

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**JİNEKOLOJİK PATOLOJİLERDE PERİTON YIKAMA
SIVILARINDA HIGH MOBİLİTY GROUP BOX 1 (HMG B1)
PROTEİNİ DÜZEYİ**

Doktora Tezi

Dr. Özlem DEMİRPENÇE

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Eşref YEĞİN

D.Ü.TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİMDALI

DİYARBAKIR 2017

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**JİNEKOLOJİK PATOLOJİLERDE PERİTON YIKAMA
SIVILARINDA HIGH MOBİLİTY GROUP BOX 1 (HMG B1)
PROTEİNİ DÜZEYİ**

Doktora Tezi

Dr. Özlem DEMİRPENÇE

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Eşref YEĞİN

D.Ü.TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİMDALI

DİYARBAKIR 2017

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRLÜĞÜ

“Jinekolojik patolojilerde periton yıkama sıvılarında high mobility group box 1 (HMGB 1) proteini düzeyi” isimli Doktora Tezi 12.04.2017 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Eşref Yeğin
Tezi Teslim Eden : Dr.Özlem Demirpençe

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan : Prof.Dr. Nuriye METE N. Mete
Üye : Prof.Dr. Eşref YEĞİN E. Yeğin
Üye : Prof.Dr. Meral ERDİNÇ M. Erdinç
Üye : Prof.Dr. Hatice PAŞAOĞLU H. Paşaoğlu
Üye : Prof.Dr. Necip İLHAN N. İlhan

Yukarıdaki imzalar tasdik olunur.

08.05.2017
Doç.Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yürütülmesi konusunda yol gösterici ve destekleyici olan değerli hocam sayın Prof. Dr. Eşref Yeğin'e, Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Nuriye Mete'ye;

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında, Tıpta uzmanlığım ve Doktora eğitimim boyunca geçirdiğim süre zarfında desteklerini esirgemeyen değerli tüm hocalarıma;

Tezimin konusunun saptandığı, beraber çalıştığım Antalya EAH bünyesinde çalışan değerli hekimlere ve Doç. Dr. Mustafa Yıldırım'a;

Tezimin hazırlık aşamasında güler yüzlerini ve yardımlarını hiç eksik etmeyen tüm Dicle Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına;

Her konuda tam destek aldığım, sevgileriyle, emekleriyle beni bugünlere getiren babam Celal ve annem Saniye Demirpençe'ye, varlıklarından güç aldığım kardeşlerim Havin ve Cenani Bilgetekin'e ve bal yeğenim Deniz'e teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Özlem DEMİRPENÇE

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa no
ÖNSAYFALAR	
KAPAK	
İÇ KAPAK	
ONAY SAYFASI	
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLOLAR DİZİNİ	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ÖZET SAYFALARI	
TÜRKÇE ÖZET	X
İNGİLİZCE ÖZET	XI
TEZ METNİ	
1. GİRİŞ VE AMAÇ	XI
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. HMG B1'in Yapısı Ve Salınımı	3
2.2. HMG B1 Reseptörleri Ve Etkileşimleri	4
2.3. HMG B1 Ve Replikasyon Potansiyeli	8
2.4. HMG B1 Ve Büyüme Karşıtı Sinyaller	9
2.5. HMG B1 Ve Büyüme Sinyalleri	9
2.6. İnflamatuar Mikroçevrede HMG B1	9
2.7. HMG B1 Ve Endotel Hücreleri	11
2.8. DAMP Molekülü Olarak HMG B1	12
2.9. HMG B1 Ve Kanser	14
2.10. HMG B1 Ve Apoptoz	16
2.11. HMG B1 Ve Anjiogenez	18
2.12. HMG B1 Ve MİRNA İlişkisi	18
2.13. HMG B1 Ve DNA Replikasyonu, Rekombinasyonu Ve Onarımı	19
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	21
3.1. GEREÇLER	21

3.1.1. Araştırma Grubunun Oluşturulması	21
3.1.2. Periton Yıkama Sıvısı Numunelerinin Alınması Ve Hazırlanması	21
3.1.3. Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri	22
3.1.4. Araştırmaya Dahil Edilmeme Kriterleri	22
3.2. YÖNTEMLER	22
3.2.1.Kullanılan Cihazlar	22
3.2.2. HMG B1 Çalışma Yöntemi	22
3.2.3. HMG B1 ELISA Test Kiti Çalışma Prosedürü	23
3.2.4. Kullanılan HMG 1 ELISA Test Kitinin İçeriğı	24
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	25
4. BULGULAR	26
5. TARTIşMA	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
7. KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİş	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa no
Şekil 1. HMG B1'in moleküler yapısı	6
Şekil 2. HMG B1'in salgı mekanizması ve redoks durumunda inflamatuvar rolü	7
Şekil 3. HMG B1'in reseptörleri ve sinyal iletim yolu	8
Şekil 4. HMG B1'in endotel hücreleriyle etkileşimi	12
Şekil 5. HMG B1'in intranükleer şaperon rolü ve ekstrasükleer DAMP fonksiyonu	13
Şekil 6. Kanser gelişiminde HMG B1'in rolü	16
Şekil 7. Hücre ölüm şekilleri ve HMG B1	17
Şekil 8. HMG B1 ve miRNA ilişkisi	19
Şekil 9. HMG B1 ELİSA testi standart eğrisi	24
Şekil 10: Patoloji sonucu ve HMG B1 değerlerinin ROC analizi ile değerlendirilmesi	29

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa no
Tablo 1. Malign ve benign patolojiye sahip olguların laboratuvar verileri	28
Tablo 2. Sitolojik ve patolojik inceleme sonuçlarının olgu sayısı bazında belirlenmesi	28
Tablo 3. Benign grup ve malign grubu oluşturan T1, T2, T3 olguların HMG B1 düzeyleri	29
Tablo 4. Çalışma grubunda bulunan benign hastaların tanılarına göre dağılımı	30
Tablo 5. Çalışma grubunda bulunan malign hastaların tanılarına göre dağılımı	31

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

HMG B	: High mobility group box
TLR	: Toll benzeri reseptör
RAGE	: İleri glikasyon son ürünleri için reseptör
DM	: Diabetes mellitus
SLE	: Sistemik lupus eritematozus
kDa	: Kilo dalton
µl	: Mikrolitre
ng/dl	: Nanogram/desilitre
MS	: Multipl skleroz
Rpm	: Revolution per minute
PMNL	: Polimorfonükleer Lökositler
ER	: Östrojen reseptörü
GF	: Growth faktör
IL	: İnterlökin
TNF	: Tümör nekrozis faktör
MCP	: Monosit kemotaktik peptid
IFNγ	: Gama interferon
LPS	: Lipopolisakkarid
LN	: lenf nodu
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
CA	: Karbonhidrat Antijeni
EAH	: Eğitim ve Araştırma Hastanesi
NK	: Natural killer
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz

ÖZET

High mobility group box (HMG B) proteinleri, çok fonksiyonlu nükleer proteinlerdir. Ökaryotik hücrelerde HMG B1 , çekirdekte, sitoplazmada ve hücre dışı alanda bulunur. Gen transkripsiyonunu, DNA replikasyonunu, onarımı ve rekombinasyonunu modifiye eder.

HMG B1'in varlığı çeşitli kanserlerde araştırılmıştır. HMG B1 malign tümör oluşumunda, tümör yayılımında ve anjiyogeneze farklı patojenik roller üstlenir. Bu çalışmada, tümör cerrahisi prosedürü sırasında elde edilmiş periton yıkama sıvılarının içeriğinde mevcut olan HMG B1 düzeylerini gösteren bir araştırmanın, jinekolojik patolojilerde malignitenin öngörülmesinde, önemli olabileceği hipotezini kurduk.

Bu çalışmada biyokimyasal bir belirteç olarak HMG B1 'in, malign ve benign jinekolojik patolojilerde, periton yıkama sıvıları içeriğindeki konsantrasyonu değerlendirildi.

Jinekoloji kliniğine başvuran toplam 67 hasta değerlendirildi. Jinekolojik tümöral patolojileri olan hastalar, patolojik verilere göre benign ve malign grup olarak gruplandırıldı. HMG B1 konsantrasyonları ticari ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Bu iki grup arasında, periton yıkama sıvıları içeriğinde bulunan HMG B1 proteini konsantrasyonları karşılaştırıldı.

Sonuç olarak, elde edilen veriler, tümör cerrahisi sırasında elde edilen periton yıkama sıvıları içeriğindeki HMG B1 proteini düzeylerinin, malign jinekolojik patolojileri olan hastalarda, benign olan gruptan istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu göstermektedir. ($p < 0,05$).

Anahtar kelimeler: High mobility group box (HMGB), Malignite, İnvazyon, Sitokin

ABSTRACT

High mobility group box (HMGB) proteins are multifunctional nuclear proteins. In the eukaryotic cells, HMG B1 is located in the nucleus, cytoplasm and extracellular space. It modifies gene transcription, DNA replication, repair and recombination.

The presence of HMG B1 has been studied in various cancers. It performs different pathogenic roles in malign tumor occurrence, tumor spread and angiogenesis. In this study, we hypothesized that, a research which show the levels of HMG B1, in peritoneal washing fluids in gynecologic pathologies obtained during procedure of tumor surgery, may be important to prediction of determining the malignancy.

In this study, it was evaluated concentration of HMG B1 in peritoneal washing fluids in malign and benign gynecologic pathologies as a biochemical marker.

A total of 67 patients who had been admitted in gynecology clinic were evaluated. Patients with gynecologic tumoral pathologies were grouped as benign and malign group, according to pathological data. HMG B1 concentrations were measured in samples by using a commercial ELISA. Concentrations of HMG B1 proteins in peritoneal washing fluids were compared between these two groups.

In conclusion, these findings demonstrate that levels of HMG B1 protein in peritoneal washing fluids obtained during tumor surgery in the patient with malign gynecologic pathologies are statistically higher than benign group ($p < 0,05$).

Key words: High Mobility Group Box B1, Malignancy, Invasion, Cytokin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

High mobility group box 1 (HMG B1), intra ve ekstrasellüler mikroçevrede her bölgede bulunabilen önemli rollere sahip bir kromatin proteinidir. HMG B1'in, birçok immünolojik ve inflamatuvar hastalığın patogeneğinde rolü olduğu ileri sürülmüştür. HMG B1, aktive olmuş inflamatuvar hücrelerden proinflamatuvar sitokinlerin üretimini sağlayan bir sitokin davranışı gösterir. HMG B1 intersellüler ve vasküler adezyon moleküllerini artırır. Apoptotik nükleozom ile kompleks yapar ve makrofajları aktive eder. Sonuçta antijen sunumunu ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini sağlamış olur (1).

HMG B1 kanser gelişiminde ve hücre göçünde anahtar bir arabulucu olarak rol oynar. Konuyla ilgili çalışmalar, aşırı HMG B1 ekspresyonunun tümör invazyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca HMG B1'in serum düzeylerinin, tümörün lenf nodu metastazı, tümör boyutu, derinliği ve kötü prognozu ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür.

Son zamanlarda yapılan araştırma verilerine göre, HMG B1 aşırı ekspresyonu ile kanser hücrelerinde apoptozisin inhibe edilmesi ve tümör invazyonuyla ilgili genlerin mutasyonu, birbirleriyle ilişkilidir. HMG B1 ve reseptörlerinin (RAGE gibi) artmış ekspresyonu; hepatosellüler karsinom, meme kanseri, melanom, prostat kanseri, gastrik kanser ve kolorektal kanser gibi bir çok tümör tipinin çoğalması ve metastazı ile ilişkili olarak bulunmuştur (1,2).

Bu çalışmada, HMG B1 proteininin kanser gelişimindeki rolünden yola çıkarak; malign ve benign jinekolojik patolojilerde, biyokimyasal bir belirteç olarak HMG B1'in periton yıkama sıvıları içerisinde bulunan konsantrasyonunun araştırılması amaçlanmıştır. Sitolojik incelemesi yapılmış sıvıların, içeriklerinde bulunan HMG B1 proteini düzeyi değerlendirilmesinin, malign ve benign ayrımı yapabilmesi üzerindeki etkinliği incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

İnsanda HMG B1 geni, 13q12 kromozomunda yer alan x eksonlarından oluşur ve gen ifadesi çok güçlü, TATA olmayan (TATA-less) bir promotörün kontrolü altındadır (3).

HMG B1 proteini bir chromatin-binding factor gibi davranış sergiler. Gerek hücre içi, gerekse hücre dışında çok çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahip olan proteinlerdir. HMG B1 hem bir nükleer faktör, hem de salgılanan bir protein olma özelliği taşır.

İlk olarak 1970’lerde buzağı timusunda keşfedilmiş ve nükleustan pürifiye edilmiştir. ‘High mobility group’ ismini sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezindeki hızlı mobilitesinden dolayı almıştır (4).

HMG ailesi A, B ve N olarak adlandırılan 3 gruba ayrılmıştır. HMG B grubu proteinlerin, HMG B1 , HMG B2 ve HMG B3 olmak üzere üç üyesi vardır (2,5). İnsanda HMG B1 gen ifadesi yüksek bir sıklıkta gözlenirken, HMG B2 ve B3 daha kısıtlı olarak ifade edilmiştir. Bu genin ifadesi epigenetik faktörlerden etkilenebilir. Embriyo döneminde HMG B2 ve 3 gen ürünü yüksek oranda eksprese edilir fakat erişkin yaşamda sadece testis ve lenf dokusundadır (6,7). Ökaryotik hücrelerde DNA’ya bağlanarak, spesifik DNA hedeflerine düzenleyici komplekslerin erişiminine olanak sağlamaktadır. HMG B1’in, halka şeklinde DNA, tek zincirli DNA, B ve Z DNA, hemicatenated DNA, gibi farklı DNA yapılarına afinitesi olduğu belirlenmiştir (8).

HMG B1, DNA’nın replikasyonu, rekombinasyonu, transkripsiyonu, tamiri ve sarmal yapısının bükülerek nükleozom oluşumunu kolaylaştırması gibi fonksiyonları nedeniyle, bir DNA şaperonu olarak işlev görür. Nükleer işlevinin yanı sıra, hücre dışı sinyal iletimi, hücre sel yangı, tümör istilası, hücre diferansiyasyonu ve hücre göçünde farklı aşamalarda çeşitli roller üstlenir (9).

Jinekolojik kanserler, vulvar, vaginal, servikal, endometriyal ve ovaryan kanserler ve gestasyonel trofoblastik neoplazileri içeren bir hastalık grubudur. Kadınlarda morbidite ve mortalitenin en sık ikinci nedeni olan jinekolojik kanserler, halen gelişmekte olan ülkelerin önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Bu tümörler arasında yer alan endometrium kanseri, kadın üreme sisteminin frekansı en yüksek malignansisidir; prognozu en kötü olan jinekolojik

kanser ise over kanseridir. Kadın üreme sistemi malign tümörlerinin görülme sıklığı ve histopatolojisi coğrafi olarak farklılık göstermektedir (7,10). Kadın üreme sisteminin benign tümörleri arasında ise, uterin leiomyomalar çok büyük yer tutmaktadır (11).

Jinekolojik cerrahilerde, ameliyat esnasında batının açılmasını takiben, rutin olarak periton boşluğu yıkandıktan sonra, toplanan sıvının sitolojik incelemesi yapılmaktadır. Periton yıkama sıvıları hastalığın doğru tespit edilmesine, hastalığın optimal evreleme ve izlemine katkı sunar. Jinekolojik neoplaziler değerlendirilirken pozitif sonuçlu sitolojiler, gizli intraperitoneal malign hücrelerin varlığını belgelemek için kullanışlı olmasına rağmen; evreleme prosedürlerinin genişliği gereği, prognostik olarak her zaman önemli sayılmazlar. Periton yıkama sitolojisi artık malignensi evrelemesinin bir bileşeni değildir. Kanser pelvik boşluk veya lokal lenf düğümlerinin ötesine geçtiği vakalarda, yıkama sıvısı sitolojisi belirleyici bir unsur olarak değerlendirilmemektedir. Fakat periton sıvılarının sitolojik incelemesi, minimal risk içerir ve sensitivitesi nispeten yüksektir. Pozitif bir sitoloji, mikroskopik hastalığı tespit edebilir ve bazı seçilmiş vakalarda yüksek evre hastalığa, buna ek olarak kötü bir prognoza işaret edebilir. Periton yıkama sıvılarında kanser hücrelerinin belirlenmesi, nispeten yüksek dereceli tümörlerin bir prezentasyonu olsa da, düşük dereceli jinekolojik neoplazileri taklit edebilen iyi huylu bir takım patolojilerin öngörülmesinde de fayda sağlayabilir (12).

2.1. HMG B1'in Yapısı ve Salınımı

HMG B1 üçlü α -heliks yapısına sahip, 25-30 kDa ağırlığında bir proteindir. Yapısal olarak HMG B1, farklı aminoasit dizilimi olan; A box-kutusu (9-79 aminoasit) ve B box-kutusu (89-162 aminoasit) olarak adlandırılan bölgelere sahiptir. A ve B kutusunun her biri yaklaşık 80 aminoasit kalıntısı içerir ve bir negatif yüklü asidik C-terminal kuyruğa sahiptir. C-terminal kuyruk, yaklaşık 30 adet ardışık aspartat ve glutamat kalıntısından oluşur.

A kutusu antiinflamatuvar etki ile ilgili fonksiyon gösteren, HMG B1'in hasar gören DNA'ya bağlanmasını sağlayan bölgesidir ve HMG B1'e spesifik bir antagonist olarak görev yapar. A kutusu ayrıca bir heparin bağlanma bölgesi (6-12 aminoasit) ve trombin aracılı proteolitik bölünme bölgesi (10-11 aminoasit) içerir. Trombin-trombomodülin kompleksi aracılığı ile parçalanmış HMG B1'in,

proinflamatuar etkinliğinde azalma ve aynı zamanda heparin ile bağlanma afinitesinde bir azalma gerçekleşir (Şekil 1), (6,13).

