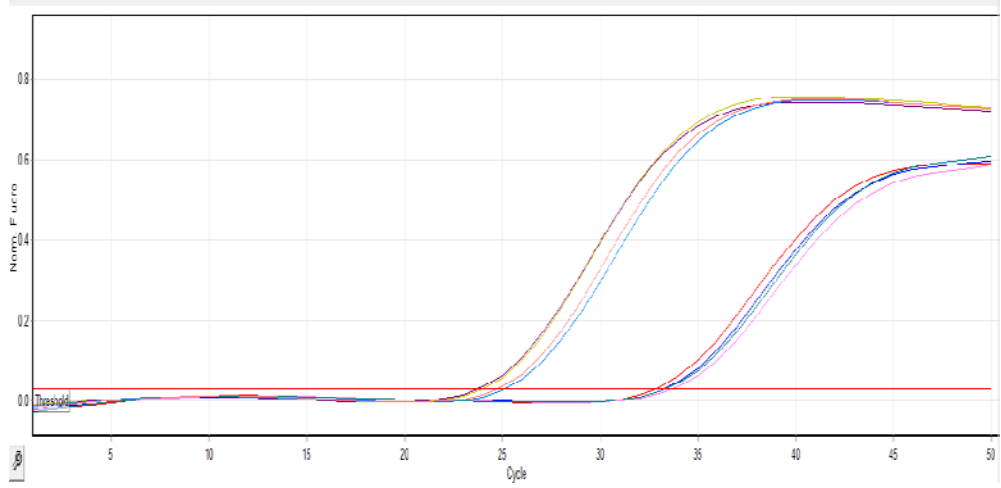
Tablo 4.2. WWOX ekspresyon düzeyi

	WWOX Ekspresyon Düzeyi	
KONTROL	0.002	
KLL	0.005	P<0,001

KLL ve kontrol gruplarında saptanan WWOX hedef gen mRNA ekspresyon düzeylerine ve G6PD referans gen mRNA ekspresyon düzeylerine ait RT-qPCR amplifikasyon eğri analizleri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 de gösterilmiştir.

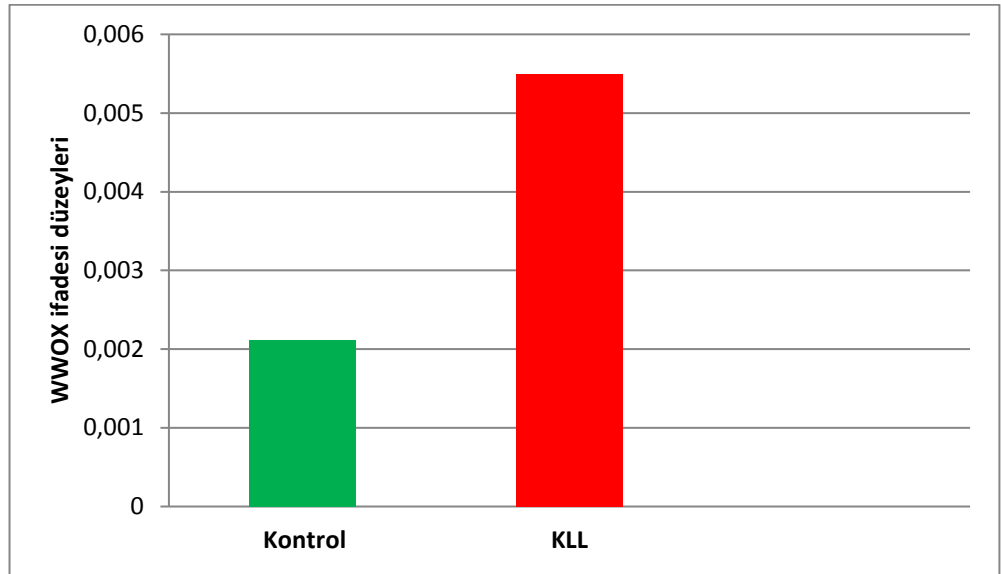


Şekil 4.1. Kontrol grubunda WWOX ve G6PD mRNA düzeylerine ait amplifikasyon eğrileri



Şekil 4.2. KLL grubunda WWOX ve G6PD mRNA düzeylerine ait amplifikasyon eğrileri

KLL ve kontrol gruplarındaki WWOX mRNA ekspresyon düzeyleri Şekil 4.3'de karşılaştırmalı grafikler olarak sunulmuştur.



Şekil 4.3. KLL ve kontrol gruplarında WWOX mRNA ekspresyon düzeyleri

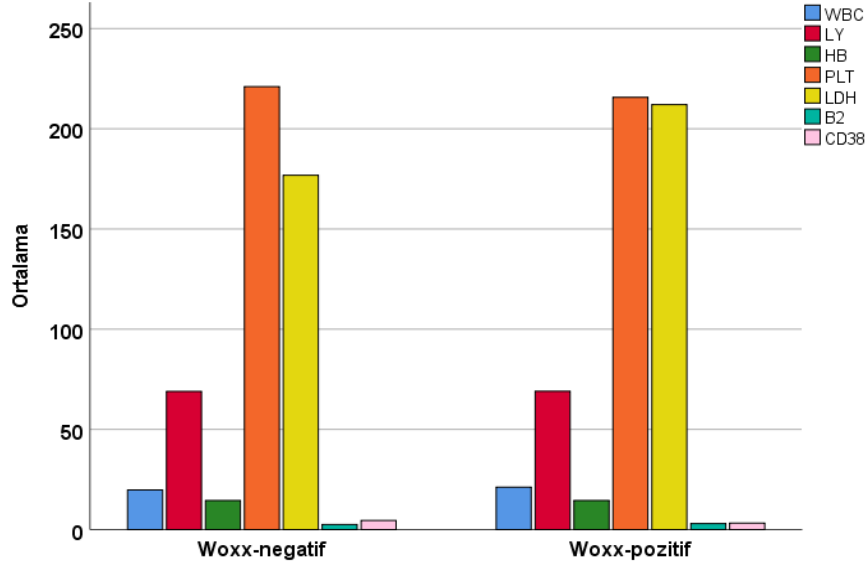
4.3 KLL Hastalarına Ait Demografik ve Klinik Özellikler ile WWOX Ekspresyon Düzeyleri Arasındaki İlişki

