

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HIV ve KAPOSİ SARKOMA HASTALIĞINDA MİKROARRAY İLE SNP (TEK
NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİ) ANALİZİ**

Emrah ÖZCAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2018**

Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU danışmanlığında, Emrah ÖZCAN'ın hazırladığı “**HIV ve Kaposi Sarkoma Hastalığında Mikroarray ile Snp (Tek Nükleotid Polimorfizmi) Analizi**” konulu bu çalışma 13/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Akın YIĞIN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Davut Sinan KAPLAN

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Prof. Dr. Halil Murat ALĞIN

Enstitü Müdürü

Bu çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: 17241

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
SİMGELER DİZİNİ	vi
1.GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	14
3. MATERYAL ve YÖNTEM	18
3.1. Materyal.....	18
3.2. Yöntem.....	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	29
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	49
5.1. Sonuçlar	49
5.2. Öneriler	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ.....	60
EKLER	

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HIV ve KAPOSİ SARKOMA HASTALIĞINDA MİKROARRAY İLE SNP (TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİ) ANALİZİ

Emrah ÖZCAN

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU
YIL: 2018, Sayfa: 60

Bu çalışma HIV virüslü olup Kaposi Sarkoma (HIV+) hastalığını taşıyan ve HIV virüslü olup Kaposi Sarkoma hastalığını taşımayan bireyler arasındaki SNP farklılıklarını belirlemek amacıyla 2017 yılında laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiştir. Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Enfeksiyon polikliniğinde teşhisi konulan bireylerden alınan kan örnekleriyle çalışma gerçekleştirilmiştir. Hastalardan ve kontrol bireyinden alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış ve bu DNA'lardan mikroarray sistemiyle SNP analizi gerçekleştirilmiştir. Yaptığımız çalışma sonucunda 204 000 tane SNP taranmış ve bunlardan 32.362 tane SNP'in Kontrol [KS (-) ve HIV (-)] ve HIV+ [KS(-)] grupta aynı allel olduğu fakat Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında farklı allel olduğu görülmüştür. Farklılık olan bu SNP'lerden 16 tanesinin daha önce yapılan çalışmalarla Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] ile bağlantılı bulunan genler içerisinde yer aldığını belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Kaposi sarkoma, SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi), HIV, Mikroarray

ABSTRACT

MSc Thesis

SNP (SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM) ANALISES WITH MICROARRAY in HIV AND KAPOSI'S SARCOMA PATIENT

Emrah OZCAN

**Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Genetic Analysis**

**Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ismail KOYUNCU
Year: 2018, Page: 60**

This study was conducted in laboratory conditions in 2017 to determine the SNP differences between HIV-infected individuals carrying Kaposi's Sarcoma (HIV +) disease and HIV-infected individuals who did not have Kaposi's sarcoma disease. This study was carried out with blood samples taken from individuals diagnosed at the Harran University Research and Practice Hospital Infection Clinic. DNA was isolated from blood samples taken from patients and control individual, and SNP analysis was carried out using microarray system from these DNAs. As a result of our work 204 000 SNP screened, and 32 362 of these units SNPs controls [KS (-) and HIV (-)] and HIV+ [KS (-)] are the same allele group but Kaposi's Sarcoma [KS(+) and HIV(+)] was found to be different alleles in the patient. We determined that 16 of these SNPs with differences were included in the genes associated with Kaposi's sarcoma [KS(+) and HIV(+)] in previous studies.

KEY WORDS: Kaposi's sarcoma, SNP (Single Nucleotide Polymorphism), HIV, Microarray

TEŞEKKÜR

Tezin konusunun seçiminde, uygulamasında ve çalışmamda yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU'ya, Dr. Öğr. Üyesi Akın YİĞİN'e, laboratuvar arkadaşım Hasine YEL'e ve diğer tüm laboratuvar arkadaşlarıma, maddi ve manevi desteği ile her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Kaposi sarkom herpesvirüs (KSHV) tarafından kodlanmış proteinler hücrel çoğalmayı, hayatta kalmayı, farklılaşmayı ve anjiyogeneziyi etkileyebilir.....	7
Şekil 1.2. Sağlıklı ve HIV / AIDS hastalarında KSHV patobiyojisi.....	12
Şekil 1.3. AIDS-KS parakrin viral onkogenezisindeki moleküler mekanizmalar, terapötik hedefler ve klinik olarak test edilen ilaçlar.....	13
Şekil 3.1. Kaposi sarkomalı hastanın ağız içinde görülen lezyonlar.....	18
Şekil 3.2. Kaposi sarkomalı hastanın vücut görüntüsü.....	19
Şekil 4.1. Total DNA izolasyon sonrası agaroz jel görüntüsü.....	29
Şekil 4.2. Hiv+ [KS(-) ve HIV(+)] hastanın karyotipi	30
Şekil 4.3. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)] bireyinin karyotipi.....	30
Şekil 4.4. Kaposi sarkoma hastasının karyotipi.....	30
Şekil 4.5. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarının Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] ile ilişkilendirilen genlerdeki nükleotid sayı grafiği.....	35
Şekil 4.6. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarının allel bazlı grafiği.	37
Şekil 4.7. Yapılan 204 000 SNP taramasında Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarına ait allel sayı grafiği.....	38
Şekil 4.8. Taranan 204 000 SNP'e ait nükleotidlerin toplam allel sayı grafiği.....	39
Şekil 4.9. Kaposi sarkoma ilişkili genlerdeki Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] farklı olan toplam SNP sayısı.....	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Çalışmamızda kullandığımız bireylere ait bilgiler.	18
Çizelge 4.1. Kontrol, HIV ve Kaposi Sarkoma örneklerinin DNA konsantrasyonları.....	29
Çizelge 4.2. Kaposi Sarkoma ile ilişkili olan 9 gene ait snp'ler ve çalışmamızda bu snp'lere ait olan nükleotidler.	31
Çizelge 4.3. Kaposi sarkoma ile ilişkilendirilen ve çalışmamızda bu SNP'lere karşılık gelen nükleotidler.....	32
Çizelge 4.4. Kontrol grubuna ait genler ve bu genlere ait SNP nükleotid sayısı.....	33
Çizelge 4.5. HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] grubuna ait genler ve bu genlere ait SNP nükleotid sayısı.....	33
Çizelge 4.6. Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] grubuna ait genler ve bu genlere ait SNP nükleotid sayısı.	34
Çizelge 4.7. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarına göre toplam nükleotid sayısı.	34
Çizelge 4.8. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarının allel bazlı gruplandırılması.	36
Çizelge 4.9. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] baz alınarak Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]'daki değişim.	40

SİMGELER DİZİNİ

KS	Kaposi Sarkoma
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
RFLP	Restriction fragment length polimorphism
KSHV	Kaposi Sarkoma hastalığının nedeni olan HIV vrüsü
PEL	Primer effüzyon lenfoması
HSC	Hematopoitik progenitör hücre
EPC	Endotel progenitör hücre
MCD	Multicentric Castleman Disease
ART	Anti-retroviral tedavi
CDK	Siklin bağımlı kinaz
ANGPT2	Anjiyopietin-2
SINE	Short interspersed repeated sequences
KS [KS(+) ve HIV(+)]	Hem Kaposi Sarkoma hem de HIV+ taşıyan birey
HIV+ [KS(-)]	HIV+ taşıyan fakat Kaposi Sarkoma taşımayan birey
Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	Kaposi Sarkoma ve HIV+ taşımayan normal birey

1. GİRİŞ

İnsanlar arasında DNA'nın % 99,9'u aynıdır ve insan ırkında genetik çeşitlilik DNA nükleotidlerin dizilimindeki küçük farklardan kaynaklanmaktadır. DNA dizilimindeki bazı küçük farklar insan fenotipini etkilememekle birlikte dizilimdeki bazı küçük farklar direkt hastalığa neden olabilmektedir. Bu iki durum arasında anatomik, fizyolojik, tedaviye cevap, ilaçlara yan etki, enfeksiyonlara yatkınlık, kansere yatkınlık ve kişilik özellikleri gibi farklılıklar yer almaktadır (Firth ve ark., 2017).

Bir gendeki özel bir kromozom bölgesi (lokus) veya DNA dizisinin birkaç alternatif formundan her biri 'allel' olarak adlandırılmaktadır. Gen lokusu kromozom üzerinde belirli bir karaktere ait genetik bilginin yer aldığı bölgedir. İnsanda her otozomal lokusda biri babadan diğeri anneden geçen iki allel bulunur. Popülasyondaki bireylerin belli bir gen bölgesinde, belli bir allelin bulunma sıklığı allel frekansı veya gen frekansı olarak adlandırılır. Bir toplumda genlerin dağılımı farklı gen bölgelerindeki allel frekansları ile karakterize edilebilir (Waddington, 2014). Genomun farklı lokuslarında bulunan allellerde çok değişik mutasyonlar bulunabilmektedir. Bu mutasyonlar toplumda normal varyasyonundan kalıtsal hastalıklara kadar uzanmaktadır. Günümüzde rutin moleküler teknikler kullanılarak genetik hastalıktaki birçok mutasyon kolaylıkla belirlenebilmektedir. Toplumdaki farklı mutasyonların tanımlanması sayesinde ailelerin genetik hastalıklar açısından araştırılması ve büyük popülasyonlardaki risklerin belirlenmesine imkân tanımaktadır.

Polimorfizm, DNA üzerinde herhangi bir genetik hastalığa neden olmayan ancak hastalık için bir risk faktörü oluşturabilen değişikliklerdir. Bu değişikliklere suskun nükleotid değişimleri denilmektedir. Genetik polimorfizm ise genel popülasyonda bulunan kromozomların % 1'inden fazlasında bulunana allel durumudur. Allel sıklığı % 1'den az ise buna 'nadir varyantlar' denilmektedir. Genlerin regülatör (düzenleyici) bölgelerinde bulunan polimorfik alleller genlerin

transkripsiyonel regülasyonunu etkileyerek fenotipik değişikliklere neden olabilmektedir. Polimorfizmler, tekli baz değişiklikleri, parça kaybı veya eklenmesi ile oluşabilirler ve sıklıkla genlerin protein kodlamayan bölgelerinde görülmektedirler (Angel, 2017).

Yapısal genlerde, aminoasitleri kodlamak üzere şifrelenmiş olan nükleotid segmentlerine ekzon, şifrelenmemiş olan nükleotid segmentlerine ise intron denilmektedir. Protein sentezini kodlayan fonksiyonel ve yapısal genlere tek kopya genleri denilmektedir. Hücre, her genetik dizi için iki kopya içermektedir. Tek kopya genlerin oluşumuna katılan DNA, kromozomların içinde bulunan DNA'nın küçük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu bölgedeki DNA değişimleri proteinin fonksiyonunu değiştirmektedir (Nussbaum ve ark., 2015).

Belirli bir DNA çift sarmal dizisini tanıyan ve DNA'yı belirli bir noktadan kesen enzimlere 'Restriksiyon Enzimleri' denilmektedir. Eğer polimorfizmler, bu restriksiyon enzimlerinin kesim bölgesinin yok olmasına ya da fazladan yeni bir kesim bölgesi oluşmasına neden olurlarsa, bu durum kolaylıkla saptanabilmektedir. Bu enzimler DNA'yı kestiğinde farklı uzunlukta DNA parçaları oluşur ve agaroz jel elektroforezinde moleküler boyutlarına göre değişik pozisyonlarda görülürler. Bunlara; restriksiyon enzimi uzunluk polimorfizmleri "Restriction fragment length polymorphism (RFLP)" denilmektedir (Buckhout-White ve ark., 2018).

Kodlamayan DNA segmentleri iki ana grupta incelenebilir; dağılmış tekrarlayan DNA dizileri: Uzunlukları 500 baz çiftinden daha küçük olan ve tüm genomda dağılmış olarak bulunan dizilere SINE (short interspersed repeated sequences) denilmektedir. Bu gruba ait ailelerden en önemlisi Alu tekrar dizisidir. Alu ailesinin tüm genomdaki kopya sayısı 500.000 kadar olup, uzunlukları 300 baz çifti civarındadır. 5-6 kb uzunluğunda olan tekrar dizisine ise LINE (long interspersed repeated sequences) denilmektedir. Dağılmamış tekrarlayan DNA dizileri: Bunlar genellikle kromozomların heterokromatik bölgelerinde lokalize olmuşlardır. Ayrıca kromozomların sentromerik ve telomerik bölgelerinde de bulunmaktadırlar. Tekrarlanan DNA sayısı aynı ailenin bireylerinde farklı olabilir.

Hücresinin yaşamı boyunca oluşan replikasyonlar sırasında tekrar sayıları değişebilmektedir ve bu değişiklikler bir sonraki nesle aktarılmaktadır (Basaran, 1999).

Tek nükleotid polimorfizmi (SNP); DNA dizisini oluşturan adenin, guanin, sitozin, timin baz çiftinden birinin diğer baz çifti ile değişmesi olarak adlandırılır. SNP'ler insan genomunda en sık bulunan genetik varyasyonlardır. Bir genetik varyasyonun polimorfizm olarak tanımlanabilmesi için bir popülasyondaki sıklığının en az %1 olması gerekmektedir. İnsan genomunda tüm DNA dizisinin çok az bir kısmını kapsayan genler arasındaki DNA dizisinin % 90'dan fazlası belirli bir ürün kodlamamaktadır. Her 1000 baz çiftinde bir bulunan birçok SNP protein yapısında ve fonksiyonunda değişikliğe neden olmaz (Miller ve ark., 2001). Eğer bir SNP amino asitlerde değişikliğe neden oluyorsa bu SNP non-synonymous veya missense (yanlış anlamlı) SNP olarak adlandırılırlar.

Promotor bölgede bulunan SNP'ler protein yapısında değişiklik oluşturmamakla birlikte transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını etkileyebilmekte ve böylece protein ekspresyonunu değiştirebilmektedir. Fakat SNP'lerin çoğunun kodlamayan dizide bulunmaları ve aynı amino asidi kodlayan varyantlar oluşturduklarından fenotip üzerinde herhangi bir etkisi olmamaktadır.

Kodlamayan bölgelerde bulunan SNP'lerden 5' veya 3' transle olmayan bölgede olanların transkripsiyon sonrası regulasyonda kritik rol oynayabildiği bilinmektedir. Aday gen analizinde SNP'ler seçilirken bu farklılıkların anlaşılması önemlidir. Genel olarak promotor bölgede bulunan SNP'ler ve missense SNP'ler kodlamayan bölgede bulunan SNP'lere göre daha önemlidir (Yende ve ark., 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalar sayesinde SNP'lerin tanımlanması ve genomda sık bulunmalarının anlaşılması ile genomda kararlı bir şekilde dağılım göstermeleri SNP'lerin tercih edilen moleküler belirteç olmalarını sağlamıştır. Bir defada bir bireye ait milyonun üzerinde SNP genotiplendirebilen yüksek işlem hacimli genotipleme yöntemlerinin gelişmesi ile bir bireye ait genom haritası ortaya

koyulabilir hale gelmiştir. Bu nedenle SNP'ler bağlantı ve asosiyasyon analizi çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Gupta ve ark., 2008).

Keşfinden yıllar sonra bile (Chang Y. ve ark., 1994) Kaposi sarkoma herpes virüsü (KSHV) veya insan herpesvirüsü-8 (HHV-8), gizemli onkovirüs olmaya ve Afrika'daki endemik bölgelerde ve bazı anti-retroviral tedavi (ART) alan hastalarda klinik bir sorun olmaya devam etmektedir. Bir gamma-2 herpesvirus olan KSHV, Kaposi sarkomunun etiyolojik ajanıdır (Chang ve ark., 1994). KSHV, Mediterranean veya Ashkenazi kökenli yaşlı bireyleri etkileyen klasik KS, transplantla ilişkili KS, Sahra altı ülkeleri etkileyen endemik KS ve AIDS'e bağlı veya epidemik KS dahil olmak üzere hastalığın tüm klinik formlarıyla kesinlikle bağlantılıdır (Ganem ve ark., 2010). KSHV, KS iğ hücrelerinde bulunur (Mesri ve ark., 2010). KSHV enfeksiyonu KS'nin başlangıcından önce gelir (Casper, 2011). HHV-8'in seroprevalans hızı, farklı coğrafi bölgelerde önemli derecede değişir. KSHV seroprevalansı KS insidansının yüksek olduğu alanlarda daha yüksektir (An ve ark., 2006). Nitekim Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'nın büyük bölümünde% 10'un altında, Akdeniz bölgesinde % 10-30, Sahraaltı Afrika'da ve Güney Amerika'nın bir bölümünde% 50'nin üzerindedir (Mesri, 2010; Reinheimer 2011). HHV-8-seropozitif bireylerin sadece küçük bir yüzdesi KS'ye ilerlemekte, ancak KS gelişimi için yeterli görünmemekle birlikte, virüs enfeksiyonunun önkoşul rolünü desteklemektedir.

HIV negatif hastalarda Kaposi sarkomu (KS) nadirdir ve AIDS ile ilişkili KS'den ayırt edilmelidir. İki grup AIDS'le ilişkili KS'yi geliştirme riski altındadır. Ağırlıklı olarak Akdeniz kökenli yaşlı erkekler ve iyatrojenik immüsupresyonu olan kişiler yüksek risk altındadır. AIDS hastalarında KS'nin aksine, AIDS dışı ilişkili KS nadiren lenf düğümleri veya organları içeren lokalize bir prosetir ve çoğu olgu lokal ya da sistemik terapötik stratejilere yanıt verir (Jacob ve ark., 2011).

KSHV doğuştan gelen ve spesifik bağışıklığa müdahale eden, apoptozu engelleyen, hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimini artıran ve anjiyojenezi teşvik eden çeşitli genleri kodlar ve bunlar hastalık patogenezinde önemli roller oynamaktadır. Araştırmacılar, keşfinden kısa süre sonra KSHV'nin neden olduğu iki

ilave hastalık tespit ettiler. Bunlardan birincisi primer effüzyon lenfoması (PEL); genellikle vücut boşluklarında ortaya çıkan agresif B hücreli bir lenfoma idi. Vücut boşluğu lenfomaları daha önce gözlemlenmekle birlikte, ancak KSHV ile ilişkilendirildikten sonra ayırddilen belirgin bir lenfoma alt tipi olmuştur (Cesarman, 1995; Nador, 1996). İkinci hastalık da plazmablastik multisentrik Castleman hastalığı (KSHV-MCD) idi (Soulier ve ark., 1995). Bu hastalıklar öncelikli olarak HIV bulaşmış hastalarda gelişir, ancak HIV ile enfekte olmamış kişilerde de ortaya çıkabilir. KSHV ile ilişkili lenfomaların isimlendirilmesi PEL ve KSHV ile ilişkili diffüz büyük B hücreli lenfomanın ekstraakiter bir varyantını içerdiği şeklinde gelişmiştir (Swerdlow ve ark., 2016).

