

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GLİAL BEYİN TÜMÖRLERİNİN İLERLEMESİNDE ROL
OYNAYAN GEN İFADE DEĞİŞİKLİKLERİNİN VE
YOLAKLARIN İNCELENMESİ**

Nurhan KÜLCÜ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2021

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GLİAL BEYİN TÜMÖRLERİNİN İLERLEMESİNDE ROL
OYNAYAN GEN İFADE DEĞİŞİKLİKLERİNİN VE
YOLAKLARIN İNCELENMESİ**

Nurhan KÜLCÜ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU

KOCAELİ
2021

ÖZET

Glial Beyin Tümörlerinin İlerlemesinde Rol Oynayan Gen İfade Değişikliklerinin ve Yolakların İncelenmesi

Amaç: Glial beyin tümörleri, tüm beyin tümörlerinin ve Merkezi Sinir Sistemi tümörlerinin yaklaşık %30'unu ve tüm malign beyin tümörlerinin ise %80'ini oluşturur. Vakaların yaklaşık %55'inde glioma, oldukça agresif bir tümör olan derece IV glioblastoma olarak ortaya çıkar. Glioblastomalı hastalar halihazırda, bir yıldan biraz daha uzun süren bir medyan sağkalım ile kötü bir prognoza sahiptir. Bu tez çalışmasının amacı; glial beyin kanserinde gen ifade farklılıklarının analiz edilmesi, ilgili gen ve yolakların incelenip gliomanın oluşumu ve/veya ilerlemesi üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Yöntem: GEO (Gene Expression Omnibus) veri tabanından 150 glioma örneği ve 15 normal beyin dokusu örneği çalışmaya dahil edildi. Tümörlü dokular ile normal dokular arasındaki ve tümörlü dokularda farklı dereceler arasındaki diferansiyel ekspresyon olan genleri (DEG'leri) elde etmek için GeneSpring Software versiyon 14.9_gx_pa kullanıldı. DEG listeleri DAVID arayüzüne yüklenip, p-değeri <0.05 olarak kabul edilerek DEG'ler arasındaki moleküler yolaklar belirlendi ve gene ontoloji (GO) analizi yapıldı. Her Evrede DEG'ler arasındaki potansiyel ilişkiyi keşfetmek için, Cytoscape 8.3.2 yazılımında STRING uygulaması uygulandı ve protein-protein etkileşim bilgileri doğrultusunda yüksek derecede bağlantıya sahip ilk 15 gen merkez gen olarak seçildi. Merkez genlerin potansiyel bilgilerini belirlemek için DAVID üzerinden GO ve KEGG yolak analizleri de yapıldı.

Bulgular: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her derecede, ekspresyonu en çok artan ilk 10 gen; BTN1A1, CDX4, HES2, IL36G, KRTAP4-8, KRTAP9-4, NME9, OR7G3, POU5F2 ve TAS2R41, ekspresyonu en çok azalan ilk 10 gen; AFP, ALB, AMBP, APOA2, FABP1, HBG1, KRT18, PMEL, PRAME ve TFF1 olarak belirlendi. Tanımlanan DEG'lerin yolak analizlerinde tüm evreler; nöroakrif ligand-reseptör etkileşimi, sitokin-sitokin reseptör etkileşimi ve hücre yapışma molekülleri ile anlamlı derecede ilişkili olarak bulundu. ALB, CXCL8, EGF, EGFR, FN1, GAPDH, GNG7, GNG13, GNGT1, INS, KNG1, MAPK1, MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53 ve VEGFA merkez gen olarak belirlendi. Tanımlanan DEG'lerin ve merkez genlerin gen ontoloji fonksiyonel analizleri sonucunda; sinyal iletimi, apoptotik sürecin negatif düzenlenmesi, protein bağlanması ve hücre çoğalması gibi terimler glial beyin kanserleri ile ilişkilendirildi.

Sonuç: Analiz sonucunda merkez genlerden; ALB, EGF, EGFR, FN1, IL6, IL10, MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53 ve VEGFA'nın daha önceki çalışmalar doğrultusunda glial beyin tümörleri ile ilişkisi desteklenirken, CXCL8, GAPDH, GNG7, GNG13, GNGT1, INS, KNG1 ve MAPK1 genlerinin ileride yapılacak çalışmalarla araştırılması gereken birer potansiyel biyobelirteç adayı olduğu belirlendi. Tanımlanan tüm veriler, glial beyin

tümörlerinin ilerlemedesinde etkili olan moleküler mekanizmaların kavranmasını ve glial beyin tümörlü hastalar için potansiyel tedavi hedefleri sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Glioma, gen ekspresyon, mikrodizin analizi, metabolik ağlar ve yollar



ABSTRACT

Investigation Of Gene Expression Changes And Pathways That Play A Role In The Progression Of Glial Brain Tumors

Objective: Glial brain tumors constitute nearly 30% of all brain tumors and Central Nervous System tumors, and 80% of all of the malignant brain tumors. Nearly 55% of cases have a glioma seen as grade IV glioblastoma, a highly aggressive type of tumor. Patients with glioblastoma have already a poor prognosis with a median survival of over one year. The aim of this study is to analyze gene expression differences for glial brain cancer, to examine the related genes and pathways, and to investigate their effects on glioma formation and/or progression.

Method: From GEO (Gene Expression Omnibus) database, 150 glioma samples and 15 normal brain tissue samples were included in the study. GeneSpring Software version 14.9_gx_pa was used to find differentially expressed genes (DEGs) between tumor tissues and normal tissues, and among different grades of tumor tissues. DEG lists were uploaded to the DAVID interface and <0.05 was set as p-value; afterwards, molecular pathways between DEGs were identified and gene ontology (GO) analysis was performed. STRING application was used in Cytoscape 8.3.2 software to reveal the potential relationship between DEGs for each Stage and the first 15 genes with high linkage were selected as the central genes in line with protein-protein interaction data. In order to determine the potential of the central genes, GO and KEGG pathway analyzes were also performed via DAVID.

Results: The top 10 up-regulated genes compared to the control group were determined as follows: BTN1A1, CDX4, HES2, IL36G, KRTAP4-8, KRTAP9-4, NME9, OR7G3, POU5F2 and TAS2R41. And the top 10 down-regulated genes compared to the control group were determined as follows: AFP, ALB, AMBP, APOA2, FABP1, HBG1, KRT18, PMEL, PRAME and TFF1. According to the pathway analyzes of the identified DEGs; it was found that there was a significant correlation between all stages and neuroactive ligand-receptor interaction, cytokine-cytokine receptor interaction, and cell adhesion molecules. ALB, CXCL8, EGF, EGFR, FN1, GAPDH, GNG7, GNG13, GNGT1, INS, KNG1, MAPK1, MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53 and VEGFA were determined as central genes. As a result of GO functional analysis of the identified DEGs and central genes; terms such as signal transduction, negative regulation of the apoptotic process, protein binding, and cell proliferation were associated with glial brain cancers.

Conclusions: As a result of the analysis, it was determined that while the correlation of ALB, EGF, EGFR, FN1, IL6, IL10, MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53, and VEGFA central genes with glial brain tumors was supported as it had been in previous studies, CXCL8, GAPDH, GNG7, GNG13, GNGT1, INS, KNG1, and MAPK1 genes were

determined to be potential biomarker candidates that should be examined in future studies. All the identified data can provide insight for the molecular mechanisms involved in the progression of glial brain tumors and potential treatment targets for patients with glial brain tumors.

Keywords: Glioma, gene expression, microarray analysis, metabolic networks and pathways



TEŞEKKÜR

Tıbbi Genetik alanında çalışma şansını veren değerli hocamız **Prof. Dr. Hakan SAVLI'ya**,

Yüksek lisans öğrenimim süresince tecrübe ve bilgilerinden büyük ölçüde istifade ettiğim, değerli hocam **Doç. Dr. Naci ÇİNE'ye**,

Tez danışmanlığımı üstlenen ve her türlü yardım, ilgi ve desteğini esirgemeyen, öneri ve eleştirileriyle beni yönlendiren, gösterdiği anlayışı ve paylaştığı bilgi birikimiyle yanımda olan değerli danışmanım **Dr. Öğr. Üyesi Deniz SÜNNETÇİ AKKOYUNLU'ya**,

Bu yolda birlikte yürüdüğümüz değerli arkadaşlarım; **Gizem ALTAY, Bilge DURSUN, Bahriye GÜR ve Gülüşan UZUNER'e**,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve her daim desteklerini hissettiğim başta **Dr. Öğr. Üyesi Rüştü TAŞTAN** olmak üzere tüm **Kocaeli Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu ailesine**,

Gerek tez dönemi gerekse hayatımın diğer alanlarında desteğini esirgemeyen sevgili **Murat Emre SARIKAYA'ya**,

Hayallerimi gerçekleştirmem için bana destek olan, karşılaştığım tüm zorlukları benimle birlikte göğüsleyen, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan ve vereceğim kararlarda daima yanımda olacaklarını bildiğim annem **Şadiye KÜLCÜ** ve babam **Ali KÜLCÜ'ye**, hayatımın her anında varlığıyla bana güç veren, tüm sıkıntılı süreçlerimin üstesinden gelmem için beni motive eden kıymetli ablalarım **Nurgül KÜLCÜ** ve **Nurdan ASILTÜRK'e** ve ailemin diğer tüm değerli bireyelerine,

Gerek meslek gerek özel hayatımda aynı paydada buluşabildiğim meslektaş, arkadaş ve dostlarıma en içten sevgilerimle teşekkürlerimi sunarım.

Nurhan KÜLCÜ

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bilim Uzmanlığı tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Glial Beyin Tümörlerinin İlerlemesinde Rol Oynayan Gen İfade Değişikliklerinin ve Yolakların İncelenmesi” başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

24 / 05 / 2021

Nurhan KÜLCÜ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
ORJİNALLİK BİLDİRİMİ	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1.Kanser	1
1.2.Merkezi Sinir Sistemi Tümörleri	3
1.3.Beyin Tümörleri	4
1.3.1.Beyin Tümörlerinin Epidemiyolojisi	4
1.3.2.Beyin Tümörlerinin Etiyolojisi	6
1.3.3.Beyin tümörlerinin belirtileri	6
1.3.4.Beyin tümörlerinin tanısı ve tedavisi	6
1.3.5.Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması	7
1.4.Glial Beyin Tümörleri	8
1.4.1.Glial Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması	9
1.4.2.Glial Beyin Tümörlerinin Moleküler Patojenezi	11
1.4.2.1.IDH1 ve IDH2 mutasyonu	11
1.4.2.2.1p/19q kodelesyonu	13
1.4.2.3.Histon mutasyonları	13
1.4.2.4.MGMT metilasyonu	14
1.4.2.5.TP53 mutasyonu	15
1.4.2.6.MDM2 ekspresyonu	16
1.4.2.7.GFAP ekspresyonu	17
1.4.2.8.LOH 10q	17
1.4.2.9.PTEN mutasyonu	17
1.4.2.10.TERT promotör mutasyonu	18
1.4.2.11.ATRX mutasyonu	18
1.4.2.12.EGFR ekspresyonu	18
1.4.2.13.CDKN2A ve/veya CDKN2B	19
1.4.2.14.RB1 mutasyonu	19
1.4.2.15.PDGF ekspresyonu	20
1.4.2.16.Ki-67 proliferasyon indeksi	20
1.4.3.Glial Beyin Tümörlerinin Epidemiyolojisi	21

1.4.4.Glial Beyin Tümörlerinin Etiyolojisi	22
1.4.5. Glial Beyin Tümörlerinin Belirtileri	22
1.4.6.Glial Beyin Tümörlerinin Tanısı	23
1.4.7.Glial Beyin Tümörlerinin Tedavisi	24
1.4.7.1.Cerrahi tedavi	24
1.4.7.2.Radyoterapi	25
1.4.7.3.Farmakoterapi	27
1.4.7.4.İzleme ve takip değerlendirmeleri	28
1.4.8.Glial Beyin Tümörlerinin Prognuzu	29
2. AMAÇ	30
3. YÖNTEM	31
3.1.Mikroarray Verileri	31
3.2.Ekspresyon Analizi	33
3.3. DEG'lerin Yolak Analizi	33
3.4.Protein-Protein Etkileşim Ağı ve Modül Analizi	34
3.5. Merkez Genlerinin Hayatta Kalma Analizi	34
3.6. Merkez Gen İfade Düzeylerinin Karşılaştırılması	34
4. BULGULAR	35
4.1.Hastalar Ait Temel Bulgular	35
4.2. Ekspresyonu Değişen Genler	35
4.3. DEG'lerin Yolak Analizi	39
4.4.DEG'lerin GO Analizi	45
4.5.Protein Protein Etkileşim Ağı ve Modül Analizi	51
4.6.Merkez Genlerin KEGG ve GO Analizi	58
4.7. Merkez Genlerin Hayatta Kalma Analizi	62
4.8. Merkez Gen İfade Düzeylerinin Karşılaştırılması	66
5. TARTIŞMA	69
5.1. Ekspresyonu Değişen Genler	69
5.2. Yolak Analizleri	74
5.3. DEG'lerin GO Analizi	86
5.4.Merkez Genler	88
5.5.Merkez Genlerin KEGG Yolak Analizi	93
5.6.Merkez Genlerin GO Analizi	96
5.7.Merkez Genlerin Hayatta Kalma Analizi ve İfade Düzeylerinin Karşılaştırılması	97
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	98
7. KAYNAKLAR	100
8. ÖZGEÇMİŞ	114

SİMGELER ve KISALTMALAR

%	: Yüzde
~	: Yaklaşık
AFP	: Alfa-fetoprotein
ALB	: Albümin
allo-HCT	: Allojenik Hematopoietik Hücre Transplantasyonu
ALT	: Telomerlerin Alternatif Uzaması
AMBP	: Alfa-1-mikroglobulin / bikunin öncü geni
APC	: Antijen Sunan Hücre
APO	: Apolipoprotein
bç	: Baz Çifti
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
BTN	: Butirofilin
Ca ²⁺	: Kalsiyum İyonu
CAM	: Hücre Yapışma Molekülü
CDKN	: Sikline Bağımlı Kinaz İnhibitörü
CICR	: Ca ²⁺ + ile uyarılan bir Ca salımı
CIS	: Karsinoma in situ
CTL	: Sitotoksik T Lenfosit
DAMP	: Hasarla İlişkili Moleküler Model
DEG	: Diferansiyel Ekspres Olan Gen
DÖ	: Doğal Öldürücü
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ECM	: Hücre Dışı Matris
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ENaC	: Epitelyal Sodyum Kanalı
FABP1	: Yağ Asidi Bağlayıcı Protein
FAK	: Fokal Yapışma Kinaz
FN	: Fibronektin
FOXO	: Forkhead Kutusu Transkripsiyon Faktörleri
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
GAPDH	: Gliseraldehit-3-fosfat Dehidrojenaz
GBM	: Glioblastoma Multiforme
GFAP	: Glial Fibriler Asidik Protein
GLOBOCAN	: Global Kanser İstatistikleri
GNG13	: Guanin Nükleotit Bağlayıcı Protein, Gamma 13

GNG7	: Guanin Nükleotid Bağlayıcı Protein 7
GO	: Gen Ontolojisi
GPCR	: G Protein Bağlı Reseptör
GSC	: Glioma Kök Benzeri Hücreler
GVHD	: Graft-Versus-Host Hastalığı
Gy	: Grey
HbF	: Fetal Hemoglobini
HBV	: Hepatit B Virüsü
HES2	: Hes Ailesi bHLH Transkripsiyon Faktörü 2
HG	: Hidroksiglutarata
HGG	: Yüksek Dereceli Gliomalar (High-Grade Gliomas)
HIF-1	: Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör 1
HR	: Tehlike Oranı (Hazard Ratio)
IBD	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
IDH	: İzositrat Dehidrogenaz
Ig	: İmmüoglobulin
IL	: İnterlökin
IL36G	: İnterlökin 36 gama
İPA	: İnsan Protein Atlası
KAP	: Keratin İlişkili Protein
KNG1	: Kininojen-1
KPS	: Karnofsky Performans Skalası
KRT18	: Keratin 18
KRTAP4-8	: Keratin İlişkili Protein 4-8
KRTAP9-4	: Keratin İlişkili Protein 9-4
LGG	: Düşük Dereceli Gliomalar (Low-Grade Gliomas)
LI	: Etiketleme İndeksi
LOH	: Heterozigotluk Kaybı (Loss of Heterozygosity)
LOH 10q	: Kromozom 10 Heterozigotluk Kaybı
M.Ö.	: Milattan Önce
MAPK1	: Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz 1
MGMT	: O6-Metilguanin-DNA Metiltransferaz
MHC	: Majör Histo-Uyumluluk Kompleksi
MPO	: Miyeloperoksidaz
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NAc	: Nükleus Akkumbensi
NADP +	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NCI	: Ulusal Kanser Enstitüsü (National Cancer Institute)
NE	: Nötrofil Elastaz
NET	: Nötrofil Hücre Dışı Tuzakları
NO	: Nitrik Oksit
p	: Kromozomun Kısa Kolu
PBT	: Primer Beyin Tümörleri
PDGF	: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PEML	: Premelanozom Protein geni
PET	: Pozitron Emisyon Tomografi
PG	: Proteoglikan
pHGG	: Pediatrik Yüksek Dereceli Glioma
PI3K	: Fosfatidilinozitol 3'-kinaz
PIP3	: Fosfatidilinositol-3,4,5-Trifosfat
POU5F2	: POU Alanı, Sınıf 5, Transkripsiyon Faktörü 2
PPAR	: Peroksizom Proliferatör İle Aktive Edilen Reseptör
PPE	: Protein-Protein Etkileşim
PRAME	: Melanomada Önceden Eksprese Edilen Antijen
PTEN	: Fosfataz ve Tensin Homoloğu
q	: Kromozomun Uzun Kolu
RB	: Retinoblastoma
RKÇ	: Randomize Kontrollü Çalışma
SBT	: Sekonder Beyin Tümörleri
SFK	: Src Ailesi Kinaz
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SPECT	: Tek Foton Emisyonlu Bilgisayarlı Tomografi
SR	: Sarkoplazmik Retikulumun
STAT3	: Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatör 3
T3	: Triiyodotironin
TCGA	: Kanser Genomu Atlas Araştırma Ağı (The Cancer Genome Atlas)
TERT	: Telomeraz Ters Transkriptaz
TFF	: Trefoil Faktör
TGF	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
TH	: Tiroid Hormonu
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TP53	: Tümör Proteini 53
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
VTA	: Ventral Tegmental Alan

ŞEKİLLER

Şekil.2.1.TÜİK 2019 yılı nedenlere göre ölüm oranları	2
Şekil.2.2. MSS tümörleri	3
Şekil.2.3.GLOBOCAN,2020 Kanser istatistikleri	5
Şekil.2.4.Glial hücreler	8
Şekil.2.5.DSÖ sınıflandırmasına göre diffüz gliomaların histolojik ve genetik özelliklere göre sınıflandırılması için basitleştirilmiş algoritma	10
Şekil.3.1. Çalışmaya dahil edilen örneklerin DataSet, derece ve tanılarına göre dağılımları.....	31
Şekil.4.1.Hastaların tanı ve derecelere göre dağılımı	35
Şekil.4.2. Derecelere göre ekspresyonu azalan genlerin yolaklardaki gen sayısı dağılımları (A'dan K'ye kadar)	39
Şekil.4.3. Derecelere göre ekspresyonu azalan genlerin yolaklardaki gen sayısı dağılımları (M'dan Y'ye kadar).....	40
Şekil.4.4. Derecelere göre ekspresyonu artan genlerin yolaklardaki gen sayısı dağılımları (A'dan J'ye kadar).....	41
Şekil.4.5. Derecelere göre ekspresyonu artan genlerin yolaklardaki gen sayısı dağılımları (K'dan Y'ye kadar).....	42
Şekil.4.6. Derece II'ye ait İlk 5 modül	52
Şekil.4.7. Derece III'e ait İlk 5 modül	53
Şekil.4.8. Derece IV'e ait İlk 5 modül	54
Şekil.4.9. Derece II'ye ait merkez genlerin PPE ağı, KEGG yol analizi ve GO analizi.....	58
Şekil.4.10.Derece III'e ait merkez genlerin PPE ağı, KEGG yol analizi ve GO analizi.....	59
Şekil.4.11.Derece IV'e ait merkez genlerin PPE ağı, KEGG yolak analizi ve GO analizi.....	60
Şekil.4.12. Derecelere ait merkez genlerin PPE ağı.....	61
Şekil.4.13.LGG'de merkez genlerden sırasıyla; ALB, CXCL8, EGF, EGFR, FN1, GAPDH, GNG7, GNG13, IL6, IL10, MAPK1 ve MYC genlerinin hayatta kalma grafikleri.....	63
Şekil.4.14.LGG'de merkez genlerden sırasıyla; NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53 ve genlerinin hayatta kalma grafikleri	64
Şekil.4.15.GBM'de merkez genlerden sırasıyla; ALB, EGF, EGFR, GNG13, IL6 ve IL10 genlerinin hayatta kalma grafikleri	64
Şekil.4.16.GBM'de merkez genlerden sırasıyla; MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53 ve VEGFA genlerinin hayatta kalma grafikleri	65

Şekil.4.17. LGG merkez genlerinden EGFR, IL10, MYC, NOTCH1, SRC, TNF, TP53 ve ALB'nin LGG ve normal beyin dokusundaki ekspresyon karşılaştırmaları	66
Şekil.4.18. GBM merkez genlerinden ALB, EGF, EGFR, IL6, IL10, MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53 ve VEGFA'nın GBM ve normal beyin dokusundaki ekspresyon karşılaştırmaları	67
Şekil.4.19. Merkez genlerin İPA verileri	68



TABLULAR

Tablo.1.1. GLOBOCAN, 2020 kanser istatistikleri	3
Tablo.1.2. DSÖ, 2016 Glial beyin tümörleri ve dereceleri	10
Tablo.3.1. Çalışmaya dahil edilen hastalara ait bilgiler.....	32
Tablo.3.2. Çalışmaya dahil edilen kontrollere ait bilgiler.....	33
Tablo.4.1. Örneklerin ekspresyon verilerinin kıyaslanması sonucu derecelere ait artan ve azalan gen sayıları.....	36
Tablo.4.2. Ekspresyonu en çok artan 50 gen.....	37
Tablo.4.3. Ekspresyonu en çok azalan 50 gen.....	38
Tablo.4.4. Glioma ile ilişkili farklı şekilde ifade edilen genlerin KEGG yolak analizi.....	43
Tablo.4.5. Gliomada dereceler arasında farklı şekilde ifade edilen genlerin KEGG yolak analizi.....	44
Tablo.4.6. Derece II glioma ile ilişkili farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi.....	45
Tablo.4.7. Derece III glioma ile ilişkili farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi.....	46
Tablo.4.8. Derece IV glioma ile ilişkili farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi.....	47
Tablo.4.9. Derece II ile karşılaştırıldığında derece III gliomada farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi.....	48
Tablo.4.10. Derece II ile karşılaştırıldığında derece IV gliomada farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi.....	49
Tablo.4.11. Derece III ile karşılaştırıldığında derece IV gliomada farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi.....	50
Tablo.4.12. Derecelere göre merkez genlerin listesi.....	51
Tablo.4.13. Derece II'de Protein-protein etkileşim ağından en iyi 5 modülün zenginleştirilmiş ilk 5 yolak.....	55
Tablo.4.14. Derece III'de Protein-protein etkileşim ağından en iyi 5 modülün zenginleştirilmiş ilk 5 yolak.....	56
Tablo.4.15. Derece IV'de Protein-protein etkileşim ağından en iyi 5 modülün zenginleştirilmiş ilk 5 yolak.....	57
Tablo.4.16. Merkez genlerin LGG ve GBM'de sağkalım oranları.....	62

1. GİRİŞ

1.1.Kanser

Kanser, organların ve dokuların yapı taşları olan hücrelerde başlar. Normal hücreler, vücudun ihtiyaç duyduğu yeni hücreleri oluşturmak için büyür ve bölünürler. Normal hücreler yaşlandığında veya hasar gördüğünde apoptoz olarak adlandırılan, genetik olarak düzenlenen bir hücre ölüm programıyla kendi kendilerini öldürürler ve yerlerini yeni hücreler alır. Bazen bu süreçte terslikler olur. Vücudun ihtiyacı olmadığı halde yeni hücreler oluşur ve eski veya hasarlı hücreler gerektiği gibi ölmez. Bilincini kaybetmiş hücreler, kontrolsüz bölünmeye başlar ve çoğalırlar. Bu çoğalma sonucunda oluşan ekstra hücrelerin birikmesi genellikle yumru, büyüme veya tümör adı verilen bir doku kütleli oluşturarak 200'den fazla kanser türünden birinin gelişmesine neden olur (Ponraj, Jenifer, & Manoharan, 2011)

Kanser hücreleri oluştukları tümörden ayrılarak, kan veya lenf dolaşımı aracılığı ile vücudun diğer bölgelerine gidebilir ve bu bölgelerde de büyümeye devam ederek tümör kolonileri oluşturabilirler. Kanser vücutun diğer bölgelerine yayılması metastaz olarak adlandırılır (Seyfried, & Huysentruyt, 2013). Metastaz oluşturan tümörler kötü huylu, habis ya da malign tümör olarak adlandırılırken; istilacı olmayan ve metastaz yapmayan, köken aldıkları doku sınırları içerisinde kalan ve yavaş büyüyen tümörler ise iyi huylu ya da benign tümör olarak adlandırılmaktadır.

Hem iyi huylu hem de kötü huylu tümörler, ortaya çıktıkları hücre tipine göre sınıflandırılır. Çoğu kanser, üç ana gruptan birine ayrılır; karsinomlar, sarkomlar ve lösemiler veya lenfomalar. İnsan kanserlerinin yaklaşık %90'ını içeren karsinomlar, epitel hücrelerinin habislikleridir. İnsanlarda nadir görülen sarkomlar; kas, kemik, kıkırdak ve fibröz doku gibi bağ dokularının katı tümörleridir. Lösemiler ve lenfomalar ise insan kanserlerinin yaklaşık %8'ini oluşturan, sırasıyla kan oluşturan hücrelerden ve bağışıklık sistemi hücrelerinden kaynaklanır. Tümörler ayrıca menşeye dokuya (örn., akciğer veya göğüs karsinomları) ve ilgili hücre tipine göre sınıflandırılır. Örneğin fibrosarkomlar, fibroblastlardan ve eritroid lösemiler, eritrositlerin öncülerinden kaynaklanır (Cooper, 2000).

En eski kanser kanıtı yaklaşık 60-70 milyon yıl öncesine ait ve Wyoming'de bulunan bir dinazorun fosilleşmiş kalıntılarında bulunmuştur. Kanser geçmişi ile ilgili kanıtlar sadece fosillerde değil, aynı zamanda eski zamanlara kadar uzanan yazılı kayıtlarda da mevcuttur. Edwin Smyth (M.Ö. 2500), George Ebers (M.Ö. 1550) ve Leyde (M.Ö. 1500) dahil olmak üzere Mısır papirüslerinde semptomlar, iyi huylu ve kötü huylu neoplazm arasındaki farklılaşma ve cerrahi tedavi yöntemleri tanımlanmıştır. M.Ö. 5. yüzyılda Hipokrat tarafından farklı benign ve malign tipte tümörler tanımlandı. Yengeç kabuğu gibi

sert bir tümörün etrafında kan damarları gözlemledi ve yengeç bacağına benzerliği nedeni ile hastalık adını “karkinos” (Yunanca yengeç) olarak tanımladı. Hipokrat'tan yaklaşık 400 yıl sonra, Cornelius Celsus kanserli tümörleri tıp ansiklopedisinde “cancer” (Latince yengeç) olarak listeledi. İkinci yüzyılda Claudius Galen, Hipokrat'ın fikirlerini kabul etti, birçok neoplazmın kapsamlı açıklamasını yaptı ve onkoloji teriminin temelini oluşturan oncos (Yunanca şişlik) terimini kullanmıştır (Latosińska, & Latosińska, 2017).

Kanser; Antik Mısır'dan bugüne kadar tüm dönemlerde yaygın olan cerrahi, 19. yüzyılda tanıtılan radyoterapi ve kemoterapi, yakın zamanda keşfedilen immünoterapiyi içeren kombine tedavi yöntemleri gerektiren karmaşık sistemik hastalık olarak kabul edilmektedir.

Günümüze kadar kanser üzerine birçok çalışma yapılmış olup, kanser en yaygın olarak tarif edilen ve en çok incelenen hastalık haline gelmiştir. Ancak önemli ilerlemelere rağmen şu anda kanser, Dünya’da en sık görülen doğal ölüm nedeni olarak kalp hastalığından sonra ikinci hastalık olarak kabul edilmektedir (Latosińska, & Latosińska, 2017).

Dünya Sağlık Örgütü’nün (DSÖ) raporuna göre, Dünya’da yaklaşık olarak altı kişiden biri kanser sebebi ile yaşamını yitirmektedir ve 2018'de yaklaşık 9,6 milyon kişinin ölümünden sorumludur. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2019 verilerine göre ise, Türkiye’de ölüm nedenleri arasında %18,4 oran ile ikinci sıradadır (Şekil.1.1).



Şekil.2.1. TÜİK 2019 yılı nedenlere göre ölüm oranları

Dünya’da 185 ülkede 36 kanser tipine ilişkin insidans ve mortalite oranlarını içeren Global Kanser İstatistikleri (GLOBOCAN,2020) verilerine göre 2020 yılında Dünya’da toplam 19 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve yaklaşık 10 milyon kansere bağlı ölüm gerçekleşmiştir. 2020 yılında Türkiye’de ise 234 bin yeni kanser vakası gelişmiş ve 126 bin kansere bağlı ölüm gerçekleşmiştir (Tablo.1.1.).

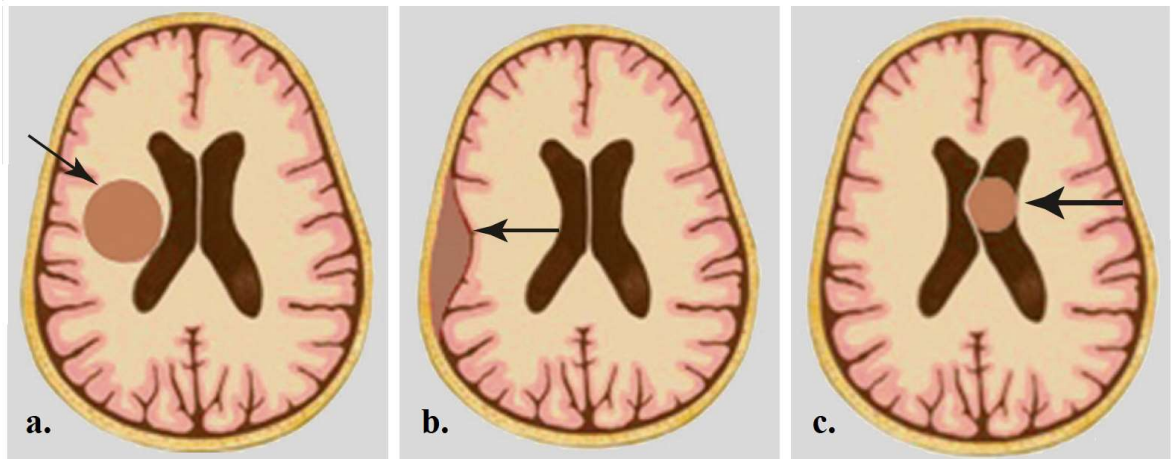
Tablo.1.1.GLOBOCAN, 2020 kanser istatistikleri

		Erkek	Kadın	Toplam
Dünya	Popülasyon	3 929 973 836	3 864 824 712	7 794 798 844
	Yeni kanser vakalarının sayısı	10 065 305	9 227 484	19 292 789
	Kanserden ölenlerin sayısı	5 528 810	4 429 323	9 958 133
	5 yıllık yaygın vakalar	24 828 480	25 721 807	50 550 287
Türkiye	Popülasyon	41 636 125	42 702 942	84 339 067
	Yeni kanser vakalarının sayısı	132 816	101 018	233 834
	Kanserden ölenlerin sayısı	78 949	47 386	126 335
	5 yıllık yaygın vakalar	300 071	281 565	581 636

1.2.Merkezi Sinir Sistemi Tümörleri

İnsan merkezi sinir sistemi (MSS); beyin, omurilik ve bunları saran zarlardan oluşur. Tüm insan vücudu tümörlerinin yaklaşık %1,6'sını oluşturan MSS tümörleri en karmaşık insan kanserleri arasındadır ve anatomik olarak benzer olmalarına rağmen farklı morfoloji, etiyoloji, menşe yeri, moleküler biyoloji ve klinik ilerlemeye sahip çeşitli tümör türlerini oluştururlar (Crocetti ve ark., 2012).

MSS tümörleri genel olarak, intraaksiyel (eksen içi), ekstraaksiyel (eksen dışı) ve intraventriküler (ventrikül içi) tümörler olmak üzere üç büyük kategoriye ayrılır (Şekil.2.2.). İntraaksiyel tümörler, astrositomlar ve glioblastomlar gibi beyin/omurilik parenkiminden kaynaklanan tümörleri ifade eder, ekstraaksiyel tümörler ise meninjiomlar ve schwannomlar gibi beyin/omuriliği saran zarlardan veya sinir köklerinden kaynaklanan tümörleri ifade eder, intraventriküler tümörler ise ventriküllerdeki periventriküler yapılardan kaynaklanan ya da ventrikül ve koroid pleksustan kaynaklanan lezyonu ifade eder (Shan ve ark., 2018; Chougule, 2020).



Şekil.2.2. MSS tümörleri; **a.intraaksiyel** tümörler, **b.ekstraaksiyel** tümörler, **c.intraventriküler** tümörler (Chougule, 2020)

MSS tümörlerine ait, herkes tarafından kabul edilen sınıflandırma DSÖ tarafından 2016 yılında yapılan sınıflandırmadır ve bu sınıflandırmada tümörün yerleşim yeri, davranışı ve histopatolojik özelliklerine ek olarak moleküler parametrelerde esas alınmıştır (Louis ve ark., 2016).

DSÖ sınıflandırmasına göre MSS tümörleri, iyi huylu ve kötü huylu tümörleri içerir ve derece I'den IV'e kadar dört dereceye de sahiptir.

1.3.Beyin Tümörleri

Beyin tümörleri; beyinde kontrolsüz büyüyen ve çoğalan hücrelerin oluşturduğu kitlelerdir ve primer ve sekonder olarak iki büyük gruba ayrılmaktadır.

Primer beyin tümörleri (PBT); beyindeki hücre ve yapılardan (glial dokudan, nöronlardan, meninkslerden, endokrin hücrelerinden veya vasküler yapılardan) köken alan tümörlerdir. Beyin yapısı içerisinde lenfatik kanallar bulunmadığı için çok nadir metastaz yaparlar. Metastazları, çoğunlukla Beyin Omurilik Sıvısı (BOS), serebral kan dolaşımı, kranial cerrahi ve yapay şantlar (shuntlar) aracılığıyla gerçekleşir ve genellikle spinal korda metastaz yaparlar (Baksi Şimşek, & Dicle, 2013).

Sekonder beyin tümörleri (SBT) veya metastatik beyin tümörleri; vücudun herhangi bir yerinde başlayıp daha sonra beyine yayılım gösteren tümörlerdir. Özellikle akciğer, göğüs, kolon, böbrek, pankreas ve cilt kanserleri arteriyel dolaşım aracılığıyla yayılarak SBT'ye neden olurlar (Baksi Şimşek, & Dicle, 2013).

1.3.1.Beyin Tümörlerinin Epidemiyolojisi

Dünya çapında, her yıl yaklaşık 200.000 kişi primer malign beyin tümöründen etkilenmektedir (Kheirollahi, Dashti, Khalaj, Nazemroaia, & Mahzouni, 2015).

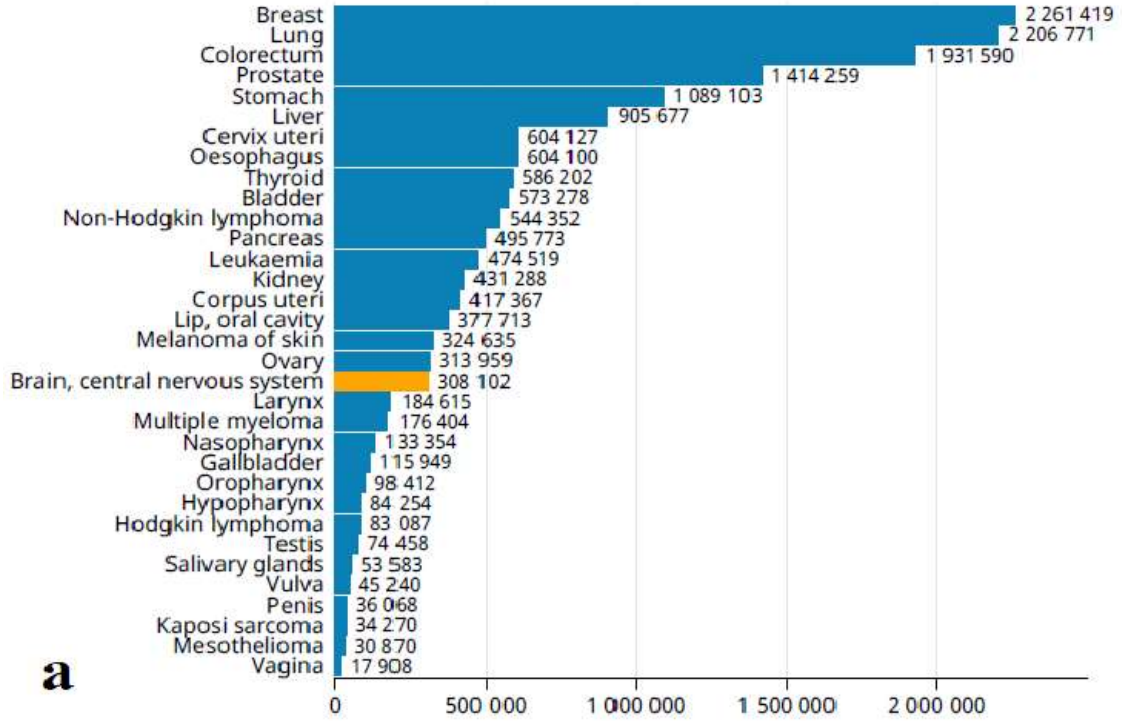
Beyin tümörleri tüm kanser tiplerinin yaklaşık olarak % 1,4'ünü ve ölümlerle sonuçlanan kanserlerin % 2,7'sini oluşturmaktadır ve çocuklardaki en yaygın solid tümörlerdir (Lee, Jung, Yoo, Park, & Lee, 2010).

GLOBOCAN,2020 verilerine göre, dünya genelinde yeni kanser vakası 19,2 milyon, kansere bağlı ölüm sayısı ise 10 milyondur (Tablo.1.1.). Yeni kanser vakalarının %1,6 (308.102)'sını ve kansere bağlı ölümlerin %2,5 (251.329)'ini beyin ve sinir sistemi kanserlerinin oluşturduğu bildirilmektedir (Şekil.2.2).

T.C. Sağlık Bakanlığı İstatistikleri, 2016 verilerine göre Türkiye'de; beyin ve diğer sinir sistemi kanser oranı erkeklerde 100.000'de 5,4, kadınlarda ise 100.000'de 4 olarak belirtilmektedir.

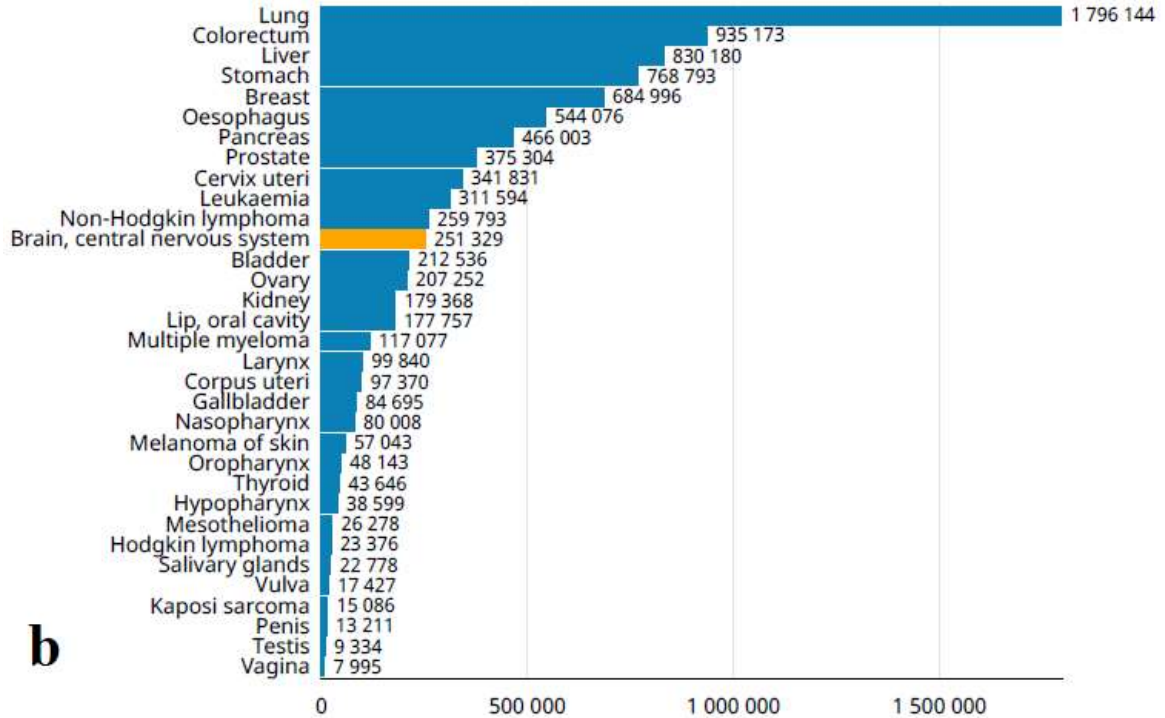
Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI)'nün; Gözetim, Epidemiyoloji ve Son Sonuçlar Programı 2010-2016 verilerine göre, beyin ve diğer sinir sistemi kanserlerinde 5 yıllık bağlı sağkalım oranı %32,6,'tır (Howlader ve ark., 2018).

2020'de her iki cinsiyet, her yaştan yeni vaka sayısı



a

2020'de her iki cinsiyette ve her yaştta ölenlerin sayısı



b

Şekil.2.3.GLOBOCAN,2020 Kanser istatistikleri: a.2020'de her iki cinsiyer, her yaştan yeni vaka sayısı, b.2020'de her iki cinsiyete ve her yaştta ölenlerin sayısı

1.3.2.Beyin Tümörlerinin Etiyolojisi

Beyin tümörlerinin etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Nadir görülen risk faktörleri arasında vinil klorür, iyonlaştırıcı radyasyon, nörofibromatoz, tüberoskleroz, Von Hippel-Lindau hastalığı gibi kalıtsal sendromlar ve Epstein-Barr virüsü bulunmaktadır. (Farrell, & Plotkin, 2007).

1.3.3.Beyin tümörlerinin belirtileri

Beyin tümörlerinin belirtileri, tümörün konumuna ve büyüklüğüne bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Belirtiler baş ağrısı, nöbetler, görme sorunları, zihinsel değişiklikler ile iştah kaybı, bulantı, kusma gibi gastrointestinal semptomları içerebilir. Baş ağrısı genellikle sabahları daha kötüdür ve kusmadan sonra kaybolur (Butowski, 2015). Diğer semptomlar arasında yürüme, konuşma veya duyum güçlüğü gibi daha ağır semptomlar bulunabilir. Hastalık ilerledikçe hastalarda bilinç kaybı oluşabilir (Liu ve ark., 2020).

1.3.4.Beyin tümörlerinin tanısı ve tedavisi

NCI'n Yetişkin Santral Sinir Sistemi Tümörlerini önlemeye ilişkin Doktor Veri Sorgusu (Physician Data Query - PDQ) kanser bilgi özeti, tanı ve tedavi yöntemlerini şu şekilde belirtir:

Öncelikli olarak teşhis için; fiziksel muayene ve sağlık geçmişi, nörolojik muayene, görme testi, biyokimyasal belirteçlerin test edilmesi, gen testi, bilgisayarlı tomografi taraması (BT taraması), Gadolinium ile manyetik rezonans görüntüleme (MRI), tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi taraması (SPECT taraması) ve pozitron emisyon tomografi taraması (PET taraması) kullanılabilir.

Eğer görüntüleme testleri beyin tümörü varlığını gösteriyorsa, genellikle stereotaktik veya açık biyopsi yapılır ve çıkarılan tümör dokusu immünohistokimyasal, sitogenetik analiz ve/veya mikroskop kullanılarak incelenir.

Bazı tümörler için, tümörün olduğu yer nedeniyle biyopsi veya ameliyat güvenli bir şekilde yapılamaz. Bu tümörler, görüntüleme testleri ve diğer prosedürlerin sonuçlarına göre teşhis ve tedavi edilir.

PBT için prognoz ve tedavi seçenekleri; tümörün tipi ve derecesi, tümörün beyinde bulunduğu yer, tümörün ameliyatla çıkarılıp çıkarılamayacağı, ameliyattan sonra kanser hücrelerinin kalıp kalmayacağı, kromozomlarda belirli değişikliklerin olup olmadığı, kanserin yeni teşhis edilip edilmediği veya nüks ettiği (geri gelip gelmediği) ve hastanın genel sağlığına bağlıdır. Ayrıca PBT'nin tedavisi; tümörün başladığı hücre tipi, tümörün beyinde veya omurilikte olduğu yer, ameliyattan sonra kalan kanser miktarı ve tümörün derecesine dayanmaktadır.

Metastatik beyin tümörleri için ise prognoz ve tedavi seçenekleri; beyinde veya omurilikte ikiden fazla tümör olup olmadığı, tümörün beyinde veya omurilikte bulunduğu yer, tümör tedaviye ne kadar iyi yanıt verdiği ve birincil tümörün büyümeye veya yayılmaya devam edip etmediğine bağlıdır. Vücudun diğer bölgelerinden beyne sıçrayan tümörlerin tedavisi ise beyindeki tümör sayısına bağlıdır.

Yetişkin beyin tümörlü hastalar için farklı tedavi türleri vardır. Beş tür standart tedavi kullanılır. Bunlar; aktif gözetim, ameliyat, radyasyon tedavisi, kemoterapi ve hedefe yönelik tedavi yöntemleridir. Bu yöntemler tek başına ya da kombine olarak uygulanabilir.

Bunlarla birlikte hastalığın veya tedavisinin neden olduğu sorunları azaltmak ve hastanın yaşam kalitesini iyileştirmek için; nöbetleri ve beyindeki sıvı birikimini veya şişmeyi kontrol eden ilaçları içeren destekleyici bakım verilir.

Kanseri teşhis etmek veya kanserin derecesini bulmak için yapılan bazı testler tedavinin ne kadar iyi çalıştığını görmek için tekrarlanabilir. Tedaviye devam edilip edilmeyeceğine, tedavinin değiştirilip değiştirilmeyeceğine veya durdurulacağına ilişkin kararlar bu testlerin sonuçlarına göre verilebilir.

Tedavi bittikten sonra zaman zaman bazı testler yapılmaya devam edilecektir. Bu testlerin sonuçları, durumun değişip değişmediğini veya kanserin tekrar edip etmediğini (geri gelip gelmediğini) gösterebilir. Bu testlere bazen takip testleri veya kontroller denir. SPECT taraması veya PET taraması, bir beyin tümörünün tedaviden sonra geri gelip gelmediğini kontrol etmek için kullanılabilir.

1.3.5.Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması

MSS tümörlerinin sınıflandırılması neredeyse tamamen patolojiye dayanmaktadır (Louis ve ark., 2007).

Beyin tümörlerinin derecelendirilmesi; hücresellik, mitotik aktivite, pleomorfizm, nekroz ve endotelial proliferasyon (neoanjiyogenez) gibi histolojik özelliklere dayanmaktadır (Louis ve ark., 2016). Tümör derecelendirme, uygun tedavi stratejilerinin belirlenmesi için önemlidir.

DSÖ derecelendirme sistemine göre 4 derece beyin tümörü vardır. Derece I ve II'ye düşük dereceli tümörler de denir. Derece III ve IV, yüksek dereceli veya anaplastik tümörler olarak da adlandırılır.

Derece I (düşük dereceli): Tümör hücreleri mikroskop altında normal hücrelere daha çok benzer ve derece II, III ve IV tümör hücrelerinden daha yavaş büyür ve yayılırlar. Nadiren yakındaki dokulara yayılırlar. Derece I beyin tümörleri ameliyatla tamamen çıkarılırsa iyileşebilir.

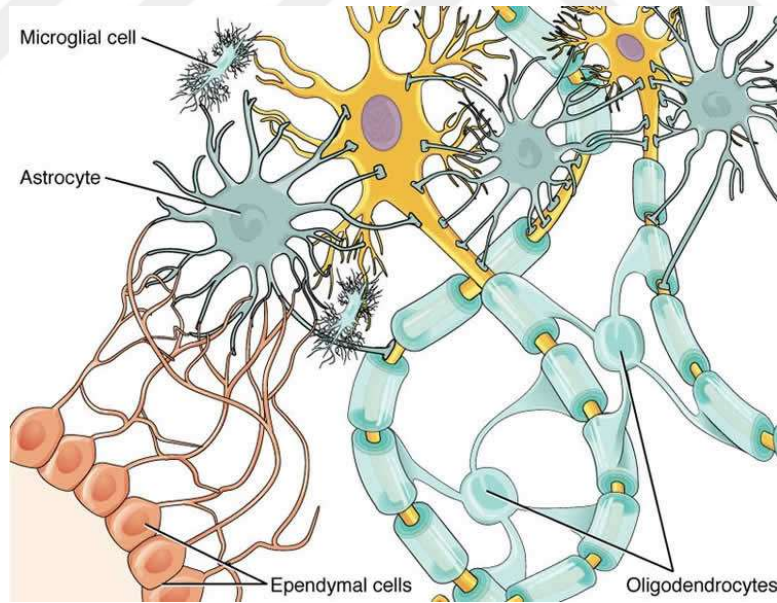
Derece II: Tümör hücreleri derece III ve IV tümör hücrelerinden daha yavaş büyür ve yayılırlar. Yakındaki dokuya yayılabilir ve tekrarlayabilirler (geri gelebilirler). Bazı tümörler daha yüksek dereceli tümörlere dönüşebilir.

Derece III: Tümör hücreleri mikroskop altında normal hücrelerden çok farklı görünür ve derece I ve II tümör hücrelerinden daha hızlı büyür. Yakın dokuya yayılma olasılığı yüksektir.

Derece IV (yüksek dereceli): Tümör hücreleri mikroskop altında normal hücrelere benzemez ve çok hızlı büyür ve yayılırlar. Tümörde ölü hücrelerin alanları olabilir. Derece IV tümörler genellikle tedavi edilemezler.

1.4.Glial Beyin Tümörleri

On dokuzuncu yüzyılda, glial hücrelerin MSS'ni bir arada tuttuğu düşünülüyordu. Bu nedenle "glia" kelimesi Yunanca tutkal anlamına gelen "glue" kelimesinden ortaya çıkmaktadır (Sharma, & Debinski, 2018). Glial hücreler, MSS destekleyici hücreleridir. MSS glial hücreleri arasında oligodendrositler, astrositler, ependimal hücreler ve mikroglial hücreler bulunur (Şekil.2.3.). Oligodendrositler, aksonların etrafındaki miyelin kılıfını oluşturur. Astrositler, nöronlara besin sağlar, hücre dışı ortamlarını korur ve yapısal destek sağlar. Mikroglia, patojenleri ve ölü hücreleri temizler. Ependimal hücreler, nöronları yastıklayan BOS üretir. Periferik sinir sisteminin glial hücreleri, miyelin kılıfını oluşturan Schwann hücrelerini ve nöronlara besin ve yapısal destek sağlayan satellit (uydu) hücrelerini içerir (Molnar, & Gair, 2013).



Şekil.2.4.Glial hücreler (Molnar, & Gair, 2013)

Bu destekleyici glial hücreler (veya nöronal kök hücreler) kötü huylu hale geldiğinde gliomalar diğer bir deyişle glial beyin tümörleri ortaya çıkar (Sharma, & Debinski, 2018). Gliomlar, tüm beyin tümörlerinin ve MSS tümörlerinin yaklaşık %30'unu ve tüm malign beyin tümörlerinin ise %80'ini oluşturur (Song ve ark., 2016).

Vakaların yaklaşık %55'inde glioma, oldukça agresif bir tümör olan derece IV astrositom (glioblastoma veya GBM olarak adlandırılır) olarak ortaya çıkar. GBM'li hastalar halihazırda, bir yıldan biraz daha uzun süren bir medyan sağkalım ile korkunç bir prognoza sahiptir (Ohgaki, & Kleihues, 2005). Gliomaların patogenezi çok karmaşıktır; gliomaların oluşumunda ve gelişiminde çok sayıda gen ve protein rol aldığı bilinse de mekanizma hala net değildir.

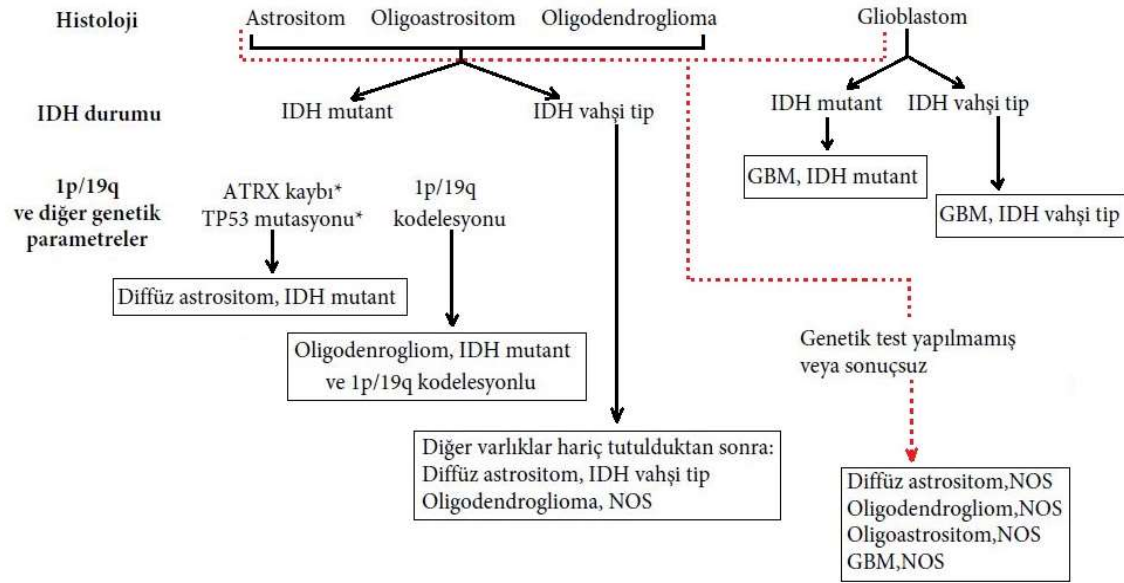
1.4.1.Glial Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması

DSÖ 2007'de yayınlanan MSS Tümörleri Sınıflandırması'nın 4. baskısına kadar, MSS tümör gruplarının tanımları esas olarak histolojik özelliklere ve hücre kökeniyle benzerliğe dayanıyordu (Louis ve ark., 2007). Bu yaklaşımı, hücre farklılaşması ve proliferasyon hakkında bilgi veren immünohistokimyasal belirteç panelleri giderek daha fazla güçlendirdi.