KLL hastaları ROC eğrileri analizi (0.0029) kullanılarak elde edilen eşik değerine göre, WWOX pozitif ve WWOX negatif olarak iki gruba ayrıldı. Genel olarak, 33 hasta WWOX mRNA ifadesi gösterdi, kalan 7 hasta cutoff değerinin altındaydı. WWOX gen ifadesi düzeyleri ile KLL prognostik faktörleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadık ($P > 0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. WWOX pozitif ve negatif KLL hastalarında klinik özellikler

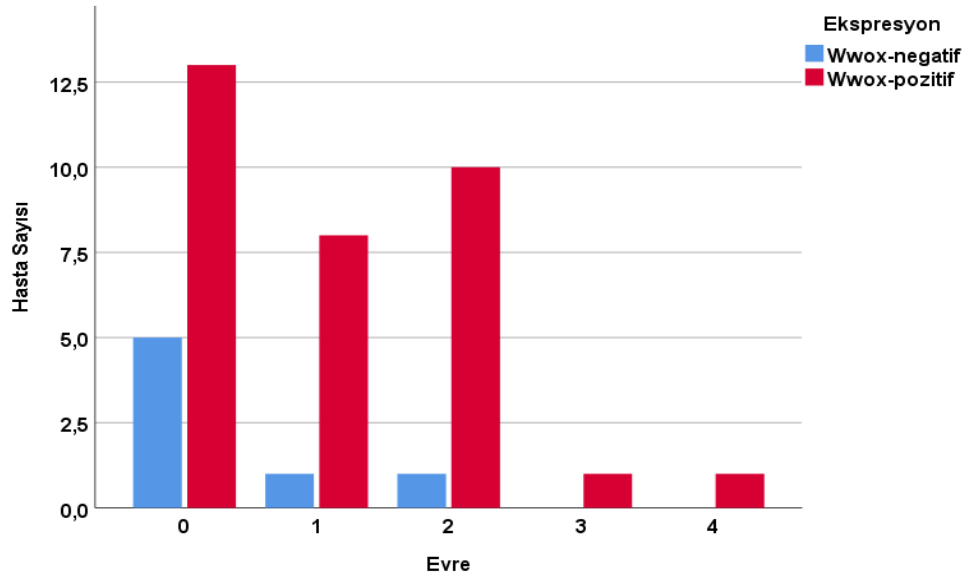
	WWOX Pozitif	WWOX Negatif	P
Hasta Sayısı	33	7	
Cinsiyet E/K	21/12	6/1	
Yaş	59,52	60	0,9
Evre (Rai)			
Evre 0	13	5	
Evre 1	8	1	
Evre 2	10	1	
Evre 3	1	0	
Evre 4	1	0	
WBC (10*3/uL)	24,2	21,1	0,444
LY (10*3/uL)	69,8	70,4	0,899
HB (g/DL)	14,2	14,1	0,954
PLT (10*3/uL)	248,5	237,7	0,851
LDH (IU/L)	209,2	180,7	0,135
B2M (mg/L)	2,9	2,5	0,367
CD38 (%)	3,1	3,9	0,81

WWOX pozitif ve negatif KLL hastalarındaki klinik özellikler karşılaştırmalı grafikler olarak sunulmuştur (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. WWOX pozitif ve negatif KLL hastalarındaki klinik özellikler

RAİ sınıflamasına göre WWOX negatif ve WWOX pozitif hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($P>0,05$) (Şekil 4.5)



Şekil 4.5. RAİ Sınıflamasına Göre WWOX Negatif Ve WWOX Pozitif KLL Hasta Sayıları

5. TARTIŞMA

WFOX geni yaygın kromozomal frajil bölge FRA16D'yi de kapsayan 1.11 mb uzunlukta oldukça büyük bir gendir. Yaygın kromozal frajil bölgeler özellikle replikasyon stresine duyarlı hassas kırılğan bölgelerdir. Bu bölgede bulunan bir tümör baskılayıcı gen varlığı özellikle oluşan DNA hasarlarına karşı genomik kararlılığın sağlanmasında önemlidir. Frajil bölgelerde meydana gelen heterozigozite kaybı (LOH), homozigot delesyonlar veya tümör baskılayıcı gen kaybı genomik instabilite oluşumuna neden olmakta ve özellikle onkogenik transformasyona yol açmaktadır. (Durkin 2007, Sara Del Mare 2009, Aqeilan, Croce 2007, Aqeilan, Abu-Remaileh 2014, Ishii, Vecchione 2003, Ishii Furukawa 2004, Morgan 2015, Salah 2010, Yuri 2013, Iliopoulos 2005).

Malign transformasyon, genetik değişikliklerin farklı kombinasyonlarından oluşan karmaşık çok aşamalı bir süreçtir. Bu süreç onkogenleri aktive eden ve tümör baskılayıcı genleri baskılayan genetik değişiklikleri içeren aşamaları içerir. Birçok tümör baskılayıcı genin ifadesi, epigenetik mekanizmalarla kanserde downregüle edilir. Gen promoter bölgelerinin CpG'den zengin bölgeleri sıklıkla kanserde metillenir, deasetilasyon ve lizin metilasyonu gibi histon modifikasyonları, tümör baskılayıcı genlerin promoter bölgesindeki kromatin yapısını değiştirir, böylece transkripsiyon faktörleri bağlanamaz ve transkripsiyon bloke edilir. WFOX transkripsiyon başlatma bölgesinde yüksek oranda (%66-70) CpG bölgelerine sahiptir. Birçok kanser türünde WFOX kaybı, kromatin yoğunlaşması ve gen susturulmasına yol açan promoter hipermetilasyon ve histon deasetilasyonu ile ilişkilidir. Ayrıca WFOX ekspresyonu post translasyonel olarak polyubiquitination ile düzenlenmektedir ve proteozomal degradasyon ile down regüle edilir. (Sara Del Mare 2009, Aqeilan, Abu-Remaileh 2014, Ishii, Vecchione 2003, Ishii Furukawa 2004, Iliopoulos 2005)