KSHV ile birincil enfeksiyon, genellikle sessiz olmakla birlikte, bazen ateş, lenfadenopati, döküntü veya ishale neden olabilir (Wang ve ark., 2001). KSHV ve HIV ile ortak enfekte olan hastalar genellikle birden fazla KSHV ile ilişkili hastalık taşır. Bu nedenle, klinisyenler bu bozukluklardan birine sahip bir hastayı görürken, ilave teşhislerin tedaviye etkileri olabileceğinden yüksek bir şüphe endeksi buldurmalıdır. KSHV tükürükte salgılanabilir ve bunun başlıca yayılma vasıtası olduğu düşünülmektedir (Pauk ve ark., 2000). KSHV viral yükü (VL) semende önemli derecede düşüktür ve bu önemli bir iletim aracı olduğu düşünülmemektedir. Sahra altı Afrika'da virüs girişinin önemli bir kısmı ağız yoluyla olmakta ve enfeksiyon genellikle çocukluk çağında ortaya çıkmaktadır (Crabtree, 2014; Borges, 2012). KSHV, sağlıklı olarak enfekte olmuş bireylerin dolaşımdaki B hücrelerinde tespit edilebilir (Blackbourn, 1997; Mbulaiteye, 2003).

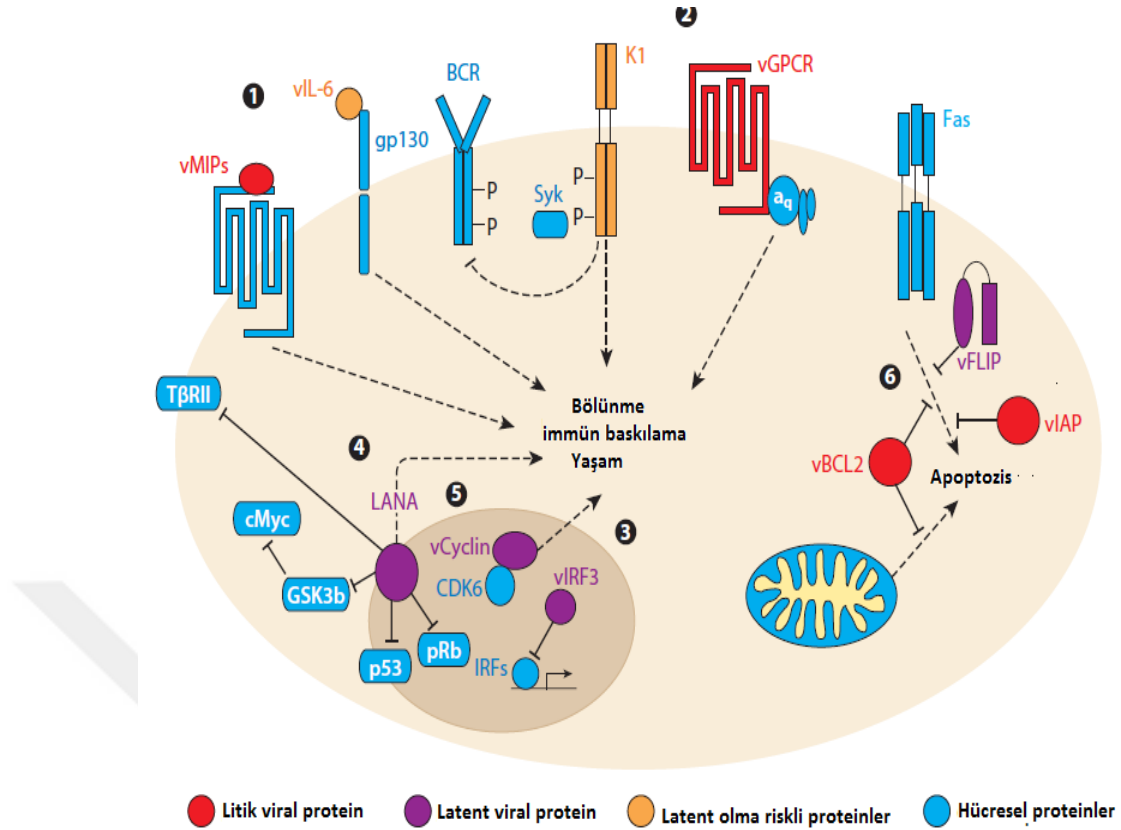
KS ilerlemesinin arkasındaki bağışıklık baskılama rolü iyi belgelenmiş olsa da, etnik köken, hem çevresel hem de genetik faktörler bu senaryoda büyük bir rol oynamaktadır (de Souza, 2007; Jalilvand, 2015). HHV-8 prevelansı, genel popülasyonun % 2-3.6' sında, hemodiyaliz hastalarının % 16.9'unda, böbrek nakli alan hastaların % 25'inde ve HIV ile enfekte hastaların % 45.7'sinde bildirilmiştir (Ahmadpoor, 2007; Jalilvand, 2011). Böbrek transplantasyonunda yüksek KS insidansı, virüsün genel popülasyonda yaygın olabileceğini, genetik veya çevresel

faktörlerden dolayı yalnızca birkaç virüs bulaşmış kişinin KS gelişme şansına sahip olabileceğini düşündürmektedir (Varmazyar, 2017).

KSHV endotel hücresi soyunda tümöre dönüşümü sağlar ve indükler. Diğer insan onkojenik virüsleri gibi tek başına KSHV enfeksiyonu da KSHV ile ilişkili kansere neden olmak için genellikle yeterli değildir ve HIV / AIDS ile ilişkili iki B hücreli lenfoproliferatif bozuklukları da içermelidir. Bu, malign transformasyon için diğer faktörlerin gerekli olduğunu göstermektedir (Mesri ve ark., 2014; Cesarman, 2014).

HIV ile enfekte olan bireylerde KS insidansı çarpıcı bir şekilde artmaktadır; bu da HIV / AIDS'in KSHV onkogenezi için güçlü bir faktör olduğuna işaret etmektedir (Ganem ve ark., 2010; Casper, 2011; Martin, 2011). Yine de, bu yüksek riskli grupta bile, KSHV ile enfekte olmuş kişilerin çoğunluğu KS'yi geliştiremeyecektir. Genetik yatkınlık, immün durum ve HIV enfeksiyonu arasındaki karmaşık etkileşimlerin KSHV enfeksiyonunun kanser sonuçlarını belirlediğini ortaya koyuyor.

KSHV büyük bir çift sarmallı DNA virüsüdür (Schulz ve ark., 2015). B-hücreleri, monositler ve endotel hücreleri de dahil olmak üzere birçok hücre tipini enfekte edebilir. Diğer herpes virüsleri gibi, KSHV de latent ve litik replikasyon programlarına sahiptir. Gecikme süresince ORF72 (v-siklin), ORF73 (gecikme ile ilişkili nükleer antijen [LANA]), ORFK10.5 (vIRF3) ve birkaç viral mikro RNA (miRNA) tarafından kodlananlar da dahil olmak üzere az sayıda gen ifade edilir. Litik çoğaltma, litik gen ekspresyonunu, virionların salınmasını ve enfekte olmuş hücrelerin ölümünü içerir. Litik replikasyona geçiş, ORF50 tarafından kodlanan replikasyon ve transkripsiyon aktivatörü (RTA) aracılığındadır (Sun ve ark., 1998). Çeşitli fizyolojik sinyaller, hipoksi, oksidatif stres, bazı sitokinler, sodyum bütirat ve 12-O-tetradekanoilflorbol-13-asetat (TPA) gibi bazı kimyasalları içeren RTA'yi aktive edebilir (Davis, 2001; Li, 2011) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Kaposi sarkom herpesvirüs (KSHV) tarafından kodlanmış proteinler hücresel çoğalmayı, hayatta kalmayı, farklılaşmayı ve anjiyogeneziyi etkileyebilir. KSHV, hayati proliferatif ve hayatta kalma fonksiyonlarını sağlayan hücresel proteinlere homolog kodlayan birkaç açık okuma çerçevesi içerir. Bunların arasında; 1.salgılanan otokrin / parakrin faktörler (vIL-6 ve vMIP'ler); 2. transmembran sinyal molekülleri (vGPCR ve K1); 3.transkripsiyonel düzenleyiciler (vIRF'ler ve LANA); 4. hücre döngüsü regülatörü (vCYC); 5. tümör süpresör gen bağlama aktivitesi (LANA); 6.apoptoz inhibitörleri (vBCL2, vFLIP ve vIAP) yer alır. (Davis, 2001; Li, 2011)

KSHV, apoptoz veya hücre döngüsü engellenmesi gibi doğuştan hücresel savunmaları engelleyebilen genleri kodlar, immünolojik antiviral savunmaları yıkar, enfekte olmuş hücrelerin çoğalmasını teşvik eder. Bazı KSHV genleri insan genlerini anjiyojenik ve inflamatuvar özelliklerle taklit eder. Bu genler için evrimsel baskı KSHV sağ kalımı teşvik etmek olsa da, KSHV ile ilgili tümörlerin ve proliferatif hastalıkların istenmeyen sonuçların ortaya çıkmasına da yol açabilir (Moore, 1996; Boshoff, 1997). KSHV ile enfekte hastalarda neden farklı hastalıkların geliştiği belli değildir. Bir olasılık, KSHV-kodlu mikroRNA'daki farklılıkların farklı hastalık belirtilerine katkıda bulunabileceğidir (Ray ve ark., 2012). Birkaç KSHV kodlu gen belirli bir yolda çalışır. Bir viral interlökin-6 (vIL-6), JAK / STAT yolağını

uyararak VEGF ve anjiyogenezin artmış ekspresyonuna neden olur (Aoki, 2000; Liu, 2001). VIL-6 aynı zamanda hücre proliferasyonunu destekler ve KSHV-MCD semptomatolojisine katkıda bulunur (Uldrick ve ark., 2010). LANA p53'ü inhibe eder, KSHV ile enfekte hücrelerin apoptozunu azaltır (Friborg ve ark., 1999). KSHV ile kodlanmış interferon yanıt faktörleri (vIRF'ler), MHC proteinlerinin downregülasyonu ile bağışıklıktan kaçınmayı geliştirir (Lagos, 2007; Schmidt, 2011). V-FLIP kaposin B ve ORF4 dahil olmak üzere birkaç KSHV geni, insan IL-6'sını upregüle eder. KSHV v-FLIP, PEL, KS ve KSHV-MCD patogenezine katkıda bulunan NF-kB'yi aktive eder.

AIDS-KS lezyonları, çoğalan KSHV iğsi hücreleri, eritrosit ekstravazasyonu ile yoğun anjiyogenez ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile karakterizedir. KSHV enfeksiyonu hücre dönüşümünün özelliklerini taşıyan önemli morfolojik ve transkripsiyonel değişikliklerle sonuçlanmasına rağmen, bu hücre tiplerinden azı dönüştürülmüş ve tümöre özeldir. Hücresel belirteçlerin heterojen ifadesi ve KS lezyonlarının çok odaklı doğası, dolaşımdaki bir hematopoietik progenitör hücrenin (HSC) KS iğsi hücrelerine neden olabileceğini göstermektedir. Özellikle endotel progenitör hücreleri (EPC'ler) ve mezenkimal kök hücreler (MSC) 'de bu daha iyi anlaşılmaktadır çünkü her ikisi de endotelial soyları ayırt etme kapasitesine sahiptirler (Cancian ve ark., 2013). AIDS-KS (Browning, 1994) 'de dolaşımdaki artan bir KS ögesinin varlığına işaret eden kanıtlar şunlardır:

(A) Böbrek transplant alıcılarındaki KS iğsi hücreleri donör kaynaklıdır (Barozzi, 2003).

(B) KS, "Koebner fenomeni" ni sergilemekte ve KS lezyonlarının yarananma yerlerinde ortaya çıkması, inflamatuvar sitokinlerin dolaşımdaki KS öncülerini travma alanına götürdüğünü düşündürmektedir (Cancian ve ark., 2013).

(C) HIV / AIDS'de yükselmiş inflamatuvar sitokinler, potansiyel KS öncülerini görevlendirebilir ve iğsi hücre farklılaşmasını ve çoğalmasını indükleyebilir (Browning, 1994).

(D) Fare endotelial HSCsoy hücrelerinden ve biri sıçan MSC'den KSHV'ye bağımlı şekilde tümörler oluşturulan üç KS modeli, bu popülasyonların KSHV enfeksiyonunun onkojenik olduğu hücre tiplerini içerdiğini düşündürdü (Mutlu ve ark., 2007; Jones ve ark., 2012).

KSHV enfeksiyonunun transkripsiyonel yeniden programlamaya neden olması ve KSHV'nin giriş reseptörleri olan $\alpha 3\beta 5$ integrinin (ITGA3 / ITGB5) ve EphrinA-reseptör-2'nin (EPHA2) genişçe ekspresyonu nedeniyle birçok hücre tipini etkileyebileceğinden KS progenitörünün tanımlanması karmaşıktır. Bu nedenle, enfekte olmuş KS iğsi hücrelerinin fenotipik belirteçlerinin hedef hücrelerin fenotipik belirteçlerine karşılık gelip gelmediğini veya KSHV'nin konakçı hücre transkripsiyonunu yeniden programlama yeteneğinin bir sonucu olup olmadığını bilmek zordur (Cancian ve ark., 2013).

KSHV, KS'nin tüm malign fenotipik özelliklerini (kanser belirteçleri-cancer hallmark) indüklemeye potansiyeline sahip 14 ana homolog da dahil olmak üzere birkaç viral kanser kodlamaktadır. KSHV latent veya litik enfeksiyon oluşturabilir. KSHV latent veya litik enfeksiyon oluşturabilir. Latent, KSHV'nin konakçıya epizomal bakım için gerekli olan sınırlı gen sayısını ifade ederek çoğaltan immünsessiz bir halidir (Ganem ve ark., 2010; Mesri ve ark., 2010). Litik enfeksiyon sırasında KSHV yeni virion üretmek için tam replikasyon programını ifade eder. Latent gen ekspresyonu, konak hücre çoğalmasını ve hayatta kalmayı hızlandırarak viral kalıcılığı ve replikasyonu desteklemektedir (Ganem ve ark., 2010). Latent KSHV genleri arasında LANA'nın p53 ve pRB tümör baskılayıcı yollarını inaktive ettiği gösterilmiştir (Radkov ve ark., 2000). KSHV siklin homologu (v-siklin) hem p21 hem de p27 Siklin bağımlı kinaz (CDK) inhibitörlerini etkisiz hale getirerek hücre döngüsü girişini indükleyebilmektedir (Swanton ve ark., 1997). Viral FLICE engelleyici protein (vFLIP), BCL-2 ve A20 gibi anti-apoptotik genlerin transkripsiyonunu yüksek seviyede düzenlemeyle hücre sağkalımını teşvik ederek NFkB'yi yapılandırıcı olarak aktiveleştirebilir (Guasparri ve ark., 2004). Kaposin (K12) ve KSHV-kodlu miRNA (Zhu ve ark., 2013) gibi diğer KSHV latent genleri, KS habis fenotipi indüklemeye daha çok birlikte çalıştıklarını gösterilmiştir.

KSHV litik ifadesi, DNA hasar tepkisini etkileyerek, hayatta kalmayı artırarak ve bağışıklık tepkisini kaçırarak şekilde viral çoğalmayı destekleyen genleri içerir. Sonuç olarak, litik genler aşağıdaki KS habis fenotipleri indükleyebilir:

(1) İmmün kaçınma: K3 ve K5 bağışıklık tanıma genlerini ubiquitinasyon ile düşük seviyede düzenlerken IRF homologları (vIRF'ler 1-4) IFN tepkisini ve ORFK4 kompleman sistemini inhibe edebilir (Coscoy, 2007).

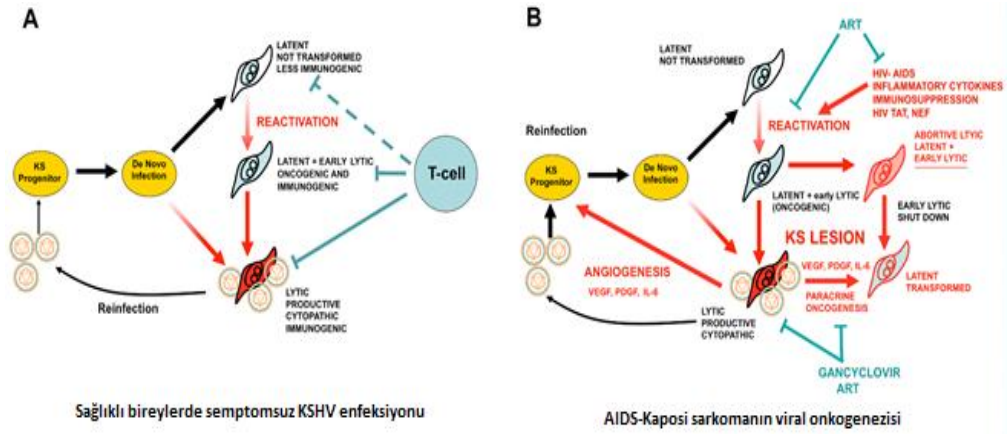
(2) Genetik instabilite: vIRF-1, p53 aracılı ATM aktivasyonunu inhibe ederek DNA hasar yanıtını engelleyebilir ve viral G proteine bağlı reseptör (vGPCR), Rac1 aracılı ROS aktivasyonu yoluyla oksidatif DNA hasarını indükleyebilir (Ma ve ark., 2013).

(3) Anti-apoptoz: vGPCR ve K1'in, anti-apoptotik NFkB yolağını aktive ettiği gösterilirken vIRF-1'in, BIM gibi sadece BAP-3 proapoptotik araçları inhibisyonu gösterilmiştir.