B kutusu DNA bağlanmasındaki rolüne ek olarak, HMG B1'in sitokin aktivitesiyle de ilişkilidir. Makrofajlardan salınan Tümör Nekrozis Faktör α (TNF α) ve diğer proinflamatuar sitokinler ile uyarılan bir bölgedir (14). Bu bölge makrofajlardan sitokin salınımıyla oluşan aktivasyonda önemi olan, Toll benzeri reseptör (TLR) (89-118 aminoasit) ve ileri glikasyon son ürün reseptörü (RAGE) (105-183 aminoasit), için gerekli olan iki önemli bağlanma yerini içerir. Yapıdaki ilk 20 kalıntı aminoasit, proinflamatuar yanıtı indüklemek için gereken minimum peptidi temsil eder (15,16).

Hücre dışında HMG B1'in varlığı, eritroid diferansiyasyonunda önem taşır. B kutusunda başka bir peptid (130-139 aminoasit), eritrolökemi hücre farklılaşmasında rol alır (17). C-terminal kuyruğu, DNA hasar onarımı ve DNA bükülmesinden sorumludur ve DNA'ya bağlanan diğer transkripsiyon faktörlerini promote eder. C-terminal kuyruğu HMG B1'in yapısal stabilitesini artırır (18).

HMG B1, A kutusunda (3-15 aminoasit) ve B kutusunda (80-96 aminoasit), iki adet LPS (lipopolisakkarid) bağlayıcı, peptid bölgesi içerir. Bu peptid bölgesi HMG B1'in LPS aracılı TLR 4 sinyal yolağı işlevinde önemlidir (19). HMG B1'in translokasyonunu indüklemek için gerekli olan post-translasyonel modifikasyonlar (asetilasyon, fosforilasyon, metilasyon ve oksidasyon gibi) için, 215 aminoasitlik bir peptid bölümü bulunur (20, 21).

Hücreden salınan HMG B1 proinflamatuar bir aracı olarak sitokin benzeri bir işlev sergilemektedir. HMG B1 ekstrasellüler ortama, inflammatuar hücrelerden aktif bir şekilde salınır. Yaralanmanın neden olduğu nekroz veya programlı hücre ölümünden sonra ise, ilgili hücrelerden, pasif olarak salınır (Şekil 2), (6).

İmmünolojik hücreler inflammatuar uyarılarla aktive edildiğinde; çekirdekteki HMG B1, asetilasyon, fosforilasyon, metilasyon ve redoks değişimi gibi translasyon sonrası değişiklikler geçirerek, aktif olarak dışarı salgılanır. HMG B1 salınımı ile organizmada inflammatuar yanıtlar tetiklenir. Hücre dışı HMG B1'in bu inflammatuar aktivitesi redoks değişikliğine bağlıdır (Şekil 2). HMG B1, redoks değişimi sırasında modifiye edilen, üç sistein kalıntısı (C23, C45, C106) içerir. Tüm tiol grupları indirgenmiş HMG B1 formu, kemokin aktivitesi gösterir. C23 ve C45'te moleküller

arası disülfit bağı oluşumu, HMG B1'in sitokin aktivitesini uyarır. Hücrelerdeki HMG B1'in tamamen okside olmuş hali, bilinen bir bağışıklık fonksiyonuna sahip değildir (16).

HMG B1 proteini, LPS, interlekin-1, interferon γ veya TNF gibi proinflamatuvar uyarılara bağlı aktivasyona geç bir yanıt olarak, makrofajlar ve monositler tarafından salgılanır. Bu hücrel yanıt bileşenleri, HMG B1'in çekirdekten sitozole translokasyonunu sağlayan, lizin kalıntıların asetilasyonunu modifiye ederler (22).

TNF α kaynaklı fosforilasyon yolunda, kalsiyum bağımlı bir mekanizma ile klasik protein kinaz C (cPKC) sinyal yolağı vasıtasıyla, HMG B1'in nükleer lokalizasyon sinyallerinde bulunan serin kalıntılarında fosforilasyon oluşturulur. Bu fosforilasyon dışarı salınma özelliği için önem taşır (23).

Diğer bir posttranslasyonel modifikasyon, nötrofillerde HMG B1'in aktif sekresyonunu indükleyen lizin 42'deki metilasyon yoludur. Bu modifikasyon HMG B1'in A kutusunda konformasyonel bir değişiklik ile, DNA bağlanma afinitesini azaltır ve çekirdekten sitoplazmaya difüzyonuna neden olur (20).

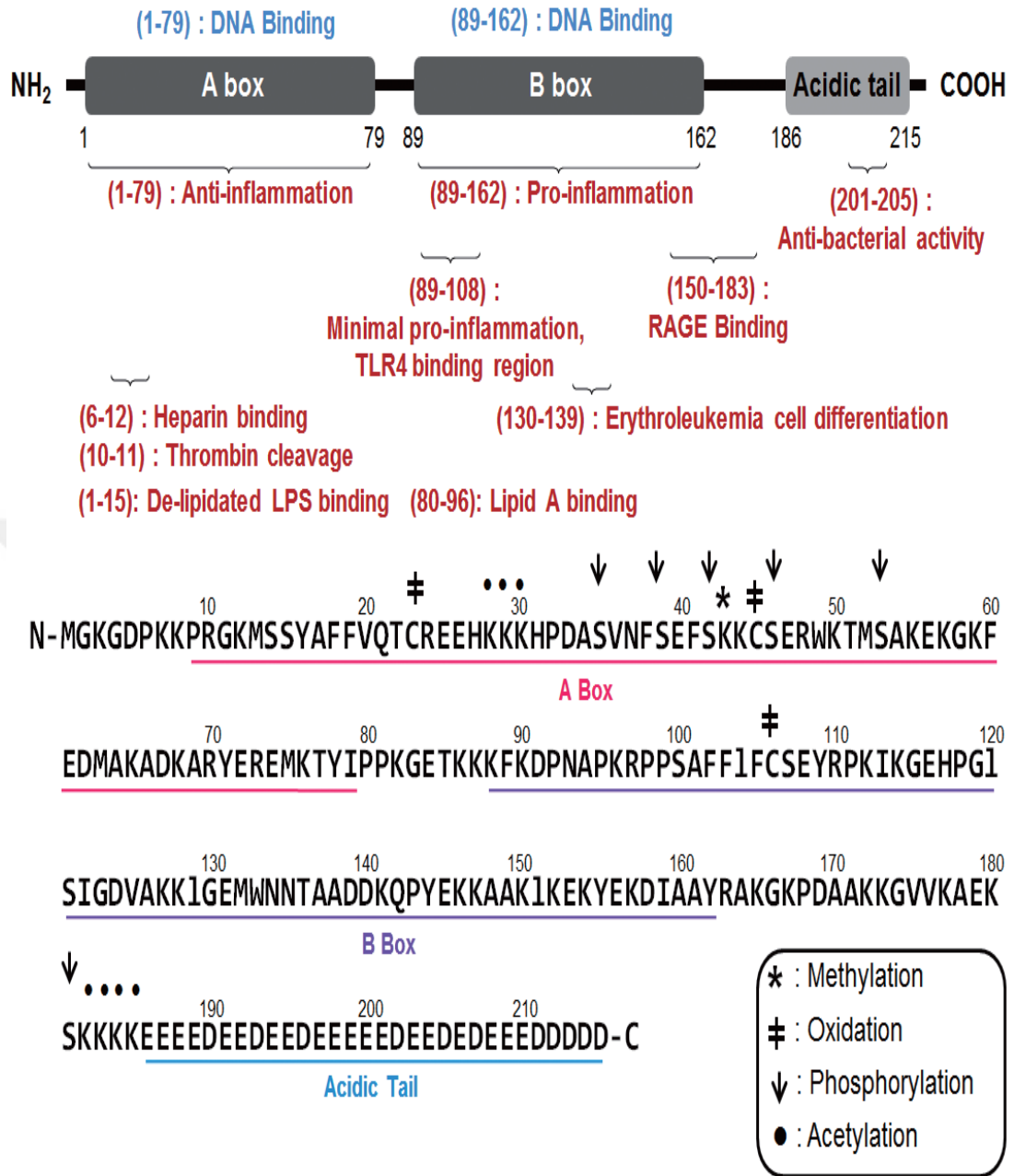
2.2. HMG B1 Reseptörleri ve Etkileşimleri

HMG B1 major transmembran reseptörlerine bağlandığında, nükleik asitler, interlekinler, LPS, lipoteikoik asit, CXCL 12 (stromal cell-derived factor-1) ve nükleozomlar gibi biyolojik yapılar ile ilişkili farklı etkileşimler gösterir (24, 25).

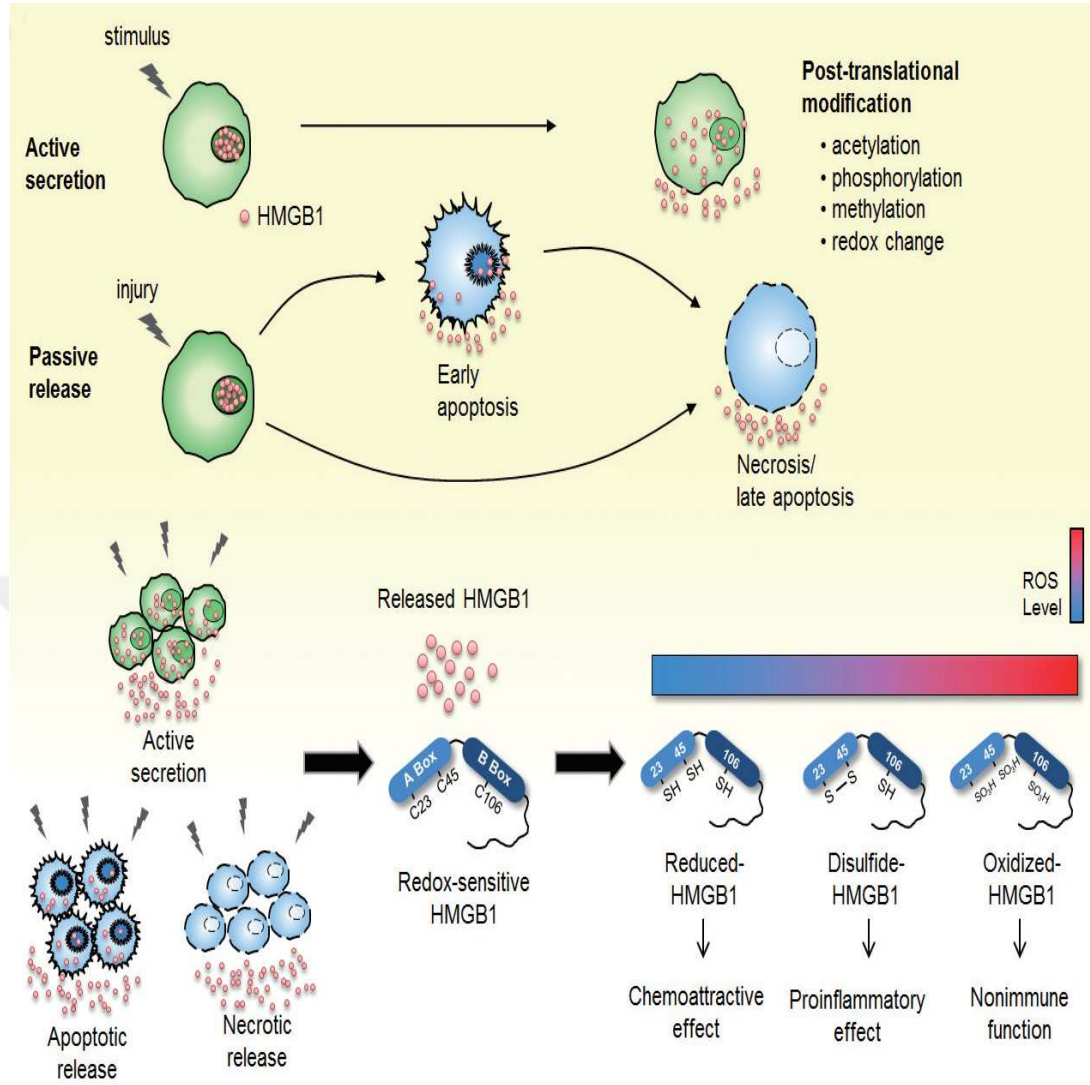
HMG B1'in, RAGE, TLR 2, TLR 4 ve TLR 9 reseptörlerine bağlanıp, etkileşiminin gerçekleşmesi, NF- κ B'nin (Nuclear Factor kappa B) aktivasyonuna yol açan hücrel sinyalleri harekete geçirir (Şekil 3).

HMG B1'in LPS, lipoteikoik asit ve CpG-DNA ile etkileşimi sırasıyla, TLR 4, TLR 2 ve TLR 9 aracılı sinyalizasyonu artırır ve bu sinyalizasyon, NF- κ B aktivasyonu ile proinflamatuvar sitokin üretiminde artışa yol açar.

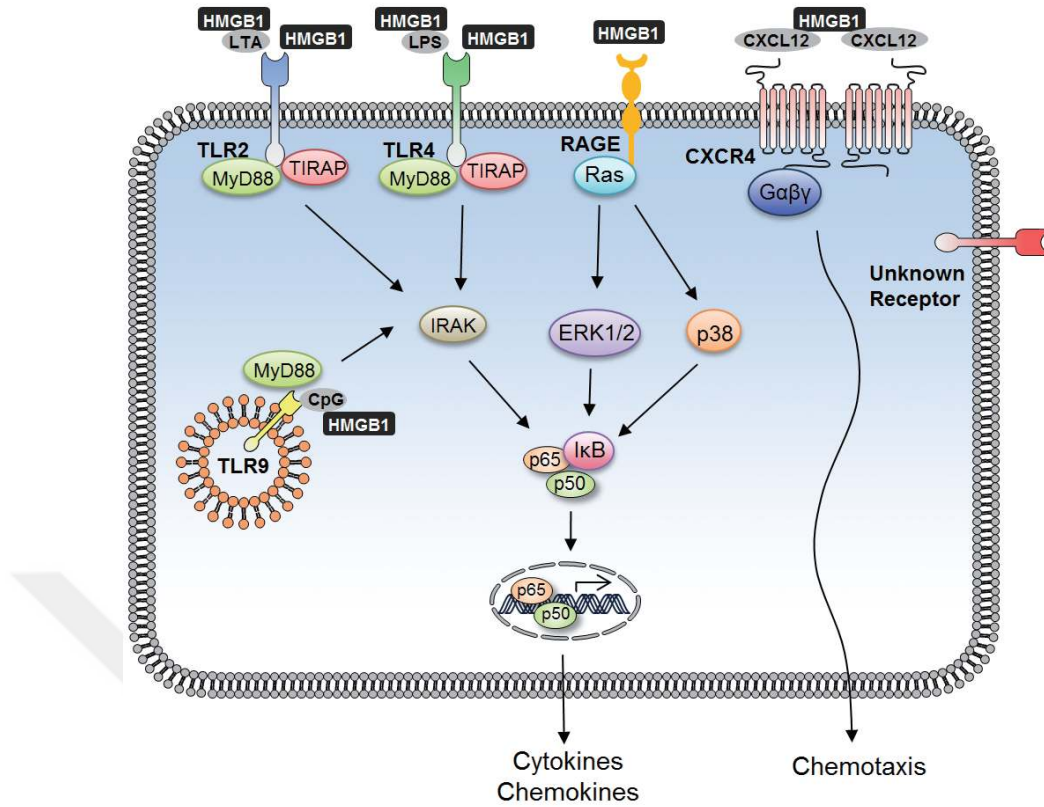
HMG B1 ayrıca, CXCR 4'e (Chemokine receptor 4) bağlanan ve inflamatuvar hücrelerin kemotaksisi ve salınımı indükleyen CXCL 12 ile etkileşime girer (6).



Şekil 1. HMG B1'in moleküler yapısı (6).



Şekil 2. HMG B1'in salgı mekanizması ve redoks durumunda inflamatuvar rolü (6).



Şekil 3. HMGB1'in reseptörleri ve sinyal iletim yolu (6).

2.3. HMGB1 ve Replikasyon Potansiyeli

HMGB1 lenfosit proliferasyonunu doza bağımlı olarak düzenler (26). İn vitro HMGB1, yetişkin ve embriyonik mezoanjyoblastlarda migrasyon ve proliferasyonu indükler ve endotelial tabakanın bariyer fonksiyonunu bozar (27). Deneysel bir çalışmada, hücre kültüründe, insan kalın bağırsak malign hücrelerinin, HMGB1 üretimini arttırması yoluyla, makrofaj büyümesini engellediği gözlenmiştir (28).

HMGB1'in replikasyondaki bir rolünde telomerler üzerine olan etkileridir. Telomerler tekrar eden kısa DNA sekanslarıdır ve ökaryotik organizmalarda lineer kromozomların terminal kısımlarında yerleşmişlerdir. İnsanlarda telomerlerin kısalması, 'replicative senescence' i indükler ve hücre bölünmesinin bloklanması ile sonuçlanır. Malign hücrelerde telomer uzaması sonucu oluşan limitsiz replikasyon nedeni ile, hücreler ölümsüz olur. Mitoz sırasında HMGB1 kromozomdan ayrılır ve telomerlerin korunmasında görev alır. HMGB1'e sahip olmayan fareler doğumdan kısa süre sonra ölmüştür (29). HMGB1'in aşırı ekspresyonu telomerlerde uzama ile

ilişkilidir. Fakat memeli hücrelerinde telomer uzaması ve HMG B1 arasındaki ilişkinin bütün mekanizması henüz tam olarak açık değildir (30).