Biz çalışmamızda KLL'de WFOX'ın prognostik önemini araştırdık. WFOX gen ekspresyonunun KLL hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gösterdik. KLL hastalarında WFOX ekspresyonunda artmanın olması özellikle bu hastalığın genomik instabilite açısından

değerlendirilmesi gereken bir durumu ifade etmektedir. Bizim çalışma grubumuzda KLL grubunda karyotipik olarak kromozomal bir anomali gözlenmemiştir. Ancak KLL’de bazı karyotipik anomalilerin kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Özellikle t (4;11), del(6q23), t (8;14), t (11;14), t (11;18), del(11q22), (11q23/MLL), del(13q14), del(17p13) gibi translokasyon ve delesyonların KLL’de önemli prognostik faktörler olması açısından değerlendirilmesi gereken parametrelerdir. Genomik instabilite açısından bu kromozomlarda meydana gelen anomalilerin WWOX ile ilişkisinin araştırılması ileriki çalışmalarda yararlı olacaktır.

Ayrıca çalışmamızda WWOX gen ifadesi düzeyleri ile KLL prognostik faktörleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadık. Burada çalışılmış olan flow sitometrik parametrelere ek olarak FMC7, ZAP70, TNF α , VEGFR 2, IGVH, IL-6, IL-8, IL-10 gibi parametrelerin ileriki dönemlerde yapılacak çalışmalara eklenmesi KLL hastalarının klinik parametrelerle korelasyonunun tanımlanmasında yararlı olacaktır. (Reddy 2006).

Çeşitli çalışmalarda birçok tümör tiplerinde WWOX geni delesyonlarının tümör agresifliği açısından kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. (Sara Del Mare 2009, Paige 2001, Lo 2015, Morgan 2015, Ludes-Meyers 2003). WWOX geni polimorfizmlerinin tümör baskılayıcı fonksiyonlarının inaktivasyonuna yol açtığı, özellikle ekzon 4’te meydana gelen tek nükleoid delesyonlarının veya insersiyonların frameshift (çerçeve kayması) mutasyonlarına neden olarak Wwox protein kaybına, dolayısıyla proapoptotik ve apoptotik indüksiyonun azalmasına yol açtığı gösterilmiştir. Ekzon 8’de meydana gelen polimorfizmlerin de tümör metabolizmasında Wnt- β katenin sinyal yolunda tau, gsk-3 β , dvl-2 protein etkileşimini inhibe ederek wwox ekspresyonunun kaybına veya azalmasına yol açtığı gösterilmiştir (Paige 2001).

Çeşitli çalışmalarda normal dokularda saptanmayan yalnızca tümör hücrelerinde eksprese edilen anormal WWOX transkript varyantlarının varlığı bildirilmiştir. Anormal ekzon-ekzon kırılması nedeniyle oluşan bu anormal transkript varyantları sonucunda kodlanan Wwox protein izoformlarının özellikle tümör hücrelerinde Wwox ekspresyon kaybı ve azalması ile ilişkili olabileceği bu nedenle de kanser hücrelerinde Wwox tümör baskılayıcı fonksiyonunun kaybı ile sonuçlandığı gösterilmiştir. (Aqeilan, Abu-Remaileh 2014).

Günümüzde 5 farklı anormal Wwox transkript varyantı gösterilmiştir. Transkript varyant 2-4'ün ayrıca transkript varyant 2-5'in yalnızca tümöral hücrelerinde eksprese edildikleri normal hücrelerde eksprese edilmedikleri gösterilmiştir. Transkript varyant 2'de anormal kırılmış alternatif ekzon 9 ve 10 bulunurken, transkript varyant 5'te anormal kırılmış alternatif ekzon 6, 7, 8 ve 9 delesyonları bulunmaktadır. WWOX transkript varyant 3'te ekzon 6, 7 ve 8 delesyonları mevcut iken transkript varyant 5, 6, 7 ve 8 delesyonları bulunmaktadır. Transkript 3'te çerçeve içi delesyon gözlenirken transkript 4 ve 5'te çerçeve dışı delesyon mutasyonları izlenmektedir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda çeşitli kanser tiplerinde bir tümör baskılayıcı olarak işlev gören WWOX gen ekspresyonundaki azalma veya kaybının, bu anormal transkript varyantları nedeniyle kodlanan anormal Wwox protein izoformlarının ilişkili olduğu bildirilmiştir. (Sara Del Mare 2009, Paige 2001, Lo 2015, Morgan 2015, Ludes-Meyers 2003).

Bizim araştırmamızda KLL hastalarında Wwox ekspresyonundaki artışın özellikle hematolojik malignitelerin kronik alt gruplarında karsinojenik süreçte bu Wwox protein izoformlarının rolü üzerinde daha çok araştırma yapılması gerektiği yönünde ipuçları vermektedir. İleriki dönemlerde yapılacak çalışmalarda bu izoformların, WWOX transkript varyantları ile ilişkisinin araştırılması yararlı olacaktır.

Wwox proteini birçok protein ile etkileşime girerek programlı hücre ölümü, hücre döngüsünün baskılanması, onkogenik transkripsiyon faktörlerinin baskılanması, onkogenik sinyal ileti yollarının baskılanması, invazyon ve metastazın baskılanmasında önemli rol oynar. Bununla birlikte Wwox proteininin yapısal değişimleri veya diğer proteinlerle etkileşimleri Wwox tümör baskılayıcı fonksiyonunun düzenlenmesinde belirleyici bir faktördür. (Sara Del Mare 2009, Lo 2015, Chang 2015). Örneğin Wwox proteininin SDR domaini fosforilasyonu Wwox proteininin degrade olmasına dolayısıyla HIF1 α düzeylerinin destabilizasyonuna ve transkripsiyon aktivitesinin baskılanmasına yol açmaktadır. Bu da Wwox tümör baskılayıcı etkisinin kaybına neden olur. Ayrıca SDR domaininin; TAU, GSK 3 β ve DVL2 ile etkileşimi Wnt sinyal yolunda yer alan proliferasyonu ve hücre büyümesini sağlayan β -katenin sinyal yolağında baskılanmaya neden olacağından invazyon ve

metastazda önemli rol oynar. (Chang 2015).