Mikroskopik temelli teşhislerin çoğu hala oldukça sağlam olsa da, gözden geçirme panelleri, gözlemciler arası önemli tanısal varyasyonu ortaya çıkarmıştır ve bu durum, daha sağlam teşhis belirteçlerinin tanımlanmasına ve uygulanmasına yol açmıştır.

Son on yılda MSS tümörlerinin moleküler özelliklerinin bilgisindeki muazzam artış, bir paradigma değişikliğine izin verdi. 2016 yılında yayınlanan DSÖ sınıflandırması MSS tümörlerinin 4. baskısının güncellemesinde (Louis ve ark., 2016), moleküler sapmalar, ilk kez belirli beyin tümörü varlıklarının tanımının bir parçası oldu. Özellikle, MSS parankiminin en sık görülen birincil neoplazmalarının sınıflandırılması, diffüz gliomalar, birkaç önemli moleküler sapmanın durumuna dayalı olarak büyük bir yeniden yapılanmaya uğramıştır.

Başlıca glioma varlıkları, yeni DSÖ sınıflandırmasına dahil edilen moleküler biyobelirteçlerle ayırt edilebilir (Louis ve ark., 2016). İsimlendirmede de moleküler belirteçler kullanılır ve histopatolojik isimden sonra bir virgül eklenerek genetik özellik belirtilir. Örneğin: Diffüz astrositom, IDH-mutant. Birden fazla genetik özellik barındıranlarda tüm moleküler özellikler ada dahil edilir: Oligodendroglioma, IDH-mutant ve 1p/19q kodelesyonlu. Genetik mutasyonu olmayan bir tümör için vahşi tip terimi kullanılabilir: GBM, IDH-vahşi tip. Bununla birlikte, ilgili genetik parametreler için tam olarak test edilmemiş ya da test edilmiş ancak tanısal genetik değişiklikleri göstermeyen tümörler NOS olarak adlandırılmalıdır: Oligoastrositoma, NOS (Şekil.2.4.) (Louis ve ark., 2016).



Şekil.2.5.DSÖ sınıflandırmasına göre diffüz gliomaların histolojik ve genetik özelliklere göre sınıflandırılması için basitleştirilmiş algoritma

DSÖ'nün 2016 yılı MSS sınıflandırmasına göre tüm glial tümörler 5 başlık altında toplanmıştır (Louis ve ark., 2016).

Tablo.1.2.DSÖ, 2016 Glial beyin tümörleri ve dereceleri

Diffüz astrositik ve oligodendroglial tümörler		Diğer astrositik tümörler	
Diffüz astrositom	II	Pilositik astrositom	I
Anaplastik astrositom	III	Subependimal dev hücreli astrositom (SEGA)	I
Glioblastom	IV	Pleomorfik ksantoastrostitom (PXA)	II
Diffüz orta hat gliom (DMG)	IV	Anaplastik pleomorfik ksantoastrostitom (Anaplastik PXA)	III
Oligodendroglom	II		
Anaplastik oligodendroglom	III		
Oligoastrostitom	II	Nöronal ve mikst nöronal glial tümörler	
Anaplastik oligoastrostitom	III	Disembriyoplastik nöroepitelyal tümör (DNET)	I
		Gangliositom	I
Diğer gliomlar		Gangliogliom	I
3. Ventrikülün kordoid gliomu	II	Anaplastik gangliogliom	III
Anjiyosentrik gliom	I	Displastik serebellar gangliositom (Lhermitte-Duclos hastalığı)	I
Astroblastom	*	Desmoblastik infantil astrositom / gangliogliom	I
		Papiller glionöronal tümör	I
Ependimal tümörler		Roset formasyonlu (şekilli) glionöral tümör	I
Subependimom	I	Santral nörositom	III
Miksopapiller ependimom	I	Ekstraventriküler nörositom	III
Ependimom	II	Serebellar liponörositom	III
Ependimom, RELA pozitif	III	Paragangliom	*
Anaplastik ependimom	III		

*: DSÖ, 2016'da derecesi belirtilmemiş

Ek olarak, DSÖ I ve II derecelerine karşılık gelen daha yavaş büyüyen lezyonlar genellikle düşük dereceli gliomalar (low-grade gliomas – LGG) olarak anılırken, daha hızlı ilerleyen ve DSÖ III ve IV derecelerine karşılık gelen tümörler yüksek dereceli gliomalar (high-grade gliomas – HGG) olarak da adlandırılır (Louis, Schiff, Batchelor, & Wen, 2017).

1.4.2. Glial Beyin Tümörlerinin Moleküler Patojenezi

DSÖ'nün 2016 yılı, glial beyin tümörü sınıflandırmasında fenotipik ve genotipik parametrelerin birlikte kullanılması, geçmişte teşhis sürecinin bazı yönlerinde eksik olan bir nesnellik düzeyi ekledi. Bu ek nesnellik, biyolojik olarak daha homojen ve dar kalıp teşhis verileri vermekte ve bu da daha iyi teşhis doğruluğunun yanı sıra prognoz ve tedaviye yanıtın daha doğru belirlenmesini sağlamaktadır (Louis ve ark., 2016). Bu nedenle gliomalarda morfolojik kriterlere dayanarak yapılan tanısal değerlendirmelere ek olarak prognozlarını ve tedaviye verecekleri yanıtı belirlemede moleküler ve immünohistokimyasal belirteçlerden de destek alınmaktadır.

Moleküler ve immünohistokimyasal amaçlı kullanılan ve kullanılabilecek markırlar; İzositrat dehidrogenaz (*IDH*) 1 ve *IDH2* mutasyonu, 1p/19q kodelesyonu, Histon mutasyonları, O6-metilguanin-DNA metiltransferaz (*MGMT*) metilasyonu, tümör proteini 53 (*TP53*) mutasyonu, *MDM2* ekspresyonu, Glial fibriler asidik protein (*GFAP*) ekspresyonu, kromozom 10 heterozigotluk kaybı (LOH 10q), fosfataz ve tensin homologu (*PTEN*) mutasyonu, Telomeraz Ters Transkriptaz (*TERT*) mutasyonu, *ATRX* mutasyonu, Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ekspresyonu, Sikline bağımlı kinaz inhibitörü (*CDKN*) 2A ve/veya *CDKN2B*, Retinoblastoma (*RB*) 1 mutasyonu, Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (*PDGF*) ekspresyonu ve Ki-67 proliferasyon indeksidir.

1.4.2.1. *IDH1* ve *IDH2* mutasyonu

IDH enzim ailesi, hem Krebs döngüsünün bir parçası olarak hem de sitoplazmada nikotinamid adenin dinükleotid fosfatı (NADP⁺) indirgenmiş NADP⁺ (NADPH)'ya dönüştürürken izositratın α -ketoglutarata dönüşümünü katalize eder (Chen, Smith-Cohn, Cohen, & Colman, 2017).

Çeşitli kanserlerde, *IDH* izoformlarının 2'sini kodlayan genlerde somatik mutasyonlar meydana gelmektedir. Gliomalarda, LGG'lerin ve ikincil GBM'lerin yüksek bir yüzdesinde ve birincil GBM'lerin daha düşük bir yüzdesinde de tanımlanmışlardır. Mutasyonların büyük çoğunluğuna *IDH1*'de 132. pozisyonda argininden histidine bir amino asit değişimi (R132H) ve *IDH2*'de 172. pozisyonda argininden lizine bir amino asit değişiminden (R172K) kaynaklanır, ancak bu bölgeler veya yakın bölgelerde başka aminoasit değişimleri de görülebilmektedir (Chen ve ark., 2017).

Tüm patojenik mutasyonlar, alt tanıma bölgesinde meydana gelir ve gliomalarda enzimin enzim aktif bölgelerini önemli ölçüde değiştirerek IDH fonksiyonunda neomorfik bir değişikliğe yol açar (Chen ve ark., 2017).

Mutant *IDH* genleri, α -ketoglutaratı varsayılan oncometabolit 2-hidroksiglutarata (2HG) dönüştüren proteinlerle sonuçlanır (Thompson, 2009).

Özgün tümörlerin, ilk eşleşen ve tekrarlayan tümörlerin ayrıntılı sıralaması, *IDH* mutasyonunun bu tümörlerde nispeten erken bir olay (belki de başlangıç olayı) olduğunu düşündürmektedir. Aynı zamanda, ortaya çıkan 2HG üretimi, hücrel farklılaşmayı değiştiren ve onkogeneze katkıda bulunabilen kapsamlı epigenetik değişiklikleri tetiklediği de görülmektedir (Chen ve ark., 2017). Buna ek olarak, *IDH* mutasyonun tek başına kültürde normal veya ölümsüzleştirilmiş astrositleri dönüştürememesi, muhtemelen katkıda bulunan başka mekanizmalar olduğunu düşündürmektedir (Turcan ve ark., 2012).

LGG'lerin çoğunda (%65-90) *IDH*'de mutasyonlar vardır (Sun ve ark., 2013). Dereceden bağımsız olarak, gliomalarda *IDH* mutasyonlarının varlığı, alınan tedaviye bakılmaksızın *IDH* doğal tipteki benzerlerine göre anlamlı ölçüde daha iyi progresyonsuz sağkalım sağlar (Wick ve ark., 2009).

Daha düşük dereceli öncülü olmayan yaşlı hastalarda gözlenen birincil GBM'lerin büyük çoğunluğu *IDH* vahşi tipken, LGG'lerden kaynaklanan hemen hemen tüm ikincil GBM'ler *IDH* mutasyonunu barındırır. Bu bulgu ve *IDH* mutasyon durumuna dayalı prognozu incelemeler, *IDH* vahşi tipli birçok LGG'nin GBM kadar agresif olabileceği ve histolojik derece IV tümörlere oldukça benzer prognozlara sahip olabileceğini gösterdi. Bazı yazarlar bu *IDH* vahşi tip LGG'lere GBM öncesi veya GBM benzeri olarak atıfta bulunur. Diğer taraftan, *IDH* mutanlığı olan GBM'ler genellikle sadece *IDH* vahşi tip GBM ile karşılaştırıldığında değil, aynı zamanda *IDH* vahşi tip düşük dereceli (II-III) tümörlere göre de önemli ölçüde daha iyi bir prognoza sahiptir (Chen ve ark., 2017).

IDH mutasyonunu astrositlerde *TP53* ve *ATRX* gibi diğer mutasyonların ve oligodendrogliomlarda 1p / 19q'nin birlikte delesyonunun (potansiyel olarak *CIC* ve *FUBP1* mutasyonları ile birlikte) takip ettiği düşünülmektedir (Wakimoto ve ark., 2014). *IDH* mutant LGG'ler, *KRAS*, *PIK3CA*, *PDGFRA*, *MET*, *PTEN* ve N-Myc gibi üçüncül değişiklikler elde edildiğinde sonunda kötü huylu dönüşüme uğrayabilir (Wakimoto ve ark., 2014; Cohen ve ark., 2015).

İlginç bir şekilde, Turcan ve ark. gliomadaki *IDH1* mutasyonlarının DNA metilasyonunda genom çapında artışlara yol açtığını buldu (Turcan ve ark., 2012). Bu hipermetilatör fenotipi, proneural gliomalar ve gelişmiş hayatta kalma ile ilişkilidir. *IDH*-mutasyona uğramış çok küçük bir tümör grubu, DNA hipermetilasyonundan yoksundur ve hayatta kalma oranı düşüktür (Chen ve ark., 2017).

1.4.2.2.1p/19q kodelesyonu

Hem 1. kromozomun kısa kolunun (1p) hem de 19. kromozomun uzun kolunun (19q) tamamen silinmesi, yetişkinlerdeki tüm diffüz gliomaların yaklaşık %10 ile %15'ini oluşturan birincil beyin tümörlerinin bir alt tipi olan oligodendrogliomaların moleküler genetik imzasıdır (Idbaih ve ark., 2005; Ostrom ve ark., 2014).

Neredeyse, tüm 1p/19q birlikte silinen oligodendrogliomalar *IDH1* (R132) veya *IDH2*'de (R172) mutasyona sahiptir (Sanson ve ark., 2009). 1p/19q birlikte silme ile birlikte meydana gelen diğer yaygın moleküler değişiklikler, *TERT* promotör mutasyonları, *CIC* ve *FUBP1* homologundaki mutasyonları ve *MGMT* metilasyonunu içerir (Bettegowda ve ark., 2011; Sanson ve ark., 2009). Çok az istisna dışında, 1p/19q ko-delesyonu, her ikisi de astrositik soyun glial tümörlerini karakterize eden *TP53* ve *ATRX* mutasyonu ile birbirini dışlar.

1p/19q ko-delesyonunun, *IDH* mutasyon durumu ve diğer moleküler belirteçler (örn. *ATRX* ve *TP53* durumu) ile birlikte değerlendirilmesi, *IDH*-mutant ve 1p/19q ile kodlanmış oligodendrogliomaları, 1p/19q-birlikte silinmeyen astrositik soy tümörlerinden ayırt etmeye yardımcı olabilir (Stup ve ark., 2014; Louis ve ark., 2016).

1p/19q ko-delesyon varlığı hem diffüz düşük dereceli hem de anaplastik tümörlerde iyileşmiş sağkalım ile ilişkili güçlü bir bağımsız prognostik biyobelirteçtir (Zhao, Ma, & Zhao, 2014)

Tüm diffüz gliomlar arasında, 1p 19q-birlikte delesyonu olan hastalar en uygun prognoza sahiptir. Kanser Genomu Atlas Araştırma Ağı (TCGA) tarafından gerçekleştirilen büyük multomik ve klinik retrospektif analizde, derece II-III gliomalı hastalar karşılaştırıldığında, *IDH* mutasyonu ve 1p/19q-ko-delesyonu olan hastalarda genel sağkalımı 8 yıl iken, *IDH* mutasyonu olan ve 1p/19q-ko-delesyonu olmayan hastalarda 6.3 yıl ve *IDH* vahşi tipli hastalarda 1.7 yıldır (Cancer Genome Atlas Research Network, 2015).

1.4.2.3.Histon mutasyonları

Kromatin, nükleozomlardan ve bunlarla ilişkili proteinlerden oluşur; her nükleozom, 147 baz çifti (bç) DNA ile 1,7 kez sarılmış H3, H4, H2A ve H2B histonlarının her birinin iki kopyasından oluşan bir oktamerden oluşur.

Kromatinle ilişkili veya düzenleyici proteinlerdeki mutasyonlar pediatrik kanserlerde yaygındır ve bu sık sık basit kanser genomlarındaki prevalansları (pediatrik kanserlerde genellikle daha az mutasyon olduğunu gösterir) onkojenezdeki önemini vurgular. 2012'de, genom dizileme çabaları, histonların kendilerinin kanserde mutasyona uğrayabileceğine dair dikkate değer bir keşifle sonuçlandı. İki grup pediatrik yüksek dereceli gliomada (pHGG) histon H3'te yüksek frekanslı somatik mutasyonlar tanımlandı (Lowe, Maxham, Hamey, Wilkins, & Partridge, 2019).

Son çalışmalar, histon varyantlarının esas olarak H3.3 "H3F3A" (>%70) ve daha az ölçüde H3.1 "HIST1H3B" genlerinde iki nokta mutasyonunun yüksek bir sıklıkta olduğunu bildirmiştir, bu da 27. pozisyondaki lizin amino asidinin metiyonin (K27M) veya 34. pozisyondaki glisin ile arginin veya valin (G34V/R) ikamesi ile sonuçlanır (Lowe ve ark., 2019).

H3K27M mutasyonu ilk olarak, orta hatta ortaya çıkan ve talamusu, bazal ganglionları ve omuriliği etkileyen, pHGG'nin ~%30'unda genomik sıralama girişimleri ile tanımlanmıştır (Lowe ve ark., 2012).

Çocuklarda diffüz intrinsik pontin glioma (DIPG) vakalarının %80'inde mevcuttur ve bu çocukların, tanıyı takip eden 2 yılda yaklaşık %10'luk bir hayatta kalma oranı vardır (Lowe ve ark., 2012; Reifenberger, Wirsching, Knobbe-Thomsen, & Weller, 2017).

1.4.2.4.MGMT metilasyonu

MGMT olarak bilinen O6-metilguanin-DNA metiltransferaz, bir DNA "intihar" onarım enzimidir. Toplam uzunluğu 300.437 bp olan 10q26.3 kromozomunda bulunan *MGMT* geni, Guaninin O6 bölgesindeki metili sistein kalıntılarına aktararak hasarlı guanin nükleotitlerini onarır, böylece alkilleyici ajanların neden olduğu gen mutasyonu, hücre ölümü ve tümör oluşumunu önler (Yu, Zhang, Wei, & Shao, 2020).

Prognostik, öngörücü ve klinik uygulamaya sahip olan glioma alt tiplerinin moleküler biyobelirtecinin bir örneği, *MGMT* promotör metilasyonudur. *MGMT* promotör metilasyonu başlangıçta temozolomid ile tedavi edilen hastalarda GBM tanısında prognostik ve prediktif bir belirteç olarak tanımlanmıştır (Chen ve ark., 2017).

Temozolomid, guanin üzerindeki O6 ve N7 bölgeleri ve adenin üzerindeki N3 bölgesi dahil olmak üzere pürin bazlarını metilleştirir (Chen ve ark., 2017).

O6-Metilguanin indüksiyonunun birincil sitotoksik olay olduğuna inanılıyor, bu da hücre replikasyon sırasında sitozin yerine timinin eklenmesine yol açarak çift iplik kırılmalarına, DNA replikasyonunun başarısız olmasına ve nihayetinde hücre ölümüne neden oluyor. Bir uyumsuzluk onarım enzimi olarak *MGMT*, alkilatör kemoterapileri tarafından indüklenen O6-metilguanin eklentilerini ortadan kaldırır ve böylece sitotoksik etkilerini ortadan kaldırır. DNA'nın onarımı, hücrelerin doldurması gereken *MGMT* proteinini tüketir. Dolayısıyla, yüksek *MGMT* seviyelerinin temozolomid direncine yol açtığı düşünülmektedir (Chen ve ark., 2017).

Pek çok çalışma, *MGMT* ekspresyonunun kaybının gen delesyonu, mutasyonu, yeniden düzenlemesi veya kararsız RNA'dan değil, *MGMT* promotörünün CpG adasının metilasyonundan kaynaklandığını göstermiştir (Yu ve ark., 2020).

Genin transkripsiyon başlatma sahası nükleotid 956'dır ve CpG adası, transkripsiyon başlatma bölgesinin 5' ve 3' uçlarında yaklaşık 500 bp'yi kapsar. *MGMT* promotörünün CpG bakımından zengin bölgede metilasyonu, nükleozomların yeniden düzenlenmesi ve rastgele

lokalisasyonu ile birlikte heterokromatinizasyona yol açar, böylece transkripsiyon başlatma bölgelerini gizler ve transkripsiyon faktörlerinin bağlanamaz hale gelmesine ve *MGMT* proteininin epigenetik susturulmasına (azalmış ekspresyon) neden olur (Yu ve ark., 2020).

MGMT promotör metilasyonu, tüm GBM'lerin yaklaşık %40'ında görülür. Daha yüksek *MGMT* promotör metilasyonu seviyeleri, özellikle temozolomid ön tedavinin bir parçası olduğunda, GBM'de daha uzun sağkalımı öngörür (Chen ve ark., 2017).

Stupp ve ark. 2005 yılında, radyasyon ve temozolomid alan kişiler arasında, *MGMT* promoter metilasyonu, metillenmemiş tümörü olan hastalarda 12,7 aya kıyasla 21,7 aylık medyan sağkalım artışı ile ilişkilendirilmiştir. Bu ilk çalışmadan uzun vadeli takip, bu bulguyu, *MGMT* metilasyonu olan temozolomid ile tedavi edilen GBM'li hastalar için 2 yılda % 48,9, 3 yılda % 27,6 ve 5 yılda % 13,8 sağkalım ile metillenmemiş *MGMT*'li hastalar için sırasıyla % 14,8, % 11,1 ve % 8,3 sağkalım ile doğrulamıştır (Stupp ve ark., 2009).

1.4.2.5. TP53 mutasyonu

TP53 geni insan kromozomu 17p13.1 üzerinde yer almaktadır. 393 amino asitten oluşan p53 proteinini kodlar. Fonksiyonel p53, dimer-of-dimer topolojisini uyarlayan bir homotetramerdir (Zhang ve ark., 2018).

P53, farklı alanlardan oluşan bir transkripsiyon faktörü olarak hareket eder. Nükleotid bağlanma alanı, p53 için konsensüs DNA dizisi ile etkileşime girer. Diğer alanlar, çeşitli düzenleyici yollarla iletişim kurar ve ayrıca transkripsiyonel aktiviteyi düzenler. Normal koşullar altında, p53 aktivitesi düşüktür ve her yerde bulunma ve bozunma yoluyla *MDM2* ve *MDM4* (*MDMX*) tarafından kontrol edilir. *P53* ve *MDM2* arasındaki etkileşim, DNA hasarı gibi stres sinyallerine yanıt olarak bozulur ve p53 indüksiyonuna yol açar (Zhang ve ark., 2018).

P53, hücrel homeostazın sürdürülmesinde merkezi bir rol oynar ve kanserde sıklıkla düzensizdir. Protein, hücre proliferasyonunu, hayatta kalmasını, genom bütünlüğünü ve diğer fonksiyonları kontrol eden bir düzenleyici ağı merkezinde konumlandırılmıştır. Bir transkripsiyonel düzenleyici olarak işlev gören p53, stres sinyallerini entegre eder ve hasarlı hücrelerin yayılmasını önlemek için hücre döngüsü durmasını, yaşlanmayı ve apoptozu destekler (Kasthuber, & Lowe, 2017). P53 bu nedenle "Genomun Koruyucusu" olarak adlandırılır (Lane, 1992).

P53 ile ilgili son araştırmalar, gen transkripsiyon düzenlemesi ve genom bütünlüğünün korunmasının ötesinde ek roller ortaya çıkarmıştır. Diğerlerinin yanı sıra, kanıtlar p53'ün hücrel metabolizma, otofaji, invazyon, metastaz, mikro çevre ve bağışıklığın önemli bir düzenleyicisi olduğunu göstermiştir (Kasthuber, & Lowe, 2017).

TP53 mutasyonu, gliomagenizde erken bir olaydır (Louis ve ark. 2007). Difüz gliomlarda ve özellikle astrositomlarda *TP53* sıklıkla (~%50) mutasyona uğrar. *TP53* ayrıca,

oligoastroitomalarda ve oligodendrogliomalarda daha düşük bir oranda da olsa (sırasıyla vakaların ~%40 ve ~%10'u) mutasyona uğramış olarak bulunur (Okamoto ve ark., 2004).

1.4.2.6. *MDM2* ekspresyonu

İnsan *MDM2* geni, 12. kromozomun 13-14 uzun kolunda (12q13-14) bulunur. *MDM2* geni, moleküler ağırlığı yaklaşık 90 kDa olan 483 amino asitli bir proteini kodlar. *MDM2* proteininin N-terminali, *MDM2* – p53 bağlanma bölgesi olan bölge I ile başlar. *MDM2*'nin bölge I, p53 proteinine bağlanabilir ve aynı zamanda karşılık gelen gen ekspresyonunu aktive etmek için gen promotörüne bağlanabilir. Bu bölge aynı zamanda diğer proteinlere bağlanma sürecinde rol oynar. Bölge II, ribozomal L5 proteinine bağlanan *MDM2*'nin merkezi asidik bölgesidir. Bu bölge ayrıca *MDM2*-L5 veya *MDM2*-L5-p53 komplekslerinin 5sRNA ile spesifik bağlanmasına aracılık eder. Son iki moleküler kompleksin birleştirilmesi, memeli hücrelerinde ribozomal birleşmenin bir öncüsüdür. Bölge III, çinko parmak motifidir. Bölge IV, protein-protein ve protein-nükleik asitlerin kombinasyonuna aracılık eden yüzük parmağı alanıdır (Hou, Sun, & Zhang, 2019).

MDM2, p53 için birincil negatif düzenleyici faktördür. Fizyolojik koşullar altında, *MDM2* – p53'ün yakın döngü negatif geri besleme düzenlemesi, normal p53 protein ekspresyonuna katkıda bulunur. *MDM2* ve p53'ün ifadeleri normal koşullarda düşüktür. *MDM2*, N-terminal alanı (Bölge I) aracılığıyla p53'e bağlanır ve *MDM2* – p53 kompleksini oluşturur. Bağlanma süreci, p53 transkripsiyon aktivasyon bölgesini gizler ve p53 transkripsiyon aktivitesini azaltır. *MDM2*'nin yüzük parmağı alanı daha sonra bir E3 ligaz olarak hareket edebilir ve p53'ü ubiquitin haline getirebilir. Proteazom etkileşimi daha sonra p53 protein yıkımına yol açar (Hou ve ark., 2019).

Normal koşullar altında, *MDM2* geri besleme döngüsü, kendine özgü E3 ubiquitin ligaz aktivitesi yoluyla parçalanma için p53'ü hedefleyerek, DNA hasarına ve çeşitli metabolik/patolojik streslere yanıt olarak p53 aktivitesinin seviyesini ve p53 aktivasyon süresini hassas bir şekilde düzenler. *MDM2* ayrıca p53 protein düzeylerini düşürmek için p53'ü hücrelerden doğrudan çıkarabilir. *MDM2* ailesinin bir üyesi olan *MDM4* veya *MDMX*, p53'ün aktivitesini kendi başına veya *MDM2* ile heterodimerizasyon yoluyla da düzenleyebilir (Punganuru ve ark., 2020).

MGMT, temozolomid demetile edebilir ve glioma tümör hücrelerinde temozolomid direncini indükleyebilir. *MDM2* – p53 negatif geribildirim düzenleme yolu, temozolomid direnci mekanizmasına katkıda bulunur. *MDM2* ekspresyonunun inhibisyonu, p53 ekspresyonunu yukarı regüle edebilir ve ardından *MGMT* ekspresyonunu aşağı regüle ederken, tümör hücrelerinin temozolomide duyarlılığını artırmıştır (Hou ve ark., 2019).

P53 işlevini yeniden etkinleştirmek için *MDM2*'yi hedeflemek, kanserleri tedavi etmek için umut verici bir stratejidir. Bu nedenle, son on yılda *MDM2* - p53 etkileşiminin küçük molekülü inhibitörlerini geliştirmek için yoğun çabalar sarf edilmiştir. Nutlinler, ilk olarak

bir kimyasal kütüphane taraması yoluyla tanımlanan preklinik moleküllerdir ve analogları RG7112, sınıfının ilk *MDM2* inhibitörüdür. *MDM2* geninin amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu, GBM'nin %8-10'unda gözlenmiştir ve yakın zamanda yapılan bir çalışma, birinci sınıf ilaç RG7112'nin GBM'de prelinik bir etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bunlar, *MDM2*'yi hedeflemenin GBM için tedavi seçeneklerinden biri olarak değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir (Her ve ark., 2018).

1.4.2.7. *GFAP* ekspresyonu

GFAP, hücelere mekanik destek sağlayan bir ara liftir. *GFAP* çoğunlukla MSS'nin astrosit hücrelerinde tespit edilir. *GFAP* geni, yapısal ve fonksiyonel farklılıklar gösteren çeşitli izoformlarda ifade edilir. *GFAP* ekspresyon aktivitesi, morfoloji, büyüme ve hücre bölünmesi gibi çeşitli astrosit özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Sereika, Urbanaviciute, Tamasauskas, Skiriute, & Vaitkiene, 2018). *GFAP* hem astrositlerde hem de malign gliomalarda bol miktarda eksprese edildiği için glial beyin tümörlerinde en değerli biyobelirteçlerden biridir.

1.4.2.8. *LOH 10q*

Heterozigotluk kaybı (Loss of heterozygosity - LOH), iki allelden biri kaybolduğu için heterozigot bir somatik hücrenin homozigot hale geldiği yaygın bir allelik dengesizlik biçimidir. Bu kromozom kararsızlığı formu, seçici büyüme avantajı sağlamak için yeterlidir ve tümörjenezin ana nedeni olarak kabul edilmiştir (Schwarzenbach, 2013).

10. kromozomda LOH, hem birincil hem de ikincil GBM'de meydana gelen en sık görülen (%60-80) genetik değişikliktir (Ohgakii ve ark., 2004).

1.4.2.9. *PTEN* mutasyonu

10q23.3 kromozomunda bulunan *PTEN*, meme kanseri, beyin ve prostat tümörlerinde en sık görülen kayıp veya aşağı regüle edilmiş genlerden biridir. Hücre proliferasyonu, adhezyon ve invazyonu, apoptoz ve DNA hasar onarımının düzenlenmesinde önemli roller oynayan bir tümör baskılayıcı gendir (Han ve ark., 2016).

PTEN ekspresyonu kaybının gliomada erken bir olay olduğu ve mutasyonların glioma vakalarının %5 ila %40'ında meydana geldiği belirtilmiştir. Önceki çalışmalar, doku büyümesinin ve hücre sayısının *PTEN*'den etkilendiğini göstermiştir. Dahası, *PTEN*'in bağımsız olarak hem nörojenezde hem de gliojenezde rol oynadığı gösterilmiştir. Sinir sisteminde, embriyojenez sırasında nöral progenitör hücrelerde *PTEN*'in silinmesi, beyin laminer yapısının düzgün oluşumunu ve göçünü bozar. *PTEN* kaybı, beyindeki hücre boyutunun veya hücre sayısının bozulmasına neden olur ve normal MSS gelişimi ve bakımında *PTEN*'in öneminin altını çizer (Han ve ark., 2016).

Bazı çalışmalar, gliomadaki *PTEN* gen mutasyonlarının zayıf hayatta kalma ile ilişkili olduğunu öne sürerken (James ve ark., 1999; D'Urso ve ark., 2009) diğer çalışmalar *PTEN* gen mutasyonlarının hayatta kalma ile hiçbir ilişkisi olmadığını (Abdullah ve ark., 2006; Yang ve ark., 2010) bildirmiştir.

1.4.2.10.TERT promotör mutasyonu

Telomerlerin bakımı, kanser hücrelerinde yaşlanmayı önlemek ve proliferatif potansiyeli sürdürmek için gereklidir. Telomerleri korumaya yönelik bir mekanizma, *TERT* tarafından kodlanan telomeraz ters transkriptazın ekspresyonunu arttırmaktır. *TERT*'in promotör bölgesindeki mutasyonlar, ekspresyonu artırır ve glioma alt tiplerinin önemli bir biyobelirteci olarak görev yapar (Chen ve ark., 2017).

1.4.2.11.ATRX mutasyonu

ATRX geni X kromozomda q21.1 bandında bulunur. İlk olarak, α -talasemi, şiddetli psikomotor bozukluklar, ürogenital anormallikler ve karakteristik yüz dismorfizm paternleri ile sunulan X-bağlantılı mental retardasyon sendromu (*ATRX* sendromu) olan hastaları değerlendiren bir çalışma aracılığıyla keşfedildi (Nandakumar, Mansouri, & Das, 2017).

ATRX proteini, SWI / SNF2 (SWItch / Sakkaroz Fermente Edilemez) ailesinin bir parçasıdır ve transkripsiyon kofaktörü, DAXX (ölüm alanı ile ilişkili protein) ile kombinasyon halinde, telomerlerde ve perisentromerik heterokromatinde replikasyondan bağımsız histon varyantı H3.3'ün biriktirilmesi yoluyla genomik stabiliteyi korur (Pekmezci ve ark., 2017).

ATRX mutasyonları ile telomeraza bağımlı olmayan bir telomer uzatma mekanizması olan Telomerlerin Alternatif Uzaması (ALT) arasında bir korelasyon vardır. Gliomlarda *ATRX* kaybının ALT'ı yükselttiği gösterilip, *ATRX* yokluğunun da DNA hasarı ve replikatif stres ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Haase ve ark., 2018).

ATRX kaybı, mutasyonlar, delesyonlar veya gen füzyonları ile meydana gelebilir ve ALT fenotipi, *PDGFRA* (trombositten türetilmiş büyüme faktörü reseptörü alfa) amplifikasyonu ve *TP53* mutasyonu gibi diğer tanımlanmış moleküler değişikliklerle ilişkilidir (Haase ve ark., 2018). Ayrıca *ATRX* mutasyonu gliomada prognozla ilişkilidir (Xie ve ark., 2019).

1.4.2.12.EGFR ekspresyonu

EGFR, kromozom bandı 7p12 üzerinde bulunan bir transmembran tirozin kinazdır. Dört ilişkili tirozin kinazdan oluşan ErbB reseptör ailesinin bir üyesidir (Saadeh, Mahfouz, & Assi, 2018).

EGFR proliferasyonu indükler ve / veya çoklu hücre tipleri üzerinde trofik bir etkiye sahiptir. *EGFR*, çeşitli kanser türlerinde yüksek seviyelerde eksprese edilir, bu da çoklu kanser tiplerinin patogenezinde bir rol olduğunu düşündürür (Hatanpaa, Burma, Zhao, & Habib, 2010).

EGFR güçlü bir onkojendir ve neoplazmaların bu genin aktivitesini artırmak için bir yol geliştirmiş olması şaşırtıcı değildir. *EGFR*'nin farklı derecelerde astrositomda, özellikle GBM'de aşırı ekspresyon, amplifikasyon, silme mutantları ve diğerleri tarafından çeşitli yollarla modifiye edildiği bulunmuştur. GBM'lerde *EGFR* amplifikasyonunun istilayı, proliferasyonu ve radyoterapi/kemoterapiye direnci arttırdığı gösterilmiştir. *EGFR* geni ve protein değişiklikleri, özellikle GBM'lerde prognostik önemi açısından değerlendirilmektedir; bunların arasında %40'ı amplifiye edilmiş *EGFR*, %60'ı aşırı ekspresyon ve %24-67'si mutasyona uğramış bir gen ile bulunur (Saadeh ve ark., 2018).

Düşük dereceli gliomlarda *EGFR* amplifikasyonu nadirdir. Nadir olmasına rağmen, derece II, III ve IV astrositomlarda sırasıyla %0-4, %0-33 ve %34-64 aralığında değişen *EGFR* amplifikasyonu bildirmiştir (Olson ve ark., 1998; Shinojima ve ark., 2003)

EGFR aşırı ekspresyonu, sırasıyla derece II, III ve IV astrositomların %6-28, %27-70 ve %22-89'unda görülmüştür ve DNA değişikliklerinden bağımsız olarak gen transkripsiyonunda bir artışı temsil etmektedir (Saadeh ve ark., 2018).

7. kromozom polizomisinin tamamı, tüm gliomalarda en yaygın *EGFR* kopya numarası varyasyonudur (Maire, & Ligon, 2014).

1.4.2.13. *CDKN2A* ve/veya *CDKN2B*

CDKN2A ve *CDKN2B* genlerinin her ikisi de, 9p21 kromozomu üzerindeki sikline bağımlı kinazların varsayılan düzenleyicilerini kodlar (Zhong ve ark., 2017).

Hücre döngüsünü etkileyen sinyal yollarındaki anormallikler, gliomadaki kontrolsüz hücre büyümesinin ortak bir mekanizmasıdır. GBM'de, bu düzensizlik en sık olarak, *CDKN2A* ve / veya *CDKN2B*'de (%50-60) homozigot delesyonlar, diğer sikline bağlı yol genlerindeki kopya sayısı değişiklikleri veya RB ile ilişkili protein yolu genlerinde (~%20) mutasyonlar olarak ortaya çıkar (Molinario, Taylor, Wiencke, & Wrensch, 2019).

CDKN2A ve *CDKN2B* mutasyonları olan hastalarda daha yüksek glioma oluşumu riski gözlenmiştir ve *CDKN2A*'nın homozigot delesyonu, kötü prognozla bağlantılıdır. Ancak *CDKN2A* / *CDKN2B* genlerinin polimorfizmlerinin tümör derecesi ve prognozla bağlantılı olduğu kanıtlanmamıştır (Richterová, & Kolarovszki, 2016).

1.4.2.14. *RB1* mutasyonu

Hücre döngüsünden geçiş, tümör baskılayıcı genler tarafından düzenlenir. Bu genlerden biri 13q14 bölgesinde lokalize olan *RB1* genidir (O'Connor ve ark., 2001).

RBI'deki mutasyonlar, çocukluk çağı retina kanserine yol açar. Bu gen, hücre döngüsünü negatif olarak düzenleyen bir fosfoproteini kodlar ve bu aktivite, klasik RB aracılı tümör baskılama işlevi için kritiktir (Biasoli ve ark., 2013).

Mitojenik sinyalleşme üzerine, RB proteini, G1'den S fazına geçişe izin vermek için RB transkripsiyonel bastırma komplekslerini bozan hiperfosforilasyon tarafından inhibe edilir (Zhu, 2005) Knudsen ve ark., RB'nin sisplatin ve VP-16 gibi DNA'ya zarar veren ajanların varlığında S fazı içi kontrol noktası tarafından tetiklenen S fazı tutuklanmasını indüklediğini gösterdi (Knudsen ve ark., 2000). RB ayrıca, terminal hücre farklılaşması ve genetik stabilitenin korunması gibi diğer hücre işlemlere de katılır (Biasoli ve ark., 2013).

RB yolu, insan kanser türlerinin %70'inde değişmiştir. GBM'de bu yol, vakaların %78'inde değişse de, *RBI* genindeki mutasyonlar ve homozigotik delesyonlar bunların sadece %11'inde görülür (Biasoli ve ark., 2013).

1.4.2.15. PDGF ekspresyonu

PDGF ailesi, A-, B-, C- ve D- zincirlerinin kovalent olarak bağlanmış heterodimer veya homodimerlerinden oluşur (PDGF-AA, -AB, -BB, -CC ve -DD) (Westermarck, 2014).

Ligandlar, ligand özgüllükleri ile heterodimerik α ve β tirozin kinaz reseptörlerine bağlanır ve bunları etkinleştirir.

Ras-MAPK, PI3K ve PLC γ yollarının en çok çalışıldığı *PDGF* reseptör aktivasyonu ile birkaç hücre içi sinyal yolağı devreye girer. Reseptör aktivasyonu, hücre döngüsü başlangıcı, DNA sentezi ve mitozla sonuçlanır. *PDGF* sadece hücre döngüsü düzenlemesinde değil, aynı zamanda hücre göçü ve kemotaksiste de rol oynar (Westermarck, 2014).

PDGF ve *PDGF* reseptörleri, özellikle parakrin reseptör aktivasyonu yoluyla böbrek, akciğer, bağırsak ve beyin dokularında gelişimde önemli işlevleri yerine getirir (Andrae, Gallini, & Betsholtz, 2008).

PDGF ligandlarının ve reseptörlerinin aşırı ekspresyonu/hiperaktivitesi, tüm derecelerdeki insan gliomalarında sık görülen olaylardır ve tümörlerdeki ekspresyon paternleri (modeli), otokrin ve parakrin uyarıcı döngülerin varlığını düşündürür (Nazarenko ve ark., 2012).

PDGF ve *PDGFR* genlerinin amplifikasyonu GBM'lerin sadece %11'inde görülür (Nazarenko ve ark., 2012).

1.4.2.16. Ki-67 proliferasyon indeksi

Ki-67, proliferatif hücre döngüsü sırasında eksprese edilen ve ribozomal RNA'nın (rRNA) transkripsiyonu ile ilişkilendirilen histon olmayan bir nükleer proteindir (Alkhaibary, Alassiri, AlSufiani, & Alharbi, 2019).

Ki-67 proteini hücre çekirdeğinde bulunur ve tüm aktif hücre döngüsü fazları boyunca ifade edilirken, dinlenme hücre fazı olan G 0'da ifade edilmez (Alkhaibary ve ark., 2019; Nielsen ve ark., 2018). Kanser hücrelerinde beklendiği gibi, Ki-67 ekspresyon yüzdesi yüksektir (Alkhaibary ve ark., 2019). Tüm tümör çekirdeklerinin Ki-67 pozitif tümör çekirdeklerinin yüzdesi olarak tanımlanan Ki-67 etiketleme indeksi (LI), histolojik tümör derecesi ile ilişkilidir. Proliferasyon markörü Ki-67 (veya MIB-1), gliomların derecelendirilmesinde yardımcı bir marker olarak önerilmiştir (Nielsen ve ark., 2018).

DSÖ tarafından gliomlar için bildirilen genel Ki-67 LI değerleri, diffüz astrositomlar için %4'ün altında ve anaplastik astrositomlar için %5 ile %10 arasındadır, GBM için bildirilen ortalama değerler ise %15 ile %20 arasındadır (Louis ve ark., 2016)

1.4.3.Glial Beyin Tümörlerinin Epidemiyolojisi

Her yıl dünya çapında ~ 100.000 kişiye diffüz glioma teşhisi konulmaktadır. Yeni tanı konmuş tüm kanserlerin <%1'ini oluşturmasına rağmen, diffüz glioma önemli mortalite ve morbidite ile ilişkilidir. En ölümcül glioma olan GBM, tüm diffüz glioma tanılarının %70-75'ini oluşturur ve ortalama 14-17 aylık bir genel sağkalıma sahiptir. Küresel olarak, glioma insidansında Avrupa ve Asya popülasyonları arasında belirgin farklılıklar mevcuttur. Coğrafi farklılıklara ek olarak, glioma insidansı yaşa, cinsiyete, etnik kökene ve tümör histolojisine göre değişirken, glioma sağkalımı tümör alt tipi, yaş ve cinsiyete göre değişir (Quartuccio ve ark., 2020).

Küresel olarak, yetişkin diffüz gliomların görülme sıklığı ülkeler arasında önemli ölçüde farklılık göstermektedir. 40 yaşın üzerindeki yetişkinlerde, yaşa göre ayarlanmış yıllık astrositik tümör insidansı 100.000 kişi başına 6,8 vakadır. Ağırlıklı olarak Kuzey Avrupa nüfusu olan ülkeler (Amerika Birleşik Devletleri'nde 7,8'den Avustralya ve Yeni Zelanda'da 9,6'ya kadar), ağırlıklı olarak Asya veya Afrika nüfusu olan ülkelere (Güneydoğu Asya'da 1,9'dan Hindistan'da 3,3'e kadar) göre daha yüksek bir orana sahiptir (Molinaro, Taylor, Wiencke, & Wrensch, 2019).

Batı Avrupa'da (100.000'de 8,5 vaka) Doğu Asya ülkelerine (Japonya ve Singapur gibi: 100.000'de 1,9 vaka) göre dört kat daha yüksek insidans oranı vardır ve etnik, kültürel ve/veya çevresel farklılıkların, gözlemlenen sapmaları açıklama olasılığının daha yüksek olduğunu göstermektedir (Molinaro, Taylor, Wiencke, & Wrensch, 2019).

Diffüz glioma alt tipleri içinde, popülasyon insidansı yaşa ve cinsiyete göre değişir.

Astrositom (GBM ve diffüz veya anaplastik astrositom dahil) insidansı yaşla birlikte artar ve 75-84 yaşları arasında pik yapar. Erkekler kadınlardan tüm yaş gruplarında %40-50 daha yüksek insidansa sahiptir. 2000–2014'te glioblastomlu yetişkinler için 1 yıllık ve 5 yıllık göreceli sağkalım sırasıyla %41 ve %5 idi. GBM dışı astrositomlularında 1 yıllık ve 5 yıllık göreceli sağkalım sırasıyla %72 ve %44'tür (Molinaro, Taylor, Wiencke, & Wrensch, 2019).

Derece II oligodendrogliomaların ve oligoastroitomaların popülasyon insidansı 35-44 yaşlarında zirveye ulaşır. Erkekler, yaşa bağlı olarak kadınlardan ~%25–60 daha yüksek insidansa sahiptir. 2000–2014'te, oligodendroglioma için 1 yıllık ve 5 yıllık bağlı sağkalım sırasıyla %90 ve %70'tir. Anaplastik oligoastroitik tümör insidansı 55 ile 64 yaşları arasında zirve yapar; bu yaş grubunda erkekler kadınlardan %20 daha fazla insidans göstermektedir (tüm yaş gruplarında%20-40 aralığı) (Pekmezci ve ark., 2017).

1.4.4.Glial Beyin Tümörlerinin Etiyolojisi

On yıllardır süren araştırmalara rağmen, yetişkin diffüz gliomaların gelişimi için çok az sayıda genetik olmayan risk faktörü tespit edilmiştir. Yalnızca iyonlaştırıcı radyasyon maruziyetleri glioma nedeni olarak kabul edilir, ancak bunlar genel olarak az sayıda vakayı açıklar. Bu nedenle, çoğu diffüz gliomun özgül etiyolojisi belirsizliğini korumaktadır. Nihayetinde, artık genetik risk faktörleri hakkında daha fazla şey bilindiği için, çevresel maruziyetler, gelişim faktörleri ve genetik duyarlılıklar arasındaki etkileşimi ve bunların tümör oluşumuna nasıl katkıda bulunduğunu anlamak mümkün olabilir (Molinaro, Taylor, Wiencke, & Wrensch, 2019).

İyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma, özellikle çocuklukta, diffüz glioma için en güçlü çevresel risk faktörü olmaya devam etmektedir. İyonlaştırıcı radyasyon DNA'ya zarar verir ve bu da maruziyetten 7-9 yıl sonra onkogeneze yol açabilir. Çeşitli iyonlaştırıcı olmayan radyasyon (cep telefonlarında kullanılan son derece düşük frekanslı maruziyetler, mikrodalgalar ve radyo frekansları dahil) maruziyetlerinin glioma riskine olan katkıları geniş çapta incelenmiştir, ancak bu tür radyasyona ömür boyu maruz kalmanın belirlenmesindeki zorluklar ve kanserojen etkilerin herhangi bir ikna edici biyolojik açıklamasının bulunmaması nedeniyle bu araştırmaların sonuçları kesin değildir (Molinaro, Taylor, Wiencke, & Wrensch, 2019).

Aynı bölgede kafa travmasından sonra gliomların ortaya çıkması ile ilgili birçok vaka raporu mevcuttur. Çalışmalar, yetişkin ve perinatal travmatik kafa travması veya kombine perinatal ve yetişkin kafa travması ile zayıf ama tutarsız veya anlamlı olmayan bir ilişki bulmuştur (Ohgaki, & Kleihues, 2005).

1.4.5. Glial Beyin Tümörlerinin Belirtileri

Gliomların, klinik bulgu ve semptomları diğer beyin tümörlerinde olduğu gibi tümörün yerleşim yeri, büyüklüğü ve büyüme hızı gibi birçok faktöre bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Baş ağrısı, glioması olan kişilerde sık görülen bir semptomdur. Gliomalı kişilerin yaklaşık yarısı bu semptomu yaşar. GBM'li insanlar için baş ağrıları şiddetli olabilir ve genellikle sabahları daha kötüdür (Omuro, & DeAngelis, 2013). Glioması, özellikle de astroitomu olan kişiler, genellikle durumun erken bir belirtisi olarak nöbetler geçirir (Smits, & Duffau, 2011). Semptomlar genellikle tümörün beynin neresinde geliştiğiyle ilgilidir. Hastalarda

artmış intrakranyal basınca bağlı olarak baş ağrısı, bulantı, kusma, hemiparezi, epileptik atak, kognitif bozukluklar, konuşma bozuklukları, hafıza değişiklikleri, bilinç kaybı, ataksi, kraniyel sinir paralizi ve görme bozuklukları gibi semptomlar gelişebilir (Omuro, & DeAngelis, 2013; Posti ve ark., 2015). Karmaşık görsel halüsinasyonlar da düşük dereceli glioma semptomu olarak tanımlanmıştır (Lim, Weir, O'Brien, & Kaye, 2011).

1.4.6.Glial Beyin Tümörlerinin Tanısı

Glial beyin tümörlerinde erken teşhis için serum belirteçleri tanımlanmamıştır. Uygun şekilde örneklenmiş ve korunmuş dokunun histolojik incelemesi, glioma teşhisi için altın standart olmaya devam etmektedir. Hastanın yaşı, klinik semptomların süresi ve lezyonun yerini ve görünümünü gösteren görüntüleme bulguları gibi bilgiler histopatolojik analiz için yol gösteren bir ayırıcı tanı sağlar (Dunbar, & Yachnis, (2010).

Nörolojik semptomların ve belirtilerin gelişimi, gliomaların büyüme dinamiklerinin tahmin edilmesine yardımcı olur: Haftalarca semptomlara neden olan tümörler muhtemelen hızlı büyürken, teşhis edilmeden yıllar önce semptomlara neden olan tümörler muhtemelen yavaş büyürler. Hasta öyküsü, radyasyona maruz kalma veya beyin tümörleriyle ilişkili diğer durumlar dahil olmak üzere ailesel veya eksojen risk faktörlerini de ortaya çıkarabilir. Klinik durum özellikleri, yeni başlayan epilepsi, nörobilişsel bozukluk dahil fokal defisitler ve baş ağrısı, kusma ve bilinç değişikliği gibi intrakraniyal kitle etkisinin göstergeleridir (Weller ve ark., 2017).

Fizik muayene, sistemik kanserin saptanmasına ve nöroşirürji prosedürleri için kontrendikasyonlara odaklanmayı sağlar. En az bir düzlemde T2 ağırlıklı ve sıvı ile zayıflatılmış inversiyon geri kazanım sekansları ve gadolinyum kullanımından önce ve sonra T1 ağırlıklı sekanslar dahil olmak üzere MRI, bir gliomun saptanması için standart yöntemdir (Ellingson ve ark., 2015)

Ek olarak, kraniyal BT kalsifikasyonları gösterirken, intra-arteriyel anjiyografi cerrahi stratejiye yardımcı olabilir ve aminoasit PET, biyopsi için metabolik sıcak noktaları tanımlamaya yardımcı olur (Albert ve ark., 2016)

Terapötik müdahalelerin etkinliğini değerlendirmek için standartlaştırılmış MRI sekanslarının tekrarı da önerilir (Wen ve ark., 2010).

Gliomalı hastalarda tedavi kararları, doku teşhisine ve seçilen moleküler belirteçlerin değerlendirilmesine bağlıdır. Bu nedenle, cerrahi genellikle teşhis ve tedavi amaçlarıyla gerçekleştirilir. Tümör kütesinden numuneler, deneyimli bir beyin cerrahı ve nöropatolog ekibi gerektiren stereotaktik prosedür sırasında biyopsi iğnesinin yörüngesi boyunca alınmalıdır. Cerrahi prosedür sonlandırılmadan önce sitolojik örneklerin veya donmuş kesitlerin intraoperatif değerlendirilmesi, bir tanı koymak için yeterli dokunun elde edilmesini sağlamaya yardımcı olur. Tümör dokusu formalinle sabitlenir ve rutin hematoksilin-eozin boyama ve ek immünohistokimyasal ve moleküler analizler kapsayan

geleneksel histolojik boyama için parafine gömülür. Mümkünse, dokunun bir kısmı gelecekteki moleküler belirteç çalışmaları için dondurularak saklanmalıdır (Weller ve ark., 2017)

Teşhis süreci, DSÖ sınıflandırmasını (Louis ve ark., 2016) takip eder ve histolojik tümör tiplemesini, dört kademeli DSÖ derecelendirme şemasını (DSÖ derece I-IV) kullanarak tümör derecelendirmesini ve doku temelli moleküler biyobelirteçleri entegre eder.

2016 DSÖ sınıflandırması, IDH1 kodon 132 veya IDH2 kodon 172 yanlış anlam mutasyonlarının ana tanısal rolünü belirtir ve diffüz ve anaplastik astrositik gliomları ve oligodendrogliyal gliomları IDH-mutant tümörler olarak tanımlar (Louis ve ark., 2016). Ayrıca oligodendrogliyal tümörler 1p / 19q kod çözümlmesine sahiptir.

Dört moleküler biyobelirteç, gliomaların teşhisi ve tedavisinde esas alınır ve bunlar; IDH mutasyonu, 1p / 19q kod çözüme, histon H3-K27M mutasyonu ve MGMT promotör metilasyonudur. MGMT promotör metilasyon durumu kemoterapi kullanımı ile ilgili tedavi kararlarına rehberlik etmektedir (Weller ve ark., 2013)

1.4.7.Glial Beyin Tümörlerinin Tedavisi

1.4.7.1.Cerrahi tedavi

Gliomlarda cerrahi tedavinin amacı, nörolojik fonksiyondan ödün vermeden mikrocerrahi teknikler kullanılarak mümkün olduğunca fazla tümör dokusunu güvenli bir şekilde çıkarmaktır.

Fonksiyonel MRI veya difüzyon tensör görüntüleme veri setlerini barındıran cerrahi navigasyon sistemleri ve intraoperatif MRI, ultrasonografi, fonksiyonel izleme ve 5-aminolevulinik asit ile tümör dokusunun floresan temelli görselleştirilmesi gibi çeşitli araçlar, yeni nörolojik defisit riskini düşük tutarken postoperatif rezidüel tümör hacimlerini azaltmaya yardımcı olur (Stummer ve ark., 2006). Dili ve bilişi izlemek ve korumak için lokal anestezi altında uyanık hastalarda; uyarılmış potansiyellerin, elektromiyografinin veya beyin haritalamasının kullanılması, anlamlı alanlarda rezeksiyonları kolaylaştırır (Hamer, Robles, Zwinderman, Duffau, & Berger, 2012).

Bağımsızlığı tehlikeye atabilecek, yaşam kalitesini düşürebilecek ve daha ileri tedaviyi geciktirebilecek veya engelleyebilecek ek komplikasyon riskini artırabilecek yeni kalıcı nörolojik defisitleri önlemek, rezeksiyonun kapsamından daha önemlidir. Çünkü diffüz gliomlar ameliyatla tedavi edilmez. Ameliyat nedeniyle oluşabilecek nörolojik defisitler bazen ameliyat öncesi tahmin edilebilmektedir. İstisnai durumlarda, beklenen küçük kusurlar (kadrananopi gibi), ancak kapsamlı bir ortak karar alma sürecinden sonra kabul edilebilir olarak değerlendirilebilir. Hastalar ve yakınları, beyin cerrahisinin her zaman bazı öngörülemeyen risklerle ilişkili olduğu konusunda bilgilendirilmelidir. Ortaya çıkan cerrahi

komplasyonlara bağlı postoperatif kusurlar, daha ileri tedaviyi engelleyebilecek negatif bir prognostik faktördür ve sağlığa bağlı yaşam kalitesi, hastalar ve yakınları için yüksek önceliğe sahiptir (Weller ve ark., 2017).

Rezeksiyonun kapsamı cerrahiden sonraki 24-48 saat içinde MRI (veya MRI mümkün değilse BT), kontrast olmadan ve kontrastla değerlendirilmelidir; MRI perioperatif iskeminin saptanmasını sağlamak için difüzyon ağırlıklı sekanslar içermelidir (Bette ve ark., 2016).

Rezeksiyonun kapsamının ve rezidüel tümör hacminin prognostik faktörler olarak rolü, nöro-onkoloji topluluğu içinde tartışmalı olmaya devam etmektedir çünkü bu soruyu ele alan randomize kontrollü çalışmaların (RKÇ'ler) gerçekleştirilmesi çok zordur ve neredeyse hiç bu tür çalışma yoktur. Daha az bir rezeksiyon kapsamı ve daha büyük cerrahi sonrası rezidüel tümör hacimleri, tüm dereceler ve alt tiplerdeki gliomalarda negatif prognostik faktörlerdir (Weller ve ark., 2017).