2.4. HMG B1 ve Büyüme Karşıtı Sinyaller

Büyüme karşıtı sinyaller iki ayrı mekanizma ile proliferasyonu bloke edebilirler. Hücreler, ekstrasellüler sinyaller izin verdiğinde; aktif proliferatif fazdan, sessiz faza (G0) çıkmaya zorlanmış olabilir veya hücreler postmitotik faza geçiş için proliferatif potansiyellerinden kalıcı olarak vazgeçmek üzere indüklenmiş olabilirler (31, 32).

HMG B1'den yoksun MEF'lar (Mouse embryonic fibroblast), azalmış kaspaz aktivitesi gösterirler ve antimetabolit ilaçların indüklediği genotoksik stresi takip eden hücre döngüsünün durmasına gölge düşürürler (33). Hipofosforile bir fazda pRb, hücre proliferasyonunu, E2F transkripsiyon faktör ailesini kenetleyerek ve fonksiyonlarını değiştirerek bloke eder (31). HMG B1, pRb'yi uyaran bazı proteinlerle, sınırlı sayıda aminoasit içeren diziler üzerinden etkileşim kurar (34). HMG B1 ve Rb etkileşimi, hücre siklusunun G1 fazında durdurulması, programlı hücre ölümünün aktive edilmesi, E2F ve siklin A baskısı açısından önemlidir fakat radyosensitizasyon açısından gerekli değildir. HMG box içeren bir transkripsiyon faktörü olan UBF, pRB ile ilişkili olan transkripsiyon baskılanması için primer bir hedeftir (35).

2.5. HMG B1 ve Büyüme Sinyalleri

HMG B1 tümör büyümesinde önemli rolleri olan bazı sinyal yollarını aktive eder. HMG B1'in etkilediği bu ileti sistemleri, hücre çoğalması sürecinde aktive olan protein kinaz B (AKT), mitojen aktive protein kinaz (MAPKs) ve NK-kappa B'yi kapsayan sistemlerdir.

Nötrofillerde, fosfotidil inozitol 3 kinaz / protein kinaz B'nin görev aldığı bir sinyal ileti sisteminin işlevinin artışında, HMG B1'in rolü vardır (36). Rekombinant HMG B1 ile nötrofillerin in vitro stimülasyonu; MyD88-IRAK4-p38 MAPK ve MyD88-IRAK4-AKT sinyal yolları vasıtasıyla, TLR 4 bağımlı NADPH oksidaz aktivasyonu ve bununla beraber artmış reaktif oksidasyon ürünlerinin üretimine neden olur (37).

HMGB'in RAGE ile bağlanması, NF-kappa B ve ERK 1/2, p38 ve SAPK/JNK kinaz aktivasyonuna neden olur ve aktive ettiği bu yollar, sonunda proinflatuar sitokinlerin salınımının artışı sağlar (38). HMG B1 aynı zamanda TLR 2 ve TLR 4'e de bağlanır; bu bağlanma sonucunda, her iki reseptör fonksiyonuyla, NF-kappa B'nin MyD88 bağımlı aktivasyonu gerçekleşir (Şekil 3), (39).

HMG B1'in proinflatuar fonksiyonunu sağlayan yollar, MAPKs ve NF-kappa B sinyal yollarıdır. MEK1/MEK2, protein kinaz C ve PI-/AKT'nin inhibitörleri, sitokin aracılı HMG B1 sekresyonunu inhibe ederler (40).

HSP 72'nin aşırı ekspresyonu da, HMG B1 aracılı sitokin (TNF- α , IL-1beta) ekspresyonunu ve salınımını kuvvetli bir şekilde inhibe eder. Yükselmiş Hsp72, MAP kinazların (p38, JNK ve ERK) inhibisyonunu sağlar ve NF- κ B yolağını inhibe eder (41, 42).

2.6. İnflatuar Mikroçevrede HMG B1

Pek çok insan tümöründe kanser gelişiminin evreleri, immün sistem tarafından regüle edilir. Genetiği değişmiş kanser hücreleri ve bağışıklık sisteminin bileşenleri olan hücreler arasındaki, birbirini etkileyen kompleks ilişki, kanserin oluşum sürecinde önemli yer tutar.

Hücrelerin kendisi olduğu gibi, bu hücrelerden salınan kimyasal haberciler ve hücre strüktürel komponentleri de tümör mikroçevresinde mevcuttur. Premalign evrede, neoplazm gelişme bölgesindeki bağışıklık hücrelerinin kronik aktivasyonu tümör gelişimini arttırabilirken; malignensinin yayılım evresinde, bağışıklık hücrelerin aktive olması kötü huylu tümör hücrelerinin yok edilmesini sağlar. Başka bir deyişle, kabul edilebilir antitümöral bağışıklık yanıtı ile, kötü etkili protümöral kronik inflammatuar yanıt arasında, malignitenin şekillendiği şartlara da bağlı olan, bir balans olduğu düşünülmektedir (43).

HMG B1 doğal bağışıklık hücrelerini, biyolojik tehlikeye karşı ikaz durumuna getirir (44, 45). HMG B1 hücresel açıdan çekinceli bir durum uyarısı yada yangısal reaksiyonlarda aracılık rolünü oynamak üzere, ekstrasellüler alana iki farklı yolla çıkar. Canlı inflammatuar hücrelerden ya da biyolojik olarak travmaya uğramış hücrelerden ekstrasellüler alana yayılan HMG B1; kemoterapi tedavisi yapılırken

veya ışın tedavileri sırasında meydana gelen hücre ölümüne bağlı olarakta hücre dışına salınabilir.

Lökositler aktive olduklarında, mikroçevrelerine HMG B1 proteini sekrete ederler. Bu salınım aktif bir şekilde gerçekleşir. Ekstrasellüler HMG B1, inflamatuvar reaksiyonla ilişkili sitokin ve kimyasal mediatörlerin salınımı, stroma hücrelerinin etkileşimleri, endotel hücre aktivasyonu, doğal bağışıklık hücrelerinin indüksiyonu ve dentritik hücre olgunlaşması gibi karsinogenez patofizyolojisinde yer alan, kronik yangısal yanıtta, çeşitli roller üstlenir (46).

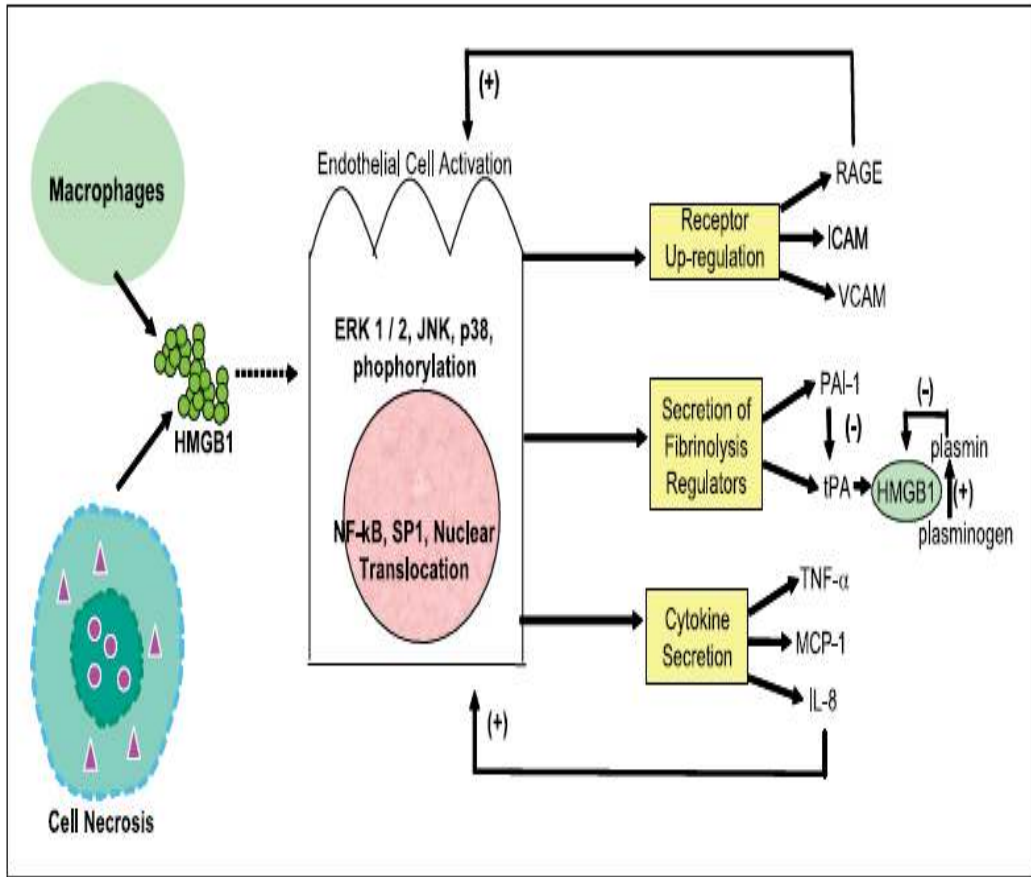
HMG B1 ile ilişkili bazı sentetik peptidlerin (örneğin, pHMGB-89 ve pHMGB-106) farelerde gümüş içeren lipozomların immünojenitesini arttırma yeteneğinin olduğu, deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. pHMGB-89 ve pHMGB-106 yerleştirilen B16-OVA türevi hücre membran vezikülleri ile aşılınmış farelerde, T hücresi aktivasyonu ve antikorlarının üretilmesi ile karsinogenez süreci ve tümör ekspansiyonu inhibe olmuştur. Genetik olarak aynı olan diğer farelerde ise yüksek oranda melanom metastazı gözlenmiştir (47).

HMG B1'in inflamatuvar mikroçevredeki farklı bir rolüde, fosfatidilserine bağlı olarak apoptotik nötrofillerin fagositozunu inhibe etmesidir (48).

2.7. HMG B1 ve Endotel Hücreleri

HMG B1 nekrotik hücrelerden veya aktive edilmiş monosit / makrofajlardan salındığında, endotel hücreleri ile etkileşir. Bu etkileşim sonucunda, ERK1 / ERK2 ve stres ile aktive edilmiş mitojen ile aktive olan protein kinaz yolları (c-Jun-NH2-kinaz ve p38) ve daha sonra NF- κ B ve Sp1 mediatörleri aktive edilmiş olur. Endotel hücresi aktivasyonu, TNF-alfa gibi sitokinlerin salgılanmasına da neden olur, bu durum sitokin sekresyonunu daha da güçlendirir.

ERK1 / ERK2 ve mitojenle aktive olan protein kinaz yolları, RAGE ve hücrel adezyon reseptörleri gibi reseptörleri up-regüle etmekte ve bu artışlarda, reseptör aktivasyonunu pozitif yönde geri beslemektedir. Plazminojenin plazmine dönüştürülmesi, endotel hücresi ve HMG B1 etkileşimleri tarafından indüklenir. Daha sonra aktive olan bu fibrinoliz düzenleyicisi, HMG B1'in proteolitik bölünmesine aracılık eder (Şekil 4), (3).



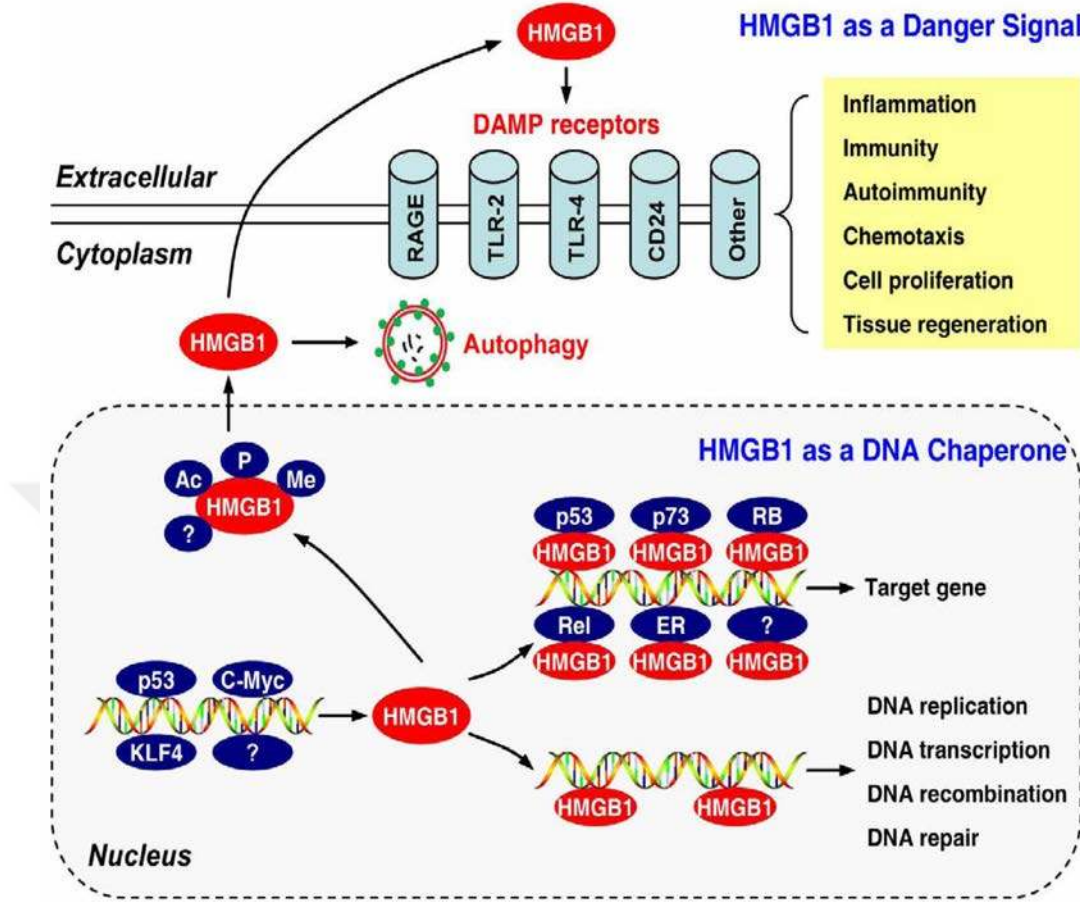
Şekil 4. HMG B1'in endotel hücreleriyle etkileşimi (3).

2.8. DAMP Molekülü Olarak HMG B1

DAMP (danger-associated molecular patterns) molekülleri doğuştan gelen bağışıklıkta kritik proinflatuar bir rol oynayan, endojen tehlike sinyali grubudur. "Alarmin" olarak bilinen bu moleküller, stresli yada hasar görmüş hücrelerden salınır ve reseptörlerine (pattern recognition receptors, PRRs) bağlanarak inflamatuvar cevapların indüksiyonuna katkıda bulunur.

DAMP molekülleri adaptif immün yanıtı arttırırlar. Antijen sunan hücreleri, patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMP) veya proinflatuar sitokinler ile karşılaştığı sırada etkinleştirirler ve doku hasarı bölgesine hızla serbest bırakılırlar. HMG B1 bilinen en iyi DAMP moleküllerinden biridir. HMG B1 , özellikle nekrotik hücre ölümünde, yaralı hücreler tarafından salgılanır (Şekil 5).

HMG B1, antijen spesifik bağışıklık tepkisini arttırma yeteneğinin yanı sıra, bir kemoatraktan ve dendritik hücre aktivatörü olarakta görev yapar (49).



Şekil 5. HMG B1'in intranükleer şaperon rolü ve ektranükleer DAMP fonksiyonu

HMG B1'in ekspresyonu, p53, c-Myc ve KLF4 gibi transkripsiyon faktörleri ile regüle edilebilir. HMG B1 bir DNA şaperonu olarak, DNA replikasyonu, rekombinasyonu, transkripsiyonu ve onarımına katılır. HMG B1, kanser gelişiminde rol oynayan bazı tümör supresör genler, Rel/NF- κ B ailesi üyeleri, ve steroid hormon reseptörleri (örneğin, ER) gibi transkripsiyon faktörleri ile de etkileşimde bulunur. Sitozolik HMG B1 otofajiyi, özellikle de mitofajiyi teşvik eder. İnflamatuvar hücreler tarafından salgılanır, yüksek bir afinite ile RAGE, TLR'lerden: TLR-2, TLR-4 ve TLR-9'a ve negatif bir sinyal molekülü olarak enfeksiyon cevabına aracılık eden CD24 gibi birçok reseptöre bağlanır. Bağışıklık, otoimmünite, kemotaksis, hücre proliferasyonu ve doku rejenerasyonunda rol oynar (9).