Wwox proteininin WW1 ve WW2 domainleri direkt olarak diğer proteinlerle etkileşime girerek hücre döngüsünün kontrol noktalarında, genomik instabilitede, DNA hasar cevabında ve apoptozda önemli rol oynar. WW domainlerinin içerdiği PPXY ve LPXY motifleri ile p53, p63 ve p73 proteinleri ile etkileşime girerek özellikle proapoptotik süreçte dolayısıyla tümör baskılama regülasyonunda önemli rol oynar. Bir diğer önemli WW domain molekülü olan ITCH ile DNA hasar cevabının oluşması ve genomun bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynar. (Aqeilan, Croce 2007, Paige 2001, Lo 2015, Aqeilan, Abu-Remaileh 2014, Chang 2015, Morgan 2015, Salah 2010, Cui 2013).

Diğer bir yandan Wwox proteini apoptoz ile ilişkili yollarda antitümör aktivitesi ile ilgili faktörlerle yakından ilişkilidir. Wwox ekspresyonu mitokondriden sitokrom c salınımına yol açarak Bcl-2 ve Bcl-xl downregülasyonuna ve Bax upregülasyonuna neden olur. Wwox yüksek ekspresyonu aynı zamanda proapoptotik p53 upregülasyonunu sağladığı ve apoptotik kaspaz kaskadında prokaspaz 3 ve prokaspaz 9 aktivasyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Aqeilan, Croce 2007, Lo 2015, Ishii 2004, Salah 2010, Iliopoulos 2005).

Wwox proteininin etkileştiği en önemli proteinlerden biri de ZFRA (çinko parmak benzeri protein) proteindir. ZFRA, reseptör adaptör proteini TRADD (TNF reseptör ile ilişkili ölüm domeini proteini) ile etkileşime girerek tümör nekroz faktörü (TNF) kaynaklı hücre ölümünü düzenleyen kısa bir peptittir. JNK (c-Jun N-terminal kinaz), NF-κB (Nükleer faktör kappa B) ve WWOX proteinlerini downregüle eder. Sitokrom c salınımı apoptozda kritik bir basamak olarak kabul edilir. Dikkat çekici bir şekilde, aşırı eksprese edilmiş ZFRA, Bcl-2 ve Bcl-xL ekspresyonunu baskılayan, tümör baskılayıcı p53 ve Wwox proteinlerin apoptotik fonksiyonunu ortadan kaldıran ve mitokondriyal membran potansiyelinin yok edilmesini içeren, mitokondriyal yol aracılığı ile apoptozu indükler hücre ölümüne yol açar. ZFRA, TRADD, TRAFF ve RIP ile etkileşime girerek TNF kaynaklı hücre ölümünü etkiler ve stres yanıtı sırasında NF-B, JNK1, p53 ve Wwox aktivasyonunu negatif olarak düzenler (Lo 2015, Cui 2013, Hong 2007).

Bütün bu veriler ışığında şu ana kadar yapılan çalışmalarda solid doku tümörlerinde ve bazı hematolojik malignitelere temel olarak ve beklenildiği gibi bir

tümör baskılayıcı gen olan Wwox ekspresyonunu kaybı veya azalması gösterilmiş olmasına karşın bizim araştırmamızda KLL’de Wwox ekspresyonunun artışı yönünde değişim izlenmesi ileriki dönemlerde yapılacak çalışmalarda bu protein etkileşimlerinin KLL’de daha ayrıntılı bir şekilde araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Hematolojik maligniteler açısından KLL’de bu protein etkileşimleri arasında en önemli grubu apoptotik süreçte son derece önemli rolü olan p63, Bcl-2, Bcl-xl, kaspaz 3, kaspaz 9, TNF α ve ZFRA oluşturmaktadır.

Bununla birlikte özellikle hematolojik malignitelerde tedavisiz sağ kalım süresinin oldukça uzun olduğu ve evre açısından prognozun oldukça yavaş ilerlediği KLL’de spesifik Wwox bağlayan proteinlerin ekspresyon dengesindeki kayıpların veya değişikliklerin de bazı durumlarda WWOX ifadesinde artışlara yol açmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir.

Biz çalışmamızda WWOX ifadesinin KLL hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gösterdik. WWOX düzeyleri ile KLL'deki klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadık. Sonuç olarak, WWOX geninin anormal transkripsiyon varyantları, anormal protein izoformları ile ilişkilendirilebilir ve bu izoformlar, KLL hastalarında WWOX geninin tümör baskılayıcı etkilerini değiştirebilir.

KAYNAKLAR

- Aarhus M, Bruland O, Bredholt G, et al. Microarray analysis reveals down-regulation of the tumour suppressor gene WWOX and up-regulation of the oncogene TYMS in intracranial sporadic meningiomas. *J. Neurooncol.* 2008;88(3):251–259.
- Abu-Odeh M, Bar-Mag T, Huang H, Kim T, Salah Z, Abdeen SK, Sudol M, Reichmann D, Sidhu S, Kim PM, Aqeilan RI. Characterizing WW domain interactions of tumor suppressor WWOX reveals its association with multiprotein networks. *J Biol Chem* 2014; 289: 8865–80.
- Aqeilan RI, Abu-Remaileh M, Abu-Odeh M. The common fragile site FRA16D gene product WWOX: roles in tumor suppression and genomic stability. *Cell Mol Life Sci.* 2014 Dec;71(23):4589-99. doi: 10.1007/s00018-014-1724-y. Epub 2014 Sep 23.
- Aqeilan RI, Hagan JP, Aqeilan HA, Pichiorri F, Fong Ly and Croce CM: Inactivation of the WWOX Gene accelerates forestomach tumor progression in vivo. *Cancer Res.* 67:5606–5610. 2007
- Aqeilan RI, Kuroki T, Pekarsky Y, Albagha O, Trapasso F, Baffa R, Huebner K, Edmonds P, Croce CM. Loss of WWOX expression in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3053–8.
- Aqeilan RI, Pekarsky Y, Herrero JJ, Palamarchuk A, Letofsky J, Druck T, Trapasso F, Han SY, Melino G, Huebner K, Croce CM (2004) Functional association between Wwox tumor suppressor protein and p73, a p53 homolog. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(13):4401–4406
- Aqeilan RI, Croce CM. WWOX in biological control and tumorigenesis. *J Cell Physiol.* 2007 Aug;212(2):307-10.
- Bartek J, Lukas J (2007) DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation. *Curr Opin Cell Biol* 19(2):238–245