KSHV litik genleri, enfekte olmayan endotel ve hematopoietik hücrelerin toplanmasına yardımcı olan anjiyogenez ve inflamasyonu indükleyerek KS öncülerinin tekrar enfekte edilmesini de teşvik edebilir. Gro α ve IL-8 reseptör CXCR1 / 2'nin yapısal olarak aktif bir homologu olan vGPCR, MAPK, NFkB ve PI3K-AKT-mTOR yolaklarını aktive eder bu da VEGF ve reseptörü olan KDR (VEGFR2) yüksek seviyede düzenlenmesine neden olduğu anjiyojenik geçiş ve endotel hücre ölümsüzleşmesine neden olur (Bais ve ark., 1998; Bais ve ark., 2003). VGPCR, VEGF, IL-6, Anjiyopietin-2 (ANGPT2) ve PDGF'yi yüksek seviyede düzenleyerek transjenik farelerde anjiyojenik KS benzeri tümörleri indüklemektedir (Jensen ve ark., 2005; Sodhi ve ark., 2006). K1, AKT ve NFkB yoluyla anjiyojenik ve inflamatuvar yanıtları oluşturucu olarak indükleyebilen bir ITAM motifi içerir (Wang ve ark., 2006). Buna ek olarak KSHV, gp130 sinyalini ve diğer viral homologları anjiyojenik kemokinlere (vMIP-I / III veya vCCL-I-III) güçlü bir

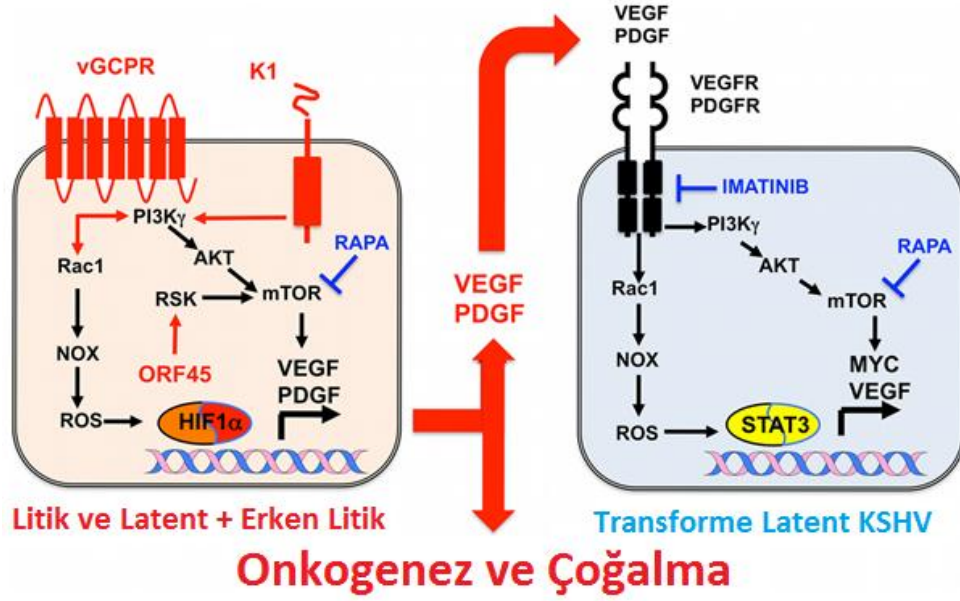
şekilde aktive edebilen bir viral IL-6 (vIL-6) da dahil olmak üzere birkaç virokeni kodla (Chen ve ark., 2009).

KSHV anjiyogenik genleri ifade eden litik enfeksiyonu sitopatik ve immünojeniktir. Bu nedenle immünokompetan bireylerde hücreleri dönüştürmez (Şekil 1.2) (Ganem ve ark., 2010). Bununla ilgili iki hipotez önerilmiştir: "parakrin onkogenezi" hipotezi (Şekil 2B), KS lezyonlarında erken litik genleri ifade eden, litik enfekte hücrelerin ya da latent enfekte hücrelerin varlığına dayanıyor (Chang ve ark., 2013). Bu hücreler anjiyojenik ve KS büyüme faktörlerinin (VEGF, IL-6, PDGF) üretimini teşvik eden vGPCR, K1 ve ORF45 gibi anjiyogenik genleri ifade eder ve virokinler ile birlikte latansiyel olarak enfekte olmuş hücrelerin çoğalmasını ve anjiyogeneziyi parakrin şekilde uyarır (Şekil 1.3) (Montaner ve ark., 2006). Bir başka uyumlu senaryo ise, onkojenik erken litik genleri (tam litik program değil) ifade eden hücrelerin genetik veya epigenetik onkojenik değişikliklerle dönüştürülebildiği ve geri dönüş yapabildiği "düşük rektifiye" hipotezidir (Şekil 1.2) (Chang ve ark., 2013).



Şekil 1.2. Sağlıklı ve HIV / AIDS hastalarında KSHV patobiyolojisi. A) Sağlıklı bir konakta, KS öncüsünün KSHV enfeksiyonu, latent enfeksiyon veya sitopatik litik replikasyona neden olduğundan onkojenik değildir. Onkojenik litik gen ekspresyonuna yol açan yeniden aktivasyon immünolojik kontrol altındadır. (B) Parakrin Onkogenezi ve Abortif Litik Hipotezlere Göre AIDS-KS Patogenezi Senaryosu. HIV / AIDS'te azaltılmış immün gözetim, inflamatuvar sitokinler ve HIV Tat, KSHV yeniden aktivasyonuna ve yeniden enfeksiyona neden olur. Bu artmış, kontrol edilemeyen, erken litik onkojenik gen ekspresyonuna yol açar ve buna eşlik eden somatik konakçı hücre onkojenik değişiklikleri ile hücre dönüşümü riski bulundurulur. Dönüşüm üzerine hücreler, erken litik onkogenleri kapatır. Latent enfekte transforme hücreler, litik olarak enfekte olmuş ya da abortif litik hücrelerden salınan anjiyojenik ve proliferatif faktörler ile parakrin bir şekilde uyarılır. Buna ek olarak, litik enfekte hücreler anjiyogenez ve inflamasyonu hedef alan KS öncülerini çalıştırırken, yeniden enfeksiyon için virionların sabit bir kaynağını sağlar. ART, bağışıklık düzeltmesi ve HIV viral yüklerinin azaltılmış seviyeleri yoluyla KSHV yeniden aktivasyonunu ve litik replikasyonu inhibe eder. Gansiklovir viral replikasyonu ve litik gen ekspresyonunu engeller. (Cavallin, 2014)

Bu hipotezler, vGPCR ile indüklenen tümörlerin parakrin doğasını gösteren laboratuvar bulguları ve parakrin mekanizmalar yoluyla latent KSHV genlerinin tümöre özdeşliğini destekleme yetenekleri ile desteklenmektedir. Bu modeller HIV / AIDS'te KS'nin yüksek insidansını açıklayabilir. AIDS hastalarında anjiyojenik HIV-Tat ve artmış inflamatuvar sitokinler, kronik immün aktivasyona bağlı olarak KSHV litik reaktivasyonunu indükleyebilir ve KS gelişimini teşvik edebilir (Aoki ve ark., 2007). Dahası, KS tümörü başlatmak veya desteklemek için gerekli immünojenik litik genleri eksprese eden hücreleri AIDS immünsüpresyonu bağlamında ortadan kaldırılamaz (Şekil 1.3) (Bihl ve ark., 2007; Mesri ve ark., 2010).



Şekil 1.3. AIDS-KS parakrin viral onkogenезindeki moleküler mekanizmalar, terapötik hedefler ve klinik olarak test edilen ilaçlar. KSHV hücreleri ile ya da erken litik genleri eksprese edilen enfekte olmuş işsi hücreleri ile litik enfekte olmuş KS iş hücrelerinde, VGPCR, K1 ve ORF45 gibi KSHV genleri, PDGF ve VEGF'nin transkripsiyon ve translasyonunu başlatan mTOR ve ROS aktivasyonuna yol açan sinyal kaskadlarını yapısal olarak tetikler. Bu salgılanan büyüme faktörleri, VEGF ve PDGF reseptörleri eksprese eden latent olarak enfekte hücrelerdeki aynı sinyal katmanlarını aktive etmek için KS hücre çoğalması ve anjiyogenezi tetiklemek için parakrin bir şekilde hareket edebilir. MTOR'u inhibe eden Rapamisin (RAPA) ve PDGFR'yi inhibe eden imatinib (IMA), bu parakrin döngüyü KSHV tümörojenezini hedefleyerek kesebilir. Her iki ilaç da AIDS-KS klinik çalışmalarda etkililik göstermiştir. (Cavallin, 2014)

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ray ve ark. (2012), tarafından yapılan çalışmada Kaposi sarcoma (KS), primary effusion lymphoma (PEL) ve multicentric Castleman (MCD) hastalıklarında yüksek derecede korunmuş dizilerin olduğunu vefilogenetik analizlerle tüm soy ağaçlarda sadece MCD ve KICS hastalarından oluşan farklı bir varyant kümelenme gösterdi. Pearson χ^2 analiziyle çeşitli lokuslardaki 40 tek nükleotid polimorfizminin (SNP) MCD ve KICS riski ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu SNP'lerin kümelenme analizi, MCD ve KICS riskinin varsayılan göstergeleri olarak 3 SNP'nin birkaç kombinasyonunu üretti. Sonuç olarak bu bulgular, MCD ve KICS hastalarının sıklıkla alışılmadık KSHV mikroRNA dizilerine sahip olduğunu ve gözlemlenen dizi varyasyonu ile MCD ve KICS riski arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Soo-Jin ve ark. (2013), yaptıkları Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus MicroRNA Single Nucleotide Polymorphisms Identified in Clinical Samples Can Affect MicroRNA Processing, Level of Expression, and Silencing Activity çalışmasında retroviral vektörlerden wt (wild type) ve varyant pre-mikroRNA çiftlerinin ekspresyonu, gerçek zamanlı revers transkripsiyon-PCR (RT-PCR) ile KSHV'in olgun mikroRNA ekspresyonunun ölçümü, spesifik sekans polimorfizmlerinin varlığı ile korelasyon gösteren diferansiyel ekspresyon seviyelerini ortaya çıkarmıştır. Birincil efüzyon lenfoma hücre(primary effusion lymphoma cell) panelinde KSHV olgun mikroRNA ekspresyonunun gerçek zamanlı RT-PCR ile ölçülmesi, bazı gözlenen ekspresyon farklılıklarını tekrarlarlarken, dizi farklılıkları ile olgun mikroRNA ekspresyonu arasında daha karmaşık bir ilişki olduğunu ortaya çıkarmıştır. Dahası, *in vitro* olgunlaşma testleri, Drosha / DGCR8 ve / veya Dicer işleminde önemli SNP ile ilişkili değişiklikler göstermiştir. Bu veriler, KSHV-kodlu ön-mikroRNA'lardaki SNP'lerin farklı mikro RNA ekspresyon seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Marshall ve ark. (2016), Kaposi Sarcoma (KS)-Associated Herpesvirus MicroRNA Sequence Analysis and KS Risk in a European AIDS-KS Case Control Study adlı çalışmada KSHV-mir-K12 1-5 kodlayan 1065-bp fragmanında korumuşluk düzeyinin % 93.7 olduğunu açıkladılar. KSHV’de en az korunumlu (% 90.8) mir-K12 7-9’u kodlayan 1229-bp fragman iken KSHV mir-K12 6, 11 ve 7’yi kodlayan 1014-bp fragman en korunaklı (% 94.3) idi. mirK12 7-9’in daha düşük koruma kısmı için; çok polimorfik mir-K129 da dahil olmak üzere, mir-K12 8 ve 9 arasındaki sekansda bulunan çoklu polimorfizmlerin bir sonucu olduğunu açıkladılar. KSHV’da miRNA bölgesi ve K12 / T0.7 geninde saptanan SNPlerin detaylı analizini göstermişlerdir. Bununla birlikte, çalışma konusu olan Bar0049, daha önce BCP-1 hücre dizisinde bildirilen KSHV mir-K12 9’un çekirdek bölgesinde 3 SNP’ye sahip olduğunu belirlediler.

Marshall ve ark. (2007), Conservation of virally encoded microRNAs in Kaposi sarcoma-associated herpesvirus in primary effusion lymphoma cell lines and in patients with Kaposi sarcoma or multicentric Castlemann disease adlı çalışmada yabani tip veya varyant mikroRNA’ları kodlayan retroviral vektörler ile dönüştürülen HEK 293 hücrelerinin karşılaştırmalı ekspresyon analizini gerçekleştirdiler. Klinik örnekler ve PEL hücre dizilerinde miR-K12-2, -4, -5, -6, -7, -9 ve -10’un mikro-öncesi dizilerinde tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP’ler) gözlemladiler. Değerlendirilen SNP’ler, aynı zamanda klinik örneklerde hangi SNP’lerin görüldüğünü ve bunlar da PEL hücre soyundan gelen dizilerde mevcut olduğunu göstermektermiştir. SNP’ler pre-mikroRNA’lar içindeki çeşitli konumlarda gözlemlendi ve bunları üç sınıfa ayırdılar. Ayrıca çalışmalarında KSHV ile ilgili kodlanmış mikroRNA analizi gerçekleştirildi. Gözlenen SNP’lerin aynı zamanda mikroRNA susturma verimliliğini etkileyip etkilemediği araştırıldı. Bu amaçla sitomegalovirüs (CMV) promotörünün kontrolü altında (33) miR-K12-4, -6, -7, -9 ve -10’un rekombinant ekspresyon plazmidleri ile önceden kurulmuş lüisiferaz mikroRNA sensör analizleri gerçekleştirildi. Elde edilen veriler, değişime uğramış ön-mikroRNA dizilerinin hem mikro RNA olgunlaşmasını hem de sessizleştirmeyi etkilediğini doğrulamışlardır.

Aıssanı ve ark. (2014), SNP screening of central MHC-identified HLA-DMB as a candidate susceptibility gene for HIV-related Kaposi's sarcoma adlı çalışmada tekli lokus analizi ve çoklu lokus analizi gerçekleştirdiler. Tek SNP analizlerinde, esasen iki kromozomal konumda zirve yapan birkaç SNP'nin risk allelleri ile önemli ilişkiler gözlemlendi. Çoklu lokus analizi çalışmalarında da ilişkili SNP'lerin uzun menzilli haplotiplerde oluştuğunu göstermiştir. İki veya daha fazla aday MHC lokusunun muhtemel katkı veya çapraz etkilerini yakalamak için, haplotip eğilim regresyon (HTR) yaklaşımını sınıf III ve II bölgeler için ayrı ayrı kullanılmış, SNP'leri tarafından oluşturulan MHC haplotipleri ile ilişkili risk değerlendirilmiştir.

Vickie ve ark. (2013), yaptıkları KSHV encoded miRNA single nucleotide polymorphisms identified in clinical samples can affect miRNA processing and level of expression çalışmasında olgun KSHV tarafından üretilen 12 miRNA'nın işlenmesini ve ekspresyonunu polimorfizmin etkileyip etkilemediğini belirlemek için üç farklı mRNA polimorfizmi sınıfını analiz ettiler. Tanımlanmış SNP'ler pre-miRNA transkriptinde tek ve çoklu polimorfizmler, terminal döngü içindeki tekli mutasyonlar ve olgun miRNA içindeki tek dizi değişikliklerini içerir. Sonuçta pre-miRNA dizisindeki polimorfizmlerin ifade farklılıklarına neden olabileceğini veya daha ciddi değişikliklere neden olduğunu göstermektedir. Bazı miRNA'lar belirgin bir değişiklik göstermediğinden diğerleri olgun miRNA transkriptlerinde bir azalmaya neden olabilir. Olgun transkript içerisindeki mutasyonlar, olgun transkript işlemeyi ve ifadeyi etkilemek için en fazla potansiyele sahip görünmektedir. MiR-K12-2 içindeki polimorfizm matür miRNA seviyelerinin azalmasına neden olurken, miR-K12-9'daki çoklu değişiklikler olgun transkriptin tamamen kaybolmasına yol açar. Verilerimiz, SNP'lerin olgun miRNA ekspresyon düzeylerinde değişiklikler ile sonuçlanan pre-miRNA işlemeyi etkileyebileceğini açıkça göstermektedir.

Aıssani ve ark. (2014), yapılan SNP screening of central MHC-identified *HLA-DMB* as a candidate susceptibility gene for HIV-related Kaposi's sarcoma çalışmasında 6p21.3 kromozomu üzerindeki major histokompatibilite kompleksi (MHC) bölgesinin HIV ile ilişkili Kaposi sarkomu (HIV-KS) için hasas lokusa ev sahipliği yaptığı tahmin edilmiştir. Çok merkezli AIDS Kohort

Çalışması'ndaki iç içe geçmiş bir vaka kontrol çalışması, merkezi MHC üzerinden ince genetik ilişki haritalaması yapmak üzere tasarlanmıştır. HIV-1 ve insan herpes virüsü-8 ile birlikte enfekte olan kişiler daha sonra KS geliştirdiler. Veriler MHC sınıf II moleküllerinin antijen prosesinin HIV-KS patogenezinde hedef bir yol olduğunu göstermektedir.

Varmazyar ve ark. (2016), yapılan MDM2 gene polymorphisms and risk of classic Kaposi's sarcoma among Iranian patients konulu çalışmada MDM2'nin promotör bölgedeki tek nükleotid polimorfizmin (SNP) çeşitli kanser türlerinde MDM2 proteininin ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, sadece bir çalışma Kaposi sarkomunun (KS) gelişiminde MDM2 polimorfizminin rolünü analiz etmiştir. MDM2 SNP309'un klasik KS riski ile olan ilişkisi, klasik KS ve 123 sağlıklı kontrol ile 79 İranlı hastada değerlendirildi. MDM2 SNP309, PCR ve restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi yöntemleri ile genotiplenmiştir. MDM2 promoterindeki SNP309 polimorfizmi ile klasik KS riski arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Cinsiyet ve hastalık evresi arasında anlamlı bir korelasyon yoktu. Bununla birlikte, SNP309 GG genotipi ile genç yaş (≤ 50 yaş) arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bulgular, KS gelişiminde MDM2 SNP309 için önemli bir role sahip olmamasına rağmen, genç hastalarda KS'nin klinik sonucunu etkileyebilir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Metaryal

Çalışmanın ana materyalini Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi enfeksiyon hastalıkları polinikliğine gelen ve kaposi sarkoma teşhisi konulmuş HIV(+) Kaposi Sarkoma hastalığı taşıyan ve HIV(+) kaposi sarkoma hastalığı taşımayan hasta, HIV ve kaposi sarkoma hastalığı taşımayan normal bir birey oluşturmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız bireylere ait bilgiler tablo 1’de mevcuttur.

Çizelge 3.1. Çalışmamızda kullandığımız bireylere ait bilgiler.

	Cinsiyet	Yaş	Ağırlık	Boy
Kaposi Sarkoma [KS (+) ve HIV(+)]	E	56	80 kg	160 cm
HIV+ [KS (-) HIV(+)]	E	28	70 kg	170 cm
Kontrol [KS (-) HIV(-)]	E	27	70 kg	180 cm

Kaposi Sarkomalı hastaların ağız ve vücudunda görülen lezyonlar aşağıda verilmiştir. (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2)



Şekil 3.1. Kaposi sarkomalı hastanın ağız içinde görülen lezyonlar (Christopher, 2011)



Şekil 3.2. Kaposi sarkomali hastanın vücut görüntüsü (Christopher, 2011)

3.2. Yöntem

Kontrol [KS(-) HIV(-)], HIV+ [KS(-) HIV(+)] ve Kaposi Sarkoma [KS(+) HIV(+)] bireylerinden alınan kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu için aşağıdaki protokol izlendi.

1. 200 μ L tam kana 400 μ L lizis solusyon ve 20 μ L proteinaz K Solusyon eklenir, homojen bir süspansiyon elde etmek için vorteksleme veya pipetleme ile iyice karıştırılır.
2. Numune 56 ° C'de 10 dakika inkübe edilir veya hücreler tamamen eriyene kadar (10 dakika) sallanan bir su banyosu, sallanan platform veya termomikser kullanılır.

3. 200 uL etanol (96-100 ° C) ilave edilir ve pipetleme veya vorteksleme ile karıştırılır.