2.9. HMG B1 ve Kanser

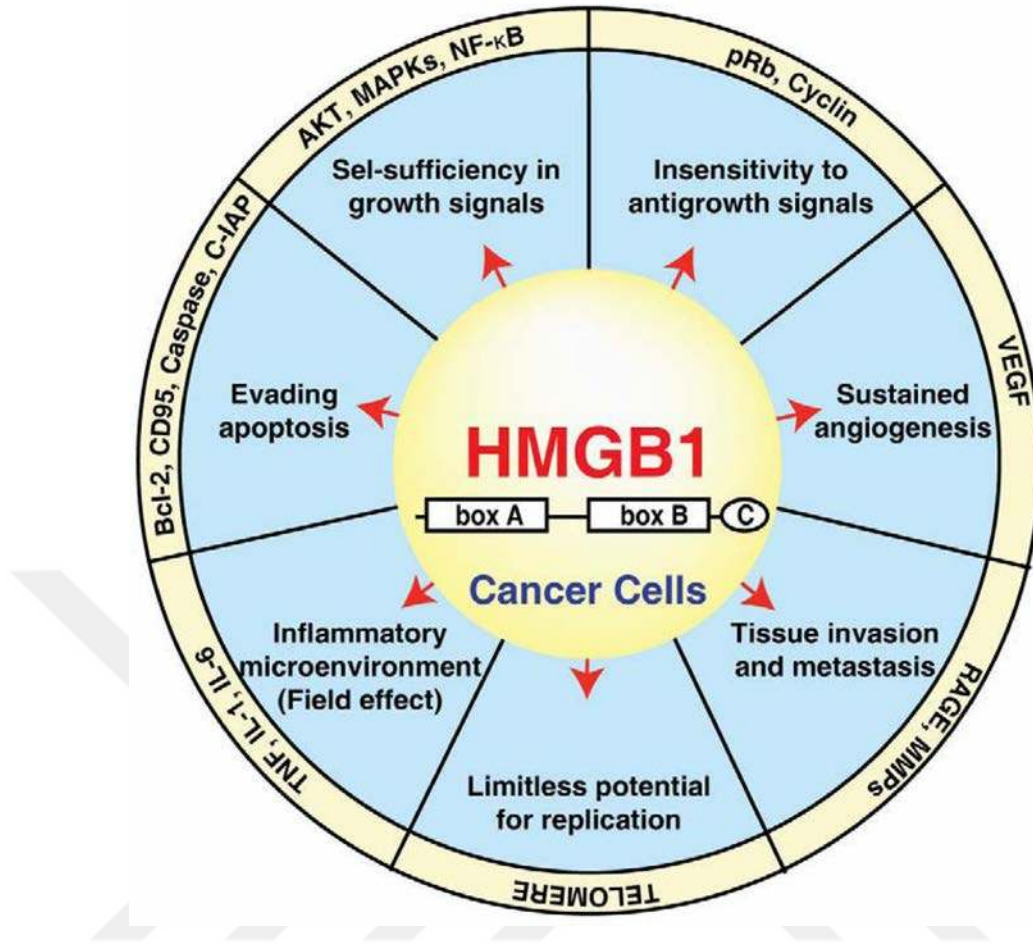
Yakın zamanda yapılmış çalışmalar, HMG B1'in malign tümör gelişimi sürecinde önemli bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir. HMG B1 proteini hem kanserli, hem de sağlıklı hücrelerin nükleusunda bulunmaktadır (6, 9). Bu nedenle HMG B1 ve ona ait reseptörler potansiyel bir anti-kanser hedef olarak değerlendirilmektedir.

HMG B1'in RAGE sinyalizasyonunda ve kanser metastazı sırasındaki rolü ilk olarak, neuritin modülasyonunda gözlenmiştir. C6 gliomaların yayılımı incelenirken, HMG B1-RAGE etkileşimleri bloke edilmiş ve hücre invazyonu, migrasyonu, büyümesi ve matriks metalloproteinaz (MMP) aktivitesinin oluşumunda, bu etkileşimin önemli olduğu gösterilmiştir (3, 50). Tüm kanserlerde RAGE-HMG B1'in yükselmiş olduğu düşünülmüş, fakat daha sonra yapılan çalışmalarda, akciğer kanserinde olduğu gibi, azalmış RAGE ekspresyonunda bulunabildiği görülmüştür (3). HMG B1'in aşırı ekspresyonu, meme, gastrointestinal, genitoüriner ve solunum sistemi kanserleri gibi bir çok kanser tipinde gösterilmiştir (51).

Karsinogenez patogenezi ve karsinogenezin yarattığı inflamatuvar reaksiyonlar bilimsel çalışmaların ilgi odağı olmuştur. Diğer rollerine ek olarak, HMG B1, karsinogenez sürecinde, p53 ve p53 ile ilişkili p73 gibi tümör supresör genlerin, NF- κ B gibi hücresel transkripsiyon faktörlerinin, aktivitesini arttırmaktadır. HMG B1 tümör ekspansiyonu sırasında hücre dışı ortama salınarak karsinogenezin ekstrasellüler gelişim patogeneze katkı sunar (52, 53). HMG B1, kanser hücrelerinin, doku istilası, sınırsız ve bağımsız çoğalma potansiyeli, yeni kan damarı oluşturma kabiliyeti, programlanmış hücre ölümünden kaçınması gibi süreçlerinde; inflamatuvar mediatörlerin ortalama salınması ve immün hücrelerin (makrofajlar, dentritik hücreler gibi) aktivasyonu ile ilgili sinyal yollarının teşvik edilmesinde; önemli bir bileşen olarak fonksiyon görür (Şekil 6) (54). HMG B1 sadece kanser hücrelerinden değil, sağlıklı hücrelerden, kanser tedavisi altındaki stresli hücrelerden, programlanmış hücre ölümüne ya da otofajiye uğrayan hücrelerden de salınmaktadır (55, 56). Programlanmış hücre ölümü sırasında, hedef hücreler, immün hücreleri aktive etmekte ve bu aktivasyon HMG B1 salınımına neden olmaktadır (56, 57).

HMG B1'in edinsel bağışıklık aktivitesini uyarabileceği ile ilişkili deneysel bir çalışmada, melanom hücre dizilerinde, IL-2 ile aktive edilmiş bir inkübasyondan sonra, tümöre spesifik sitolitik T hücrelerinden HMG B1 salınımının arttığı gösterilmiştir ve bu çalışmada HMG B1'in lokal inflamatuvar cevap sırasında bağışıklık yanıtını uyarabileceği belirtilmiştir (58). Ek olarak, karsinogenez immünolojisinde, HMG B1'in paradoksal etkilerinin olduğunu belirten çalışmalar da yapılmıştır. Bu çalışmaların verileri, HMG B1'in yeni damar oluşumunu indüklemekle beraber, istenen anti-kanser T hücre cevabını arttırdığı yönündedir (56, 57).

Kanser patogeneğinde, genetiği bozulmuş hücreler ile edinsel ve doğal bağışıklık sistemi hücreleri arasında, kompleks etkileşimleri içeren immün mekanizmalar rol oynar. Kanser mikroçevresi biyolojik mediyatörler, bağışıklık sistemi hücreleri ve hücre yapısal komponentleri açısından zengindir. HMG B1 kanser mikroçevresinde bulunan doğal bağışıklık sistemi bileşenlerini strese veya düzensiz hücre ölümüne karşı bir uyarı durumuna getirir (59). Bilimsel çalışmalar, HMG B1 ile çeşitli kanserlerin malign fenotipleri arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu korelasyon hücre dışı HMG B1'in, tümör büyümesi ve metastazına katkıda bulunan biyolojik süreçler olan; anjiogenez, hücre göçü ve makrofaj kemotaksisine yol açması ile açıklanabilir. Hücre dışı HMG B1, proinflamatuvar sitokin aktivitesinin bir parçası olarak; vasküler endotelial hücrelerin büyümesini ve tümör hücrelerine ait yeni gelişen filizlenmeleri de stimüle eder (Şekil 6), (60).



Şekil 6. Kanser gelişiminde HMG B1'in rolü

Karsinogenezde, HMG B1'in aşırı ekspresyonu; sınırsız replikatif potansiyel, yeni kan damarı geliştirme yeteneği, programlanmış hücre ölümünününden (apoptoz) kaçınma, büyüme sinyallerine uygunsuz yanıt, inflamasyon, tümör invazyonu ve metastaz inhibitörlerine duyarsızlaşma, birbirleri ile ilişkilidir (9).

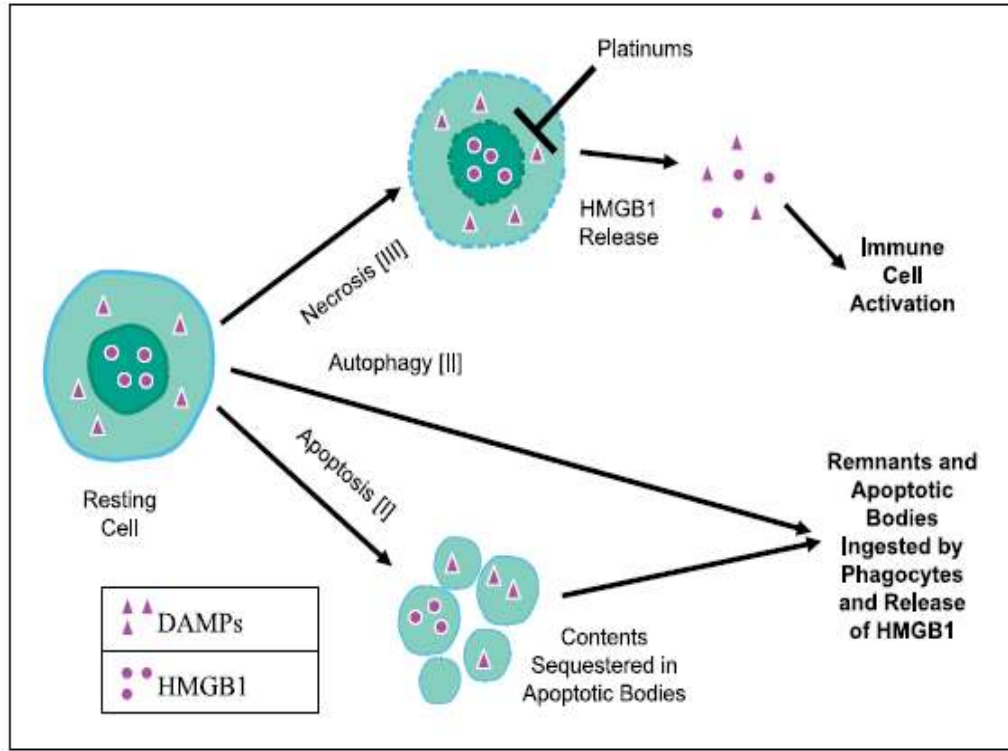
2.10. HMG B1 ve Apoptoz

HMG B1 değişik yollarla apoptozu inhibe edebilmektedir. HMG B1 overekspresyonu kaspaz 3 ve kaspaz 9 aktivitesini suprese eder. HMG B1 overekspresyonunun antiapoptotik bir protein olan sitokrom-apoptoz inhibitör protein 2'yi (c-IAP2) regüle ettiği gösterilmiştir.

Yapılmış bazı bilimsel çalışmalarda, kolorektal kanserde c-IAP2 düzeyi ve HMG B1 ekspresyonunun ilişkili olduğu gösterilmiştir. HMG B1'in, kolon kanserinde, makrofajlarda büyüme inhibisyonu yaptığı ve apoptozu RAGE yolağı ile

indüklediği belirtilmiştir. İnvitro hücre dizisi çalışmalarında HMG B1'in proapoptotik Bak geni ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (28, 36, 61).

Tümöral doku örneklerinde, p53'ün apoptoz sürecinde fonksiyonu olduğu, p53'ün HMG B1 ekspresyonunu indüklediği ve sitozolik HMG B1'in otofajiyi artırdığı gösterilmiştir (28, 62).



Şekil 7. Hücre ölüm şekilleri ve HMG B1

Bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunda hücrenin ölüm şekli önemlidir. İnsan hücrelerinin ölüm vakti geldiğinde, baskın olarak üç biyolojik olay gerçekleşir: birincisi apoptozis, ikincisi otofaji ve son olarak nekroz. Nekrotik ölüm sırasında, inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunun bir sonucu olarak; HMG B1, ekstrasellüler alan içerisine salınır. Apoptotik ölüm sırasında, HMG B1 Apoptotik body'lere kenetlenmiş şekilde nukleustadır. Fagositler tarafından apoptotik body yutulur ve HMG B1 salınır. HMG B1'in otofajideki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte; HMG B1'in otofajideki salınım şeklinin apoptozdakine benzediği düşünülür (3).

2.11. HMG B1 ve Anjiogenez

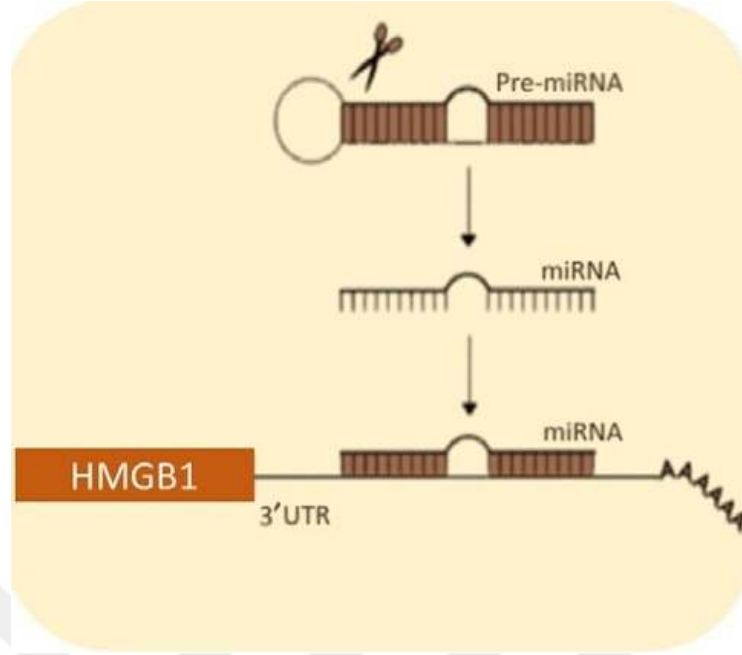
Tümör dokusunda hipoksik ve nekrotik alanlardan salınan anjiogenik faktörler, inflamatuvar hücrelerin nekrotik odaklara migrasyonunu kolaylaştırarak ederler. Tümörün hızlı büyüyor oluşu, hipoksinin ve nekrotik odakların oluşmasını kolaylaştıran bir faktördür. Makrofajlar anjiogenetik sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımına aracılık eder. HMGB'in aktivasyonu NF- κ B aktivasyonuna yol açar. Lökosit adezyon moleküllerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımı, inflamasyonun ve anjiogenezin başlamasını sağlar (9). HMG B1 hem doğrudan hemde dolaylı olarak pro-anjiogenik bir faktördür. HMG B1'i hedefleyen antikor tedavilerinin in vivo ve in vitro olarak anjiogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir. HMG B1 aktivasyonu, Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF) gibi anjiogenezi başlatan faktörleri de aktive ederek anjiogeneze yol açabilir (61). Ek olarak HMG B1 hematopoetik kök hücrelerin hasarlı doku alanlarına gelmesine ve RAGE tarafından sağlanan neovaskularizasyonun artmasına neden olmaktadır (42).

2.12. HMG B1 ve miRNA İlişkisi

miRNA'lar ortalama olarak 22 nükleotitden oluşan RNA dizileridir. Bu translasyona uğramayan kısa RNA dizileri, farklı biyolojik süreçler için gerekli olan, hücre içi düzenleyiciler olarak davranırlar. Patogenezinde HMG B1'in varlığı gösterilen biyolojik işlevlerden olan; hücre çoğalması, tümör yayılımı, programlı hücre ölümü, inflamasyon, immün regulasyon gibi sistemik süreçlerin kontrolünde; miRNA'ların etkileri olduğu gösterilmiştir. HMG B1 aktivitesi, miRNA yoluyla değişebilmekte ve aynı zamanda tersi bir etki ile HMG B1, miRNA'nın fonksiyonlarını değiştirebilmektedir. Örneğin, HMG B1 kaynaklı miRNA-221 ve miRNA-222'nin artışı kanserin ilerlemesini arttıran bir düzenlenmedir.

Hepatosellüler karsinom, akciğerin küçük hücre dışı kanseri gibi bazı malign tümör hücrelerinde, miRNA'nın yüksek oranda ifade edilmesi hücre proliferasyonunu ve yayılımını inhibe ederek; apoptozu indükler.

Bazı çalışmalarda, HMG B1'in matris metalloproteinaz aktivitesini miRNA-21 aracılığı ile arttırmış olduğu gözlenmiştir. Karaciğerde HMG B1'in, IL6 / Stat3-miRNA-21 sinyal ileti sistemi aracılığı ile malignensi gelişimine katkı sağladığı düşünülmektedir (şekil 8), (63).



Şekil 8. HMG B1 ve miRNA ilişkisi:

Bazı miRNA'lar 'translasyonel düzenleyiciler' rolü oynayarak HMG B1 geninin 3' UTR (untranslated region, kodlanmayan bölge) bölgesinde bulunan tamamlayıcı dizilere bağlanırlar (63).

2.13. HMG B1 ve DNA Replikasyonu, Rekombinasyonu ve Onarımı

HMG B1, DNA'ya gevşek bir şekilde bağlanan bir şaperon olarak kabul edilir. Bazı fonksiyonları H1 histon proteini ile ortaktır. Fakat HMG B1'in DNA'ya bağlanma yeteneği H1 proteinine kıyasla daha zayıftır. Bu durum, HMGB'in H1 proteini yokluğunda ya da onun ekspresyonu sınırlı iken, bağlayıcı bölge ile ilişki kurabileceğini düşündürmektedir (30).

DNA replikasyonu sırasında, HMG B1'in görevi, halen net olarak anlaşılamamakla beraber; deneysel çalışmalarda, asetillenmiş HMG B1'in DNA polimeraz a ve b aktivitesini aktive ettiği gösterilmiştir. HMG B1 fonksiyonunun olmayışı, DNA hasarının oluşum oranını artırır ve hasarlı DNA'nın tamir edilme oranını düşürür. Neoplazmlardan izole edilen veya rekombinant olarak üretilen HMG B1'in DNA replikasyonunu önlediği gözlenmiştir. HMG B1, nükleotid eksizyon tamiri, yanlış eşleşme ve baz eksizyon onarımı gibi bazı DNA tamir mekanizmalarında görev alır. T hücresi reseptörlerinin üretilmesi sırasında ve immünoglobülinlerin erken dönem genetik rekombinasyonu olan V(D)J

rekombinasyonu işleminde, HMG B1 aktif bir rekombinasyon oluşmasında rol oynar. HMG B1, DNA'dan RNA dizisi kopyalanması sırasında, biyolojik işlemin hızını, TATA-bağlayıcı protein ve TATA-kutusu kompleksinin biribiyle etkileşimini dūzenleyerek, organize eder (4, 63).



3.GEREÇLER VE YÖNTEMLER

3.1.Gereçler

3.1.1. Araştırma Grubunun Oluşturulması

Bu araştırmaya 2010-2012 yılları arasında Antalya EAH Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde jinekolojik malign yada benign tümöral patoloji nedeniyle opere edilen hastaların, periton yıkama sıvısı örnekleri dahil edildi.