- Binet JL, Auquier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981; 48:198.
- Bork P, Sudol M. The WW domain: a signalling site in dystrophin? *Trends Biochem Sci* 1994; 19: 531–3.
- Chang NS, Doherty J, Ensign A, Schultz L, Hsu LJ, Hong Q. WOX1 is essential for tumor necrosis factor-, UV light-, staurosporine-, and p53-mediated cell death, and its tyrosine 33-phosphorylated form binds and stabilizes serine 46-phosphorylated p53. *J Biol Chem* 2005; 280: 43100–8
- Chang NS, Doherty J, Ensign A. JNK1 physically interacts with WW domain-containing oxidoreductase (WOX1) and inhibits WOX1-mediated apoptosis. *J Biol Chem* 2003; 278: 9195–202.
- Chang NS, Hsu LJ, Lin YS, Lai FJ, Sheu HM (2007) WW domain-containing oxidoreductase: a candidate tumor suppressor. *Trends Mol Med* 13(1):12–22
- Chang NS, Pratt N, Heath J, Schultz L, Sleva D, Carey GB, Zevotek N. Hyaluronidase induction of a WW domain-containing oxidoreductase that enhances tumor necrosis factor cytotoxicity. *J Biol Chem* 2001; 276: 3361–70.
- Chang Y, Lan YY, Hsiao JR, Chang NS. Strategies of oncogenic microbes to deal with WW domain-containing oxidoreductase. *Exp Biol Med* (Maywood). 2015 Mar;240(3):329-37. doi: 10.1177/1535370214561957. Epub 2014 Dec 7.
- Clarkson B, Strife A, Wisniewski D, Lambek CL, Liu C. Chronic myelogenous leukemia as a paradigm of early cancer and possible curative strategies. *Leukemia*. 2003; 17:1211–1262.
- Croce CM. Role of TCL1 and ALL1 in human leukemias and development. *Cancer Res*. 1999;59(suppl 7):1778s-1783s.
- Cui Z, Lin D, Cheng F, Luo L, Kong L, Xu J, Hu J, Lan F. The role of the WWOX gene in leukemia and its mechanisms of action. *Oncol Rep*. 2013 Jun;29(6):2154-62. doi: 10.3892/or.2013.2361. Epub 2013 Mar 22.

- Donati V, Fontanini G, Dell'Omodarme M, Prati MC, Nuti S, Lucchi M, Mussi A, Fabbri M, Basolo F, Croce CM, Aqeilan RI (2007) WWOX expression in different histological types and subtypes of non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Res* 13(3):884–891
- Druker BJ, O'Brien SG, Cortes J, Radich J. Chronic myelogenous leukemia. *Hematology*. 2002:111-135.
- Durkin, S.G.; Glover, T.W. (2007), "Chromosome fragile sites", *Annual Review of Genetics*, 41: 169–192, doi: 10.1146/annurev.genet.41.042007.165900, PMID 17608616
- Fabbri M, Iliopoulos D, Trapasso F, et al: WWOX gene restoration prevents lung cancer growth in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102:15611–15616. 2005.
- Finnis M, Dayan S, Hobson L, Chenevix-Trench G, Friend K, Ried K, Venter D, Woollatt E, Baker E, Richards R. Common chromosomal fragile site FRA16D mutation in cancer cells. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 1341–9.
- Fu J, Qu Z, Yan P, Ishikawa C, Aqeilan RI, Rabson AB, Xiao G (2011) The tumor suppressor gene WWOX links the canonical and noncanonical NF-kappaB pathways in HTLV-I Tax-mediated tumorigenesis. *Blood* 117(5):1652–1661
- Gardenswartz A, Aqeilan RI. WW domain-containing oxidoreductase's role in myriad cancers: clinical significance and future implications. *Exp Biol Med* 2014; 3: 253–63. DOI: 10.1177/1535370213519213.
- Gourley C, Paige AJ, Taylor KJ, et al. WWOX gene expression abolishes ovarian cancer tumorigenicity in vivo and decreases attachment to fibronectin via integrin $\alpha 3$. *Cancer Res*. 2009;69(11):4835–4842. ▪ Presents evidence that Wwox loss could have an important role in the spread of ovarian cancers.
- Gourley C, Paige AJ, Taylor KJ, Ward C, Kuske B, Zhang J, Sun M, Janczar S, Harrison DJ, Muir M, Smyth JF, Gabra H (2009) WWOX gene expression abolishes ovarian cancer tumorigenicity in vivo and decreases attachment to fibronectin via integrin $\alpha 3$. *Cancer Res* 69(11):4835–4842

- Guler G, Uner A, Guler N, Han SY, Iliopoulos D, Hauck WW, McCue P, Huebner K (2004) The fragile genes FHIT and WWOX are inactivated coordinately in invasive breast carcinoma. *Cancer* 100(8):1605–1614
- Guler G, Uner A, Guler N, Han SY, Iliopoulos D, McCue P, Huebner K (2005) Concordant loss of fragile gene expression early in breast cancer development. *Pathol Int* 55(8):471–478
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. IwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood* 2018; 131:2745.
- Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144(5):646–674
- Harper JW, Elledge SJ (2007) The DNA damage response: ten years after. *Mol Cell* 28(5):739–745
- Heerema NA. Chromosomes in lymphomas and solid tumors. *Cancer Invest.* 1998; 16:183–187.
- Hernández JA, Land KJ, McKenna RW. Leukemias, myeloma, and other lymphoreticular neoplasms. *Cancer* 1995; 75:381.
- Hong Q, Hsu LJ, Schultz L, Pratt N, Mattison J, Chang NS. Zfra affects TNF-mediated cell death by interacting with death domain protein TRADD and negatively regulates the activation of NF-kappaB, JNK1, p53 and WOX1 during stress response. *BMC Mol Biol.* 2007 Jun 13; 8:50.
- Iizuka, M. and Smith, M. M. Functional consequences of histone modifications. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 13: 154–160, 2003
- Iliopoulos D, Fabbri M, Druck T, Qin HR, Han SY and Huebner K: Inhibition of breast cancer cell growth in vitro and in vivo: effect of restoration of Wwox expression. *Clin Cancer Res.* 13:268–274. 2007.