4. Hazırlanan lizat bir toplama tüpüne yerleştirilmiş bir GeneJET Genomik DNA Arıtma Sütuna aktarılır. Kolon 6000g'de 1 dakika santrifüj yapılır. Toplama tüpü atılır. GeneJET Genomik DNA Arıtma Sütununu yeni bir 2 mL toplama tüpe yerleştirilir.

5. 500 µL yıkama tamponu I (etanol eklenerek) ilave edilir. 8000 g'de 1 dakika boyunca santrifüj yapılır. Süzüntü kısmı boşaltılır ve arındırma sütunu tekrar toplama tüpüne yerleştirilir.

6. GeneJET Genomik DNA Saflaştırma Sütununa 500 µL yıkama tamponu II (etanol eklenerek) ilave edilir. Maksimum hızda (≥ 12000 g) 3 dakika boyunca santrifüj yapılır. Süzüntü kısmı içeren toplama tüpü atılır ve GeneJET Genomik DNA Arıtma Sütunu steril bir 1.5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarılır.

7. GeneJET Genomik DNA Arıtma Sütun membranının merkezine genomik DNA'yı elüe etmek için 200 uL Elution Buffer eklenir. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilir ve 1 dakika boyunca 8000 g'de santrifüj yapılır.

8. Arındırma sütununu imha edilir. Saflaştırılmış DNA'yı hemen kullanılır veya -20 ° C'de saklanır.

DNA izolasyonundan sonra aşağıda başlıklar halinde verdiğimiz 9 basamak yer alır.

A. Restriksiyon Enzim Kesimi

B. Ligasyon

C. Pcr

D. Pcr Pürifikasyon

E. Pcr Ürünlerinin Ölçümü

F. Fragmantasyon

G. İşaretleme

H. Hibridizasyon

I. Yıkama/Boyama/Tarama

*Başlangıç materyali 250 ng (50ng/μl) genomik DNA'dır. DNA stokları Low EDTA TE Buffer ile çözülmelidir.

*İnkübasyon işlemleri için Thermal Cycler önerilmektedir.

A. Restriksiyon Enzim Kesimi

Gerekli Malzemeler:

-CytoScan™ Reagent Kit

*Nsp 1 Enzyme

*10X Nsp1 Buffer

*100X BSA

*Water (Nuclease Free)

Gerekli Ekipmanlar: Mikro santrifüj, Mikropipet, Vortex, Thermal cycler.

1. Buz üzerinde yapılan çalışma da uygun miktarlarda tampon, enzim ve BSA ile kesim karışımı hazırlanır.

BİLEŞENLER	Miktar (1rxn)
Nsp Buffer	2 μL
BSA	0.2 μL
Nsp Enzyme	1 μL
Total	3.2 μL

2. Hazırlanan karışım toplam 16.55μL'de 250ng gDNA içerecek şekilde hazırlanan örnek ile karıştırılarak uygun inkübasyon programında kesim reaksiyonu yapılır.

37°C	2 saat
65°C	20 dk
4°C	Hold

Bir sonraki aşamaya geçilmeyecekse örnekler -20°C’de saklanabilir.

B. Ligasyon

Gerekli Malzemeler:

-CytoScan™ Reagent Kit

*T4 DNA Ligase Enzyme

*10X T4 DNA Ligase Buffer

*Adaptor, Nsp (50 µM)

Gerekli Ekipmanlar: Mikro santrifüj, Mikropipet, Vortex, Thermal cycler

1. Buz üzerinde yapılan çalışma da uygun miktarlarda tampon, enzim ve adaptor ile ligate karışımı hazırlanır.

BİLEŞENLER	Miktar (1rxn)
T4 DNA Ligase Buffer	2.5 µL
Adaptor Nsp	0.75 µL
T4 DNA Ligase	2 µL
Total	5.25 µL

2. Hazırlanan karışım toplam 19.75µL kesim yapılmış örnek içine eklenir ve uygun inkübasyon programında ligate reaksiyonu yapılır.

16°C	3 saat
70°C	20 dk
4°C	Hold

3. İnkübasyon sonrası örnekler 75µL nuclease-free water ile dilue edilir.

Bir sonraki aşamaya geçilmeyecekse örnekler -20°C’de saklanabilir.

C. PCR:

Gerekli Malzemeler:

-CytoScan™ Reagent Kit

*Water (Nuclease Free)

*PCR Primer, 002 (100 µM)

-USB® MagniTaQ™ Multiplex PCR Master Mix (2X)

Gerekli Ekipmanlar: Mikro santrifüj, Mikropipet, Vortex, Thermal cycler

1. Dilue edilmiş ligate ürünü yine buz üzerinde PCR için hazırlanır. PCR için uygun miktarda yapılan karışım bir örnek için dört ayrı reaksiyon olacak şekilde hazırlanır.

BİLEŞENLER	Miktar (1rxn)
dH ₂ O	35 µL
USB® MagniTaQ™ Multiplex PCR Master Mix (2X)	50 µL
Primer 002	5 µL
Total	90 µL

2. Kullanılacak PCR cihazına göre uygun program yazılır ve PCR reaksiyonu yapılır. ThermalCyclerProgramı:- PCR-

95°C	5dk	1X
95°C	20 sn	35X
60°C	1 dk	
68°C	4,5 dk	
68°C	10 dk	1X
4°C	Hold	

3. PCR sonrası örnekler %2'lik TBE Agaroz jel elektroforezinde kontrol edilir. 150-2000 bp aralığında ürünler beklenir.
4. Bir sonraki aşamaya geçilmeyecekse örnekler -20°C'de saklanabilir.

D. PCR Pürfikasyon:

Gerekli Malzemeler:

-CytoScan™ Reagent Kit

*Purification Beads

*Elution Buffer

*Purification Wash Buffer

*Water (Nuclease Free)

-Absolute Ethanol

Gerekli Ekipmanlar: Magnareck, magnetic stand (Invitrogen), Mikro santrifüj, Mikropipet, Vortex, Thermal cycler

1. Bir örneğe ait dört PCR amplikonu tek bir tüpte toplanır ve 720µL purification beads solüsyonu ile 10dk oda sıcaklığında bekletilir.
2. Maksimum hızda 3dk santrifüj yapıldıktan sonra magnetic stand üzerine alınan örnekten supernatan kısmı atılır.
3. Purification Wash Bufferdan 1mL alınır ve pellet şeklinde kalan DNA'ya bağlanmış haldeki bead ile 2dk karıştırılır.
4. Maksimum hızda 3dk santrifüj yapıldıktan sonra magnetic stand üzerine alınan örnekten supernatan kısmı atılır.
5. Ethanolun tamamen uçtuğundan emin olunduktan sonra 50µl Elution Buffer ile elüsyonu yapılır ve DNA geri elde edilmiş olur.

6. Bir sonraki aşamaya geçilmeyecekse örnekler -20°C’de saklanabilir.

E. PCR Ürünlerinin Ölçümü:

Gerekli Ekipmanlar:

- Nanofotometre

1. Pürifiye edilen ampliconların konsantrasyonları nanofotometre ile ölçülür.
2. Elde edilen PCR ürünü 2500-4000ng materyal içermelidir.
3. Bir sonraki aşamaya geçilmeyecekse örnekler -20°C’de saklanabilir.

F. Fragmantasyon:

Gerekli Malzemeler:

-CytoScan™ Reagent Kit

*Fragmentation Reagent

*10X Fragmentation Buffer

*Water (Nuclease Free)

Gerekli Ekipmanlar: Mikro santrifüj, Mikropipet, Vortex, Thermal cycler

1. Fragmantasyon, enzimatik bir reaksiyon olup zamana ve sıcaklığa duyarlıdır. Bu nedenle tüm çalışma buz üzerinde yapılmalıdır.
2. Kit içindeki Fragmentatin reagentin ünitesine göre dilüsyon yapılır. Ve purifiye edilen bu karışımdan 10 µL örnek içine konur.

BİLEŞENLER	Miktar 1-4 rxn (2.5U/µl))
Frag Buffer	27.5 µL
Frag Reagent	1 µL
Nuclease-free water	21.5 µL
Total	50 µL

Örnek 25-125bp uzunluğunda fragmentlere ayrılmak üzere uygun thermal cycler programında inkübasyona bırakılır. Thermal Cycler Programı (Frag)

37°C	35 dk
95°C	15 dk
4°C	Hold

- İşaretleme basamağına geçilmeden fragmentlerine ayrılmış olan örnek %4'lük TBE Agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmelidir.
- Örnek bekletilmeden diğer basamağa geçilmelidir.

G. İşaretleme:

Gerekli Malzemeler:

-CytoScan™ Reagent Kit

*DNA Labeling Reagent (30 nM)

*Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Enzyme

*Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Buffer

Gerekli Ekipmanlar: Mikro santrifüj, Mikropipet, Vortex, Thermal cycler

- Uygun miktarlarda Labeling Reagent, TdT Buffer ve TdT kullanılarak reaksiyon için bir karışım hazırlanır. Örnek üzerine eklenir.

BİLEŞENLER	Miktar (1rxn)
TdT Buffer	14 µL
Labeling Reagent	2 µL
TdT	3.5 µL
Total	19.5 µL

2. Thermal cycler programında reaksiyon gerçekleştirilir. Thermal Cycler Programı
-Label-

37°C	4 saat
95°C	15 dk
4°C	Hold

3. Bir sonraki aşamaya geçilmeyecekse –20°C de saklanabilir.

H. Hibridizasyon:

Gerekli Malzemeler:

-CytoScan™ Reagent Kit

*Hyb Buffer Part 1

*Hyb Buffer Part 2

*Hyb Buffer Part 3

*Hyb Buffer Part 4

*Oligo Control Reagent 0100

Gerekli Ekipmanlar: Mikro santrifüj, Mikropipet, Vortex, Thermal cycler, GeneChip® Hybridization Oven 645

1. Arrayler oda sıcaklığına gelirken, gerekli malzemelerden uygun miktarlarda kullanılarak hibridization karışımı hazırlanır.

BİLEŞENLER	Miktar (1rxn)
Hyb Buffer Part 1	165 µl
Hyb Buffer Part 2	15 µl
Hyb Buffer Part 3	7 µl
Hyb Buffer Part 4	1 µl
OCR	2 µl
Total	190 µl

- İşaretlenmiş örnek üzerine hibrizasyon kokteyli eklenir ve thermal cycler programında inkübasyona bırakılır. Thermal Cyclers Programı -Hyb-

95°C	10 dk
49°C	5 dk
49°C	Hold

- Hibridizasyon reaksiyonu bittiğinde arrayler içinden denaturasyonu tamamlanmış örnek enjekte edilir ve 16-18saat 50°C sıcaklıkta 60rpm rotasyonla inkübasyona bırakılır.

İ. Yıkama/Boyama/Tarama:

Gerekli Malzemeler: CytoScan™ Reagent Kit, Stain Buffer 1, Stain Buffer 2, Array Holding Buffer, Wash A Buffer, Wash B Buffer

Gerekli Ekipmanlar: GeneChip® Fluidics Station 450, GeneChip® 3000 Scanner 7G

- Hibridizasyon tamamlanmadan önce gerekli solüsyonlardan uygun miktarlarda alınarak yıkama ve boyama için hazırlanılır.
- Yıkama istasyonunda birinci ve ikinci boyama solüsyonları için Stain Buffer 1 ve Stain Buffer 2 den 500µl, son tüpe de Array Holding Bufferdan 800µl konur.
- Yıkama İstasyonunun uygun yerlerine bu solüsyonlar ve array yerleştirilir. Bilgisayara kontrolündeki yıkama-boyama protokolü başlatılır.
- Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra yine sistem bilgisayarı kontrolünde tarama işlemi yapılır ve data elde edilir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çalışmayı oluşturan bireylerin kanından total DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. DNA metaryalleri % 1'lik TBE agaroz jel elektroforezde yürütülmüş, oluşan bantlar görüntülenmiştir. (Şekil 4.1)



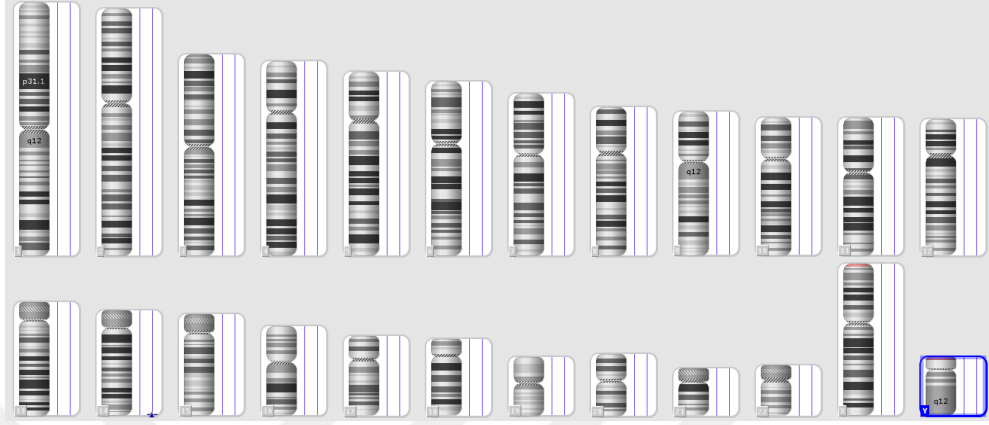
Şekil 4.1. Total DNA izolasyon sonrası agaroz jel görüntüsü

PCR aşamasına geçmeden önce nanodrop ile ölçüm yaptığımız DNA konsantrasyonları ise tabloda verilmiştir. (Çizelge 4.1)

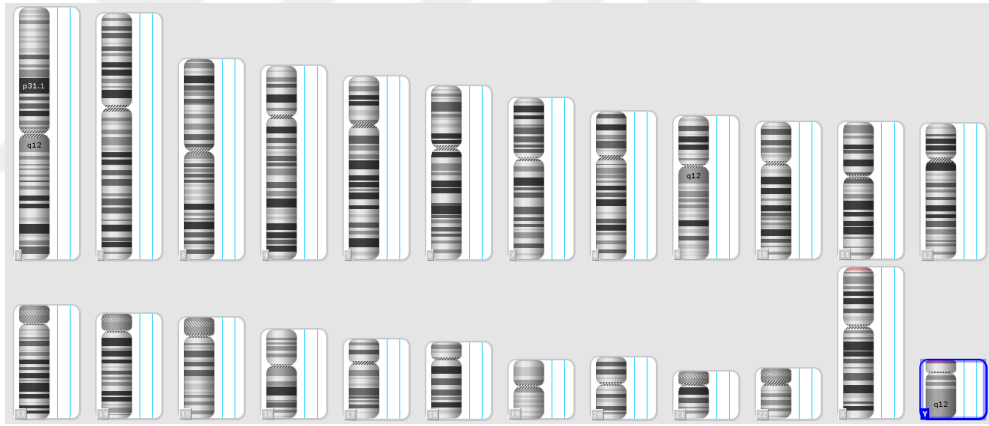
Çizelge 4.1. Kontrol, HIV+ ve Kaposi Sarkoma örneklerinin DNA konsantrasyonları

	Konsantrasyon	260/280	260/230
Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	29.7	1.7	1.0
HIV+ [KS(-)]	20.5	1.78	1.1
Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	13.5	1.8	0.9

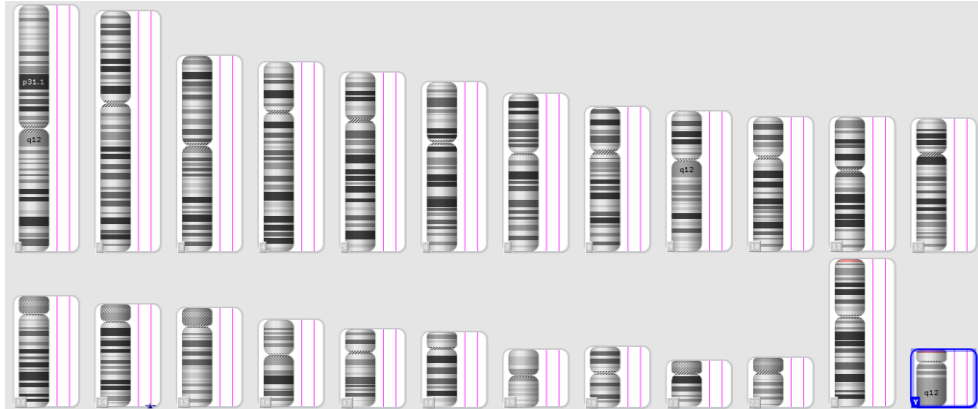
Yaptığımız mikroarray temelli çalışmada bireylere ait karyotip analizi de yapılmış olup, bireylerde herhangi bir kopya sayısı değişikliği görülmemiştir. (Şekil 4.2, 4.3, 4.4)



Şekil 4.2. HIV+ [KS(-)] hastanın karyotipi



Şekil 4.3. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)] bireyin karyotipi



Şekil 4.4. Kaposi Sarkoma [KS(+)] ve HIV(+) hastasının karyotipi

Kaposi Sarkoma ile ilişkili 9 gene ait snp'ler, örneklerimizde bu snp'lere ait olan nükleotitler aşağıdaki çizelgelerde mevcuttur (Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3).