Jinekolojik patoloji nedeniyle opere edilen hastalardan, rutin prosedüre göre operasyon sırasında, yıkama sitolojisi çalışmak üzere, peritoneal yıkama sıvısı örnekleri elde edilmiştir. Bu örneklerden sitolojik inceleme sonrasında, atılacak olan artan materyal, Antalya EAH Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde porsiyonlanarak derin dondurucuda -80 °C sıcaklıkta saklanmıştır.

Bu çalışma planladıktan sonra Antalya EAH ile iletişime geçerek, çalışma için kullanılacak periton yıkama sıvısı materyalinin temini sağlandı.

Hastane kayıtları taranarak yaş, cinsiyet, rutin laboratuvar testleri, klinik semptomlar, patoloji verileri, sitoloji raporları, hastalığın tümör evresi gibi bilgiler elde edildi. Çalışma için gerekli etik kurul onayı, çalışma materyalin retrospektif olarak sağlanacağı belirtilerek, alındı (Tarih:2013, sayı:4400).

Çalışma grubunu, malign veya benign tümöral jinekolojik patoloji nedeniyle opere edilmiş 67 kadın hasta oluşturdu. Hastaların yaş ortalaması $49,36 \pm 13,19$ yıldır. Hastalar sitolojik ve patolojik inceleme sonucuna göre, benign ve malign tanıli olarak gruplandırıldı.

3.1.2. Periton Yıkama Sıvısı Numunelerinin Alınması ve Hazırlanması

Ameliyathanede tümöral patoloji nedeniyle opere edilen hastaların batınının açılmasını takiben, periton kavitesi içerisine girildikten sonra, periton boşluğunda herhangi bir kanama yada sıvı birikimi varsa bu birikim aspire edilerek; boşluk 100 ml steril salin ile yıkanmıştır (12). Daha sonra aspire edilen bu yıkama sıvısı materyali, porsiyonlanarak -80°C sıcaklıkta çalışma gününe kadar saklanmıştır.

Porsiyonlanan materyaller arasından seçilen ve bu çalışmada kullanılan örnekler, laboratuvar çalışmasının yapıldığı Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı Biyokimya Laboratuvarına kuru buz ile getirildi. Bu araştırmanın laboratuvar çalışmasının bir gün öncesinde, buz haldeki numuneler

çözdürüldü. Laboratuvar çalışmasına ön hazırlık teşkil etmesi açısından, fazla porsiyonu mevcut olan numunelerden ön deneme çalışması yapıldı ve numunelerin seyreltilmesi gerektiği kanısına varıldı. Bunun üzerine çalışma günü, santrifüj edilen numuneler 1/10 oranında steril distile su ile seyreltildi ve en son elde edilen ölçüm sonuçları düzeltme katsayısıyla çarpıldı.

3.1.3. Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:

a-Kadın üreme sisteminde, malignite şüphesi yada kitle şüphesi ile opere edilmiş olmak

b-Batın içinde serbest sıvı yada asidi olan hastalar

c- Kadın üreme sistemi dışında, herhangi bir organ sisteminde önceden tanısı konmuş bir maligniteye sahip olan hastalar

3.1.4. Araştırmaya Dahil Edilmeme Kriterleri:

a- İnoprable ileri evre ve operasyon öncesi metastazı bilinen hastalar

b- Değerlendirme için yeterli örneği kalmayan hastalar

c- Batın içinde serbest sıvı yada asidi olan hastalar

d- Kadın üreme sistemi dışında herhangi bir organ sisteminde, önceden tanısı konmuş bir maligniteye sahip olan hastalar

3.2. Yöntemler

3.2.1.Kullanılan Cihazlar

- 1.Santrifüj (Beckman GS-15 Centrifuge)
- 2.Vorteks (Karıştırıcı) (Jencons/Julabo Miximatic)
- 3.Derin Dondurucu (-80°C'de) (Heto Ultra Freze UF 4420)
- 4.Otomatik Pipet (Rainin 10-100µl ,100-1000 µl ve 0,5-10 µl)
- 5.Spektrofotometre (ASYS Expert Plus)
- 6.Mikroelisa testi için yıkama cihazı (ASYS Atlantis Washer)

3.2.2. HMG B1 Çalışma Yöntemi

HMG B1 düzeyi araştırılmak üzere, ependoflarda bulunan periton yıkama sıvısı örnekleri, jelli biyokimya tüpü içine 2 cc olacak şekilde aktarıldı. 1000 g'de 20 dakika santrifüj edilip, elde edilen süpernatant 1/10 oranında seyreltilerek, tekrar yeni ependoflar içerisine aktarıldı ve bekletilmeden çalışıldı.

HMG B1 ELISA Cloud Clone Corp Test kiti, mikrokuyucuk formatında hazırlanmış bir kittir. Tayin yöntemi enzim bağlı bağlayıcı protein (enzyme-linked binding protein Assay) sandwich yöntemi olup; bu yöntemde, spesifik olarak HMG B1'e özgü bir antikor ile kaplı mikrokuyucuklar kullanılır.

3.2.3. HMG B1 ELISA Test Kiti Çalışma Prosedürü:

- 1- Bütün kit kompozisyonu 18-25 °C sıcaklığı aralığına alınır.
- 2- Stok standardı 1600 pg/ml HMG B1 içerir. HMG B1 içeren standart solusyonlar, kitin içeriğinde bulunan standart diluent ile dilue edilerek, seri konsantrasyonlarda olan standartlar hazırlanır (a-g):
 - a-Standart 1: 800 pg/ml HMG B1 içerir.
 - b-Standart 2: 400 pg/ml HMG B1 içerir.
 - c-Standart 3: 200 pg/ml HMG B1 içerir.
 - d-Standart 4: 100 pg/ml HMG B1 içerir.
 - e-Standart 5: 50 pg/ml HMG B1 içerir.
 - f- Standart 6: 25 pg/ml HMG B1 içerir.
 - g-Standart 7: 12,5 pg/ml HMG B1 içerir.
- 3- HMG B1'e spesifik antikor ile kaplı 96 mikrokuyucuğun, ilk 7'sine, önceden hazırlanmış olan standart solusyonlar (a-g), her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde ilave edilir. 8. kuyucuk olan blank water kuyucuğuna standart solusyon koyulmaz. Blank water kuyucuğu sadece standart diluent içerir.
- 4- HMG B1 standart solusyonları (a-g) ve standart diluent içeren 8. mikrokuyucuk hariç, diğer mikrokuyucuklara, dilue edilmiş hasta numunesi örnekleri 100µl olacak şekilde ilave edilir.
- 5- Mikrokuyucukların tamamı sarılarak korunur ve 120 dakika 37 C° de inkube edilerek, örneklerdeki HMG B1'in kuyucuk antikoruna bağlanması sağlanır.
- 6- 120 dakikanın sonunda mikrokuyucukların içerisinde bulunan sıvı boşaltılır.
- 7- Her bir mikrokuyucuğa, 100µl biyotin ile konjuge HMG B1'e özgü antikor, ilave edilir. Avidin ile konjuge Horseradish Peroxidase (HRP) eklenir ve 60 dakika 37 C° de inkube edilir.
- 8- Mikrokuyucukların içerisinde bulunan solusyon aspire edilir ve 350 µl wash solusyon ile 3 defa yıkanır.

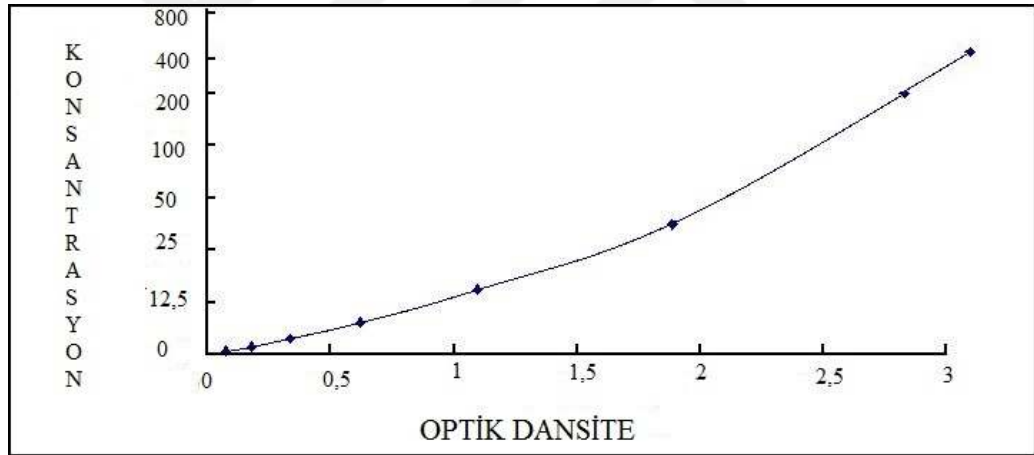
9- Her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat çözeltisi eklendikten sonra, 15-25 dakika 37 C° de inkube edilir.

10- Mikrokuyucukların solusyonu aspire edilir ve 350 µl wash solusyon ile 5 defa yıkanır.

11- Blank water kuyucuğu hariç diğer mikrokuyucuklara, bir sülfirik asit solusyonu olan stopping solusyon, 50 µl olacak şekilde eklenerek, enzimatik reaksiyonun durması sağlanır.

12- Son aşamada, çalışması tamamlanmış 96 mikrokuyucuk, spektrofotometrede 450 nm'de okutulur.

13- HMG B1 standart solusyonlarını (800, 400, 200, 100, 50, 25 ve 12,5 pg/ml) ve 0 pg/ml HMG B1 içeren kuyucukların 450 nm deki optik dansitesinden faydalanan referans grafik çizilir ve bu grafiğe göre HMG1 değerleri pg/ml olarak hesaplanır (Şekil 9).



Şekil 9. HMG B1 ELİSA testi standart eğrisi

3.2.4. Kullanılan HMG 1 ELİSA Test Kitinin İçeriği

Cloud Clone Corp HMG 1 Elisa kit (detection range: 12,5-800 pg/mL)

- ✓ 96 adet HMG1 ile kaplı mikrokuyucuk
- ✓ Detection Reagent A 1x12mL
- ✓ Detection Reagent B 1x12mL
- ✓ TMB Substrate 1x6mL
- ✓ Wash Buffer (30 × concentrate) 1 şişe
- ✓ Standard 1 şişe

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Science) 15,0 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Patolojik ve sitolojik verilere göre, malign grup ve benign grup olarak ayrılan çalışma grubunun, HMG B1 düzeylerinin, normal dağılım gösterip göstermediği, shapiro wilk/kolmogorov smirnov testi ile belirlendi. Patolojik inceleme sonuçlarına göre, HMG B1 düzeylerinin, normal dağılım gösterdiği belirlendi. Bu nedenle patolojik malign ve benign grupta HMG B1 düzeyleri ortalamaları, iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ile değerlendirildi.

Sitolojik inceleme sonuçlarına göre, hastalar benign ve malign olarak gruplandırıldığında, HMG B1 düzeylerinin, normal dağılım göstermediği belirlendi. Bu nedenle HMG B1 düzeyleri Mann Whitney U Testi ile değerlendirildi. HMG B1 değerleri ve patoloji sonuçlarını içeren Receiver operating characteristic (ROC) grafiği çizildi.

Çoklu gruplar arasında varyans analizi yapıldıktan sonra, ikişerli grupların ortalamaları arasındaki farkın analizi, post-hoc testlerden Tukey testi ile değerlendirildi.

Korelasyon analizi için, pearson korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiksel analizler $p < 0,05$ ise, anlamlı kabul edildiler. Sonuçlar, ortanca ve ortalama $\pm$ SD olarak belirtildi.

4. BULGULAR

Çalışma popülasyonunu tanımlayıcı veriler ve laboratuvar verileri Tablo 1’de belirtildi. Patoloji verilerine göre çalışma grubunun %52’si (n:35/67) benign, % 48’i (n:32/67) malign tanılı hastalardan oluşmuştur. Sitolojik inceleme sonuçlarına göre çalışma grubunun, % 90’ı (n:60/67) benign, % 10’u (7/67) malign olarak tanımlandı. Sitolojik ve patolojik inceleme sonuçlarının benign ve malign olarak ayrıldığı dört gözlü tablo yapıldı. Bu tabloya göre tümörün malign ve benign ayrımında, altın standart laboratuvar verisi olan patoloji raporlarına göre, malign olduğu belirtilen 25 olguda, sitolojik inceleme raporu benign olarak sonuç vermiştir (Tablo 2). Patoloji verilerine göre çalışma grubunun benign ve malign tanı bilgileri, Tablo 4 ve 5’te belirtildi.

Patolojik inceleme sonuçlarına göre, hastalar benign ve malign olarak gruplandığında, serum CEA, CA 125 ve CA 15-3 düzeylerinin, kolmogorov smirnov testi ile normal dağılım göstermediği belirlendi. Bu nedenle malign ve benign grupta CEA, CA 125 ve CA 15-3 düzeylerinin ortalamaları, Mann Whitney U testi ile değerlendirildi ve CEA ile CA 125 düzeylerinin iki grup arasında istatistiksel olarak farklı olduğu; fakat CA 15-3 düzeylerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlendi (Tablo 1).

Korelasyon testinde, periton yıkama sıvılarında HMG B1 ile AST düzeyleri arasında negatif yönde ($r=-0,38$, $p=0,002$); HMG B1 ile hemoglobin düzeyi arasında negatif yönde ($r=-0,28$, $p=0,02$) bir korelasyon olduğu tespit edildi.

Korelasyon testinde, serum tümör biyobelirteçleri ile HMG B1 değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde, malign grupta, HMG B1 ile CEA arasında negatif yönde ($r=-0,067$, $p=0,7$); CA 125 ve CA 15-3 arasında pozitif yönde (sırasıyla, $r=0,026$, $p=0,89$; $r=0,085$, $p=0,64$) bir korelasyon olduğu tespit edildi. Fakat bu korelasyon katsayısı değerleri istatistiksel olarak anlamsız ve çok küçük veriler olarak belirlendi. Benign grupta, HMG B1 ile CEA, CA 125, CA 15-3 biyobelirteçleri arasında negatif yönde (sırasıyla, $r=-0,056$, $p=0,75$; $r=-0,095$, $p=0,6$; $r=-0,177$, $p=0,3$) bir korelasyon bulundu; fakat elde edilen bu korelasyon katsayısı değerleri, istatistiksel olarak anlamsız ve çok küçük veriler olarak belirlendi.

Patolojik inceleme sonuçlarına göre, hastalar benign ve malign olarak gruplandırıldığında, periton yıkama sıvılarındaki HMG B1 düzeylerinin, shapiro wilk testi ile normal dağılım gösterdiği belirlendi. Bu nedenle malign ve benign grupta HMG B1 düzeylerinin ortalamaları, iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ile değerlendirildi. Periton yıkama sıvılarında HMG B1 düzeyi, patoloji sonucu malign olan hasta grubunda, benign olan gruba göre daha yüksek olarak tespit edildi ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulundu ($p<0.005$).

Sitolojik inceleme sonuçlarına göre, hastalar benign ve malign olarak gruplandırıldığında, periton yıkama sıvılarındaki HMG B1 düzeylerinin, shapiro wilk testi ile normal dağılım göstermediği belirlendi. Bu nedenle HMG B1 düzeyleri malign (ortalama= $4053,27 \pm 1930,41$; ortanca=4403,10) ve benign grupta (ortalama= $2796,07 \pm 1893,28$; ortanca=2318,86) Mann Whitney U Testi ile değerlendirildi. Sitolojik inceleme verisi malign ve benign olan gruplar arasında, periton yıkama sıvılarında mevcut olan HMG B1 konsantrasyonları, istatistiksel açıdan farklı bulunmadı ($p>0.05$).

Patoloji sonuçlarına göre malign gruptaki olgular T (tümör) evresine göre T1, T2, T3 olmak üzere üç ayrı gruba ayrıldı. Benign grupta ve T1, T2, T3 olgularını içeren malign grupta, periton yıkama sıvılarının HMG B1 düzeyleri, varyans analizi ile karşılaştırıldı ve grupların ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi ($p=0,007$; $p<0.05$). Tukey testi ile gruplar ikişerli olarak karşılaştırıldığında; sadece benign ve T3 grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,03$; $p<0.05$); diğer grupların ikişerli karşılaştırma sonuçları istatistiksel olarak önemsiz olarak bulundu ($p>0.05$), (Tablo 3).

Tablo 1. Malign ve benign patolojiye sahip olguların laboratuvar verileri

	Patoloji benign (n=35)	Patoloji malign (n=32)	p
Yaş (yıl)	46,48±13,12	52,58±12,94	>0.05
HMGB1 (pg/ml)	2286,24±1360,55	3628,71±2204,76	<0,005* t=2,96
CEA (ng/ml)	2,35±1,36 (ortanca: 2,01)	13,04±15,20 (ortanca: 6,14)	<0,005
CA 125 (U/ml)	10,54±9,32 (ortanca: 8,01)	61,64±84,54 (ortanca: 30,5)	<0,005
CA 15-3 (U/ml)	9,63±8,17 (ortanca: 5,5)	17,29±16,36 (ortanca: 11,43)	>0.05
BUN (mg/dL)	11,68±3,06	11,19±4,13	>0.05
Kreatinin (mg/dl)	0,67±0,08	0,66±0,15	>0.05
AST (IU/dl)	17,34±3,68	17,81±5,86	>0.05
ALT (IU/dl)	15,08±4,89	15,66±5,44	>0.05
WBC (cell×10 ³ /μl)	7692,86±1833,37	8657,19±2574,86	>0.05
HGB (gr/dl)	12,30±1,60	11,98±1,48	>0.05
PLT (cell×10 ³ /μl)	258142,90±73204,44	309312,50±73890,26	<0,05* t=2,8

Sonuçlar ortanca ve ortalama ± SD olarak açıklanmıştır.