İlk olarak, rezeksiyon kapsamının yüzdesinden ziyade, klinisyenlerin hem kontrastlanma gösteren hem de kontrastlanma göstermeyen tümör dokusu dahil olmak üzere kalan tümör dokusunun mutlak hacmini göz önünde bulundurması gerekebilir. İkincisi, cerrahi sonrası radyoterapinin daha geç (3-5 hafta) başlatılmasının aksine erken (<3 hafta) başlatılması genel sağkalımda iyileşme ile ilişkili değildir. Bu bulgu beklenmedik bir durumdur çünkü cerrahi ile radyoterapinin başlaması arasında daha uzun bir zaman aralığının tümörün yeniden büyümesini destekleyeceği ve dolayısıyla bir hayatta kalma dezavantajı yaratacağı tahmin edilebilir. Üçüncüsü, kanıtlar, rezektabl tümörlerin, rezekte edilemeyen tümörlerden genel olarak daha az malign olan farklı bir biyolojiye sahip olduğunu gösterir, bu da cerrahinin kapsamı ile hayatta kalma arasındaki nedensel ilişkiye meydan okur. Örneğin, IDH durumu kontrol edildikten sonra, cerrahi rezeksiyonun sağkalım üzerindeki etkisinin ileriye dönük bir değerlendirmesinde, brüt toplam rezeksiyon oranı, IDH-mutant tümörlü hastalarda IDH-vahşi tip tümörü olanlara göre daha yüksektir. Gerçekte, geriye dönük veriler, IDH-mutant tümörlü hastalara göre IDH-vahşi tip tümörlü hastalarda biyopsinin daha sıklıkla ilk ameliyat tipi olduğunu göstermektedir (Weller ve ark., 2017).

IDH-mutantına karşı IDH-vahşi tip tümörlerle ilişkili daha uzun hayatta kalma sürelerini, brüt toplam rezeksiyon oranına atfetmek bu nedenle muhtemelen doğru sonuç olmayacaktır.

1.4.7.2. Radyoterapi

Radyoterapinin amacı, nörotoksisiteye neden olmadan lokal kontrolü arttırmaktır. Nitekim, radyoterapi geçen yüzyılda yapılan birkaç erken klinik çalışmada nörolojik bozulmayı geciktirip ve sağkalımı artırdığı gözlemlenmiştir (Weller ve ark., 2017).

Radyoterapinin zamanlaması, dozajı ve planlaması yaş, karnofsky performans skalası (KPS) ve rezidüel tümör hacmi dahil hastalık alt tipi ve prognostik faktörlere göre belirlenir. Radyoterapi, ameliyattan sonraki 3-5 hafta içinde başlamalıdır ve genellikle 50-60 Greyde (Gy'de) günlük 1,8-2 Gy fraksiyonlarda uygulanır. DSÖ derece II gliomalı hastalarda düşük doz radyasyona kıyasla yüksek dozdan ek bir fayda olduğunu gösteren hiçbir kanıt yoktur ve daha yüksek DSÖ dereceli tümörü olanlar için, randomize çalışmalardan elde edilen hiçbir veri >60 Gy dozlarının kullanımını desteklememektedir (Breen ve ark., 2020; Khan ve ark., 2020). Fraksiyon başına daha yüksek doz ve daha düşük toplam doz (örneğin, 15 × 2,67 Gy) ile hipofraksiyone radyoterapi, yaşlı hastalarda (>65-70 yaş) ve kötü prognozlu hastalarda (tipik olarak <70 KPS ile tanımlanır) uygundur (Roa ve ark., 2004).

Cerrahi yatağın alanı artı T1 ağırlıklı, T2 ağırlıklı ve FLAIR MRI sekanslarında tanımlanan rezidüel tümör alanı, brüt tümör hacmi olarak tanımlanır. Mikroskobik istilayı hesaba katmak için, genellikle T2 ağırlıklı veya FLAIR sinyalleri temelinde görselleştirilen ve ventriküller, tentoryum ve falks gibi anatomik engellerle sınırlanan anormallikleri içerecek şekilde modifiye edilen klinik hedef hacmi oluşturmak için 1,0–2,0 cm'lik bir kenar boşluğu eklenir. Son olarak, hasta durumu ve tedavi sunumundaki belirsizlikleri göz önünde bulundurarak genellikle 0,3-0,5 cm'lik başka bir kenar boşluğu eklenir ve planlama hedef hacmi oluşturulur (Niyazi ve ark., 2016).

Radyoterapide hedef tanımlamayı geliştirmek için L- [metil-(11C)]-metiyonin veya O – (2- [18F] - floretoil) - L-tirozin gibi izleyiciler kullanılarak amino asit PET'in kullanımı klinik çalışmalarda değerlendirilmiştir ancak şu anda standart uygulamanın bir parçası değildir (Albert ve ark., 2016).

Optik sinirler, optik kiazma, retina, lensler, beyin sapı, hipofiz, koklear ve hipokampus da dahil olmak üzere radyoterapi kaynaklı toksisite riski daha yüksek olan yapılar tanımlanmalıdır. Yeni teşhis edilmiş tümörler için yoğunluk ayarlı radyoterapi ve tekrarlayan tümörler için stereotaktik radyoterapi ve radyocerrahi dahil olmak üzere modern, konformal (yalnız tümör ve yayıldığı alanı içeren lokalize) radyoterapi teknikleri, üstün hedef kapsama alanı ve habis olmayan beyin dokusunun korunmasını sağlayabilir (Weller ve ark., 2017).

Proton veya ağır iyon radyoterapi, risk altındaki beyin bölgelerine yakın tümörleri olan hastalarda veya gecikmiş toksisitelerden kaçınmak için olumlu prognoza sahip hastalarda göz önünde bulundurulması gereken seçenekler olabilir, ancak bu yaklaşımların tolere edilebilirliğini, güvenilirliğini ve etkinliğini standart radyoterapi ile karşılaştırmak için RKC'ler gereklidir (Weller ve ark., 2017).

Tüm konformal yaklaşımlar için doğru hasta konumlandırma gereklidir ve bu tedavi sırasında tekrarlanabilir immobilizasyon ve dijital görüntüleme ile gerçekleştirilir. İnterstisyel brakiterapi yaklaşımları, harici ışın tedavisine alternatif olarak uzun yıllardır araştırılmış, ancak rutin pratikte henüz bir uygulamaya sahip olduğu gösterilmemiştir.

Radyoterapinin tamamlanmasından 3-4 hafta sonra planlanan bir MRI taraması, hastalığın daha ileri seyrini izlemek için yeni bir referans sağlar (Weller ve ark., 2017).

1.4.7.3.Farmakoterapi

Gliomalı hastalar için çoğu farmakolojik tedavi öncesinde ve sırasında normal fizyolojik aralıklar dahilinde hematolojik, hepatik ve renal laboratuvar değerleri ile önemli akciğer veya kalp hastalığı ve enfeksiyonun dışlanması gerekir.

Gliomalı hastaların çoğu, hastalık seyrinin bir noktasında alkilleyici ajanlarla kemoterapi alır. Kan-beyin bariyerini aşan bir oral DNA alkilleyici ajan olan temozolomid, glioma tedavisinde en sık kullanılan ilaçtır. Bu ajan, miyelosüpresyon, özellikle de trombositopeni olmak üzere, ana doz sınırlayıcı toksisitesi olarak olumlu bir güvenlik profiline sahiptir (Stupp ve ark., 2005). Temozolomid alan hastalarda karaciğer fonksiyonunun da düzenli olarak izlenmesi gerekir.

Temozolomidin aksine, lomustin, carmustin, nimustin veya fotemustin gibi nitrozüre sınıfından alkilleyici ajanlar daha sıklıkla kümülatif lökopeni ve trombositopeniye neden olur. Özellikle trombositopeni; tedaviye ara vermeyi, doz azaltmayı ve hatta tedavinin kesilmesini ve alternatif tedavilerin değerlendirilmesini gerektirebilir. Pulmoner fibroz, esas olarak carmustin ile gözlenmiştir ve lomustin ile nadir olarak gözlenmiştir (Weller, & Le Rhun, 2020). Lomustin, genellikle PCV olarak adlandırılan, birincil beyin tümörlerinin, özellikle gliomaların tedavisinde kullanılan bir rejimde prokarbazin ve vinkristin ile birleştirilir. Cerrahi sonrası boşluğa implante edilen karmustin levhalar, yeni teşhis edilmiş DSÖ derece III veya IV glioması veya tekrarlayan GBM'si olan hastalarda mütevazı bir sağkalım yararı sağlamıştır (Weller ve ark., 2017).

Çeşitli RKÇ'lerde gösterilen alkilleyici ajan kemoterapisinin faydası, potansiyel uzun vadeli toksisitelere ve özellikle daha uzun yaşam beklentisine sahip IDH-mutant gliomalı hastalarda daha kötü huylu bir fenotip ile ilişkili bir hipermutatör fenotipi indüklemeye riskine karşı değerlendirilmelidir (Touat ve ark., 2020; When ve ark., 2020).

Bir anti-VEGF antikoru olan bevacizumab, ABD, Kanada, İsviçre ve Avrupa Birliği dışındaki diğer bazı ülkelerde tekrarlayan GBM tedavisi için onaylanmıştır, ancak kullanımından sağkalım yararı gösterilmemiştir (Weller ve ark., 2017).

Sistemik tedavi alan gliomalı hastalar, takibi kolaylaştırmak ve acil bir ortamda hekimlere bilgi sağlamak için laboratuvar sonuçları ve komplikasyonlar ve kontrendikasyonlar hakkında bilgileri de kapsayan bir tedavi dokümantasyonu taşımaktadır. Gliomalı hastaları yöneten klinik merkezler, standart operasyon prosedürleri ve kemoterapinin standartlaştırılmış uygulamasının yanı sıra tedaviden kaynaklanan yan olayların ve komplikasyonların yönetimi için talimatlar oluşturmalıdır.

1.4.7.4. İzleme ve takip değerlendirmeleri

Histolojik doğrulama olmadan izle ve bekle stratejileri, yalnızca nörogörüntüleme kullanılarak belirlendiğinde malignite derecesini hafife alma riskini taşır ve bu nedenle taramalar arasında yalnızca 2-3 aylık başlangıç aralıkları gerektirir.

Klinik muayeneye ek olarak MRI, yayınlanmış önerilere göre Nöro-Onkolojide Yanıt Değerlendirmesi (RANO) kriterleri (van den Bent ve ark., 2011) ve özdeş MRI protokolleri kullanılarak hastalık durumu veya tedavi yanıtının değerlendirilmesi için standart tanı ölçüsüdür (Ellingson ve ark., 2015).

Tedavinin tamamlanmasından sonra, 2–6 aylık taramalar arasında ilk aralık, hastalık histolojisine bağlı olarak çoğu hasta için yaygın bir uygulamadır, ancak kalıcı hastalık kontrolü ve daha iyi huylu tümör vakalarında daha uzun aralıklar uygun olabilir. Yalnızca en son MRI taramasının değil, aynı zamanda tüm hastalık yörüngesinin, özellikle yavaş büyüyen tedavi edilmemiş lezyonları olan hastalarda dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gereklidir (Gui, Lau, Kosteniuk, Lee, & Megyesi, 2019). Tersine, şüpheli hastalık progresyonu durumunda, 4-8 hafta içinde kısa süreli kontrol MRG ilerlemeyi doğrulamak için makul olabilir. Psödoprogresyon (yalancı ilerleme) (tipik olarak kemoradyoterapi veya immünoterapiden sonra) ve sahte yanıt (örneğin, anti-anjiyojenik tedaviden sonra) büyük olasılıkla tedavinin ilk 3 ayında meydana gelir, ancak daha sonra da ortaya çıkabilir (Radbruch ve ark., 2015). Bu dönemde taramaları yorumlarken özel dikkat gereklidir; şüphe durumunda, daha kısa aralıklardan (4-8 hafta) sonra yeniden tarama pragmatik bir yaklaşımdır. Perfüzyon MRI ve amino asit PET, sahte ilerlemeyi gerçek hastalık ilerlemesinden ayırt etmeye yardımcı olabilir (Zikou ve ark., 2018). Biyopsi örnekleme her zaman bilgilendirici değildir çünkü canlı tümör hücreleri düzenli olarak tespit edilir, ancak bunların varlığı psödoprogresyonu dışlamaz.

Tedavi edilemeyen diğer hastalıklarda olduğu gibi, gliomalı hastalara uzman psikologlar veya hemşireler ve palyatif bakım uzmanları tarafından danışmanlık sunulmalıdır. Mesleki, konuşma ve fizik tedavi ihtiyacının yanı sıra sosyal destek için danışmanlık ihtiyacı değerlendirilmelidir (Pace ve ark., 2017).

1.4.8. Glial Beyin Tümörlerinin Prognozu

Cerrahi rezeksiyon, kemoterapi ve radyoterapiyi içeren tedavilerdeki gelişmelere rağmen, medyan sağkalım ve prognoz, özellikle GBM hastaları için kötü olmaya devam etmektedir. GBM'nin medyan genel sağkalım süresi yaklaşık 1,25 yıldır ve LGG'nin süresi 6,5-8 yıldır (Hsu, Chang, Lee, Lee, & Chen, 2019). Bu nedenle, glioma hastalarının tanı ve prognozuna potansiyel olarak yardımcı olabilecek gliomun hayatta kalma olaylarının aydınlatılması önemlidir.

Tanıda daha yüksek yaş, özellikle GBM’de kötü prognozun tüm yaş gruplarında etkili olan en güçlü prognostik faktördür. Tümör progresyonuyla ilgili olarak hastanın hayatta kalma süresi, tümörün çeşitli alt tipleri ve dereceleri ile de ilişkilidir (Louis ve ark., 2007).



2. AMAÇ

Glial hücreler, MSS destekleyici hücreleridir (Molnar, & Gair, 2013). Bu destekleyici glial hücreler (veya nöronal kök hücreler) kötü huylu hale geldiğinde gliomalar diğer bir deyişle glial beyin tümörleri ortaya çıkar (Sharma, & Debinski, 2018). Gliomalar, tüm beyin tümörlerinin ve MSS tümörlerinin yaklaşık %30'unu ve tüm malign beyin tümörlerinin ise %80'ini oluşturur (Song ve ark., 2016). Vakaların yaklaşık %55'inde glioma, oldukça agresif bir tümör olan derece IV GBM olarak ortaya çıkar. GBM'li hastalar halihazırda, bir yıldan biraz daha uzun süren bir medyan sağkalım ile korkunç bir prognoza sahiptir (Ohgaki, & Kleihues, 2005). Gliomaların patogenezi çok karmaşıktır; gliomaların oluşumunda ve gelişiminde çok sayıda gen ve protein rol aldığı bilinse de mekanizma hala net değildir. Glial beyin tümörlerinde gen ekspresyon mikrodizin yöntemi kullanılarak gen ifade farklılıklarının aydınlatılması; teşhis, prognostik veya terapötik amaçlar için kullanılabilir.

Bu tez çalışmasının amacı; glial beyin kanserinde gen ifade farklılıklarının analiz edilmesi, ilgili gen ve yolların incelenip gliomanın oluşumu ve/veya ilerlemesi üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

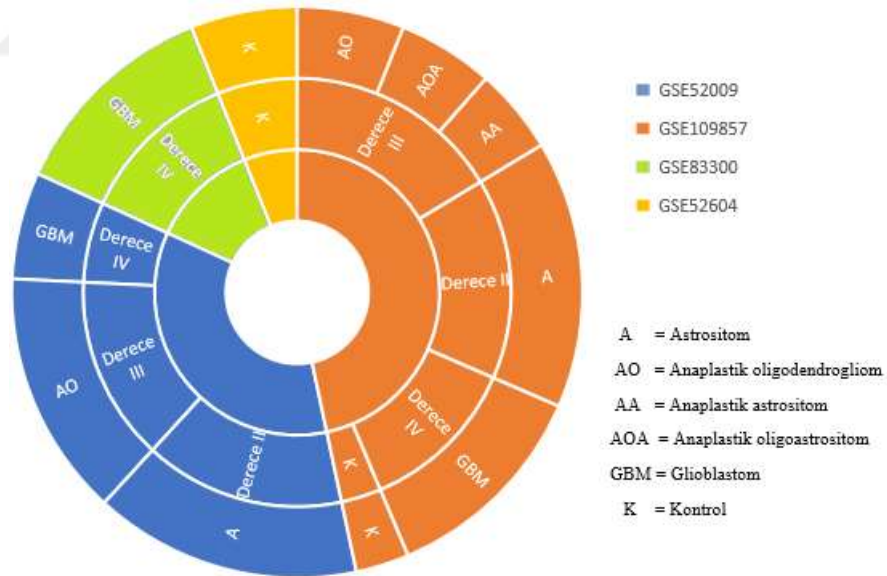
Çalışmada, veri bankalarından elde edilen derece II, III ve IV glial beyin tümörlü hastalara ait gen ekspresyon mikrodizin verileri analiz edilip, gen ifade farklılıkları belirlenecektir. Her derecede normal dokulara kıyasla farklı ifade edilen genlerin en fazla ilişkili olduğu moleküler yollar belirlenecek ve gen ontoloji (GO) analizi yapılacaktır. Farklı ifade edilen genlerin protein-protein etkileşim analizi yapılarak, en yoğun kümeler (modül) ve en fazla bağlantıya sahip merkez genler belirlenip; yolların analizleri ve GO analizleri gerçekleştirilecektir. Elde edilen bulguların, glial beyin tümörlerinin ilerlemesi ve farklılaşmasını aydınlatması, yeni terapötik yaklaşımlar geliştirilebilmesi için yapılacak yeni klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalara ışık tutması amaçlanmaktadır.

3.YÖNTEM

3.1.Mikrodizin Verileri

GEO (Gene Expression Omnibus) veri tabanından GSE52009, GSE109857, GSE83300 ve GSE52604 gen ekspresyon profilleri seçildi. Tüm gen ekspresyon veri setleri, Agilent GPL6480 (014850 Tüm İnsan Genomu Mikrodizin 4x44K G4112F) platformuna dayanıyordu.

Yaş ve cinsiyet dağılımı göz önünde bulundurularak, GSE66354 veri setinden 58 glioma örneği (25 Astrositom, 23 Anaplastik oligodendrogliom, 10 Glioblastom), GSE109857 veri setinden 72 glioma örneği (25 Astrositom, 10 Anaplastik oligodendrogliom, 8 Anaplastik astrositom, 9 Anaplastik oligoastrositom, 20 Glioblastom) ve 5 normal beyin dokusu, GSE83300 veri setinden 20 glioma örneği (20 Glioblastom) ve GSE52604 veri setinden 10 normal beyin dokusu örneği olmak üzere toplam 150 hasta ve 15 kontrol örneği çalışmaya dahil edildi (Şekil.3.1., Tablo.3.1., Tablo.3.2.). 150 hastanın 75'i (%50) kadın, 75'i (%50) erkek bireylerden oluşmaktaydı. Hastaların yaşları 18 ile 66 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 40,2 olarak saptandı. Veri setlerinde belirlenen örneklere ait Mikrodizin ham verileri GEO veri tabanından indirildi.



Şekil.3.1. Çalışmaya dahil edilen örneklerin DataSet, derece ve tanılarına göre dağılımları

Tablo.3.1. Çalışmaya dahil edilen hastalara ait bilgiler

Derece II					Derece III					Derece IV				
DS	Örnek No	Yaş	C	Tanı	DS	Örnek No	Yaş	C	Tanı	DS	Örnek No	Yaş	C	Tanı
GSE52009	GSM1257398	37	K	A	GSE52009	GSM1257456	50	K	AO	GSE52009	GSM1257481	58	K	GBM
	GSM1257399	61	K	A		GSM1257457	39	E	AO		GSM1257494	53	E	GBM
	GSM1257400	37	K	A		GSM1257458	33	E	AO		GSM1257483	51	K	GBM
	GSM1257402	31	K	A		GSM1257459	43	E	AO		GSM1257487	40	E	GBM
	GSM1257403	42	K	A		GSM1257460	45	E	AO		GSM1257497	34	K	GBM
	GSM1257404	42	E	A		GSM1257461	32	E	AO		GSM1257496	57	E	GBM
	GSM1257405	38	K	A		GSM1257462	38	K	AO		GSM1257501	30	E	GBM
	GSM1257406	32	K	A		GSM1257463	18	K	AO		GSM1257502	38	K	GBM
	GSM1257407	40	K	A		GSM1257464	34	E	AO		GSM1257503	37	E	GBM
	GSM1257409	37	E	A		GSM1257465	62	K	AO		GSM1257504	46	E	GBM
	GSM1257410	54	E	A		GSM1257466	61	E	AO		GSM2971330	28	E	GBM
	GSM1257411	33	E	A		GSM1257468	27	K	AO		GSM2971452	33	E	GBM
	GSM1257439	18	E	A		GSM1257469	42	E	AO		GSM2971393	42	E	GBM
	GSM1257413	36	E	A		GSM1257470	35	K	AO		GSM2971344	32	E	GBM
	GSM1257415	45	E	A		GSM1257471	18	E	AO		GSM2971407	24	K	GBM
	GSM1257416	37	E	A		GSM1257472	29	K	AO		GSM2971424	33	K	GBM
	GSM1257417	31	E	A		GSM1257473	66	E	AO		GSM2971432	37	E	GBM
	GSM1257418	37	E	A		GSM1257474	25	K	AO		GSM2971449	22	K	GBM
	GSM1257446	48	K	A		GSM1257476	28	E	AO		GSM2971548	47	E	GBM
	GSM1257442	45	E	A		GSM1257477	38	E	AO		GSM2971455	27	E	GBM
GSM1257421	44	K	A	GSM1257478	44	K	AO	GSM2971459	34	E	GBM			
GSM1257422	39	E	A	GSM1257479	62	K	AO	GSM2971465	30	E	GBM			
GSM1257423	37	K	A	GSM1257480	61	E	AO	GSM2971467	35	K	GBM			
GSM1257425	37	K	A	GSM2971353	50	K	AO	GSM2971485	28	K	GBM			
GSM1257437	50	E	A	GSM2971369	39	E	AO	GSM2971362	40	K	GBM			
GSM2971349	37	K	A	GSM2971389	32	E	AO	GSM2971362	40	K	GBM			
GSM2971356	42	E	A	GSM2971409	43	E	AO	GSM2971522	35	K	GBM			
GSM2971359	37	K	A	GSM2971439	45	E	AO	GSM2971523	24	K	GBM			
GSM2971361	30	E	A	GSM2971444	32	E	AO	GSM2971525	32	K	GBM			
GSM2971371	31	K	A	GSM2971445	38	K	AO	GSM2971528	35	E	GBM			
GSM2971372	42	K	A	GSM2971451	18	K	AO	GSM2971529	30	K	GBM			
GSM2971373	42	E	A	GSM2971470	35	E	AO	GSM2198639	18	E	GBM			
GSM2971388	38	K	A	GSM2971489	62	K	AO	GSM2198606	49	K	GBM			
GSM2971390	32	K	A	GSM2971348	42	E	AA	GSM2198607	35	K	GBM			
GSM2971398	40	K	A	GSM2971377	28	K	AA	GSM2198608	46	E	GBM			
GSM2971404	50	K	A	GSM2971378	35	K	AA	GSM2198609	64	E	GBM			
GSM2971406	37	E	A	GSM2971386	60	K	AA	GSM2198610	35	K	GBM			
GSM2971408	54	E	A	GSM2971387	62	E	AA	GSM2198611	54	E	GBM			
GSM2971413	33	E	A	GSM2971411	59	E	AA	GSM2198612	33	K	GBM			
GSM2971419	31	E	A	GSM2971415	43	K	AA	GSM2198613	61	E	GBM			
GSM2971420	36	E	A	GSM2971440	38	K	AA	GSM2198614	42	K	GBM			
GSM2971426	32	K	A	GSM2971345	60	E	AOA	GSM2198615	42	K	GBM			
GSM2971524	39	K	A	GSM2971346	28	E	AOA	GSM2198616	56	E	GBM			
GSM2971434	45	E	A	GSM2971352	27	K	AOA	GSM2198617	28	K	GBM			
GSM2971545	47	E	A	GSM2971446	28	E	AOA	GSM2198619	45	K	GBM			
GSM2971537	45	E	A	GSM2971384	35	K	AOA	GSM2198620	59	E	GBM			
GSM2971514	54	E	A	GSM2971453	45	K	AOA	GSM2198621	39	K	GBM			
GSM2971543	48	K	A	GSM2971401	29	K	AOA	GSM2198622	56	E	GBM			
GSM2971486	52	K	A	GSM2971477	39	K	AOA	GSM2198623	62	E	GBM			
GSM2971464	44	K	A	GSM2971412	25	K	AOA	GSM2198624	44	K	GBM			

DS=DataSet Numarası, C=Cinsiyet, E=Erkek, K=Kadın, A=Astrositom, AO=Anaplastik oligodendrogliom, AA=Anaplastik astrositom, AOA=Anaplastik oligoastrositom, GBM=Glioblastom

Tablo.3.2.Çalışmaya dahil edilen kontrollere ait bilgiler

DataSet ID	Örnek No	Yaş	C	Tanı	Derece
GSE109857	GSM2971549	B	B	N	0
	GSM2971550	B	B	N	0
	GSM2971551	B	B	N	0
	GSM2971552	B	B	N	0
	GSM2971553	B	B	N	0
GSE52604	GSM1272438	B	B	N	0
	GSM1272439	B	B	N	0
	GSM1272440	B	B	N	0
	GSM1272441	B	B	N	0
	GSM1272442	B	B	N	0
	GSM1272443	B	B	N	0
	GSM1272444	B	B	N	0
	GSM1272445	B	B	N	0
	GSM1272446	B	B	N	0
GSM1272447	B	B	N	0	

(C=Cinsiyet, B=Belirtilmemiş, N=Negatif)

3.2.Ekspresyon Analizi

Tümörlü dokular ile normal dokular arasındaki ve tümörlü dokularda farklı dereceler arasındaki diferansiyel eksprese olan genleri (DEG'leri) elde etmek için GeneSpring Software versiyon 14.9_gx_pa kullanıldı. DEG'ler tanımlanırken; Tümörlü dokular ile normal dokular arasında Tek yönlü ANOVA istatistiksel analizi, tümörlü dokularda farklı dereceler arasında t-testi istatistiksel analizi kullanılıp, P-değeri <0,05 ve ekspresyon kat sayısı değişimi >2.0 eşik değeri olacak şekilde ayarlandı ve Benjamini-Hochberg çoklu test düzeltilmesi kullanılarak yanlış pozitiflik oranı azaltıldı.

3.3. DEG'lerin Yolak Analizi

Ek Açıklama, Görselleştirme ve Entegre Keşif Veritabanı (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery DAVID, <https://david.ncifcrf.gov/>), geniş gen veya protein listelerinin işlevsel yorumu için araçlar sağlamayı amaçlayan web tabanlı bir çevrimiçi biyoinformatik kaynağıdır (Huang, Sherman, & Lempicki, 2009).

DEG'ler arasında anlamsız bölgeler, lncRNA'lar ile miRNA'lar çıkartıldı ve geçersiz gen sembolleri OMIM ve GeneCards veritabanlarından kontrol edilip güncel gen sembolleri ile değiştirildi. Oluşturulan listeler DAVID arayüzüne yüklenip, P-değeri <0,05 olarak kabul edilerek DEG'ler arasındaki moleküler yolaklar belirlendi ve GO analizi yapıldı.

3.4. Protein-Protein Etkileşim Ağı ve Modül Analizi

STRING (Etkileşen Genlerin Alınması için Arama Aracı), protein-protein etkileşimi (PPE) bilgilerini değerlendirmek için tasarlanmış yararlı bir çevrimiçi araçtır (Szklarczyk ve ark., 2014).

Her derecede DEG'ler arasındaki potansiyel ilişkiyi keşfetmek için, Cytoscape 8.3.2 yazılımında STRING uygulaması kullanıldı ve DEG'leri STRING ile eşlerken; kesme kriteri olarak güven puanı $\geq 0,4$ ve maksimum uygulayıcı sayısı =0 olarak belirlendi. PPE bilgileri doğrultusunda yüksek derecede bağlantıya sahip ilk 15 gen merkez gen olarak seçildi.

Ayrıca, PPE ağının modüllerini (en yoğun kümelerini) taramak için Cytoscape'de Moleküler Kompleks Tespit (MCODE) uygulaması; derece kesme =2, düğüm puanı kesme =0.2, k-çekirdek =2 ve maks. derinlik =100 olarak kullanıldı ve yüksek skora sahip ilk 5 modül kaydedildi. Bu modüllerdeki genlerin yolak analizi DAVID tarafından yapıldı.

Merkez genleri de STRING'e $\geq 0,4$ güven puanı ve maksimum interaktör sayısı =0 olarak eklendi. Potansiyel bilgilerini belirlemek için DAVID üzerinden GO ve KEGG yolak analizleri de yapıldı.

3.5. Merkez Genlerinin Hayatta Kalma Analizi

Nükseden ve genel hayatta kalma bilgileri, TCGA ve GTEx verilerine dayalı web tabanlı bir araç olan GEPIA (Gene Expression Profiling Interactive Analysis) (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>) tarafından analiz edildi (Tang ve ark., 2017). %95 güven aralıklı tehlike oranı (HR) ve log rank p değeri hesaplandı ve grafik üzerinde gösterildi.

3.6. Merkez Gen İfade Düzeylerinin Karşılaştırılması

GEPIA, TCGA ve GTEx projelerinden 9736 tümör ve 8587 normal numunenin RNA dizileme ekspresyon verilerini standart bir işleme hattı kullanarak analiz edebilen yeni geliştirilmiş etkileşimli bir web sunucusudur (Tang ve ark., 2017). Merkez genlerin glioma dokularında ve normal dokularda ekspresyon seviyeleri ortaya çıkartıldı. Ardından, korelasyonları görselleştirmek için kutu grafikleri yapıldı.

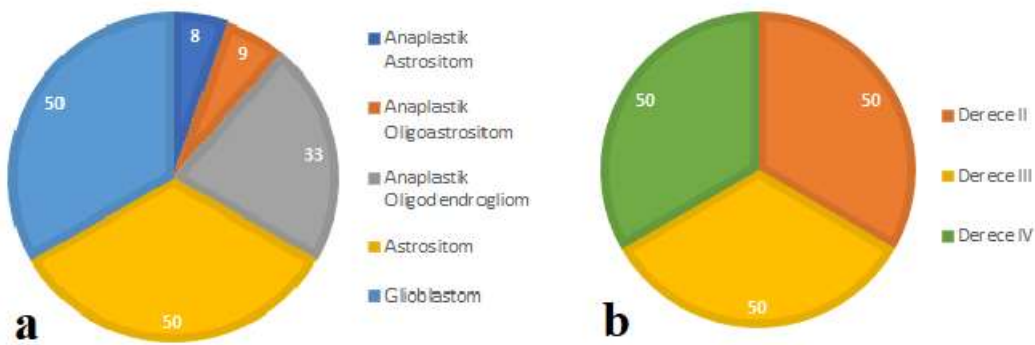
İnsan Protein Atlası (İPA, <https://www.proteinatlas.org/>), antikor tabanlı görüntüleme, kütle spektrometrisi tabanlı proteomikler, transkriptomikler ve sistem biyolojisi dahil olmak üzere çeşitli omik teknolojilerin entegrasyonunu kullanarak hücreler, dokular ve organlardaki tüm insan proteinlerini haritalamak amacıyla 2003 yılında başlatılan İsveç tabanlı bir programdır (Uhlén ve ark., 2015). İPA'ya dayalı glioması olan veya olmayan hastaların immünohistokimyasal verileri elde edilerek, bu merkez genlerin ekspresyonu doğrulandı.

4. BULGULAR

4.1.Hastalara Ait Temel Bulgular

Çalışmada, 150 hasta ve 15 kontrol örneği yer aldı. 150 hastanın 75'i (%50) kadın, 75'i (%50) erkek bireylerden oluşmaktaydı. Hastaların yaşları 18 ile 66 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 40,2 olarak saptandı.

Hastaların tanılarına göre sayısal dağılımı; % 33,33 astrositom (50 hasta), % 22 anaplastik oligodendrogliom (33 hasta), % 5,33 anaplastik astrositom (8 hasta), % 6 anaplastik oligoastrostitom (9 hasta) ve %33,33 glioblastom (50 hasta) olarak ortaya çıkmaktadır (Şekil.4.1.a). Hastaların DSÖ derecelerine göre sayısal dağılımı ise eşittir (50 hasta derece II (%33,33), 50 hasta derece III (%33,33), 50 hasta derece IV (%33,33))(Şekil.4.1.b)



Şekil.4.1.Hastaların tanı ve derecelere göre dağılımı. a.Tanılara göre dağılımı, b.DSÖ derecelerine göre dağılımı

4.2. Ekspresyonu Değişen Genler

Tümörlü dokular ile normal doku ve tümörlü dokularda farklı derecelere ait örneklerin GeneSpring'de ekspresyon kat sayısı değişimi >2.0 eşik değeri olarak kıyaslanması sonucunda Tablo.4.1.'de gösterildiği gibi farklı sayılarda ekspresyon değişikliği gösteren genler tanımlandı.

Tablo.4.1.Örneklerin ekspresyon verilerinin kıyaslanması sonucu derecelere ait artan ve azalan gen sayıları

Karşılaştırılan Hasta Grupları	Artan Gen Sayısı	Azalan Gen Sayısı
Kontrol vs Derece II	6970	2179
Kontrol vs Derece III	6143	1823
Kontrol vs Derece IV	6107	1460
Derece II vs Derece III	734	1245
Derece II vs Derece IV	791	704
Derece III vs Derece IV	601	278

Tablo.4.2. ve Tablo.4.3.'de sırasıyla derecelere göre katsayıları en yüksek 50 ekspresyonu artmış ve ekspresyonu azalmış olan genler kat sayısı ile birlikte gösterildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her derecede, ekspresyonu en çok artan ilk 10 gen; *BTN1A1*, *CDX4*, *HES2*, *IL36G*, *KRTAP4-8*, *KRTAP9-4*, *NME9*, *OR7G3*, *POU5F2*, *TAS2R41*; ekspresyonu en çok azalan ilk 10 gen; *AFP*, *ALB*, *AMBP*, *APOA2*, *FABP1*, *HBG1*, *KRT18*, *PMEL*, *PRAME*, *TFF1* olarak belirlendi.

Dereceler arasında ekspresyonu en çok artan genler, derece II'ye kıyasla derece III ve derece IV'de *FLYWCH2*, derece III'e kıyasla derece IV'de *PFKFB3*'dür. Ekspresyonu en çok azalan genler ise; derece II'ye kıyasla derece III'de *SLC14A1*, derece II'ye kıyasla derece IV'de *ETNPPL*, derece III'e kıyasla derece IV'de *ARHGEF25* olarak belirlendi.

Tablo.4.2. Ekspresyonu en çok artan 50 gen

	Kont. vs Derece II		Kont. vs Derece III		Kont. vs Derece IV		Derece II vs III		Derece II vs IV		Derece III vs IV	
	KS	Gen	KS	Gen	KS	Gen	KS	Gen	KS	Gen	KS	Gen
1	63.87	CDX4	64.79	CDX4	65.97	CDX4	19.43	FLYWCH2	15.90	FLYWCH2	5.42	PFKFB3
2	63.60	HES2	61.11	HES2	51.47	HES2	11.15	CKLF	11.24	CHI3L1	4.88	LTF
3	53.87	NTRK2	53.61	OR7G3	45.19	TAS2R41	7.93	LMNB1	10.64	RSRC2	4.74	DST
4	52.50	KRTAP9-4	50.96	TAS2R41	44.37	OR7G3	7.88	RPL24	10.52	ESM1	4.58	ARHGEF10
5	51.38	TAS2R41	48.49	NME9	41.18	KRTAP9-4	7.00	ARVCF	9.04	FAM133B	4.44	SAA1
6	48.76	IL36G	48.48	OR5I1	40.53	POU5F2	6.64	SUMO2	8.91	BTN2A1	4.44	POSTN
7	47.80	PRO2958	46.66	KRTAP9-4	38.97	IL36G	6.64	RSRC2	8.84	CKLF	3.98	VMP1
8	46.02	POU5F2	44.35	IL36G	38.96	NME9	6.62	IGFBP2	8.76	IGFBP2	3.95	GOLGA8R
9	45.87	PMP2	43.88	POU5F2	38.53	BTN1A1	6.54	SET	8.63	ANXA2	3.95	CCT6P1
10	44.33	BTN1A1	43.17	BTN1A1	36.20	OR5I1	6.33	FKBP10	8.41	VEGFA	3.93	GNRH1
11	43.83	ADAM7	42.39	KRTAP4-8	34.89	CD163	5.90	BTN2A1	7.94	VMP1	3.89	CFI
12	42.30	KRTAP4-8	40.66	SLC13A1	33.14	OR5P2	5.75	MED29	7.86	TWSG1	3.81	AHI1
13	41.64	POM121L12	40.26	OR2A14	32.96	ADAM7	5.74	RPS7	7.61	MED29	3.69	AMY1C
14	41.37	CCDC141	39.96	OR5P2	32.36	POM121L12	5.74	CRHR2	7.47	LTF	3.64	NEAT1
15	41.20	NME9	39.56	KRTAP3-2	32.27	KRTAP4-8	5.52	ESAM	6.71	CXCL8	3.63	CCDC144A
16	41.09	OR7G3	38.75	OR56B1	31.52	BTNL2	5.47	RAB3IP	6.55	ARVCF	3.62	AVIL
17	40.44	PRO2012	38.24	OR4S1	31.24	OR2A14	5.26	FAM133B	6.52	HOXA7	3.54	ESM1
18	39.74	EDDM3B	37.99	PENK	30.78	SLC13A1	5.17	CMIP	6.46	ZC2HC1A	3.53	KIAA0754
19	39.19	BTNL2	37.63	PRO2958	30.68	CCDC141	5.14	TMSB15A	6.39	RAB3IP	3.49	HNRNPDL
20	38.51	DCC	37.56	PKD2L2	30.61	PKD2L2	5.12	ZC3H7B	6.27	SMCHD1	3.47	CP
21	38.46	SLC13A1	37.53	KRTAP4-9	30.35	OR4S1	5.09	XPO6	6.18	SET	3.46	CHI3L1
22	37.86	ARMC4	37.00	CATSPER4	30.27	NRP2	5.04	KIFC1	6.18	IL13RA2	3.45	ARHGAP24
23	37.34	OR56B1	36.26	PTCH1	30.14	KRTAP4-9	4.96	BIRC5	6.00	CAPZA2	3.35	NR3C1
24	36.57	OR2C3	35.69	CCDC141	29.55	OR56B1	4.90	RPS10P7	5.98	RPL24	3.33	PLOD2
25	36.35	CCKAR	35.56	FSHB	29.54	PRO2012	4.80	PPIAP30	5.96	ZBTB49	3.32	NAMPT
26	35.57	KRTAP4-9	35.33	OR1Q1	29.36	PRO2958	4.78	RPL9	5.88	THAP5	3.32	CCDC102B
27	35.42	OR5I1	35.30	CYP2C9	29.14	KRTAP3-2	4.77	CBR3-AS1	5.87	NNMT	3.314	ATM
28	35.12	TAS2R39	35.09	OR51G1	29.03	CATSPER4	4.69	ST13	5.79	XPO6	3.30	TFEC
29	34.90	CAV3	34.79	IL22RA2	28.48	OR2C3	4.63	PDAP1	5.64	TNFRSF12A	3.30	NNMT
30	34.79	PKD2L2	34.78	PRO2012	28.30	OR2J2	4.62	TYMS	5.59	TRPM8	3.26	ZNF600
31	34.19	CFTR	34.51	C9	28.28	C9	4.61	PPIAL4G	5.41	SUMO2	3.24	DOCK4
32	34.18	OR4S1	32.98	ADAM7	28.01	CYP2C9	4.58	FBXO10	5.40	TIMP1	3.23	GALNT3
33	33.80	LRRRC27	32.97	POM121L12	27.96	DCC	4.55	IFITM5	5.27	HOTAIRM1	3.20	SETD5
34	32.89	APOL4	32.33	OR2J2	27.66	ARMC4	4.46	ZC2HC1A	5.08	CRHR2	3.18	MGC24103
35	32.66	KRT27	31.88	BTNL2	27.26	PENK	4.38	UBE2C	4.99	PABPC3	3.16	POTEM
36	32.58	GTDC1	31.80	CFTR	27.02	OR13C4	4.37	ARHGEF25	4.99	NCAPG	3.14	ADAM28
37	32.42	PHF12	31.51	WFDC9	26.86	OR1Q1	4.33	ZBTB49	4.98	ZNF367	3.14	HDAC10
38	32.13	SKINT1L	31.39	OR13C4	26.76	OR51G1	4.33	TK1	4.96	IGFBP3	3.13	ILDR1
39	31.86	CYP2C9	31.36	CSN2	26.76	IL22RA2	4.30	SP5	4.95	ISCA1	3.13	SYCP2
40	31.85	ZNF169	30.71	NRP2	26.66	CFTR	4.28	PTTG1	4.94	ASPM	3.11	SP100
41	31.84	OR5P2	30.38	OR4K17	26.44	SKINT1L	4.26	HIST1H3E	4.90	AP1S2	3.11	ZNF577
42	31.72	SMIM2	30.31	DCC	26.16	TAS2R39	4.25	FAM64A	4.84	IRX3	3.11	GUSBP3
43	31.43	OR2J2	30.30	OPRM1	26.11	FSHB	4.24	RPN1	4.76	RRM2	3.10	PDE7A
44	31.04	CXCL17	30.21	FPR2	25.37	WFDC9	4.21	HIST1H4D	4.75	CENPA	3.10	LAMB1
45	30.96	GFAP	30.21	SKINT1L	24.84	PHF12	4.17	RRM2	4.74	ESAM	3.08	FUBP1
46	30.74	AADA2L2	30.19	ARMC4	24.75	FLJ40194	4.17	NKD2	4.72	TMEM158	3.08	ANKRD36
47	30.73	NRP2	29.81	FLJ40194	24.46	ADGRG7	4.15	HIST1H1B	4.72	LAMB1	3.07	LOX
48	30.60	DNAH2	29.55	IKZF3	24.24	CSN2	4.14	LMO1	4.68	SPON2	3.06	ANKRD36B
49	30.50	FLJ40194	29.28	PRO1082	24.20	GTDC1	4.13	COX5A	4.65	ST13	3.06	RFX4
50	30.46	OR4K1	29.01	ADGRG7	24.18	SMIM2	4.13	BPNT1	4.61	PARBP	3.06	CFH

KS: Kat sayısı, Kont: Kontrol

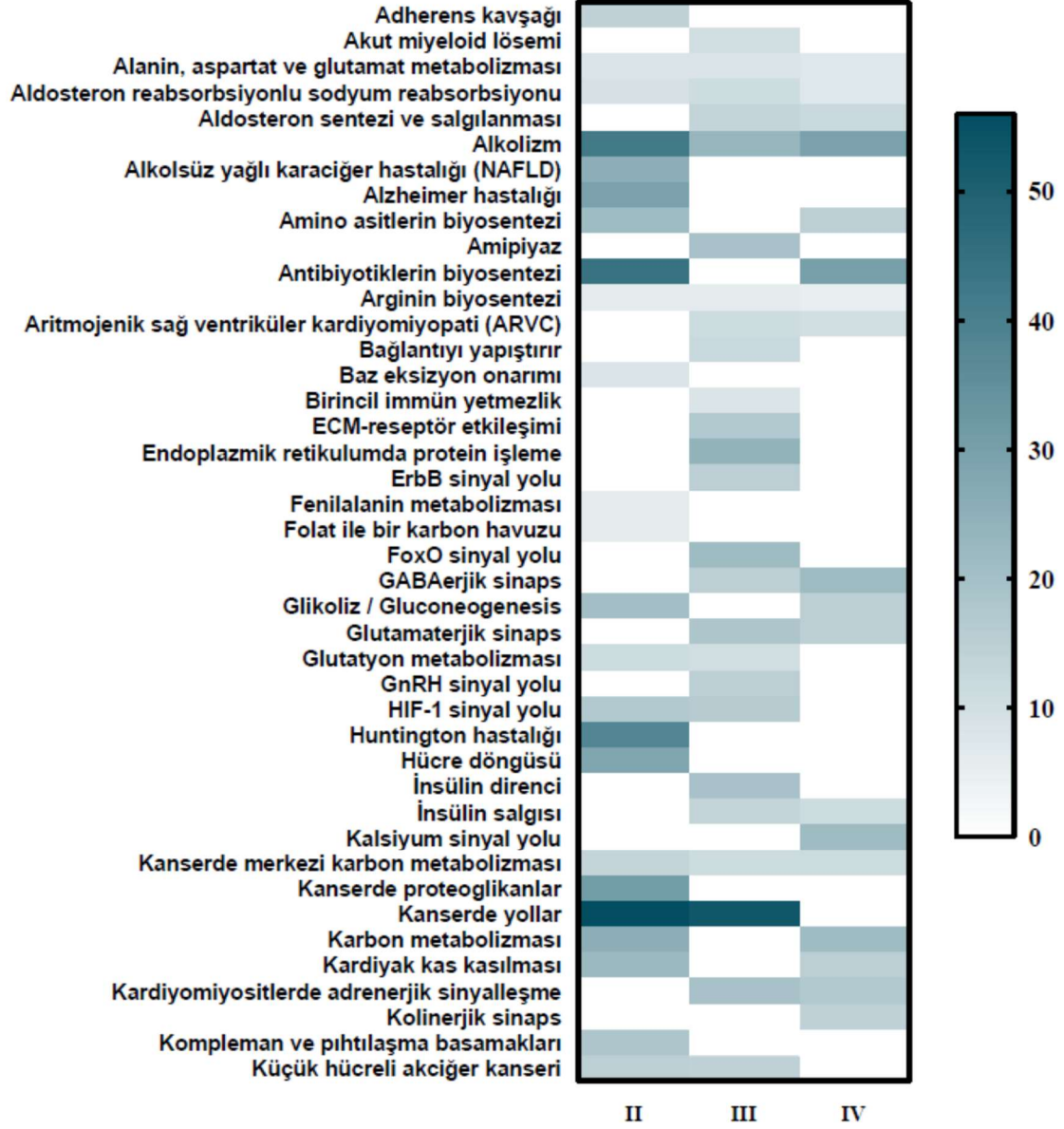
Tablo.4.3. Ekspresyonu en çok azalan 50 gen

	Kont. vs Derece II		Kont. vs Derece III		Kont. vs Derece IV		Derece II vs III		Derece II vs IV		Derece III vs IV	
	KS	Gen	KS	Gen	KS	Gen	KS	Gen	KS	Gen	KS	Gen
1	161.10	PRAME	178.98	AMBP	153.88	AMBP	11.86	SLC14A1	9.19	ETNPPL	4.56	ARHGEF25
2	107.75	AMBP	86.03	FABP1	89.09	FABP1	7.55	SEC31B	7.80	SFRP2	4.22	CELF3
3	85.04	FABP1	73.10	ALB	85.33	HBG1	7.48	DST	6.12	KCTD4	3.93	PFDN6
4	57.24	HBG1	66.56	KRT18	58.11	PMEL	7.42	ARHGAP24	6.03	SLC14A1	3.87	CNTFR
5	57.19	APOA2	61.63	PRAME	54.01	PRAME	7.20	SETD5	5.99	NDRG2	3.67	PRPF19
6	56.43	KRT18	55.96	HBG1	52.55	APOA2	7.09	AMY1C	5.94	PTPRT	3.66	SLC39A7
7	55.10	PMEL	52.19	GAGE7	51.86	TFF1	6.51	KIAA0754	5.92	MBP	3.64	STK32C
8	51.88	TFF1	49.39	PMEL	50.07	ALB	6.39	AKNA	5.60	RASL10A	3.55	CRTAC1
9	40.16	AFP	49.13	APOA2	47.66	HBZ	6.17	NR3C1	5.59	MOBP	3.54	SVOP
10	39.67	HBZ	48.03	TFF1	46.04	KRT18	6.09	PDXDC2P	5.51	LUZP2	3.29	CSPG5
11	36.60	GAGE7	45.95	AFP	37.06	GAGE7	6.07	ZMYM2	5.49	ARPP21	3.28	ENHO
12	36.45	ALB	35.18	SPANXD	36.93	AFP	5.99	CCDC144A	5.26	MGAT4C	3.25	METRN
13	35.77	SPANXD	33.94	HBZ	34.44	TYR	5.97	ADGRV1	5.25	SLCO1A2	3.23	TMED9
14	31.25	TYR	33.38	TYR	30.28	DHRS2	5.81	ETNPPL	4.91	SPHKAP	3.22	GDAP1L1
15	29.39	ITGB7	32.51	POTEM	26.90	ITGB7	5.77	ADAM28	4.82	RGS9	3.22	DUSP26
16	27.52	MLPH	29.21	F2	25.55	SPANXD	5.63	MGAT4C	4.74	DLL3	3.20	OLIG2
17	25.50	FGG	28.41	IGLL1	25.47	F2	5.55	EEF1D	4.47	SPX	3.16	TNNT1
18	24.96	SPANXA1	27.78	KRT8	23.31	APOB	5.54	SFRP2	4.44	SLC25A48	3.10	CPLX1
19	24.94	DSCAM-AS1	27.51	ITGB7	22.92	DSCAM-AS1	5.47	HNRNPDL	4.39	TJP2	3.06	PEA15
20	24.48	KRT80	25.84	KRT18P55	22.64	EPCAM	5.42	FLJ36840	4.38	KCNN3	3.06	CKMT1A
21	24.47	SPANXB1	25.40	SPANXA1	21.94	GK	5.30	CROCCP3	4.36	FAM189A2	3.05	ATCAY
22	23.00	AHSG	24.24	APOB	21.93	AHSG	5.30	GOLGA8A	4.35	CRTAC1	3.04	ZDHHC22
23	22.03	F2	20.68	APOA1	21.92	RBP4	5.26	NKTR	4.33	USH1C	3.03	CA10
24	21.75	ZYG11A	19.88	SPANXB1	21.79	TNNT1	5.11	ZMAT1	4.28	GABRG1	3.01	NDRG2
25	21.52	APOB	19.75	KRT80	21.11	LRRC38	5.09	ATM	4.28	FSTL5	3.01	TMEM35A
26	20.40	DHRS2	19.48	RIPK4	21.02	FGG	5.04	TJP2	4.27	IGSF1	2.99	PDAP1
27	19.53	KRT18P55	18.99	DSCAM-AS1	19.66	APOA1	5.02	HERC2P2	4.13	ENHO	2.97	STMN4
28	19.40	LRRC38	18.83	NTS	18.53	KRT8	5.00	ATP13A4	4.10	DSCAML1	2.94	KCNJ4
29	19.00	GK	18.07	APOH	18.52	SPANXA1	5.00	IGSF1	4.08	ALDOC	2.92	CAMKV
30	18.97	IGLL5	18.00	POU5F1	18.24	LY6K	4.97	MALAT1	4.04	CSMD3	2.90	KIAA1644
31	18.39	KRT8	17.84	AHSG	17.06	HBE1	4.95	FRMD4A	4.00	DAAM2	2.89	HNRNPA0
32	17.47	APOA1	17.80	FGG	16.41	KRT18P55	4.92	RFX4	4.00	PCDH11Y	2.84	CMTM5
33	17.23	RBP4	17.60	IGF2BP1	15.64	APOH	4.89	GOLGA8R	3.94	ABCC8	2.83	PAIP2B
34	15.68	IGLL1	17.23	GK	15.57	IGLL1	4.88	TMC6	3.90	ABLIM3	2.82	AGAP2
35	14.72	DLK1	17.14	EPCAM	15.24	RHOXF2B	4.87	SLCO1A2	3.85	PEA15	2.80	AMZ1
36	14.40	LY6K	16.89	LRRC38	15.15	KRT80	4.85	FREM3	3.80	VIPR2	2.80	HIRA
37	13.98	SLC27A2	16.86	MZB1	14.14	SPANXB1	4.83	ARHGEF10	3.78	FREM3	2.79	TMEM130
38	13.78	RHOXF2B	16.38	DHRS2	13.75	ZYG11A	4.76	MTHFD2L	3.77	MASP1	2.79	VSTM2A
39	13.69	TFPI2	15.83	RHOXF2B	13.46	MZB1	4.74	PDE7A	3.76	ERMN	2.78	PHF24
40	13.55	TNNT1	15.44	DSP	13.42	POU5F1	4.73	GUSBP3	3.75	NTRK2	2.77	FXD6
41	13.55	POTEM	15.33	L1TD1	13.40	IGF2BP1	4.70	TF	3.75	HMP19	2.76	BAX
42	13.44	ANXA2	15.06	HBE1	13.40	SLC27A2	4.66	DOCK4	3.75	DPP10	2.76	STMN2
43	13.44	MYB	14.63	SLC27A2	13.38	S100P	4.65	LUC7L3	3.71	SSTR1	2.72	ANXA6
44	13.42	MET	13.75	ZYG11A	13.33	SERPIND1	4.60	ACADSB	3.71	NCAM1	2.72	ZFYVE9
45	13.36	IGF2BP1	13.37	MLPH	13.14	DSP	4.52	SPPL3	3.69	SEC31B	2.72	KCNQ2
46	13.17	EPCAM	12.74	DPPA4	12.90	PRSS3	4.37	FAM189A2	3.67	WNK2	2.71	PACSIN1
47	12.83	KRT19	12.73	TFPI2	11.61	KRT19	4.37	RPAIN	3.66	HES6	2.70	SMOC1
48	12.47	HBE1	12.48	LY6K	11.61	AKR1C1	4.32	STAG3L3	3.61	GABBR2	2.70	CDH22
49	12.14	SERPINA5	11.76	SMLR1	11.54	RIPK4	4.26	ZNF207	3.60	SCG3	2.69	ARHGEF25
50	11.95	MZB1	11.64	MAGEA2B	11.42	DLK1	4.25	SRGAP1	3.58	OMG	2.68	LKAAEAR1

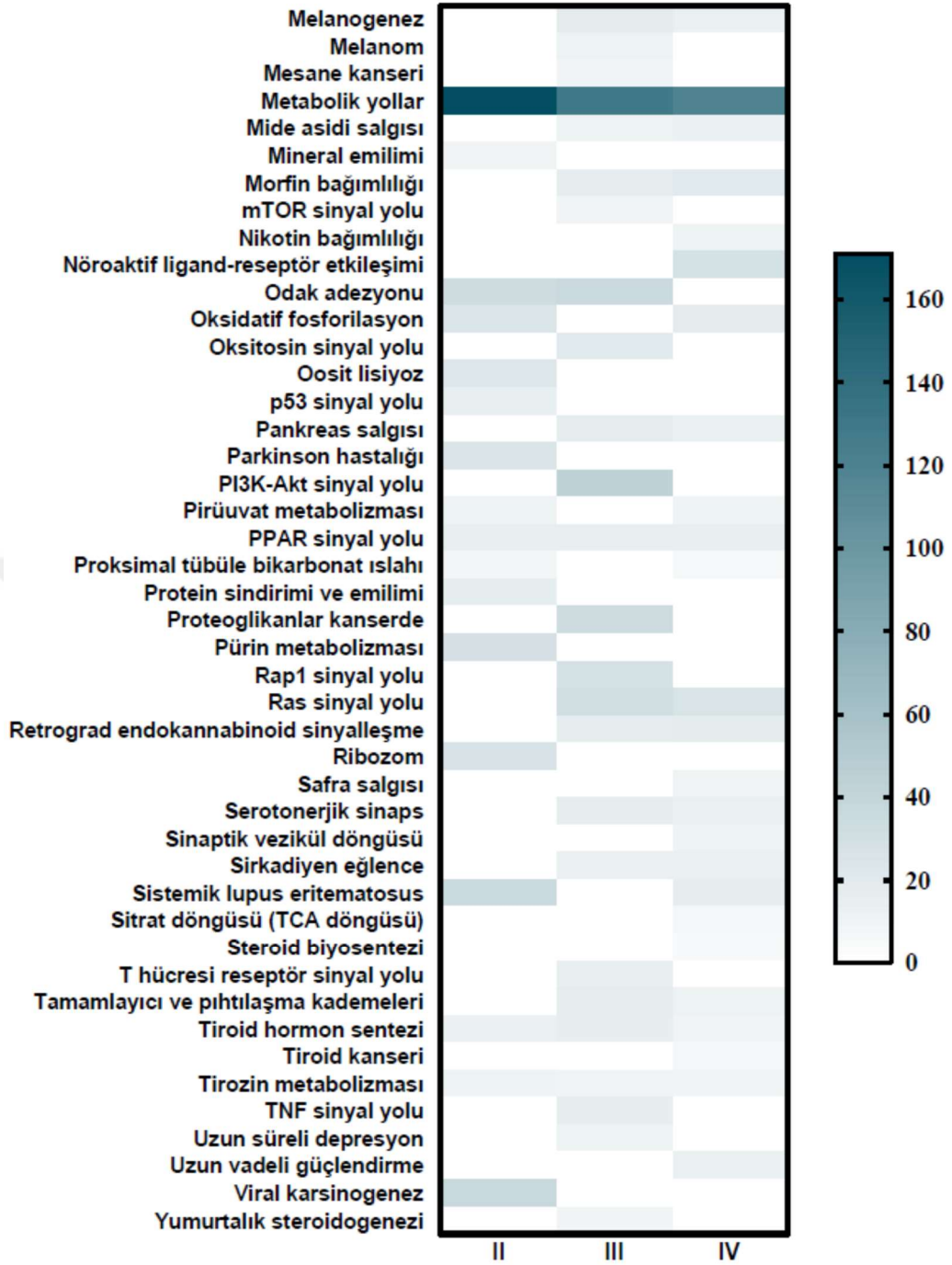
KS: Kat sayısı, Kont: Kontrol

4.3. DEG'lerin Yolak Analizi

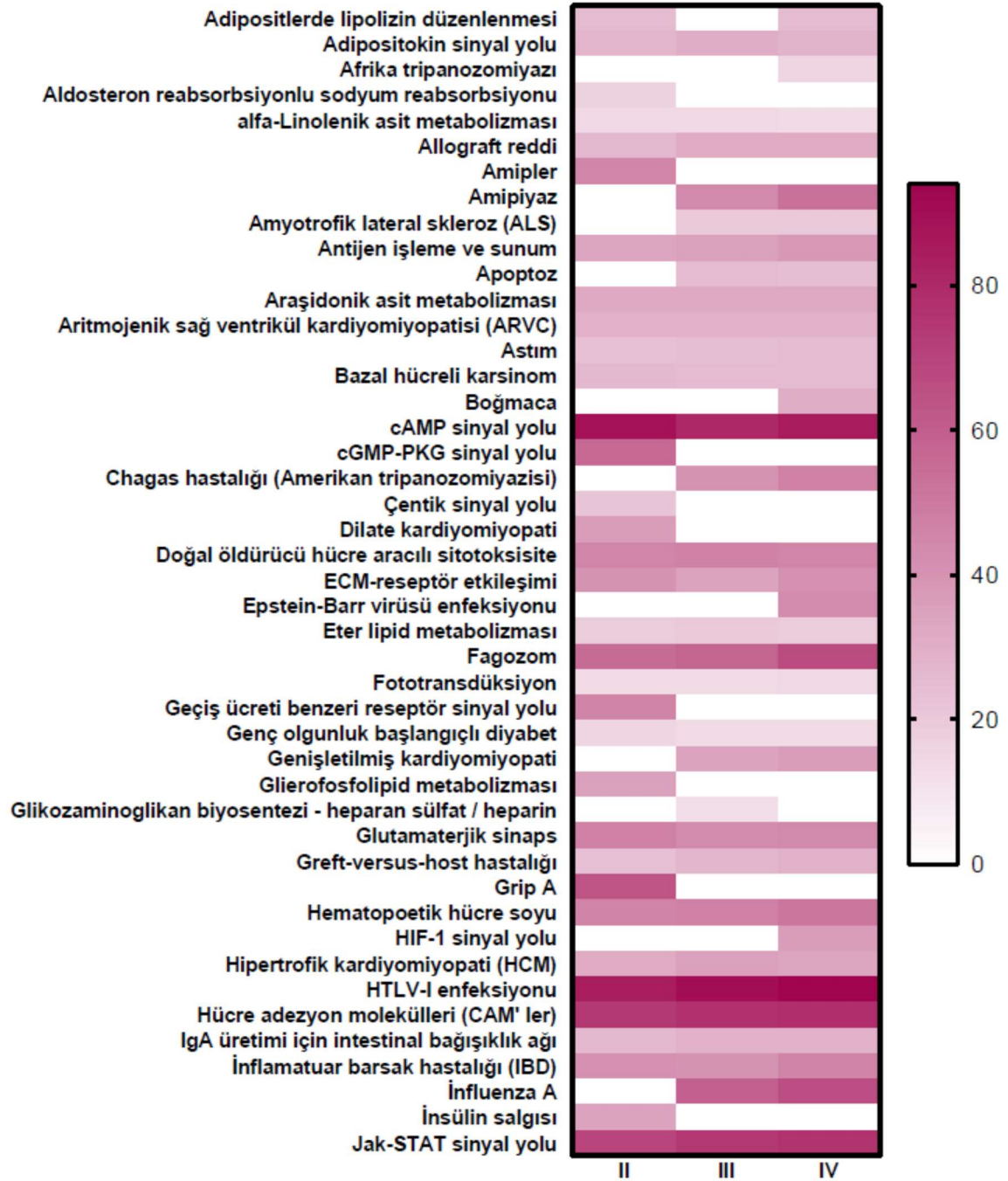
Tümör dokularına ait DEG listelerinin DAVID'de yolak analizinin gerçekleştirilmesinin sonucunda ekspresyonu azalan genlerin Şekil.4.2. ve Şekil.4.3.'de, ekspresyonu artan genlerin ise Şekil.4.4. ve Şekil.4.5.'de derecelere göre gen yoğunluklarının gösterildiği gibi farklı sayılarda genlerin dahil olduğu moleküler yollar tanımlandı.