- Iliopoulos D, Guler G, Han SY, Druck T, Ottey M, McCorkell KA, Huebner K. Roles of FHIT and WWOX fragile genes in cancer. *Cancer Lett.* 2006 Jan 28;232(1):27-36. Epub 2005 Oct 12.
- Iliopoulos D, Guler G, Han SY, Johnston D, Druck T, McCorkell KA, Palazzo J, McCue PA, Baffa R, Huebner K (2005) Fragile genes as biomarkers: epigenetic control of WWOX and FHIT in lung, breast and bladder cancer. *Oncogene* 24(9):1625–1633
- Ilsley JL, Sudol M, Winder SJ. The WW domain: linking cell signaling to the membrane cytoskeleton. *Cell Signal* 2002; 14: 183–9.
- Ishii H and Furukawa Y: Alterations of common chromosome fragile sites in hematopoietic malignancies. *Int J Hematol.* 79:238–242. 2004
- Ishii H, Mimori K, Inageta T, Murakumo Y, Vecchione A, Mori M, Furukawa Y (2005) Components of DNA damage checkpoint pathway regulate UV exposure-dependent alterations of gene expression of FHIT and WWOX at chromosome fragile sites. *Mol Cancer Res MCR* 3(3):130–138
- Ishii H, Vecchione A, Furukawa Y, et al: Expression of FRA16D/WWOX and FRA3B/FHIT genes in hematopoietic malignancies. *Mol Cancer Res.* 1:940–947. 2003
- Keating MJ, O'Brien S, Lerner S, et al. Long-term follow-up of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) receiving fludarabine regimens as initial therapy. *Blood* 1998; 92:1165.
- Kosla K, Pluciennik E, Kurzyk A, Jesionek-Kupnicka D, Kordek R, Potemski P and Bednarek AK: Molecular analysis of WWOX expression correlation with proliferation and apoptosis in glioblastoma multiforme. *J Neurooncol.* 101:207–213. 2011.
- Kurek KC, Del Mare S, Salah Z, Abdeen S, Sadiq H, Lee SH, Gaudio E, Zanesi N, Jones KB, DeYoung B, Amir G, Gebhardt M, Warman M, Stein GS, Stein JL, Lian JB et al (2010) Frequent attenuation of the WWOX tumor suppressor in osteosarcoma is

associated with increased tumorigenicity and aberrant RUNX2 expression. *Cancer Res* 70(13):5577–5586

Kuroki T, Yendamuri S, Trapasso F, Matsuyama A, Aqeilan RI, Alder H, Rattan S, Cesari R, Nolli ML, Williams NN, Mori M, Kanematsu T, Croce CM (2004) The tumor suppressor gene WWOX at FRA16D is involved in pancreatic carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 10(7):2459–2465

Lange EM, Beebe-Dimmer JL, Ray AM, et al. Genome-wide linkage scan for prostate cancer susceptibility from the University of Michigan prostate cancer genetics project: suggestive evidence for linkage at 16q23. *Prostate*. 2009;69(4):385–391. ■ Suggests that the WWOX locus could be involved in familial prostate cancer.

Liu Y, Ganesan TS. Tumour suppressor genes in sporadic epithelial ovarian cancer. *Reproduction*. 2002; 123:341–353.

Lo JY, Chou YT, Lai FJ, Hsu LJ. Regulation of cell signaling and apoptosis by tumor suppressor WWOX. *Exp Biol Med* (Maywood). 2015 Mar;240(3):383-91. doi: 10.1177/1535370214566747. Epub 2015 Jan 16.

Ludes-Meyers JH, Bednarek AK, Popescu NC, Bedford M, Aldaz CM. WWOX, the common chromosomal fragile site, FRA16D, cancer gene. *Cytogenet Genome Res*. 2003;100(1-4):101-10.

Lukusa, T.; Fryns, J.P. (2008), "Human chromosome fragility", *Biochimica et Biophysica Acta*, 1779 (1): 3–16, doi: 10.1016/j.bbagr.2007.10.005, PMID 18078840

Mahajan NP, Whang YE, Mohler JL, Earp HS (2005) Activated tyrosine kinase Ack1 promotes prostate tumorigenesis: role of Ack1 in polyubiquitination of tumor suppressor Wwox. *Cancer Res* 65(22):10514–10523

Morgan S Schrock and Kay Huebner. WWOX: A fragile tumor suppressor. *Exp Biol Med* (Maywood). 2015 Mar;240(3):296-304. doi: 10.1177/1535370214561590. Epub 2014 Dec 22

- Nakayama S, Semba S, Maeda N, Aqeilan RI, Huebner K, Yokozaki H (2008) Role of the WWOX gene, encompassing fragile region FRA16D, in suppression of pancreatic carcinoma cells. *Cancer Sci* 99(7):1370–1376
- Negrini S, Gorgoulis VG, Halazonetis TD (2010) Genomic instability—an evolving hallmark of cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11(3):220–228
- Paige AJW, Taylor KJ, Taylor C, Hillier SG, Farrington S, Scott D, Porteous DJ, Smyth JF, Gabra H, Watson JEV. WWOX: a candidate tumor suppressor gene involved in multiple tumor types. *PNAS* 2001; 98: 11417–22
- Parikh SA, Leis JF, Chaffee KG, et al. Hypogammaglobulinemia in newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia: Natural history, clinical correlates, and outcomes. *Cancer* 2015; 121:2883.
- Qin HR, Iliopoulos D, Semba S, Fabbri M, Druck T, Volinia S, Croce CM, Morrison CD, Klein RD, Huebner K (2006) A role for the WWOX gene in prostate cancer. *Cancer Res* 66(13):6477–6481
- Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975; 46:219.
- Rai KR. A critical analysis of staging in CLL. In: *Chronic Lymphocytic Leukemia: Recent Progress and future Direction*. 1987 UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, New Series, Vol. 59. Gale RP, Rai KR (Eds). Alan R Liss, New York 1987. p.253.
- Ramos D, Aldaz CM. Wwox, a chromosomal fragile site gene and its role in cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2006; 587:149–159.
- Rawstron AC, Kreuzer KA, Soosapilla A, et al. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. *Cytometry B Clin Cytom* 2018; 94:121.