Çizelge 4.2. Kaposi Sarkoma ile ilişkili olan 9 gene ait snp'ler ve çalışmamızda bu snp'lere ait olan nükleotitler

GEN	PS ID	K(HIV-)	HIV+	KS	FS-K(HIV-)	FS-HIV+	FS-KS	dbSNP RS ID	KR
CD209	S-3KTDX	AB	AB	AA	GA	GA	GG	rs735240	19
CX3CR1	S-4MUPP	AA	AB	AA	TT	TC	TT	rs17038647	3
	S-3EOQO	AA	AB	AA	GG	GA	GG	rs9826296	3
	S-4FYFE	AA	AA	AA	GG	GG	GG	rs6783532	3
	S-3EXBL	BB	BB	AB	TT	TT	CT	rs13062158	3
CXCL12	S-3IZHV	AA	AA	AA	AA	AA	AA	rs2522	10
TP53	S-4IGUH	AB	AB	AB	AG	AG	AG	rs2078486	17
STIM1	S-3XJUA	BB	BB	AA	AA	AA	GG	rs1055640	11
	S-4GMRV	AA	AA	AA	AA	AA	AA	rs7948532	11
	S-3UARP	AB	BB	AB	GC	CC	GC	rs10742177	11
	S-4SNNO	AA	AA	AB	CC	CC	CT	rs10835231	11
	S-4SFHH	AA	AA	AA	TT	TT	TT	rs12271807	11
	S-4OOWY	AA	AA	AA	TT	TT	TT	rs10500589	11
	S-3NIDL	AA	AA	BB	GG	GG	TT	rs10767723	11
	S-4QYZV	AA	AA	AB	CC	CC	CT	rs75627429	11
	S-3SUGB	BB	BB	AB	TT	TT	GT	rs79461202	11
	S-3PRUH	AB	BB	AA	GC	CC	GG	rs2923956	11
	S-4JOMU	AA	AA	AB	AA	AA	AT	rs7938706	11
	S-3SKVL	AB	AA	AA	AG	AA	AA	rs58186239	11
	S-4PNEK	AA	AA	AA	GG	GG	GG	rs11827790	11
	S-4MAFH	AB	BB	AA	CG	GG	CC	rs2735691	11
	S-4PZPN	AB	AA	BB	CT	CC	TT	rs11030976	11
	S-4LFBT	AB	AA	AB	CT	CC	CT	rs7940013	11
IL10	S-3KXRD	AB	AA	BB	CG	CC	GG	rs1878672	1
	S-3JDMN	AB	BB	AA	CA	AA	CC	rs3024491	1
ADRA1A	S-3OKWV	AB	AB	AB	CT	CT	CT	rs10094695	8
	S-3CTSR	AA	AA	BB	GG	GG	AA	rs10102186	8
	S-3JOVZ	AA	AA	AB	AA	AA	AG	rs17055965	8
	S-4NHHU	BB	BB	BB	AA	AA	AA	rs13261597	8
	S-3GUVW	BB	BB	BB	GG	GG	GG	rs57655874	8
	S-4PWGQ	AB	AA	AB	AT	AA	AT	rs4548188	8
	S-3NSYK	AB	AA	BB	TC	TT	CC	rs6998591	8
	S-4QFTX	BB	AB	BB	AA	GA	AA	rs11779546	8
	S-3WBIV	BB	BB	BB	TT	TT	TT	rs4732908	8
	S-3HMSS	AB	AB	AB	AC	AC	AC	rs10503800	8
	S-3UQDD	AA	AA	AA	TT	TT	TT	rs17056057	8
	S-3VBBD	BB	BB	BB	GG	GG	GG	rs489790	8
S-3ZUCE	AA	AA	NoCall	AA	AA		rs498246	8	

Çizelge 4.2. (devam)

EFNB2	S-4JTOG	AB	AA	AA	CT	CC	CC	rs737461	13
	S-3UCVS	AB	AB	BB	GC	GC	CC	rs12868314	13
	S-3BLZL	AA	AB	AA	CC	CG	CC	rs8000122	13
	S-3KONS	AB	AB	BB	GT	GT	TT	rs7983579	13
	S-3HRSF	AB	AB	AA	AG	AG	AA	rs9514544	13
	S-3TIXX	AB	AB	BB	CG	CG	GG	rs9520090	13
	S-3PHHT	AB	AA	AA	GC	GG	GG	rs7320751	13
ENDRA	S-3YPBP	AA	AA	AA	CC	CC	CC	rs4333164	4
	S-3NDOY	AA	AA	AA	AA	AA	AA	rs3814415	4
	S-4EQWS	AA	AA	AA	TT	TT	TT	rs6537485	4
	S-3USYR	BB	BB	BB	GG	GG	GG	rs9997823	4
	S-3AJAW	AA	AB	AA	GG	GA	GG	rs4835412	4
	S-4LKIW	BB	AB	AA	TT	CT	CC	rs3756022	4
	S-3UMTI	AA	AB	BB	TT	TC	CC	rs5333	4
	S-4BVJH	AB	AB	AA	TG	TG	TT	rs10028838	4
S-3TDTZ	AB	AB	AA	AT	AT	AA	rs11734418	4	

Çizelge 4.3. Kaposi sarkoma ile ilişkilendirilen ve çalışmamızda bu SNP'lere karşılık gelen nükleotitler

PS ID	Call Codes	Confidence	FS Base Calls	dbSNP RS ID	Kr	Çromozomal pozisyon	Örnek
S-4ODNM	AB	0	AG	rs1405227	1	98873390	HIV+ [KS(-)]
S-4ODNM	AB	0	AG	rs1405227	1	98873390	KONT. [KS(-)HIV(-)]
S-4ODNM	AB	0	AG	rs1405227	1	98873390	KS[KS(+)HIV(+)]
S-3HGMV	AB	9,15E-13	AC	rs11648370	16	20791506	HIV+ [KS(-)]
S-3HGMV	AB	5,77E-15	AC	rs11648370	16	20791506	KONT. [KS(-)HIV(-)]
S-3HGMV	AB	1,40E-12	AC	rs11648370	16	20791506	KS[KS(+)HIV(+)]
S-3DFRJ	BB	0	TT	rs3772140	3	39449770	HIV+ [KS(-)]
S-3DFRJ	AA	0	GG	rs3772140	3	39449770	KONT. [KS(-)HIV(-)]
S-3DFRJ	AB	0	GT	rs3772140	3	39449770	KS[KS(+)HIV(+)]
S-4FCUX	AA	2,22E-16	CC	rs2301770	16	20802172	HIV+ [KS(-)]
S-4FCUX	AA	0	CC	rs2301770	16	20802172	KONT. [KS(-)HIV(-)]
S-4FCUX	AA	0	CC	rs2301770	16	20802172	KS[KS(+)HIV(+)]
S-4QTRQ	AB	0,0018411	CG	rs6659902	1	7700748	HIV+ [KS(-)]
S-4QTRQ	AB	0,0040555	CG	rs6659902	1	7700748	KONT. [KS(-)HIV(-)]
S-4QTRQ	AA	0,0016253	CC	rs6659902	1	7700748	KS [KS(+)HIV(+)]

Kontrol [KS(-)HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+)HIV(+)] gruplarına ait KS ile ilişkilendirilen genlerdeki SNP nükleotit sayı tablosu aşağıda verilmiştir. (Çizelge 4.4, Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6)

Çizelge 4.4. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)] grubuna ait genler ve bu genlere ait SNP nükleotit sayısı

		GENLER-KONTROL [KS(-)HIV(-)]								
		CD209	CX3CR1	CXCL12	ENDRA	ADRA1A	TP53	STIM1	IL10	EFNB2
GENOTİP DĞİLİMİ	AA			1	1	4		3		
	AG						1	1		1
	AT				1	1				
	AC					1				
	TA									
	TT		2		3	2		3		
	TA									
	TG				1					
	TC					1				
	GG		2		2	3		2		
	GA	1								1
	GC							2		2
	GT									
	CC				1			2		1
	CA								1	
	CG							1	1	1
CT						1	2		1	

Çizelge 4.5. HIV+ [KS(-)] grubuna ait genler ve bu genlere ait SNP nükleotit sayısı

		GENLER- HIV+ [KS(-)]								
		CD209	CX3CR1	CXCL12	ENDRA	ADRA1A	TP53	STIM1	IL10	EFNB2
GENOTİP DĞİLİMİ	AA			1		4		4	1	
	AG						1			1
	AT				1	1				
	AC					1				
	TA									
	TT		1		2	2		3		
	TA		1							
	TG				1					
	TC					1				
	GG		1		1	3		3		1
	GA	1	1		2					1
	GC									2

Çizelge 4.5 (devam)

GT									
CC				1			6	1	1
CA									
CG									1
CT				1	1				

Çizelge 4.6. Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] grubuna ait genler ve bu genlere ait SNP nükleotit sayısı

		GENLER KS [KS(+)HIV(+)]								
		CD209	CX3CR1	CXCL12	ENDRA	ADRA1A	TP53	STIM1	IL10	EFNB2
GENOTİP DĞİLİMİ	AA			1	2	4		1		1
	AG				1		1			
	AT					1		1		
	AC					1				
	TA									
	TT		1		2	3		3		1
	TA									
	TG									
	TC									
	GG		2		1	3		3	1	2
	GA	1								1
	GC							1		
	GT							1		
	CC				3			2	1	1
	CA									
	CG									3
CT		1				1	3		1	

Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarına ait KS ile ilişkilendirilen genlerdeki toplam SNP nükleotit sayısı ve oran tablosu aşağıda verilmiştir. (Çizelge 4.7)

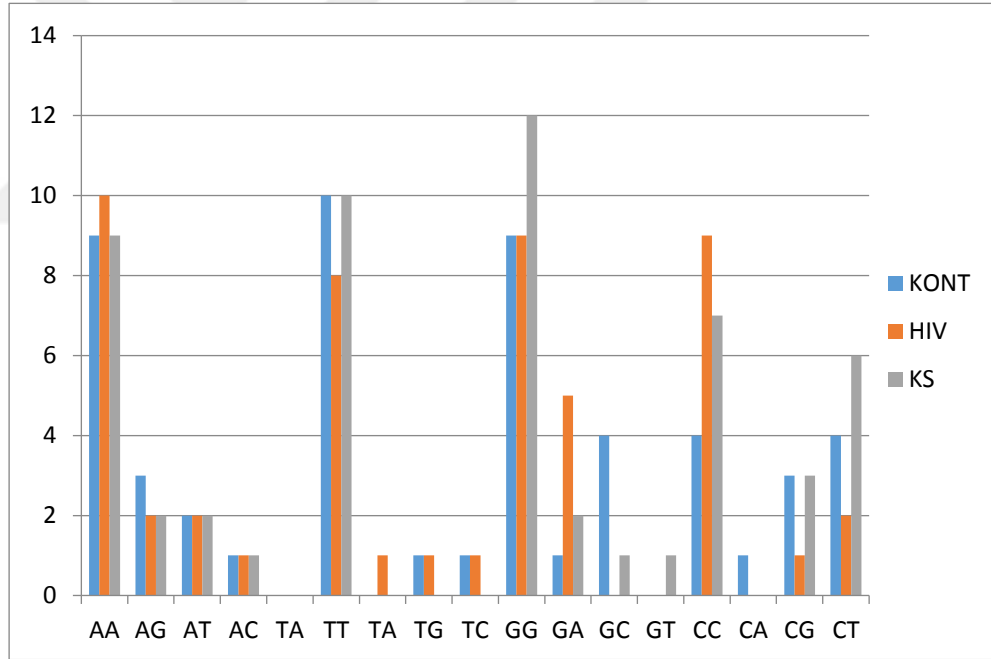
Çizelge 4.7. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarına göre toplam nükleotit sayısı

F-S	KONTROL [KS(-) ve HIV(-)]	HIV+ [KS(-)]	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]
AA	9 (%17,0)	10(%19,2)	9(%16,1)
AG	3(%5,6)	2(%3,8)	2(%3,6)
AT	2(%3,7)	2(%3,8)	2(%3,6)
AC	1(%1,9)	1(%1,9)	1(%1,8)
TT	10(%18,9)	8(%15,4)	10(%18,0)
TA	-	1(%1,9)	-
TG	1(%1,9)	1(%1,9)	-

Çizelge 4.7. (devam)

TC	1(%1,9)	1(%1,9)	-
GG	9(%17,0)	9(%17,3)	12(%21,4)
GA	1(%1,9)	5(%9,6)	2(%3,6)
GC	4(%7,5)	-	1(%1,8)
GT	-	-	1(%1,8)
CC	4(%7,5)	9(%17,3)	7(%12,5)
CA	1(%1,9)	-	-
CG	3(%5,6)	1(%1,9)	3(%5,4)
CT	4(%7,5)	2(%3,8)	6(%10,7)
TOPLAM	53(100%)	52 (100%)	56(100%)

Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+)] ve HIV(+)] gruplarının Kaposi Sarkoma (KS+HIV(+)) ile ilişkilendirilen genlerdeki nükleotit sayı grafiği aşağıda verilmiştir. (Şekil 4.5)



Şekil 4.5. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+)] ve HIV(+)] gruplarının Kaposi Sarkoma (KS+HIV(+)) ile ilişkilendirilen genlerdeki nükleotit sayı grafiği.

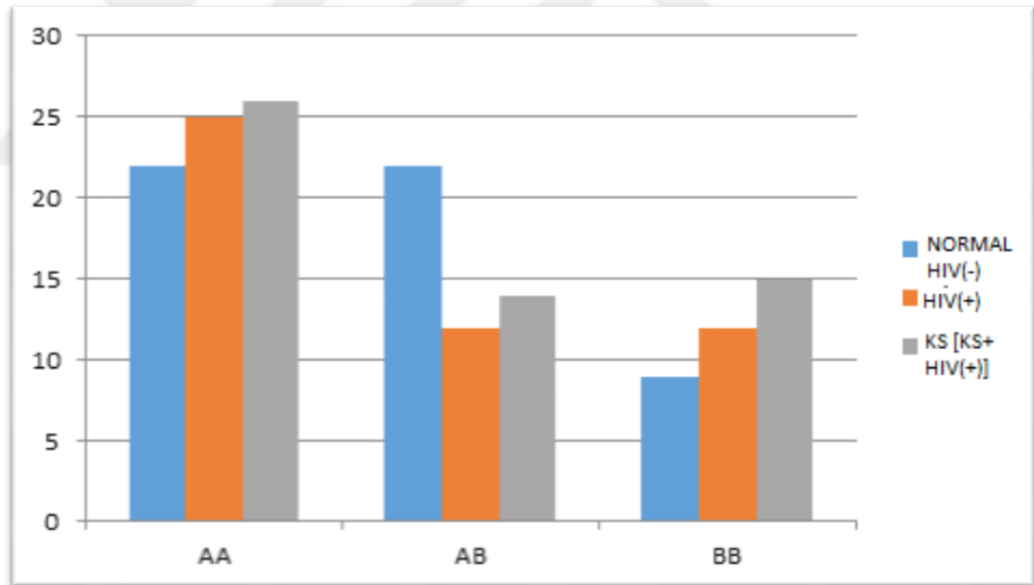
Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+)] ve HIV(+)] gruplarının Kaposi Sarkoma Kaposi Sarkoma [KS(+)] ve HIV(+)] ile ilişkilendirilen genlerdeki AA, AB ve BB allel sayı tablosu (Çizelge 4.8) ve toplam allel sayı grafiği aşağıda verilmiştir. (Şekil 4.6)

Çizelge 4.8. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarının allel bazlı gruplandırılması.

Gen	Örnek	AA	AB	BB
CD209	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	-	1	-
	HIV+ [KS(-)]	-	1	-
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	1	-	-
CX3CR1	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	3	-	1
	HIV+ [KS(-)]	1	2	1
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	3	1	-
CXCL12	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	1	-	-
	HIV+ [KS(-)]	1	-	-
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	1	-	-
ENDRA	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	5	2	2
	HIV+ [KS(-)]	3	5	1
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	7	-	2
ADRA1A	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	4	4	5
	HIV+ [KS(-)]	6	3	4
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	1	4	7
TP53	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	-	1	-
	HIV+ [KS(-)]	-	1	-
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	-	1	-
STIM1	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	8	6	2
	HIV+ [KS(-)]	11	-	5
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	8	6	2

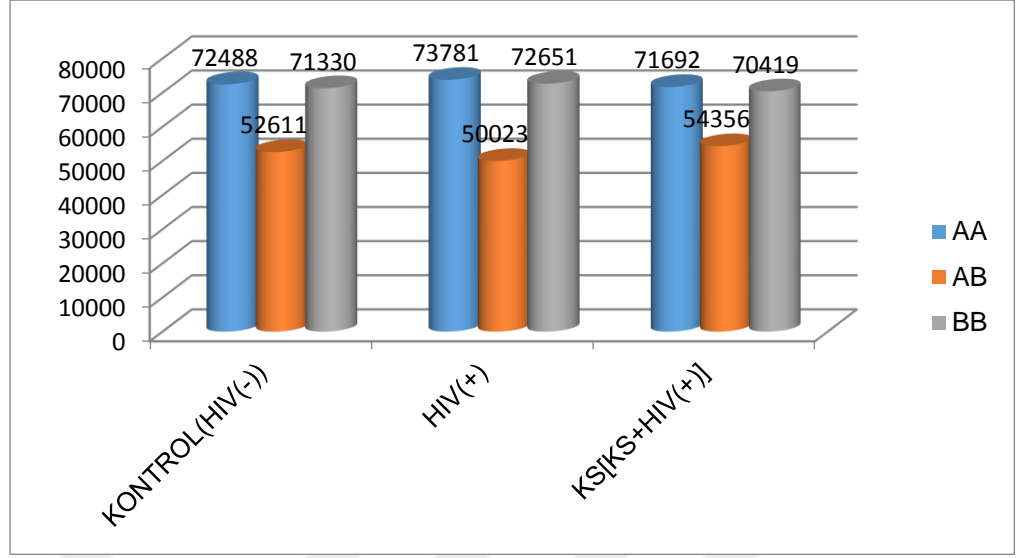
Çizelge 4.8.(devam)

IL10	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	-	2	-
	HIV+ [KS(-)]	1	-	1
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	1	-	1
EFNB2	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	1	6	-
	HIV+ [KS(-)]	2	5	-
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	4	-	3
Toplam	Kontrol [KS(-) ve HIV(-)]	22(%41,5)	22(%41,5)	9(%16,9)
	HIV+ [KS(-)]	25(%51)	12(%24,5)	12(%24,5)
	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	26(%47,2)	14(%25,4)	15(%27,2)

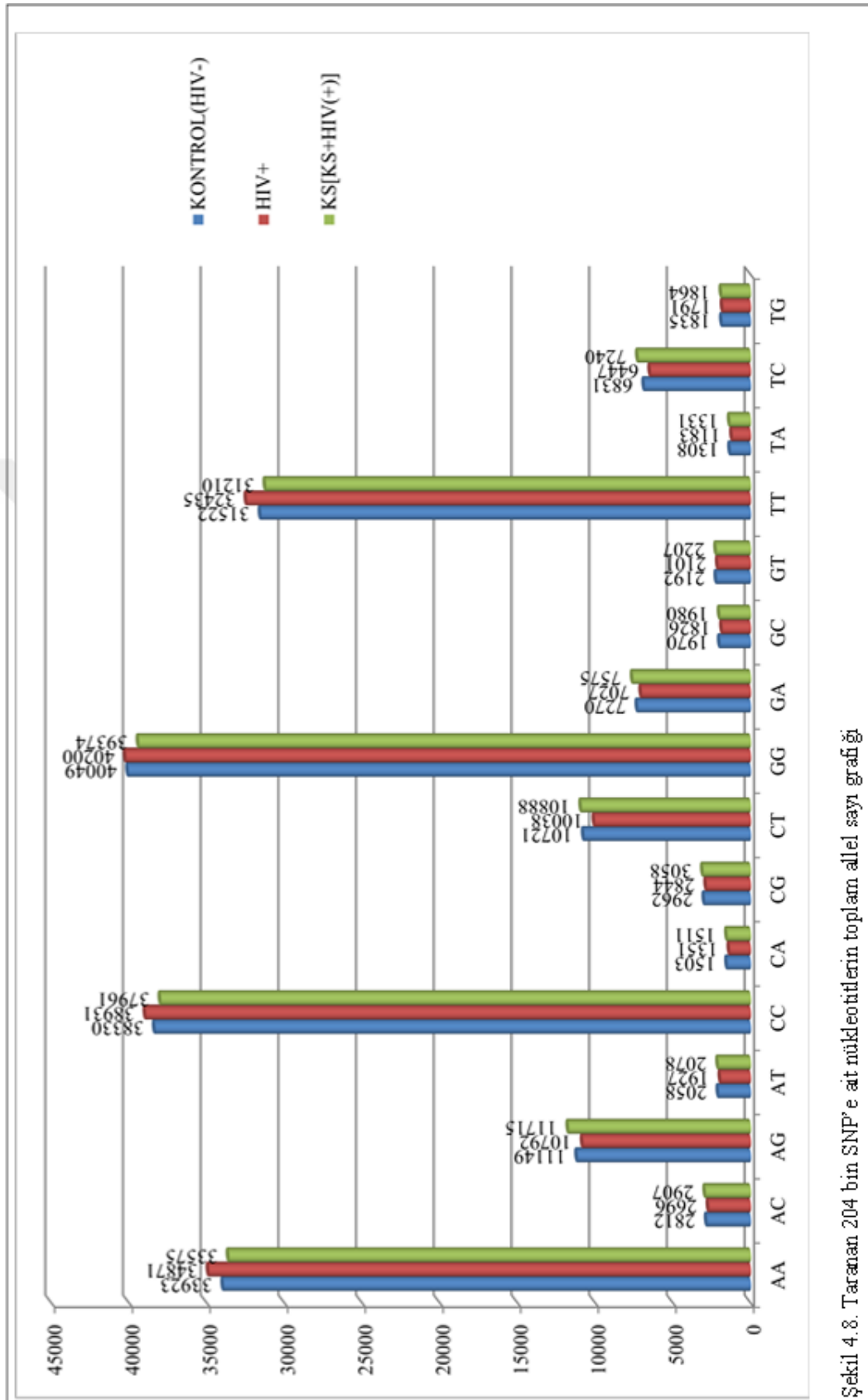


Şekil 4.6. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarının allel bazlı grafiği