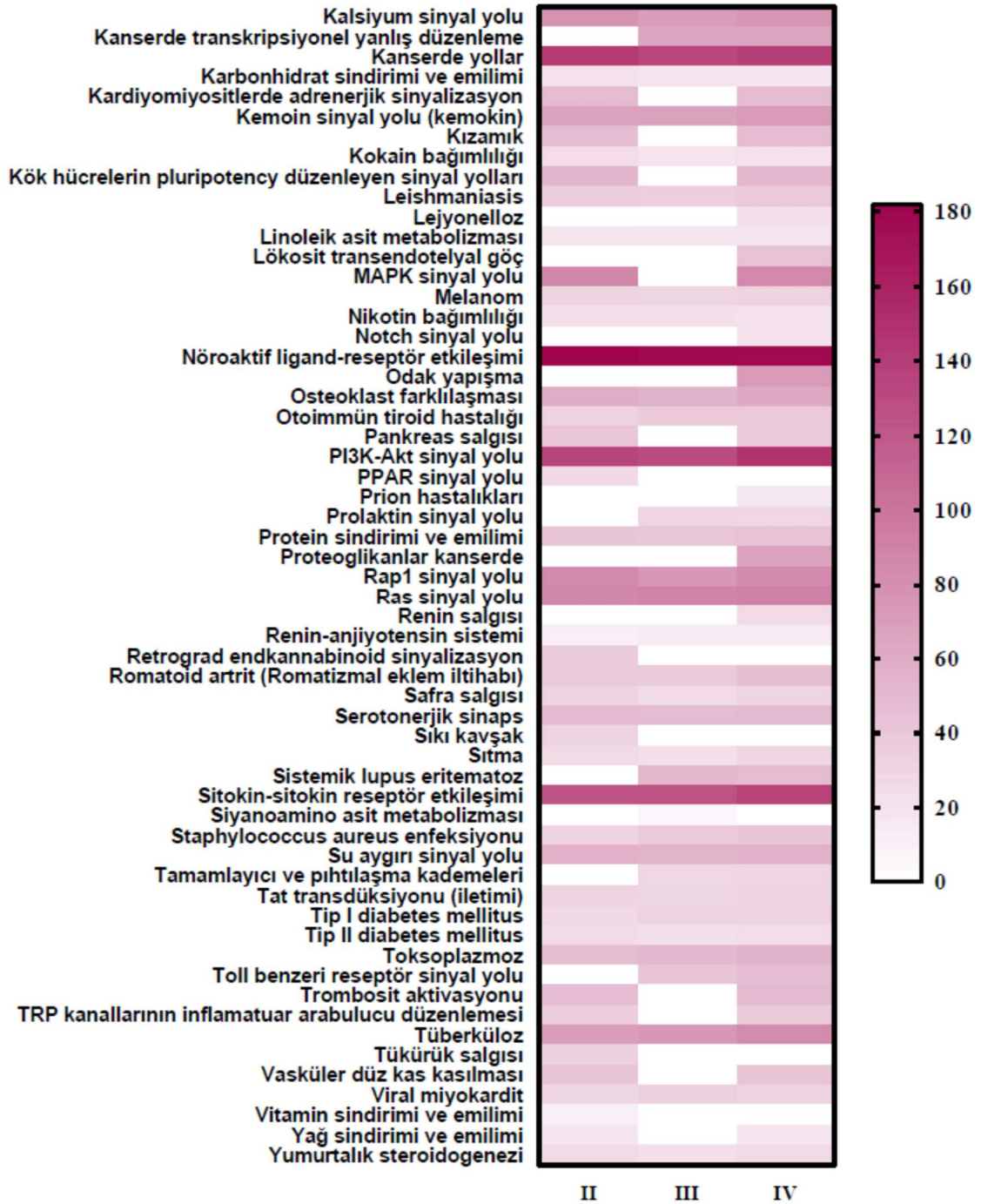
Şekil.4.2.Derecelere göre ekspresyonu azalan genlerin yollardaki gen sayısı dağılımları (A'dan K'ye kadar)



Şekil.4.3.Derecelere göre ekspresyonu azalan genlerin yolaklardaki gen sayısı dağılımları (M'den Y'ye kadar)



Şekil.4.4.Derecelere göre ekspresyonu artan genlerin yolaklardaki gen sayısı dağılımları (A'dan J'ye kadar)



Şekil.4.5.Derecelere göre ekspresyonu artan genlerin yollardaki gen sayısı dağılımları (K'den Y'ye kadar)

Eksprasyonu artmış DEG'ler derece II, derece III ve derece IV'de nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi ile en önemli ölçüde anlamlandırılırken, eksprasyonu azalmış DEG'ler derece II'de sistemik lupus eritematoz, derece III'de tamamlayıcı ve pıhtılaşma basamakları, derece IV'de GABAerjik sinaps açısından anlamlandırıldı. Derecelere göre ifadesi artan ve azalan DEG'lerin en önemli ölçüde zenginleştirilmiş 5 KEGG yolu Tablo.4.4.'de gösterildi.

Tablo.4.4. Glioma ile ilişkili farklı şekilde ifade edilen genlerin KEGG yolak analizi

		Yolak	GS	%	P-Değeri	YKO
Derece II	Eksprasyonu Artan	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	182	3	1,30E-38	3,70E-36
		Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	123	2	3,50E-13	5,10E-11
		Hücre yapışma molekülleri (CAM'ler)	74	1,2	5,80E-09	5,60E-07
		İnflamatuar bağırsak hastalığı (IBD)	41	0,7	1,40E-08	1,00E-06
		Tat iletimi	31	0,5	1,20E-07	6,70E-06
	Eksprasyonu Azalan	Sistemik lupus eritematoz	35	1,8	4,20E-06	7,60E-04
		Alkolizm	42	2,2	5,30E-06	7,60E-04
		Kalp kası kasılması	22	1,1	6,20E-05	5,40E-03
		Antibiyotiklerin biyosentezi	44	2,3	9,90E-05	5,40E-03
		Amino asitlerin biyosentezi	21	1,1	1,00E-04	5,40E-03
Derece III	Eksprasyonu Artan	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	177	2,9	1,80E-35	5,30E-33
		Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	124	2,1	9,10E-14	1,30E-11
		Allogreft reddi	31	0,5	3,90E-11	3,80E-09
		Hücre yapışma molekülleri (CAM'ler)	77	1,3	1,90E-10	1,40E-08
		<i>Staphylococcus aureus</i> enfeksiyonu	38	0,6	1,00E-09	5,20E-08
	Eksprasyonu Azalan	Tamamlayıcı ve pıhtılaşma basamakları	17	0,9	4,30E-04	7,90E-02
		Fokal yapışma	35	1,9	5,60E-04	7,90E-02
		Proteoglikanlar kanserde	33	1,8	1,40E-03	1,10E-01
		Tiroid hormonu sentezi	16	0,9	1,50E-03	1,10E-01
		Aldosteron ile düz. sodyum geri emilimi	11	0,6	2,30E-03	1,30E-01
Derece IV	Eksprasyonu Artan	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	178	3	9,30E-36	2,70E-33
		Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	136	2,3	2,10E-19	3,10E-17
		İnflamatuar bağırsak hastalığı (IBD)	46	0,8	4,60E-12	3,50E-10
		<i>Staphylococcus aureus</i> enfeksiyonu	41	0,7	4,80E-12	3,50E-10
		Graft-versus-host hastalığı	29	0,5	2,50E-11	1,40E-09
	Eksprasyonu Azalan	GABAerjik sinaps	21	1,6	2,70E-06	7,20E-04
		Morfin bağımlılığı	20	1,5	2,90E-05	4,00E-03
		Alkolizm	29	2,2	9,80E-05	8,90E-03
		Karbon metabolizması	21	1,6	2,10E-04	1,40E-02
		Glikoliz / Glukoneogenez	15	1,2	3,20E-04	1,50E-02

GS: Gen sayısı, YKO: Yanlış keşif oranı

Dereceler arasında ekspresyonu artmış DEG'lerin KEGG yolak analizinde: Derece II ile karşılaştırıldığında derece III'de alkolizm, derece IV'de ECM-reseptör etkileşimi; derece III ile karşılaştırıldığında derece IV'de fokal yapışma yolağı en çok ilişkilendirilirken; ekspresyonu azalan DEG'lerin yolak analizinde ise: Derece II ile karşılaştırıldığında derece III'de amipiyaz, derece IV'de GABAerjik sinaps; derece III ile karşılaştırıldığında derece IV'de alkolizm en çok ilişkilendirildi. Dereceler arasında ifadesi artan ve azalan DEG'lerin en önemli ölçüde zenginleştirilmiş 5 KEGG yolağı Tablo.4.5.'de gösterildi

Tablo.4.5. Gliomada dereceler arasında farklı şekilde ifade edilen genlerin KEGG yolak analizi

		Yolak	GS	%	P-Değeri	YKO
Derece II ve III	Ekspresyonu Artan	Alkolizm	25	3,7	7,20E-08	1,60E-05
		Hücre döngüsü	20	3	2,50E-07	2,80E-05
		Sistemik lupus eritematoz	20	3	8,70E-07	6,50E-05
		Alkolsüz yağlı karaciğer hast. (NAFLD)	20	3	5,40E-06	3,00E-04
		Alzheimer hastalığı	21	3,1	7,20E-06	3,20E-04
	Ekspresyonu Azalan	Amipiyaz	14	1,3	6,60E-04	9,70E-02
		Rap1 sinyal yolu	21	2	7,90E-04	9,70E-02
		Sıkı bağlantı	12	1,1	1,30E-03	1,10E-01
		İnsülin direnci	13	1,2	2,50E-03	1,50E-01
		Kanserde yollar	29	2,7	6,70E-03	3,30E-01
Derece II vs IV	Ekspresyonu Artan	ECM-reseptör etkileşimi	21	3,0	1,00E-10	2,30E-08
		Fokal yapışma	30	4,2	1,80E-09	2,10E-07
		Hücre döngüsü	20	2,8	3,40E-07	2,60E-05
		PI3K-Akt sinyal yolu	34	4,8	1,90E-06	1,10E-04
		Amipiyaz	16	2,3	1,60E-05	7,50E-04
	Ekspresyonu Azalan	GABAerjik sinaps	15	2,5	3,90E-07	8,90E-05
		Morfin bağımlılığı	15	2,5	9,30E-07	1,10E-04
		Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	26	4,3	2,20E-06	1,70E-04
		Retrograd endokannabinoid sinyalleşme	15	2,5	3,40E-06	1,90E-04
		Kalsiyum sinyal yolu	17	2,8	1,80E-04	7,60E-03
Derece III vs IV	Ekspresyonu Artan	Fokal yapışma	22	4,2	1,00E-08	1,10E-06
		ECM-reseptör etkileşimi	15	2,9	1,00E-08	1,10E-06
		Amipiyaz	12	2,3	3,30E-05	2,30E-03
		Proteoglikanlar kanserde	15	2,9	2,30E-04	1,20E-02
		PI3K-Akt sinyal yolu	20	3,8	4,10E-04	1,70E-02
	Ekspresyonu Azalan	Alkolizm	9	3,4	9,00E-04	1,20E-01
		Morfin bağımlılığı	6	2,3	3,80E-03	2,40E-01
		Endositoz	9	3,4	6,20E-03	2,60E-01
		Sinaptik vezikül döngüsü	4	1,5	3,50E-02	9,80E-01
		Kolinerjik sinaps	5	1,9	3,80E-02	9,80E-01

GS: Gen sayısı, YKO: Yanlış keşif oranı

4.4.DEG'lerin GO Analizi

GO analizi sonucunda glioma derecelerinde fazla ve az ifade edilen genlerin biyolojik süreç, hücre bileşeni ve moleküler fonksiyonları belirlendi.

Derece II'de fazla ifade edilen DEG'lerin biyolojik süreci G proteinine bağlı reseptör sinyal yolu ile, hücre bileşeni plazma zarının ayrılmaz bileşeni ile, moleküler fonksiyonu G proteinine bağlı reseptör aktivitesi ile en fazla ilişkilendirilirken, az ifade edilen DEG'lerin ise biyolojik süreci ilaca cevap ile; hücre bileşeni hücre dışı eksozom ile, moleküler fonksiyonu protein bağlama ile en fazla ilişkilendirildi (Tablo.4.6).

Tablo.4.6.Derece II glioma ile ilişkili farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi

	K.	Terim	GS	%	P-Değ.	YKO
Ekspreyonu Artan	BS	GO:0007186 G proteinine bağlı reseptör sinyal yolu	375	6,2	2,70E-17	2,00E-13
		GO:0007268 Kimyasal sinaptik iletim	123	2	6,30E-13	2,40E-09
		GO:0007267 Hücre-hücre sinyali	128	2,1	9,80E-13	2,50E-09
		GO:0007166 Hücre yüzeyi reseptörü sinyal yolu	131	2,2	5,60E-11	1,10E-07
		GO:0006954 İltihaplı cevap	168	2,8	1,90E-10	2,50E-07
	HB	GO:0005887 Plazma zarının ayrılmaz bileşeni	678	11,3	4,40E-56	4,20E-53
		GO:0005886 Hücre zarı	1578	26,3	1,50E-50	7,30E-48
		GO:0016021 Zarın ayrılmaz bileşeni	1820	30,3	8,60E-33	2,70E-30
		GO:0005576 Hücre dışı bölge	635	10,6	5,70E-22	1,40E-19
		GO:0005615 Hücre dışı boşluk	518	8,6	3,40E-15	6,50E-13
	MF	GO:0004930 G proteinine bağlı reseptör aktivitesi	287	4,8	4,90E-12	1,20E-08
		GO:0005125 Sitokin aktivitesi	91	1,5	2,00E-10	2,40E-07
		GO:0033038 Acı tat reseptör aktivitesi	22	0,4	1,30E-08	1,00E-05
		GO:0005509 Kalsiyum iyonu bağlama	271	4,5	4,80E-08	2,90E-05
		GO:0005249 Voltaj kapılı potasyum kanalı aktivitesi	37	0,6	1,10E-07	5,20E-05
Ekspreyonu Azalan	BS	GO:0042493 İlaça Cevap	64	3,3	3,70E-08	9,50E-05
		GO:0098609 Hücre-hücre yapışması	59	3	3,90E-08	9,50E-05
		GO:0007062 Kardeş kromatid kohezyonu	30	1,5	2,90E-07	4,60E-04
		GO:0051301 Hücre bölünmesi	63	3,2	1,20E-05	1,40E-02
		GO:0000070 Mitotik kardeş kromatid ayrımı	12	0,6	1,40E-05	1,40E-02
	HB	GO:0070062 Hücre dışı eksozom	461	23,8	6,70E-33	5,30E-30
		GO:0005829 Sitozol	434	22,4	1,50E-11	4,80E-09
		GO:0005615 Hücre dışı boşluk	208	10,7	1,80E-11	4,80E-09
		GO:0005737 Sitoplazma	632	32,6	1,30E-10	2,10E-08
		GO:0000786 Nükleozom	33	1,7	1,30E-10	2,10E-08
	MF	GO:0005515 Protein bağlama	1003	51,7	6,50E-09	7,10E-06
		GO:0098641 Hücre-hücre yapışmasında cadherin bağ.	63	3,2	9,30E-09	7,10E-06
		GO:0046982 Protein heterodimerizasyon aktivitesi	81	4,2	1,50E-06	7,70E-04
		GO:0005178 İntegrin bağlama	26	1,3	3,70E-05	1,40E-02
		GO:0005507 Bakır iyon bağlayıcı	17	0,9	9,40E-05	2,90E-02

K: Kategori, GS: Gen sayısı, YKO: Yanlış keşif oranı, GO: Gen ontolojisi, BS: biyolojik süreç, MF: moleküler fonksiyon, HB: hücre bileşeni

Derece III'de fazla ifade edilen DEG'lerin biyolojik süreci G proteinine bağlı reseptör sinyal yolu ile, hücre bileşeni plazma zarının ayrılmaz bileşeni ile, moleküler fonksiyonu G proteinine bağlı reseptör aktivitesi ile en fazla ilişkilendirilirken, az ifade edilen DEG'lerin ise biyolojik süreci ilaca cevap ile, hücre bileşeni hücre dışı boşluk ile, moleküler fonksiyonu protein bağlama ile en fazla ilişkilendirildi (Tablo.4.7).

Tablo.4.7.Derece III glioma ile ilişkili farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi

	K.	Terim	GS	%	P-Değ.	YKO
Ekspreyonu Artan	BS	GO:0007186 G-protein bağlı reseptör sinyal yolu	381	6,3	4,30E-19	3,30E-15
		GO:0007267 Hücre-hücre sinyali	129	2,1	3,10E-13	1,20E-09
		GO:0006955 Bağışıklık tepkisi	190	3,2	1,20E-12	3,10E-09
		GO:0006954 İltihaplı cevap	172	2,9	8,80E-12	1,70E-08
		GO:0007268 Kimyasal sinaptik iletim	118	2	5,10E-11	7,70E-08
	HB	GO:0005887 Plazma zarının ayrılmaz bileşeni	684	11,4	2,10E-58	2,10E-55
		GO:0005886 Hücre zarı	1564	26,1	4,00E-47	1,90E-44
		GO:0016021 Zarın ayrılmaz bileşeni	1848	30,8	4,90E-38	1,60E-35
		GO:0005576 Hücre dışı bölge	655	10,9	1,00E-26	2,50E-24
		GO:0005615 Hücre dışı boşluk	524	8,7	1,90E-16	3,70E-14
	MF	GO:0004930 G-protein bağlı reseptör aktivitesi	290	4,8	1,00E-12	2,40E-09
		GO:0005509 Kalsiyum iyonu bağlama	275	4,6	8,40E-09	9,90E-06
		GO:0005125 Sitokin aktivitesi	86	1,4	2,20E-08	1,70E-05
		GO:0005179 Hormon aktivitesi	52	0,9	1,50E-07	8,80E-05
		GO:0033038 Acı tat reseptör aktivitesi	20	0,3	1,20E-06	5,70E-04
Ekspreyonu Azalan	BS	GO:0042493 İlaça cevap	56	3,1	9,20E-07	3,00E-03
		GO:0010951 Endopeptidaz akt. negatif düzenlenmesi	30	1,6	1,30E-06	3,00E-03
		GO:0019433 Trigliserid katabolik süreç	12	0,7	5,30E-06	8,30E-03
		GO:0043627 Östrojene yanıt	19	1	1,60E-05	1,90E-02
		GO:0001523 Retinoid metabolik süreç	18	1	2,50E-05	2,30E-02
	HB	GO:0005615 Hücre dışı boşluk	185	10,1	1,90E-09	1,40E-06
		GO:0070062 Hücre dışı ekzozom	332	18,2	1,80E-08	6,70E-06
		GO:0005737 Sitoplazma	564	30,9	3,20E-08	7,80E-06
		GO:0005788 Endoplazmik retikulum lümeni	40	2,2	8,80E-07	1,60E-04
		GO:0016323 Bazolateral plazma zarı	37	2	3,30E-06	4,90E-04
	MF	GO:0005515 Protein bağlama	917	50,3	9,60E-09	1,40E-05
		GO:0004866 Endopeptidaz inhibitör aktivitesi	16	0,9	1,20E-06	8,00E-04
		GO:0004867 Serin tipi endopeptidaz inhibitör aktivitesi	26	1,4	1,60E-06	8,00E-04
		GO:0005524 ATP bağlama	181	9,9	8,30E-05	3,10E-02
		GO:0005507 Bakır iyon bağlayıcı	16	0,9	1,20E-04	3,50E-02

K: Kategori, GS: Gen sayısı, YKO: Yanlış keşif oranı, GO: gen ontolojisi, BS: biyolojik süreç, MF: moleküler fonksiyon, HB: hücre bileşeni

Derece IV’de fazla ifade edilen DEG’lerin biyolojik süreci bağışıklık tepkisi ile, hücre bileşeni plazma zarının ayrılmaz bileşeni ile, moleküler fonksiyonu G proteinine bağlı reseptör aktivitesi ile en fazla ilişkilendirilirken, az ifade edilen DEG’lerin ise biyolojik süreci ilaca cevap ile, hücre bileşeni hücre dışı eksozom ile, moleküler fonksiyonu serin tipi endopeptidaz inhibitör aktivitesi ile en fazla ilişkilendirildi (Tablo.4.8).

Tablo.4.8.Derece IV glioma ile ilişkili farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi

	K.	Terim	GS	%	P-Değ.	YKO
Ekspreyonu Artan	BS	GO:0006955 Bağışıklık tepkisi	207	3,5	1,10E-18	8,10E-15
		GO:0007186 G-protein bağlı reseptör sinyal yolu	377	6,3	7,80E-18	3,00E-14
		GO:0007267 Hücre-hücre sinyali	136	2,3	3,50E-16	8,80E-13
		GO:0006954 İltihaplı cevap	182	3	4,30E-15	8,30E-12
		GO:0019221 Sitokin aracılı sinyal yolu	77	1,3	3,40E-12	5,10E-09
	HB	GO:0005887 Plazma zarının ayrılmaz bileşeni	684	11,4	2,90E-58	2,80E-55
		GO:0005886 Hücre zarı	1571	26,2	1,50E-48	7,20E-46
		GO:0005576 Hcre dışı bölge	675	11,2	7,00E-32	2,10E-29
		GO:0016021 Zarın ayrılmaz bileşeni	1816	30,3	8,50E-32	2,10E-29
		GO:0005615 Hücre dışı boşluk	541	9	1,50E-20	2,80E-18
	MF	GO:0004930 G-protein bağlı reseptör aktivitesi	283	4,7	6,60E-11	1,60E-07
		GO:0005125 Sitokin aktivitesi	89	1,5	1,70E-09	2,00E-06
		GO:0038023 Reseptör aktivitesi	102	1,7	1,50E-08	8,70E-06
		GO:0005509 Kalsiyum iyonu bağlama	274	4,6	1,80E-08	8,70E-06
		GO:0008083 Büyüme faktörü aktivitesi	81	1,4	1,90E-08	8,70E-06
Ekspreyonu Azalan	BS	GO:0042493 İlaça cevap	43	3,3	5,60E-06	1,60E-02
		GO:0001523 Retinoid metabolik süreç	16	1,2	8,10E-06	1,60E-02
		GO:0019433 Trigliserid katabolik süreç	10	0,8	2,00E-05	2,40E-02
		GO:0060291 Uzun vadeli sinaptik güçlenme	12	0,9	2,50E-05	2,40E-02
		GO:0006094 Glukoneogenez	12	0,9	1,10E-04	8,50E-02
	HB	GO:0070062 Hücre dışı eksozom	273	20,9	1,50E-12	9,20E-10
		GO:0005615 Hücre dışı boşluk	137	10,5	1,40E-07	4,10E-05
		GO:0005887 Plazma zarının ayrılmaz bileşeni	140	10,7	4,90E-07	7,60E-05
		GO:0005886 Hücre zarı	340	26,1	5,10E-07	7,60E-05
		GO:0030054 Hücre birleşimi	59	4,5	9,70E-07	1,10E-04
	MF	GO:0004867 Serin tipi endopeptidaz inhibitör aktivitesi	19	1,5	6,20E-05	5,90E-02
		GO:0022851 GABA kapılı klorür iyon kanalı aktivitesi	5	0,4	9,20E-05	5,90E-02
		GO:0004890 GABA-A reseptör aktivitesi	8	0,6	1,40E-04	6,00E-02
		GO:0019911 Miyelin kılıfının yapısal bileşeni	6	0,5	2,40E-04	6,30E-02
		GO:0046982 Protein heterodimerizasyon aktivitesi	52	4	2,90E-04	6,30E-02

K: Kategori, GS: Gen sayısı, YKO: Yanlış keşif oranı, GO: gen ontolojisi, BS: biyolojik süreç, MF: moleküler fonksiyon, HB: hücre bileşeni

Derece II ile karşılaştırıldığında derece III'de fazla ifade edilen DEG'lerin biyolojik süreci hücre bölünmesi ile, hücre bileşeni nükleozom ile, moleküler fonksiyonu histon bağlama ile en fazla ilişkilendirilirken, az ifade edilen DEG'lerin ise biyolojik süreci GTPaz aktivitesinin pozitif düzenlenmesi ile, hücre bileşeni sentrozom ile, moleküler fonksiyonu metal iyon bağlama ile en fazla ilişkilendirildi (Tablo.4.9).

Tablo.4.9.Derece II ile karşılaştırıldığında derece III gliomada farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi

K.	Terim	GS	%	P-Değ.	YKO	
Ekspreyonu Artan	BS	GO:0051301 Hücre bölünmesi	46	6,9	3,90E-14	9,20E-11
		GO:0000278 Mitotik nükleer bölünme	33	4,9	1,90E-10	2,20E-07
		GO:0034080 CENP-A içeren nükleozom düzeneği	13	1,9	1,70E-08	1,40E-05
		GO:0006334 Nükleozom montajı	20	3	3,10E-08	1,80E-05
		GO:0006335 DNA replikasyonuna bağımlı nükleozom topl.	11	1,6	8,30E-08	3,40E-05
	HB	GO:0000786 Nükleozom	22	3,3	4,50E-12	1,00E-09
		GO:0005654 Nükleoplazma	160	23,9	4,70E-12	1,00E-09
		GO:0005634 Çekirdek	260	38,8	3,10E-11	4,60E-09
		GO:0000785 Nükleer kromatin	24	3,6	1,70E-07	1,80E-05
		GO:0000777 Yoğun kromozom kinetochore	16	2,4	2,00E-07	1,80E-05
	MF	GO:0042393 Histon bağlama	20	3	3,40E-08	2,20E-05
		GO:0004129 Sitokrom-c oksidaz aktivitesi	10	1,5	4,60E-07	1,50E-04
		GO:0005515 Protein bağlama	357	53,3	2,00E-06	4,30E-04
		GO:0003723 Poli (A) RNA bağlanması	68	10,1	7,50E-06	1,20E-03
		GO:0003735 Ribozomun yapısal bileşeni	21	3,1	8,30E-05	1,10E-02
Ekspreyonu Azalan	BS	GO:0043547 GTPaz aktivitesinin pozitif düzenlenmesi	55	5,2	9,70E-06	3,00E-02
		GO:0007155 Hücre adezyonu	42	4,0	4,70E-04	7,30E-01
		GO:0060271 Kirpik morfogenezi	17	1,6	1,80E-03	1,00E+00
		GO:0051930 Duyusal ağrı algısının düzenlenmesi	7	0,7	1,80E-03	1,00E+00
		GO:0035556 Hücre içi sinyal iletimi	35	3,3	3,50E-03	1,00E+00
	HB	GO:0005813 Sentrozom	39	3,7	4,20E-04	2,20E-01
		GO:0005622 Hücre içi	93	8,7	9,40E-04	2,50E-01
		GO:0005587 Kolajen tip IV trimer	4	0,4	2,20E-03	3,00E-01
		GO:0030018 Z disk	15	1,4	2,30E-03	3,00E-01
		GO:0030660 Golgi ile ilişkili vezikül zarı	6	0,6	3,20E-03	3,40E-01
	MF	GO:0046872 Metal iyon bağlama	153	14,4	6,50E-07	6,60E-04
		GO:0003676 Nükleik asit bağlanması	77	7,2	1,20E-04	5,60E-02
		GO:0003779 Aktin bağlama	30	2,8	1,70E-04	5,60E-02
		GO:0005524 ATP bağlama	103	9,7	8,80E-04	2,20E-01
		GO:0005085 Guanil-nükleotid değişim faktörü aktivitesi	15	1,4	2,40E-03	3,80E-01

K: Kategori, GS: Gen sayısı, YKO: Yanlış keşif oranı, GO: Gen ontolojisi, BS: biyolojik süreç, MF: moleküler fonksiyon, HB: hücre bileşeni

Derece II ile karşılaştırıldığında derece IV’de fazla ifade edilen DEG’lerin biyolojik süreci hücre bölünmesi ile, hücre bileşeni hücre dışı matris ile, moleküler fonksiyonu integrin bağlama ile en fazla ilişkilendirilirken, az ifade edilen DEG’lerin ise biyolojik süreci kimyasal sinaptik iletim ile, hücre bileşeni hücre birleşimi ile, moleküler fonksiyonu kalsiyum iyonu bağlama ile en fazla ilişkilendirildi (Tablo.4.10).

Tablo.4.10.Derece II ile karşılaştırıldığında derece IV gliomada farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi

K.	Terim	GS	%	P-Değ.	YKO	
Ekspreyonu Artan	BS	GO:0051301 Hücre bölünmesi	51	7,2	4,9E-16	1,3E-12
		GO:0030198 Hücre dışı matris organizasyonu	34	4,8	5,2E-13	7,0E-10
		GO:0000278 Mitotik nükleer bölünme	38	5,4	9,2E-13	8,4E-10
		GO:0030574 Kollajen katabolik süreç	17	2,4	1,4E-9	9,5E-7
		GO:0007062 Kardeş kromatid kohezyonu	19	2,7	5,8E-8	3,1E-5
	HB	GO:0031012 Hücre dışı matris	52	7,3	3,9E-21	1,8E-18
		GO:0005615 Hücre dışı boşluk	110	15,5	2,9E-16	6,9E-14
		GO:0070062 Hücre dışı eksozom	163	23,0	1,0E-10	1,6E-8
		GO:0005576 Hücre dışı bölge	108	15,2	1,6E-10	1,9E-8
		GO:0031012 Proteinli hücre dışı matris	34	4,8	5,7E-10	5,3E-8
	MF	GO:0005178 İntegrin bağlama	18	2,5	3,8E-7	2,7E-4
		GO:0005515 Protein bağlama	389	54,8	2,7E-6	9,7E-4
		GO:0042056 Kemoatraktan aktivite	9	1,3	4,6E-6	1,1E-3
		GO:0005201 Hücre dışı matris yapısal bileşen	13	1,8	6,7E-6	1,2E-3
GO:0008201 Heparin bağlama		19	2,7	3,5E-5	5,0E-3	
Ekspreyonu Azalan	BS	GO:0007268 Kimyasal sinaptik iletim	33	5,5	1,8E-12	4,3E-9
		GO:0051965 Sinaps düzeneğinin pozitif düzenlenmesi	14	2,3	3,3E-8	3,9E-5
		GO:0043547 GTPaz aktivitesinin pozitif düzenlenmesi	43	7,2	8,3E-8	6,5E-5
		GO:0007409 Aksonogenez	14	2,3	8,0E-6	4,7E-3
		GO:0007155 Hücre adezyonu	33	5,5	1,1E-5	5,3E-3
	HB	GO:0030054 Hücre birleşimi	57	9,5	1,3E-19	4,8E-17
		GO:0005886 Hücre zarı	187	31,2	1,6E-10	2,9E-8
		GO:0016021 Zarın ayrılmaz bileşeni	214	35,7	1,3E-8	1,6E-6
		GO:0045211 Postsinaptik membran	25	4,2	1,9E-8	1,7E-6
		GO:0045202 Sinaps	22	3,7	1,0E-7	7,5E-6
	MF	GO:0005509 Kalsiyum iyonu bağlama	43	7,2	1,6E-5	1,2E-2
		GO:0004890 GABA-A reseptör aktivitesi	6	1,0	1,7E-4	6,6E-2
		GO:0005230 Hücre dışı ligand kapılı iyon kanalı aktivitesi	7	1,2	3,4E-4	8,7E-2
		GO:0005096 GTPase aktivatör aktivitesi	19	3,2	1,5E-3	2,7E-1
GO:0044325 İyon kanalı bağlama		11	1,8	1,8E-3	2,7E-1	

K: Kategori, GS: Gen sayısı, YKO: Yanlış keşif oranı, GO: Gen ontolojisi, BS: biyolojik süreç, MF: moleküler fonksiyon, HB: hücre bileşeni

Derece III ile karşılaştırıldığında derece IV’de fazla ifade edilen DEG’lerin biyolojik süreci hücre dışı matris organizasyonu ile, hücre bileşeni hücre dışı boşluk ile, moleküler fonksiyonu integrin bağlama ile en fazla ilişkilendirilirken, az ifade edilen DEG’lerin ise biyolojik süreci sinir sistemi gelişimi ile, hücre bileşeni hücre birleşimi ile, moleküler fonksiyonu protein heterodimerizasyon aktivitesi ile en fazla ilişkilendirildi (Tablo.4.11).

Tablo.4.11.Derece III ile karşılaştırıldığında derece IV gliomada farklı şekilde ifade edilen genlerin gen ontoloji analizi

K.	Terim	GS	%	P-Değ.	YKO	
Ekspreyonu Artan	BS	GO:0030198 Hücre dışı matris organizasyonu	24	4,6	1,7E-9	3,6E-6
		GO:0030199 Kollajen fibril organizasyonu	10	1,9	5,3E-7	5,6E-4
		GO:0060271 Kirpik morfogenezi	14	2,7	5,6E-5	3,9E-2
		GO:0007160 Hücre matris yapışması	11	2,1	1,1E-4	6,0E-2
		GO:0001525 Damarlanma	17	3,3	2,5E-4	8,9E-2
	HB	GO:0005615 Hücre dışı boşluk	70	13,4	1,4E-8	5,7E-6
		GO:0005925 Fokal yapışma	26	5,0	2,3E-5	4,8E-3
		GO:0031012 Proteinli hücre dışı matris	20	3,8	5,6E-5	7,8E-3
		GO:0005813 Sentrozom	26	5,0	9,2E-5	9,6E-3
		GO:0031012 Hücre dışı matris	19	3,6	5,7E-4	4,8E-2
	MF	GO:0005178 İntegrin bağlama	16	3,1	7,5E-8	4,4E-5
		GO:0046872 Metal iyon bağlama	88	16,9	2,0E-6	5,9E-4
		GO:0005201 Hücre dışı matris yapısal bileşen	9	1,7	3,1E-4	5,7E-2
		GO:0050840 Hücre dışı matris bağlanması	6	1,2	4,6E-4	5,7E-2
		GO:0003677 DNA bağlanması	66	12,7	4,8E-4	5,7E-2
Ekspreyonu Azalan	BS	GO:0007399 Sinir sistemi gelişimi	21	8,0	1,8E-9	2,0E-6
		GO:0007268 Kimyasal sinaptik iletim	14	5,3	2,1E-5	1,2E-2
		GO:0006813 Potasyum iyonu taşınması	8	3,1	1,1E-4	4,2E-2
		GO:0006336 DNA repl. bağımsız nükleozom montajı	5	1,9	3,7E-4	1,0E-1
		GO:0007269 Nörotransmitter salgısı	6	2,3	5,8E-4	1,3E-1
	HB	GO:0030054 Hücre birleşimi	22	8,4	8,0E-7	2,1E-4
		GO:0030424 Akson	14	5,3	8,2E-6	1,1E-3
		GO:0030425 Dendrit	16	6,1	4,0E-5	3,5E-3
		GO:0008076 Voltaj kapılı potasyum kanal kompleksi	8	3,1	1,6E-4	8,5E-3
		GO:0042734 Presinaptik zar	7	2,7	1,6E-4	8,5E-3
	MF	GO:0046982 Protein heterodimerizasyon aktivitesi	17	6,5	3,7E-4	1,2E-1
		GO:0048306 Kalsiyum bağımlı protein bağlanması	6	2,3	9,0E-4	1,2E-1
		GO:0005509 Kalsiyum iyonu bağlama	21	8,0	1,0E-3	1,2E-1
		GO:0044325 İyon kanalı bağlama	7	2,7	3,5E-3	3,1E-1
		GO:0005251 Gecikmiş doğrultucu potasyum kanalı akt.	4	1,5	1,1E-2	7,1E-1

K: Kategori, GS: Gen sayısı, YKO: Yanlış keşif oranı, GO: Gen ontolojisi, BS: biyolojik süreç, MF: moleküler fonksiyon, HB: hücre bileşeni

4.5. Protein Protein Etkileşim Ağı ve Modül Analizi

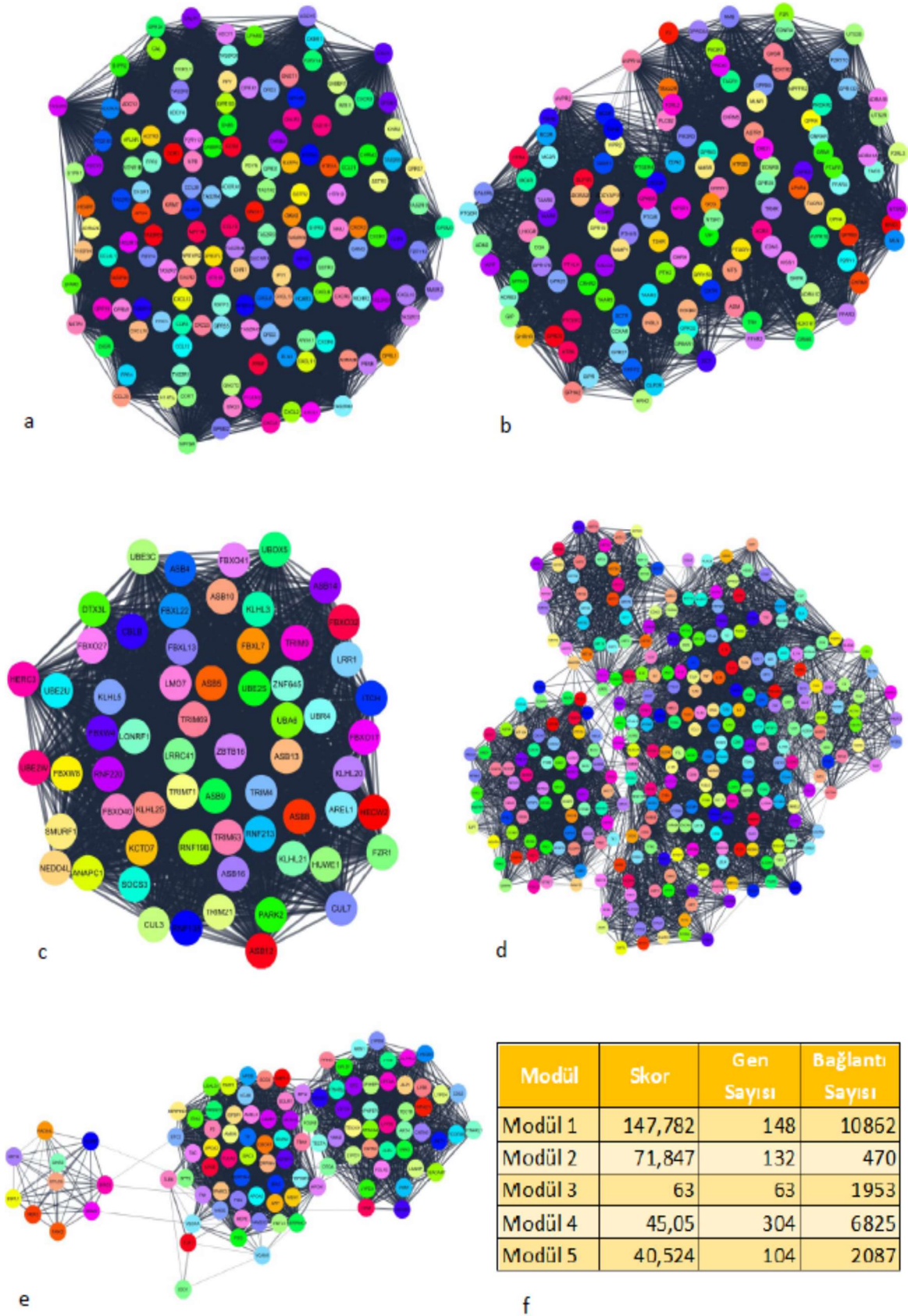
Herkesine açık veritabanlarından alınan STRING protein sorgusundaki bilgilere dayanarak, her derecede DEG'lerin PPE ağı yapıldı ve daha yüksek düzeyde bağlantıya sahip ilk 15 gen merkez gen olarak belirlendi (Tablo.4.12).

Tablo.4.12.Derecelere göre merkez genlerin listesi

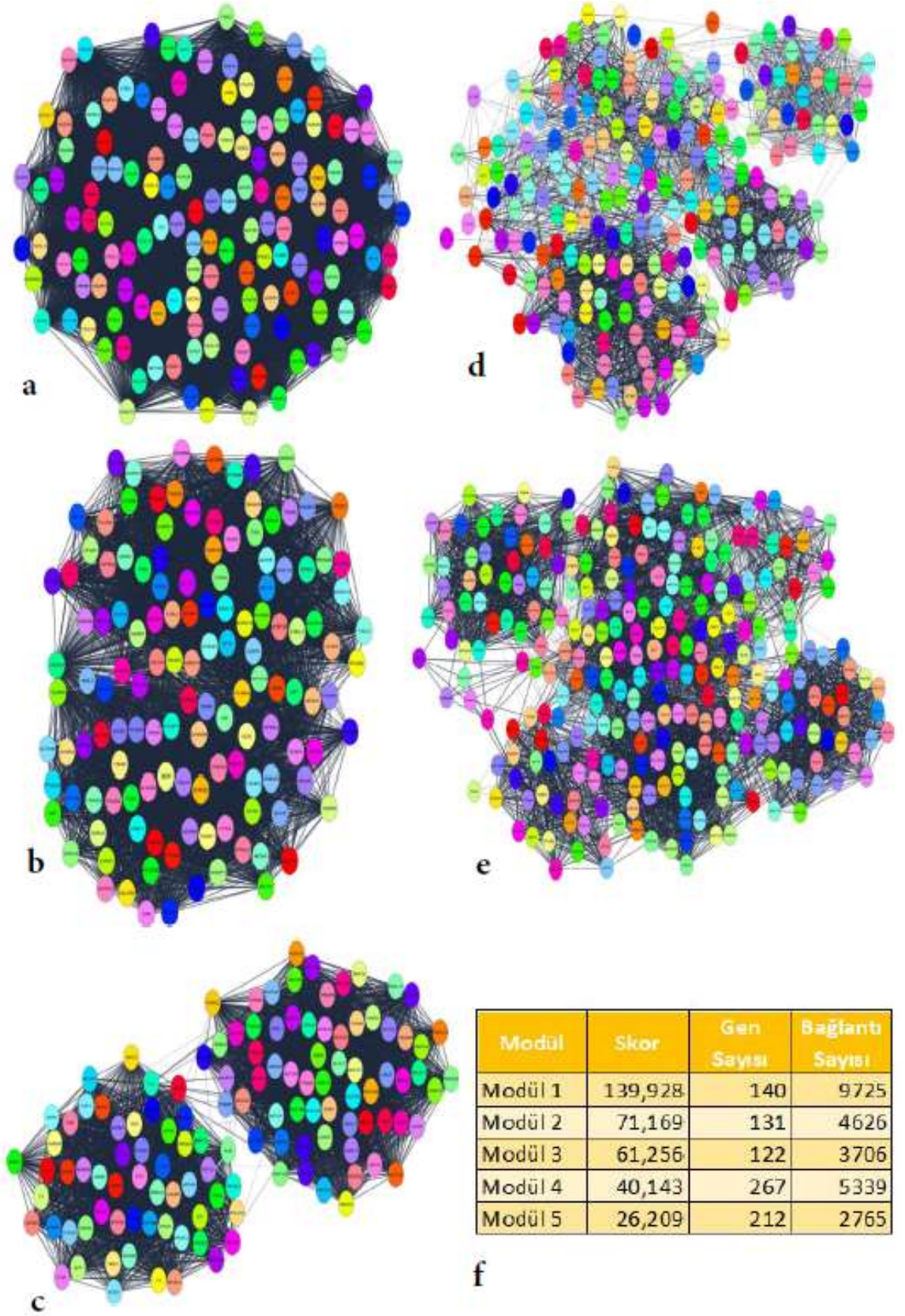
Derece II			Derece III			Derece IV		
Gen	BD	ED	Gen	BD	ED	Gen	BD	ED
INS	761	↑	INS	791	↑	INS	759	↑
ALB	678	↓	IL6	704	↑	IL6	683	↑
TP53	677	↑	ALB	696	↓	ALB	675	↓
GAPDH	629	↓	TP53	678	↑	TP53	610	↑
TNF	568	↑	TNF	597	↑	TNF	579	↑
EGFR	526	↑	EGFR	536	↑	EGFR	513	↑
VEGFA	503	↓	FN1	512	↓	EGF	503	↑
MYC	501	↑	VEGFA	511	↓	VEGFA	492	↑
FN1	485	↓	SRC	497	↑	SRC	484	↑
SRC	480	↑	MYC	492	↑	GNGT1	463	↓
CXCL8	474	↓	CXCL8	476	↓	MYC	453	↑
GNGT1	470	↓	GNGT1	470	↓	STAT3	444	↑
NOTCH1	437	↑	NOTCH1	456	↑	GNG13	439	↑
IL10	409	↑	MAPK1	446	↓	NOTCH1	439	↑
KNG1	387	↑	GNG7	444	↑	IL10	425	↑

BD: Bağlantı derecesi, ED: Ekspresyon düzeyi, ↑: Artmış, ↓: Azalmış

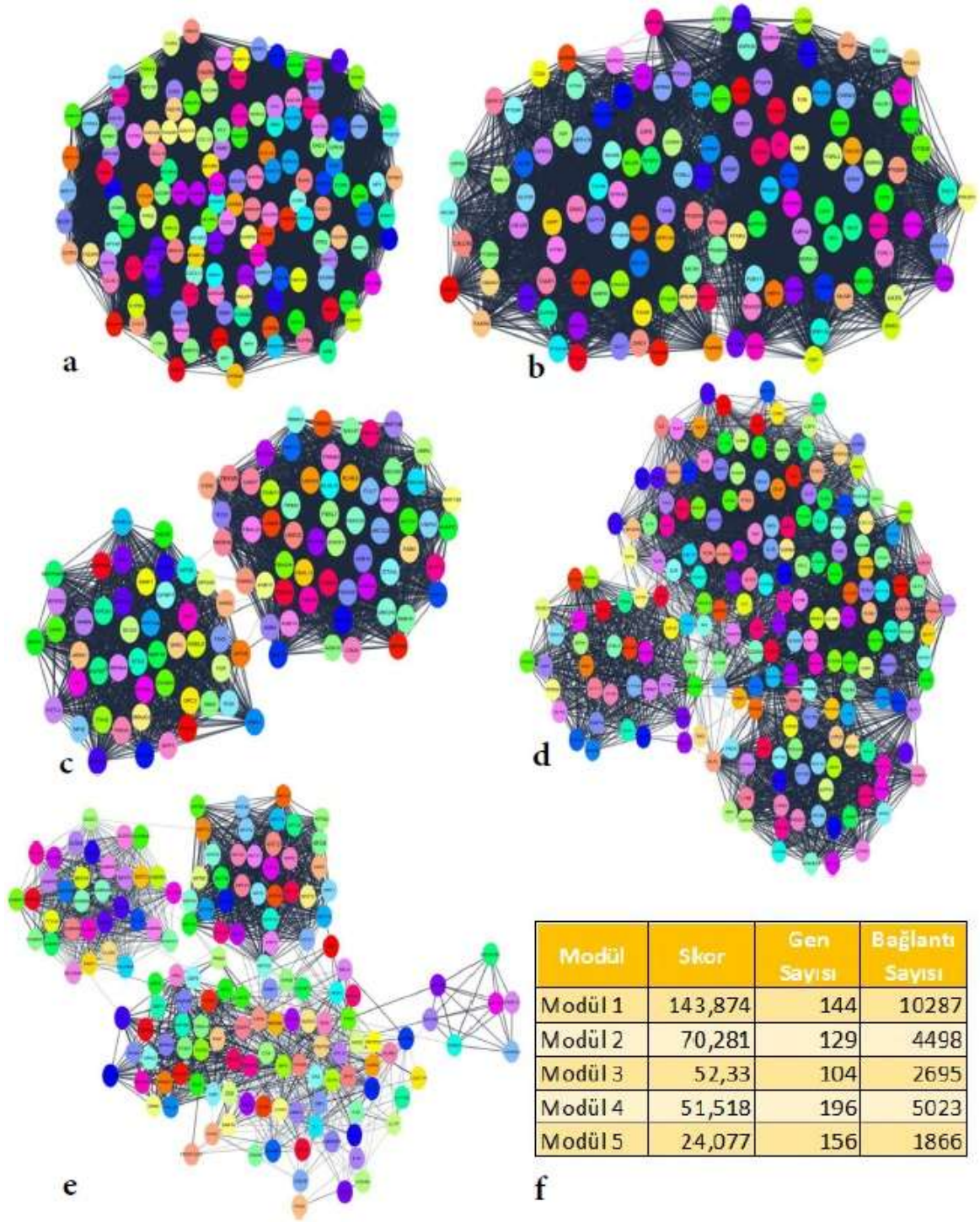
Her derecede PPE ağındaki önemli modülleri tespit etmek için MCODE eklentisi kullanıldı. Her derecede en yüksek skora sahip 5 modül seçildi (Şekil.4.4., Şekil.4.5., Şekil.4.6.).



Şekil.4.4. Derece II'ye ait İlk 5 modül: **a.**Modül 1'in PPE'si, **b.**Modül 2'nin PPE'si, **c.**Modül 3'ün PPE'si, **d.**Modül 4'ün PPE'si, **e.**Modül 5'in PPE'si, **f.**Modüllere ait bilgiler



Şekil.4.5. Derece III'e ait İlk 5 modül: **a.**Modül 1'in PPE'si, **b.**Modül 2'nin PPE'si, **c.**Modül 3'ün PPE'si, **d.**Modül 4'ün PPE'si, **e.**Modül 5'in PPE'si, **f.**Modüllere ait bilgiler



Şekil.4.6. Derece IV'e ait İlk 5 modül: **a.**Modül 1'in PPE'si, **b.**Modül 2'nin PPE'si, **c.**Modül 3'ün PPE'si, **d.**Modül 4'ün PPE'si, **e.**Modül 5'in PPE'si, **f.**Modüllere ait bilgiler

KEGG yolak zenginleştirme analizi, derece II'de bu 5 modülün esas olarak nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi, ubikitin aracılı proteoliz, sitokin-sitokin reseptör etkileşimi ve tamamlayıcı ve pıhtılaşma basamakları ile ilişkili olduğu belirlendi (Tablo4.13.).