- Rawstron AC, Villamor N, Ritgen M, et al. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia* 2007; 21:956.
- Reddy KS. Chronic lymphocytic leukaemia profiled for prognosis using a fluorescence in situ hybridisation panel. *Br J Haematol.* 2006 Mar;132(6):705-22.
- Ried K, Finnis M, Hobson L, Mangelsdorf M, Dayan S, Nancarrow JK, Woollatt E, Kremmidiotis G, Gardner A, Venter D, Baker E, Richards RI (2000) Common chromosomal fragile site FRA16D sequence: identification of the FOR gene spanning FRA16D and homozygous deletions and translocation breakpoints in cancer cells. *Hum Mol Genet* 9(11):1651–1663
- Salah Z, Aqeilan R, Huebner K. WWOX gene and gene product: tumor suppression through specific protein interactions. *Future Oncol.* 2010 Feb;6(2):249-59. doi: 10.2217/fon.09.152.
- Salomoni P, Pandolfi PP. The role of PML in tumor suppression. *Cell.* 2002; 108:165–170.
- Sara Del Mare, Zaidoun Salah, and Rami I. Aqeilan (2009) WWOX: Its Genomics, Partners, and Functions. *J Cell Biochem.* 2009 Nov 1;108(4):737-45. doi: 10.1002/jcb.22298.
- Schichman SA, Canaani E, Croce CM. Self-fusion of the ALL1 gene: a new genetic mechanism for acute leukemia. *JAMA.* 1995; 273:571–576.
- Schuchardt BJ, Bhat V, Mikles DC, McDonald CB, Sudol M, Farooq A. Molecular origin of the binding of WWOX tumor suppressor to ErbB4 receptor tyrosine kinase. *Biochemistry* 2013; 52: 9223–36.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69:7.
- Soussi T. The p53 tumour suppressor gene: a model for molecular epidemiology of human cancer. *Mol Med Today.* 1996; 2:32–37.
- Struski S, Doco-Fenzy M, Cornillet-Lefebvre P. Compilation of published comparative genomic hybridization studies. *Cancer Genet Cytogenet.* 2002; 135:63–90.

- Sudol M, Chen HI, Bougeret C, Einbond A, Bork P. Characterization of a novel protein-binding module: the WW domain. *FEBS Lett* 1995; 369: 67–71
- Sze CI, Su M, Pugazhenti S, Jambal P, Hsu LJ, Heath J, Schultz L, Chang NS. Down-regulation of WW domain-containing oxidoreductase induces Tau phosphorylation in vitro: a potential role in Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 2004; 279: 30498–506.
- Wang HY, Juo LI, Lin YT, Hsiao M, Lin JT, Tsai CH, Tzeng YH, Chuang YC, Chang NS, Yang CN, Lu PJ. WW domain-containing oxidoreductase promotes neuronal differentiation via negative regulation of glycogen synthase kinase 3 β . *Cell Death Differ* 2012; 19: 1049–59
- Wang X, Chao L, Jin G, Ma G, Zang Y and Sun J: Association between CpG island methylation of the WWOX gene and its expression in breast cancers. *Tumour Biol.* 30:8–14. 2009.
- World health organization classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, revised 4th edition, Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. (Eds), IARC, Lyon 2017.
- Yang J, Cogdell D, Yang D, Hu L, Li H, Zheng H, Du X, Pang Y, Trent J, Chen K, Zhang W (2010) Deletion of the WWOX gene and frequent loss of its protein expression in human osteosarcoma. *Cancer Lett* 291(1):31–38
- Yang JL and Zhang W: WWOX tumor suppressor gene. *Histol Histopathol.* 23:877–882. 2008.
- Yendamuri S, Kuroki T, Trapasso F, Henry AC, Dumon KR, Huebner K, Williams NN, Kaiser LR, Croce CM (2003) WW domain containing oxidoreductase gene expression is altered in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 63(4):878–881
- Yuri Pekarsky, Alessandra Drusco, Eugenio Gaudio, Carlo M Croce, Nicola Zanesi. Common fragile sites and genomic instability. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology.* June 2013. DOI: 10.4267/2042/51877.



T.C
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı: 2017/

07/09/2017

Sayın Yrd. Doç. Dr. Bahadır BATAR

Namık Kemal Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna sunmuş olduğunuz "**Hematolojik Malignitelere Wwox'ın Prognostik Öneminin Araştırılması**" başlıklı ve 2017/76/07/11 nolu araştırmanız incelenmiş olup, yürütülmesine etik açıdan herhangi bir sakınca olmadığına oybirliği/oyçokluğu ile karar verilmiştir.

NKÜ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu

Unvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile ilişki		Katılım		İmza
	Var	Yok	Evet	Hayır	
Prof. Dr. Ebru YEŞİLDAĞ	VO	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. M. Metin DONMA	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ali Rıza KIZILER	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Nicel TAŞDEMİR	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Savaş GÜZEL	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Yakup ALBAYRAK	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Gündüz YÜMÜN	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Berna ERDAL YILDIRIM	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Birol TOPÇU	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Demet ÖZKARAMANLI GÜR	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Sonat Pınar KARA	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk ÇOŞKUNKAN	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Zeynep KURTULUŞ TOSUN	V <input type="checkbox"/>	Y <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Başkanın Unvanı /Adı/ Soyadı /İmza: Prof. Dr. Ebru YEŞİLDAĞ

Namık Kemal Mah. Kampüs Cad. No: 1 59030
Telefon: (O 282) 250 59 04 - Faks: (O 282) 250 99 28
Elektronik Ağ: <http://tip.nku.edu.tr>

Ayrıntılı Bilgi İçin: Engin Deniz RENÇBER
e-posta: edrenber@nku.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ



HALİL HANCI

KURUM & İLETİŞİM BİLGİLERİ

Kadro Yeri	: SAĞLIK ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ / GENETİK LABORATUVAR
Görev Yeri	: SAĞLIK ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ / GENETİK LABORATUVAR
Telefon (İş)	: 0282 250 2822507226 / Dahili : 2822507226
Telefon (Cep)	: 0-532-509 28 70
Fax	:
E-Posta	: hhanci@nku.edu.tr / hhanci@nku.edu.tr
Web Sayfası	: hhanci.cv.nku.edu.tr
İletişim Adresi	: HÜRRİYET MAH. ŞEHİT MESUT BAKAN CAD. B BLOK NO: 10 2 İÇ KAPI NO: 8 SÜLEYMANPAŞA TEKİRDAĞ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2016-	NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ / TÜMÖR BİYOLOJİSİ VE İMMUNOLOJİSİ
Lisans 1992	DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ / TIBBİ BİYOLOJİK BİLİMLER

YABANCI DİL BİLGİLERİ

İngilizce (Gelişmiş)

İDARİ GÖREVLER

TIBBİ BİYOLOG 2010-	NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ / TIBBİ GENETİK
TIBBİ BİYOLOG 1994-2010	TRAKYA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ HASTANESİ / PATOLOJİ A.B.D.

ÜYELİKLER

Üye 2018-	EUROPEAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH
Üye 2018-	MOLEKÜLER KANSER ARAŞTIRMA DERNEĞİ
Üye 2016-	TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK DERNEĞİ
Üye 2016-	TÜRK İMMUNOLOJİ DERNEĞİ
Üye	SOCIETY FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER (SITC)
Üye	AMERICAN SOCIETY FOR HISTOCOMPATIBILITY AND IMMUNOGENETICS (ASHI)
Üye	MOLECULAR DIAGNOSTICS NETWORK
Üye	ASSOCIATION FOR MOLECULAR PATHOLOGY

Üye	CANADIAN SOCIETY FOR MEDICAL LABORATORY SCIENCE (CSMLS)
Üye	AMERICAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS - ASHG
Üye	EUROPEAN FEDERATION FOR IMMUNOGENETICS
Üye	ASSOCIATION FOR CANCER IMMUNOTHERAPY (CIMT)

ÜNİVERSİTELER ARASI KURUL BİLİM ALANI BİLGİLERİ

Sağlık Bilimleri Temel Alanı / Tıbbi Biyoloji

YAYINLAR

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Baykal S. , Batar B., Nalbantoğlu A. , Albayrak Y. , Hancı H., Potas N., Durankuş F., Beyazyüz M., Karabekiroğlu K., Altered methyltetrahydrofolate reductase gene polymorphism in mothers of children with attention deficit and hyperactivity disorder., Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, vol. 88, pp. 215-221, 2019.
2. Hancı H., Batar B. , Topçu B. , Investigation Of Wwox Expression In Chronic Lymphocytic Leukemia Patients , Union of Thrace Universities 2nd International Health Sciences Congress, pp. 1-250, 2018.

KATILDIĞI BİLİMSEL ETKİNLİKLER

1. 2.ULUSLARARASI SAĞLIK BİLİMLERİ KONGRESİ, Yer:2.ULUSLARARASI SAĞLIK BİLİMLERİ KONGRESİ T.N.K.Ü.TEKİRDAĞ/TÜRKİYE, Düzenleyenler:TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİYESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, 15.11.2018-17.11.2018.
2. 2018 TEKİRDAĞ ONKOLOJİ SEMPOZYUMU , Yer:2018 TEKİRDAĞ ONKOLOJİ SEMPOZYUMU RAMADA OTEL TEKİRDAĞ, Düzenleyenler:DOÇ.DR.TARKAN YETİŞİĞİT KANSER İMMUNOTERAPİ DERNEĞİ, 15.09.2018-16.09.2018.
3. VI. TEKİRDAĞ HEMATOLOJİ SEMPOZYUMU, Yer:VI. TEKİRDAĞ HEMATOLOJİ SEMPOZYUMU RAMADA OTEL TEKİRDAĞ, Düzenleyenler:PROF.DR.BURHAN TURGUT, 12.05.2018-13.05.2018.
4. KANSERDE KEMOTERAPİ DİRENCİ VE EPIGENETİK TEDAVİ YAKLAŞIMLARI , Yer:KANSERDE KEMOTERAPİ DİRENCİ VE EPIGENETİK TEDAVİ YAKLAŞIMLARI SEMPOZYUMU N.K.Ü TEKİRDAĞ, Düzenleyenler:Yrd. Doç. Dr. Tuğba Bağcı ÖNDER, 12.12.2017-12.12.2017.
5. SİTOTOKSİSİTE VE AKİMSİTOMETRİ ÇALIŞTAYI, Yer:Sitotoksiste ve Akimsitometri Çalıştayı N.K.Ü.Tekirdağ , Düzenleyenler:Prof.Dr.M.İzzet TİTİZ Prof.Dr.Burhan TURGUT, 11.05.2016-11.05.2016.
6. TIBBİ GENETİK EĞİTİM SEMPOZYUMU, Yer:Tıbbi Genetik Eğitim Sempozyumu N.K.Ü TEKİRDAĞ, Düzenleyenler:Yrd.Doç.Dr.Hatip AYDIN, 16.01.2016-16.01.2016.
7. X.İMMUNOLOJİ SEMPOZYUMU, Yer:X.İmmunoloji sempozyumu N.K.Ü TEKİRDAĞ, Düzenleyenler:Prof.Dr.Burhan TURGUT Prof.Dr.Gülnur DENİZ, 27.05.2015-30.05.2015.
8. V. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ KONGRESİ, Yer:V. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi Ege üniversitesi/izmir, Düzenleyenler:Ege Üniversitesi Tıbbi Biyoloji A.B.D. Prof.Dr.Nejat Topçuoğlu , 21.09.1998-24.09.1998.
9. IV. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ KONGRESİ, Yer:IV. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi Dokuz Eylül Üniversitesi/izmir, Düzenleyenler:Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Biyoloji A.B.D. Prof.Dr.Meral SAKIZLI, 24.06.1996-28.06.1996.