Yapılan 204 000 SNP taramasında Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarına ait AA, AB, BB allel sayıları ve AA, AG, AT, AC, TT, TA, TG, TC, GG, GA, GC, GT, CC, CA, CG, CT nükleotit sayıları grafiğe dökülmüştür. (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8)



Şekil 4.7. Yapılan 204 000 SNP taramasında Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarına ait allel sayı grafiği

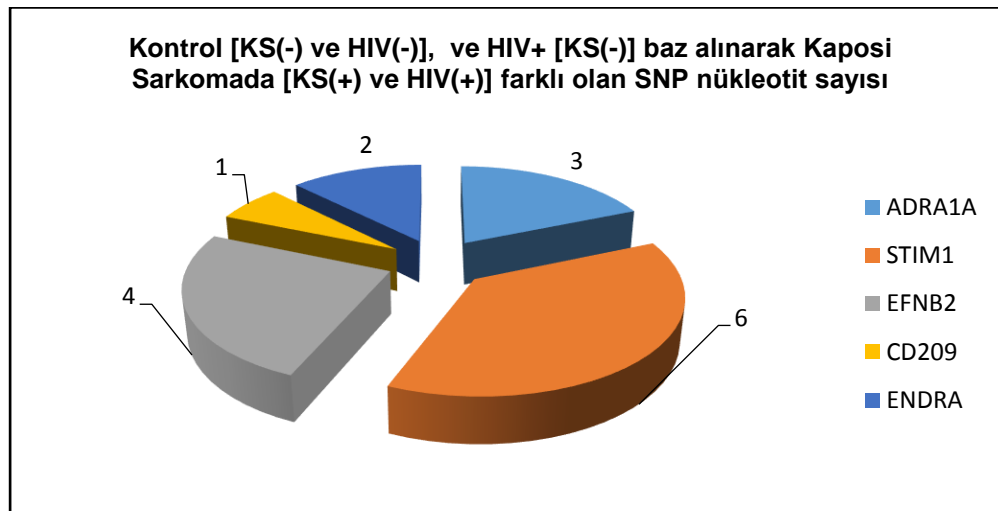


Şekil 4.8. Taranan 204 bin SNP'e ait nükleotitlerin toplam allel sayı grafiği

Kaposi Sarkoma ilişkili genlerde kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] baz alınarak Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]'da farklı olan SNP'ler ve genlere göre toplam sayı grafiği aşağıdaki çizelgede verilmiştir. (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9)

Çizelge 4.9. Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], ve HIV+ [KS(-)] baz alınarak Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]'daki değişim

Kontrol ve HIV+ baz alınarak Kaposi Sarkomadaki değişim						
Gen	KONT. [KS(-) ve HIV(-)]	HIV+ [KS(-)]	Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]	dbSNP RS ID	KR	Kromozom pozisyonu
ENDRA	TG	TG	TT	rs10028838	4	148471332
	AT	AT	AA	rs11734418	4	148472453
ADRA1A	GG	GG	AA	rs10102186	8	26624651
	AA	AA	AG	rs17055965	8	26627079
	AA	AA	-	rs498246	8	26732111
STIM1	AA	AA	GG	rs1055640	11	3847293
	CC	CC	CT	rs10835231	11	3900093
	GG	GG	TT	rs10767723	11	3955026
	CC	CC	CT	rs75627429	11	3995336
	TT	TT	GT	rs79461202	11	4001434
	AA	AA	AT	rs7938706	11	4044178
EFNB2	GC	GC	CC	rs12868314	13	107136736
	GT	GT	TT	rs7983579	13	107159446
	AG	AG	AA	rs9514544	13	107163870
	CG	CG	GG	rs9520090	13	107165255
CD209	GA	GA	GG	rs735240	19	7813336



Şekil 4.9. Kaposi sarkoma ilişkili genlerdeki Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], ve HIV+ [KS(-)] baz alınarak Kaposi Sarkomada [KS(+) ve HIV(+)] farklı olan toplam SNP sayısı.

Kaposi sarkomu (KS), normal endotelial hücreleri, enflamatuar lökositlerin infiltrasyonu ve ekstrasvaze eritrositlerin yanı sıra, düzensiz vaskularizasyon, endotelial işi benzeri hücreler ile histopatolojik olarak endotelial hücre kökenli bir malignanlıktır. HIV KS li hastalarda çok sık gözlenmektedir. KSHV'nin çeşitli coğrafi ve etnik dağılımı vardır. Genel olarak, KSHV prevalansı, HIV enfeksiyonlu bireyler, eşcinsel erkekler, intravenöz uyuşturucu kullanıcıları ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar gibi risk grupları arasında genel popülasyona göre daha yüksektir. Dünyada % 2-3.6 oranlarında olan bu hastalık en yüksek yaygınlık derecesi (% 20-60) Afrika'dadır. Türkiye'de de hastalığın görülme sıklığı artmaktadır. (Kandaz ve ark, 2018)

Bazı polimorfizmlerin KS ve / veya KSHV enfeksiyonuna duyarlılık üzerinde bir etkisi olduğu bulunmuştur. Alkarsah ve ark, 2014 yılında yaptıkları çalışmada insan lökosit antijeni (HLA) ve Fc gama reseptörü 3 gibi konakçı bağışıklık genleri, KSHV enfeksiyonunun kontrol edilmesinde özellikle önemli bulunmuştur. HLA A* 6801, A* 4301 ve DRB1 * 04 allel grubu gibi bir allelin olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca Afrika annelerinin tükürüklerinde KSHV'nin daha fazla dökülmesiyle ilişkili olduğu gösterilmiş buda çocuklara daha fazla bulaşmaya ve HIV virüsünün toplumda yayılmasını arttırdığı gözlemlenmiştir.

Scarborough ve ark, 2017 ve arkadaşları Kemokinler için bir lökosit kemotaktik ve adhezyon reseptörü olan CX3CR1, birçok dokuda özellikle beyin ve interlökin-2 ile aktive olan periferik kan lenfositlerinde yüksek seviyelerde ekspres edilen, yakın zamanda tespit edilmiş önemli bir HIV koruyucusu olduğu ve CX3CR1 reseptörlerinin transmembran bölgelerinde 5 tek nükleotid polimorfizminin (SNP) önemli olduğunu göstermişlerdir. Kodlanan protein ayrıca HIV-1 için bir koruyucudur ve bu gendeki bazı varyasyonlar, HIV-1 enfeksiyonuna karşı artan duyarlılığa ve AIDS'e hızlı ilerlemeye yol açar. Bu gen için iki farklı izoformu kodlayan dört transkript varyantı bulunmuştur.

Bizde çalışmamızda CX3CR1 genin rs17038647, rs9826296, rs6783532, rs13062158 numaralı polimorfizmlerine ve aynı gen ailesinden olan CXCL12 genin

rs2522 nolu SNP lerini inceleyerek CX3CR1 genin normal kontrol [KS(-) ve HIV(-)] grupta, HIV+'de [KS(-)] ve KS'da [KS(-) ve HIV(-)] bir fark gözlemlenmemiştir.

Byun ve ark, 2010 yılında Kaposi Sarkomadan ölen ve başka hiç bir olağandışı şiddetli enfeksiyöz veya tümöral fenotipi olmayan bir çocuk üzerinden yaptıkları araştırmada tam-ekzom dizilimi, Ca²⁺ girişini düzenleyen stromal etkileşim molekülü 1'i kodlayan gen olan STIM1'de homozigot bir mutasyonu ortaya çıkardı. Şiddetli bir T hücre immün yetmezliği olan tek bir ailede STIM1 eksikliğinin ve edinilmiş T hücre eksikliği olan bireylerde KS'nin daha yüksek riskinin keşfine dayanarak, STIM1 T hücresi eksikliğinin bu çocukta öldürücü KS gelişimini hızlandırdığı sonucuna varılmıştır. Bu rapor, çocuklukta izole edilen klasik KS'nin tek gen defektlerinden kaynaklanabileceğinin ilk kanıtını sunmakta ve tekli hastalarda tam-ekzom dizilemenin nadir görülen doğuştan hataların genetik temelini deşifre edebildiğini göstermektedir.

Bizde yaptığımız çalışmada STIM1 geninin rs1055640, rs7948532, rs10742177, rs10835231, rs12271807, rs10500589, rs10767723, rs75627429, rs79461202, rs2923956, rs7938706, rs58186239, rs11827790, rs2735691, rs11030976, rs7940013 numaralı SNP'lerini taradık. Bu SNP'lerden 6 tanesinin (rs1055640, rs10835231, rs10767723, rs75627429, rs79461202, rs7938706) kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] grubunda aynı iken Kaposi Sarkoma [KS(-) ve HIV(-)] hastasında farklı olduğu görülmüştür.

IL10, makrofaj / monosit ve T hücreli lenfosit çoğalmasımı ve inflamatuvar (iltihaplanmayla birlikte devam eden) sitokinlerin (IL1, TNFa, IL6, IL8 ve IL12) sekresyonunu inhibe ederek, in vivo olarak HIV-1 replikasyonunu sınırlayan lenfoid hücreler tarafından üretilen güçlü bir TH-2 hücre sitokindir. Shin ve ark, 2000 yılında yaptıkları çalışmada; AIDS kohortlarında kayıtlı genetik epidemiyolojik taramaya aday gen bağlantılı kısa tandem tekrar polimorfizmleri, HIV-1 enfeksiyonu için önemli genotip ilişkilerini ve IL10 promoter bölgesindeki ortak tek nükleotid polimorfik varyantlarına bitişik ve takip eden (bağlanma dengesizliği) işaretleyicilerle AIDS'e ilerlemeyi ortaya çıkarmıştır. IL10-5' 2 592A (IL10-5'A)

promoter allelini taşıyan bireyler, muhtemelen HIV-1 enfeksiyonu açısından artmış risk altındadırlar ve bir kez enfekte olduklarında, alternatif IL10 -5'-592 C/C (IL10-+/+) genotipi için homozigotlardan daha hızlı bir şekilde AIDS'e ilerlediler.

Bizde yaptığımız çalışmada IL10 geninde rs1878672 ve rs3024491 kodlu SNP'leri taradık. Fakat bu SNP'lerde kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] ve KS+ [KS(+) ve HIV(+)] gruplarında bir fark belirlenememiştir.

Kallianpur ve ark, 2014'de yaptıkları postmortem çalışmada sinaps oluşumuna ve glutamat reseptörlerinin sinapslara alınmasına aracılık eden ephrin (EPH) genlerinin ekspresyonundaki değişiklikleri incelemişlerdir. Bilişsel olarak karakterize edilmiş HIV ile enfekte olmuş kişilerden alınan postmortem beyin dokuları ve Manhattan HIV Beyin Bankasından gelen seronegatif kontroller, EPHA4 ve EFNB2 (bir ephrin ligandı) dahil olmak üzere çeşitli genlerin ekspresyon seviyeleri için incelenmiştir. Kaudatdaki bu genlerin ve anterior singulattaki EPHB2'nin transkript seviyeleri, HIV ile enfekte hastalarda anlamlı olarak daha düşüktü ve singulattaki EPHB2 mRNA seviyeleri, premortem nörokognitif fonksiyonla korelasyon göstermiştir. Aratırmacılar, singulatta EPHB2'nin azalmış ekspresyonunun, kronik inflamasyon karşısında eksitotoksik yaralanmayı en aza indiren bir telafi edici mekanizmayı temsil edebileceğini öne sürmüşlerdir.

Bizde çalışmamızda EFNB2 genine ait rs737461, rs12868314, rs8000122, rs7983579, rs9514544, rs9520090, rs7320751 kodlu SNP'leri taradık. Bu SNP'lerden 4 tanesinin (rs12868314, rs7983579, rs9514544, rs9520090) kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] grubunda aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında farklı allel olduğu belirlenmiştir.

Izumı ve ark, 2010' da yaptıkları çalışmada HIV-1 genomu içinde kodlanan bir yardımcı proteini olan viral enfeksiyon faktörü (Vif), G2 hücre döngü durmasını indüklemektedir. Fakat bunun biyolojik anlamı ve mekanizması tamamen açık değildir. Burada TP53 yolunun Vif aracılı G2 hücre döngüsü tutulumunda rol oynadığını ve Vif'in TP53'ün kararlılığını ve transkripsiyonel aktivitesini MDM2

aracılı ubiquitleme ve nükleer dışı salınımını bloke ederek artırır. Vif'in bu aktiviteleri TP53'ten yoksun olarak G2 hücre siklüsünün durmasına neden olamaz. Mutajenez ve normal genler kullanılarak yapılan çalışmada bu fonksiyon için kritik kalıntıların viral enfeksiyon faktörünün (Vif) N-terminal bölgesinde bulunduğu gösterilmiştir. Yapılan kontrollü deneylerle Vif TP53 / MDM2 eksenini ile fonksiyonel etkileşim yoluyla ve Vif tarafından indüklenmiş G2 hücre siklüs engellenmesinin, HIV-1 replikasyonu üzerinde pozitif bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Bizde yaptığımız çalışmada TP53 genine ait rs2078486 nolu SNP'i inceledik. Bu SNP için kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)] ve KS [KS(-) ve HIV(-)] gruplarında allel farklılığı saptanamamıştır.

Herrero ve ark, 2016'da yaptıkları çalışmada; DC-SIGN veya CD209, dendritik hücreler ve dinlenme T hücreleri arasındaki etkileşime ICAM-2/3 aracılığıyla aracılık eden dendritik hücrelerde (DC'ler) eksprese edilen bir adhezyon reseptörüdür. Bu protein ayrıca, insan virüsleri, Retrovirüsler, Flavivirüs, Filovirüs ve Herpesvirüs gibi önemli bir etkisi olan çeşitli virüs ailelerinde bulunan evrimsel seçilmiş yapılar olan mannoz N-bağlı oligosakkaritleri tanımakta da rol oynar. CD209'un alternatif eklenmesi, bazı değişkenlerin muhtemelen salgılanan veya hücre içi izoformları olan çeşitli varyantlarla sonuçlanır. CD209 promotöründeki (-336G ve -871A) iki SNP, tüberküloz duyarlılığına bağlanmıştır. 336G allelinin, Kafkasyalılarda HIV-1'e karşı koruma sağladığı, diğer çalışmalarda ise Hintlilerde ters etki olduğu ve Thais ya da Afrikalılarda etkili olmadığı görülmüştür. Yapılan çalışmada ilişkilendirme analizi için CD209 promotörü içinde daha önce tarif edilen dört polimorfik markörü seçilmiştir, bunlar: rs2287886, rs4804803, rs735239, rs735240. Popülasyonda gözlenen allelik frekanslar, Avrupa atalarının diğer serilerinde daha önce bildirilenlere benzerdir. Bu analizler, HIV-1 ile enfekte olmuş kişiler arasında EUI ya da BD ile karşılaştırıldığında bir ilişki olduğunu ortaya koymamıştır. HIV-1 negatif bireyler tek bir grup olarak düşünüldüğünde, rs4804803 için istatistiksel olarak anlamlı bir eğilim bulunmuştur (pozisyon - 336; P = 0.07).

Ayrıca Chakraborty ve ark, 2012'da yaptıkları çalışmaya göre CD209, birçok virüs tarafından insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ve daha yakın

zamanlarda Bunyavirüsleri içeren bir reseptör olarak kullanıldığı görülmüştür. Benzer şekilde, KSHV'nin ayrıca insan miyeloid DC'leri, makrofajlar ve aktive B hücresi enfeksiyonu sırasında DC-SIGN kullandığı görülmektedir. Son çalışmalar, aktifleştirilmiş B hücrelerinin DC-SIGN'in artan ekspresyonu nedeniyle daha etkili şekilde enfekte olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, heparan sülfat (HS) ve diğer KSHV reseptörlerinin, muhtemelen aktifleştirilmiş B hücrelerindeki artmış enfektiviteye katkıda bulunacak şekilde daha yüksek seviyelerde eksprese edildikleri gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda CD209 genine ait rs735240 kodlu SNP taranmıştır. rs735240 kodlu SNP'in kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] grubunda aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında farklı allel olduğu belirlenmiştir.

Alfa-1-adrenerjik reseptörler (ADRA1A) G protein-bağlı reseptör ailesinin üyeleridir. Mitojenik tepkileri aktive ederler ve birçok hücrenin büyümesini ve çoğalmasını düzenlerler. (Chang ve ark, 1998) Verma ve ark, 2006 yılında yaptıkları araştırmada viral enfeksiyonda hücre döngüsü regülasyonu, hücre büyümesi, transkripsiyon aktivasyonu, hücre iletişimi ve sinyal iletimi ile ilgili proteinleri kodlayan ADRA1A geni de dahil 51 hücresel genin ekspresyon düzeylerinde (> 2 kat) bir artış olduğunu göstermişlerdir.

Bizde çalışmamızda ADRA1A genine ait rs10094695, rs10102186, rs17055965, rs13261597, rs57655874, rs4548188, rs6998591, rs11779546, rs4732908, rs10503800, rs17056057, rs489790, rs498246 kodlu SNP'leri taradık. Bu SNP'lerden 3 tanesinin (rs10102186, rs17055965, rs498246) kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] grubunda aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında farklı allel olduğu görülmüştür.