* p<0,05 anlamlı

Tablo 2. Sitolojik ve patolojik inceleme sonuçlarının olgu sayısı bazında belirlenmesi

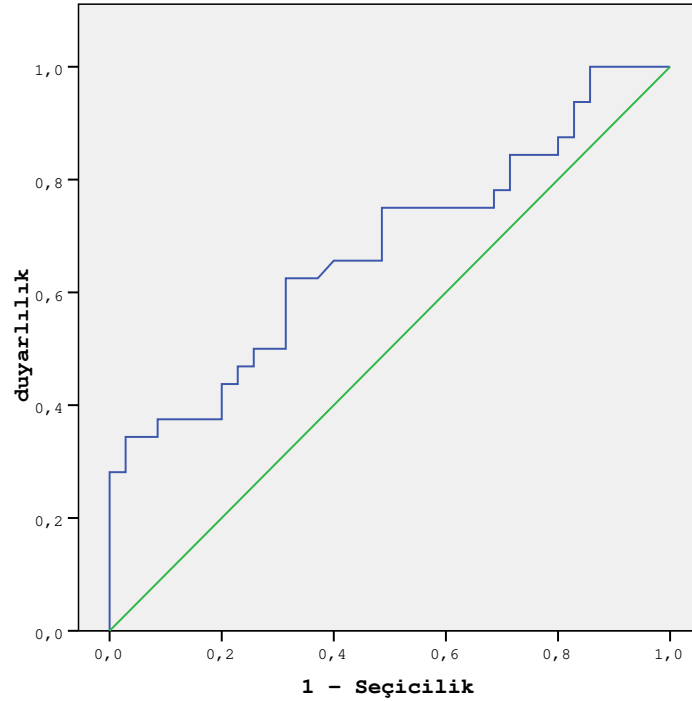
	Patoloji malign	Patoloji benign
Sitoloji malign	7	0
Sitoloji benign	25	35
TOPLAM	32	35

Tablo 3. Benign grup ve malign grubu oluşturan T1, T2, T3 olguların HMG B1 düzeyleri

	Olgu sayısı	HMG B1 düzeyleri (pg/ml)
Benign grup	35	2286,24±136,55
T1 grup	22	3216,86±2171,66
T2 grup	3	4904,61±2422,22
T3 grup	7	4376,29±2136,56

Patoloji sonuçları ve HMG B1 değerleri ROC analizi ile değerlendirildiğinde, eğri altında kalan alan (EAA) istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu ($p < 0,05$), (EAA:0,67). HMG B1 değeri için, 1684,56 değeri, kesim değeri olarak alındığında; bu kesim değerinde duyarlılık %78, seçicilik %32 olarak bulundu (Şekil 10).

Sitoloji sonuçları ve HMG B1 değerleri ROC analizi ile değerlendirildiğinde, EAA istatistiksel olarak anlamsız olarak değerlendirildi ($p > 0,05$).



Şekil 10: Patoloji sonucu ve HMG B1 değerlerinin ROC analizi ile değerlendirilmesi

Tablo 4. Çalışma grubunda bulunan benign hastaların tanılarına göre dağılımı

Over tümörleri (n=16)	Uterus Tümörleri (n=12)	Serviks Tümörleri (n=3)	Vajen Tümörleri (n=4)
Müsinöz tümör (n=2)	Endometrial hiperplazi atipisiz (n=6)	Endoservikal polip (n=3)	Vajen kisti (n=2)
Adenofibrom (n=2)	Myom (n=6)		Fibroepitelyal polip (n=2)
Kistadenofibrom (n=1)			
Seröz kist (n=2)			
Kist adenom (n=1)			
Epidermal kist (n=1)			
Brenner tümörü (n=2)			
Müsinöz kistadenom (n=2)			
Basit kist (n=2)			
Ooforit (n=1)			

Tablo 5. Çalışma grubunda bulunan malign hastaların tanılarına göre dağılımı

Over Tümörleri (n=15)	Uterus Tümörleri (n=13)	Serviks Tümörleri (n=4)
Transisyonel hücreli over karsinomu (n=1)	Adenokarsinom (n=5)	Skvamoz karsinom (n=4)
Adenokarsinom (n=8)	Endometrial stromal sarkom (n=3)	
Granüloza hücreli tümör (n=4)	Adenosarkom (n=4)	
Kistadenokarsinofibrom (n=2)	Malign Miks mezodermal tümör (n=1)	

5. TARTIŞMA

HMG B1 tüm ökaryotik hücrelerin sitoplazma ve çekirdeklerinde bulunabilen hücre kromatini ile ilişki kuran bir proteindir. HMG B1 histon olmayan bir protein olarak, herhangi bir dizi özgülüğü olmadan, DNA ile bağlanır. Çift sarmal, tek iplikli, supercoiled veya distorted DNA ile etkileşime girebilme yeteneğine sahiptir. Buna ek olarak, HMG B1'in, nükleozomlara da yüksek afinitesi vardır ve nükleozomların yapılarını stabilize eder. RNA sentezlenirken gerekli olan bazı gen düzenleyici faktörlerinin, DNA dizilerine angaje olmasını kolaylaştırır. HMG B1 evrimsel olarak hücre ölümü ve hayatta kalışın önemli bir düzenleyicisi olarak düşünülebilir (3, 9, 16).

HMG B1 endotoksemi ve sepsiste, kanda yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. Ekstrasellüler HMG B1 endotoksinin yıkıcı etkisine aracılık eden proinflamatuvar bir sitokin olarak davranır. En az üç reseptör HMG B1'in proinflamatuvar yolak üzerine veya immün sistem üzerine etkilerine yardımcıdır. Bunlar RAGE, TLR 2 ve TLR 4'tür. Bu reseptörlerin aktivasyonu, NF- κ B ve bazı proinflamatuvar genlerin transkripsiyonuna aracılık eder.

HMG B1 artışı ile etkinleştirilen makrofajlar, TNF- α , interlökinler, makrofaj inflamatuvar proteini gibi inflamasyon sürecinde rolü olan pek çok sitokini salgılayabilir. HMG B1 makrofaj aktivasyonunun devamını sağlayan, mezoanjioblast kemoatraktanı gibi davranan bir moleküldür. Ayrıca, MHC Class II ve CD83 , CD80 ve CD86 ekspresyonunu sağlar ve böylece dendritik hücrelerin olgunlaşmasına neden olur (6, 14). Periton makrofajlarında HMG B1'in inflamatuvar yanıtı indükleyen bir ajan olmasıyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada; periton makrofajları 3 gün boyunca HMG B1 stimülasyonu ile hücre kültürü şişelerinde inkübe edilmiştir. Bu araştırmanın, immünopresipitasyon, western blot ve elektroforetik mobilite çalışmaları ile elde edilen verilerine göre, periton makrofajlarında janus kinaz sinyal yolağının (STAT1, STAT3, JAK2) aktivasyonunda, HMG B1 kaynaklı bir düzenlenmenin rol oynayabileceği düşünülmüştür (64).

Literatürde makrofajların, HMG B1 ve TLR 2-TLR 4 sinyal yollarının aktivasyonu yoluyla, immün ve inflamatuvar hastalıkların patogenezinde gelişen doku remodellinginde rol oynadığını gösteren deneysel hayvan çalışmaları da yapılmıştır (51).

HMG B1 proteininin varlığı, TİP 1 DM, SLE, MS gibi pek çok inflamatuvar, otoümmün hastalığın patogeneğinde araştırılmıştır. MS'lu, aktif ve inaktif nöromyelitis optika'lı hastalarda, HMG B1 düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmanın sonuçlarına göre, HMG B1 seviyesi ile inflamasyonun aktivitesi korele olarak bulunmuştur. Ayrıca IFN γ seviyesi ile HMG B1 seviyesi arasında da bir ilişki olduğu belirlenmiştir (1).

HMG B1, inflamasyondaki rolü nedeniyle kritik bir tedavi hedefi olarak da değerlendirilmektedir. İnsanlarda kanser ve inflamasyon nedenli gelişmiş, plevra ve periton efüzyonlarında, yapılan bir çalışmada, transüdalarla karşılaştırıldığında; ortalama HMG B1 düzeyi, eksüdalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu sonuca göre, ileri evre kanser hastalarının tedavisi için olası bir hedef olarak HMG B1 gösterilmiştir (65).

Deneyssel artritli hayvan modellerinde ve insanda artritli olgularda, hücre dışında HMG B1'in konsantrasyonunun artmış olduğu bildirilmiştir. İnsanda HMG B1'in artmış konsantrasyonları, romatoid artritli inflame eklemlerin sinovyal sıvılarında da tespit edilmiştir (66, 67).

HMG B1 meme, pankreas, kolon, akciğer, prostat kanseri ve melanom gibi, pek çok tümör tipinde eksprese edilmiştir. Artmış HMG B1 ekspresyonu ile kanserin mevcudiyeti, invazyonu ve metastazının ilişkili olduğu belirtilmiştir. HMG B1'in, bu yayılım durumunu, tümörün proliferasyonunu arttıran ekstrasellüler bir ligand gibi davranarak sağladığına inanılmaktadır (63).

Kuniyasu ve ark yaptıkları bir çalışmada, HMG B1 varlığının, tümör ile ilişkili makrofajlarda anlamlı bir azalmaya yol açtığı ve dolayısıyla LN metastazı gelişmesi ile ilgili bir bağlantısı olduğunu gözlemişlerdir (28).

Tümör hücrelerinden salınan HMG B1, tümöre karşı oluşan bağışıklık yanıtının kuvvetlenmesine neden olmaktadır. HMG B1'in nötralizasyonu, ölmekte olan tümör hücrelerinin, anti-kanser immün yanıtıdan kaçmasına neden olmaktadır (61).

Serum HMG B1 düzeyi, gastrointestinal tümörlerde ileri evre gelişimi ile ilişkili olarak izlenmiştir. Örneğin pankreatik duktal adenokarsinom'lu (PDAC) olgularda, serum HMG B1 seviyelerinin duyarlılığı / özgüllüğü, CA 19-9 ve CEA'ne kıyasla üstün bulunmuştur. Bu çalışmada, serum HMG B1 düzeyleri yüksek olan

PDAC hastalarının, HMG B1 düzeyleri düşük olanlara göre, daha kötü prognoza sahip olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, serum HMG B1'in, mevcut PDAC biyobelirteçleri olan CA19-9 ve CEA ile karşılaştırıldığında; PDAC için arzu edilen, tanısal ve prognostik bir biyolojik belirteç olabileceği belirtilmiştir (68).

Genitoüriner sistem tümörleri içerisinde incelenen mesane kanseriyle ilişkili olarak yapılan bir araştırmada, HMG B1 overekspresyonu ile klinik evre, grade ve tümör angiogenezi, birbirleriyle ilintili olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, HMG B1'in, anjiogenetik aktivitesini, tümör hücrelerindeki RAGE yolağı aracılığı ile gerçekleştirdiği belirtilmiştir. Tümör hücrelerinde, VEGF de dahil olmakla beraber, diğer angiogenik büyüme faktörlerinin ekspresyonundaki artışın, makrofajları atrakte ettiği ve bir takım potent angiogenetik sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımına neden olduğu sonucuna varılmıştır (69). Bizim çalışmamızda, periton yıkama sıvısı içeriğinde bulunan HMG B1 ile proinflatuar sitokinlerin aktivasyonunun ve HMG B1 reseptörleri ekspresyonunun beraber incelenememiş olması bu çalışmanın bir kısıtlılığıdır.

İmmüno blotting yöntemi ile fare deneklerde; akciğer, karaciğer, testis, dalak gibi farklı organlarda, HMG B1 ve RAGE ekspresyonunun incelendiği çalışmalarda, HMG B1'in üretimi, yaşlı hayvanlarda akciğer, karaciğer ve dalakta yüksek; böbrek dokusunda düşük olarak gözlenmiştir. En yüksek protein miktarı, Guerin tümör hücrelerinde saptanmıştır. Vakaların çoğunda HMG B1 ve RAGE üretimindeki artış, tümör gelişimi ve kötü prognozla korele olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, HMG B1 proteininin ve RAGE reseptörünün nispeten daha yüksek seviyelerde bir arada bulunması, kanserin gelişimi için gerekli bir ön şart olarak değerlendirilmemektedir. HMG B1 proteini tümör hücrelerinde, sadece kendisine ait RAGE reseptörü ile etkileşir (70). HMG B1 ligandının veya reseptörünün (özellikle RAGE) bir çok tümörde overekspresyonun gösterilmesi kanser tedavisinde potansiyel bir uygulama alanı sunar; bu nedenle HMG B1'i hedefleyen tedavilerin bir çok kanser türü için umut olabileceği düşünülmektedir (9).

RAGE ekspresyonunun, gastrik ve kolon kanserleri invazyonu ve metastazı ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir (71). Kuniyasu ve ark yaptıkları bir çalışmada, HMG B1 proteininin, kolon metastazlarını tahmin etmekte ve engellemekte umut verici olduğunu belirterek; şayet anti-HMG B1 antikoru ile HMG B1 proteini inhibe

edilebilirse, karaciğer metastazlarının önüne geçme olasılığı bulunduğundan bahsetmişlerdir (36).

Kusume ve ark yaptıkları deneysel bir çalışmada, C57BL farelere intraperitoneal HMG B1 uygulaması yapmışlar. Bu uygulamanın bir etkisi olarak, CD205-pozitif splenik dendritik hücre sayılarında bir azalma meydana gelmiştir. Ayrıca, HMG B1'in dendritik hücreler üzerine olan etkilerini gösterebilmeyi desteklemek için; T3 evresindeki insan kolon kanseri hücreleri tarafından üretilmiş HMGB1 konsantrasyonunu değerlendirmişlerdir. Sonuçta, LN pozitif olan olgularda, negatif olanlara kıyasla, daha yüksek nodal HMG B1 konsantrasyonu ve daha düşük dendritik hücre sayısı tespit etmişlerdir. Bu çalışmadan elde edilmiş verilere göre, HMG B1'in konakçı hücrede, anti-kanser immüniteyi bozan bir protein olarak düşünülebileceği sonucunu çıkartmışlardır (72).

Son yıllarda HMG B1 düzeyi ve jinekolojik malignansiler arasındaki ilişkinin incelendiği bilimsel çalışmaların sayısı da artmaktadır. Hao ve ark'nın yaptığı, servikal skuamöz epitelyal karsinom (CSEC) olgularının değerlendirildiği bir çalışmada, CSEC dokularında, HMG B1'in aşırı ekspresyonunun tümör varlığı ve metastazı ile korele olduğu; fakat tümörün çapı veya differansiasyonu ile bir korelasyonunun olmadığı belirlenmiştir (73). Aynı hastalığa sahip, farklı olgularda yapılan bir çalışmada ise, serum HMG B1 düzeylerinin, tekrarlayan servikal karsinomu olan hastalarda, tekrarlamayan karsinomlu hastalara ve sağlıklı gruba göre anlamlı olarak daha yüksek düzeylerde seyrettiği gözlenmiştir. Yine bu çalışmada, CSEC erken tanısında, CYFRA 21-1 ve SCCA (serum squamous cell carcinoma antigen) biyobelirteçleri ve HMG B1'in birlikte değerlendirilmesinin tanı duyarlılığını daha yüksek oranda arttırabileceği belirtilmiştir (74). Bu çalışmamızda malign grupta, HMG B1 ve CEA, CA 125, CA 15-3 biyobelirteçleri düzeyleri arasında, istatistiksel olarak önemli bir korelasyon tespit edemedik. Fakat çalışmamız farklı malign patolojik spektrumları içeren bir çalışmadır. Daha geniş olgu popülasyonlarında ve tek malign patolojik tanı tipine sahip olguların dahil edildiği araştırmalarda, periton yıkama sıvısında HMG B1 düzeyleri ve tümör biyobelirteçleri korelasyonunun, kullanıma elverişliliği daha yüksek olabilecek bilgiler sunacağını düşünmekteyiz.

Chen ve ark'nın başka bir jinekolojik malignensi olan over kanserinde yaptıkları bir çalışmada, yüksek HMG B1 düzeyi ile ileri evre ve yüksek grade varlığı ve LN pozitifliği olması birbiriyle ilişkili olarak gözlenmiştir. Bu çalışmada, HMG B1 ekspresyonu en az %80 olacak şekilde (hem mRNA, hem de protein düzeyinde) düşürülmüş ve HMG B1 ekspresyonu knockdown'unun; ovaryan kanser hücresi proliferasyonu ve koloni sayısını belirgin olarak süprese ettiğini; ayrıca tümör hücrelerindeki invazyon ve migrasyon yeteneğini azalttığı görülmüştür (75). Yaptığımız bu çalışmada, ileri tümör evresi olan T3 evresinde benign kontrol grubuna kıyasla daha yüksek konsantrasyonda HMG B1 düzeyleri tespit ettik. Bu sonuç Chen ve ark yaptığı çalışmanın sonucunu desteklemektedir.

Jinekolojik malignensiler ile ilişkili artan çalışmalar, malignite varlığını destekleyen, tanı duyarlılığı ve özgüllüğünü artırması beklenen yeni biyobelirteçlerin keşfi zorunluluğunu da getirmiştir. Retrospektif olarak toplanan histokimyasal doku örneklerinde yapılan bir çalışmada, over kanserinde, matris metalloproteinaz, adiponektin, osteopontin, gibi eski biyobelirteçlerin yanısıra, HMG B1'in değerlendirilmesinin prognostik bir önemi olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmada, epitelyal over kanserinde, ileri evrelerde dokuda HMG B1'in yüksek oranda eksprese edildiği hastalarda, prognozun, düşük oranda eksprese edilen olgulara göre daha kötü olduğu gözlenmiştir (76).

Periton yıkama sıvısı analizi, tümör yüzey tutulumunun ve peritoneal metastazın faydalı bir öngördürücüsüdür (12). Bu çalışmada, hem malign hem de benign jinekolojik tümöral patolojilerde, patogeneizde rolü olduğu düşünülen, HMG B1 proteininin, kanser varlığını predikte etmek, konusundaki rolünü araştırdık. Gelecekte yapılacak bilimsel çalışmalarda, karsinomlu daha geniş vaka popülasyonlarında, diğer sitokin ve biyobelirteçler ile beraber, HMG B1 düzeyinin ve onun reseptörlerinin değerlendirilmesinin; tümör yayılımı aşamasında hızlı tanı ve destekleyici amaçlı kullanımının, umut verici olabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

HMG B1, karsinogenezin gelişim ve ilerleme süreci, anjiogenezi, metastazi ve apoptozu gibi süreçlerinde, görevi olan sinyal yollarının işlevini yerine getirmesi esnasında, çeşitli rolleri olan bir proteindir. Sayısı giderek çoğalan araştırmalar, HMG B1'in karsinogenezin pek çok aşamasında kritik görevleri olabileceğini düşündürmektedir.

HMG B1'in çeşitli moleküller ile etkileşimi ve modifikasyonunun, sinyal ileti sistemlerinin işlevlerinin düzenlenmesinde, önemli araçlar olduğu bilinmekte olup; bu durum, HMG B1'in tedavi amaçları için, yeni bir biyolojik hedef proteini olarak düşünülmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Tümör cerrahisi yapılırken elde edilen periton yıkama sıvıları, mikroskopik tümör yayılımını değerlendirebilen destekleyici bir materyal olarak, sitoloji laboratuvarında incelenmektedir. Literatürü taradığımızda, jinekolojik ameliyatlardan sonrası elde edilen periton yıkama sıvılarında, HMG B1 düzeyinin, kanserli ve iyi huylu patolojilerdeki olguları ayırt etmek amacıyla, henüz değerlendirilmemiş olduğunu gördük. HMG B1'in kanser gelişiminde rolü olduğu ile ilgili araştırma verilerinin yol göstericiliğinde, patolojik numuneler daha değerlendirilme aşamasındayken, periton yıkama sıvılarının, biyokimya laboratuvarına gönderilerek eşzamanlı HMG B1 konsantrasyonu incelenmesi, sıvının sitolojik incelemesine benzer bir şekilde yarar sağlayabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Wang H, Wang K, Wang C, et al. Cerebrospinal fluid high-mobility group box protein 1 in neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *Neuroimmunomodulation* 2013;20:113–118.
2. Zhang J, McCauley MJ, Maher LJ, et al. Mechanism of DNA flexibility enhancement by HMGB proteins. *Nucleic Acids Res* 2009;37:1107-1114.
3. Ellerman JE, Brown KC, Vera MD, et al. Masquerader: High Mobility Group Box- 1 and Cancer. *Cancer Res* 2007;13(10):2836-2848.
4. Kang R, Zhang Q, Herbert, J et al. HMGB1 in Cancer: Good, Bad, or Both? *Clin Cancer Res* 2013;19(15):4046–4057.
5. Stros M, Polanska E, Struncova S, et al. HMGB1 and HMGB2 proteins upregulate cellular expression of human topoisomerase II alpha. *Nucleic Acids Res* 2009;37:2070-2086.
6. Lee SA, Kwak MS, Kim S, et al. The Role of High Mobility Group Box 1 in Innate Immunity. *Yonsei Med J* 2014;55(5):1165-1176.
7. Jemal A, Thomas A, Murray T, et al. Cancer statistics. *Cancer J Clin* 2002;52:23-47.
8. Yao X, Zhao G, Yang H, et al. Overexpression of high mobility group box 1 correlates with tumor progression and poor prognosis in human colorectal carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136:677-684.
9. Tang D, Kang R, Zeh HJ. High-mobility Group Box 1 [HMGB1] and Cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1799(1-2):131-140.
10. Persons AK. Screening and early diagnosis of gynecologic cancers. *Med Clin North Am* 1996;80:123-129.
11. Commandeur AE, Styer AK, Teixeira JM. Epidemiological and genetic clues for molecular mechanisms involved in uterine leiomyoma development and growth. *Human Reproduction Update* 2015;21:593–615.
12. Naz S, Hashmi AA, Ali R, et al. Role of peritoneal washing cytology in ovarian malignancies: correlation with Histopathological parameters. *World Journal of Surgical Oncology* 2015;13:315.
13. Ito T, Kawahara K, Okamoto K, et al. Proteolytic cleavage of high mobility group box 1 protein by thrombin-thrombomodulin complexes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1825-1830.
14. Li J, Kokkola R, Tabibzadeh S, et al. Structural basis for the proinflammatory cytokine activity of high mobility group box 1. *Mol Med* 2003;9:37-45.

15. Yang H, Hreggvidsdottir HS, Palmblad K, et al. A critical cysteine is required for HMGB1 binding to Toll-like receptor 4 and activation of macrophage cytokine release. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:11942-11947.
16. O'Callaghan A, Wang J, Redmond HP. HMGB1 as a key mediator of tissue response to injury: roles in inflammation and tissue repair. *European Surgery* 2006; 38:283–292.
17. Sparatore B, Passalacqua M, Patrone M, et al. Extracellular high-mobility group 1 protein is essential for murine erythroleukaemia cell differentiation. *Biochem J* 1996;320:253-256.
18. Belgrano FS, de Abreu da Silva IC, Bastos de Oliveira FM, et al. Role of the acidic tail of high mobility group protein B1 (HMGB1) in protein stability and DNA bending. *PLoS One* 2013;8(11):e79572.
19. Youn JH, Kwak MS, Wu J, et al. Identification of lipopolysaccharide-binding peptide regions within HMGB1 and their effects on subclinical endotoxemia in a mouse model. *Eur J Immunol* 2011;41:2753-2762.
20. Ito I, Fukazawa J, Yoshida M. Post-translational methylation of high mobility group box 1 (HMGB1) causes its cytoplasmic localization in neutrophils. *J Biol Chem* 2007;282:16336-16344.
21. Hoppe G, Talcott KE, Bhattacharya SK, et al. Molecular basis for the redox control of nuclear transport of the structural chromatin protein Hmgb1. *Exp Cell Res* 2006;312:3526-3538.
22. Bonaldi T, Talamo F, Scaffidi P, et al. Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion. *EMBO J* 2003;22:5551-5560.
23. Youn JH, Shin JS. Nucleocytoplasmic shuttling of HMGB1 is regulated by phosphorylation that redirects it toward secretion. *J Immunol* 2006;177:7889-7897.
24. Urbonaviciute V, Fürnrohr BG, Meister S, et al. Induction of inflammatory and immune responses by HMGB1-nucleosome complexes: implications for the pathogenesis of SLE. *J Exp Med* 2008;205:3007-3018.
25. Campana L, Bosurgi L, Bianchi ME, et al. Requirement of HMGB1 for stromal cell-derived factor-1/CXCL12-dependent migration of macrophages and dendritic cells. *J Leukoc Biol* 2009;86:609-615.
26. Wang ZT, Yao YM, Sheng ZY. Effect of high mobility group box 1 protein on proliferation and apoptosis and balance between Th1/Th2 and Tc1/Tc2 of lymphocytes in vitro. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2008;24:324–327.

27. Palumbo R, Sampaolesi M, De Marchis F, et al. Extracellular HMGB1, a signal of tissue damage, induces mesoangioblast migration and proliferation. *J Cell Biol* 2004;164:441–449.
28. Kuniyasu H, Yano S, Sasaki T, et al. Colon cancer cell-derived high mobility group 1/amphoterin induces growth inhibition and apoptosis in macrophages. *Am J Pathol* 2005;166:751–760.
29. Calogero S, Grassi F, Aguzzi A, et al. The lack of chromosomal protein Hmg1 does not disrupt cell growth but causes lethal hypoglycaemia in newborn mice. *Nat Genet* 1999;22:276–280.
30. Pallier C, Scaffidi P, Chopineau-Proust S, et al. Association of chromatin proteins high mobility group box (HMGB) 1 and HMGB2 with mitotic chromosomes. *Mol Biol Cell* 2003;14:3414–3426.
31. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57–70.
32. Iacomino G, Picariello G, Sbrana F, et al. DNA-HMGB1 interaction: The nuclear aggregates of polyamine mediation. *Biochim Biophys Acta* 2016;1864(10):1402-1410.
33. Krynetskaia N, Xie H, Vucetic S, et al. High mobility group protein B1 is an activator of apoptotic response to antimetabolite drugs. *Mol Pharmacol* 2008;73:260–269.
34. Dintilhac A, Bernues J. HMGB1 interacts with many apparently unrelated proteins by recognizing short amino acid sequences. *J Biol Chem* 2002;277:7021–7028.
35. Jiao Y, Wang HC, Fan SJ. Growth suppression and radiosensitivity increase by HMGB1 in breast cancer. *Acta Pharmacol Sin* 2007;28:1957–1967.
36. Kuniyasu H, Chihara Y, Kondo H. Differential effects between amphoterin and advanced glycation end products on colon cancer cells. *Int J Cancer* 2003;104:722–727.
37. Fan J, Li Y, Levy RM, et al. Hemorrhagic shock induces NADPH oxidase activation in neutrophils: role of HMGB1-TLR4 signaling. *J Immunol* 2007;178:6573–6580.
38. Degryse B, Bonaldi T, Scaffidi P, et al. The high mobility group (HMG) boxes of the nuclear protein HMG1 induce chemotaxis and cytoskeleton reorganization in rat smooth muscle cells. *J Cell Biol* 2001;152:1197–1206.
39. Park JS, Svetkauskaite D, He Q, et al. Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. *J Biol Chem* 2004;279:7370–7377.
40. Kalinina N, Agrotis A, Antropova Y, et al. Increased expression of the DNA-binding cytokine HMGB1 in human atherosclerotic lesions: role of activated macrophages and cytokines. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:2320–2325.

41. Tang D, Kang R, Xiao W, et al. The anti-inflammatory effects of heat shock protein 72 involve inhibition of high-mobility-group box 1 release and proinflammatory function in macrophages. *J Immunol* 2007;179:1236–1244.
42. Tang D, Kang R, Xiao W, et al. Nuclear heat shock protein 72 as a negative regulator of oxidative stress (hydrogen peroxide)-induced HMGB1. *J Immunol* 2007; 178(11): 7376–7384.
43. de Visser KE, Coussens LM. The inflammatory tumor microenvironment and its impact on cancer development. *Contrib Microbiol* 2006;13:118–137.
44. Lotze MT, Zeh HJ, Rubartelli A, et al. The grateful dead: damage-associated molecular pattern molecules and reduction/oxidation regulate immunity. *Immunol Rev* 2007;220:60–81.
45. Zeh HJ, Lotze MT. Addicted to death: invasive cancer and the immune response to unscheduled cell death. *J Immunother* 2005;28:1–9.
46. Dong Xda E, Ito N, Lotze MT, et al. High mobility group box I (HMGB1) release from tumor cells after treatment: implications for development of targeted chemoimmunotherapy. *J Immunother* 2007;30:596–606.
47. Faham A, Bennett D, Altin JG. Liposomal Ag engrafted with peptides of sequence derived from HMGB1 induce potent Ag-specific and anti-tumour immunity. *Vaccine* 2009;27:5846–5854.
48. Liu G, Wang J, Park YJ, et al. High mobility group protein-1 inhibits phagocytosis of apoptotic neutrophils through binding to phosphatidylserine. *J Immunol* 2008;181:4240–4246.
49. Yang D, Chen Q, Yang H, et al. High mobility group box-1 protein induces the migration and activation of human dendritic cells and acts as an alarmin. *J Leukoc Biol* 2007;81:59-66.
50. Taguchi A, Blood DC, delToro G, et al. Blockade of RAGE-amphoterin signalling suppresses tumour growth and metastases. *Nature* 2000;405:354-60.
51. Karuppagounder V, Giridharan VV, Arumugam S, et al. Modulation of Macrophage Polarization and HMGB1-TLR2/TLR4 Cascade Plays a Crucial Role for Cardiac Remodeling in Senescence-Accelerated Prone Mice. *PLoS One* 2016; 11(4):e0152922.
52. Kostova N, Zlateva S, Ugrinova I, et al. The expression of HMGB1 protein and its receptor RAGE in human malignant tumors. *Mol Cell Biochem* 2010;337:251-258.
53. Stros M, Ozaki T, Bacikova A, et al. HMGB1 and HMGB2 cell-specifically down-regulate the p53- and p73- dependent sequence-specific transactivation from the human Bax gene promoter. *J Biol Chem* 2002;277:7157-7164.

54. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat Med* 2007;13:1050-1059.
55. El Marzouk S, Gahattamaneni R, Joshi SR, et al. The plasticity of estrogen receptor-DNA complexes: binding affinity and specificity of estrogen receptors to estrogen response element half-sites separated by variant spacers. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008;110:186-195.
56. Mazur-Bialy AI, Pocheć E. HMGB1 Inhibition During Zymosan-Induced Inflammation: The Potential Therapeutic Action of Riboflavin. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2016;64(2):171-176.
57. Krynetskaia NF, Phadke MS, Jadhav SH, et al. Chromatin associated proteins HMGB1/2 and PDIA3 trigger cellular response to chemotherapy-induced DNA damage. *Mol Cancer Ther* 2009;8:864-872.
58. Ito N, Demarco RA, Mailliard RB, et al. Cytolytic cells induce HMGB1 release from melanoma cell lines. *J Leukoc Biol* 2007;81:75–83.
59. Qin S, Wang H, Yuan R, et al. Role of HMGB1 in apoptosis-mediated sepsis lethality. *J Exp Med* 2006;203:1637-1642.
60. Poser I, Golob M, Buettner R, et al. Upregulation of HMG1 leads to melanoma inhibitory activity expression in malignant melanoma cells and contributes to their malignancy phenotype. *Mol Cell Biol* 2003;23:2991-2998.
61. Van Beijnum JR, Nowak-Sliwinska P, van den Boezem E, et al. Tümör angiogenesis is enforced by autocrine regulation of high-mobility group box 1. *Oncogene* 2012;32:363-374.
62. Livesey KM, Kang R, Zeh HJ, et al. Direct molecular interactions between HMGB1 and TP53 in colorectal cancer. *Autophagy* 2012;8:846-848.
63. Ugrinova I, Pasheva E. Chapter Two–HMGB1 Protein: A Therapeutic Target Inside and Outside the Cell. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* 2017;107: 37–76.
64. Liu H, Yao YM, Dong YQ, et al. High mobility group box-1 protein activates Janus kinase-signal transducer and activator of transcription pathway in rat peritoneal macrophages. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2004;16(10):592-595.
65. Winter N, Meyer A, Richter A, et al. Elevated levels of HMG B1 in cancerous and inflammatory effusions. *Anticancer Res* 2009;29(12):5013-5017.

66. Voll RE, Urbonaviciute V, Fürnrohr B, et al. The role of high-mobility group box 1 protein in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Current Rheumatology Reports* 2008;10(5): 341–342.
67. Reinhard E. Voll, Urbonaviciute V, Herrmann M, et al. High Mobility Group Box 1 in the Pathogenesis of Inflammatory and Autoimmune Diseases. *Isr Med Assoc J*. 2008;10(1):26-28.
68. Chung HW, Lim JB, Jang S, et al. Serum high mobility group box-1 is a powerful diagnostic and prognostic biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Science* 2012;103(9):1714-1721.
69. Wang W, Jiang H, Zhu H, et al. Overexpression of high mobility group box 1 and 2 is associated with the progression and angiogenesis of human bladder carcinoma. *Oncol Lett*. 2013;5(3):884-888.
70. Todorova J, Pasheva E. High mobility group B1 protein interacts with its receptor RAGE in tumor cells but not in normal tissues. *Oncol Lett*. 2012;3(1):214-218.
71. Sitohy B, Nagy J, Dvorak H. Anti-VEGF/VEGFR therapy for cancer: reassessing the target. *Cancer Res* 2012;72:1909-14.
72. Kusume A, Sasahira T, Luo Y, et al. Suppression of dendritic cells by HMGB1 is associated with lymph node metastasis of human colon cancer. *Pathobiology*. 2009;76(4):155-162.
73. Hao Q, Du XQ, Fu X, et al. Expression and clinical significance of HMGB1 and RAGE in cervical squamous cell carcinoma. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2008;30:292–295.
74. Sheng X, Du X, Zhang X, et al. Clinical value of serum HMGB1 levels in early detection of recurrent squamous cell carcinoma of uterine cervix: comparison with serum SCCA, CYFRA21-1, and CEA levels. *Croat Med J* 2009;50:455–464.
75. Chen J, Xi B, Zhao Y, et al. High-mobility group protein B1 (HMGB1) is a novel biomarker for human ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2012;126(1):109-117.
76. Paek J, Lee M, Nam EJ, et al. Clinical impact of high mobility group box 1 protein in epithelial ovarian cancer. *Arch Gynecol Obstet* 2016;293:645–650.