Tablo.4.13. Derece II'de Protein-protein etkileşim açısından en iyi 5 modülün zenginleştirilmiş ilk 5 yolak

Modül	Yolak	GS	%	P-Değ.	YKO
1	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	55	37,2	2,00E-43	1,70E-41
	Tat iletimi	25	16,9	4,60E-31	1,90E-29
	Kemokin sinyal yolu	38	25,7	2,40E-29	6,60E-28
	Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	28	18,9	1,30E-14	2,70E-13
	cAMP sinyal yolu	23	15,5	5,00E-12	8,30E-11
2	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	82	62,1	1,90E-107	2,10E-105
	Kalsiyum sinyal yolu	34	25,8	2,90E-30	1,60E-28
	cAMP sinyal yolu	20	15,2	5,40E-12	2,00E-10
	Vasküler düz kas kasılması	12	9,1	2,90E-07	8,10E-06
	Renin salgısı	7	5,3	1,70E-04	3,90E-03
3	Ubikitin aracılı proteoliz	19	30,2	3,30E-26	1,20E-24
	Endositoz	4	6,3	5,50E-02	9,70E-01
4	İnflamatuar bağırsak hastalığı (IBD)	20	6,7	7,40E-17	1,30E-14
	Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	30	10	9,70E-14	8,70E-12
	Romatizmal eklem iltihabı	19	6,3	6,50E-13	3,90E-11
	Sıtma	15	5	2,00E-12	8,90E-11
	Allogreft reddi	12	4	3,20E-10	1,10E-08
5	Tamamlayıcı ve pıhtılaşma kademeleri	6	5,9	7,00E-05	4,80E-03
	Folat biyosentezi	3	2,9	3,50E-03	1,20E-01
	Afrika tripanozomiyazı	3	2,9	1,90E-02	4,20E-01
	Hücre yapışma molekülleri (CAM'ler)	4	3,9	6,20E-02	9,30E-01
	PPAR sinyal yolu	3	2,9	6,80E-02	9,30E-01

GS: Gen sayısı, P-Değ.: P değeri, YKO: Yanlış keşif oranı

KEGG yolak zenginleştirme analizi ile, derece III'de bu 5 modülün esas olarak nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi, ubikitin aracılı proteoliz, allogreft reddi ve nikotin bağımlılığı ile ilişkili olduğu belirlendi (Tablo4.14.).

Tablo.4.14. Derece III'de Protein-protein etkileşim açısından en iyi 5 modülün zenginleştirilmiş ilk 5 yolak

Modül	Yolak	GS	%	P-Değ.	YKO
1	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	53	37,9	7,10E-42	6,10E-40
	Kemokin sinyal yolu	37	26,4	8,70E-29	3,70E-27
	Tat iletimi	21	15	2,90E-24	8,20E-23
	Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	29	20,7	4,30E-16	9,20E-15
	cAMP sinyal yolu	16	11,4	1,50E-06	2,60E-05
2	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	79	60,3	1,20E-98	1,40E-96
	Kalsiyum sinyal yolu	34	26,0	6,80E-30	3,90E-28
	cAMP sinyal yolu	20	15,3	8,10E-12	3,10E-10
	Vasküler düz kas kasılması	13	9,9	3,80E-08	1,10E-06
	Renin salgısı	8	6,1	2,00E-05	4,60E-04
3	Ubikitin aracılı proteoliz	19	15,7	1,80E-18	1,50E-16
	Tamamlayıcı ve pıhtılaşma basamakları	7	5,8	1,20E-05	4,70E-04
	TNF sinyal yolu	4	3,3	4,70E-02	1,00E+00
	PPAR sinyal yolu	3	2,5	9,10E-02	1,00E+00
4	Allogreft reddi	13	4,9	6,50E-13	1,00E-10
	İnflamatuar bağırsak hastalığı (IBD)	15	5,7	2,90E-12	2,30E-10
	Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	23	8,7	1,50E-10	8,10E-09
	Romatizmal eklem iltihabı	15	5,7	2,70E-10	1,10E-08
	Sıtma	12	4,5	5,20E-10	1,70E-08
5	Nikotin bağımlılığı	13	6,1	1,10E-11	1,40E-09
	İnflamatuar bağırsak hastalığı (IBD)	15	7,1	2,20E-11	1,40E-09
	Graft-versus-host hastalığı	12	5,7	2,20E-11	1,40E-09
	Viral miyokardit	14	6,6	6,70E-11	3,10E-09
	Allogreft reddi	12	5,7	9,10E-11	3,40E-09

GS: Gen sayısı, P-Değ.: P değeri, YKO: Yanlış keşif oranı

KEGG yolak zenginleştirme analizi ile, derece IV'de bu 5 modülün esas olarak nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi, ubikitin aracılı proteoliz, tüberküloz ve nikotin bağımlılığı ile ilişkili olduğunu belirlendi (Tablo4.15.).

Tablo.4.15. Derece IV'de Protein-protein etkileşim açısından en iyi 5 modülün zenginleştirilmiş ilk 5 yolak

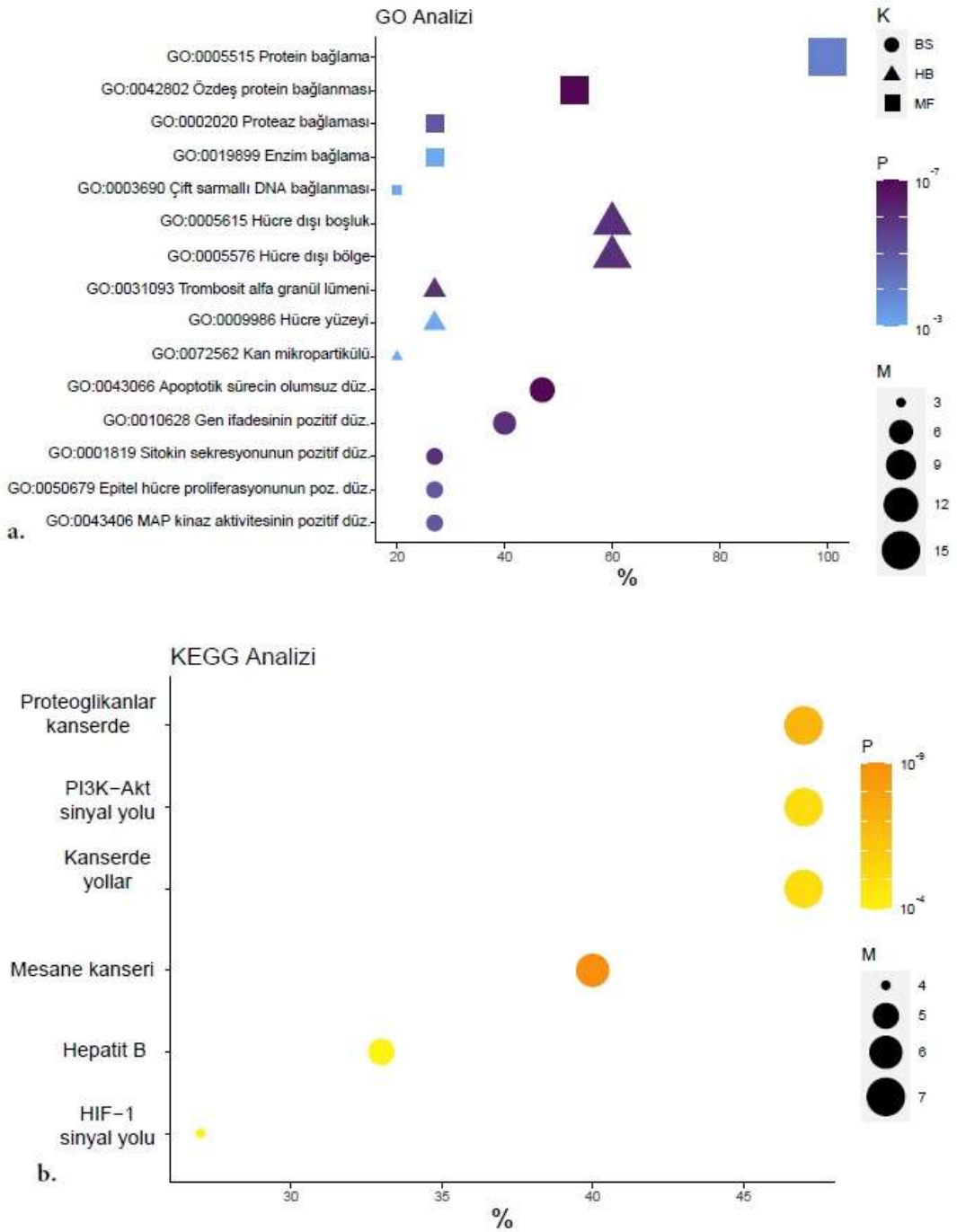
Modül	Yolak	GS	%	P-Değ.	YKO
1	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	54	37,5	4,40E-42	3,50E-40
	Kemokin sinyal yolu	39	27,1	1,20E-30	4,90E-29
	Tat iletimi	24	16,7	3,30E-29	8,60E-28
	Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	27	18,8	1,10E-13	2,10E-12
	cAMP sinyal yolu	21	14,6	3,00E-10	4,70E-09
2	Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi	80	62	6,40E-101	7,20E-99
	Kalsiyum sinyal yolu	35	27,1	2,60E-31	1,50E-29
	cAMP sinyal yolu	21	16,3	8,00E-13	3,00E-11
	Vasküler düz kas kasılması	13	10,1	3,80E-08	1,10E-06
	TRP kanallarının enflamatuar aracı düz.	10	7,8	5,50E-06	1,20E-04
3	Ubikitin aracılı proteoliz	17	16,5	9,70E-17	5,50E-15
	Tamamlayıcı ve pıhtılaşma basamakları	6	5,8	7,80E-05	2,20E-03
	PPAR sinyal yolu	3	2,9	7,10E-02	1,00E+00
4	Tüberküloz	27	13,9	4,30E-18	7,10E-16
	İnflamatuar bağırsak hastalığı (IBD)	18	9,3	1,30E-16	1,10E-14
	Sıtma	16	8,2	8,30E-16	4,60E-14
	Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi	28	14,4	1,40E-15	5,70E-14
	Romatizmal eklem iltihabı	19	9,8	2,40E-15	8,10E-14
5	Nikotin bağımlılığı	15	9,7	3,10E-18	3,70E-16
	GABAerjik sinaps	15	9,7	3,50E-13	2,10E-11
	Morfin bağımlılığı	15	9,7	9,30E-13	3,70E-11
	Retrograd endokannabinoid sinyalleş.	15	9,7	4,10E-12	1,20E-10
	Hematopoetik hücre soyu	14	9,1	9,60E-12	2,30E-10

GS: Gen sayısı, P-Değ.: P değeri, YKO: Yanlış keşif oranı

4.6. Merkez Genlerin KEGG ve GO Analizi

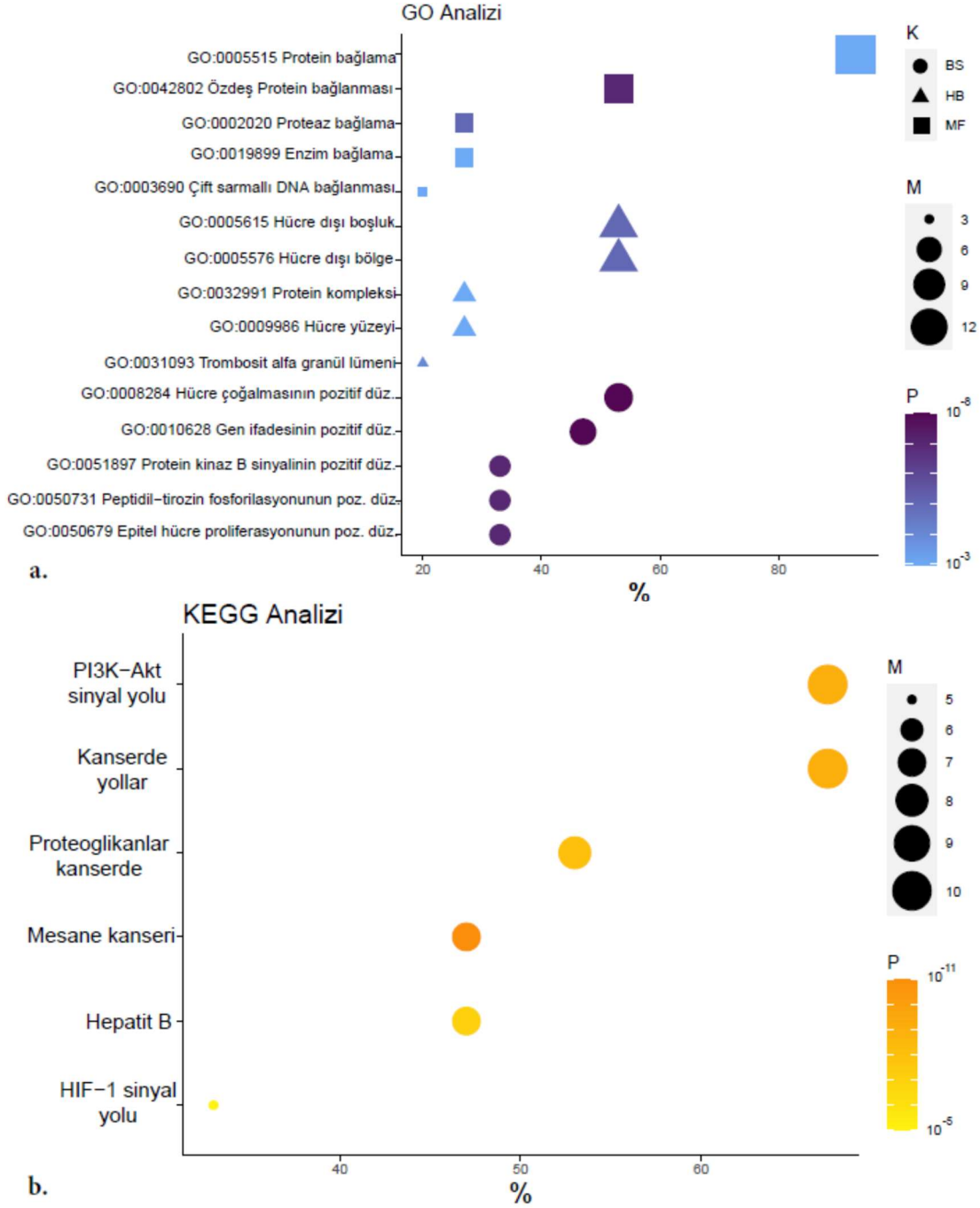
Her dereceye ait merkez genlerinin KEGG yolak analizi ve GO analizi yapıldı.

Derece II'de merkez genlerin; KEGG yolak analizi sonucunda en çok meme kanseri yolu ile ve GO analizi sonucunda biyolojik süreci apoptotik sürecin olumsuz düzenlenmesi ile, hücre bileşeni hücre dışı boşluk ile, moleküler fonksiyonu özdeş protein bağlanması ile en fazla ilişkilendirildi (Şekil.4.7.).



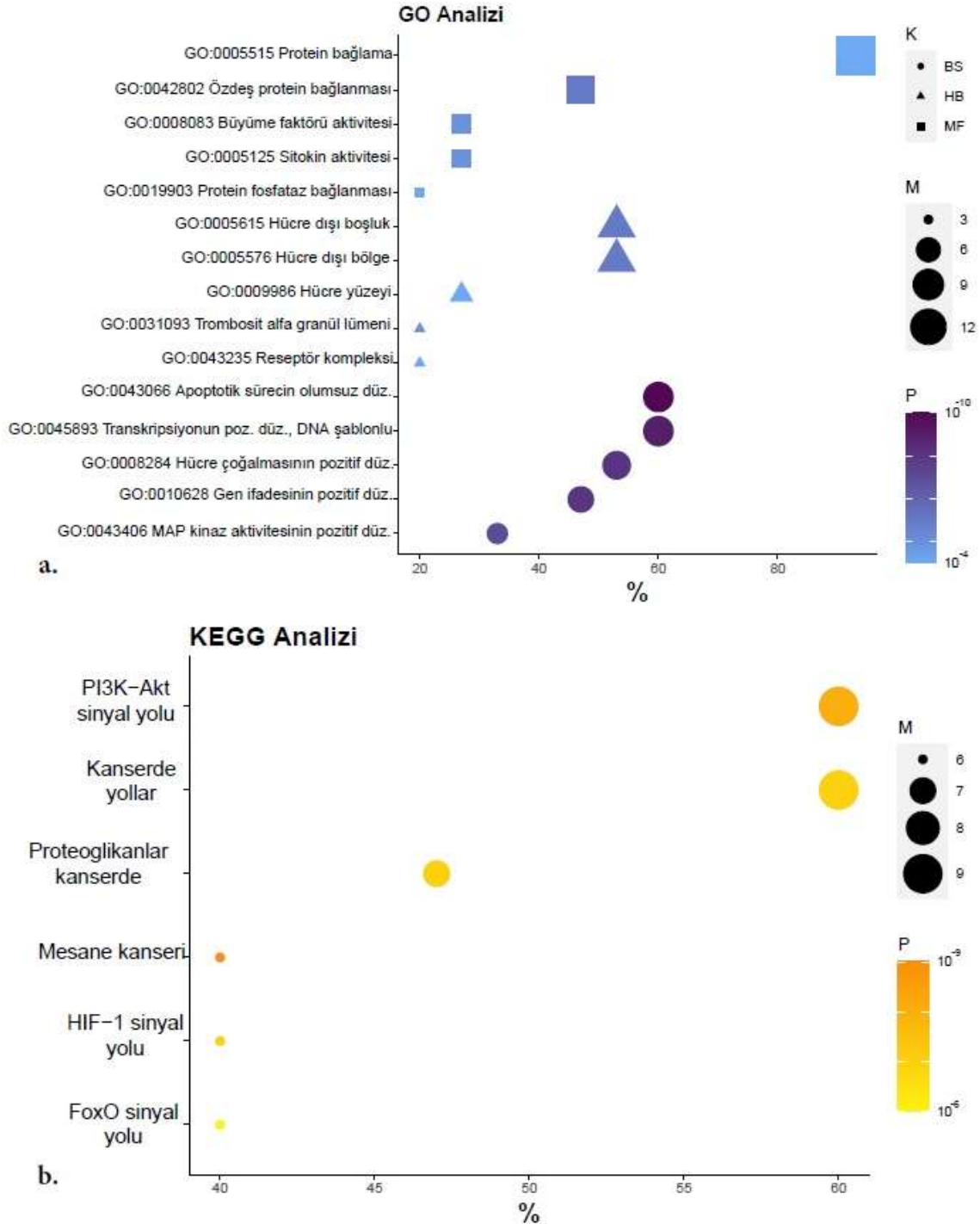
Şekil.4.7. Derece II'ye ait merkez genlerin PPE ağı, KEGG yol analizi ve GO analizi: a.GO analizi, b.KEGG analizi

Derece III'de merkez genlerin; KEGG yolak analizi sonucunda en çok meme kanseri yolu ile ve GO analizi sonucunda biyolojik süreci hücre çoğalmasının pozitif düzenlenmesi ile, hücre bileşeni hücre dışı boşluk ile, moleküler fonksiyonu özdeş protein bağlama ile en fazla ilişkilendirildi (Şekil.4.8.).



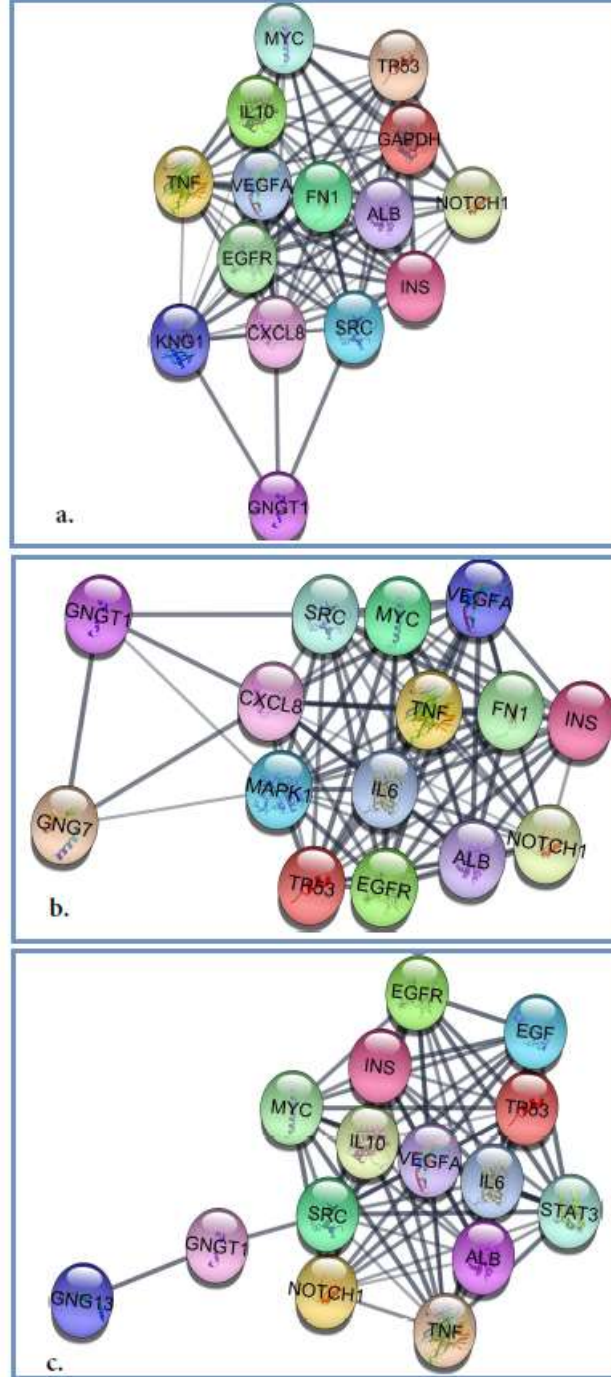
Şekil.4.8.Derece III'ye ait merkez genlerin PPE ağı, KEGG yol analizi ve GO analizi:
a.GO analizi, **b.**KEGG analizi

Derece IV’de merkez genlerin; KEGG yolak analizi sonucunda en çok meme kanseri yolu ile ve GO analizi sonucunda biyolojik süreci apoptotik sürecin olumsuz düzenlenmesi ile, hücre bileşeni hücre dışı boşluk ile, moleküler fonksiyonu özdeş protein bağlama ile en fazla ilişkilendirildi (Şekil.4.9.).



Şekil.4.9.Derece IV’ye ait merkez genlerin PPE ağı, KEGG yolak analizi ve GO analizi: **a.**GO analizi, **b.**KEGG analizi

Her dereceye ait merkez genlerinin PPE ağı görselleştirildi. Merkez genler arasında en fazla bağlantıya sahip genler; derece II'de *SRC* ve *CXCL8*, derece III'de *MAPK1* ve *CXCL8*, derece IV'de *SRC* olarak belirlendi. En az bağlantıya sahip genler ise; derece II'de *GNGT1*, derece III'de *GNG7*, derece IV'de *GNG13* olarak belirlendi (Şekil.4.10.).



Şekil.4.10.Derecelere ait merkez genlerin PPE ağı: **a.**Derece II merkez genlerinin PPE'si, **b.**Derece III merkez genlerinin PPE'si, **c.**Derece IV merkez genlerinin PPE'si

4.7. Merkez Genlerin Hayatta Kalma Analizi

Her derecede ekspresyonu artan ve azalan genler arasında 15 merkez genin prognostik bilgileri GEPIA web sunucusunda analiz edildi (<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php>).

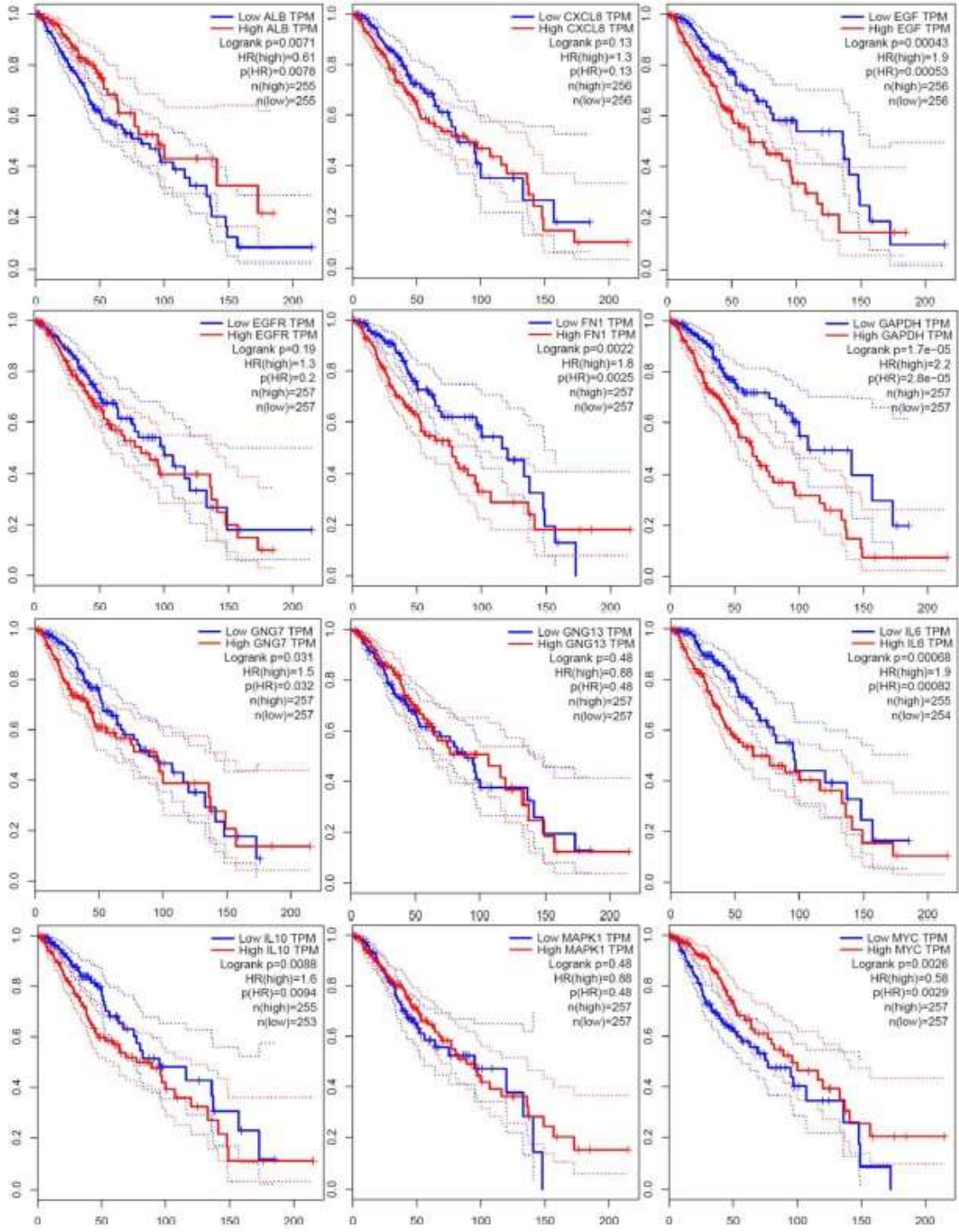
LGG'de merkez genler arasında *VEGFA* ekspresyonunun (HR 2,4, $p = 5,7 \times 10^{-5}$) LGG hastaları için daha kötü genel sağkalım ile ilişkili olduğu ve bunu *GAPDH* (HR 2,2, $p = 1,7 \times 10^{-5}$), *FN1* (HR 1,8, $p = 0,0022$), *TP53* (HR 1,6, $p = 0,0067$) ve *IL10* (HR 1,6, $p = 0,0088$)'un takip ettiği, ayrıca; *ALB* (HR 0,61, $p = 0,0071$) 'nin LGG hastaları için daha iyi genel sağkalım ile ilişkili olduğu bulundu (Şekil.4.11., Şekil.4.12., Tablo.4.16.).

GBM'de merkez genler arasında ise *IL6* (HR 1,4, $p = 0,074$) ve *VEGFA* (HR 1,4, $p = 0,05$) ekspresyonunun GBM hastaları için daha kötü genel sağkalım ile ilişkili olduğu ve bunu *ALB* (HR 1,2, $p = 0,41$), *EGF* (HR 1,2, $p = 0,25$), *SRC* (HR 1,2, $p = 0,24$), *IL10* (HR 1,2, $p = 0,26$) ve *STAT3* (HR 1,2, $p = 0,39$)'ün takip ettiği, ayrıca; *NOTCH1*'in (HR 0,91, $p = 0,6$) GBM hastaları için daha iyi genel sağkalım ile ilişkili olduğu bulundu (Şekil.4.13., Şekil.4.14., Tablo.4.16.).

Tablo.4.16.Merkez genlerin LGG ve GBM'de sağkalım oranları

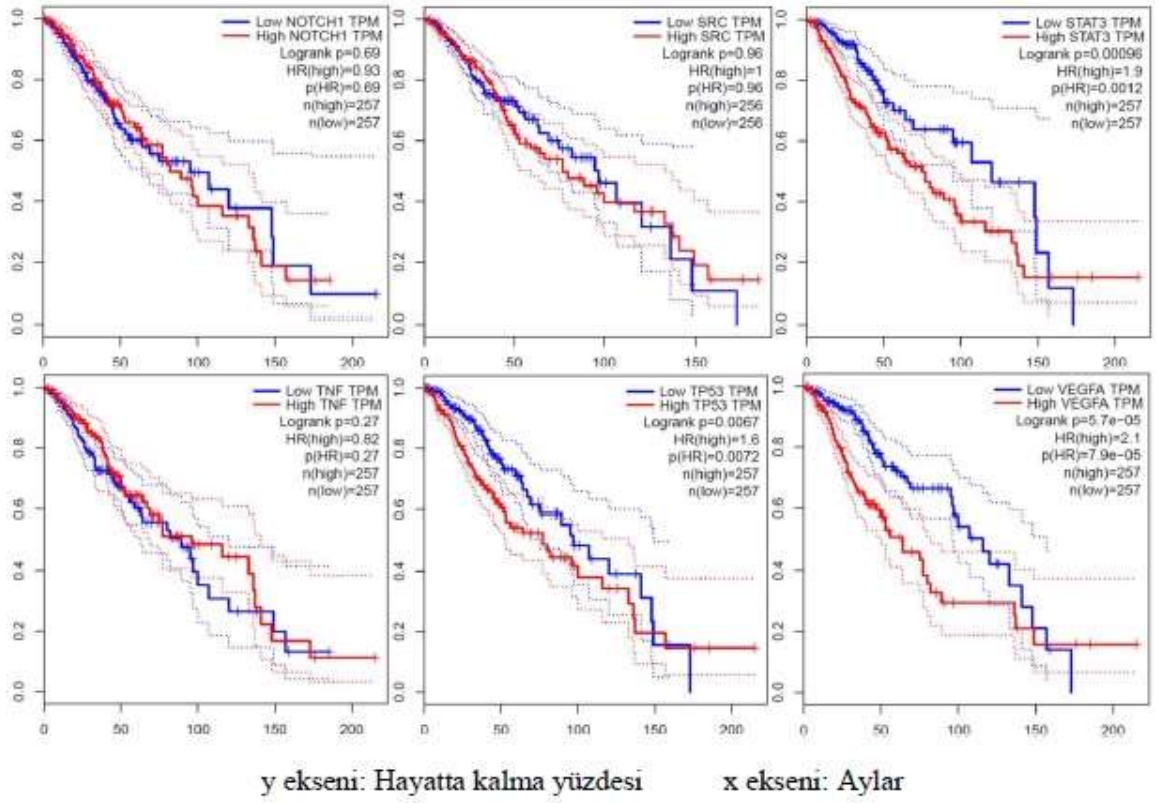
Gen	LGG-HR	GBM-HR
INS	*	*
ALB	0,61	1,2
TP53	1,6	1
GAPDH	2,2	1,5
TNF	0,82	1,1
EGFR	1,3	1
VEGFA	2,4	1,4
MYC	0,58	1
FN1	1,8	1,5
SRC	1	1,2
CXCL8	1,3	1,4
GNGT1	*	*
NOTCH1	0,93	0,91
IL10	1,6	1,2
KNG1	*	*
IL6	1,9	1,4
MAPK1	0,88	0,88
GNG7	1,5	0,81
EGF	1,9	1,2
STAT3	1,9	1,2
GNG13	0,88	0,98

HR: Tehlike oranı (Hazard ratio), *: Yeterli çalışma bulunmamaktadır

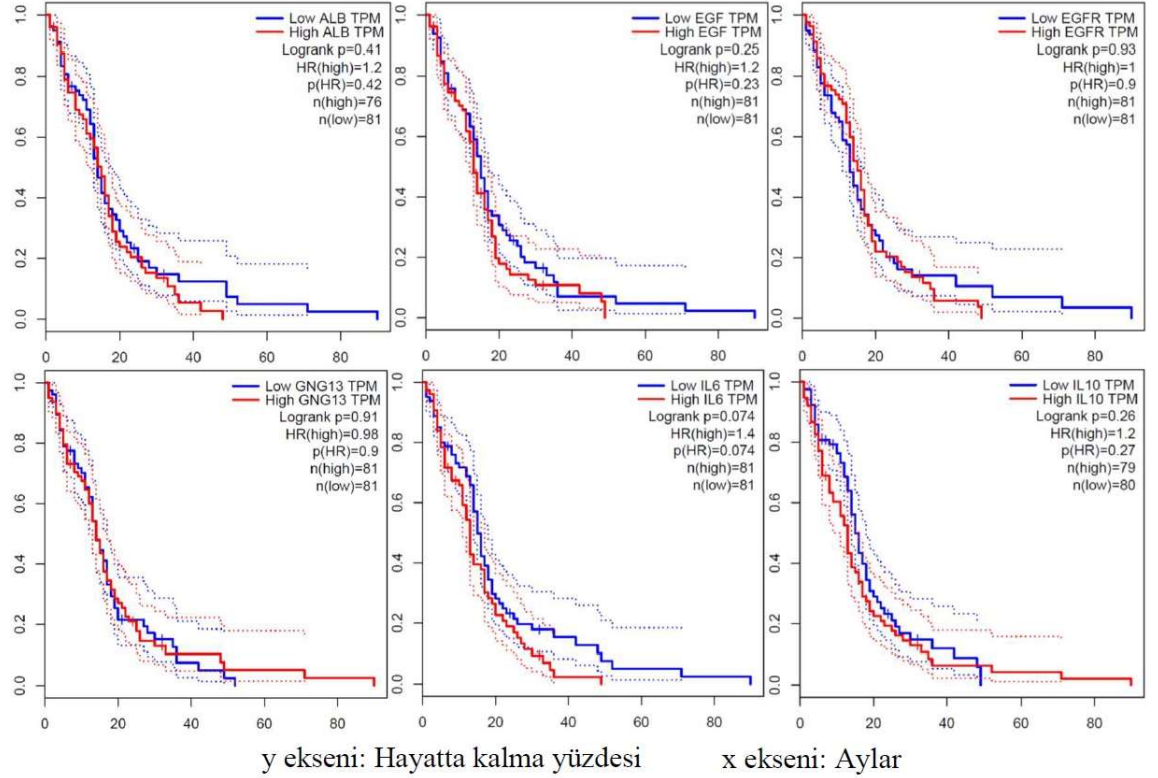


y eksen: Hayatta kalma yüzdesi x eksen: Aylar

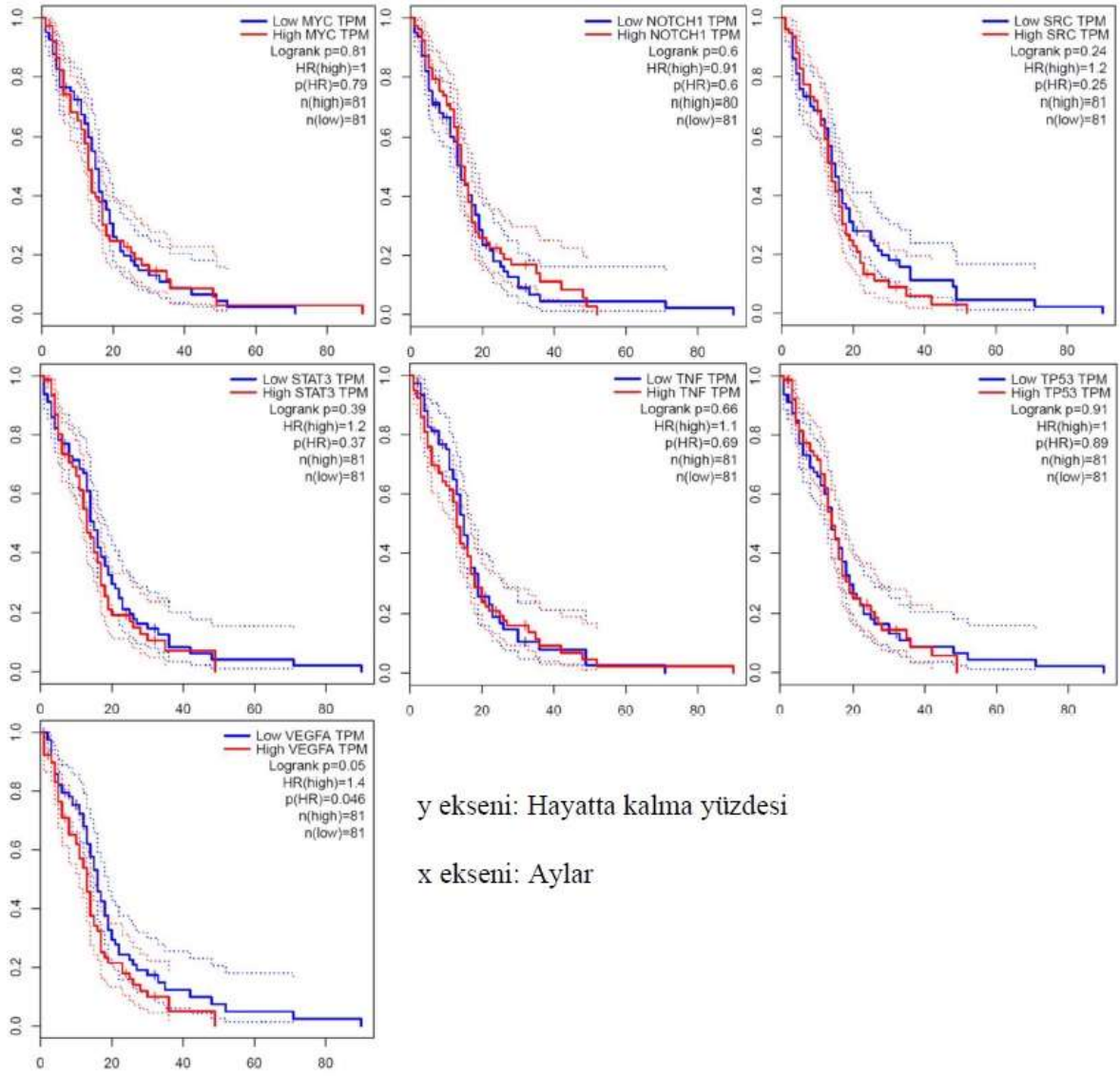
Şekil.4.11.LGG’de merkez genlerden sırasıyla; *ALB*, *CXCL8*, *EGF*, *EGFR*, *FN1*, *GAPDH*, *GNG7*, *GNG13*, *IL6*, *IL10*, *MAPK1* ve *MYC* genlerinin hayatta kalma grafikleri



Şekil.4.12.LGG’de merkez genlerden sırasıyla; *NOTCH1*, *SRC*, *STAT3*, *TNF*, *TP53* ve *VEGFA* genlerinin hayatta kalma grafikleri



Şekil.4.13.GBM’de merkez genlerden sırasıyla; *ALB*, *EGF*, *EGFR*, *GNG13*, *IL6* ve *IL10* genlerinin hayatta kalma grafikleri

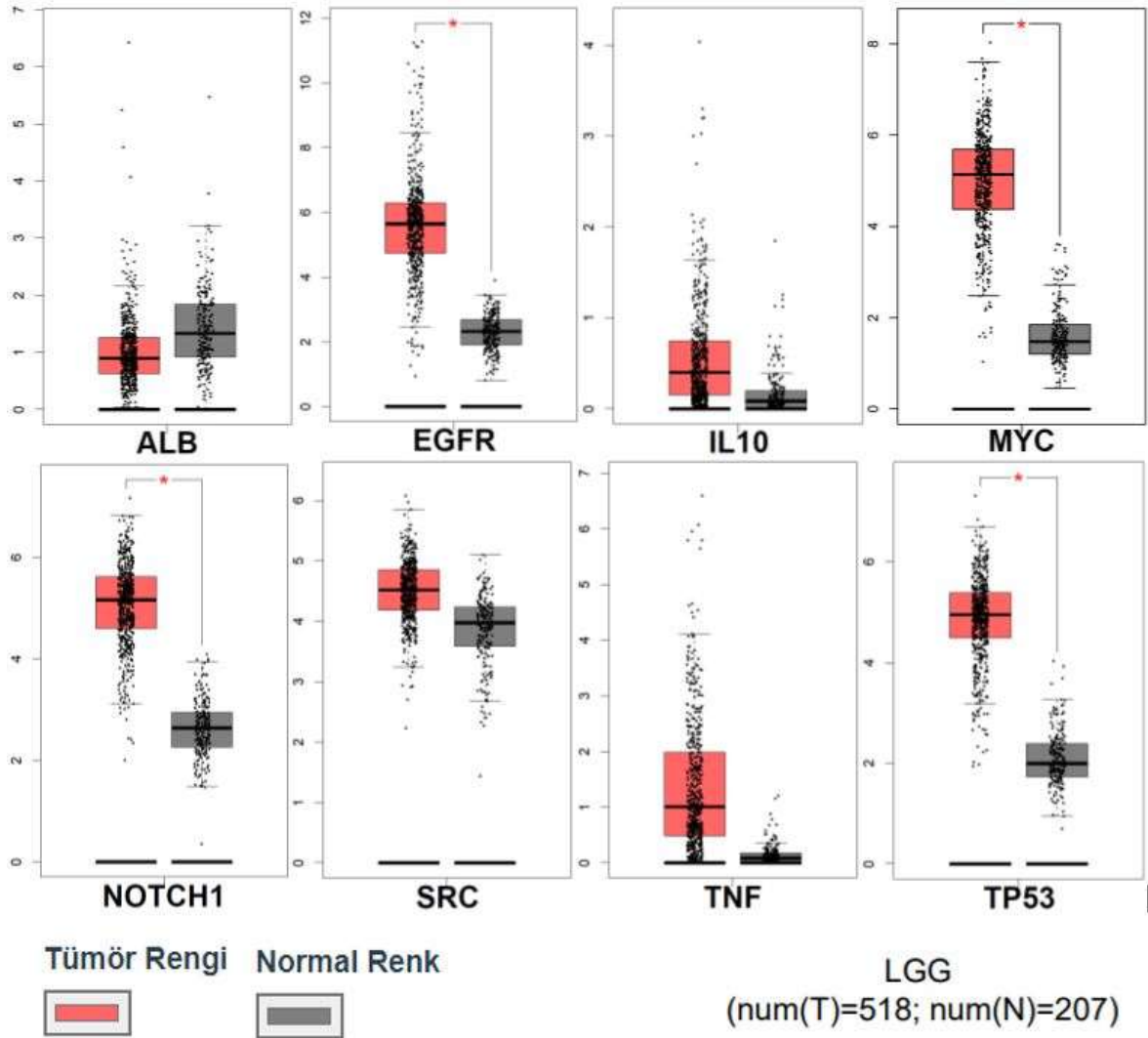


Şekil.4.14.GBM’de merkez genlerden sırasıyla; *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *STAT3*, *TNF*, *TP53* ve *VEGFA* genlerinin hayatta kalma grafikleri

4.8. Merkez Gen İfade Düzeylerinin Karşılaştırılması

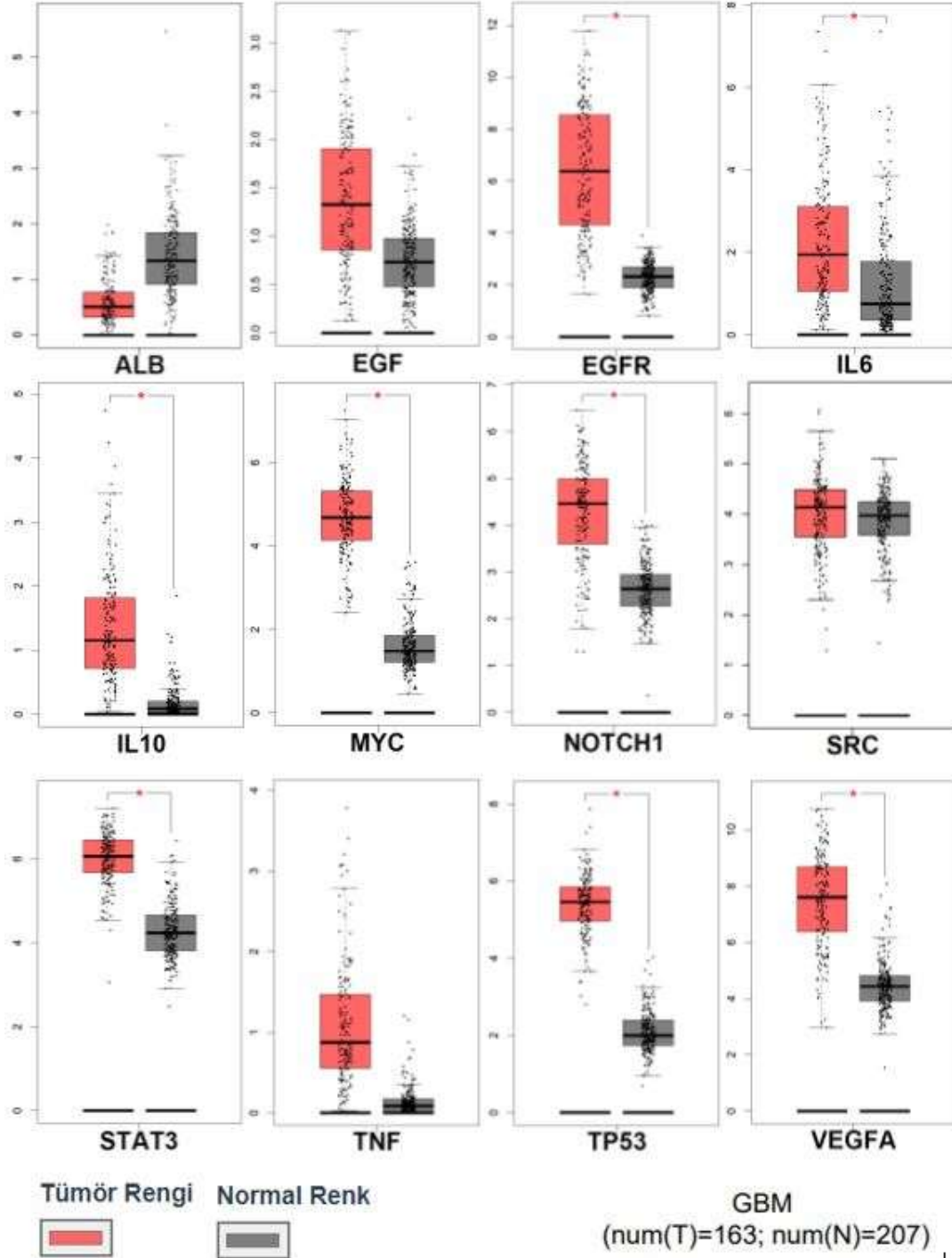
Merkez genlerinin glioma dokularında ve normal dokularda ekspresyon seviyelerini GEPIA ile ortaya çıkartıp, korelasyonları görselleştirmek için kutu grafikleri yapıldı.

LGG'de merkez genlerinin ekspresyon seviyeleri, normal beyin dokusuyla karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlarla korelasyonlu olarak, *EGFR*, *IL10*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *TNF* ve *TP53* ekspresyon seviyesinin kanser dokusunda önemli ölçüde arttığı ve *ALB* ekspresyon seviyesinin ise önemli ölçüde azaldığı belirlendi (Şekil4.15.)



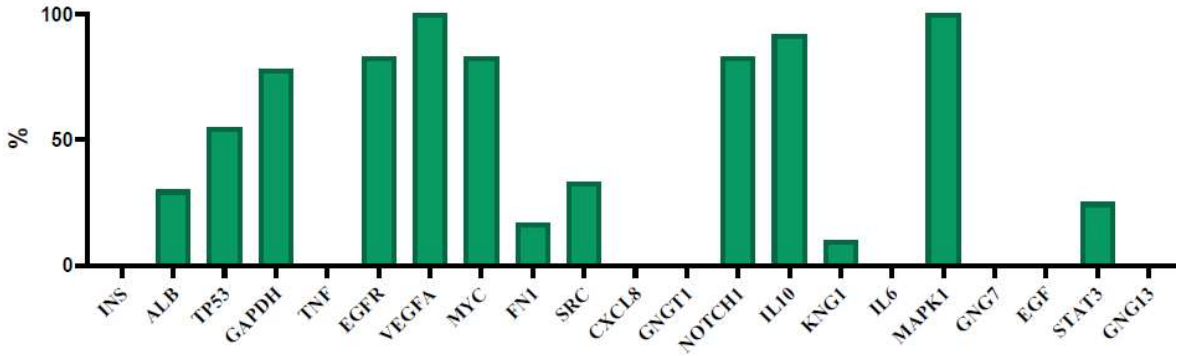
Şekil.4.15.LGG merkez genlerinden *EGFR*, *IL10*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *TNF*, *TP53* ve *ALB*'nin LGG ve normal beyin dokusundaki ekspresyon karşılaştırmaları

GBM'de merkez genlerinin ekspresyon seviyeleri, normal beyin dokusuyla karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlarla korelasyonlu olarak, *EGF*, *EGFR*, *IL6*, *IL10*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *STAT3*, *TNF*, *TP53* ve *VEGFA* ekspresyon seviyesinin kanser dokusunda önemli ölçüde arttığı ve *ALB* ekspresyon seviyesinin ise önemli ölçüde azaldığı belirlendi (Şekil4.16).

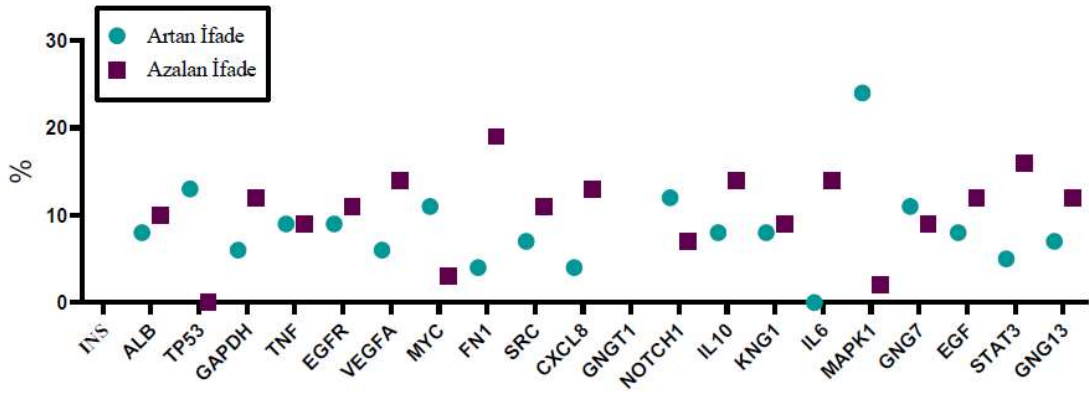


Şekil.4.16.GBM merkez genlerinden *ALB*, *EGF*, *EGFR*, *IL6*, *IL10*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *STAT3*, *TNF*, *TP53* ve *VEGFA*'nın GBM ve normal beyin dokusundaki ekspresyon karşılaştırmaları

İnsan Protein Atlasına (İPA) dayalı gliomalı veya glioması olmayan hastaların immünohistokimyasal verileri ile bu merkez genlerin ekspresyonu doğrulandı ve gliomada ifade farklılıklarına göre 3 yıllık hayatta kalma yüzdeleri bulundu (Şekil.4.17.).



Merkez genlerin İPA'daki immünohistokimyasal verilere göre gliomalı hastalarda ifade sıklığı



Merkez genlerin ifade değişikliklerine göre 3 yıllık sağkalım yüzdeleri

Şekil.4.17. Merkez genlerin İPA verileri

5.TARTIŞMA

5.1. Ekspresyonu Değişen Genler

Çalışmamızda, 150 glioma örneği (50 astrositom, 33 anaplastik oligodendrogliom, 8 anaplastik astrositom, 9 anaplastik oligoastrositom ve 50 glioblastom) ve 15 normal doku örnekleri GEO veritabanından alındı.

Analizimizde, gliomalı hastalar ve normal bireyler arasında farklı ifade edilen genler tespit edildi. Tablo.4.2 ve Tablo.4.3’de, en fazla farklı ifadeye sahip artan ve azalan 50 gen gösterildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her derecede, ekspresyonu en çok artan ilk 10 gen; *BTN1A1*, *CDX4*, *HES2*, *IL36G*, *KRTAP4-8*, *KRTAP9-4*, *NME9*, *OR7G3*, *POU5F2*, *TAS2R41*; ekspresyonu en çok azalan ilk 10 gen; *AFP*, *ALB*, *AMBP*, *APOA2*, *FABP1*, *HBG1*, *HBZ*, *KRT18*, *PMEL*, *PRAME*, *TFF1* olarak belirlendi.

Butirofilin (BTN) genleri, 2 hücre dışı immünoglobulin (Ig) alanı ve bir hücre içi B30.2 (PRYSPRY) alanı ile tip I membran proteinlerini kodlayan bir majör histo-uyumluluk kompleksi (MHC) ile ilişkili genler grubudur. İnsan BTN genlerinin üç alt ailesi bulunur; *BTN1A1*, *BTN2* ve *BTN3* genleri. *BNT1A1*, emzirme sırasında süt lipid damlacıklarının salgılanması için gereklidir (Smith ve ark., 2010). *BTN1A1* ekspresyon seviyesinin kanser gelişimi ile ilişkili olabileceği; *BTN1A1* seviyesindeki artışın kanserin ilerlemesini ve *BTN1A1* seviyesindeki azalmanın kanserin gerilemesini gösterebileceği belirtilmiştir (Yoo, Surace, Lin, & Sharma, 2020). Çalışmamızda tüm derecelerde, *BNT1A1* ekspresyonu artan seviyelerde tespit edilip, *BTN1A1*’in gliomanın ilerlemesi ile ilişkili olabileceği belirlendi.