ENDRA (Gi-bağlı endotelin-1 reseptör tip a) geni aktivasyonu adipogenezde (yağ doku farklılaşması) kök hücre farklılaşmasını engeller. Reseptör tirozin kinazlar ve Gi protein-bağlı reseptör (GPCR) arasındaki etkileşimler, adipoz fonksiyonunu ve

kök hücre nişini düzenlemede kooperatif veya inhibitör olabilen, içeriğe özgü sinyalleme sağlar. (KLEI ve ark, 2012)

Çalışmamızda ENDRA genine ait rs4333164, rs3814415, rs6537485, rs9997823, rs4835412, rs3756022, rs5333, rs10028838, rs11734418 kodlu SNP'leri incelediğimizde bunlardan rs10028838, rs11734418 kodlu SNP'lerin kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] grubunda aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında farklı allel olduğu belirlenmiştir.

Henrich, 2011'de yapılan çalışmada; rs6659902 kodlu SNP'inin bulunduğu gen olan CAMTA1 tarafından kodlanan protein, bir CG1 DNA-bağlama alanı, bir transkripsiyon faktörü immüoglobulin domeni, ankirin tekrarları ve kalmodulin-bağlama IQ motifleri içerir. Kodlanan proteinin bir transkripsiyon faktörü olduğu düşünülür ve bir tümör baskılayıcı olabilir. Bununla birlikte, bu gen ve WWTR1 geni arasında bazen bir translokasyon olayı gözlemlenir, sonuçta malign vasküler bir kanser olan epiteloid hemanjiyotelyoma yol açan WWTR1-CAMTA1 onkoprotein oluşur. Ayrıca CAMTA1 epiteloid hemanjiyotelyoma (nadir görülen karaciğer tümörü) teşhisinde rutin klinikte kullanılacak bir veri olduğu Cheung ve ark tarafından 2018'de yapılan çalışmada gösterilmiştir.

Çalışmamızda rs6659902 kodlu SNP'in kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] grubunda aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma hastasında farklı allel olduğu saptanmıştır.

Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] ve Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarına göre toplam nükleotit sayısı ve oran tablosuna baktığımızda (Çizelge 4.7) AA, AG, AT, AC, TT allel oranları bakımından değerlerin birbirine çok yakın çıktığı görülmüştür. TA alleli sadece HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] hastada saptanmış kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] bireylerinde saptanmamıştır. TG ve TC allelleri kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] bireyde saptanmış fakat Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında saptanmamıştır. GC alleli HIV (+) hastada saptanmamış fakat

kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve Kaposi Sarkoma (KS+HIV(+)) bireyinde saptanmıştır. GT alleli kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] bireylerde saptanmamış fakat Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında saptanmıştır. CA alleli sadece kontrol (HIV-) grubunda saptanmış HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] ve Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastalarında saptanmamıştır. Diğer allel sayıları 3 grupta anlamlı bir dağılım göstermemiş sadece GG alleli kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] bireyde (%17) Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasına göre (%21,4) daha düşük çıkmıştır.

Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] ve Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarının Kaposi Sarkoma ile ilişkilendirilen genlerdeki nükleotit sayı grafiğine (Şekil 4.5) baktığımızda AA allelinin HIV+ [KS(-) ve HIV(+)] ve kontrolde [KS(-) ve HIV(-)] aynı sayıda yer aldığı fakat Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]'de daha fazla sayıda yer aldığı gözlemlenmiştir. AG alleli bakımından HIV (+) ve Kaposi Sarkoma (KS+HIV(+))'da aynı sayıda olmasına rağmen kontrol (KS(-))'de sayı olarak daha fazla yer almıştır. AT ve AC alleli bakımından kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastalarında sayısal bir farklılık görülmemiştir. TA alleli kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]'da saptanmamıştır. TT allelinin sayı bakımından kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)]'da aynı sayıda görüldüğü HIV+ [KS(-)]'de ise daha fazla görüldüğü saptanmıştır. GA, CC, CG ve CT allellerinin her üç grupta farklı sayıda görüldüğü saptanmıştır. GG allelinin kontrol [KS(-) ve HIV(-)], ve HIV+ [KS(-)]'de aynı sayıda görüldüğü ve bu allelin Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında daha fazla görüldüğü saptanmıştır.

Kontrol [KS(-) ve HIV(-)], HIV+ [KS(-)], Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarının Kaposi Sarkoma ile ilişkilendirilen genlerdeki toplam allel sayı grafiğine (Şekil 4.6) baktığımızda AA ve BB allelinin Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında HIV(+) hastasından sayı olarak daha fazla çıktığı, HIV+ [KS(-)] hastasında da kontrol [KS(-) ve HIV(-)] bireyine göre sayı olarak fazla çıktığı görülmüştür. AB allelinin kontrol [KS(-) ve HIV(-)] bireyinde diğerlerine göre daha

yüksek çıktığı belirlenmiştir.

Şekil 4.7'e baktığımızda AA ve BB allellerinin Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında diğer gruplara göre daha düşük sayıda çıktığı ve AB allellinin de Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında diğerlerine göre daha yüksek çıktığı görülmüştür.

Taranan 204 bin SNP'e ait nükleotitlerin toplam sayı dağılımına baktığımızda (Şekil 4.8); AC, AG, AT, CA, CA, CG, CT, GA, GC, GT, TA, TC ve TG allel nükleotit sayılarının Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] bireylerine göre daha yüksek çıktığı görülmüştür. AA, CC, GG ve TT allel nükleotit sayılarının Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastasında kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] bireylerine göre daha düşük çıktığı saptanmıştır.

Taranan 204 000 SNP'ten 32 362 tane SNP'in kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)]'de aynı fakat Kaposi Sarkoma'da farklı olduğu durumuna bakarsak Kaposi Sarkoma ile ilişkili olduğu düşünülen ilk 10 gen içinde sadece 16 tane SNP'in kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+'de [KS(-)] aynı Kaposi Sarkomada [KS(+) ve HIV(+)] farklı olması çok küçük bir oranı temsil etmektedir. Bu genler içinde SNP dağılımının genlere göre farklı sayıda olduğu saptanmıştır. Bu 16 SNP'ten 3 tanesi ADRA1A geninde, 6 tanesi STIM1 geninde, 4 tanesi EFNB2 geninde, 1 tanesi CD209 geninde ve 2 tanesi ENDRA geni içerisinde bulunmaktadır. (Şekil 4.9)

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Yaptığımız çalışmada Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] ile ilişkilendirilen genlere ait SNP analizi mikroarray sisteminde taranmış ve bunun sonucunda STIM1, EFNB2, CD209, ADRA1A, ENDRA genine ait bazı SNP'ler ve Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] ile ilişkilendirilen rs6659902 kodlu SNP'in kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] grubunda aynı iken Kaposi Sarkoma hastasında farklı olduğu görülmüştür. Fakat Kaposi Sarkoma ile ilişkilendirilen genlere ait SNP analizi sonucunda CX3CR1, CXCL12, IL10, TP53 genine ait SNP'lerin ve Kaposi sarkoma ile ilişkilendirilen rs1405227, rs11648370, rs11648370, rs11648370, rs3772140, rs3772140, rs3772140, rs2301770, rs2301770, rs2301770 kodlu SNP'lerin kontrol [KS(-) ve HIV(-)] grupta, HIV+ [KS(-)] ve Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplara göre bir allel farklılığı tespit edilmiştir.

STIM1 geni önemli bir tümör baskılayıcı gen bölgesi olan 11p15.5'in imprint (İmprinting, genetik materyalin anneden veya babadan kalıtılmış olmasına bağlı olarak, farklı ekspresyonudur) gen alanında yer alan birkaç genden biridir. Ca²⁺ girişini düzenleyen stromal etkileşim molekülü 1'i kodlamaktadır. Çalışmamızda STIM1 geninin rs1055640, rs7948532, rs10742177, rs10835231, rs12271807, rs10500589, rs10767723, rs75627429, rs79461202, rs2923956, rs7938706, rs58186239, rs11827790, rs2735691, rs11030976, rs7940013 numaralı SNP'lerini taradık. Bu SNP'lerden 6 tanesinin (rs1055640, rs10835231, rs10767723, rs75627429, rs79461202, rs7938706) kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] grubunda aynı iken Kaposi Sarkoma hastasında farklı olduğu görülmüştür.

IL10, makrofaj / monosit ve T hücreli lenfosit çoğalmasını ve inflamatuvar (iltihaplanmayla birlikte devam eden) sitokinlerin (IL1, TNF α , IL6, IL8 ve IL12) sekresyonunu inhibe ederek, in vivo olarak HIV-1 replikasyonunu sınırlayan lenfoid hücreler tarafından üretilen güçlü bir TH-2 hücre sitokindir. Biz IL10 geninde rs1878672 ve rs3024491 kodlu SNP'leri taradık. Fakat bu SNP'lerde kontrol [KS(-)]

ve HIV(-)] grupta, HIV+ [KS(-)] ve Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplara göre allel farklılığı yoktur.

CD209, dendritik hücreler ve dinlenme T hücreleri arasındaki etkileşime ICAM-2/3 aracılığıyla aracılık eden dendritik hücrelerde (DC'ler) eksprese edilen bir adhezyon reseptörüdür. Bu protein ayrıca, insan virüsleri, Retrovirüsler, Flavivirüs, Filovirüs ve Herpesvirüs gibi önemli bir etkisi olan çeşitli virüs ailelerinde bulunan evrimsel seçilmiş yapılar olan mannoz N-bağlı oligosakkaritleri tanımakta da rol oynar. Çalışmamızda CD209 genine ait rs735240 kodlu SNP taranmıştır. rs735240 kodlu SNP'in kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] grubunda aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma hastasında farklı allel olduğu bulunmuştur.

Birçok dokuda özellikle beyin ve interlökin-2 ile aktive olan periferik kan lenfositlerinde yüksek seviyelerde eksprese edilen, yakın zamanda tespit edilmiş önemli bir HIV koruyucusu olduğu düşünülen (Kemokinler için bir lökosit kemotaktik ve adhezyon reseptörü) CX3CR1 genine ait rs17038647, rs9826296, rs6783532, rs13062158 numaralı polimorfizmlerini inceleyerek bu SNP'ler bakımından kontrol [KS(-) ve HIV(-)] grupta, HIV+ [KS(-)] ve Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarına göre bir fark görülmemiştir.

ENDRA (Gi-bağlı endotelin-1 reseptör tip a) geni adipogenezde (yağ doku farklılaşması) kök hücre farklılaşmasını engeller. Bu gene ait rs4333164, rs3814415, rs6537485, rs9997823, rs4835412, rs3756022, rs5333, rs10028838, rs11734418 kodlu SNP'leri incelediğimizde bunlardan rs10028838, rs11734418 kodlu SNP'lerin) kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] grubunda aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma hastasında farklı allel olduğu görülmüştür.

CX3CR1 (Kemokinler için bir lökosit kemotaktik ve adhezyon reseptörü) ile aynı gen ailesinden olan CXCL12 geni içerisinde yer alan rs2522 nolu SNP'i inceleyerek bu SNP'in kontrol [KS(-) ve HIV(-)] grupta, HIV+ [KS(-)] ve Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] gruplarına göre allel farklılığı tespit edilmemiştir.

Alfa-1-adrenerjik reseptörler (ADRA1A) G protein-bağlı reseptör ailesinin üyeleridir. Mitojenik tepkileri aktive ederler ve birçok hücrenin büyümesini ve çoğalmasını düzenlerler. Çalışmamızda ADRA1A genine ait rs10094695, rs10102186, rs17055965, rs13261597, rs57655874, rs4548188, rs6998591, rs11779546, rs4732908, rs10503800, rs17056057, rs489790, rs498246 kodlu SNP'leri taradık. Bu SNP'lerden 3 tanesinin (rs10102186, rs17055965, rs498246) kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] grubunda aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma hastasında farklı allel olduğu bulunmuştur.

Sinaps oluşumuna ve glutamat reseptörlerinin sinapslara alınmasına aracılık eden ephrin ligandı olan EFNB2 genine ait rs737461, rs12868314, rs8000122, rs7983579, rs9514544, rs9520090, rs7320751 kodlu SNP'leri taradık. Bu SNP'lerden 4 tanesinin (rs12868314, rs7983579, rs9514544, rs9520090) kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] grubunda aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma hastasında farklı allel olduğu görülmüştür.

5.2. Öneriler

Yaptığımız mikroarray çalışmasında 204 000 tane SNP Kontrol (HIV-), HIV(+) ve Kaposi Sarkoma [KS+ HIV(+)] grupları için tarandı. Bu SNP'lerden 32 362 tanesi kontrol [KS(-) ve HIV(-)] ve HIV+ [KS(-)] grupta aynı allel olduğu Kaposi Sarkoma [KS+ HIV(+)] hastasında farklı allel olduğu görülmüştür. Farklılık olan 32 000 SNP'ten 16 tane SNP Kaposi Sarkoma bağlantılı genler (veri tabanlarına göre) içinde yer almaktadır. Bu verilerin yapacağımız veya yapılacak yeni çalışma verileriyle birlikte değerlendirilmesi HIV+ [KS(-)] ve Kaposi Sarkoma [KS+ HIV(+)] arasındaki SNP farklılıklarını ve Kaposi Sarkoma [KS+ HIV(+)] bağlantılı ve Kaposi Sarkomaya [KS+ HIV(+)] yatkınlıkta rol oynayan SNP'leri belirlemede daha doğru sonuç verecektir. İlişkili bulunan genler ve SNP'ler incelenerek farklı olanlar için gen ekspresyon düzeyinin incelenmesi önerilir.

Bu sayede Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastalarda tanı için etkili bir marker geliştirilebilecektir. Bunun da hastalığın hızlı teşhisi ve tedavisinde bir yarar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu yüzden Kaposi Sarkoma [KS(+) ve HIV(+)] hastalardan oluşan yüksek sayılı bir çalışma yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- AHMADPOOR, P., ILKHANIZADEH, B., SHARIFZADEH, P., MAKHDOOMI, K., GHAFARI, A., NAHALI, A., YEKTA, Z., NOROOZINIA, F., 2007. Seroprevalence of human herpes virus-8 in renal transplant recipients: a single center study from Iran. *Transplant Proc*, 39(4):1000–1002.
- AÏSSANI, B., BOEHME, A. K., WIENER, H. W., SHRESTHA, S., JACOBSON, L. P., & KASLOW, R. A., 2014. SNP screening of central MHC-identified HLA-DMB as a candidate susceptibility gene for HIV-related Kaposi's sarcoma. *Genes and immunity*, 15(6): 424.
- ALKHARSAH, K. R., ALZAHGANI, A. J., OBEID, O. E., EL-HARITH, E. H., GUELLA, A., MOHAMED, E. A., ... & AL-ALI, A. K., 2014. Vascular endothelial growth factor A polymorphism and risk of Kaposi's sarcoma herpesvirus viremia in kidney allograft recipients. *Transplant Infectious Disease*, 16(5): 783-789.
- ANGEL, B., 2017. Genetic Polymorphism. *Encyclopedia of Personality and Individual Differences*, 1-3.
- AN, F.Q., FOLARIN, H.M., COMPITELLO, N., ROTH, J., GERSON, S.L., et al., 2006. Long-term infected telomerase-immortalized endothelial cells: a model for Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency in vitro and in vivo. *J Virol*, 80(10): 4833– 4846.
- AOKI, Y., TOSATO, G., 2007. Interactions between HIV-1 Tat and KSHV. In: *Kaposi Sarcoma Herpesvirus: New Perspectives*. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 309-326.
- AOKI, Y., JONES, K.D., TOSATO, G., 2000. Kaposi's sarcoma associated herpesvirus encoded interleukin-6. *J Hematother Stem Cell Res*, 9(2):137-145.
- ASHLOCK, B. M., MA, Q., ISSAC, B., & MESRI, E. A., 2014. Productively infected murine Kaposi's sarcoma-like tumors define new animal models for studying and targeting KSHV oncogenesis and replication. *PloS one*, 9(1): e87324.
- BUCKHOUT-WHITE, S., PERSON, C., MEDINTZ, I. L., & GOLDMAN, E. R., 2018. Restriction Enzymes as a Target for DNA-Based Sensing and Structural Rearrangement. *ACS Omega*, 3(1): 495-502.
- BAIS, C., SANTOMASSO, B., COSO, O., ARVANITAKIS, L., RAAKA, E.G., et al., 1998. Gprotein-coupled receptor of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus is a viral oncogene and angiogenesis activator. *Nature*, 391: 86–89.
- BAIS, C., VAN GEELLEN, A., EROLES, P., MUTLU, A., CHIOZZINI, C., et al., 2003. Kaposi's sarcoma associated herpesvirus G protein-coupled receptor immortalizes human endothelial cells by activation of the VEGF receptor-2/KDR. *Cancer Cell*, 3(2): 131–143.
- BAROZZI, P., LUPPI, M., FACCHETTI, F., MECUCCI, C., ALU, M., et al., 2003. Post-transplant Kaposi sarcoma originates from the seeding of donor-derived progenitors. *Nat Med*, 9(5): 554–561.
- BASARAN, N., 1999. *Tıbbi Genetik Ders Kitabı*, 7. Baskı. Günes ve Nobel Tıp Kitabevleri, Bursa, 10-12.