ÖZGEÇMİŞ

Dr. Özlem Demirpençe

TC Kimlik No / Pasaport No:	69577087616
Telefon :	0346-2581010-1379
Faks :	-
e-posta :	odemirpence@cumhuriyet.edu.tr

EĞİTİM BİLGİLERİ

Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
Türkiye	Hacettepe Üniversitesi	Tıp Fakültesi	Tıp fakültesi	Lisans	1999
Türkiye	Dicle Üniversitesi	Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	Tıpta uzmanlık	2009
Türkiye	Dicle Üniversitesi	Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Tıbbi Biyokimya	Doktora	2011-2017

AKADEMİK/MESLEKTE DENEYİM

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Dr.Ar.Gör.	Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	2005-2009
Uzman Dr, Biyokimya	T.C Sağlık Bakanlığı Batman Bölge Devlet Hastanesi	2009-2013
Phd	Tıbbi biyokimya Anabilimdalı, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	2011-2017
Uzman Dr, Biyokimya	T.C Sağlık Bakanlığı Tunceli Devlet Hastanesi	2013-2014
Yrd.Doç.Dr	Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi	2015-2017
Doç.Dr	Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi	2017-Halen

UZMANLIK ALANLARI

Uzmanlık Alanları
1-Tıbbi biyokimya

DİĞER AKADEMİK FAALİYETLER

		Tamamlanan	Devam Eden
Danışmanlık Yapılan Öğrenci Sayısı	Yüksek Lisans	1	1
	Doktora		
	Uzmanlık		

GÖREV ALDIĞI PROJELER

- 1-Esomeprazol ve Pirfenidonun, Unilateral Nefrektomi Yapılmış Rat Doksorubisin Nefropati Modelinde, Böbrek ve Kalpte Fibroz ve Fibroz Süreci Üzerinde Etkili Mediatorler Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması
- 2-Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) Hastalarında Kaspaz 3, Kaspaz 9, Kaspaz 8, Granzim, Apaf-1 Düzeylerinin Araştırılması
- 3-İn Vitro Şartlarda Grafenin Laktat Dehidrogenaz Enzim Aktivitesine Etkisinin Kinetik Olarak İncelenmesi
- 4-Pediatric Kliniğimize Akut Bakteriyel Enfeksiyon Tanısı İle Yatırılan 2-7 Yaş Arası Çocuklarda, Enfeksiyonun D Vitamini Düzeyine Etkisi
- 5-Akut Dekompanze Kalp Yetersizliği hastalarında taburculuk öncesi konjesyon düzeyi, klinik konjesyon ve provakasyon testleri yeniden yatış sıklığı ve süresi ile ilişkili midir?
- 6-Behçet hastalığında serum Apelin, Fetuin-A düzeylerinin diğer laboratuvar ve klinik parametreleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi
- 7-FMF hastalarında kitotriozidaz aktivitesi ve düzeyinin araştırılması
- 8-Sjögren Sendromlu Hastalarda ve Sağlıklı Bireylerde Serum Apelin, Fetuin-alfa ve Karotis İntima Media Kalınlıklarının Karşılaştırılması

MAKALELER

A-SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler

A.1. TOPRAK GULTEN, YUKSEL HATICE, DEMIRPENÇE ÖZLEM, ISLAMOGLU YAHYA, EVLIYAOGU OSMAN, METE NURIYE. Fibrosis in heart failure subtypes. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2013 Sep;17(17):2302-9. ISSN:1128-3602 (Print).

A.2. TEKIN RECEP,YOLBAS ILYAS, DAL TUBA, DEMIRPENÇE ÖZLEM, KAYA SAVAS, BOZKURT FATMA, DEVECİ ÖZCAN,ÇELEN MUSTAFA KEMAL,TEKIN ALICEM . Evaluation of Adults with Acute Viral Hepatitis A and Review of the Literature. La clinica terapeutica, 2013; 164(6):537-541. ISSN: 0009-9074 (Print).

A.3. MERT DUYGU, GÜLHAN ARVAS, AKKOYUNLU YASEMIN, DEMIRPENÇE ÖZLEM, MERAL MURAT. Treatment of brucellosis and liver toxicity. Journal of Society for development in new net environment in B&H (HEALTHmed), 2013; 7(7), 2158-2163. ISSN:1840-2291.

A.4. KAYA VILDAN,YILDIRIM MUSTAFA, DEMIRPENÇE ÖZLEM,YILDIZ MUSTAFA,YALÇIN AYSEN YESİM. Prognostic significance of basic laboratory methods in non- small-cell-lung cancer. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP, 2013;14(9): 5473-6. ISSN: 1513-7368 (Print).

A.5. YILDIRIM MUSTAFA, KARAKILINÇ HÜLYA , YILDIZ MUSTAFA, KURTOGLU ERDAL, DONEM DILLI UTKU, SEVİL GOKTAS, DEMIRPENÇE ÖZLEM, KAYA VILDAN. Non-Hodgkin lymphoma and pesticide exposure in Turkey. Asian Pacific journal of cancer prevention APJCP, 2013;14(6): 3461-3. ISSN: 1513-7368 (Print).

A.6. KAYA VILDAN,YAZKAN RASİH,YILDIRIM MUSTAFA,KUMBUL DOĞUÇ DUYGU,SÜREN DİNÇ, BOZKURT KEMAL KÜRSAT,YÜKSEL ÖZLEM, DEMIRPENÇE ÖZLEM, SEN CENK AHMET, AYSEN YESİM YALÇIN. The relation of radiation-induced pulmonary fibrosis with stres and the efficiency of antioxidant treatment: An experimental study. Medical Science Monitor 2014; 20: 290-296. ISSN: 1643-3750.

A.7. YILDIRIM MUSTAFA, KAYA VILDAN, DEMIRPENÇE ÖZLEM, PAYDAS SEMRA. Systematic review/Meta-analysis.The role of gender in patients with diffuse large B cell lymphoma treated with rituximab-containing regimens: a meta-analysis. Archives of Medical Science, 2014; 4: 708-714. ISSN: 1734-1922 (Print).

A.8. DİNÇ SÜREN, YILDIRIM MUSTAFA, DEMIRPENÇE ÖZLEM, KAYA VILDAN, ARSENAL SEZGIN ALIKANOGLU, BÜLBÜLLER NURULLAH, YILDIZ MUSTAFA, SEZER CEM. The role of High Mobility Group Box 1 (HMG B1) in colorectal cancer. Medical Science Monitor 2014; 20: 530-537. ISSN: 1643-3750.

A.9. YILDIRIM MUSTAFA, KAYA VILDAN, YILDIZ MUSTAFA, DEMIRPENÇE ÖZLEM, GUNDUZ SEYDA, UTKU DONEM DILLI. Esophageal cancer, gastric cancer and the use of pesticides in the South western of Turkey. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP, 2014; 15(6): 2821-3. ISSN: 1513-7368 (Print).

A.10. OZARDA YESIM, ICHIHARA KIYOSHI, ASLAN DILER, AYBEK HULYA, ARI ZEKI, TANELI FATMA, COKER CANAN, AKAN PINAR, SISMAN ALI RIZA, BAHCECI ONUR, SEZGIN NURZEN, DEMIR MELTEM, YÜCEL SÜLEYMAN GÜLTEKİN, AKBAS SADİKA HALİDE, ÖZDEM SEBAHAT, POLAT GÜRBÜZ, ÖZBAGCI AYSE BINNUR, ÖRKMEZ MUSTAFA, METE NURIYE, EVLIYAOGU OSMAN, KIYICI AYSEL, VATANSEV HUSAMETTİN, ÖZTÜRK BAHADIR, YUCEL DOĞAN, KAYAALP DAMLA, DOĞAN KÜBRA, PINAR ASLI, GÜRBİLEK MEHMET, ÇETİNKAYA ÇİGDEM DAMLA, AKIN OKHAN, SERDAR MUHİTTİN ABDULKADİR, KURT İSMAIL, ERDİNÇ SELDA, KADIÇESME OZGUR, İLHAN NECİP, SADAK ATALI DİLEK , BAKAN EBUBEKİR, POLAT HARUN, NOYAN TEVFIK, CAN MURAT, BEDİR ABDULKERİM, OKUYUCU ALI, DEĞER ORHAN, AĞAÇ SURET, ADEMOĞLU EVİN, KAYA AYSEM, NOGAY TURKAN, EREN NEZAKET, DIRİCAN MELAHAT, TUNCER GÜL ÖZLEM, AYKUS MEHMET, GÜNES YELİZ, UNALLI ÖZMEN SEVDA, SEHAVET TEZCAN, DEMIRPENÇE ÖZLEM, DEĞİRMEN ELİF. A multicenter nationwide reference intervals study for common biochemical analytes in Turkey using Abbott

analyzers. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 2014; 52(12):1823-33. ISSN: 1434-6621 (Print).

A.11. YILDIRIM MUSTAFA, DEMIRPENÇE ÖZLEM, KAYA VILDAN, DINC SUREN, KARACA MEHMET, EVLIYAOGU OSMAN, YILMAZ NECAT, SEYDA GÜNDÜZ. Roles for paraoxonase but not ceruloplasmin in peritoneal washing fluid in differential diagnosis of gynecologic pathologies. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP, 2014;15(15): 6233-7. ISSN: 1513-7368 (Print).

A.12. DEVECİ OZCAN, TEKİN REÇEP, ASLAN EMEL, HOSOGLU SALİH, BOZKURT FATMA, DAYAN SAIM, KAYA MEHMET CEMAL, DEMIRPENÇE ÖZLEM. Assessment of the laboratory transmission of brucellosis in an endemic region. Acta Medica Mediterranea, 2014; 30: 205-208. ISSN: 0393-6384 (Print).

A.13. DEMIRPENÇE ÖZLEM, SEVİM BÜNYAMIN, YILDIRIM MUSTAFA, NURLU AYAN NILHAN, MERT DUYGU, OSMAN EVLIYAOGU. Serum paraoxonase, TAS, TOS and ceruloplasmin in brucellosis. International journal of clinical and experimental medicine, 2014; 7(6): 1592-7. ISSN: 1940-5901 (Electronic).

A.14. YILDIRIM MUSTAFA, KAYA VILDAN, DEMIRPENÇE ÖZLEM, SEYDA GUNDUZ, HAKAN BOZCUK. Prognostic significance of p53 in gastric cancer: a meta- analysis. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP, 2015; 16(1), 327-32. ISSN: 1513-7368 .

A.15. ÇİFTÇİ SÜLEYMAN, DOĞAN EYÜP, ÇİFTÇİ LEYLA, DEMIRPENÇE ÖZLEM. The Effect of Limbal Autograft in Recurrence of Pterygium. Open Journal of Ophthalmology, 2015; 5, 101-107. ISSN: 2165-7408.

A.16. SEZGİN ALIKANOGU ARSENAL, GUNDUZ SEYDA, DEMIRPENÇE ÖZLEM, SUREN DİNÇ, GUNDUZ UMUT RIZA, SEZER CEM, YILDIZ MUSTAFA, YILDIRIM MUSTAFA. Expression pattern and prognostic significance of claudin 1, 4 and 7 in pancreatic cancer. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP, 2015; 16(10): 4387-92. ISSN: 1513-7368 .

A.17. DEMİR SÜLEYMAN, ATLI ABDULLAH, BULUT MAHMUT, OKAN İBİLOGLU ASLIHAN, GÜNES MEHMET, KAYA MEHMET CEMAL, DEMIRPENÇE ÖZLEM, SİR AYTEKİN .Neutrophil-lymphocyteratio in patients

with major depressive disorder undergoing no pharmacological therapy. Neuropsychiatric Disease and Treatment, 2015; 11: 2253, Doi: 10.2147/NDT.ISSN: 1176-6328.

A.18. DEMIRPENÇE ÖZLEM, TUNÇ TUTKU, AYDIN HÜSEYİN, SÜMER ZEYNEP, ÇELİK VEYSEL KENAN, DOĞAN HALEF OKAN, KUKUL GÜVEN FATMA MUTLU. The Thioredoxin reductase activity and Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha level in anaerobic and aerobic macrophages. Bratislava Medical Journal ISSN:0006-9248.

A.19. SAHİN ALI, USLU ALI UĞUR, SEVEN DOĞAN, CAMCI AYŞE, DEMIRPENÇE ÖZLEM, SAHİN MEHTAP, UNCU TUNAHAN, AYDIN BAHATTİN. Evaluation of Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Monocyte to Lymphocyte Ratio in Gouty Arthritis Attacks. West indian medical journal, 2015; Doi: 10.7727/wimj

A.20. AYDIN HÜSEYİN, ÇELİK VEYSEL KENAN, SARI İSMAIL, TEKİN YUSUF KENAN, DEMIRPENÇE ÖZLEM, BAKIR SEVTAP. Comparison of sulfurtransferases in various tissue and mitochondria of rats with type 1 diabetes mellitus induced by streptozosin. International Journal of Diabetes in Developing Countries, 2015; DOI 10.1007/s13410-015-0377-1.ISSN: 0973-3930 .

A.21.KARAKUS SAVAS, SANCAKDAR ENVER, AKKAR OZLEM, YILDIZ ÇAĞLAR, DEMIRPENÇE ÖZLEM, ÇETİN ALI. Elevated Serum CD95/FAS and HIF-1? Levels, but Not Tie-2 Levels, May Be Biomarkers in Patients With Severe Endometriosis: A Preliminary Report. J Minim Invasive Gynecol. 2016;23(4):573-7. doi: 10.1016/j.jmig.2016.01.025.

A.22.KILIÇGÜN HASAN, ERSAN ERDAL, BAKIR SEVTAP, ERSAN SERPİL, KOÇ DERYA, DEMIRPENÇE ÖZLEM, DOĞAN KÜBRA, Xanthineoxidase, adenosine deaminase and vitamin E levels in patients with schizophrenia. Anatolian Journal of Psychiatry. 2016; 17(6): 476-481doi: 10.5455/apd.214492

A.22.SOLAKHAN MEHMET, DEMIRPENÇE ÖZLEM, ORHAN NURİ, YILDIRIM OMER AYDIN, GUZEL EBRU, YILDIRIM MUSTAFA. Lack of Any Role of Systemic Inflammatory Responses in Predicting Muscle Invasion by Bladder Cancer, Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(8):3737-9

A.23.DEMIRPENÇE ÖZLEM, DOĞAN HALEF OKAN, ERSAN SERPİL, SAHİN MEHTAP, SAHİN HASAN, BAKIR SEVTAP. Presepsin Levels of Patients with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. Jpn J Infect Dis. 2016;69(6):505-509.

A.24.DOGAN HALEF OKAN, OMMA AHMET, TURAN TURHAN, BOĞDAYCIOĞLU NİHAL, KARAASLAN YASAR, YAVUZ HAYRETTİN, DEMIRPENÇE ÖZLEM, AYDIN HÜSEYİN, BAKIR SEVTAP. Decreased Chitotriosidase Activity and Levels in Familial Mediterranean Fever. J Korean Med Sci. 2016 Dec;31(12):1902-1906.

B. Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler :

B.1. DEMIRPENÇE ÖZLEM, TEZCAN SEHAVET İSİK, DEĞİRMEN ELİF, MERT DUYGU, GÜMÜS ALPER, ÇELEN MUSTAFA KEMAL. Batman Devlet Hastanesine Başvuran Kisilerde Hepatit ve HIV Serolojisinin Sonuçları. Viral Hepatit Dergisi. 2012; 18(1): 6-10. Doi: 10.4274/Vhd.18.02. ISSN:1307-94-41.

B.2. TEKİN RECEP, KARAKOÇ ZEHRA ÇAGLA, AKKOYUNLU YASEMİN, DEMIRPENÇE ÖZLEM, BOZKURT FATMA, DEVECİ ÖZCAN, MERT DUYGU. Retro spective analysis of 286 Brucellosis cases in the southeast of Turkey. Journal of Clinical and Experimental Investigations. 2012;3(3): 335-339. Doi:10.5799/ahinjs.01.2012.03.0174 . ISSN:1309-8578.

B.3. HAMARAT HATİCE, YORULMAZ GÖKNUR, BİLGE UĞUR, AKKOYUNLU YASEMİN, DEMIRPENÇE ÖZLEM. Talasemi majör tanısı olan hastalarda osteoporoz sıklığının değerlendirilmesi. Türk Aile Hek Dergisi. 2013;17(4): 153-156. Doi: 10.2399/tahd.13.38247. ISSN:1303-6637.

B.4. YILDIRIM MUSTAFA, SÜREN DİNÇ, DEMIRPENÇE ÖZLEM, KAYA VILDAN. High Mobility Group Box 1 ve Kanseri. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2014; 5(3):182-6.

B.5. YILDIRIM MUSTAFA, GÜNDOĞDUZ SEYDA, DEMIRPENÇE ÖZLEM, KAYA VILDAN. Role of Vitamin C in Gastritis and Gastric Cancer. Journal of Clinical and Analytical Medicine. 2014; 5(2): 240-3. ISSN: 1309-0720.

B.6. DEMIRPENÇE ÖZLEM, YILDIRIM MUSTAFA, AVCI ALPER, KILINÇ ERSİN, HAVİN BİLGETEKİN, DENİZ GÜPSE HÜLYA, KAYA VILDAN, ÇİÇEK HÜLYA. The Role of Trace Elements in the Malignant- Benign

Differentiation of Pleural Effusions. Journal of Clinical and Analytical Medicine .2015. DOI: 10.4328/JCAM.3366. ISSN: 1309-0720.

B.7. DEMIRPENÇE ÖZLEM, GUNDUZ SEYDA, YILDIRIM MUSTAFA. An Important Member of Tight Junctions: Claudins. Journal of Clinical and Analytical Medicine. 2015 .DOI: 10.4328/JCAM.3115. ISSN: 1309-0720.

B.8. ERDOĞAN MUSTAFA BİLGE, DEMIRPENÇE ÖZLEM, YILDIRIM MUSTAFA Kardiyovasküler cerrahi sonrası gelişen akut böbrek yetmezliğinin tanısında kullanılan erken dönem belirteçler. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2016(1):14-19.

B.9. DEMIRPENÇE ÖZLEM, SAHİN HASAN, GÜMÜS ALPER, KORKMAZ EBRU,HAKIMFATMA,UYSAL FUNDA. HbsAg and anti HCV seroprevalence in an Eastern province of Turkey. Cumhuriyet Medical Journal. 2016; 38,Number: 1

B.10.VAROL SEFER, ÇEVİK MEHMET UĞUR, ACAR ABDULLAH, DEMIRPENÇE ÖZLEM, KAPLAN İBRAHİM, TASDEMİR NEBAHAT, ÖZDEMİR HASAN HÜSEYİN. İskemik İnmenin Akut ve Subakut Döneminde Matriks Metalloproteinaz-2 ve Matriks Metalloproteinaz-9 Düzeylerinin Değerlendirilmesi. Dicle Tıp Dergisi 2016; 43 (2): 271-274.