CDX; *CDX1*, *CDX2* ve *CDX4* üyelerinden oluşan, kaudalla ilgili homeobox TF’lerin bir gen ailesini temsil eder. Tüm bu üyeler, bağırsağa özgü gen ekspresyonunun düzenlenmesine ve ayrıca anterior-posterior model spesifikasyonuna ve kan damarı gelişimine katılır. Bu TF’lerin özofagus, safra kesesi, karaciğer, kolorektal ve pankreas dahil olmak üzere çeşitli neoplazilerle ilişkili olduğu bulunmuştur, ancak bunların ilaç yanıtlarındaki rolü hala bilinmemektedir (Carminati ve ark., 2013). Çalışmamızda tüm derecelerde *CDX4* ekspresyonu artan seviyelerde tespit edildi. Bu sonuç, *CDX4*’ün diğer kanserlere ek olarak glioma ile de ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Hes ailesi bHLH transkripsiyon faktörü 2 (*HES2*), transkripsiyonları için bir bHLH proteini gerektiren genlerin transkripsiyonel baskılayıcısıdır (Katoh, & Katoh, 2004). *HES2* geninin tümörlerde ifadesinin arttığı bilinmekte (Irshad ve ark., 2015) olup, bizim çalışmamızda da tüm derecelerde ifadesi artmış olarak bulundu.

İnterlökin (IL) 36 gama (*IL36G*) gibi IL1 ailesinin üyeleri, iltihaplanmaya aracılık eden yapısal olarak ilişkili sitokinler ve hücre yüzeyi reseptörleridir. *IL36G*, epiteldeki IL1 sinyal sisteminin bir parçasıdır ve proinflamatuvar özelliklere sahiptir (Johnston ve ark., 2011). *IL36G* ekspresyonunun metastatik melanomda primer melanomdan daha düşük

olduğunu ve *IL36G* ekspresyonunun kanser ilerlemesi ile ters orantılı olduğu ortaya çıkarılmıştır (Wang ve ark., 2015). Çalışmamızda tüm derecelerde *IL36G* ekspresyonu artan seviyelerde tespit edilmesine rağmen derece II'den derece IV'e doğru artma kat sayısının azaldığı gözlemlendi. Bu sonuç ile, *IL36G* ekspresyon düzeyinin tümörün ilerlemesi ile ters orantılı olduğu doğrulandı.

Keratin ilişkili protein 4-8 (*KRTAP4-8*) ve keratin ilişkili protein 9-4 (*KRTAP9-4*), keratin ile ilişkili protein (KAP) ailesinin üyesidirler. KAP proteinleri, saç liflerinin yapısına katkıda bulunan bir keratin ara filament matrisi oluşturur. KAP ailesi üyeleri, benzersiz, aileye özgü amino ve karboksil terminal bölgelerine sahip gibi görünür ve amino asit bileşimine göre üç çok genli aileye ayrılır: Yüksek kükürt, ultra yüksek kükürt ve yüksek tirozin / glisin KAP'lar (Rogers ve ark., 2001). Bu iki genin kanserle ilişkisini doğrulayan bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda, *KRTAP4-8* ve *KRTAP9-4* ekspresyon seviyelerinin tüm derecelerde arttığı tespit edildi. KAP proteinlerinin gliomada etki mekanizmalarının araştırılıp, glioma ilerlemesi üzerinde etkisinin bulunup bulunmadığı belirlenmelidir.

NME9, bir tioredoksin alanı içeren bir mikrotübül bağlayıcı proteindir. Tioredoksin, çoğunlukla transkripsiyon faktör DNA bağlanma aktivitesinin düzenlenmesi, antioksidan savunması, apoptozun modülasyonu ve immün tepkisi dahil olmak üzere redoks aktivitesine bağlı olan çeşitli fonksiyonlar atanmıştır. Dahası, anormal tioredoksin ekspresyonu, kanser, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi bir dizi patolojik durumla ilişkilendirilmiştir (Sadek ve ark., 2003). Çalışmamızda tüm derecelerde *NME9* ekspresyonu artan seviyelerde tespit edildi.

Olfaktör reseptörler (OR'ler), G-protein-bağlı reseptör (GPCR) ailesine aittir ve koku alma duyu sistemindeki binlerce koku molekülünün tanınmasında kritik bir rol oynarlar. Birçok büyük ve küçük koku alma reseptörü kümesi genom boyunca dağılmıştır. Koku alma reseptörleri oldukça spesifik bir şekilde ifade edilir ve monojenik ifade genel kuraldır, yani bir nöron-bir reseptör (Korsching, 2004). *OR7G3* geninin kanser üzerindeki etkileri tam olarak bilinmemekle birlikte *OR7G3*'ün de içinde bulunduğu GPCR'lerin tümör oluşumunun birçok yönünü ve ayrıca kanserle ilişkili birçok sinyal yolunu düzenlediği bilinmektedir (Bar-Shavit ve ark., 2016). Çalışmamızda *OR7G3* geni, tüm derecelerde artan seviyelerde tespit edildi. *OR7G3* geninin glioma üzerine etkisi bilinmemektedir fakat artan *OR7G3* seviyesinin GPCR'ler aracılığı ile gliomanın ilerlemesinde rol alabileceği düşünülmektedir.

POU alanı transkripsiyon faktör proteinleri, embriyogenez sırasında birçok gelişimsel sürecin kritik düzenleyicileridir, BRN transkripsiyon faktörleri olarak tanımlandıkları nöral sistemde belirgindir ve kanserli dokunun kötü huylu dönüşümü sırasında yeniden etkinleştirilebilir. POU transkripsiyon faktör ailesinin üyeleri, sadece diğer POU üyeleriyle değil, aynı zamanda hedef promotör güçlendirici sekanslarından gen ekspresyonunu

kombinatoriyal bir tarzda kontrol etmek için diğer transkripsiyon faktör sınıflarıyla da dimerize edilerek etkileşime girer. Belirli bir POU-SOX kodu, her ailenin belirli üyelerinin, transkripsiyonu teşvik edebilen veya baskılayabilen işlevsel bir protein kompleksiyle etkileşime girmesine ve bir araya getirmesine izin verir. Küçük hücreli akciğer kanseri hücre hatları, çeşitli nöroendokrin özellikler sergiler ve aynı zamanda glioblastoma, nöroblastoma, merkel hücre karsinomu ve melanoma gibi çeşitli habis dokularda da eksprese edilen BRN2 POU transkripsiyon faktörünü eksprese eder (Sturm, 2006). POU alanı, sınıf 5, transkripsiyon faktörü 2 (*POU5F2*), embriyonal dönemde nöronların gelişimde rol alan, yetişkinlikte ise testis ve beyinden eksprese edilen bir transkripsiyon faktördür (Besch, & Berking, 2014). *POU5F2* geninin kanser gelişimi üzerine etkisi bilinmemekle birlikte, çalışmamızda tüm derecelerden artan seviyelerde tespit edildi.

TAS2R41, büyük TAS2R reseptör ailesine aittir. TAS2R'ler, tat reseptör hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilir ve bir G proteinine bağlı ikinci haberci yolu vasıtasıyla acılığın algılanmasına aracılık eder (Conte, Ebeling, Marcuz, Nef, & Andres-Barquin, 2002). *TAS2R41*'in kanser gelişiminde rol aldığına dair bir kanıt bulunamamıştır. Çalışmamızda tüm derecelerde *TAS2R41* ekspresyonu artan seviyelerde tespit edildi. *TAS2R41*'in glioma üzerindeki etkisinin anlaşılabilmesi için, *TAS2R41*'nin ve dahil olduğu moleküler mekanizmaların ayrıntılı incelenmesi gerekmektedir.

Alfa-fetoprotein (*AFP*) geni, albümin (*ALB*), alfa-albümin ve vitamin D bağlayıcı proteini kodlayan ilgili genleri içeren multigenik bir ailenin üyesidir. *AFP*, karaciğer ve yumurta kesesinin viseral endodermi tarafından fetal yaşam boyunca yüksek seviyelerde ve daha düşük seviyelerde gelişen gastrointestinal sistem tarafından üretilen bir serum glikoproteinidir. *AFP* sentezi doğumdan sonra dramatik olarak azalır ve yetişkinlerde sadece eser miktarlar tespit edilir. Embriyonik gelişim sırasındaki yüksek seviyedeki ekspresyonundan dolayı, *AFP*'nin memeli gelişimi için gerekli olduğu varsayılmıştır (Gabant ve ark., 2002). Çalışmalar, *AFP* ifadesindeki değişikliklerin, PI3K / AKT yolunda yer alan hücresel otofaji ile ilgili protein mTOR'un ekspresyonunu etkileyebileceğini göstermiştir. *AFP*'nin hücre otofajisini etkilediği temel mekanizmalar belirsiz kalsa da, mevcut kanıtlar *AFP*'nin otofajide önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Wang ve ark., 2018). Çalışmamızda tüm derecelerde *AFP* ekspresyonu azalan seviyelerde tespit edildi. *AFP* ekspresyon seviyesindeki azalmanın hücre otofajisini etkileyebileceği ve bununda gliomanın oluşması veya ilerlemesinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

ALB, kan plazmasının ana proteindir ve toplam proteininin %60 ila 65'ini oluşturur. *ALB*'nin temel işlevleri, kanın dolaşım içinde kalmasına yardımcı olan onkotik basıncı desteklemek ve vücuttaki birçok metabolitin, özellikle daha az çözünür olan hidrofobik olanları ayırmak ve taşımaktır. Aynı zamanda dolaşımda bulunan önemli bir antioksidandır ve enzimatik özelliklere sahiptir (Minchiotti, Galliano, Kragh-Hansen, & Peters Jr, 2008). Hem sistemik hem de MSS kanseri bağlamında, hipoalbümineminin, daha infiltratif ve

agresif bir tümör fenotipi tarafından uyarılan daha güçlü enflamatuar reaksiyonun veya daha büyük tümör yükü olan ileri bir hastalık aşamasının ölçülebilir bir sinyali olabileceği bildirilmiştir (Borg, Guilfoyle, Greenberg, Watts, & Thomson, 2011). Çalışmamızda da, tüm derecelerde düşük seviyelerde *ALB* ekspresyonu tespit edildi.

Alfa-1-mikroglobulin / bikunin öncü geni (*AMB*), plazmada salgılanan karmaşık bir glikoproteini kodlar. Lipokalin taşıma proteinlerinin süper ailesine ait olan ve enflamatuar süreçlerin düzenlenmesinde rol oynayabilen alfa-1-mikroglobulin ve Kunitz tipi proteaz inhibitörlerinin süper ailesine ait bir idrar tripsin inhibitörü olan birçok fizyolojik ve patolojik süreçte önemli rol oynayan bikunine bölünen bir öncüyü kodlar (Helga, & Gerhard, 1990). *AMB*'nin yetersiz ekspresyonunun, servikal lenf düğümlerinde yüksek bir metastatik potansiyel ve zayıf bir genel hayatta kalma ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu ortaya konulmuştur (Sekikawa ve ark., 2018). Çalışmamızda, tüm derecelerde *AMB* ekspresyonu düşük seviyelerde tespit edilip, düşük *AMB* seviyesinin glial beyin kanserlerinde de prognostik faktör olarak değerlendirilebileceği belirlendi.

Apolipoproteinler (APO'lar), lipoproteinleri oluşturmak için lipidlere bağlanır. Apolipoproteinler, lipid taşıyıcıları olarak işlev görerken hücre zarı reseptörleri, enzimlerin kofaktörleri ve lipoproteinlerin yapısal bileşenleri için ligand görevi görür. APO'lar, metabolizma ve kullanım için kan lipidlerini vücudun çeşitli dokularına bağlayabilir ve taşıyabilir (Ren ve ark., 2019). *APOA2*, yüksek yoğunluklu lipoprotein partiküllerinin en bol ikinci proteini olan apolipoprotein (apo-) A-II'yi kodlar. Protein plazmada apolipoprotein D ile bir monomer, homodimer veya heterodimer olarak bulunur. Bu gendeki kusurlar apolipoprotein A-II eksikliği veya hiperkolesterolemiye neden olabilir ayrıca pediatrik beyin tümörü hastalarında kan-beyin bariyerinin bozulması, BOS'da apolipoprotein A-II'nin aşırı ekspresyonunun ana nedeni olabileceği düşünülmektedir (Deng ve ark., 2019). Mide kanseri, pankreas kanseri ve multipl miyelomlu hastalarda ise *APOA2* seviyesinde azalma tespit edilmiştir (Ren ve ark., 2019). Çalışmamızda, tüm derecelerde azalmış *APOA2* seviyesi tespit edildi. APO'ların çeşitli kanserlerde temel işlevlere katıldığı gösterilmiştir (Ren ve ark., 2019). Fakat *APOA2*'nin pediatrik beyin tümörlerinde artan, diğer kanser türlerinde ise azalan seviyeleri ile ilişkilendirilmesi (Ren ve ark., 2019) gliomalardaki etki mekanizması üzerine belirsizliğe neden olmaktadır. *APOA2*'nin gliomalarda biyobelirteç olarak kullanılabilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Karaciğer yağ asidi bağlayıcı protein (*FABP*), uzun zincirli yağ asitlerinin taşınmasında önemli olan hücre içi bir proteindir. *FABP*, hepatositlerin, kolonun enterositlerinin ve ince bağırsağın normal bir bileşenidir ve böbreğin tübül hücrelerinde ve akciğerdeki alveolar hücrelerde daha az derecede bulunur. Kolon enterositlerinin farklılaşmasının bir belirteci olduğu gösterilmiştir. FABP ailesi, lipid metabolizmasında rol oynar, ancak aynı zamanda, peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptörler (PPAR'ler) ile etkileşim yoluyla inflamasyonun ve hücrel metabolizmanın düzenlenmesinde rol oynar.

FABP1'in, çoğu hücrel farklılaşma, apoptoz ve anti-enflamatuar yanıtta yer alan aşağı akış transkripsiyonel hedeflerini aktive etmek için çekirdekteki PPAR γ ile doğrudan etkileşime girdiği gösterilmiştir. PPAR γ 'yı aktive etmenin yanı sıra, *FABP1* aynı zamanda, iltihaplanmayı ve hücrel çoğalmayı içeren hassas bir geri bildirim döngüsü öneren, PPAR γ 'nın aşağı akış transkripsiyonel hedefidir (Wood ve ark., 2017). *FABP1* ekspresyonunun kolorektal karsinomlarda önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Wood ve ark., 2017). Çalışmamızda da, tüm derecelerde FAB1 ekspresyonu azalan seviyelerde tespit edildi.

Gama globin genleri (*HBG1* ve *HBG2*) normalde fetal karaciğer, dalak ve kemik iliğinde ifade edilir. İki alfa zinciri ile birlikte iki gama zinciri, normalde doğumda yetişkin hemoglobin (HbA) ile değiştirilen fetal hemoglobini (HbF) oluşturur. Bazı beta talasemiler ve ilgili durumlarda, gama zinciri üretimi yetişkinliğe kadar devam eder. İki tür gama zinciri farklılık gösterir: Kalıntı 136'da G-gama ürününde (*HBG2*) glisin ve A-gama ürününde (*HBG1*) alanin bulunur (Johnson, & Rebello, 2013). Çalışmamızda, tüm derecelerde azalmış *HBG1* seviyesi tespit edildi. Kanserde *HBG1* ekspresyon düzeyine ilişkin bir kaynak bulunmamakla birlikte, *HBG1* ve *HBG2*'nin gen ürünü olan HbF'nin kanserli hastalarda serolojik olarak yüksek tespit edildiği bildirilmiştir (Wolk, Martin, & Reinus, 2006). Çalışmaya dahil edilen hastalara ait HbF serolojik değerleri bulunmamaktadır. Bu nedenle azalan *HBG1* seviyesinin HbF ve glioma ile ilişkisi bilinmemektedir.

Keratin 18 (*KRT18*), doku bütünlüğü için gerekli olan ara filaman hücre iskeleti protein ailesinin bir üyesidir. Başlangıçta *KRT18* ekspresyonu, solunum ve gastrointestinal sistemden epitel ve endotel hücrelerinde önerilmiştir. Daha sonra, *KRT18*'in çeşitli insan malignitelerinde anormal şekilde eksprese edildiği ve klinik ilerleme ve prognoz ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Zhang, Hu, & Li, 2019). Hipoksik koşulların, glioma hücrelerinde *KRT18* seviyesini azalttığı bildirilmiştir (Minchenko ve ark., 2016). Çalışmamızda da, tüm derecelerde azalan *KRT18* ekspresyon seviyesi tespit edildi. Bu sonucun nedeninin, tümörlü hücrelerin çoğalması sonucunda artan hipoksik koşulla alakalı olduğu düşünülmektedir.

Premelanozom Protein geni (*PEML*), melanosit spesifik bir tip I transmembran glikoproteini kodlar. Kodlanan protein, melanositlerde melanin üreten organeller olan melanozomlarda zenginleştirilmiştir ve premelanozomların yapısal organizasyonunda önemli bir rol oynar. Bu protein, Aşama I'den Aşama II melanozomlara geçişi tanımlayan iç matris liflerinin oluşturulmasında rol oynar. Bu protein, proteinin düzgün çalışması için gerekli olan karmaşık bir posttranslasyonel işleme ve modifikasyon modeline maruz kalır. Proteolitik ekto alan atma ile salınan bu proteinin salgılanmış bir formu, melanoma spesifik bir serum markörü olarak kullanılabilir (Dean, & Lee, 2020). Melanomada *PMEL*'nin ekspresyon seviyeleri yüksektir (Park ve ark., 2017). Çalışmamızda, tüm derecelerde azalan *PMEL* ekspresyonu tespit edildi.

Melanomada Önceden Eksprese Edilen Antijen (*PRAME*), ilk olarak metastatik kutanöz melanomu olan bir hastadan türetilen tümöre reaktif T hücresi klonlarının özgülüğünün analizi yoluyla tanımlanan, tümörle ilişkili bir antijendir. Daha sonra *PRAME*'in sadece kutanöz melanomda değil, aynı zamanda oküler melanomda ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, meme karsinomu, renal hücreli karsinom, yumurtalık karsinomu, lösemi, sinovyal sarkom ve miksoid liposarkom dahil olmak üzere çeşitli melanositik olmayan malign neoplazilerde de eksprese edildiği bulundu. Normal sağlıklı dokuların testis, yumurtalık, plasenta, adrenaller ve endometriyum dışında *PRAME* ifade ettiği bilinmemektedir (Lezcano, Jungbluth, Nehal, Hollmann, & Busam, 2018). *PRAME*, farklı kanser türlerinde yüksek oranda eksprese edilir ve kanser hastalarının sonuçlarının yanı sıra hücre çoğalması, apoptoz, farklılaşma ve metastazda rol oynar (Xu, Zou, Wang, Wang, & Zhu, 2020). Fakat yüksek düzeyde *PRAME* ekspresyonunun lösemide olumlu bir prognoza sahip olduğu ve *PRAME* aşırı ekspresyonunun lösemi hücre apoptozunu arttırdığı ve S100A4'ün aşağı regülasyonu ve p53'ün yukarı regülasyonu yoluyla proliferasyonu baskıladığı bulunmuş: Böylece *PRAME*'in aşağı regülasyonun lösemide tümör büyümesini indükleyip; yüksek ekspresyon seviyesinin, akut lösemide olumlu bir prognoza sahip olabileceği bildirilmiştir (Xu ve ark., 2020). Çalışmamızda, tüm derecelerde azalan *PRAME* ekspresyonu tespit edildi. *PRAME*'in glioma rolünün araştırılıp, gliomanın gelişimi ve ilerlemesi üzerindeki etkisi belirlenmelidir.

Bir yonca alanına sahip olmasıyla karakterize edilen Trefoil peptid ailesi (Trefoil faktörler - TFF) alanı peptidleri, gastrointestinal sistemi kaplayan müsin salgılayan epitel hücreleri tarafından sentezlenir ve salgılanır. *TFF1* ilk olarak bir meme kanseri hücre hattında östrojenle indüklenebilir bir gen olarak tespit edildi. İnsan midesinde, ağırlıklı olarak mide mukozasının foveolar hücrelerinde bulunur. Önceki çalışmalar, *TFF1*'in bağırsak mukozasını deneysel olarak indüklenen hasardan korumadaki potansiyelini ortaya koydu (Leung ve ark., 2002). *TFF1* eksikliğinin, insan meme kanseri hücrelerinin tümör oluşumunu arttırdığı bildirilmiştir (Buache ve ark., 2011). Çalışmamızda, tüm derecelerde azalan *TFF1* ekspresyon seviyesi tespit edildi.

5.2. Yolak Analizleri

DEG'leri derinlemesine anlamak için, bu DEG'lerin GO işlevi ve KEGG yolak analizi gerçekleştirildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm derecelerde, ifadesi artan DEG'lerin esas olarak Nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi ve Sitokin-sitokin reseptör etkileşimi ile ilişkili olduğu bulunurken, ifadesi azalan DEG'lerin ise derece II'de Sistemik lupus eritematoz, derece III'de Tamamlayıcı ve pıhtılaşma basamakları, derece IV'de GABAerjik sinaps ile en fazla ilişkili olduğu bulundu.

Nöroaktif ligand-reseptör etkileşim sinyal yolu, hücre içi ve hücre dışı sinyal yollarıyla ilişkili plazma membranındaki reseptörler ve ligandların bir koleksiyonudur (He

ve ark., 2018). Nörotransmitter reseptörleri, liganda özgü nörotransmitterleri ve hormonları bağlamak için post-sinaptik hücrelerin yüzeyinde eksprese edilir. Ayrıca, geribildirim mekanizmaları sağlamak ve aşırı nörotransmitter salınımını azaltmak için presinaptik hücrelerde eksprese edilirler. Nörotransmitter reseptörlerinin çoğu, genellikle G-proteinlerine bağlanan yedi transmembran alanına sahip entegre membran proteinleridir. Bir ligandın kendi spesifik nörotransmitter reseptörüne bağlanması, sayısız hücre sinyali iletim yolunun aktivasyonu ve iyon kanalı homeostazının modülasyonu ile sonuçlanabilir (Lodish ve ark., 2000). Pal ve arkadaşları, yakın zamanda, kusurlu bir nöroaktif ligand-reseptör etkileşim yolu ile kombinasyon halinde GBM'ye sahip hastaların kötü prognoza sahip olduğunu göstermiştir (Pal ve ark., 2018). Çalışmamızda, tüm derecelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin yolak analizinde en fazla ilişkili çıkan yolak nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi bulundu. Derece IV'ün ekspresyonu azalan DEG'lerin yolak analizinde de ilişkili bulunurken, derece II ile karşılaştırıldığında derece IV'de ekspresyonu azalan DEG'lerin yolak analizinde de en fazla ilişkili üçüncü yolak olarak bulundu. Ek olarak, DEG'lerin PPE ağında, her derecede en yüksek skora sahip ilk 2 modülün yolak analizinde en ilişkili yolak nöroaktif ligand-reseptör etkileşimi olarak bulundu. Çalışmamız ve daha önceki çalışmalar nöroaktif ligand-reseptör etkileşiminin glioma ile ilişkisini ortaya koyarken, tam mekanizmaların anlaşılabilmesi için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sitokinler, hem doğuştan hem de adaptif enflamatuar konak savunmalarında, hücre büyümesinde, farklılaşmasında, hücre ölümünde, anjiyogenezde ve homeostazın restorasyonunu amaçlayan geliştirme ve onarım süreçlerinde görev alan hücrelerin çok önemli hücre içi düzenleyicileri ve harekete geçiricileri olan çözünür hücre dışı proteinler veya glikoproteinlerdir. Sitokinler, genellikle aktive edici bir uyarana yanıt olarak vücuttaki çeşitli hücreler tarafından salgınır ve hedef hücrelerin hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak yanıtları indüklerler. Sitokinler yapılarına göre farklı ailelere gruplanabilir ve reseptörleri benzer şekilde gruplanabilir (Boulanger, & Garcia, 2004). Sitokinler, tümörü çevreleyen mikro ortama bağlı olarak pro- veya anti-inflamatuar aktiviteye ve immünosupresif aktiviteye sahiptir. Mikro ortam, heterojen tümör hücreleri, bağışıklık hücreleri ve hücre dışı matristen oluşur. Mikro çevrenin tümör tarafından modülasyonu, büyümesi ve ilerlemesi için çok önemlidir. Sitokin üretimi, tümör mikro ortamında bir iletişim aracı görevi görür. Tümörler, bağışıklık hücreleri içerir ve kanserin gelişimi ve ilerlemesinde bir pro- ve anti-inflamatuar sitokinler ağı iş birliği yapar (Iwami, Natsume, & Wakabayashi, 2011). GBM, karakteristik bir sitokin ekspresyon modeline sahiptir ve sitokin ekspresyonundaki anormallikler gliomagenezde rol oynamaktadır. Heterojen GBM mikro ortamı içinde, tümör hücreleri, normal beyin hücreleri, bağışıklık hücreleri ve kök hücreler, karmaşık sitokin ağı aracılığıyla birbirleriyle etkileşime girer (Zhu, Yang, LeBrun, & Li, 2012). Çalışmamızda, sitokin-sitokin reseptör etkileşimi; tüm derecelerde kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin yolak analizinde en fazla ilişkili çıkan ikinci yolak ve PPE ağında, her derecede en yüksek skora sahip birinci ve dördüncü modüllerin yolak analizlerinde de ilişkili olarak bulundu. Çalışmamızda derece IV (GBM)'de diğer derecelere kıyasla sitokin-sitokin reseptör etkileşim mekanizmasına dahil olan daha fazla ekspresyonu artan gen ve daha anlamlı p değeri bulundu. Bu farkın, GBM'nin daha kötü prognoza sahip olmasına ve/veya LGG'lerin GBM'ye evrilmesine katkısı olabileceği belirlendi.

Hücre yapışma molekülleri (CAM'ler), hücre yüzeyinde ifade edilen (gliko) proteinlerdir ve hemostaz, bağışıklık tepkisi, iltihaplanma, embriyojenez ve nöronal doku gelişimini içeren çok çeşitli biyolojik süreçlerde kritik bir rol oynarlar. Ayrıca hücre-hücre yapışmaları beyin morfolojisi ve hafıza ve öğrenme gibi yüksek düzeyde koordine edilmiş beyin fonksiyonları için önemlidir. Sinir sisteminin erken gelişimi sırasında nöronlar, aksonlarını hedeflerine doğru uzatır ve hücre-hücre adezyonlarının oluşumu yoluyla sinapslar oluşturur ve sürdürürler (Elangbam, Qualls Jr, & Dahlgren, 1997). CAM'ler, hücreler arası sinyal iletimini ve iletişimi kolaylaştırmak için çevreleyen tümör mikro ortamı ile kanser kök hücreleri etkileşimi için gereklidir, bunun sonucu olarak tümör büyümesinde bir artış olur. Dört ana CAM sınıfı vardır: İntegrinler, Ig süper ailesi, selektinler ve kadherinler. CAM'ler, benzer hücre türleri ile homofilik etkileşimler veya farklı hücre türleri ile heterofilik etkileşimler oluşturarak yapışmaya aracılık eder. Bu hücre yapışma molekülleri kümeleri, hücre zarında hücre bağlantıları olarak bilinen özel bölgeler oluşturur. Bu bağlantıların üç ana sınıfı vardır: Birleşim, sıkı bağlantı ve boşluk birleşim. Bu CAM'lerden bazıları GBM'de ifade edilir ve tümör ilerlemesinde karakterize edilen işlevlere sahiptir. Kanser kök hücreleri GBM mikro ortamında bulunur ve bu hücrelerin tümör büyümesini yönlendirmesi için proliferasyona, hücre sinyalleşmesine, istilasına ve göçüne aracılık etmek için daha güçlü yapışma mekanizmalarına ihtiyaç duyarlar. Deneysel kanıtlar, CAM'lerin tümör baskılayıcılar olarak değil, tümör ilerlemesini hızlandırabildiği bir modeli desteklemektedir. Bu nedenle, hücre yapışması, kanser kök hücresi durumunun bir ayırt edici özelliği olarak düşünülebilir; bu, CAM'lerin klasik paradigmasının tümör baskılayıcıları olmasının tersidir (Turaga, & Lathia, 2016). Çalışmamızda, CAM'ler; tüm derecelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Bulgularda CAM'ler derece IV'de en anlamlı ilk 5 yolak içerisinde bulunmasa da, diğer derecelere kıyasla derece IV'de daha fazla gen ve daha anlamlı p değeri içermektedir. Sonuçlarımızda ekspresyonu artan DEG'lerin CAM'ler ile ilişkili bulunması; CAM'lerin, diğer çalışmalarda olduğu gibi tümör baskılayıcı olarak değil de tümörün ilerlemesinde rol alabileceğini desteklemektedir.

Crohn hastalığı (CD) ve ülseratif koliti (UC) içeren inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD), çevresel ve genetik faktörler, enfeksiyöz mikroplar ve düzensiz bağışıklık sistemi nedeniyle gastrointestinal sistemin kronik enflamasyonu ile karakterizedir. Flagellin,

peptidoglikan ve lipopolisakarit gibi mikrobiyal bileşenler, toll benzeri reseptörler (TLR'ler) ve nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD) proteinleri gibi reseptörler ve ayrıca genetik olarak duyarlı konakta antijen sunan hücreler (APC'ler) tarafından tanınır. Bu tanıma, birden çok gen ve yolağı etkiler (Strober, Murray, Kitani, & Watanabe, 2006; Matricon, Barnich, & Ardid, 2010). Bir çalışmada genç hastalar arasında yapılan alt grup analizleri, inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) öyküsü olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir glioma riski artışı bulunmuştur (Anssar ve ark., 2020). Ülseratif kolitli hastalar artmış serum dönüştürücü büyüme faktörü (*TGF*) - β 1 seviyeleri gösterir. Glioma hastalarında, *TGF*- β 'nın ifadesinin arttığı ve glioma başlangıcı ve proliferasyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Mikrobiyotadaki değişikliklerin beyni nasıl etkileyebileceğini açıklayabilecek diğer mekanizmalar, vagus sinirinin, nöroimmün yolların, mikrobiyal metabolitlerin ve mikrobiyal kökenli nörotransmitterlerin aktivasyonunu içerir. Örneğin, mikrobiyotadan türetilmiş kısa zincirli yağ asitleri, mikroglia olgunlaşmasını ve işlevini kontrol eder (Anssar ve ark., 2020). Çalışmamızda, IBD moleküler yolağı; tüm derecelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Örneklerin IBD öyküleri bilinmediği için net bir sonuç söylemek mümkün olmamakla birlikte, bu ilişkinin nedeninin; bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin glioma patogenezinde rol oynadığı ve/veya IBD ile gliomanın ortak moleküler mekanizmalara sahip olduğu düşünülebilir.

Tat, organizmaların toksinlerden ve sindirilemez malzemelerden kaçınırken besinleri tanımlamalarına ve tüketmelerine rehberlik eden duyuşal modalitedir. İnsanlar için bu, tatlı, umami, ekşi, tuzlu ve acıyı tanımak ve ayırt etmek anlamına gelir. Tat genellikle lezzet, koku alma ve gustasyonun birleşik duyuşal deneyimi ile karıştırılır. Tat alma sinyalleri ağız boşluğundaki duyuşal uç organlardan kaynaklanır (tat tomurcukları) ve tat tomurcuklarının epitel hücrelerinin apikal uçlarına temas eden suda çözünür bileşikler tarafından tetiklenir. Tat tomurcukları, besinleri ve diğer bileşikleri tespit eden 50-100 polarize nöroepitelyal hücrenin kümeleridir. Gen ekspresyonu ve hücreşel fonksiyonun kombine analizleri, tat alma tomurcukları içinde zarif bir hücreşel organizasyonu ortaya koymaktadır. Tat alma uyarıları, tat alma tomurcuklarındaki hücreler arasında geçen bir dizi kimyasal sinyal başlatır. Tat alma aktivasyon sırasında tat tomurcuklarındaki pozitif (pürinerjik otokrin) ve negatif (serotonerjik parakrin) geri bildirim karşı etkileri, tat tomurcuklarından arka beyine iletilen sinyalleri şekillendirmek için birleşir (Chaudhari, & Roper, 2010). Tat tomurcuklarındaki tat reseptör hücreleri, tatla ilgili bilgileri sinir sistemine iletir (Lee, & Song, 2015). Reseptör hücreleri tatları algılar, ayırt eder, kalsiyum iyon (Ca^{2+}) sinyalleri üretir ve ATP vericisini afferent sinirlere salar. Farklı reseptör hücrelerinden gelen ATP, presinaptik hücrelere yakınlaşır ve ikincil uyarım üretir, böylece tat kalitesini temsil eden sinyalleri birleştirir (Chaudhari, & Roper, 2010). Glikoz, beyin oksidatif metabolizması için gerekli bir substrattır. Beyin glukosensörleri, ortalama ateşleme oranlarını glikoz

konsantrasyonundaki değişikliklere göre modüle eden özelleşmiş nöronlardır. Tatlı tat reseptörleri ve G-proteinine bağlı reseptörün beyin glikoz sensörü ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Bu nedenle beyindeki tat benzeri sinyal mekanizmaları, homeostatik süreçlerin merkezi düzenlenmesinde rol oynayabilir (Lee, & Song, 2015). Bir çalışmada, C6 sıçan gliomasında tatlı tad reseptörlerinin ekspresyonunun arttığını gösterildi, bu da tatlı tad reseptörlerinin memeli sinir sistemindeki tümör oluşumunda önemli rol oynayabileceğini düşündürdü (Meyermann, 2011). Çalışmamızda, tat iletimi yolağı; tüm derecelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin ve PPE ağında, her derecede en yüksek skora sahip modülün yolak analizinde ilişkili olarak bulundu.

Allogreft reddi, alıcının donör dokular tarafından ifade edilen kendiliğinden olmayan antijenlere alloimmün tepkisinin bir sonucudur. Organ allogreftlerinin transplantasyonundan sonra, antijen sunumunun iki yolu vardır. Doğrudan yolda, alıcı T hücreleri, donör hücrelerin yüzeyinde ifade edilen bozulmamış allojenik MHC moleküllerine tepki verir. Bu yol, konak CD4 veya CD8 T hücrelerini etkinleştirecektir. Bunun tersine, greftten dökülen donör MHC molekülleri (ve diğer tüm proteinler), konakçı APC'ler tarafından alınabilir ve alıcı T hücrelerine, dolaylı yolak bağlamında sunulabilir. Bu tür bir sunum, ağırlıklı olarak CD4 T hücrelerini aktive eder. Greft hücrelerine doğrudan bir sitotoksik T hücre saldırısı, yalnızca greft MHC moleküllerini doğrudan tanıyan T hücreleri tarafından yapılabilir. Bununla birlikte, dolaylı allospesifikliğe sahip T hücreleri, doku hasarına ve fibroza neden olan makrofajları aktive ederek greft reddine katkıda bulunabilir ve ayrıca grefte bir alloantikor yanıtının gelişmesinde önemli olması muhtemeldir (Game, & Lechler, 2002). Allogreft reddine giden ve/veya allogreft reddi ile ortak mekanizmaları barındıran birçok moleküler yolak vardır. Bunlar arasında; apoptoz, CAM'ler, tamamlayıcı ve pıhtılaşma basamakları, antijen işleme ve sunumu, T hücre reseptörü sinyal yolu ve B hücre reseptörü sinyal yolu bulunmaktadır (Le Moine, Goldman, & Abramowicz, 2002). Hasarla ilişkili moleküler modeller (DAMP'ler), iskemi-reperfüzyon hasarından sonra olduğu gibi ölmekte olan hücrelerden salınmanın ardından allogreft reddinin tetikleyicileri olarak tanımlanmıştır (Land, Agostinis, Gasser, Garg, & Linkermann, 2016). Çalışmamızda, Allogreft reddi yolağı; tüm derecelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin ve PPE ağında, derece II ve III'de modüllerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Bu ilişkinin nedeninin; DAMP'lerin allogreft reddinin tetikleme ve/veya glioma ile allogreft reddinin ortak moleküler mekanizmalara sahip olması olabileceği düşünülmektedir.

Graft-versus-host hastalığı (GVHD), immünokompetan donör T hücrelerinin genetik olarak farklı konakçı hücrelere saldırdığı allojenik hematopoietik kök hücre transplantasyonunun (HSCT) ölümcül bir komplikasyonudur. GVHD patofizyolojisi üç aşamalı bir süreçte özetlenebilir. Aşama 1, preparatif kemoterapi veya radyoterapi rejiminin neden olduğu konak dokulardaki hasardan kaynaklanan bir enflamatuvar ortamın geliştirilmesini içerir. Hasar görmüş dokular, IL1 ve tümör nekroz faktörü (TNF) -alfa dahil

olmak üzere enflamatuar sitokinler salgılar. Aşama 2 sırasında, APC'ler, donörden türetilen T hücrelerinin aktivasyonunu tetikler, bu da daha fazla T hücresi genişlemesini neden olan, TNF-alfa ve IL-1 üretmek için sitotoksik T lenfositleri (CTL) ve doğal öldürücü (DÖ) hücreleri indükler ve ek mononükleer fagositleri başlatır. Ayrıca, nitrik oksit (NO), aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilir ve 3. aşamada görülen doku hasarına katkıda bulunabilir. Aşama 3 sırasında, efektör fazı, aktive CTL ve DÖ hücreleri, Fas-Fas ligand etkileşimleri ve perforin-granzim B yoluyla hedef konakçı hücrelere karşı sitotoksositeye aracılık eder (Ferrara, & Reddy, 2006). Allojenik hematopoietik hücre transplantasyonu (allo-HCT), hematolojik maligniteler ve diğer hematolojik ve immünolojik hastalıklar için potansiyel olarak iyileştirici bir tedavidir. Donörden türetilen bağışıklık hücreleri, hastadaki kanser hücrelerini tanımlar ve bunlara saldırarak benzersiz bir greft-tümör (GVT) etkisi oluşturur. Bu faydalı yanıt, allo-HCT'yi tümör immünoterapisinin en etkili formlarından biri haline getirir. Bununla birlikte, alloreaktif donör T hücreleri, normal konakçı hücrelere zarar verebilir ve böylece, önemli morbidite ve mortalite ile sonuçlanan GVHD'e neden olabilir (Du, & Cao, 2018). Çalışmamızda, GVHD yolağı; tüm derecelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin ve PPE ağında, derece III'de 5. modülün yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Bu ilişkinin nedeninin anlaşılabilmesi için örneklerin bağışıklık yanıtlarının daha ayrıntılı incelenmesi gerekmektedir.

Sistemik lupus eritematozus (SLE), çeşitli klinik belirtilerle birlikte DNA, nükleer proteinler ve belirli sitoplazmik bileşenler gibi kendi kendine antijenlere özgü IgG otoantikörlerinin üretimi ile karakterize prototipik bir otoimmün hastalıktır. SLE hastalarında birincil patolojik bulgular inflamasyon, vaskülit, immün kompleks birikimi ve vaskülopatidir. Otoantikör ve kendi antijeni içeren immün kompleksler, özellikle renal glomerüllerde birikir ve tamamlayıcıyı aktive ederek veya Fc gama reseptör aracılığıyla nötrofil ve makrofaj aktivasyonu yoluyla sistemik bir enflamatuar tepkiye aracılık eder. Kompleman (C5) aktivasyonu, hem membran saldırı kompleksi (C5b-9) oluşumu yoluyla hem de anafilotoksin ve hücre aktivatörü C5a üretimi yoluyla hasara yol açar. Nötrofiller ve makrofajlar, oksidanların ve proteazların salınmasıyla doku hasarına neden olur (Rahman, & Isenberg, 2008). Bağışıklık sisteminin kanser riskindeki rolü, giderek artan bir ilgi konusudur ve buna göre otoimmünite ile kanser arasındaki ilişki on yıldan fazla bir süredir incelenmektedir (Zintzaras, Voulgarelis, & Moutsopoulos, 2005). SLE ve kanseri birbirine bağlayan önerilen yollar, ilaç maruziyetleriyle olası bağlantıları ve hatta ilaçlar ve viral maruziyetler arasındaki etkileşimleri içerir. Ek olarak, doğal bağışıklık sistemi anormallikleri, SLE'de potansiyel olarak artmış kanser riskinin aracılığı olarak önerilmiştir (Bernatsky ve ark., 2013). Çalışmamızda, SLE yolağı; derece II ve IV'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin ve derece II ile karşılaştırıldığında derece III'de ekspresyonu artan DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu.

Alkole bağımlılık olarak da adlandırılan alkolizm, ilerleyici ve ciddi zararlı sağlık sonuçları olan kronik, tekrarlayan bir bozukluktur. Alkolün ödüllendirici etkilerinin birincil araçlarından biri olarak, dopaminerjik ventral tegmental alan (VTA), nükleus akkumbensine (NAc) projeksiyonlar tanımlanmıştır. Alkole akut maruz kalma, D1 reseptörlerini aktive eden, PKA sinyallemesini ve ardından CREB aracılı gen ekspresyonunu uyararak NAc'ye dopamin salınımını uyarırken, kronik alkole maruz kalma, bu yolun, özellikle CREB fonksiyonunun adaptif bir aşağı regülasyonuna yol açar. NAc'deki azalmış CREB işlevi, ödülde bir artış elde etmek için kötüye kullanım ilaçlarının alımını teşvik edebilir ve bu nedenle, pozitif duygusal bağımlılık durumlarının düzenlenmesinde rol oynayabilir. PKA sinyali ayrıca NMDA reseptör aktivitesini de etkiler ve kronik alkole maruz kalmaya yanıt olarak nöroadaptasyonda önemli bir rol oynayabilir. Alkolizmde, dopaminerjik sinaps ve MAPK sinyal yolları ile ortak moleküler mekanizmalar bulunmaktadır (Moonat, Starkman, Sakharkar, & Pandey, 2010). Çalışmamızda, Alkolizm yolağı; derece II ve IV'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin ve derece II ile karşılaştırıldığında derece III'de ekspresyonu artan DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Örneklere ait alkol alışkanlıkları, tedavi şekil ve içerikleri bilinmediği için bu ilişkinin moleküler mekanizma benzerliğinden ya da kullanılan alkol veya ilaç etkisiyle oluşabileceği düşünülmektedir.

Kalbin kasılması, kardiyak miyositlerin elektriksel olarak uyarılmasıyla başlatılan karmaşık bir süreçtir. Kalp miyositlerinde, membran depolarizasyonu üzerine voltaja bağımlı L-tipi Ca^{2+} kanallarının (DHP reseptörleri) aktivasyonu indüklenen Ca^{2+} akışı, Ca^{2+} sarkoplazmik retikulumun (SR) Ca^{2+} salım kanalları (ryanodin reseptörleri) yoluyla Ca^{2+} ile uyarılan bir Ca^{2+} salımı (CICR) mekanizması yoluyla salınımını tetikler. CICR mekanizması yoluyla salınan Ca^{2+} iyonları, troponin C'ye bağlanmak için sitosolik boşluktan kasılma proteinlerine yayılır ve bu da troponinI tarafından indüklenen inhibisyonun salınmasına neden olur. TroponinC'ye Ca^{2+} bağlanması böylece ince ve kalın filamentlerin kaymasını, yani bir çapraz köprünün aktivasyonunu ve ardından kardiyak kuvvet gelişimini ve / veya hücre kısılmasını tetikler. Geri kazanım, Ca^{2+} , Na^{+} / Ca^{2+} değiştirici (NCX) tarafından hücre dışına pompalandığında veya sarkoplazmik retikulumun (SR) bağlantı olmayan bölgesinde sarko (endo) plazmik Ca^{2+} -ATPaz (SERCA) pompaları ile SR'a geri döndürüldüğünde gerçekleşir (Endoh, 2006). Tümörler yalnızca lokal doku işlevini kesintiye uğratmakla kalmaz, aynı zamanda vücudun tüm metabolizması üzerinde ek bir sistemik etki ürettiği de gösterilmiştir. Güncel bir kanser patolojisi paradigması, ilerlemiş kanser hastalarının %50'sinden fazlasında gözlenen kanser kaşeksi gibi kanser hastalarında gözlenen paraneoplastik semptomların çoğunun merkezinde bulunan inflamatuvar süreçlere sahiptir. Ölümünün en az %20'si kısmen solunum veya kardiyak fonksiyon bozukluğuna bağlı kaşeksiden kaynaklanmaktadır (Shum ve ark., 2018). Çalışmamızda, kalp kasılması yolağı; derece II ve IV'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan

DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Gliomanın kalp üzerine etkilerinin aydınlatılması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Amino asitler, proteinlerin yapı taşlarıdır ve nükleotidler, nörotransmitterler ve porfirin gibi prostetik gruplar dahil olmak üzere diğer birçok önemli molekül için nitrojen kaynağıdır (Berg, Tymoczko, & Stryer, 2002). Tüm hücre tiplerinin hayatta kalması için hayati öneme sahip besinler olan amino asitler, kanserde yeniden programlanmış bir metabolizma yaşarlar. Biyosentezdeki rollerinin ötesinde, enerji kaynağı olarak hizmet ederler ve redoks dengesinin korunmasına yardımcı olurlar. Ek olarak, amino asit türevleri epigenetik regülasyona ve tümör oluşumuna ve metastaza bağlı immün tepkilere katkıda bulunur (Lieu, Nguyen, Rhyne, & Kim, 2020). Çalışmamızda, amino asit biyosentez yolağı; derece II ve IV'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin ve derece II ile karşılaştırıldığında derece III'de ekspresyonu artan DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Amino asit biyosentez yolağının gliomadaki mekanizmalarını daha detaylı anlamak için, bu yolağa dahil olan genlerin ayrıntılı incelenmesi gerekmektedir.

Staphylococcus aureus, yüzeysel deri enfeksiyonlarından gıda zehirlenmesine ve yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara kadar çok sayıda enfeksiyon türüne neden olabilir. Organizmanın, bağışıklık sisteminin etkinliğini başka yöne çevirmek için çeşitli yolları vardır: Kompleman aktivasyonunu ve nötrofil kemotaksisini veya lizizi inhibe eden immün modüle edici proteinler salgılamak, sitoplazmik zarının pozitif net yükünü artırarak katyonik antimikrobiyal peptitlere (defensin gibi) duyarlılığı modüle etmek ve normal bir bağışıklık tepkisinin gelişmesini engelleyen veya yutulduğunda emetik bir tepkiye neden olan süperantijenlerin ifadesi (DeDent, Kim, Missiakas, & Schneewind, 2012). Nötrofiller, konakçı bağışıklık sisteminde patojen enfeksiyonuna karşı ilk savunma hattıdır ve kanser oluşumu ve gelişimi süreçlerinde iki ucu keskin kılıç görevi görür. Nötrofil hücre dışı tuzaklarının (NET'ler) oluşumunu içeren yeni bir nötrofil programlı hücre ölümü türü, yakın zamanda konakçı doku homeostazının korunmasındaki en önemli süreçlerden biri olarak tanımlandı. Patojenlerin yakalanması ve öldürülmesi NET'lerin en önemli işlevleri olmasına rağmen, antiviral enfeksiyon, sistemik inflamatuvar yanıt, akciğer hastalığı, otoimmün hastalıklar, tromboz, tümör metastazı ve diğer fonksiyonlara da katılırlar. NET'lerin oluşumu sırasında nötrofiller, hücre ölümünün ana yolu olan miyeloperoksidaz (MPO), nötrofil elastaz (NE), DNA ve diğer moleküller gibi hücre içeriklerini yavaşça salarak hücre ölümünü başlatır. Ayrıca nötrofiller, nükleer içerikleri eksozomlar yoluyla hızlı bir şekilde salgılar ve serbest bırakır, mikroorganizmaların sindirimi için NET'ler haline gelir. Son yıllarda, giderek daha fazla çalışma NET'lerin kanser metastazına karıştığını göstermiştir. E-cadherinin (E-cad) NE aracılı degradasyonu, tüm gram-negatif bakterilerin dış zarında bulunan lipopolisakkaritlerin (LPS) uyarımı altında tümör ilerlemesini ve invazyonunu destekler. MPO, klorürü ve H₂O₂'yi katalize eder ve metabolit HOCl'nin oluşumu, tümörjenez ve metastazı teşvik eden matris metaloproteinaz 2 / 9'u aktive ederek epitel

hücre hasarını ve mutasyonu destekler. Günümüzde cerrahi tedavi, kanser hastaları için en etkili stratejilerden biridir ve çoğu kanser hastası, tedavilerinin bir parçası olarak en az bir cerrahi prosedür almaktadır. Dolaşımdaki tümör hücrelerinin artması ve bağırsak tıkanıklığı veya bakteriyel enfeksiyonlar, cerrahi tedavinin en zararlı iki yan etkisidir. Bazı ameliyatlarda, hastaların > %40 'ı, kötü tümör sonuçlarıyla ilişkili pnömoni, peritonit, sepsis veya şiddetli postoperatif enfeksiyonlardan muzdariptir. Bu nedenle postoperatif enfeksiyonlar enfeksiyon hastalıklarının yanı sıra tümörün nüksetmesine ve metastaza da neden olabilir. NET'ler tümör rezeksiyonundan sonra tespit edilebilir ve NET'lerin bolluğu tümör nüksü riskini artırır. NET'ler tarafından indüklenen kanserin bireysel periferik organlarının enflamatuvar durumu, tümör metastazına yolak açan önemli bir faktör olabilir. Ek olarak, yumurtalık tümörleri, omental nişte dolaşan tümör hücrelerinin kolonizasyonu ve hapsedilmesi için gerekli olan nötrofilleri uyarır ve NET oluşumunu teşvik eder. Pulmoner bakteriyel enfeksiyonun, dolaşımdaki tümör hücrelerini ve inflamatuvar ortamı hapseden NET'lerin oluşumuna bağlı olarak meme kanseri metastazını arttırdığı gösterildi (Qi ve ark.,2020). Çalışmamızda, tüm derecelerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin yolak analizinde *S.aureus* enfeksiyon yolağı ilişkili bulundu. Bu yolağın derecelerdeki gen sayısı ve p değeri anlamlılık oranının, dereceler ile orantılı olarak arttığı görüldü. Bu durum, glioma da NET oluşumu sonucu *S.aureus* enfeksiyon yolağı ilişkisini ve bununla orantılı olarak kanser ilerlemesi veya yayılmasına neden olabileceğini düşündürmektedir.

Kompleman sistemi, hücre dışı ortamdaki mikroorganizmalar, anormal konakçı hücreler ve modifiye edilmiş moleküller ile ilişkili moleküler modellerin tanınması üzerine aktive olan doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin temel bir unsurudur. Ortaya çıkan proteolitik kaskad, tamamlayıcı aktivatörü eliminasyon için işaretler ve bağışıklık sisteminin hem doğuştan hem de adaptif dallarından immün hücrelerin toplanmasına ve aktivasyonuna yol açan pro - inflamatuvar bir yanıtı ortaya çıkarır. Bu faaliyetler yoluyla, patojenlere karşı ilk savunma hattındaki işlevleri tamamlar, ancak aynı zamanda homeostazın sürdürülmesine ve otoimmüitenin önlenmesine önemli ölçüde katkıda bulunur (Bajic, Degn, Thiel, & Andersen, 2015). Klinik veriler kanser hastalarında kompleman aktivasyonunu göstermektedir. Kötü huylu hücreler tarafından koruyucu mekanizmaların kullanılması temelinde, kompleman aktivasyonu geleneksel olarak vücudun kansere karşı bağışıklık gözetiminin bir parçası olarak kabul edilmiştir. Kompleman aktivasyonunun inhibe edici mekanizmaları, kanser hücrelerinin kompleman aracılı eliminasyondan kaçmasına izin verir ve monoklonal antikor bazlı kanser immünoterapilerinin klinik etkinliğini engeller. Son raporlar, tamamlayıcı elemanların kronik inflamasyon bağlamında tümör büyümesini destekleyebileceğini öne sürüyor (Pio, Corrales, & Lambris, 2014). Anafilotoksin reseptörlerinin sinyalleşmesi veya membran saldırı kompleksinin bir araya gelmesi, apoptozu azaltmanın yanı sıra hücre farklılaşmasını, çoğalmasını ve göçünü teşvik eder.

Sonuç olarak, Tümör mikro ortamında kompleman aktivasyonu tümör büyümesini ve metastazı artırır (Afshar-Kharghan, 2017). GBM içindeki özel nişlerde bulunan glioma kök benzeri hücreler (GSC) kendi kendini yenileme ve tümör çoğalması yeteneğine sahiptir. Son veriler, tamamlayıcı sistemin bu hücrelerin bakımı üzerindeki etkisinin göstergesidir. Kompleman sisteminin glial tümörjenezdeki rolü, özellikle GSC nişleri ve GSC bakımı üzerindeki etkisinin önemli olduğu ve terapötik müdahaleler için daha fazla araştırmayı gerektirdiği görülmektedir (van der Vlis ve ark., 2018). Çalışmamızda, kompleman (tamamlayıcı) ve pıhtılaşma mekanizmaları; derece III ve IV'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan ve azalan DEG'lerin ve PPE ağında, derece II'de en yüksek skora sahip beşinci, derece III ve IV'de en yüksek skora sahip üçüncü modüllerin yolak analizlerinde ilişkili olarak bulundu.

Hücrelerin hücre dışı matris (ECM) ile etkileşimleri, doku yeniden modellenmesi, hücre göçü ve embriyogenezin kontrolü için gereklidir. Hücre-hücre dışı matris temas noktalarında, özel yapılar oluşturulur ve fokal adezyonlar olarak adlandırılır, burada transmembran yapışma reseptörleri, aktin hücre iskeleti ile hücre dışı matris bileşenleri arasında yapısal bir bağlantı sağlar. Çok sayıda yapısal ve düzenleyici protein, Rho'ya bağlı bir şekilde fokal adezyonların sitoplazmik yüzünde bir araya gelir (Petit, & Thiery, 2000). Fokal yapışmaları, hücre hücre iskeletini integrinler aracılığıyla ECM'ye bağlayan büyük protein kompleksleridir. İntegrinler, hücre zarından gelen sinyalleri hücrenin içine birleştirmede önemli bir rol oynayan α ve β transmembran heterodimerleri olan hücre yapışma proteinleridir (Maziveyi, & Alahari, 2017). Fokal yapışma kinaz (FAK), son zamanlarda integrinler tarafından tetiklenen sinyal iletim yollarının önemli bir bileşeni olarak kurulmuştur. FAK, sadece odaksal adezyonlarda hücre iskeleti yapılarının plastisitesine doğrudan etki etmekle kalmaz, aynı zamanda hücrelerin göç etme ve istila etme kabiliyetini dolaylı olarak değiştiren gen ekspresyonu üzerindeki etkilere de aracılık eder (Giannopoulou, Tzakos, & Argyriou, 2015). İntegrinler, büyüme faktörleri ve bunların reseptörleri ve müteakip kompleks oluşumu ile etkileşim yoluyla GBM hücrelerinin çeşitli işlevlerini (hayatta kalma, yapışma ve yer değiştirme dahil) modüle eder. VEGFR-2, PDGFR-ve EGFR ile çeşitli integrin türlerinin kompleksleri gibi farklı hücre tiplerinde benzer komplekslerin oluşumunu gösteren sağlam kanıtlar vardır. İntegrinler ve fokal adhezyon kinazların; gliomalarda anjiyogeneze ve GBM'lerin büyümesine önemli ölçüde katkıda bulunduğu ve doku biyopsilerinde GBM'de çok sayıda integrin eksprese edildiği bildirilmiştir (Giannopoulou ve ark., 2015). Çalışmamızda, fokal yapışma; derece II ve III'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin ve derece IV'de kontrol grubu, derece II ve III ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Gliomaların ilerlemesinde, integrinlerin ve fokal adhezyon kinazların rolü olduğu düşünülmektedir.

Proteoglikanlar (PG'ler), glikozaminoglikanlara (GAG'ler) kovalent olarak bağlanan ve hücre yüzeyinde, hücre dışı matrikste ve hücre içi ortamda bulunan bir "çekirdek protein" den oluşan yoğun şekilde glikosile edilmiş çeşitli proteinlerdir. Hücre dışı proteoglikanlar, hücre sinyallemesini ve göçünü kolaylaştırmada, büyüme faktörü reseptörleri, hücre içi enzimler, hücre dışı ligandlar ve matriks bileşenleri ile etkileşimin yanı sıra yapısal proteinlerle ve kanserli ortamlarda önemli tümör-mikro çevre etkileşimlerini teşvik etmede önemli roller oynarlar (Yan, & Wang, 2020). Heparan sülfat ve kondroitin sülfat proteoglikanlar (sırasıyla HSPG ve CSPG) dahil olmak üzere proteoglikanlar, hücre-mikro çevre etkileşimlerinin yanı sıra birçok sinyal yolunun aktivitesini düzenler. Bu çeşitli fonksiyonlar nedeniyle, proteoglikanlar ve onların değiştirici enzimleri, bir dizi kanserde tümörjenezde rol oynamıştır (Wade ve ark., 2013). Çalışmalarda elde edilen veriler beyin kanserinde, proteoglikanların tümör hücrelerinde çoklu onkogenik yolları düzenlediğini ve kritik tümör-mikro çevre etkileşimlerini desteklediğini göstermektedir (Wade ve ark., 2013). Çalışmamızda, kanserde PG'ler; derece II ve III'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin, derece IV'de kontrol grubu, derece II ve III ile karşılaştırıldığında ekspresyonu artan DEG'lerin ve tüm derecelerde merkez genlerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Bu nedenle, proteoglikanlar ve bunların değiştirici enzimlerinin, gliomada potansiyel olarak önemli terapötik hedefler ve biyobelirteçler olabileceği düşünülmektedir.

Tiroid hormonları (TH) triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4), tüm omurgalılarda normal gelişim, büyüme ve metabolik homeostaz için gereklidir ve tiroid bezinde sentezlenir. Tiroid bezinin fonksiyonel birimi, tek bir tiroisit tabakası ile sınırlanan foliküldür. Polarize tiroisitler foliküler lümeni sırasıyla kan dolaşımına ve lümene bakan bazal ve apikal yüzeyleri ile çevreler. Tiroid hormonlarını sentezlemek için, tiroisitler bazal tarafında iyodürü alır ve onu lümen içinde yoğunlaştırır. Ayrıca bu lümeninde hormonlar için bir depo görevi gören özel protein tiroglobulini (TG) salgırlar (Marinò, & McCluskey, 2000). TH'nin hücre farklılaşması, proliferasyonu ve sağkalımı üzerindeki düzenleyici etkisi nedeniyle hastalıkların patogeneğinde ve ilerlemesinde kritik bir rolü olabileceği kabul edilmektedir. TH sinyalindeki değişiklikler malignitelerde gözlenmiş ve hipotiroidizmin tümör invazivliğini ve metastaz gelişimini artırdığı gösterilmiştir. (Alexandros ve ark., 2011). TH'lerin kan-beyin bariyerini geçtiği bilindiğinden, T3'ün sadece beyin kanseri hücrelerinin doğrudan bir modülasyonunu uygulamakla kalmayıp aynı zamanda dolaylı olarak bir mikroglia modülasyonu yoluyla glioma büyümesini teşvik ettiğini öne sürülmektedir (Perrotta, De Palma, Clementi, & Cervia, 2015). Ayrıca gliomalı hastalarda TH düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir (Alexandros ve ark., 2011). Çalışmamızda, TH sentezi; derece II, III ve IV'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu.

Aldosteron, adrenal kortekste üretilen bir steroid hormondur. Aldosteron bir epitel hücreye girer ve MR'ye bağlanır. Aldosteron ve MR kompleksi, çekirdekte yer değiştirir ve diğerlerinin yanı sıra epitelyal sodyum kanalının (ENaC) ve serum / glukokortikoid kinazlar (SGK'ler) gibi kanalı ve taşıyıcı aktivitesini etkileyen sinyal proteinleri ve kinazlarının gen transkripsiyonunu düzenler. Bu, artmış apikal membran birikimi ve ENaC aktivitesi ile sonuçlanır, böylece sodyum geri emilimini ve ardından su geri emilimini artırır. Genomik etkilere ek olarak aldosteron, transkripsiyon ve çeviriden bağımsız hızlı etkilere sahiptir. Aldosteron, distal kıvrımlı tübüllerde sodyum klorür kotransportu (NCC), proksimal tübüllerde bikarbonat yeniden emilimi, natriürez ve iç medüller toplama kanallarında (IMCD'ler) ve diğer nefron segmentlerinde çeşitli sinyal süreçleri üzerinde hızlı etkilere sahip olabilir (Wang, Ma, Rodriguez, Klein, & Sands, 2020). Daha önce yapılan bir çalışmada; GBM'de ifadesi azalan genlerin yolak analizi, aldosteron ile düzenlenen sodyum geri emilimi ile ilişkili bulunmuştur (Chen ve ark., 2016). Çalışmamızda da, aldosteron ile düzenlenen sodyum geri emilimi; derece II, III ve IV'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Gliomada bu moleküler yolağın rolünün anlaşılabilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Gama aminobütirik asit (GABA), yetişkin memelilerde MSS hücreleri için başlıca inhibe edici nörotransmitterdir. GABA için üç farklı tipte reseptör tanımlanmıştır: iyonotropik GABAA, GABAC, ve metabotropik GABAB reseptörleri. Oligomerik klorür kanalı GABAA ve GABAC, beş alt birimden oluşan heteromerik komplekslerdir, GABAB reseptörü ise adenilil siklaza bağlı serpantin bir üyesidir. GABA reseptörleri birçok tümör dokusunda tespit edilmiştir ve kanser hücresi proliferasyonu ve göçünde düzenleyici etkiler göstermektedir. Bulgular, GABA aktivasyonunun kanser büyümesi veya göçü üzerindeki farklı etkilerinin kansere özgü veya GABA reseptör tipine bağlı olabileceğini düşündürmektedir (Jiang, Hu, Wang, Li, & Zhang, 2020). GABAerjik sinyal sistemi, çeşitli enflamatuar hastalıklara yanıt olarak bağışıklık sisteminde kritik rol oynar. GABAerjik sistemin, kanser hücrelerinin ve enflamatuar tepkinin modülasyonu yoluyla bir antitümör aktivitesini yansıtabileceğini ve dolayısıyla potansiyel terapötik hedef olarak GABAerjik sistemi işaret edebileceğini gösterir (Jiang ve ark., 2020). Çeşitli glioma hücre hatlarının GABAA reseptörlerini fazla ifade ettiği gösterilirken, bazı çalışmalarda glioblastomalarda, artmış malignitenin azalmış GABA bağlanması ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (Young, & Bordey, 2009). Çalışmamızda, GABAerjik sinaps; derece III'de kontrol grubu ile ve derece IV'de derece II ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin ve PPE ağında, derece IV'de en yüksek skora sahip beşinci modülün yolak analizinde ilişkili olarak bulundu.

Morfin, haşhaş bitki özlerinden elde edilen bir alkaloiddir. Morfin, ağrı tedavisinde oldukça etkili olmakla birlikte, yoğun bir şekilde bağımlılık yapıcı olduğu da bilinmektedir. Artık en önemli beyin ödül devresinin, orta beynin VTA dopamin içeren nöronları ve

bunların limbik ön beyindeki hedef bölgelerini, özellikle de beyin korteksinin NAc ve frontal bölgelerini içerdiğini bilinmektedir. Morfin, GABAerjik nöronların aracılık ettiği inhibe edici sinaptik iletimi azaltarak VTA dopamin nöronlarının dolaylı uyarılmasına neden olabilir. Morfinin kronik kullanımı, nöronlardaki ve nöronal iletişimdeki adaptif değişikliklerle karakterizedir; bu tür adaptasyonlar (örneğin, adenilil siklazın 'süper aktivasyonu'), morfin bağımlılığı ve yoksunluk sendromu ile ilişkili değişen davranışların yanı sıra ilaca bağlı özlem ve uyuşturucu kullanımına nüksetmenin temelini oluşturmaktadır (Shoji, Delfs, & Williams, 1999). Yapılan bir çalışmada gliomada ekspresyonu azalan DEG'ler, morfin bağımlılığı açısından zenginleştirilmiştir (Geng ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda önceki çalışmalarla korelasyonlu olarak, morfin bağımlılığı; derece III'de kontrol grubu ile ve derece IV'de derece II, III ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin ve PPE ağında, derece IV'de en yüksek skora sahip beşinci modülün yolak analizinde ilişkili olarak bulundu.

Glikoliz, glikozu piruvata dönüştürme ve küçük miktarlarda ATP (enerji) ve NADH (indirgeme gücü) oluşturma işlemidir. Önemli öncü metabolitler üreten merkezi bir yoldur. Bir başka önemli öncü metabolit olan asetil-CoA, piruvatın oksidatif dekarboksilasyonu ile üretilir. Bu yolun enzim genleri tamamen dizilenmiş genomlarda incelendiğinde, üç karbonlu bileşiklerin gliseron-P'den piruvata reaksiyon aşamaları, hemen hemen tüm organizmalarda bulunan ve bazen bakteri genomlarında operon yapıları içeren korunmuş bir çekirdek modül oluşturur. Glukoneogenez, karbonhidrat olmayan öncülerden glikoz sentez yoludur. Esasen, alternatif yolların küçük varyasyonları ile glikolizin tersine çevrilmesidir (Michal, 1999). Glioma hücrelerinde enerji üretimi için çoklu katabolik yollar kullanılır ve birçok yönden hücresel işlevi destekleyen anabolik yollarla bağlantılıdır. Örneğin; glikoliz hem enerji üretimini destekler hem de nükleik asitlerin sentezi için karbon iskeleti sağlar (Strickland, & Stoll, 2017). Çalışmamızda, glikoliz / glukoneogenez; derece II ve derece IV'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ekspresyonu azalan DEG'lerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu.

5.3. DEG'lerin GO Analizi

GO analizi sonucunda glioma derecelerinde fazla ve az ifade edilen genlerin biyolojik süreç, hücre bileşeni ve moleküler fonksiyonları belirlendi.

Biyolojik süreç, genin veya gen ürününün katkıda bulunduğu biyolojik bir hedefi ifade eder. Bir işlem, bir veya daha fazla sıralı moleküler fonksiyonlar düzeneği aracılığıyla gerçekleştirilir. Süreçler genellikle bir şeyin bir sürece girmesi ve ondan farklı bir şeyin çıkması anlamında kimyasal veya fiziksel bir dönüşümü içerir (Ashburner ve ark., 2000). Çalışmamızda, ekspresyonu artan DEG'lerin Go analiz sonuçlarında Biyolojik süreç; tüm derecelerde G proteinine bağlı reseptör sinyal yolu, hücre-hücre sinyali ve iltihaplı cevap ile en fazla ilişkilendirilirken, derece II ve III'de kimyasal sinaptik iletim, derece III ve IV'de

Bağıışıklık tepkisi, derece II'de hücre yüzeyi reseptör sinyal yolu ve derece IV'de sitokin aracılı sinyal yolu en fazla ilişkilendirildi. Biyolojik süreç ekspresyonu azalan DEG'lerin Go analiz sonuçlarında ise: Tüm derecelerde ilaca cevap; derece III ve IV'de trigliserid katabolik süreç ve retinoid metabolik süreç; derece II'de hücre-hücre yapışması, kardeş kromatid kohezyonu, hücre bölünmesi ve mitotik kardeş kromatid ayrımı; derece III'de endopeptidaz aktivitesinin negatif düzenlenmesi ve östrojene cevap; derece IV'de uzun vadeli sinaptik güçlenme ve glukoneogenez ile en fazla ilişkilendirildi. Sonuçlar, genel olarak gliomanın oluşması ve ilerlemesinde rolü olan genlerin biyolojik süreç bakımından sinyal iletim mekanizmalarında etkili olduğunu belirlendi. Ek olarak, hücre çoğalmasında rol alan genlerin derece II'nin, metabolik süreçlerde rol alan genlerin ise derece III ve IV'ün ilerlemesinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Hücrenel bileşen, bir gen ürününün aktif olduğu hücre içindeki yeri ifade eder. Bu terimler ökaryotik hücre yapısı anlayışımızı yansıtır (Ashburner ve ark., 2000). Çalışmamızda, ekspresyonu artan DEG'lerin Go analiz sonuçlarında hücrenel bileşen tüm derecelerde; plazma zarının ayrılmaz bileşeni, hücre zarı, zarın ayrılmaz bileşeni, hücre dışı bölge ve hücre dışı boşluk ile en fazla ilişkilendirildi. Hücrenel bileşen ekspresyonu azalan DEG'lerin Go analiz sonuçlarında ise: Tüm derecelerde hücre dışı boşluk ve hücre dışı eksozom; derece II ve III'de sitoplazma; derece II'de sitozol ve nükleozom; derece III'de endoplazmik retikulum lümeni ve bazolateral plazma zarı; derece IV'de ise plazma zarının ayrılmaz bileşeni, hücre zarı ve hücre birleşimi ile en fazla ilişkilendirildi. Sonuçlar, gliomada rol oynayan genlerin tümörün çoğalmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Moleküler fonksiyon, bir gen ürününün biyokimyasal aktivitesi (ligandlara veya yapılaraya spesifik bağlanma dahil) olarak tanımlanır. Bu tanım aynı zamanda bir gen ürününün (veya gen ürünü kompleksinin) potansiyel olarak taşıdığı kabiliyet için de geçerlidir. Yalnızca olayın nerede ve ne zaman meydana geldiğini belirtmeden ne yapıldığını açıklar (Ashburner ve ark., 2000). Çalışmamızda, ekspresyonu artan DEG'lerin Go analiz sonuçlarında moleküler fonksiyon; tüm derecelerde G proteinine bağlı reseptör aktivitesi, sitokin aktivitesi ve kalsiyum iyonu bağlama; derece II ve III'de acı tat reseptör aktivitesi; derece II'de voltaj kapılı potasyum kanalı aktivitesi; derece III'de hormon aktivitesi; derece IV'de reseptör aktivitesi ve büyüme faktörü aktivitesi ile en fazla ilişkilendirildi. Moleküler fonksiyon ekspresyonu azalan DEG'lerin Go analiz sonuçlarında ise: Derece II ve III'de protein bağlama ve bakır iyon bağlayıcı; derece II ve IV'de protein heterodimerizasyon aktivitesi; derece III ve IV'de serin tipi endopeptidaz inhibitör aktivitesi; derece II'de hücre-hücre yapışmasında rol oynayan kadherin bağlanması ve integrin bağlama; derece III'de endopeptidaz inhibitör aktivitesi ve ATP bağlama; derece IV'de GABA kapılı klorür iyon kanalı aktivitesi, GABA-A reseptör aktivitesi ve miyelin kılıfın yapısal bileşeni ile en fazla ilişkilendirildi.

5.4.Merkez Genler

Çalışmamızda, her derecede PPE ağındaki çekirdek düğümlerde bulunan ve daha yüksek düzeyde bağlantıya sahip 15 gen merkez gen olarak seçildi. Tüm derecelerde; *ALB*, *EGFR*, *GNGT1*, *INS*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *TNF*, *TP53* ve *VEGFA* merkez gen olarak belirlendi. Ek olarak, derece II ve III'de *CXCL8* ve *FN1*; derece II ve IV'de *IL10*; derece III ve IV'de *IL6*; derece II'de *GAPDH* ve *KNG1*; derece III'de *GNG7* ve *MAPK1*; derece IV de *EGF*, *GNG13* ve *STAT3* merkez genler olarak belirlendi.

ALB, kan plazmasının ana proteini ve toplam proteininin %60 ila 65'ini oluşturur. *ALB*'nin temel işlevleri, kanın dolaşım içinde kalmasına yardımcı olan onkotik basıncı desteklemek ve vücuttaki birçok metabolitin, özellikle daha az çözünür olan hidrofobik olanları almak ve taşımaktır. Aynı zamanda dolaşımda bulunan önemli bir antioksidandır ve enzimatik özelliklere sahiptir (Minchiotti, Galliano, Kragh-Hansen, & Peters Jr, 2008). Serum *ALB* düzeyi, hastaların beslenme durumunun güvenilir ve kullanışlı bir belirteçidir ve glioblastomda prognostik bir belirteç olarak tanımlanmıştır (Han, Huang, Li, Hou, & Wu, 2015). Çalışmamızda, tüm derecelerde kontrol grubuna kıyasla önemli oranda düşük *ALB* gen ekspresyonu tespit edildi.

EGFR ve ligandları, hücre proliferasyonu, farklılaşması, hareketliliği ve hayatta kalması ve doku gelişimi dahil olmak üzere çeşitli hücre fonksiyonlarında rol oynayan hücre sinyal molekülleridir (Wang, Yamamoto, Chin, Werb, & Vu, 2004). *EGFR*, çeşitli kanser türlerinde yüksek seviyelerde ifade edilir ve kanser patogenezinde ve tedaviye dirençte anormal *EGFR* sinyalleşmesinin nedensel bir rolünü destekleyen önemli deneysel kanıtlar vardır. *EGFR* gen amplifikasyonu ve aşırı ekspresyon, GBM çarpıcı bir özelliğidir, ancak düşük dereceli gliomalarda nadirdir (Hatanpaa, Burma, Zhao, & Habib, 2010). Çalışmamızda, tüm derecelerde artmış *EGFR* ekspresyonu gözlemlendi. Sonuçlar, *EGFR*'nin sadece GBM'de değil düşük dereceli gliomalarda da biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Heterotrimerik guanin nükleotid bağlayıcı proteinler (G proteinleri), transmembran reseptörler tarafından alınan hücre dışı sinyalleri efektör proteinlere dönüştürür. Transdüsün, spesifik olarak çubuk dış bölümlerinde bulunan bir guanin nükleotid bağlayıcı proteindir ve burada, siklik bir GTP'ye özgü (guanozin monofosfat) fosfodiesterazın rodopsin tarafından aktivasyonuna aracılık eder. Transducin ayrıca GMPase olarak da anılır. *GNGT1*, transdüsünün gama alt birimini kodlar (Scherer, Feinstein, Oliveira, Tsui, & Pittler, 1996). Çalışmamızda, tüm derecelerde azalmış *GNGT1* ekspresyonu gözlemlendi. *GNGT1*'in G protein alt birimini oluşturmasından dolayı bu sonuçların sinyal iletimi üzerindeki etkisinin gliomada rolü olduğu düşünüldü. Tam mekanizmaların anlaşılabilmesi için *GNGT1*'in aşağı regülasyonunun sinyal iletiminde pozitif veya negatif etkileri ayrıntılı incelenmelidir.

İnsülin, Langerhans'ın pankreatik adacıklarının β hücreleri tarafından salgılanan bir peptid hormonudur ve hücresele glukoz alımını kolaylaştırarak, karbonhidrat, lipid ve protein

metabolizmasını düzenleyerek ve mitojenik etkileriyle hücre bölünmesini ve büyümesini teşvik ederek normal kan şekeri seviyelerini korur (Wilcox, 2005). Son kanıtlar, insülin'in, tümör hücresi proliferasyonunun arttırılmasında tirozin kinaz büyüme faktörü kaskadıyla hareket eden önemli büyüme faktörleri olarak rolünü desteklemektedir (Boyd, 2003). Çalışmamızda *INS*, tüm derecelerde ekspresyonu artmış ve en çok bağlantıya sahip merkez gen olarak bulundu. Sonuçlar, insülinin hücre sel glikoz alınımını kolaylaştırıp, hücreyi büyüme ve bölünmeye teşvik ederek gliomanın ilerlemesine katkıda bulunduğu ve gliomada kötü prognozla ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

MYC protoonkogen etkinleştiren ve baskılayabilen DNA bağlayıcı bir transkripsiyon faktörünü şifreler. Bu mekanizma aracılığıyla *MYC*, hücre büyümesi ve hücre döngüsü ilerlemesi dahil olmak üzere temel hücre sel fonksiyonları kontrol eden çok sayıda hedef genin ekspresyonunu düzenler. *MYC*, DNA replikasyonunda da kritik bir role sahiptir. Çeşitli tiplerdeki genetik değişikliklerden kaynaklanan düzensiz *MYC* ekspresyonu, çeşitli kanserlerde yapıcı *MYC* aktivitesine yol açar ve onkogenezi destekler (Dominguez-Sola ve ark., 2007). *Myc* proteinlerinin gliomada amplifiye edildiği veya aşırı eksprese edildiği birçok rapor vardır (Swartling, 2012). Çalışmamızda önceki çalışmalar ile korelasyonlu olarak, tüm derecelerde artmış *MYC* ekspresyonu gözlemlendi.

Notch proteinleri, vasküler sistemdeki arteriyel ve venöz farklılaşması ve bağışıklık sisteminde T hücresine karşı B hücresi gelişimi dahil, gelişim sırasında hücre kaderi kararlarını düzenleyen tek geçişli bir transmembran reseptör ailesidir. Notch sinyallemesinin kaybı veya aşırı Notch sinyallemesi embriyonik ölümcül fenotiplere yol açtığından, uygun Notch sinyalleme seviyeleri normal gelişim için kritiktir. Ek olarak, birkaç Notch proteininin anormal aktivasyonu, insan T hücresi akut lenfoblastik lösemilerinin (T-ALL) bir alt kümesi dahil olmak üzere tümörjenez ile ilişkilidir (Das ve ark., 2004). *NOTCH1*, farklı tümörlerde tümör promotörü veya baskılayıcı olarak işlev görebilir (Hai ve ark., 2018). *NOTCH1*'in GBM'de etkisi anlamak için yapılan bir çalışmada gliomalı dokularda neoplastik olmayan beyin dokularından daha yüksek *NOTCH1* ekspresyonu olduğunu ve *NOTCH1*'i hedeflemenin, glioma hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını bastırdığı, bunun da *NOTCH1*'in GBM'de bir tümör promotörü olarak hareket ettiğini gösterilmiştir (Ha ve ark., 2018). Çalışmamızda, tüm derecelerde artmış *NOTCH1* ekspresyonu gözlemlendi. Bu da, önceki çalışmalarda olduğu gibi *NOTCH1*'in GBM'de tümör promotörü olduğunu desteklemektedir.

İnsan c-Src, *SRC* geni tarafından kodlanan 60 kDa'lık reseptör olmayan bir tirozin kinazdır ve güçlü dönüşen v-Src viral onkogenine hücre sel homologdur. c-Src, hücre sel çoğalmayı, farklılaşmayı, hareketliliği ve hayatta kalmayı etkileyen çok çeşitli sinyal iletimi kademelerinin merkezinde işlev görür. c-Src aktivasyonu, kolon, karaciğer, akciğer, göğüs ve pankreastan türetilen tümörlerin %50'sinin yukarısında belgelenmiştir (Dehm, & Bonham, 2004). Src ailesi kinazların (SFK'ların), klinik GBM örneklerinde yüksek oranda

ifade edilip, aktif olduğu ve SFK inhibitörlerinin glioma hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü inhibe ettiği gösterilmiştir (Han ve ark., 2014). Çalışmamızda da *SRC* geni tüm glioma derecelerinde yüksek oranda ifade edildiği bulundu.

TNF, lipid metabolizması, pıhtılaşma, insülin direnci ve endotel fonksiyonu üzerinde etkileri olan, ağırlıklı olarak monositler / makrofajlar tarafından salgılanan çok fonksiyonlu proinflamatuvar bir sitokindir (Pennica ve ark., 1984). *TNF*'nin GBM hücrelerinde ifadesinin arttığı, *TNF* ve ilişkili reseptör süper ailesinin GBM'nin gelişiminde de önemli roller oynadığını önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Xie, Yuan, Li, Li, & Lu, 2021). Çalışmamızda da, önceki çalışmalar ile uyumlu olarak, tüm derecelerde artmış *TNF* ekspresyonu gözlemlendi.

Transkripsiyon faktörü p53, hücre döngüsü durmasını, apoptozu, yaşlanmayı, DNA onarımını veya metabolizmadaki değişiklikleri indükleyen hedef genleri düzenlemek için çeşitli hücresel streslere yanıt verir. Ek olarak, p53'ün, transkripsiyonel olmayan sitoplazmik süreçler yoluyla apoptozu indüklediği görülmektedir. Strese maruz kalmamış hücrelerde p53, esasen p53 transkripsiyonel aktivitesini inhibe eden ve parçalanmasını desteklemek için p53'ü ubiquitinleştiren ubiquitin ligaz *MDM2*'nin hareketleriyle inaktif tutulur. P53, hücre homeostazın sürdürülmesinde merkezi bir rol oynar ve kanserde sıklıkla düzensizdir. Protein, hücre çoğalmasını, hayatta kalmasını, genom bütünlüğünü ve diğer işlevleri kontrol eden bir düzenleyici ağın merkezinde konumlandırılmıştır. Bir transkripsiyonel düzenleyici olarak işlev gören p53, stres sinyallerini entegre eder ve hasarlı hücrelerin yayılmasını önlemek için hücre döngüsü durmasını, yaşlanmayı ve apoptozu teşvik eder (Zhang ve ark., 2018). Çoğu tümör baskılayıcıdan farklı olarak *TP53*, GBM'de nadiren silinir. GBM'deki *TP53* değişikliklerinin çoğu, DNA bağlanma alanında yanlış anlamlı mutasyonlar olup, transkripsiyon faktörü aktivitesinin inhibisyonuna yol açar. Önemli olarak, mut-p53 proteini, GBM'de yüksek oranda ifade edilir ve çok sayıda çalışma, mutant p53'ün, normal p53 kaybı yoluyla edinilenlerin ötesinde onkojenik fonksiyonlara sahip olduğunu göstermiştir (Zhang ve ark., 2018). Çalışmamızda *TP53* gen ekspresyonu tüm derecelerde artmış olarak bulundu.

Vasküler endotelial büyüme faktörü, in vivo anjiyogenezi indükleyebilen vasküler endotelial hücrelere spesifik heparin bağlayıcı bir büyüme faktörüdür (Leung, Cachianes, Kuang, Goeddel, & Ferrara, 1989). *VEGFA* geni, anjiyojenik faktörleri kodlayabilir ve ürünleri, endotel hücrelerinin mikro ortamını değiştirebilir ve anjiyogenezi teşvik edebilir. Çok sayıda tümörde, *VEGFA*'nın gen ekspresyon ürünleri yalnızca tümör büyümesini, metastazı ve hayatta kalmayı uyarmakla kalmaz, aynı zamanda hemopoietik hücreleri, endotel hücrelerini ve nöronal hücreleri de uyarır. GBM'nin kan damarları açısından zengin bir tümör türü olduğu ve *VEGFA*'nın kanserde ifadesinin artan seviyelerde olduğu gösterilmiştir. (Luo ve ark., 2019). Çalışmamızda *VEGFA* geni ekspresyonu, derece II ve III'de azalmış, derece IV'de artmış olarak bulundu. GBM'de artmış ekspresyon seviyeleri, tümörün metastazik özelliği ile bağlantılı bulunurken; düşük dereceli gliomalarda azalmış

ekspresyon seviyelerinin tümör üzerindeki etkisinin anlaşılabilmesi için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

IL8, CXC kemokin ailesinin bir üyesidir. Bu küçük temel heparin bağlayıcı proteinler proinflamatuardır ve esas olarak nötrofillerin periferik kandan dokuya aktive olmasına ve göç etmesine aracılık eder (Hull ve ark., 2001). Daha önce yapılan bir çalışmada, yüksek *CXCL8* seviyelerinin EMT'yi indükleyip, HIF-1 α / Snail sinyal ekseninin aktivasyonu yoluyla tümör hücresi proliferasyonunu, göçünü ve istilasını artırdığı ve glioma hastaları için zayıf bir prognostik gösterge olduğu bulunmuştur (Chen ve ark., 2019). Çalışmamızda önceki çalışmanın aksine *CXCL8* geninde, derece II ve III'de azalmış ekspresyon seviyeleri gözlemlendi. Bu sonucun nedeninin anlaşılması için, *CXCL8*'in glioma ilerlemesindeki rolü tam olarak aydınlatılması gerekmektedir.

Fibronektin (FN)-1, hücre yüzeylerinde, hücre dışı sıvılarda, bağ dokularında ve bazal membranlarda bulunan yüksek moleküler ağırlıklı glikoproteinler ailesine aittir. FN'ler, diğer hücre dışı matris proteinleri ve kolajen, fibrin ve integrinler gibi hücreli ligandlarla etkileşime girer. FN'ler, hücrelerin yapışkan ve göçmen süreçlerinde rol oynar (Muro ve ark., 2003). *FNI* gen ekspresyonunun, glioma dokularında normal dokulara göre daha yüksek olduğu bilinmektedir (Liao, Zhang, Zhao, & Liu, 2018). Çalışmamızda, derece II ve III'de *FNI* gen ekspresyonu azalmış olarak bulundu.

IL10, aktive edilmiş bağışıklık hücreleri tarafından üretilen önemli bir antiinflamatuvar sitokindir. Bağışıklık tepkilerinin kontrolünde kritik rol oynar (Ip, Hoshi, Shouval, Snapper, & Medzhitov, 2017). İnsan beyin tümöründe *IL10*, insan gliomasında aşırı eksprese edilir ve aşırı ekspresyonu, glioma hücre proliferasyonunu ve hareketliliğini artırır ve tümör oluşumunu destekler (Zhang ve ark., 2019). Çalışmamızda, tüm derecelerde artmış *IL10* ekspresyonu tespit edildi.

IL6, birçok hücre soyunda hücre büyümesini, farklılaşmasını ve hücreli işlevleri düzenleyen çok işlevli bir sitokindir (Menziani, Fanelli, & De Benedetti, 1997). Dolaşan sitokin *IL6*'nın anormal üretimi ve sinyali, GBM dahil birçok kanser tipinde tümör oluşumu ve kötü hastalık sonucu ile sıkı bir şekilde bağlantılıdır. GBM örnekleri, kontrol beyinleri ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha yüksek *IL6* protein seviyeleri içerdiği ve daha yüksek *IL6* mRNA'nın, zayıf GBM hasta sağkalımı ile ilişkilendirildiği bilinmektedir (Wang ve ark., 2009). Bu verilerle tutarlı olarak, çalışmamızda tüm derecelerde *IL6* ekspresyonu artmış olarak bulundu.

Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz (*GAPDH*), spesifik olarak gliseraldehit-3-fosfatın (G-3-P) 1,3-difosfogliserata tersine çevrilebilir dönüşümünü katalize eden bir glikolitik enzimdir. *GAPDH*, glikolitik etkilere ek olarak çok sayıda hücreli fonksiyona katılır. Örneğin, *GAPDH* nükleer tRNA ihracatına, DNA replikasyonuna ve onarımına, endositoza, ekzositoza, sitoskeletal organizasyona, demir metabolizmasına, karsinogeneze ve hücre ölümüne katkıda bulunur. Pek çok insan kanser tipinde dikkate değer şekilde artmış *GAPDH*

seviyeleri gözlenir ve genellikle azalmış hayatta kalma ile ilişkilidir (Zhang ve ark., 2015). Glioma hücreleri üzerine yapılan bir araştırmada, asetillenmiş histonu arttıran histon deasetilaz (HDAC) inhibitörü 4-fenilbutiratın (4-PB), *GAPDH*'nin mRNA seviyesini bastırıp ve apoptozu indüklediği bulunmuştur. (Appelskog ve ark., 2004). Çalışmamızda derece II'de *GAPDH* ekspresyon azalmış olarak tespit edildi. Azalmış *GAPDH* ekspresyon seviyesinin literatürdeki bilgiler doğrultusunda HADC4-PB'den kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Kininojen-1 (*KNG1*) geni, iki farklı protein üretmek için alternatif birleştirme kullanır: Yüksek moleküler ağırlıklı kininojen (HMWK) ve düşük moleküler ağırlıklı kininojen (LMWK) (Merkulov ve ark., 2008). *KNG1*, antianjiyojenik etki ve endotel hücrelerinin proliferasyonu üzerinde inhibe edici özellik gösterebilir. *KNG1*, karsinogenezde önemli bir rol oynar. Kanser hastalarından alınan kan örneklerindeki düşük *KNG1* seviyeleri, kanser hücrelerinin canlılığı için uygun olabilir ve *KNG1* aşırı ekspresyonunun glioma hücrelerinde anti-anjiyogenez etkisi uygulayıp, glioma hücrelerinin apoptozunu destekleyebileceği düşünülmektedir (Xu ve ark., 2018). Çalışmamızda önceki çalışmaların aksine, tüm derecelerde *KNG1* ekspresyon seviyesi artmış olarak bulunup, bu zıtlığının nedeninin aydınlatılması için *KNG1* geninin glioma üzerindeki etkisinin ayrıntılı incelenmesi gerekmektedir.

Guanin nükleotid bağlayıcı protein 7 (*GNG7*), transmembran sinyal yollarında rol oynayan GTPaz aktivitesine sahip büyük G proteini gama ailesine ait bir gendir. Pankreas ve gastrointestinal kanserlerinde *GNG7*'nin aşağı regülasyonu bildirilmiştir (Hartmann ve ark., 2012). Çoğu kanser türünde *GNG7*'nin aşağı regülasyonu doğrulanmış olsa da, çalışmamızda *GNG7* derece III gliomada ifadesi artmış olarak bulundu. *GNG7*'nin gliomada sinyal iletimi üzerine pozitif ve negatif etkilerinin incelenmesi gerekmektedir.

Mitojenle aktive olan protein kinaz 1 (*MAPK1*), MAP kinaz ailesine ait bir proteini kodlayan bir gendir. Protein, proliferasyon, farklılaşma, transkripsiyonel düzenleme ve hücre gelişim gibi çeşitli hücre sinyalleşme süreçlerinde işlev görür (Li, Tuergan, & Abulizi, 2015). Gliomada *MAPK1* üzerine yeterli çalışma olmamakla birlikte diğer birçok kanser türünde artmış ekspresyon tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise derece III'de azalmış *MAPK1* ekspresyonu gözlemlendi. *MAPK1*'in glioma üzerine etkisinin aydınlatılması gerekmektedir.

Epidermal büyüme faktörü (*EGF*), in vivo olarak spesifik hücrelerin farklılaşması üzerinde derin bir etkiye sahiptir ve hem ektodermal hem de mezodermal kaynaklı çeşitli kültürlenmiş hücreler için güçlü bir mitojenik faktördür (Carpenter, & Cohen, 1979). Bir mitojen olarak *EGF*, DNA sentezini ve hücre proliferasyonu aktive edebilir ve ayrıca epidermal dokunun anjiyogenezinde rol oynar. *EGF* aşırı ekspresyonu, hücre farklılaşmasını ve proliferasyonunu artırabilir, apoptozu inhibe edebilir ve meme kanseri dahil birçok tümör tipinde kanser hücrelerinin istilasını artırabilir (Wang ve ark., 2008). Çalışmamızda, derece

IV'de *EGF* ekspresyonu artmış olarak tespit edildi. Düşük derece gliomalarda normal seviyelerde olan *EGF*'nin, GBM'de artan seviyede olmasının, kötü prognoz ve metastaz ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Guanin nükleotit bağlayıcı protein, Gamma 13 (*GNG13*), tat, retina ve nöronal dokularda ifade edilen ve tat iletiminde anahtar rol oynayan bir gama alt birimidir. *GNG13*'ün artan ekspresyonu, gastrointestinal kanserlerinde düşük sağkalım oranları ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Ju ve ark., 2020). Çalışmamızda derece IV'de *GNG13* artan seviyelerde tespit edildi. Bu sonuç, *GNG13*'ün gliomada da kötü prognoz ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatör 3 (*STAT3*) geni, gen ekspresyonunda sitokinin neden olduğu değişikliklere aracılık etmede kritik bir rol oynayan bir transkripsiyon faktörünü kodlar (Milner ve ark., 2015). Nöral kök hücre bakımını ve bunların astrositlere farklılaşmasını kontrol eden mekanizmaların aydınlatılmasında ilerleme kaydedilmiştir. Çalışmalar; transkripsiyon faktörünün *STAT3*'ün nöral kök hücre ve astrosit gelişiminde merkezi bir rol oynadığını ortaya çıkarmış ve sinir sistemi içinde *STAT3* sinyalinin, astrosit farklılaşmasında öğretici bir rol oynadığını göstermektedir (la Iglesia, Puram, & Bonni, 2009). Çalışmamızda derece III ve IV'de *STAT3* ekspresyonu artan seviyelerde tespit edildi.

5.5.Merkez Genlerin KEGG Yolak Analizi

Her dereceye ait merkez genlerin etki mekanizmalarını anlamak için, KEGG yolak analizi gerçekleştirildi. Analiz sonucunda merkez genlerin: Tüm derecelerde; mesane kanseri, kanserde PG'ler, PI3K-Akt sinyal yolu, Kanser yolağı ve HIF-1 sinyal yolu ile; derece II ve III'de Hepatit B ve derece IV'de FoxO sinyal yolu ile en fazla ilişkili olduğu bulundu.

Ürotelyum, renal pelvisten üreter ve mesaneden proksimal üretraya uzanan neredeyse tüm idrar yolunun lümen yüzeyini kaplar. Ürotelyal karsinomun çoğunluğu mesane karsinomlarıdır ve renal pelvis ve üreterin ürotelyal karsinomları toplamın sadece yaklaşık %7'sini oluşturur. Ürotelyal tümörler, farklı fenotipik yollarla ortaya çıkar ve gelişir. Bazı tümörler ürotelyal hiperplaziden düşük dereceli invazif olmayan yüzeysel papiller tümörlere ilerler. Daha agresif varyantlar ya düz, yüksek dereceli karsinoma in situ (CIS) ve invaziv tümörlere ilerlemesinden kaynaklanır ya da invaziv tümörler olarak de novo ortaya çıkar. Düşük dereceli papiller tümörler, *HRAS* ve fibroblast büyüme faktörü reseptör 3 (*FGFR3*) genlerinde aktive edici mutasyonlar sergileyen, sıklıkla reseptör tirozin kinaz-Ras yolağının yapısal aktivasyonunu gösterir. Bunun aksine, CIS ve invaziv tümörler, *TP53* ve *RB* genlerinde ve yolaklarında sıklıkla değişiklikler gösterir. İnvazyon ve metastazlar, E-kaderinlerin anormal ekspresyonu, matris metaloproteinazlar (MMP'ler), vasküler endotelyal büyüme faktörü gibi anjiyojenik faktörler dahil olmak üzere tümör mikro

ortamını değiştiren birkaç faktör tarafından teşvik edilir (Mitra, Datar, & Cote, 2006). Çalışmamızda, mesane kanseri yolağı, tüm derecelerde merkez genlerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Bu sonuç, mesane kanseri ile glioma arasında ortak moleküler mekanizmaların olduğunu düşündürmektedir.

PG'ler, hücre yüzeyinde, hücre dışı matrikste ve hücre içi ortamda bulunan yoğun şekilde glikosile edilmiş çeşitli proteinlerdir. Hücre dışı PGler, hücre sinyallemesini ve göçünü kolaylaştırmada, büyüme faktörü reseptörleri, hücre içi enzimler, hücre dışı ligandlar ve matriks bileşenleri ile etkileşimin yanı sıra yapısal proteinlerle ve kanserli ortamlarda önemli tümör-mikro çevre etkileşimlerini teşvik etmede önemli roller oynarlar (Yan, & Wang, 2020). Çalışmalarda elde edilen veriler beyin kanserinde, proteoglikanların tümör hücrelerinde çoklu onkojenik yolları düzenlediğini ve kritik tümör-mikro çevre etkileşimlerini desteklediğini göstermektedir (Wade ve ark., 2013). Çalışmamızda, kanserde PG'ler, tüm derecelerde merkez genlerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Bu nedenle, proteoglikanların, gliomada potansiyel olarak önemli terapötik hedefler ve biyobelirteçler olabileceği düşünüldü.

Fosfatidilinozitol 3'-kinaz (PI3K) -Akt sinyal yolu, birçok hücre sel uyarı veya toksik saldırı tipi tarafından aktive edilir ve transkripsiyon, translasyon, proliferasyon, büyüme ve hayatta kalma gibi temel hücre sel fonksiyonları düzenler. Büyüme faktörlerinin kendi reseptör tirozin kinazına (RTK) veya GPCR bağlanması, sırasıyla sınıf Ia ve Ib PI3K izoformlarını uyarır. PI3K, hücre zarında fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat (PIP3) üretimini katalize eder. PIP3 sırayla Akt'yi etkinleştirmeye yardımcı olan ikinci bir haberci görevi görür. Aktif olduktan sonra Akt, apoptoz, protein sentezi, metabolizma ve hücre döngüsünde yer alan substratları fosforile ederek temel hücre sel süreçleri kontrol edebilir (Osaki, Oshimura, & Ito, 2004). Çalışmamızda, PI3K-Akt sinyal yolu, tüm derecelerde merkez genlerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Akt inhibisyonunun dolayısıyla PI3K-Akt sinyal yolu modülasyonunun, gliomada potansiyel terapötik hedef olabileceği düşünüldü.

Kansere neden olan 250'nin üzerinde gen tanımlanmış ve bu genlerin dahil olduğu çeşitli moleküler mekanizmaların insan kanserlerine sebep olduğu düşünülmektedir. Bu moleküler yolaklar aynı zamanda normal hücrelerinde akıbetini, proliferasyonunu, yaşamını, farklılaşmasını ve fonksiyonunu düzenleyen sistemlerdir (Pazarbaşı, Kasap, & Kasap, 2011). Kanser yolağı; ERK sinyal yolağı, PI3K sinyal yolağı, RAS sinyal yolağı, WNT sinyal yolağı, NOTCH sinyal yolağı, HH sinyal yolağı, TGFB sinyal yolağı, JAK-STAT sinyal yolağı, kalsiyum sinyal yolağı, HIF-1 sinyal yolağı, KEAP1-NRF2 sinyal yolağı, nükleer sinyal yolağı, G1/S hücre döngüsü, apoptoz ve telomeraz aktivitesi gibi yolakları kapsayan geniş bir ağı simgeler. Kanser hücrelerinde, kontrolsüz proliferasyon, farklılaşmanın bloke edilmesi, azalmış apoptoz, değişmiş doku yapısı gibi kanser hücrelerinin karakteristik özelliklerine neden olmak üzere bu yolakların aktivitesi artmış

veya inaktive edilmiştir (Pazarbaşı ve ark., 2011). Çalışmamızda, Kanseri yolağı, tüm derecelerde merkez genlerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu.

Hipoksi ile indüklenbilir faktör 1 (HIF-1), oksijen homeostazının ana düzenleyicisi olarak işlev gören bir transkripsiyon faktörüdür. İki alt birimden oluşur: indüklenbilir olarak ifade edilen bir HIF-1 alfa alt birimi ve yapısal olarak ifade edilen bir HIF-1 beta alt birimi. Normoksi altında, HIF-1 alfa, spesifik prolin kalıntılarında hidroksilasyona uğrar ve bu da, ani bir ubiquitinasyona ve ardından alt birimin proteazomal bozunmasına yol açar. Tersine, hipoksi altında, HIF-1 alfa alt birimi stabil hale gelir ve transkripsiyonel aktivitesini modüle etmek için p300 / CBP gibi ortak aktifleştiricilerle etkileşime girer. Sonunda, HIF-1, hipoksik koşullar altında çok sayıda hipoksi ile indüklenbilir genin ana düzenleyicisi olarak hareket eder. HIF-1'in hedef genleri, oksijen dağıtımını artıran ve oksijen yoksunluğuna adaptif yanıtlara aracılık eden proteinleri kodlar. Adına rağmen, HIF-1 yalnızca oksijen bulunabilirliğinin azalmasına yanıt olarak değil, aynı zamanda nitrik oksit veya çeşitli büyüme faktörleri gibi diğer uyarıcılar tarafından da indüklenir (Zagórska, & Dulak, 2004). Çalışmamızda, HIF-1 sinyal yolu, tüm derecelerde merkez genlerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. İlerleyen kanserde artan hücre sayısı nedeniyle, oksijen seviyesinin yetersiz kalmasıyla oluşan hipoksi koşullarında da tümör hücrelerinin çoğalmaya devam etmesini destekleyen adaptif mekanizmaların gliomanın ilerlemesinde rol aldığı düşünülmektedir.

Hepatit B virüsü (HBV) zarflı bir virüstür ve kısmen çift sarmallı gevşetilmiş dairesel DNA (RC-DNA) genomu içerir. HBV enfeksiyonu, kronik hepatite, sirozdan hepatoselüler karsinomaya kadar uzanan geniş bir karaciğer hastalığı yelpazesine yol açar. Karaciğer hasarının mekanizması hala net değil. Bununla birlikte, HBV proteinleri, çeşitli fonksiyonlarda yer alan konakçı proteinleri hedefler, böylece transkripsiyonu, hücresel sinyalleme kaskadlarını, proliferasyonu, farklılaşmayı ve apoptozu düzenler (Murata ve ark., 2009). Çalışmamızda, Hepatit B, derece II ve III'de merkez genlerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Çalışmaya dahil edilen hastaların Hepatit öyküleri bilinmemek ile birlikte, çıkan sonucun hastaların hepatit geçmişleriyle ilgili ya da Hepatit B ile glioma arasında ortak moleküler mekanizmaların olabileceği düşünülmektedir.

Forkhead kutusu transkripsiyon faktörleri (FOXO) ailesi, büyüme faktörü ve stresin düzenlediği kopyalama faktörleridir. FOXO proteinleri normal olarak, gen transkripsiyonunun düzenleyicileri olarak hareket ettikleri hareketsiz veya büyüme faktöründen yoksun hücrelerin çekirdeğinde bulunur; hücre büyüme faktörlerinin varlığında, FOXO proteinleri sitozole yeniden konumlandırılır ve sonunda ubiquitin-proteazom yolu aracılığıyla bozunmaya maruz kalır. Büyüme faktörlerinin hücresel hayatta kalma dürtüsünün yokluğunda, FOXO proteinleri çekirdeğe yer değiştirir ve bir dizi hedef geni düzenler, böylece hücre döngüsü tutuklanmasını, stres direncini ve apoptozu teşvik eder. Kısaca FOXO'lar, hücresel farklılaşma, apoptoz, hücre proliferasyonu, glikoz

metabolizması, DNA hasarı ve onarımı ve oksidatif stresin aracıları gibi geniş bir yelpazede hücrel fonksiyonlarda rol oynar (Farhan ve ark., 2017). Çalışmamızda, FoxO sinyal yolu, derece IV’de merkez genlerin yolak analizinde ilişkili olarak bulundu. Bu sonuç, FOXO proteinlerinin GBM ile ilgili bağlı genlerin ekspresyonunun düzenlenmesinde ve GBM’nin önlenmesi veya tedavisi için potansiyel bir hedef olabileceğini işaret etmektedir.

5.6.Merkez Genlerin GO Analizi

GO analizi sonucunda glioma derecelerinde merkez genlerin biyolojik süreç, hücre bileşeni ve moleküler fonksiyonları belirlendi.

Biyolojik süreç, genin veya gen ürününün katkıda bulunduğu biyolojik bir hedefi ifade eder (Ashburner ve ark., 2000). Çalışmamızda, merkez genlerin Go analiz sonuçlarında Biyolojik süreç; tüm derecelerde gen ifadesinin pozitif düzenlenmesi ile en fazla ilişkilendirilirken, derece II ve III’de epitel hücre proliferasyonunun pozitif düzenlenmesi, derece III ve IV’de hücre çoğalmasının pozitif düzenlenmesi, derece II ve IV’de apoptotik sürecin olumsuz düzenlenmesi ve MAP kinaz aktivitesinin pozitif düzenlenmesi, derece II’de sitokin sekresyonunun pozitif düzenlenmesi, derece III’de peptidil-tirozin fosforilasyonunun pozitif düzenlenmesi ve protein kinaz B sinyalinin pozitif düzenlenmesi ve derece IV’de transkripsiyonun pozitif düzenlenmesi (DNA şablonlu) ile en fazla ilişkilendirildi. Sonuçlar, genel olarak gliomanın tüm derecelerinde merkez genlerin biyolojik süreç bakımından gen ekspresyonunun sıklığını, oranını veya kapsamını arttırmada etkili olduğunu göstermektedir. Ek olarak, en çok PPE etkileşimine sahip merkez genlerin; derece II’de epitel hücre çoğalması, transkripsiyonun düzenlenmesi, apoptozun engellenmesi ve sitokin bağımlı hücre çoğalmasında etkili olduğu, derece III’de hücre çoğalması, sinyal iletimi, enzimatik aktivite, glikoz metabolizması, apoptozun engellenmesi, transkripsiyonun düzenlenmesi ve hücre göçünde etkili olduğu ve derece IV’de hücre çoğalması, transkripsiyonun düzenlenmesi ve apoptozun engellenmesinde etkili olduğu bulundu.

Hücrel bileşen, bir gen ürününün aktif olduğu hücre içindeki yeri ifade eder (Ashburner ve ark., 2000). Çalışmamızda, merkez genlerin Go analiz sonuçlarında hücrel bileşen; tüm derecelerde; hücre yüzeyi, hücre dışı bölge, hücre dışı boşluk ve trombosit alfa granül lümeni ile en fazla ilişkilendirilirken; derece II’de kan mikropartikülü, derece III’de protein kompleksi ve derece IV’de reseptör kompleksi ile en fazla ilişkilendirildi. Sonuçlar, gliomanın tüm derecelerinde merkez genlerin hücre duvarına bağlı gen ürünlerinde, hücrelerden interstisyel sıvıya veya kana salgılanan gen ürünlerinde ve trombosit alfa granülünün zarında aktif yer aldığını göstermektedir. Ek olarak merkez genler, derece II’de hücreden hücreye etkileşimleri kolaylaştırabilen, hücre sinyalini indükleyebilen ve hatta farklı hücre tipleri arasında reseptörleri aktarabilen (Simak, & Gelderman, 2006) kan mikropartiküllerinde, derece III’de protein komplekslerinde ve derece IV’de ise hücre

fonksiyonunda bir değişiklik başlatmak için bir hormon, nörotransmitter, ilaç veya hücre içi haberci ile kombinasyona reseptör komplekslerinde aktif yer aldığı belirlendi.

Moleküler fonksiyon, bir gen ürününün biyokimyasal aktivitesi olarak tanımlanır (Ashburner ve ark., 2000). Çalışmamızda, merkez genlerin Go analiz sonuçlarında moleküler fonksiyon; tüm derecelerde özdeş protein bağlanması ve protein bağlanma; derece II ve III'de proteaz bağlama, enzim bağlama ve çift sarmallı DNA bağlanması ve derece IV'de büyüme faktörü aktivitesi, sitokin aktivitesi ve protein fosfataz bağlanması ile en fazla ilişkilendirildi. Sonuçlar, gliomanın tüm derecelerinde merkez genlerin moleküler fonksiyonlarının genel olarak protein bağlanmasında aktif olduğunu göstermektedir. Ek olarak merkez genlerin, derece II ve III'de proteaz, peptidaz, enzim ve çift sarmallı DNA ile seçici ve kovalent etkileşimde, derece IV'de ise hücre büyümesi veya çoğalmasının uyarılması, dokuların ve hücrelerin hayatta kalmasını, büyümesini, farklılaşmasını ve efektör fonksiyonunu kontrol etmek için reseptörün aktivitesinde bir değişiklik gerçekleştirmek için bir reseptör ile etkileşime giren çözünebilir bir hücre dışı gen ürününün aktivitesi ve herhangi bir protein fosfataz ile seçici ve kovalent olmayan bir şekilde etkileşimde aktif olduğu bulundu.

5.7. Merkez Genlerin Hayatta Kalma Analizi ve İfade Düzeylerinin Karşılaştırılması

Her derecede ekspresyonu artan ve azalan genler arasında 15 merkez genin gliomalı hastalarda sağkalım üzerindeki etkileri doğrulandı. LGG'de merkez genlerden *ALB* ve *MYC*, genel sağkalımla pozitif korelasyon gösterirken *VEGFA*, *GAPDH*, *IL6*, *FNI*, *TP53*, *IL10*, *GNG7*, *EGFR*, *CXCL8*, *SRC*, *NOTCH1*, *MAPK1* ve *TNF* gliomalı hastalarda genel sağkalım ile negatif korelasyon gösterdiği belirlendi. GBM'de ise merkez genlerden *NOTCH1* ve *GNG13* genel sağkalımla pozitif korelasyon gösterirken *VEGFA*, *IL6*, *ALB*, *EGF*, *SRC*, *IL10*, *STAT3*, *TNF*, *EGFR*, *TP53* ve *MYC* gliomalı hastalarda genel sağkalım ile negatif korelasyon gösterdiği belirlendi.

Daha sonra, merkez genlerin GBM ve LGG'de ekspresyonu doğrulandı. Merkez genlerin ekspresyon seviyeleri, normal beyin dokusuyla karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlarla korelasyonlu olarak LGG'de, *EGFR*, *IL10*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *TNF* ve *TP53* ekspresyon seviyesinin kanser dokusunda önemli ölçüde arttığı ve *ALB* ekspresyon seviyesinin ise önemli ölçüde azaldığı; GBM'de ise *EGF*, *EGFR*, *IL6*, *IL10*, *MYC*, *NOTCH1*, *SRC*, *STAT3*, *TNF*, *TP53* ve *VEGFA* ekspresyon seviyesinin kanser dokusunda önemli ölçüde arttığı ve *ALB* ekspresyon seviyesinin ise önemli ölçüde azaldığı ortaya belirlendi.

6.SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, 150 glioma örneği (50 astrositom, 33 anaplastik oligodendrogliom, 8 anaplastik astrositom, 9 anaplastik oligoastrositom ve 50 glioblastom) ve 15 normal doku örnekleri GEO veritabanından alındı.

Moleküler analizler çerçevesinde, moleküler tanıda önemli bir teknoloji olan gen ekspresyon mikrodizin yöntemi kullanılarak tümörlü dokulardan elde edilen veriler ile normal dokulardan elde edilen verilerin ekspresyon düzeyleri karşılaştırılarak DEG'ler tanımlandı. PPE analizi ile DEG'lerin yoğunlaştığı kümeler ve en fazla bağlantıya sahip merkez genler belirlendi.

Merkez genlerden: *ALB, EGF, EGFR, FNI, IL6, IL10, MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53* ve *VEGFA*'nın daha önceki çalışmalar doğrultusunda glioma ile ilişkisi desteklenirken; *CXCL8, GAPDH, GNG7, GNG13, GNGT1, INS, KNG1* ve *MAPK1* genleri de çalışmamızda glioma ile ilişkili bulundu.

KEGG yolak analizleri ile, tanımlanan DEG'lerin tüm derecelerde genel olarak; nöroakrif ligand-reseptör etkileşimi, sitokin-sitokin reseptör etkileşimi ve hücre yapışma molekülleri ile anlamlı derecede ilişkili olduğu belirlendi. Ayrıca tüm derecelerde; IBD, tat iletimi, allogreft reddi, graft versus-host hastalığı, *S.aureus* enfeksiyonu, troid hormonu ve aldesteron ile düzenlenen sodyum geri emilim yolakları ile DEG'ler ilişkilendirildi. Bu sonuçlar, glial beyin kanserlerinin bazı hastalıklar ile ortak moleküler mekanizmalara sahip olabileceğini ve son zamanlarda yoğun araştırmalar yapılan bağırsak mikrobiyotası ile de ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Tamamlayıcı ve pıhtılaşma basamakları, fokal yapışma ve GABAerjik sinaps yolaklarının; derece II DEG'leri ile ilişkilendirilmeyip, derece III ve IV DEG'leri ile ilişkilendirilmesi, bu yolakların glial beyin kanserinin ilerlemesinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ek olarak; kanserde proteoglikanlar ve fokal yapışma yolaklarının derece II ve III'de ekspresyonu azalan DEG'ler ile ilişkilendirilip, derece IV'de ekspresyonu artan DEG'ler ile ilişkilendirilmesi bu yolaklardaki gen ekspresyon seviyelerinin artmasının glial beyin tümörlerinin derece IV'e evrilmesinde rol aldığını göstermektedir.

Merkez genlerinin KEGG yolak analizleri tüm derecelerde merkez genlerin; kanserde proteoglikanlar, kanser yolağı, HIF-1 ve PI3K-Akt sinyal yolları ile ilişkili olduğu belirlendi. Ek olarak, derece IV'de merkez genler FoxO sinyal yolu ile ilişkili bulundu.

Tanımlanan DEG'lerin ve merkez genlerin GO fonksiyonel analizleri sonucunda; sinyal iletimi, apoptotik sürecin negatif düzenlenmesi, protein bağlanması ve hücre çoğalması gibi terimler glial beyin kanserleri ile ilişkilendirildi. Bu terimler gelecekteki çalışmalarda daha detaylı incelenmelidir. Tanımlanan bu terimler, glial beyin tümörlerinin ilerlemesinde etkili olan moleküler mekanizmaların kavramasını ve glial beyin tümörlü hastalar için potansiyel tedavi hedefleri sağlayabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile glial beyin tümörü ile ilişkili DEG'lerin bütünleştirici bir analizini yapıldı ve glial beyin tümörü ilerlemesi ile ilgili merkez genleri tanımlandı. Bu çalışma, GEO veri tabanına dayalı olarak glial beyin tümörü patogeneğinde yer alan moleküler mekanizmaları vurgulayan ilk tez çalışmasıdır. Bu çalışma gliomun gelecekteki genomik bireyselleştirilmiş tedavisi için bazı güçlü kanıtlar sağlayabilir.



KAYNAKLAR

- Abdullah, J. M., Farizan, A., Asmarina, K., Zainuddin, N., Ghazali, M. M., Jaafar, H., ... & Naing, N. N. (2006). Association of loss of heterozygosity and PTEN gene abnormalities with paraclinical, clinical modalities and survival time of glioma patients in Malaysia. *Asian journal of surgery*, 29(4), 274-282.
- Afshar-Kharghan, V. (2017). The role of the complement system in cancer. *The Journal of clinical investigation*, 127(3), 780-789.
- Albert, N. L., Weller, M., Suchorska, B., Galldiks, N., Soffietti, R., Kim, M. M., ... & Tonn, J. C. (2016). Response Assessment in Neuro-Oncology working group and European Association for Neuro-Oncology recommendations for the clinical use of PET imaging in gliomas. *Neuro-oncology*, 18(9), 1199-1208.
- Alexandros, L., Iordanis, M., Athanasios, Z., Konstantinos, E., Robert-William, L., & Constantinos, P. (2011). Cell-type-dependent thyroid hormone effects on glioma tumor cell lines. *Journal of thyroid research*, 2011.
- Alkhaibary, A., Alassiri, A. H., AlSufiani, F., & Alharbi, M. A. (2019). Ki-67 labeling index in glioblastoma; does it really matter?. *Hematology/oncology and stem cell therapy*, 12(2), 82-88.
- Andrae, J., Gallini, R., & Betsholtz, C. (2008). Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes & development*, 22(10), 1276-1312.
- Anssar, T. M., Leitzmann, M. F., Linker, R. A., Meier, C., Becker, C., Jick, S., ... & Seliger, C. (2020). Autoimmune diseases and immunosuppressive therapy in relation to the risk of glioma. *Cancer medicine*, 9(3), 1263-1275.
- Appelskog, I. B., Ammerpohl, O., Svechnikova, I. G., Lui, W. O., Almqvist, P. M., & Ekström, T. J. (2004). Histone deacetylase inhibitor 4-phenylbutyrate suppresses GAPDH mRNA expression in glioma cells. *International journal of oncology*, 24(6), 1419-1425.
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., ... & Sherlock, G. (2000). Gene ontology: tool for the unification of biology. *Nature genetics*, 25(1), 25-29.
- Bajic, G., Degn, S. E., Thiel, S., & Andersen, G. R. (2015). Complement activation, regulation, and molecular basis for complement-related diseases. *The EMBO journal*, 34(22), 2735-2757.
- Baksi Şimşek, A., & Dicle, A. (2013). Primer Beyin Tümörü: Klinik Özellikler, Tedavi ve Bakım.
- Bar-Shavit, R., Maoz, M., Kancharla, A., Nag, J. K., Agranovich, D., Grisaru-Granovsky, S., & Uziely, B. (2016). G protein-coupled receptors in cancer. *International journal of molecular sciences*, 17(8), 1320.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2002). *Biochemistry*. 5th edition, Chapter 24, The Biosynthesis of Amino Acids
- Bernatsky, S., Ramsey-Goldman, R., Labrecque, J., Joseph, L., Boivin, J. F., Petri, M., ... & Clarke, A. E. (2013). Cancer risk in systemic lupus: an updated international multi-centre cohort study. *Journal of autoimmunity*, 42, 130-135.
- Besch, R., & Berking, C. (2014). POU transcription factors in melanocytes and melanoma. *European journal of cell biology*, 93(1-2), 55-60.
- Bette, S., Gempt, J., Huber, T., Boeckh-Behrens, T., Ringel, F., Meyer, B., ... & Kirschke, J. S. (2016). Patterns and time dependence of unspecific enhancement in postoperative magnetic resonance imaging after glioblastoma resection. *World neurosurgery*, 90, 440-447.
- Bettegowda, C., Agrawal, N., Jiao, Y., Sausen, M., Wood, L. D., Hruban, R. H., ... & Kinzler, K. W. (2011). Mutations in CIC and FUBP1 contribute to human oligodendroglioma. *Science*, 333(6048), 1453-1455.

- Biasoli, D., Kahn, S. A., Cornelio, T. A., Furtado, M., Campanati, L., Chneiweiss, H., ... & Borges, H. L. (2013). Retinoblastoma protein regulates the crosstalk between autophagy and apoptosis, and favors glioblastoma resistance to etoposide. *Cell death & disease*, 4(8), e767-e767.
- Borg, N., Guilfoyle, M. R., Greenberg, D. C., Watts, C., & Thomson, S. (2011). Serum albumin and survival in glioblastoma multiforme. *Journal of neuro-oncology*, 105(1), 77-81.
- Boulanger, M. J., & Garcia, K. C. (2004). Shared cytokine signaling receptors: structural insights from the gp130 system. *Advances in protein chemistry*, 68, 107-146.
- Boyd, D. B. (2003). Insulin and cancer. *Integrative cancer therapies*, 2(4), 315-329.
- Breen, W. G., Anderson, S. K., Carrero, X. W., Brown, P. D., Ballman, K. V., O'Neill, B. P., ... & Shaw, E. G. (2020). Final report from Intergroup NCCTG 86-72-51 (Alliance): a phase III randomized clinical trial of high-dose versus low-dose radiation for adult low-grade glioma. *Neuro-oncology*, 22(6), 830-837.
- Buache, E., Etique, N., Alpy, F., Stoll, I., Muckensturm, M., Reina-San-Martin, B., ... & Rio, M. C. (2011). Deficiency in trefoil factor 1 (TFF1) increases tumorigenicity of human breast cancer cells and mammary tumor development in TFF1-knockout mice. *Oncogene*, 30(29), 3261-3273.
- Butowski N. A. (2015). Epidemiology and diagnosis of brain tumors. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 21(2 Neuro-oncology), 301-313.
- Cancer Genome Atlas Research Network. (2015). Comprehensive, integrative genomic analysis of diffuse lower-grade gliomas. *New England Journal of Medicine*, 372(26), 2481-2498.
- Carminati, P. O., Donaires, F. S., Godoy, P. R. D. V., Montaldi, A. P., Meador, J. A., Balajee, A. S., ... & Sakamoto-Hojo, E. T. (2013). DNA-PK is a potential molecular therapeutic target for glioblastoma. *Evolution of the Molecular Biology of Brain Tumors and the Therapeutic Implications 2013*.
- Carpenter, G., & Cohen, S. (1979). Epidermal growth factor. *Annual review of biochemistry*, 48(1), 193-216.
- Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2010). The cell biology of taste. *Journal of Cell Biology*, 190(3), 285-296.
- Chen, C., Sun, C., Tang, D., Yang, G., Zhou, X., & Wang, D. (2016). Identification of key genes in glioblastoma-associated stromal cells using bioinformatics analysis. *Oncology letters*, 11(6), 3999-4007.
- Chen, R., Smith-Cohn, M., Cohen, A. L., & Colman, H. (2017). Glioma subclassifications and their clinical significance. *Neurotherapeutics*, 14(2), 284-297.
- Chen, Z., Mou, L., Pan, Y., Feng, C., Zhang, J., & Li, J. (2019). CXCL8 Promotes Glioma Progression By Activating The JAK/STAT1/HIF-1 α /Snail Signaling Axis. *OncoTargets and therapy*, 12, 8125.
- Chougule, M. (2020). Intra-axial/Extra-axial Brain Tumors. In *Neuropathology of Brain Tumors with Radiologic Correlates* (pp. 357-358). Springer, Singapore.
- Cohen, A., Sato, M., Aldape, K., Mason, C. C., Alfaro-Munoz, K., Heathcock, L., ... & Colman, H. (2015). DNA copy number analysis of Grade II-III and Grade IV gliomas reveals differences in molecular ontogeny including chromothripsis associated with IDH mutation status. *Acta neuropathologica communications*, 3(1), 1-12
- Conte, C., Ebeling, M., Marcuz, A., Nef, P., & Andres-Barquin, P. J. (2002). Identification and characterization of human taste receptor genes belonging to the TAS2R family. *Cytogenetic and genome research*, 98(1), 45-53.
- Cooper, G. M. (2000). *The Cell: A Molecular Approach* 2nd edition Boston University. *Sunderland (MA): Sinauer Associates.* [Google Scholar].

- Crocetti, E., Trama, A., Stiller, C., Caldarella, A., Soffiotti, R., Jaal, J., ... & RARECARE Working Group. (2012). Epidemiology of glial and non-glial brain tumours in Europe. *European journal of cancer*, 48(10), 1532-1542.
- Das, I., Craig, C., Funahashi, Y., Jung, K. M., Kim, T. W., Byers, R., ... & Kitajewski, J. (2004). Notch oncoproteins depend on γ -secretase/presenilin activity for processing and function. *Journal of Biological Chemistry*, 279(29), 30771-30780.
- Dean, D. N., & Lee, J. C. (2020). Modulating functional amyloid formation via alternative splicing of the premelanosomal protein PMEL17: Amyloid formation of PMEL17 isoforms. *Journal of Biological Chemistry*, 295(21), 7544-7553.
- DeDent, A., Kim, H. K., Missiakas, D., & Schneewind, O. (2012, March). Exploring *Staphylococcus aureus* pathways to disease for vaccine development. In *Seminars in immunopathology* (Vol. 34, No. 2, pp. 317-333). Springer-Verlag.
- Dehm, S. M., & Bonham, K. (2004). SRC gene expression in human cancer: the role of transcriptional activation. *Biochemistry and cell biology*, 82(2), 263-274.
- Deng, T., Gong, Y. Z., Wang, X. K., Liao, X. W., Huang, K. T., Zhu, G. Z., ... & Li, L. Q. (2019). Use of genome-scale integrated analysis to identify key genes and potential molecular mechanisms in recurrence of lower-grade brain glioma. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 25, 3716.
- Dominguez-Sola, D., Ying, C. Y., Grandori, C., Ruggiero, L., Chen, B., Li, M., ... & Dalla-Favera, R. (2007). Non-transcriptional control of DNA replication by c-Myc. *Nature*, 448(7152), 445-451.
- Du, W., & Cao, X. (2018). Cytotoxic pathways in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Frontiers in immunology*, 9, 2979.
- Dunbar, E., & Yachnis, A. T. (2010). Glioma diagnosis: immunohistochemistry and beyond. *Advances in anatomic pathology*, 17(3), 187-201.
- D'Urso, O. F., D'Urso, P. I., Marsigliante, S., Storelli, C., Luzi, G., Gianfreda, C. D., ... & Ciappetta, P. (2009). Correlative analysis of gene expression profile and prognosis in patients with gliomatosis cerebri. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 115(16), 3749-3757.
- Elangbam, C. S., Qualls Jr, C. W., & Dahlgren, R. R. (1997). Cell adhesion molecules—update. *Veterinary pathology*, 34(1), 61-73.
- Ellingson, B. M., Bendszus, M., Boxerman, J., Barboriak, D., Erickson, B. J., Smits, M., ... & Krainak, D. (2015). Consensus recommendations for a standardized brain tumor imaging protocol in clinical trials. *Neuro-oncology*, 17(9), 1188-1198.
- Endoh, M. (2006). Signal transduction and Ca²⁺ signaling in intact myocardium. *Journal of pharmacological sciences*, 100(5), 525-537.
- Farhan, M., Wang, H., Gaur, U., Little, P. J., Xu, J., & Zheng, W. (2017). FOXO signaling pathways as therapeutic targets in cancer. *International journal of biological sciences*, 13(7), 815.
- Farrell, C. J., & Plotkin, S. R. (2007). Genetic causes of brain tumors: neurofibromatosis, tuberous sclerosis, von Hippel-Lindau, and other syndromes. *Neurologic clinics*, 25(4), 925-946.
- Ferrara, J. L., & Reddy, P. (2006, January). Pathophysiology of graft-versus-host disease. In *Seminars in hematology* (Vol. 43, No. 1, pp. 3-10). WB Saunders.

- Gabant, P., Forrester, L., Nichols, J., Van Reeth, T., De Mees, C., Pajack, B., ... & Szpirer, J. (2002). Alpha-fetoprotein, the major fetal serum protein, is not essential for embryonic development but is required for female fertility. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(20), 12865-12870.
- Game, D. S., & Lechler, R. I. (2002). Pathways of allorecognition: implications for transplantation tolerance. *Transplant immunology*, 10(2-3), 101-108.
- Geng, R. X., Li, N., Xu, Y., Liu, J. H., Yuan, F. E., Sun, Q., ... & Chen, Q. X. (2018). Identification of core biomarkers associated with outcome in glioma: evidence from bioinformatics analysis. *Disease markers*, 2018.
- Giannopoulou, E., Tzakos, A., & Argyriou, A. A. (2015). Integrins and focal adhesion kinase in the malignant behavior of gliomas. *Neuroimmunology and Neuroinflammation*, 2, 4-7
- Gui, C., Lau, J. C., Kosteniuk, S. E., Lee, D. H., & Megyesi, J. F. (2019). Radiology reporting of low-grade glioma growth underestimates tumor expansion. *Acta neurochirurgica*, 161(3), 569-576.
- Haase, S., Garcia-Fabiani, M. B., Carney, S., Altshuler, D., Núñez, F. J., Méndez, F. M., ... & Castro, M. G. (2018). Mutant ATRX: uncovering a new therapeutic target for glioma. *Expert opinion on therapeutic targets*, 22(7), 599-613.
- Hai, L., Zhang, C., Li, T., Zhou, X., Liu, B., Li, S., ... & Yang, X. (2018). Notch1 is a prognostic factor that is distinctly activated in the classical and proneural subtype of glioblastoma and that promotes glioma cell survival via the NF- κ B (p65) pathway. *Cell death & disease*, 9(2), 1-13.
- Hamer, P. D. W., Robles, S. G., Zwinderman, A. H., Duffau, H., & Berger, M. S. (2012). Impact of intraoperative stimulation brain mapping on glioma surgery outcome: a meta-analysis. *J Clin Oncol*, 30(20), 2559-2565.
- Han, X., Zhang, W., Yang, X., Wheeler, C. G., Langford, C. P., Wu, L., ... & Nabors, L. B. (2014). The role of Src family kinases in growth and migration of glioma stem cells. *International journal of oncology*, 45(1), 302-310.
- Han, S., Huang, Y., Li, Z., Hou, H., & Wu, A. (2015). The prognostic role of preoperative serum albumin levels in glioblastoma patients. *BMC cancer*, 15(1), 1-9.
- Han, F., Hu, R., Yang, H., Liu, J., Sui, J., Xiang, X., ... & Song, S. (2016). PTEN gene mutations correlate to poor prognosis in glioma patients: a meta-analysis. *OncoTargets and therapy*, 9, 3485.
- Hartmann, S., Szaumkessel, M., Salaverria, I., Simon, R., Sauter, G., Kiwerska, K., ... & Giefing, M. (2012). Loss of protein expression and recurrent DNA hypermethylation of the GNG7 gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Journal of applied genetics*, 53(2), 167-174.
- Hatanpaa, K. J., Burma, S., Zhao, D., & Habib, A. A. (2010). Epidermal growth factor receptor in glioma: signal transduction, neuropathology, imaging, and radioresistance. *Neoplasia*, 12(9), 675-684.
- He, Z., Tang, F., Lu, Z., Huang, Y., Lei, H., Li, Z., & Zeng, G. (2018). Analysis of differentially expressed genes, clinical value and biological pathways in prostate cancer. *American journal of translational research*, 10(5), 1444.
- Helga, V. E. T. R., & GERHARD, W. (1990). Structure of the human α 1-microglobulin-bikunin gene.
- Her, N. G., Oh, J. W., Oh, Y. J., Han, S., Cho, H. J., Lee, Y., ... & Nam, D. H. (2018). Potent effect of the MDM2 inhibitor AMG232 on suppression of glioblastoma stem cells. *Cell death & disease*, 9(8), 1-12.
- Hou, H., Sun, D., & Zhang, X. (2019). The role of MDM2 amplification and overexpression in therapeutic resistance of malignant tumors. *Cancer cell international*, 19(1), 1-8.

- Howlader, N. N. A. M., Noone, A. M., Krapcho, M., Miller, D., Bishop, K., Kosary, C. L., ... & Cronin, K. A. (2017). SEER cancer statistics review, 1975-2014. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 2018.
- Hsu, J. B. K., Chang, T. H., Lee, G. A., Lee, T. Y., & Chen, C. Y. (2019). Identification of potential biomarkers related to glioma survival by gene expression profile analysis. *BMC medical genomics*, 11(7), 1-18.
- Huang, d., Sherman, B. T., & Lempicki, R. A. (2009). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature protocols*, 4(1), 44-57.
- Hull, J., Ackerman, H., Isles, K., Usen, S., Pinder, M., Thomson, A., & Kwiatkowski, D. (2001). Unusual haplotypic structure of IL8, a susceptibility locus for a common respiratory virus. *The American Journal of Human Genetics*, 69(2), 413-419.
- la Iglesia, N. D., Puram, S. V., & Bonni, A. (2009). STAT3 regulation of glioblastoma pathogenesis. *Current molecular medicine*, 9(5), 580-590.
- Idbaih, A., Marie, Y., Pierron, G., Brennetot, C., Hoang-Xuan, K., Kujas, M., ... & Delattre, J. Y. (2005). Two types of chromosome 1p losses with opposite significance in gliomas. *Annals of neurology*, 58(3), 483-487.
- Ip, W. E., Hoshi, N., Shouval, D. S., Snapper, S., & Medzhitov, R. (2017). Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages. *Science*, 356(6337), 513-519.
- Irshad, K., Mohapatra, S. K., Srivastava, C., Garg, H., Mishra, S., Dikshit, B., ... & Chosdol, K. (2015). A combined gene signature of hypoxia and notch pathway in human glioblastoma and its prognostic relevance. *PloS one*, 10(3), e0118201.
- Iwami, K., Natsume, A., & Wakabayashi, T. (2011). Cytokine networks in glioma. *Neurosurgical review*, 34(3), 253-264.
- James, C. D., Galanis, E. V. A. N. T. H. I. A., Frederick, L. O. R. I., Kimmel, D. W., Cunningham, J. M., Atherton-Skaff, P. J., ... & Scheithauer, B. W. (1999). Tumor suppressor gene alterations in malignant gliomas: histopathological associations and prognostic evaluation. *International journal of oncology*, 15(3), 547-600.
- Jiang, S. H., Hu, L. P., Wang, X., Li, J., & Zhang, Z. G. (2020). Neurotransmitters: emerging targets in cancer. *Oncogene*, 39(3), 503-515.
- Johnson, S., & Rebello, V. T. (2013). RELATIVE STUDY ON EVOLUTION OF DIFFERENT HAEMOGLOBIN CHAINS IN HOMO SAPIENS. *Xaverian Research Journal*, 11.
- Johnston, A., Xing, X., Guzman, A. M., Riblett, M., Loyd, C. M., Ward, N. L., ... & Gudjonsson, J. E. (2011). IL-1F5,-F6,-F8, and-F9: a novel IL-1 family signaling system that is active in psoriasis and promotes keratinocyte antimicrobial peptide expression. *The Journal of Immunology*, 186(4), 2613-2622.
- Ju, K. C., Zhang, B., Hu, Y. L., Feng, Y., Li, X. H., Liu, Y. F., ... & Xue, W. J. (2020). High expression of G protein subunit gamma 13 is associated with poor prognosis of gastrointestinal stromal tumor. *Pathology-Research and Practice*, 216(10), 153143.
- Kastenhuber, E. R., & Lowe, S. W. (2017). Putting p53 in context. *Cell*, 170(6), 1062-1078.
- Katoh, M., & Katoh, M. (2004). Identification and characterization of human HES2, HES3, and HES5 genes in silico. *International journal of oncology*, 25(2), 529-534.
- Khan, L., Soliman, H., Sahgal, A., Perry, J., Xu, W., & Tsao, M. N. (2020). External beam radiation dose escalation for high grade glioma. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (5).
- Kheirollahi, M., Dashti, S., Khalaj, Z., Nazemroaia, F., & Mahzouni, P. (2015). Brain tumors: Special characters for research and banking. *Advanced biomedical research*, 4.

- Knudsen, K. E., Booth, D., Naderi, S., Sever-Chroneos, Z., Fribourg, A. F., Hunton, I. C., ... & Knudsen, E. S. (2000). RB-dependent S-phase response to DNA damage. *Molecular and cellular biology*, 20(20), 7751-7763.
- Lane, D. P. (1992). p53, guardian of the genome. *Nature*, 358(6381), 15-16.
- Korsching, S. I. (2004). Olfactory receptors.
- Land, W. G., Agostinis, P., Gasser, S., Garg, A. D., & Linkermann, A. (2016). DAMP—induced allograft and tumor rejection: The circle is closing. *American Journal of Transplantation*, 16(12), 3322-3337.
- Latosińska, M., & Latosińska, J. N. (2017). Introductory Chapter: Having a Brain is Not Necessary to Get Cancer... but Indispensable to Fight It. In *Unique Aspects of Anti-cancer Drug Development*. IntechOpen.
- Le Moine, A., Goldman, M., & Abramowicz, D. (2002). Multiple pathways to allograft rejection. *Transplantation*, 73(9), 1373-1381.
- Lee, C. H., Jung, K. W., Yoo, H., Park, S., & Lee, S. H. (2010). Epidemiology of primary brain and central nervous system tumors in Korea. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 48(2), 145.
- Lee, Y. H., & Song, G. G. (2015). Genome-wide pathway analysis in glioma. *Neoplasia*, 62(2), 230-238.
- Leung, D. W., Cachianes, G., Kuang, W. J., Goeddel, D. V., & Ferrara, N. (1989). Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 246(4935), 1306-1309
- Leung, W. K., Yu, J., Chan, F. K., To, K. F., Chan, M. W., Ebert, M. P. A., ... & Sung, J. J. (2002). Expression of trefoil peptides (TFF1, TFF2, and TFF3) in gastric carcinomas, intestinal metaplasia, and non-neoplastic gastric tissues. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 197(5), 582-588.
- Lezcano, C., Jungbluth, A. A., Nehal, K. S., Hollmann, T. J., & Busam, K. J. (2018). PRAME expression in melanocytic tumors. *The American journal of surgical pathology*, 42(11), 1456.
- Li, X. W., Tuergan, M., & Abulizi, G. (2015). Expression of MAPK1 in cervical cancer and effect of MAPK1 gene silencing on epithelial-mesenchymal transition, invasion and metastasis. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 8(11), 937-943.
- Liao, Y. X., Zhang, Z. P., Zhao, J., & Liu, J. P. (2018). Effects of fibronectin 1 on cell proliferation, senescence and apoptosis of human glioma cells through the PI3K/AKT signaling pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(3), 1382-1396.
- Lieu, E. L., Nguyen, T., Rhyne, S., & Kim, J. (2020). Amino acids in cancer. *Experimental & molecular medicine*, 52(1), 15-30.
- Lim, A., Weir, P., O'Brien, T. J., & Kaye, A. H. (2011). Complex visual hallucinations as a presentation of temporal low-grade glioma. *Journal of Clinical Neuroscience*, 18(1), 157-159.
- Liu, X., Zhao, J., Zhang, L., Huang, J., & Ma, Y. (2020). The effect of age distribution on the prognosis of retroperitoneal neuroblastoma. *Medicine*, 99(23).
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). Neurotransmitters, synapses, and impulse transmission. In *Molecular Cell Biology*. 4th edition. WH Freeman.
- Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Cavenee, W. K., Burger, P. C., Jouvett, A., ... & Kleihues, P. (2007). The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathologica*, 114(2), 97-109.
- Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., Von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., ... & Ellison, D. W. (2016). The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta neuropathologica*, 131(6), 803-820.

- Louis, D. N., Schiff, D., Batchelor, T., & Wen, P. Y. (2017). Classification and pathologic diagnosis of gliomas. UpToDate, Waltham, MA: Walters Kluwer Health.
- Lowe, B. R., Maxham, L. A., Hamey, J. J., Wilkins, M. R., & Partridge, J. F. (2019). Histone H3 mutations: an updated view of their role in chromatin deregulation and cancer. *Cancers*, 11(5), 660.
- Luo, X., Xu, S., Zhong, Y., Tu, T., Xu, Y., Li, X., ... & Yang, F. (2019). High gene expression levels of VEGFA and CXCL8 in the peritumoral brain zone are associated with the recurrence of glioblastoma: A bioinformatics analysis. *Oncology letters*, 18(6), 6171-6179.
- Maire, C. L., & Ligon, K. L. (2014). Molecular pathologic diagnosis of epidermal growth factor receptor. *Neuro-oncology*, 16(suppl_8), viii1-viii6.
- Malzkorn, B., & Reifenberger, G. (2016). Practical implications of integrated glioma classification according to the World Health Organization classification of tumors of the central nervous system 2016. *Current opinion in oncology*, 28(6), 494-501.
- Marinò, M., & McCluskey, R. T. (2000). Role of thyroglobulin endocytic pathways in the control of thyroid hormone release. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 279(5), C1295-C1306.
- Matricon, J., Barnich, N., & Ardid, D. (2010). Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Self/nonsself*, 1(4), 299-309.
- Maziveyi, M., & Alahari, S. K. (2017). Cell matrix adhesions in cancer: the proteins that form the glue. *Oncotarget*, 8(29), 48471.
- Menziani, M. C., Fanelli, F., & De Benedetti, P. G. (1997). Theoretical investigation of IL-6 multiprotein receptor assembly. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 29(4), 528-548.
- Merkulov, S., Zhang, W. M., Komar, A. A., Schmaier, A. H., Barnes, E., Zhou, Y., ... & McCrae, K. R. (2008). Deletion of murine kininogen gene 1 (mKng1) causes loss of plasma kininogen and delays thrombosis. *Blood*, 111(3), 1274-1281.
- Meyermann, R., & des Zentralen Nervensystems, S. I. (2011). Sweet Taste Receptors in Normal and Pathological Rat Brain.
- Michal, G. (1999). Biochemical pathways (Vol. 46). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Milner, J. D., Vogel, T. P., Forbes, L., Ma, C. A., Stray-Pedersen, A., Niemela, J. E., ... & Cooper, M. A. (2015). Early-onset lymphoproliferation and autoimmunity caused by germline STAT3 gain-of-function mutations. *Blood*, 125(4), 591-599.
- Minchenko, O. H., Tsymbal, D. O., Minchenko, D. O., Riabovol, O. O., Ratushna, O. O., & Karbovskiy, L. L. (2016). Hypoxic regulation of the expression of cell proliferation related genes in U87 glioma cells upon inhibition of IRE1 signaling enzyme. *The Ukrainian Biochemical Journal*, (88, № 1), 11-21.
- Minchiotti, L., Galliano, M., Kragh-Hansen, U., & Peters Jr, T. (2008). Mutations and polymorphisms of the gene of the major human blood protein, serum albumin. *Human mutation*, 29(8), 1007-1016.
- Mitra, A. P., Datar, R. H., & Cote, R. J. (2006). Molecular pathways in invasive bladder cancer: new insights into mechanisms, progression, and target identification. *Journal of Clinical Oncology*, 24(35), 5552-5564.
- Molinaro, A. M., Taylor, J. W., Wiencke, J. K., & Wrensch, M. R. (2019). Genetic and molecular epidemiology of adult diffuse glioma. *Nature Reviews Neurology*, 15(7), 405-417.
- Molnar, C., & Gair, J. (2013). 16.1 Neurons and Glial Cells. Concepts of Biology-1st Canadian Edition.
- Nandakumar, P., Mansouri, A., & Das, S. (2017). The role of ATRX in glioma biology. *Frontiers in oncology*, 7, 236.

- Moonat, S., Starkman, B. G., Sakharkar, A., & Pandey, S. C. (2010). Neuroscience of alcoholism: molecular and cellular mechanisms. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(1), 73-88.
- Murata, M., Matsuzaki, K., Yoshida, K., Sekimoto, G., Tahashi, Y., Mori, S., ... & Okazaki, K. (2009). Hepatitis B virus X protein shifts human hepatic transforming growth factor (TGF)- β signaling from tumor suppression to oncogenesis in early chronic hepatitis B. *Hepatology*, 49(4), 1203-1217.
- Muro, A. F., Chauhan, A. K., Gajovic, S., Iaconcig, A., Porro, F., Stanta, G., & Baralle, F. E. (2003). Regulated splicing of the fibronectin EDA exon is essential for proper skin wound healing and normal lifespan. *The Journal of cell biology*, 162(1), 149-160.
- Nazarenko, I., Hede, S. M., He, X., Hedrén, A., Thompson, J., Lindström, M. S., & Nistér, M. (2012). PDGF and PDGF receptors in glioma. *Uppsala journal of medical sciences*, 117(2), 99-112.
- Nielsen, L. A., Bangsø, J. A., Lindahl, K. H., Dahlot, R. H., Hjelmberg, J. V. B., Hansen, S., & Kristensen, B. W. (2018). Evaluation of the proliferation marker Ki-67 in gliomas: interobserver variability and digital quantification. *Diagnostic pathology*, 13(1), 1-8.
- Niyazi, M., Brada, M., Chalmers, A. J., Combs, S. E., Erridge, S. C., Fiorentino, A., ... & Belka, C. (2016). ESTRO-ACROP guideline “target delineation of glioblastomas”. *Radiotherapy and oncology*, 118(1), 35-42.
- Ohgaki, H., Dessen, P., Jourde, B., Horstmann, S., Nishikawa, T., Di Patre, P. L., ... & Kleihues, P. (2004). Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer research*, 64(19), 6892-6899.
- Ohgaki, H., & Kleihues, P. (2005). Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta neuropathologica*, 109(1), 93-108.
- Okamoto, Y., Di Patre, P. L., Burkhard, C., Horstmann, S., Jourde, B., Fahey, M., ... & Ohgaki, H. (2004). Population-based study on incidence, survival rates, and genetic alterations of low-grade diffuse astrocytomas and oligodendrogliomas. *Acta neuropathologica*, 108(1), 49-56.
- Olson, J. J., Barnett, D., Yang, J., Assietti, R., Cotsonis, G., & James, C. D. (1998). Gene amplification as a prognostic factor in primary brain tumors. *Clinical cancer research*, 4(1), 215-222.
- Omuro, A., & DeAngelis, L. M. (2013). Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review. *Jama*, 310(17), 1842-1850.
- Osaki, M., Oshimura, M. A., & Ito, H. (2004). PI3K-Akt pathway: its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis*, 9(6), 667-676.
- Ostrom, Q. T., Bauchet, L., Davis, F. G., Deltour, I., Fisher, J. L., Langer, C. E., ... & Barnholtz-Sloan, J. S. (2014). The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-oncology*, 16(7), 896-913.
- O'Connor, D. P., Kay, E. W., Leader, M., Murphy, G. M., Atkins, G. J., & Mabruk, M. J. E. M. F. (2001). A high degree of chromosomal instability at 13q14 in cutaneous squamous cell carcinomas: indication for a role of a tumour suppressor gene other than Rb. *Molecular Pathology*, 54(3), 165.
- Pace, A., Dirven, L., Koekkoek, J. A., Golla, H., Fleming, J., Rudà, R., ... & Taphoorn, M. J. (2017). European Association for Neuro-Oncology (EANO) guidelines for palliative care in adults with glioma. *The Lancet Oncology*, 18(6), e330-e340.
- Pal, J., Patil, V., Kumar, A., Kaur, K., Sarkar, C., & Somasundaram, K. (2018). Loss-of-function mutations in Calcitonin receptor (CALCR) identify highly aggressive glioblastoma with poor outcome. *Clinical Cancer Research*, 24(6), 1448-1458.

Park, J., Talukder, A. H., Lim, S. A., Kim, K., Pan, K., Melendez, B., ... & Yee, C. (2017). SLC45A2: a melanoma antigen with high tumor selectivity and reduced potential for autoimmune toxicity. *Cancer immunology research*, 5(8), 618-629.

Pazarbaşı, A., Kasap, M., & Kasap, H. (2011). Kanser Yolakları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20(4), 187-229.

PDQ® Adult Treatment Editorial Board. PDQ Adult Central Nervous System Tumors Treatment. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Erişim <08/09/2020>. Available at: <https://www.cancer.gov/types/brain/patient/adult-brain-treatment-pdq>. [PMID: 26389458]

Pekmezci, M., Rice, T., Molinaro, A. M., Walsh, K. M., Decker, P. A., Hansen, H., ... & Wrensch, M. R. (2017). Adult infiltrating gliomas with WHO 2016 integrated diagnosis: additional prognostic roles of ATRX and TERT. *Acta neuropathologica*, 133(6), 1001-1016.

Pennica, D., Nedwin, G. E., Hayflick, J. S., Seeburg, P. H., Derynck, R., Palladino, M. A., ... & Goeddel, D. V. (1984). Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature*, 312(5996), 724-729.

Perrotta, C., De Palma, C., Clementi, E., & Cervia, D. (2015). Hormones and immunity in cancer: are thyroid hormones endocrine players in the microglia/glioma cross-talk?. *Frontiers in cellular neuroscience*, 9, 236.

Petit, V., & Thiery, J. P. (2000). Focal adhesions: structure and dynamics. *Biology of the Cell*, 92(7), 477-494

Pio, R., Corrales, L., & Lambris, J. D. (2014). The role of complement in tumor growth. *Tumor microenvironment and cellular stress*, 229-262.

Ponraj, D. N., Jenifer, M. E., Poongodi, P., & Manoharan, J. S. (2011). A survey on the preprocessing techniques of mammogram for the detection of breast cancer. *Journal of Emerging Trends in Computing and Information Sciences*, 2(12), 656-664.

Posti, J. P., Bori, M., Kauko, T., Sankinen, M., Nordberg, J., Rahi, M., ... & Sipilä, J. O. T. (2015). Presenting symptoms of glioma in adults. *Acta Neurologica Scandinavica*, 131(2), 88-93.

Punganuru, S. R., Artula, V., Zhao, W., Rajaei, M., Deokar, H., Zhang, R., ... & Wang, W. (2020). Targeted Brain Tumor Therapy by Inhibiting the MDM2 Oncogene: In Vitro and In Vivo Antitumor Activity and Mechanism of Action. *Cells*, 9(7), 1592.

Qi, J. L., He, J. R., Liu, C. B., Jin, S. M., Gao, R. Y., Yang, X., ... & Ma, Y. B. (2020). Pulmonary Staphylococcus aureus infection regulates breast cancer cell metastasis via neutrophil extracellular traps (NETs) formation. *MedComm*, 1(2), 188-201.

Quartuccio, N., Laudicella, R., Vento, A., Pignata, S., Mattoli, M. V., Filice, R., ... & Cistaro, A. (2020). The Additional Value of 18F-FDG PET and MRI in Patients with Glioma: A Review of the Literature from 2015 to 2020. *Diagnostics*, 10(6), 357.

Rahman, A., & Isenberg, D. A. (2008). Systemic lupus erythematosus. *The New England journal of medicine*, 358(9), 929-939.

Reifenberger, G., Wirsching, H. G., Knobbe-Thomsen, C. B., & Weller, M. (2017). Advances in the molecular genetics of gliomas—implications for classification and therapy. *Nature reviews Clinical oncology*, 14(7), 434-452.

Ren, L., Yi, J., Li, W., Zheng, X., Liu, J., Wang, J., & Du, G. (2019). Apolipoproteins and cancer. *Cancer medicine*, 8(16), 7032-7043.

Richterová, R., & Kolarovszki, B. (2016). Genetic alterations of glioblastoma. *Neurooncol Newer Dev*.

- Roa, W., Brasher, P. M. A., Bauman, G., Anthes, M., Bruera, E., Chan, A., ... & Forsyth, P. (2004). Abbreviated course of radiation therapy in older patients with glioblastoma multiforme: a prospective randomized clinical trial. *Journal of clinical oncology*, 22(9), 1583-1588.
- Rogers, M. A., Langbein, L., Winter, H., Ehmann, C., Praetzel, S., Korn, B., & Schweizer, J. (2001). Characterization of a cluster of human high/ultrahigh sulfur keratin-associated protein genes embedded in the type I keratin gene domain on chromosome 17q12-21. *Journal of Biological Chemistry*, 276(22), 19440-19451.
- Saadeh, F. S., Mahfouz, R., & Assi, H. I. (2018). EGFR as a clinical marker in glioblastomas and other gliomas. *The International journal of biological markers*, 33(1), 22-32.
- Sadek, C. M., Jimenez, A., Damdimopoulos, A. E., Kieselbach, T., Nord, M., Gustafsson, J. A., ... & Miranda-Vizuete, A. (2003). A novel microtubule-binding thioredoxin expressed predominantly in the cilia of lung airway epithelium and spermatid manchette and axoneme. *The Journal of Biology and Chemistry*, 278(15), 13133-13142.
- Sanson, M., Marie, Y., Paris, S., Idbaih, A., Laffaire, J., Ducray, F., ... & Delattre, J. Y. (2009). Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol*, 27(25), 4150-4154.
- Scherer, S. W., Feinstein, D. S., Oliveira, L., Tsui, L. C., & Pittler, S. J. (1996). Gene structure and chromosome localization to 7q21. 3 of the human rod photoreceptor transducin γ -subunit gene (GNGT1). *Genomics*, 35(1), 241-243.
- Schwarzenbach, H. (2013). Loss of Heterozygosity.
- Sekikawa, S., Onda, T., Miura, N., Nomura, T., Takano, N., Shibahara, T., & Honda, K. (2018). Underexpression of α -1-microglobulin/bikunin precursor predicts a poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. *International journal of oncology*, 53(6), 2605-2614.
- Sereika, M., Urbanaviciute, R., Tamasauskas, A., Skiriute, D., & Vaitkiene, P. (2018). GFAP expression is influenced by astrocytoma grade and rs2070935 polymorphism. *Journal of Cancer*, 9(23), 4496.
- Seyfried, T. N., & Huysentruyt, L. C. (2013). On the origin of cancer metastasis. *Critical Reviews™ in Oncogenesis*, 18(1-2).
- Shan, F. Y., Zhong, D., Hu, W., Patel, N., Fonkem, E., Feng, D., ... & Rao, A. (2018). Neoplasms of Central Nervous System: A Diagnostic Approach. *Neoplasm*, 1.
- Sharma, P., & Debinski, W. (2018). Receptor-targeted glial brain tumor therapies. *International journal of molecular sciences*, 19(11), 3326.
- Shinojima, N., Tada, K., Shiraishi, S., Kamiryo, T., Kochi, M., Nakamura, H., ... & Ushio, Y. (2003). Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer research*, 63(20), 6962-6970.
- Shoji, Y., Delfs, J., & Williams, J. T. (1999). Presynaptic inhibition of GABAB-mediated synaptic potentials in the ventral tegmental area during morphine withdrawal. *Journal of Neuroscience*, 19(6), 2347-2355.
- Shum, A. M., Poljak, A., Bentley, N. L., Turner, N., Tan, T. C., & Polly, P. (2018). Proteomic profiling of skeletal and cardiac muscle in cancer cachexia: alterations in sarcomeric and mitochondrial protein expression. *Oncotarget*, 9(31), 22001.
- Simak, J., & Gelderman, M. P. (2006). Cell membrane microparticles in blood and blood products: potentially pathogenic agents and diagnostic markers. *Transfusion medicine reviews*, 20(1), 1-26.

- Smith, I. A., Knezevic, B. R., Ammann, J. U., Rhodes, D. A., Aw, D., Palmer, D. B., ... & Trowsdale, J. (2010). BTN1A1, the mammary gland butyrophilin, and BTN2A2 are both inhibitors of T cell activation. *The Journal of immunology*, 184(7), 3514-3525.
- Smits, A., & Duffau, H. (2011). Seizures and the natural history of World Health Organization Grade II gliomas: a review. *Neurosurgery*, 68(5), 1326-1333.
- Song, X., Zhang, N., Han, P., Moon, B. S., Lai, R. K., Wang, K., & Lu, W. (2016). Circular RNA profile in gliomas revealed by identification tool UROBORUS. *Nucleic acids research*, 44(9), e87-e87.
- Strickland, M., & Stoll, E. A. (2017). Metabolic reprogramming in glioma. *Frontiers in cell and developmental biology*, 5, 43.
- Strober, W., Murray, P. J., Kitani, A., & Watanabe, T. (2006). Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. *Nature reviews immunology*, 6(1), 9-20.
- Stummer, W., Pichlmeier, U., Meinel, T., Wiestler, O. D., Zanella, F., Reulen, H. J., & ALA-Glioma Study Group. (2006). Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *The lancet oncology*, 7(5), 392-401.
- Stupp, R., Mason, W. P., Van Den Bent, M. J., Weller, M., Fisher, B., Taphoorn, M. J., ... & Mirimanoff, R. O. (2005). Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New England journal of medicine*, 352(10), 987-996.
- Stupp, R., Hegi, M. E., Mason, W. P., Van Den Bent, M. J., Taphoorn, M. J., Janzer, R. C., ... & National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. (2009). Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *The lancet oncology*, 10(5), 459-466.
- Stupp, R., Brada, M., Van Den Bent, M. J., Tonn, J. C., & Pentheroudakis, G. E. S. M. O. (2014). High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology*, 25, iii93-iii101.
- Sturm, R. A. (2006). Transcription Factors: POU.
- Sun, H., Yin, L., Li, S., Han, S., Song, G., Liu, N., & Yan, C. (2013). Prognostic significance of IDH mutation in adult low-grade gliomas: a meta-analysis. *Journal of Neuro-oncology*, 113(2), 277-284.
- Swartling, F. J. (2012). Myc proteins in brain tumor development and maintenance. *Upsala journal of medical sciences*, 117(2), 122-131.
- Szklarczyk, D., Franceschini, A., Wyder, S., Forslund, K., Heller, D., Huerta-Cepas, J., ... & Von Mering, C. (2015). STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic acids research*, 43(D1), D447-D452.
- Tang, Z., Li, C., Kang, B., Gao, G., Li, C., & Zhang, Z. (2017). GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic acids research*, 45(W1), W98-W102.
- Thompson, C. B. (2009). Metabolic enzymes as oncogenes or tumor suppressors. *The New England journal of medicine*, 360(8), 813.
- Touat, M., Li, Y. Y., Boynton, A. N., Spurr, L. F., Iorgulescu, J. B., Bohrsen, C. L., ... & Ligon, K. L. (2020). Mechanisms and therapeutic implications of hypermutation in gliomas. *Nature*, 580(7804), 517-523.
- Turcan, S., Rohle, D., Goenka, A., Walsh, L. A., Fang, F., Yilmaz, E., ... & Chan, T. A. (2012). IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature*, 483(7390), 479-483.

- Turaga, S. M., & Lathia, J. D. (2016). Adhering towards tumorigenicity: altered adhesion mechanisms in glioblastoma cancer stem cells. *CNS oncology*, 5(4), 251-259.
- Uhlén, M., Fagerberg, L., Hallström, B. M., Lindskog, C., Oksvold, P., Mardinoglu, A., ... & Pontén, F. (2015). Tissue-based map of the human proteome. *Science*, 347(6220).
- van den Bent, M. J., Wefel, J. S., Schiff, D., Taphoorn, M. J., Jaeckle, K., Junck, L., ... & Jacobs, A. H. (2011). Response assessment in neuro-oncology (a report of the RANO group): assessment of outcome in trials of diffuse low-grade gliomas. *The lancet oncology*, 12(6), 583-593.
- van der Vlis, T. B., Kros, J. M., Mustafa, D. A. M., van Wijck, R. T. A., Ackermans, L., van Hagen, P. M., & van der Spek, P. J. (2018). The complement system in glioblastoma multiforme. *Acta neuropathologica communications*, 6(1), 1-12.
- Wade, A., Robinson, A. E., Engler, J. R., Petritsch, C., James, C. D., & Phillips, J. J. (2013). Proteoglycans and their roles in brain cancer. *The FEBS journal*, 280(10), 2399-2417.
- Wakimoto, H., Tanaka, S., Curry, W. T., Loebel, F., Zhao, D., Tateishi, K., ... & Chi, A. S. (2014). Targetable signaling pathway mutations are associated with malignant phenotype in IDH-mutant gliomas. *Clinical cancer research*, 20(11), 2898-2909.
- Wang, K., Yamamoto, H., Chin, J. R., Werb, Z., & Vu, T. H. (2004). Epidermal growth factor receptor-deficient mice have delayed primary endochondral ossification because of defective osteoclast recruitment. *Journal of Biological Chemistry*, 279(51), 53848-53856.
- Wang, Y., Tian, T., Hu, Z., Tang, J., Wang, S., Wang, X., ... & Shen, H. (2008). EGF promoter SNPs, plasma EGF levels and risk of breast cancer in Chinese women. *Breast cancer research and treatment*, 111(2), 321-327.
- Wang, H., Lathia, J. D., Wu, Q., Wang, J., Li, Z., Heddleston, J. M., ... & Rich, J. N. (2009). Targeting interleukin 6 signaling suppresses glioma stem cell survival and tumor growth. *Stem cells*, 27(10), 2393-2404.
- Wang, X., Zhao, X., Feng, C., Weinstein, A., Xia, R., Wen, W., ... & Lu, B. (2015). IL-36 γ transforms the tumor microenvironment and promotes type 1 lymphocyte-mediated antitumor immune responses. *Cancer cell*, 28(3), 296-306.
- Wang, S., Zhu, M., Wang, Q., Hou, Y., Li, L., Weng, H., ... & Li, M. (2018). Alpha-fetoprotein inhibits autophagy to promote malignant behaviour in hepatocellular carcinoma cells by activating PI3K/AKT/mTOR signalling. *Cell death & disease*, 9(10), 1-13.
- Wang, Y., Ma, F., Rodriguez, E. L., Klein, J. D., & Sands, J. M. (2020). Aldosterone Decreases Vasopressin-Stimulated Water Reabsorption in Rat Inner Medullary Collecting Ducts. *Cells*, 9(4), 967.
- Weller, M., Van Den Bent, M., Tonn, J. C., Stupp, R., Preusser, M., Cohen-Jonathan-Moyal, E., ... & Wick, W. (2017). European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *The lancet oncology*, 18(6), e315-e329.
- Weller, M., & Le Rhun, E. (2020). How did lomustine become standard of care in recurrent glioblastoma?. *Cancer treatment reviews*, 102029.
- Wen, P. Y., Macdonald, D. R., Reardon, D. A., Cloughesy, T. F., Sorensen, A. G., Galanis, E., ... & Chang, S. M. (2010). Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: response assessment in neuro-oncology working group. *Journal of clinical oncology*, 28(11), 1963-1972.
- Wen, P. Y., Weller, M., Lee, E. Q., Alexander, B. M., Barnholtz-Sloan, J. S., Barthel, F. P., ... & van den Bent, M. J. (2020). Glioblastoma in adults: a Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Society of Neuro-Oncology (EANO) consensus review on current management and future directions. *Neuro-oncology*, 22(8), 1073-1113.

- Westermark, B. (2014). Platelet-derived growth factor in glioblastoma—driver or biomarker?. *Upsala journal of medical sciences*, 119(4), 298-305.
- Wick, W., Hartmann, C., Engel, C., Stoffels, M., Felsberg, J., Stockhammer, F., ... & Weller, M. (2009). NOA-04 randomized phase III trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with procarbazine, lomustine, and vincristine or temozolomide. *Journal of clinical oncology*, 27(35), 5874.
- Wilcox, G. (2005). Insulin and insulin resistance. *Clinical biochemist reviews*, 26(2), 19.
- Wolk, M., Martin, J. E., & Reinus, C. (2006). Development of fetal haemoglobin-blood cells (F cells) within colorectal tumour tissues. *Journal of clinical pathology*, 59(6), 598-602.
- Wood, S. M., Gill, A. J., Brodsky, A. S., Lu, S., Friedman, K., Karashchuk, G., ... & Resnick, M. B. (2017). Fatty acid-binding protein 1 is preferentially lost in microsatellite instable colorectal carcinomas and is immune modulated via the interferon γ pathway. *Modern Pathology*, 30(1), 123-133.
- Xie, Y., Tan, Y., Yang, C., Zhang, X., Xu, C., Qiao, X., ... & Kang, C. (2019). Omics-based integrated analysis identified ATRX as a biomarker associated with glioma diagnosis and prognosis. *Cancer biology & medicine*, 16(4), 784.
- Xie, H., Yuan, C., Li, J. J., Li, Z. Y., & Lu, W. C. (2021). Potential molecular mechanism of TNF superfamily-related genes in glioblastoma multiforme based on transcriptome and epigenome. *Frontiers in Neurology*, 12.
- Xu, J., Fang, J., Cheng, Z., Fan, L., Hu, W., Zhou, F., & Shen, H. (2018). Overexpression of the Kininogen-1 inhibits proliferation and induces apoptosis of glioma cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 37(1), 1-15.
- Xu, Y., Zou, R., Wang, J., Wang, Z. W., & Zhu, X. (2020). The role of the cancer testis antigen PRAME in tumorigenesis and immunotherapy in human cancer. *Cell proliferation*, 53(3), e12770.
- Yan, Z., & Wang, S. (2020). Proteoglycans as Therapeutic Targets in Brain Cancer. *Frontiers in Oncology*, 10.
- Yang, Y., Shao, N., Luo, G., Li, L., Zheng, L., Nilsson-Ehle, P., & Xu, N. (2010). Mutations of PTEN gene in gliomas correlate to tumor differentiation and short-term survival rate. *Anticancer research*, 30(3), 981-985.
- Yoo, S. S., Surace, M. J., Lin, S. H., & Sharma, A. (2020). U.S. Patent No. 10,875,920. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Young, S. Z., & Bordey, A. (2009). GABA's control of stem and cancer cell proliferation in adult neural and peripheral niches. *Physiology*, 24(3), 171-185.
- Yu, W., Zhang, L., Wei, Q., & Shao, A. (2020). O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT): challenges and new opportunities in glioma chemotherapy. *Frontiers in oncology*, 9, 1547.
- Zagórska, A., & Dulak, J. (2004). HIF-1: the knowns and unknowns of hypoxia sensing. *Acta Biochimica Polonica*, 51(3).
- Zhang, J. Y., Zhang, F., Hong, C. Q., Giuliano, A. E., Cui, X. J., Zhou, G. J., ... & Cui, Y. K. (2015). Critical protein GAPDH and its regulatory mechanisms in cancer cells. *Cancer biology & medicine*, 12(1), 10.
- Zhang, Y., Dube, C., Gibert, M., Cruickshanks, N., Wang, B., Coughlan, M., ... & Abounader, R. (2018). The p53 pathway in glioblastoma. *Cancers*, 10(9), 297.
- Zhang, J., Hu, S., & Li, Y. (2019). KRT18 is correlated with the malignant status and acts as an oncogene in colorectal cancer. *Bioscience reports*, 39(8).

Zhang, Z., Huang, X., Li, J., Fan, H., Yang, F., Zhang, R., ... & Xin, T. (2019). Interleukin 10 promotes growth and invasion of glioma cells by up-regulating KPNA 2 in vitro. *Journal of cancer research and therapeutics*, 15(4), 927.

Zhao, J., Ma, W., & Zhao, H. (2014). Loss of heterozygosity 1p/19q and survival in glioma: a meta-analysis. *Neuro-oncology*, 16(1), 103-112.

Zhong, J., Chen, X., Ye, H., Wu, N., Chen, X., & Duan, S. (2017). CDKN2A and CDKN2B methylation in coronary heart disease cases and controls. *Experimental and therapeutic medicine*, 14(6), 6093-6098.

Zhu, L. (2005). Tumour suppressor retinoblastoma protein Rb: a transcriptional regulator. *European Journal of Cancer*, 41(16), 2415-2427.

Zhu, V. F., Yang, J., LeBrun, D. G., & Li, M. (2012). Understanding the role of cytokines in Glioblastoma Multiforme pathogenesis. *Cancer letters*, 316(2), 139-150.

Zikou, A., Sioka, C., Alexiou, G. A., Fotopoulos, A., Voulgaris, S., & Argyropoulou, M. I. (2018). Radiation necrosis, pseudoprogression, pseudoresponse, and tumor recurrence: imaging challenges for the evaluation of treated gliomas. *Contrast media & molecular imaging*, 2018.

Zintzaras, E., Voulgarelis, M., & Moutsopoulos, H. M. (2005). The risk of lymphoma development in autoimmune diseases: a meta-analysis. *Archives of internal medicine*, 165(20), 2337-2344.

ÖZGEÇMİŞ

<u>Kişisel Bilgiler</u>	
Adı Soyadı	Nurhan KÜLCÜ
Eğitim Bilgileri	2004-2008 Körfez Yarımca Sağlık Meslek Lisesi 2008-2010 Kocaeli Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO Tıbbi Laboratuvar Programı 2013-2016 Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
Mesleki Deneyim	- DNA ve RNA İzolasyonu - cfDNA (cell free DNA) İzolasyonu - Real Time PCR - Sanger Sekans - Yeni Nesil Dizileme (NGS)
Yabancı Dil Bilgileri	İngilizce
<u>Bilimsel Etkinlikler</u>	
Makaleler*	- Mert-Boga, S., Arsal-Yildirim, S., Baydemir, C., & Kulcu, N. (2018). Assessment on Efficacy of Basic First Aid Training Provided to Academic and Administrative Staff of a State University. Health Sciences, 7(11), 93-102.
Bildiriler	- Deniz Sünnetçi-Akkoyunlu, Bülent Kara, Naci Çine, Elif Büşra Yılmaz, Bilge Dursun, Nurhan Külcü , Gülüşan Uzuner, Nisa Devrim, Hakan Savlı. P-005- Erken-Başlangıçlı Epileptik Ensefalopati Tanılı 67 Olguda Hedef Gen Paneli Analizleri-13.Uluslararası Katılımlı Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi,2018,Antalya. - Deniz Sünnetçi Akkoyunlu, Altay Çelebi, Bilge Dursun, Nurhan Külcü , Naci Çine, Sadettin Hülagü, Seda Eren Keskin, Hakan Savlı. PP-003 İntestinal Mikrobiyota Analizinin Yaygın Fonksiyonel Gastrointestinal Bozuklukların Tedavisindeki Etkisi-6.Ulusal Bağırsak Mikrobiyotası ve Probiyotik Kongresi,2019,Antalya.