- BIHL, F., MOSAM, A., HENRY, L.N., CHISHOLM, J.V., et al., 2007. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-specific immune reconstitution and antiviral effect of combined HAART/chemotherapy in HIV clade C-infected individuals with Kaposi's sarcoma. *AIDS*, 21(10): 1245–1252.
- BLACKBOURN, D. J., AMBROZIÁK, J., LENNETTE, E., ADAMS, M., RAMACHANDRAN, B., LEVY, J. A., 1997. Infectious human herpesvirus 8 in a healthy North American blood donor. *The Lancet*, 349(9052): 609-611.
- BORGES, J. D., SOUZA, V. A., GIAMBARTOLOMEI, C., DUDBRIDGE, F., FREIRE, W. S., GREGÓRIO, S. A., NASCIMENTO, M. C., 2012. Transmission of human herpesvirus type 8 infection within families in american indigenous populations from the Brazilian Amazon. *The Journal of infectious diseases*, 205(12): 1869-1876.
- BOSHOFF, C., ENDO, Y., COLLINS, P. D., TAKEUCHI, Y., REEVES, J. D., SCHWEICKART, V. L., MOORE, P. S., 1997. Angiogenic and HIV-inhibitory functions of KSHV-encoded chemokines. *Science*, 278(5336): 290-294.
- BROWNING, P.J., SECHLER, J.M., KAPLAN, M., WASHINGTON, R.H., GENDELMAN, R., et al., 1994. Identification and culture of Kaposi's sarcoma-like spindle cells from the peripheral blood of human immunodeficiency virus-1-infected individuals and normal controls. *Blood*, 84(8): 2711–2720.
- BYUN, M., ABHYANKAR, A., LELARGE, V., PLANCOULAINE, S., PALANDUZ, A., TELHAN, L., ... & JOUANGUY, E., 2010. Whole-exome sequencing-based discovery of STIM1 deficiency in a child with fatal classic Kaposi sarcoma. *Journal of Experimental Medicine*, 207(11): 2307-2312.
- CANCIAN, L., HANSEN, A., BOSHOFF, C., 2013. Cellular origin of Kaposi's sarcoma and Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-induced cell reprogramming. *Trends Cell Biol*, 29(3): 421–432.
- CASPER, C., 2011. The increasing burden of HIV-associated malignancies in resource-limited regions. *Annu Rev Med*, 62: 157–170.
- CAVALLIN, L. E., GOLDSCHMIDT-CLERMONT, P., MESRI, E. A. , 2014. Molecular and cellular mechanisms of KSHV oncogenesis of Kaposi's sarcoma associated with HIV/AIDS. *PLoS Pathog*, 10(7): e1004154.
- CESARMAN, E., 2014. Gammaherpesviruses and lymphoproliferative disorders. *Annu Rev Pathol*, 9: 349–372.
- CESARMAN, E., CHANG, Y., MOORE, P. S., SAID, J. W., KNOWLES, D. M., 1995. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-related body-cavity-based lymphomas. *New England Journal of Medicine*, 332(18): 1186-1191.
- CHANG, H.H., GANEM, D., 2013. A unique herpesviral transcriptional program in KSHV-infected lymphatic endothelial cells leads to mTORC1 activation and rapamycin sensitivity. *Cell Host Microbe*, 13(9): 429–440.
- CHANG, Y., CESARMAN, E., PESSIN, M.S., LEE, F., CULPEPPER, J., et al., 1994. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science*, 266(5192): 1865–1869.
- CHANG, D. J., CHANG, T. K., YAMANISHI, S. S., SALAZAR, F. H., KOSAKA, A. H., KHARE, R., ... & FORD, A. P., 1998. Molecular cloning, genomic

- characterization and expression of novel human $\alpha 1A$ -adrenoceptor isoforms. *FEBS letters*, 422(2): 279-283.
- CHAKRABORTY, S., VALIYA VEETIL, M., CHANDRAN, B., 2012. Kaposi's sarcoma associated herpesvirus entry into target cells. *Frontiers in microbiology*, 3: 6.
- CHEN, D., SANDFORD, G., NICHOLAS, J., 2009. Intracellular signaling mechanisms and activities of human herpesvirus 8 interleukin-6. *J Virol*, 83(2): 722–733.
- CHEUNG, V. K. Y., CLARKSON, A., GILL, A. J., 2018. CAMTA1 immunohistochemistry is a highly sensitive marker for epithelioid haemangi endothelioma. *Pathology*, 50: S140.
- CHRISTOPHER, J. M., 2011. Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus, The Dark Park.
- COSCOY L., 2007. Immune evasion by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Nat Rev Immunol*, 7(5): 391–401.
- CRABTREE, K. L., WOJCICKI, J. M., MÍNHAS, V., SMITH, D. R., KANKASA, C., MITCHELL, C. D., WOOD, C., 2013. Risk factors for early childhood infection of human herpesvirus-8 in Zambian children: the role of early childhood feeding practices. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*.
- DAVÍS, D. A., RÍNDERKNECHT, A. S., ZOETEWÉIJ, J. P., AOKI, Y., READ-CONNOLE, E. L., TOSATO, G., YARCHOAN, R., 2001. Hypoxia induces lytic replication of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus. *Blood*, 97(10): 3244-3250.
- DE SOUZA, V., SUMÍTA, L.M., NASCIMENTO, M.C., OLÍVEIRA, J., MASCHERETTI, M., QUIROGA, M., FREIRE, W.S., TATENO, A., BOULOS, M., MAYAUD, P., PANNUTI, C.S., 2007. Human herpesvirus-8 infection and oral shedding in Amerindian and non-Amerindian populations in the Brazilian Amazon region. *J Infect Dis*, 196(6): 844–852.
- FIRTH, H. V., & HURST, J. A. (2017). *Oxford Desk Reference: Clinical Genetics and Genomics*. Oxford University Press.
- FRIBORG, J., KONG, W. P., HOTTIGER, M. O., & NABEL, G. J., 1999. p53 inhibition by the LANA protein of KSHV protects against cell death. *Nature*, 402(6764): 889-894.
- GANEM, D., 2010. KSHV and the pathogenesis of Kaposi sarcoma: listening to human biology and medicine. *J Clin Invest*, 120(4): 939–949.
- GONCALVES, P. H., ZIEGELBAUER, J., ULDRICK, T. S., YARCHOAN, R., 2017. Kaposi sarcoma herpesvirus-associated cancers and related diseases. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 12(1): 47-56.
- GUASPARI, I., KELLER, S.A., CESARMAN, E., 2004. KSHV vFLIP is essential for the survival of infected lymphoma cells. *J Exp Med* 199(7): 993–1003.
- GUPTA, P.K., RUSTGI, S., MIR, R.R., 2008. Array-based high-throughput DNA markers for crop improvement. *Heredity*, 101(1): 5-18.
- HAN, S. J., MARSHALL, V., BARSOV, E., QUIÑONES, O., RAY, A., LABO, N., ... & WHITBY, D., 2013. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNA single-nucleotide polymorphisms identified in clinical samples can affect microRNA processing, level of expression, and silencing activity. *Journal of virology*, 87(22): 12237-12248.
- HENRICH, K. O., 2011. CAMTA1 (calmodulin binding transcription activator 1).

- HERRERO, R., 2016. Common haplotypes in CD209 promoter and susceptibility to HIV-1 infection in intravenous drug users. *Infection, Genetics and Evolution*, 45: 20-25.
- IZUMI, T., IO, K., MATSUI, M., SHIRAKAWA, K., SHINOHARA, M., NAGAI, Y., ... & KOYANAGI, Y., 2010. HIV-1 viral infectivity factor interacts with TP53 to induce G2 cell cycle arrest and positively regulate viral replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(48): 20798-20803.
- JAKOB, L., METZLER, G., CHEN, K. M., GARBE, C., 2011. Non-AIDS associated Kaposi's sarcoma: clinical features and treatment outcome. *PLoS One*, 6(4): e18397.
- JALILVAND, S., SHOJA, Z., MARASHI, S.M., SHAHMAHMOODI, S., SAFAIE-NARAGHI, Z., NOURIJELYANI, K., NESHELI, A.B., MOKHTARI-AZAD, T., 2015. Mitochondrial haplogroups and control region polymorphisms in Kaposi's sarcoma patients. *J Med Virol*, 87(9):1608–1615
- JALILVAND, S., SHOJA, Z., MOKHTARI-AZAD, T., NATEGH, R., GHAREHBAGHIAN, A., 2011. Seroprevalence of Human herpesvirus 8 (HHV-8) and incidence of Kaposi's sarcoma in Iran. *Infect Agent Cancer*, 6(1):5.
- JENSEN, K.K., MANFRA, D.J., GRISOTTO, M.G., MARTIN, A.P., VASSILEVA, G., et al., 2005. The human herpes virus 8-encoded chemokine receptor is required for angioproliferation in a murine model of Kaposi's sarcoma. *J Immunol*, 174(6): 3686–3694.
- JONES, T., YE, F., BEDOLLA, R., HUANG, Y., MENG, J., et al., 2012. Direct and efficient cellular transformation of primary rat mesenchymal precursor cells by KSHV. *J Clin Invest*, 122(39): 1076–1081.
- KALLIANPUR, A. R., LEVINE, A. J., 2014. Host genetic factors predisposing to HIV-associated neurocognitive disorder. *Current Hiv/Aids Reports*, 11(3): 336-352.
- KANDAZ, M., BAHAT, Z., GULER, O. C., CANYILMAZ, E., MELIKOGLU, M., & YONEY, A., 2018. Radiotherapy in the management of classic Kaposi's sarcoma: A single institution experience from Northeast Turkey. *Dermatologic therapy*, e12605.
- KLEI, L. R., GARCIAFIGUEROA, D. Y., BARCHOWSKY, A., 2012. Arsenic activates endothelin-1 Gi protein-coupled receptor signaling to inhibit stem cell differentiation in adipogenesis. *toxicological sciences*, 131(2): 512-520.
- LAGOS, D., TROTTER, M. W., VART, R. J., WANG, H. W., MATTHEWS, N. C., HANSEN, A., BOSHOFF, C., 2007. Kaposi sarcoma herpesvirus-encoded vFLIP and vIRF1 regulate antigen presentation in lymphatic endothelial cells. *Blood*, 109(4): 1550-1558.
- LI, Y., CHANG, S. C., NIU, R., LIU, L., CRABTREE-IDE, C. R., ZHAO, B., ... & CAI, L., 2013. TP53 genetic polymorphisms, interactions with lifestyle factors and lung cancer risk: a case control study in a Chinese population. *BMC cancer*, 2013, 13(1): 607.
- Li, X., FENG, J., SUN, R., 2011. Oxidative stress induces reactivation of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus and death of primary effusion lymphoma cells. *Journal of virology*, 85(2): 715-724.

- LIU, C., OKRUZHNOV, Y., LI, H., & NICHOLAS, J., 2001. Human herpesvirus 8 (HHV-8)-encoded cytokines induce expression of and autocrine signaling by vascular endothelial growth factor (VEGF) in HHV-8-infected primary-effusion lymphoma cell lines and mediate VEGF-independent antiapoptotic effects. *Journal of virology*, 75(22): 10933-10940.
- MA, Q., CAVALLIN, L.E., LEUNG, H.J., CHIOZZINI, C., GOLDSCHMIDT-CLERMONT, P.J., et al., 2013. A role for virally induced reactive oxygen species in Kaposi's sarcoma herpesvirus tumorigenesis. *Antioxid Redox Signal*, 18(1): 80–90.
- MARSHALL, V., MARTRÓ, E., LABO, N., RAY, A., WANG, D., MBÍSA, G., ... & WHITBY, D., 2010. Kaposi sarcoma (KS)-associated herpesvirus microRNA sequence analysis and KS risk in a European AIDS-KS case control study. *Journal of Infectious Diseases*, 202(7): 1126-1135.
- MARTIN, J.N., 2011. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus 8 and Kaposi sarcoma. *Adv Dent Res* 23(1): 76–78.
- MBULAITEYE, S. M., BIGGAR, R. J., BAKAKI, P. M., PFEIFFER, R. M., WHITBY, D., OWOR, A. M., ENGELS, E. A., 2003. Human herpesvirus 8 infection and transfusion history in children with sickle-cell disease in Uganda. *Journal of the National Cancer Institute*, 95(17): 1330-1335.
- MESRI, E.A., CESARMAN, E., BOSHOF, C., 2010. Kaposi's sarcoma and its associated herpesvirus. *Nat Rev Cancer*, 10(10): 707–719.
- MEYER, U. A., ZANGER, U. M., 1997. Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 37(1): 269-296.
- MILLER, R.D., KWOK, P.Y., 2001. The birth and death of human single-nucleotide polymorphisms: new experimental evidence and implications for human history and medicine. *Hum Mol Genet*, 10(20): 2195-8.
- MONTANER, S., SODHI, A., RAMSDELL, A.K., MARTIN, D., HU, J., et al., 2006. The Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus G protein-coupled receptor as a therapeutic target for the treatment of Kaposi's sarcoma. *Cancer Res*, 66(1): 168–174.
- MOORE, P. S., BOSHOF, C., WEISS, R. A., CHANG, Y., 1996. Molecular mimicry of human cytokine and cytokine response pathway genes by KSHV. *Science*, 274(5293): 1739-1744.
- MUTLU, A.D., CAVALLIN, L.E., VINCENT, L., CHIOZZINI, C., EROLES P., et al., 2007. In vivo restricted and reversible malignancy induced by human herpesvirus-8 KSHV: a cell and animal model of virally induced Kaposi's sarcoma. *Cancer Cell*, 11(3): 245– 258.
- NADOR, R. G., CESARMAN, E., CHADBURN, A., DAWSON, D. B., ANSARI, M. Q., SALD, J., KNOWLES, D. M., 1996. Primary effusion lymphoma: a distinct clinicopathologic entity associated with the Kaposi's sarcoma-associated herpes virus. *Blood*, 88(2): 645-656.
- NUSSBAUM, R. L., MCINNES, R. R., & WILLARD, H. F., 2015. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- PAUK, J., HUANG, M. L., BRODIE, S. J., WALD, A., KOELLE, D. M., SCHACKER, T., COREY, L., 2000. Mucosal shedding of human herpesvirus 8 in men. *New England Journal of Medicine*, 343(19): 1369-1377.

- POLIZZOTTO, M. N., ULDRICK, T. S., WYVILL, K. M., ALEMAN, K., MARSHALL, V., WANG, V., TOSATO, G., 2015. Clinical features and outcomes of patients with symptomatic Kaposi sarcoma herpesvirus (KSHV)-associated inflammation: prospective characterization of KSHV inflammatory cytokine syndrome (KICS). *Clinical Infectious Diseases*, 62(6): 730-738.
- RADKOV, S.A., KELLAM, P., BOSHOFF, C., 2000. The latent nuclear antigen of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus targets the retinoblastoma-E2F pathway and with the oncogene Hras transforms primary rat cells. *Nat Med*, 6(10): 1121–1127.
- RAY, A., MARSHALL, V., ULDRICK, T., LEIGHTY, R., LABO, N., WYVILL, K., WHITBY, D., 2012. Sequence analysis of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) microRNAs in patients with multicentric Castlemans disease and KSHV-associated inflammatory cytokine syndrome. *The Journal of infectious diseases*, 205(11): 1665-1676.
- REINHHEIMER, C., ALLWINN, R., STURMER, M., 2011. Do fewer cases of Kaposi's sarcoma in HIV-infected patients reflect a decrease in HHV8 seroprevalence? *Med Microbiol Immunol*, 200(3): 161–164.
- SCARBOROUGH, J. A., PAUL, J. n R.; SPENCER, J. V., 2017. Evolution of the ability to modulate host chemokine networks via gene duplication in human cytomegalovirus (HCMV). *Infection, Genetics and Evolution*, 51: 46-53.
- SCHMIDT, K., WIES, E., & NEIPEL, F., 2011. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus viral interferon regulatory factor 3 inhibits gamma interferon and major histocompatibility complex class II expression. *Journal of virology*, 85(9): 4530-4537.
- SCHULZ, T. F., CESARMAN, E., 2015. Kaposi Sarcoma-associated Herpesvirus: mechanisms of oncogenesis. *Current opinion in virology*, 14, 116-128.
- SHEN, F., FATATIS, A., ZHANG, Y., JERNIGAN, D. L., FENG, X., YAN, J., ... & SALVINO, J. M ., 2016. Novel small-molecule CX3CR1 antagonist impairs metastatic seeding and colonization of breast cancer cells. *Molecular Cancer Research*, 14(6): 518-527.
- SHIN, H. D., WINKLER, C., STEPHENS, J. C., BREM, J., YOUNG, H., GOEDERT, J. J., ... & RINALDO, C., 2000. Genetic restriction of HIV-1 pathogenesis to AIDS by promoter alleles of IL10. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(26): 14467-14472.
- SODHI, A., CHAISUPARAT, R., HU, J., RAMSDELL, A.K., MANNING, B.D., et al., 2006. The TSC2/mTOR pathway drives endothelial cell transformation induced by the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus G protein-coupled receptor. *Cancer Cell*, 10(2): 133–143.
- SOULIER, J., GROLLET, L., OKSENHENDLER, E., CACOUB, P., CAZALS-HATEM, D., BABINET, P., SIGAUX, F., 1995. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in multicentric Castlemans disease [see comments]. *Blood*, 86(4): 1276-1280.
- SUN, R., LIN, S. F., GRADOVILLE, L., YUAN, Y., ZHU, F., MILLER, G., 1998. A viral gene that activates lytic cycle expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(18): 10866-10871.

- SWANTON, C., MANN, D.J., FLECKENSTEIN, B., NEIPEL, F., PETERS, G., et al., 1997. Herpes viral cyclin/Cdk6 complexes evade inhibition by CDK inhibitor proteins. *Nature*, 390(6656): 184–187.
- SWERDLOW, S. H., CAMPO, E., PÍLERÍ, S. A., HARRÍS, N. L., STEIN, H., SIEBERT, R., JAFFE, E. S., 2016. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*, 127(20): 2375-2390.
- TÍKKA-KLEEMOLA, P., KAUNÍSTO, M. A., HÄMÄLÄINEN, E., TODT, U., GÖBEL, H., KAPRIO, J., ... & KALLELA, M., 2009. Genetic association study of endothelin-1 and its receptors EDNRA and EDNRB in migraine with aura. *Cephalalgia*, 29(11): 1224-1231.
- ULDRICK, T. S., WANG, V., O'MAHONY, D., ALEMAN, K., WYVILL, K. M., MARSHALL, V., TOSATO, G., 2010. An interleukin-6-related systemic inflammatory syndrome in patients co-infected with Kaposi sarcoma-associated herpesvirus and HIV but without Multicentric Castlemans disease. *Clinical Infectious Diseases*, 51(3): 350-358.
- VARMAZYAR, S., MARASHÍ, S. M., SHOJA, Z., TORNESELLO, M. L., BUONAGURO, F. M., SHAHMAHMOODÍ, S., ... & JALÍLVAND, S., 2017. MDM2 gene polymorphisms and risk of classic Kaposi's sarcoma among Iranian patients. *Medical microbiology and immunology*, 206(2): 157-163.
- VERMA, S., ZIEGLER, K., ANANTHULA, P., FRÍSQUE, R. J., YANAGIHARA, R., & NERURKAR, V. R., 2006, JC virus induces altered patterns of cellular gene expression: interferon-inducible genes as major transcriptional targets. *Virology*, 345(2): 457-467.
- WADDINGTON, C. H., 2014. *The strategy of the genes* (Vol. 20). Routledge.
- WANG, L., DITTMER, D.P., TOMLINSON, C.C., FAKHARI, F.D., DAMANIA, B., 2006. Immortalization of primary endothelial cells by the K1 protein of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Cancer Res*, 66(7): 3658–3666.
- WANG, Q. J., JENKINS, F. J., JACOBSON, L. P., KINGSLEY, L. A., DAY, R. D., ZHANG, Z. W., RINALDO, C. R., 2001. Primary human herpesvirus 8 infection generates a broadly specific CD8+ T-cell response to viral lytic cycle proteins. *Blood*, 97(8): 2366-2373.
- WEAVER, R., HEDRICK, P., 1989. *Mendelian Genetics*. In: *Genetics*, W.C. Brown Publishers
- YENDE, S., KAMMERER, C.M., ANGUS, D.C., 2006. Genetics and proteomics: deciphering gene association studies in critical illness. *Crit Care*, 10(4): 227.
- ZHU, Y., HAECKER, I., YANG, Y., GAO, S.J., RENNE, R., 2013. gamma-Herpesvirus encoded miRNAs and their roles in viral biology and pathogenesis. *Curr Opin Virol*, 3(3): 266–275.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : EMRAH ÖZCAN
Uyruğu : TC
Doğum Yeri ve Tarihi : ŞANLIURFA/1991
Telefon : 542-289-77-52
Faks :
e-mail : emrah_195211@hotmail.com

EĞİTİM

Derece Yılı	Adı, İlçe, İl	Bitirme
Lise	: Şanlıurfa İMKB Lisesi	2009
Üniversite	: İstanbul Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans :		
Doktora :		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR