

**YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK VE MİDE
KANSERİ ARASINDAKİ MOLEKÜLER
BAĞLANTININ ENTEGRATİF BİYOİNFORMATİK
ANALİZLERLE ARAŞTIRILMASI**

BERNA AYAR



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK VE MİDE KANSERİ
ARASINDAKİ MOLEKÜLER BAĞLANTININ ENTEGRATİF
BİYOİNFORMATİK ANALİZLERLE ARAŞTIRILMASI**

BERNA AYAR
0000-0001-8787-4517

Doç. Dr. Dilek PİRİM
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

BURSA-2021
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİK VE MİDE KANSERİ ARASINDAKİ MOLEKÜLER BAĞLANTININ ENTEGRATİF BİYOİNFORMATİK ANALİZLERLE ARAŞTIRILMASI

BERNA AYAR

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Dilek PİRİM

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID), azalmış antikor üretimi ile karakterize olan primer immün yetmezlikler arasında en yaygın türdür. Artan kanıtlar, CVID hastalarının sağlıklı popülasyona göre mide kanserine daha yatkın olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, iki hastalık arasındaki ortak moleküler mekanizma henüz aydınlatılamamıştır. İki hastalığın altında yatan ortak moleküler risk faktörlerinin tanımlanması, CVID ile ilişkili mide kanseri için riskleri olan bireyleri sınıflandırarak ve yeni translasyonel yaklaşımlar geliştirerek önemli halk sağlığı etkilerine sahip olabilir. Bu tez çalışmasının amacı CVID ve mide kanseri arasındaki ilişkide etkin rol oynayan aday ortak moleküler biyobelirteçleri ve moleküler yolları tanımlamaktır. Bu amaçla CVID ve mide kanseri için veri setleri NCBI-GEO veri tabanından belirli kriterlere göre seçilerek biyoinformatik araçlarla kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Diferensiyel ekspresyon olan genlerin (DEG) analizi ‘R’ yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve ortak DEG’lerin fonksiyonel yolak zenginleştirme analizleri için NetworkAnalyst ve Ingenuity Pathway Analysis (IPA) yazılımları kullanılmıştır. Cytoscape yazılımı ile network görselleştirilerek hub genler tanımlanmıştır. Ayrıca, hub genleri hedef alan ortak miRNA biyobelirteçleri de mirDIP veri tabanı ile araştırılmıştır. Analiz sonucunda mide kanseri ve CVID veri setlerinde farklı gruplamalar sonucunda birçok ortak DEG ve moleküler yolak belirlenmekle beraber üç hub genin (*MZB1*, *GBP1*, *CXCL10*) ve üç mikroRNA’nın (hsa-miR-3659, hsa-miR-4483, hsa-miR-6790-5p) iki hastalığın moleküler etiolojisinde ortak rolü olabileceği *in silico* olarak gösterilmiştir. Ayrıca, bu genlerin IPA analizinde “apoptoz”, “bağışıklık hücrelerinin ölümü” ve “sistemik otoimmün sendrom” gibi yolaklarda rol oynadığı da tespit edilmiştir. Sonuçlarımız, *in vivo* ve/veya *in vitro* çalışmalarla doğrulanması gereken CVID ve mide kanseri için aday ortak moleküler mekanizmalar için umut verici *in silico* kanıtlar vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Biyobelirteç, biyoinformatik, mide kanseri, mikroarray, Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik
2021, ix+96 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF THE MOLECULAR LINK BETWEEN COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY AND GASTRIC CANCER BY INTEGRATED BIOINFORMATICS ANALYSIS

BERNA AYAR

Bursa Uludag University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Associate Prof. Dilek PIRIM

Common Variable Immunodeficiency (CVID) is the most common type among primary immunodeficiencies and increasing evidence shows that CVID patients are more predisposed to gastric cancer than the healthy population. Efforts to identify unknown shared molecular mechanisms underlying both diseases may have significant public health implications by stratifying individuals that have risks for CVID-related gastric cancer and developing new translational approaches. Thus, we aimed to define candidate common molecular biomarkers and molecular pathways that may have a role in the relationship between CVID and gastric cancer by bioinformatics analysis. Data sets used in the study were retrieved from the NCBI-GEO database and differentially expressed genes (DEG) analysis was performed using 'R' software. NetworkAnalyst and Ingenuity Pathway Analysis (IPA) software were used for functional pathway enrichment analyzes of common DEGs. The hub genes were identified and visualized by Cytoscape software. Common miRNAs targeting hub genes were also investigated by the mirDIP database. Our results revealed many common DEGs and molecular pathways that may contribute to the development of both diseases. Also, we prioritized three hub genes (*MZBI*, *GBP1*, *CXCL10*) and three microRNAs (hsa-miR-3659, hsa-miR-4483, hsa-miR-6790-5p) suggesting a common role in the molecular etiology of the two diseases. In addition, IPA analysis suggests the involvement of the identified hub genes in pathways such as "apoptosis", "death of immune cells" and "systemic autoimmune syndrome". Our results highlight promising *in silico* evidence for candidate common molecular mechanisms for CVID and gastric cancer, which should be confirmed by *in vivo* and/or *in vitro* studies.

Key words: Bioinformatics, biomarker, Common Variable Immunodeficiency, gastric cancer, microarray
2021, ix+96 pages

TEŞEKKÜR

Gerçekleştirmiş olduğum bu tez çalışması süresince beni devamlı çalışmaya teşvik eden, kıymetli bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, değerli vaktini ayırıp beni dinleyen, karşılaştığım olumsuz koşullarda dahi güçlü kalmamı sağlayan, karakteri ve çalışma azmi ile örnek aldığım sevgili danışman hocam Doç. Dr. Dilek PİRİM'e teşekkürü borç bilirim.

Yüksek lisans tez savunma sınavımda jüri olarak yer almayı kabul eden saygı değer hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Elif UZ YILDIRIM ve Dr. Öğr. Üyesi Emine GÜVEN'e teşekkürü borç bilirim.

Hayatım boyunca her anlamda en büyük destekçilerim olan, maddi ve manevi yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem, babam ve biricik kız kardeşime, sevgisini her zaman benimle hissettiğim, beni büyüten, bugünümün mimarı melek anneanneme teşekkürü borç bilirim.

Tez sürecinde tüm duygu durumlarımda yanımda olup dostluk ve desteklerini esirgemeyen, her daim yoluma ışık olan candan arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Berna AYAR
.../.../.....

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) Hastalığı ve Epidemiyolojisi	3
2.1.1. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) Hastalığının Risk Faktörleri ..	15
2.2. Mide Kanseri ve Epidemiyolojisi	19
2.2.1. Mide Kanseri Risk Faktörleri	23
2.3. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) Hastalığı ve Mide Kanseri İlişkisi	29
3. MATERYAL ve YÖNTEM	34
3.1. Veri Seçimi ve Diferansiyel Ekprese Edilen Gen (DEG) Analizleri	34
3.1.1. Bağımsız Veri Setlerinde Sonuçların Validasyon Analizleri	36
3.2. Protein-Protein Etkileşim Ağı Analizi	37
3.2.1. Hub Genlerin Tanımlanması	37
3.3. Fonksiyon ve Yolak Zenginleştirme Analizleri	38
3.4. Aday Moleküler Düzenleyicilerin Tanımlanması	38
3.5. TCGA Verilerinde Sonuçların Validasyon Analizi	39
4. BULGULAR	40
4.1. DEG Analizleri ve Ortak DEG'lerin Tanımlanması	40
4.1.1. Bağımsız Veri Setlerinde Sonuçların Validasyonu	50
4.2. Protein-Protein Etkileşim Ağının Kurulması	51
4.3. DEG'lerin Moleküler Yolaklarda ve Biyolojik Süreçlerde Zenginleştirilmesi ..	54
4.3.1. KEGG Yolak Zenginleştirme Analizi	54
4.3.2. GO Yolak Zenginleştirme Analizi	57
4.4. mikroRNA-Hub Gen Etkileşim Analizi	63
4.5. Hub Genlerin TCGA Verileri ile Karşılaştırılması	66
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	69
KAYNAKLAR	77
ÖZGEÇMİŞ	97

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Açıklama

>	Büyüktür
≥	Büyük Eşittir
<	Küçüktür
≤	Küçük Eşittir
%	Yüzde

Kısaltmalar Açıklama

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
CVID	Common Variable Immune Deficiency (Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik)
DEG	Differential Expressed Gene (Diferansiyel Ekprese Edilen Gen)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EBV	Epstein-Barr Virüsü
ESID	European Society for Immunodeficiencies (Avrupa İmmün Yetmezlikler Derneği)
FC	Fold Change (Katlanma Değişikliği)
FDR	False Discovery Rate (Yanlış Keşif Oranı)
GEPIA2	Gene Expression Profiling Interactive Analysis
GO	Gen Ontoloji
GO-BP	Gen Ontolojisi-Biyolojik Süreç
GO-CC	Gen Ontolojisi-Hüresel Bileşen
GO-MF	Gen Ontolojisi-Moleküler Fonksiyon
GTE _x	The Genotype-Tissue Expression
GWAS	Genome-Wide Association Study (Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları)
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
ICON	International Consensus Document (Uluslararası Mutabakat Belgesi)
IEL	Intraepitelyal Lenfosit
Ig	İmmüoglobulin
IPA	Ingenuity Pathway Analysis
IPKB	Ingenuity Pathway Knowledge Base
IUISEC	International Union of Immunological Societies Expert Committee (Uluslararası İmmünolojik Dernekler Birliği Uzman Komitesi)
IVIG	Intravenöz İmmüoglobulin
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
LPS	Lipopolisakkarit

Kısaltmalar	Açıklama
MALT	Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (Mukoza İlişkili Lenfoid Doku)
miRDIP	microRNA Data Integration Portal
miRNA	microRNA
mRNA	Messenger RNA
MSI	Mikrosatellit Instabilite
NCBI-GEO	National Center for Biotechnology Information Gene
Expression Omnibus	
ncRNA	Noncoding RNA
NKTCL	Natural Killer/T Cell Lymphoma (Doğal Katil/T Hücreli Lenfoma)
PAGID	Pan American Group for Immunodeficiency (Pan Amerikan İmmün Yetmezlik Grubu)
PID	Primary Immunodeficiency (Primer İmmün Yetmezlik)
PPE	Protein-Protein Etkileşim
RNA	Ribo Nükleik Asit
RNA-seq	RNA-sequencing
RNS	Reactive Nitrogen Species (Reaktif Nitrojen Türleri)
ROS	Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
SCIG	Subkutan İmmüoglobulin
SD	Standart Deviasyon
SNP	Single-Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
STRING	Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins
TCGA	The Cancer Genome Atlas
USIDNET	The United States Immunodeficiency Network (Amerika Birleşik Devletleri İmmün Yetmezlik Ağı)
WCRF/AICR	World Cancer Research Fund/ American Institute for Cancer
Research (Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırmaları Enstitüsü)	
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. 1983-2019 yılları arasında keşfedilen doğuştan gelen bağışıklık hataları sayısı	5
Şekil 2.2. Enfeksiyöz ajanlarla tekrarlayan stimülasyonu takiben bellek B hücrelerinden olası CD21 ^{low} B hücrelerinin üretimi	10
Şekil 2.3. CVID Kaplan-Meier genel sağkalım eğrileri	13
Şekil 2.4. Farklı ülkelere ait CVID prevalansları	13
Şekil 2.5. Amerika Birleşik Devletleri İmmün Yetmezlik Ağı (USIDNET) primer immün yetmezlikler ve CVID hasta dağılımı (https://usidnet.org/registry-data/stats-registry-enrollment/).....	14
Şekil 2.6. B hücresi gelişiminde rol oynayan bazı tanımlanmış epigenetik faktörler	17
Şekil 2.7. CVID gelişimi ile ilişkili immünopatojenik mekanizmalara genel bakış	18
Şekil 2.8. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre kanserin dünya genelindeki dağılımı (http://gco.iarc.fr/).....	20
Şekil 2.9. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre 2020 yılına ait dünya genelinde kansere bağlı ölüm sayıları (http://gco.iarc.fr/)	21
Şekil 2.10. Mide kanseri gelişiminde rol oynayabilecek risk faktörleri	23
Şekil 2.11. Mide epitel hücrelerinde <i>Helicobacter pylori</i> 'nin indüklediği konakçı hücre cevabı ve onkojenik sinyal yolağı	26
Şekil 2.12. CVID'li hastalarda mide kanseri gelişiminin varsayımsal mekanizmaları	31
Şekil 2.13. CVID'in bulaşıcı olmayan komplikasyonlarında miRNA'ların rolü	32
Şekil 3.1. Çalışmanın metodolojik yaklaşımı	36
Şekil 4.1. GSE51405(KO)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı.....	41
Şekil 4.2. GSE51405(K)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı.....	42
Şekil 4.3. GSE51405(T)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı.....	43
Şekil 4.4. GSE72625_IEL(+)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı ...	44
Şekil 4.5. GSE72625_IEL(-)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı	45
Şekil 4.6. GSE72625(T)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı	46
Şekil 4.7. GSE29998(MK) veri setinde normalizasyon sonrası veri dağılımı	47
Şekil 4.8. Veri setlerinde tespit edilen DEG'lerin ve ortak DEG'lerin Venn diyagramları ile gösterilmesi	48
Şekil 4.9. Veri setlerinde tespit edilen DEG'lerin ve ortak DEG'lerin Venn diyagramları ile gösterilmesi	49
Şekil 4.10. Veri setlerinde tespit edilen DEG'lerin bağımsız mide kanseri veri setinde incelenmesi	50
Şekil 4.11. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=22) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı KEGG terimleri ($p<0,05$).....	55
Şekil 4.12. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=9) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı KEGG terimleri ($p<0,05$).....	56
Şekil 4.13. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=22) kümелendikleri biyolojik süreçlerle ilişkili istatistiksel olarak anlamlı tüm GO terimleri ($p<0,05$)	58
Şekil 4.14. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=9) kümелendikleri biyolojik süreçlerle ilişkili istatistiksel olarak anlamlı tüm GO terimleri ($p<0,05$)	60

Şekil 4.15. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=22) kümелendiği istatistiksel olarak anlamlı olan GO-MF terimleri ($p<0,05$)	61
Şekil 4.16. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=9) kümelendiği istatistiksel olarak anlamlı tüm GO terimleri ($p<0,05$)	62
Şekil 4.17. <i>MZB1</i> , <i>GBP1</i> , <i>CXCL10</i> genlerinin IPA moleküler yolak zenginleştirme analizi ($p<0,05$)	63
Şekil 4.18. GSE51405(K)-GSE29998(MK) ve GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinde ortak miRNA'lar	66
Şekil 4.19. A. <i>CXCL10</i> , B. <i>GBP1</i> , C. <i>MZB1</i> genlerine ait TCGA ve GTEx verilerinde ekspresyonları gösteren kutu grafiği	67
Şekil 4.20. A. <i>CXCL10</i> , B. <i>GBP1</i> , C. <i>MZB1</i> genlerine ait TCGA ve GTEx verilerinde gen ekspresyonu patolojik evre grafikleri	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. CVID için revize ESID tanı kriterleri	9
Çizelge 2.2. CVID’te rol oynayan genetik immün defektler	16
Çizelge 2.3. Mide kanseri gelişiminde rol oynayan moleküler biyobelirteçler	27
Çizelge 2.4. Mide kanseri ile ilişkili majör hipermetile ve hipometile genler	28
Çizelge 2.5. Mide karsinomu gelişiminde rol oynayan miRNA’lar	28
Çizelge 2.6. Mide karsinomu gelişiminde rol oynayan lncRNA’lar	29
Çizelge 3.1. Çalışmada analiz edilen GEO veri setleri	35
Çizelge 4.1. Veri setlerinde DEG analiz sonuçları.....	40
Çizelge 4.2. GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinde tespit edilen ortak DEG’lerin regülasyonları	50
Çizelge 4.3. PPE değerleri ve istatistiksel olarak anlamlı PPE ağırları ($p<0,05$).....	51
Çizelge 4.4. GSE51405(K)-GSE29998(MK) ortak DEG’lerinin (n=22) hub gen analiz sonuçları.....	52
Çizelge 4.5. GSE51405(T)-GSE29998(MK) ortak DEG’lerinin (n=11) hub gen analiz sonuçları	52
Çizelge 4.6. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) ortak DEG’lerinin (n=9) hub gen analiz sonuçları.....	52
Çizelge 4.7. GSE51405(K)-GSE29998(MK) veri setlerine ait hub genlerin regülasyonları	53
Çizelge 4.8. GSE51405(T)-GSE29998(MK) veri setlerine ait hub genlerin regülasyonları.....	53
Çizelge 4.9. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerine ait hub genlerin regülasyonları.....	53
Çizelge 4.10. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG’lerin (n=22) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı olan KEGG terimleri ($p<0,05$).....	55
Çizelge 4.11. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG’lerin (n=9) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı olan KEGG terimleri ($p<0,05$).....	56
Çizelge 4.12. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG’lerin (n=22) kümелendikleri biyolojik süreçlerle ilişkili istatistiksel olarak en anlamlı 10 GO terimi ($p<0,05$)	57
Çizelge 4.13. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG’lerin (n=9) kümелendikleri biyolojik süreçlerle ilişkili istatistiksel olarak en anlamlı 10 GO terimi ($p<0,05$)	59
Çizelge 4.14. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG’lerin (n=22) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı olan GO-MF terimleri ($p<0,05$)	61
Çizelge 4.15. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG’lerin (n=9) kümелendiği istatistiksel olarak anlamlı ilk 10 GO-MF terimi ($p<0,05$)	62
Çizelge 4.16. GSE51405(K)-GSE29998(MK) veri setinde hub genleri hedefleyen miRNA’lar	64
Çizelge 4.17. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setinde hub genleri hedefleyen miRNA’lar	65
Çizelge 4.18. GSE51405(K)-GSE29998(MK) ve GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinde ortak miRNA’lar ve hedef hub genler	66
Çizelge 4.19. Hub genlerin ekspresyonlarının TCGA verileri ile karşılaştırılması .	67

1.GİRİŞ

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) IgG, IgA ve IgM immünoglobulinlerinin serum seviyelerinde azalması ile karakterize, primer immün yetmezlikler içerisinde en yaygın olarak görülen heterojen bir hastalıktır. CVID'li hastalarda azalan antikor seviyelerinin bir sonucu olarak tekrarlayan alt ve üst solunum yolu enfeksiyonları, kronik akciğer hastalığı (bronşektazi), granümatöz hastalıklar, otoimmün bozukluklar, gastrointestinal hastalıklar ve artmış malignite riski gibi heterojen klinik bulgular görülmektedir. Mide kanseri, CVID'li hastalarda en sık görülen malignitelerden biridir ve CVID hastalarının mide kanserine yatkınlıklarının sağlıklı popülasyona oranla daha fazla olduğu bilinmektedir. CVID hastalarında yüksek mide adenokarsinom insidansında genetik yatkınlık, kalıcı mukozal inflamasyon, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve epigenetik değişiklikler dahil olmak üzere çeşitli risk faktörlerinin rol oynayabileceği bildirilse de bu artan duyarlılığın nedenleri hala belirsizliğini sürdürmektedir ve iki hastalık arasındaki moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Artan mide kanseri risklerine rağmen, henüz CVID'li hastalarda mide kanseri için rutin bir tarama ve dünya çapında bir fikir birliği kılavuzu bulunmamaktadır. Bu noktada gastrik neoplaziler açısından yüksek risk altındaki hastaları daha iyi belirlemek ve onları daha iyi tedavi etmek için moleküler biyobelirteçlerin tanımlanması önemlidir.

Bu bağlamda bu tez kapsamında CVID ve mide kanseri patogenezinde rol oynayan etkin moleküler düzenleyicilerin ve ortak aday regülatörlerin biyoinformatik araçlar kullanarak tespit edilmesi amaçlanmaktadır. Tespit edilen ortak aday moleküler yollar ve ortak düzenleyici moleküller ileri deneysel çalışmalarla valide edildikten sonra mide kanseri ve CVID hastalığının tanısı, prognozu ve tedavisinde kullanılabilir.

Biyoinformatik, canlıların tüm yapı ve fonksiyonlarının araştırılması ile elde edilen karmaşık verilerin değerlendirilmesi amacıyla biyoloji, tıp bilimleri, bilişim teknolojileri, matematik ve biyoistatistik gibi farklı bilim dallarının entegrasyonu sonucu gelişen disiplinler arası uygulamalı bir bilim dalıdır. Biyoinformatik

analizler genomik araştırmalar ve gen ekspresyon çalışmaları, yapısal biyoloji, hastalıkların tanı ve tedavisi, ilaç geliştirme, genotip-fenotip ilişkisinin kurulması dahil olmak üzere birçok alanda aktif olarak kullanılmaktadır. Günümüzde veri artışındaki hız ile birlikte biyoinformatiğin biyolojik araştırmalardaki yeri giderek değer kazanmaktadır. Özellikle biriken bilimsel veriler bir araya getirilerek gerçekleştirilen meta analizler, verilerin niceliklerinin daha yüksek olmasını sağlamaktadır. Diferansiyel gen ekspresyon profillerine dayalı moleküler belirteç belirleme analizlerinde veri sayısının fazlalığı ile sonuçların doğruluğu arasında pozitif bir korelasyon vardır. Halka açık veri bankaları kullanılarak tespit edilen çok sayıda diferansiyel gen ekspresyon analizi, hastaların klinik bulguları eşliğinde hastalığın irdelenmesi ve neden-sonuç ilişkisi kurularak klinik parametreler ile değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasında halka açık veri bankası NCBI-GEO'dan alınan mikroarray veri setlerinin R yazılımı ile analizi gerçekleştirilerek diferansiyel eksprese gen profillerinin belirlenmesi ile CVID ve mide kanseri patogenezinde rol oynayan ortak moleküler belirteçlerin biyoinformatik yöntemler kullanılarak tanımlanması amaçlanmaktadır. Bu sayede tespit edilen ortak düzenleyici moleküller ve ortak aday moleküler yolakların CVID ve mide kanseri çalışmalarında araştırmacılara bir ön bilgi sunması ve ileri deneysel çalışmalarla validasyonu sonrası her iki hastalığın tanısında, prognozunda, tedavisinde ve ilaç yeniden konumlandırma çalışmalarında kullanılması hedeflenmektedir.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) Hastalığı ve Epidemiyolojisi

İmmün sistem, hastalıklara karşı savunma mekanizmasını oluşturan, mikropları ve tümör hücrelerini tanıyıp onları yok eden, vücudu yabancı ve zararlı maddelerden koruyan bir sistemdir. Bağışıklık sisteminde meydana gelen anormalliklerin yol açtığı kalıtsal geçişli hastalıklara primer immün yetmezlikler (PID) ya da doğuştan gelen bağışıklık hataları denir. Primer immün yetmezlik hastalıkları, enfeksiyonların ve/veya immün düzensizliğin insidansında, sıklığında veya ciddiyetinde bir artışa yol açan, bağışıklık sisteminin doğuştan gelen veya adaptif kalıtsal bozukluklarının heterojen bir grubudur (Devonshire ve Makhija, 2019). Doğuştan gelen bağışıklık hataları enfeksiyonlar, otoimmünite, immün düzensizlik, inflamasyon ve malignite gibi çeşitli klinik belirtilere yol açar ve bağışıklık sisteminin bozulması ile karakterizedir (Seidel ve diğerleri, 2019).

Tarihte ilk agamaglobulinemi vakası (kanda immünoglobulinlerin tamamen yokluğu veya çok az bulunması) 1952 yılında bildirmiştir ve o günden bu yana 400'den fazla PID formu tanımlanmıştır (Bruton, Apt, Gitlin, Janeway, 1952). 1990'lardan beri her iki yılda bir doğuştan gelen bağışıklık hatalarının bir sınıflandırmasını yayınlayan ve Doğuştan Bağışıklık Hataları Komitesi olarak adlandırılan Uluslararası İmmünolojik Dernekler Birliği (IUIS) Uzman Komitesi (EC)'nin 2019'da yayınladığı raporda enfeksiyon, malignite, alerji, otoimmünite ve otoinflamasyon gibi çeşitli fenotiplerin altında yatan 430 farklı monogenik kusura sahip 406 farklı bozukluk bildirilmiştir (Bousfiha ve diğerleri, 2020).

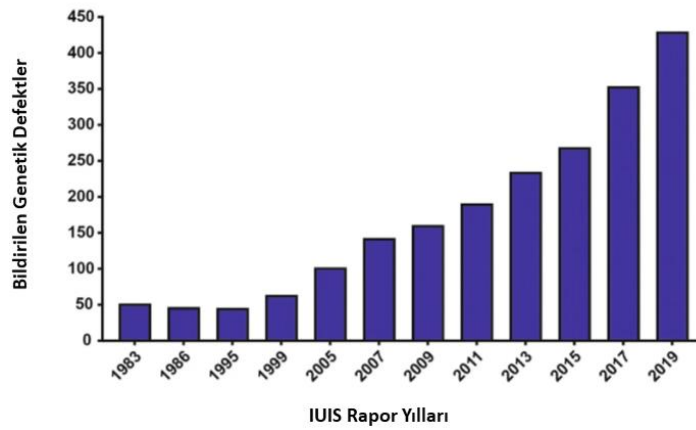
Uluslararası İmmünolojik Dernekler Birliği Doğuştan Bağışıklık Hataları Uzman Komitesi, pediatrik ve yetişkin klinik immünologlar, klinisyenler, bilim insanları ve dünyanın dört bir yanından temel immünoloji araştırmacılarının katılımıyla oluşturulmuştur (<https://iuis.org/committees/iei/>). Komitenin temel amacı, klinik ve araştırma topluluklarına bağışıklık yetersizliği ve düzensizliğinin genetik temelleri hakkında güncel bilgiler sağlamaktır. Komite 1970 yılından beri varlığını sürdürmektedir ve yaklaşık 2 yılda bir güncellenmiş bir raporla doğuştan gelen

başıklık hatalarının bir sınıflandırmasını yayınlamaktadır (Tangye ve diğerleri, 2020).

2019 yılına ait en güncel raporda hastalıklar: kombine immün yetmezlikler, sendromik özelliklere sahip kombine immün yetmezlikler, ağırlıklı olarak antikor eksiklikleri, immün düzensizlik hastalıkları, fagositlerin doğuştan kusurları, içsel ve doğuştan gelen başıklıktaki kusurlar, otoinflamatuvar hastalıklar, tamamlayıcı eksiklikler, kemik iliği yetmezliği ve doğuştan gelen başıklık hatalarının fenokopileri olmak üzere 10 ana başlık ve alt başlıklar altında sınıflandırılmıştır (Bousfiha ve diğerleri, 2020).

Farklı epidemiyolojik çalışmalar sonucunda immün yetmezlik hastalıklarının prevalansında ve modelinde geniş coğrafi ve ırksal farklılıklar olduğu gözlenmiştir (Al-Herz, 2008; Boyle, 2007; Bumgart, 1997; Gathmann, 2009; Golan, 2002; Kilic, 2013; Kirkpatrick, 2007; Matamoros Florí, 1997; Reda, 2009; Rezaei, 2006; Shabestari, 2007; Stray-Pedersen, 2000). Bu çalışmalar ışığında oluşturulmuş Avrupa İmmün Yetmezlikler Derneği (ESID) hasta kaydı, PID hastalarının hem klinik hem de laboratuvar verilerini birleştiren en güvenli ve büyük, internet tabanlı hasta kayıdır ve doğuştan gelen başıklık hataları olan 25 000'den fazla hasta hakkında bilgi içermektedir. Hasta kayıtları, PID gibi nadir hastalıklarda klinik araştırmalar için son derece önemlidir. Doğuştan başıklık hataları teşhisi, fenotipi açıklayan bilinen bir monogenik patolojik varyantın tanımlandığı durumlarda kesin olarak konulabilir. Bununla birlikte, genetik tanı teknolojilerindeki ilerlemelere rağmen, hastaların çoğunun hala kesin bir genetik tanısı konulamamıştır. Bu nedenle, 2004 yılında klinik araştırmalar ve diğer araştırma projeleri için doğuştan gelen başıklık hataları olan hastaların kayıtlarının tutulduğu ESID çevrimiçi kaydı kurulmuştur. ESID kayıt defteri verilerinin önemli bir kısmına halk tarafından ESID kayıt web sayfasından erişilebilmektedir (<https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/ESID-Registry>), ancak daha spesifik ve ayrıntılı verilere yalnızca ESID kayıt üyeleri erişebilmektedir (Seidel ve diğerleri, 2019).

Doğuştan gelen bağışıklık hataları, genellikle 50 000 doğumda 1 ila 10 000 doğumda 1'i etkileyen nadir hastalıklar olarak kabul edilmektedir. Ancak yeni doğuştan gelen bağışıklık hatalarının keşiflerinin devam etmesi ve klinik fenotiplerin daha iyi tanımlanması ile bu prevalansın en az 1/1000-1/5000 olabileceği bildirilmiştir (Tangye ve diğerleri, 2020). Şekil 2.1.'de gösterilen grafikte belirtilen yıllarda IUIS/WHO komitesi tarafından bildirilen monogenik immün bozuklukların altında yatan genetik kusurların sayıları verilmiştir.



Şekil 2.1. 1983-2019 yılları arasında keşfedilen doğuştan gelen bağışıklık hataları sayısı (Tangye ve diğerleri, 2020).

Primer immün yetmezlikler nadir hastalıklar grubu içinde yer almasına rağmen Türkiye’de akraba evliliğinin yüksek oranda olması nedeniyle görülme sıklığının diğer ülkelere göre daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (Turul ve Tezcan, 2003).

Primer immün yetmezlikler içerisinde en sık görülen Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID), azalmış antikor üretimi ve hem polisakkarit hem de protein antijenlerine karşı bozulmuş antikor yanıtı ile immünoglobulin G (IgG), immünoglobulin A (IgA) ve/veya immünoglobulin M (IgM)'nin düşük serum seviyeleri ile karakterize heterojen bir hastalıktır (Bonilla, 2016; Filion, 2019; Seidel, 2019).

CVID hastalarında antikor eksikliğinin bir sonucu olarak tekrarlayan alt ve üst solunum yolu enfeksiyonları, kronik akciğer hastalığı (bronşektazi), granümatöz hastalıklar, otoimmün bozukluklar, gastrointestinal hastalıklar, enfeksiyöz olmayan enteropati ve artmış malignite riski gibi heterojen klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır (Bonilla, 2016; Chapel, 2008; Cunningham-Rundles ve Bodian, 1999; Rezaei, 2012). Bu heterojen klinik görünümner nedeniyle CVID, “değişken” olarak adlandırılan çeşitli genetik kusurlardan kaynaklanan hipogamaglobulinemi sendromlarının bir koleksiyonu olarak tanımlanır (Resnick, Moshier, Godbold ve Cunningham-Rundles, 2012).

CVID genellikle yirmili veya otuzlu yaşlardaki bireylerde görülmekle birlikte çocukluktan yetişkinliğe kadar herhangi bir zamanda ortaya çıkabilmektedir ve ölüm oranı, hastalığın ciddiyetine ve tekrarlayan enfeksiyonların sıklığına bağlı olarak değişmektedir. Hastalık dünya genelinde yaklaşık 25 000-50 000 kişiden birini etkiler ve bu oran farklı popülasyonlarda değişiklik göstermektedir (Ghafoor ve Joseph, 2020).

CVID için kesin bir tanım olmamakla birlikte geçmişten bugüne araştırmacılar bu heterojen hastalığı daha iyi tanımlayabilmek için farklı tanı kriterleri koymuşlardır. Bu tanı kriterlerinden ilki 1999 yılında Avrupa İmmün Yetmezlik Derneği ve Pan Amerikan İmmün Yetmezlik Grubu'nun (ESID/PAGID) önerisi ile şu şekilde belirlenmiştir: IgG düzeyinde belirgin bir azalma (yaş ortalamasının en az 2 SD (standart deviasyon) altında) ve IgM veya IgA izotiplerinden en az birinde belirgin bir azalma olan ve aşağıdaki kriterlerin tümünü karşılayan erkek veya kadın hastalar mümkün (probable) CVID ya da Ana izotiplerden (IgM, IgG ve IgA) en az birinde belirgin bir düşüş (yaş ortalamasının en az 2 SD altında) olan ve aşağıdaki kriterlerin tümünü karşılayan erkek veya kadın hastalar muhtemel (possible) CVID'tir (<https://esid.org/Education/Common-Variable-Immunodeficiency-CVI-diagnosis-criteria>):

1) 2 yaşından büyük immün yetmezliğin başlangıcı olan, 2) İzohemaglutinin yokluğu ve/veya aşılara zayıf yanıtı olan, 3) Tanımlanmış hipogamaglobulinemi nedenleri hariç tutulmuştur

ESID/PAGID (1999) tanı kriterlerinde, hangi aşuların kullanılması gerektiği veya aşı başarısızlığını belirleme eşiğinin bildirilmemesi nedeniyle aşı yanıtlarının yorumlanmasındaki güçlükler, CVID için revize edilmiş tanı kriterlerine duyulan ihtiyacı gündeme getirmiştir (Ameratunga, Allan ve Woon, 2020). Bu noktada CVID tanı kriterleri farklı araştırmacılar tarafından revize edilmiştir (Ameratunga, Woon, Gillis, Koopmans ve Steele, 2013).

Bonilla ve ekibinin Uluslararası Mutabakat Belgesi (ICON) fikir birliği CVID tanı kriteri tanımına göre (Bonilla ve diğerleri, 2016):

1. Çoğu hasta, karakteristik klinik belirtilerden (enfeksiyon, otoimmünite, lenfoproliferasyon) en az 1 tanesine sahip olacaktır. Bununla birlikte, özellikle ailesel vakalarda 2 ila 5 kriterlerini karşılayan asemptomatik bireylere CVID tanısı konulabilir.
2. Hipogamaglobulinemi, ölçümün yapıldığı laboratuvar için yaşa göre ayarlanmış referans aralığına göre tanımlanmalıdır. IgG seviyesi, tüm hastalarda 3 haftadan uzun aralıklarla en az 2 ölçümde tekrar tekrar düşük olmalıdır. Seviye çok düşükse (yaşa bağlı olarak <100–300 mg/dL), diğer karakteristik özellikler mevcut ve IgG ile tedaviye mümkün olan en kısa sürede başlanmasının hastanın yararına olduğu düşünülüyorsa, tekrarlanan ölçüm yapılmayabilir.
3. IgA veya IgM seviyesi de düşük olmalıdır. (Bazı uzmanların tüm hastalarda düşük IgA düzeyi gerektiren daha dar bir tanımı tercih ettiği unutulmamalıdır.)
4. IgG düzeyi 100 mg/dL'nin üzerinde olan tüm hastaların, mümkün olduğunda T'ye bağımlı (TD) ve T'den bağımsız (TI) antijenlere yanıtlar için çalışılması şiddetle tavsiye edilir. Bu tür teste tabi tutulan tüm hastalarda, en az 1 tip antijene (TD veya TI) yanıtta kanıtlanabilir bir bozulma olmalıdır. Uygulayıcının takdirine bağlı olarak, diğer tüm kriterler karşılanırsa ve aşılama öncesi ve aşılama sonrası antikor ölçümünün neden olduğu gecikmenin hastanın sağlığı için zararlı olduğu düşünülürse, spesifik antikor ölçümünden vazgeçilebilir.
5. Hipogammaglobulineminin diğer nedenleri dışlanmalıdır (Çizelge 2.1).

6. CVID'in monojenik formlarını veya hastalığı modifiye eden polimorfizmleri araştırmaya yönelik genetik çalışmalar, özellikle immün düzensizlik, otoimmünite, malignite veya diğer komplikasyonlar olmaksızın sadece enfeksiyonlarla başvuran hastaların çoğunda tanı ve tedavi için genellikle gerekli değildir. Bununla birlikte, bu son hasta gruplarında, tek gen kusurları spesifik tedavilere (rn., kök hücre tedavisi) uygun olabilir ve mümkün olduğunda moleküler genetik tanı dşnlmelidir.

CVID için bir diğer tanı kriteri revize edilmiş ESID kaydıdır (2014). ESID kaydı oluşturulduğunda, merkezi hastalık sınıflandırma kılavuzu içermemekteydi. Kayıt, daha sonra 2014 yılında kalite güvencesi ve veri kullanımını amacıyla tamamen yeniden yapılandırılmıştır. Mevcut fenotipik kriter kataloğu, kayıt sırasında kesin bir genetik tanıya sahip olmayan doğuştan bağışıklık hataları olan hastalar için doğru hastalık sınıflandırmasını sağlamak üzere tasarlanmıştır. Primer immün yetmezlik/Doğuştan bağışıklık hataları klinik teşhisi için ESID Kaydı alışma Tanımlarının gelişimini ve güncel versiyonunu açıklayan 2019 yılına ait yayında CVID için ESID Kaydı tanı kriterleri izelge 2.1'de belirtilmiştir (Seidel ve diğerleri, 2019).

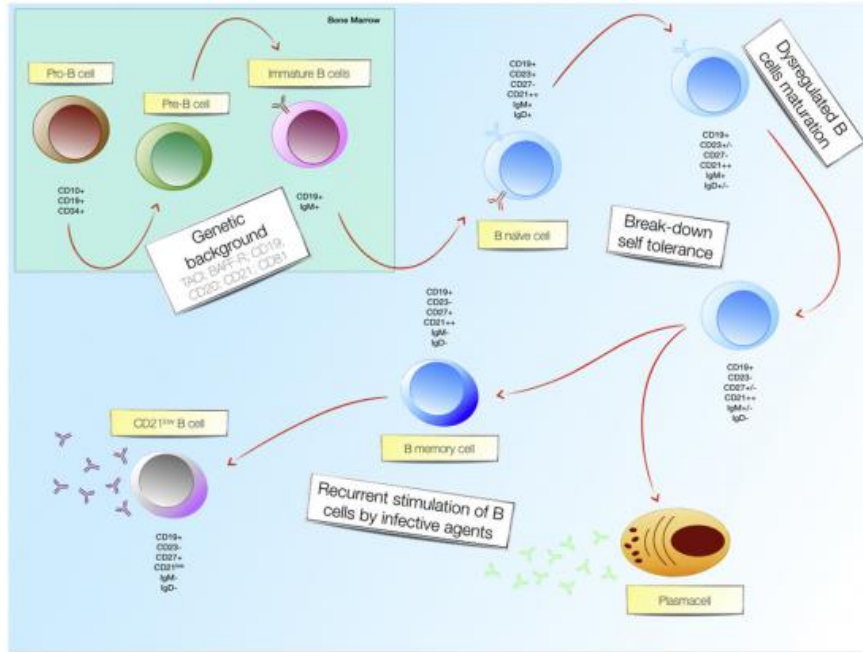
Çizelge 2.1. CVID için revize ESID tanı kriterleri (Seidel ve diğerleri, 2019).

<p>ESID Kayıt Kriterleri 2019</p> <p>Aşağıdakilerden en az biri:</p> <ul style="list-style-type: none">• Enfeksiyona karşı artan duyarlılık• Otoimmün belirtiler• Granülatöz hastalık• Açıklanamayan poliklonal lenfoproliferasyon• Antikor eksikliği olan etkilenen aile üyesi <p>ve IgG seviyelerinde belirgin azalma ve düşük IgM düzeyleri ile veya bunlar olmadan IgA seviyelerinde belirgin azalma (en az iki kez ölçülmüştür; yaşlara göre normal düzeylerden 2 SD daha az)</p> <p>ve aşağıdakilerden en az biri:</p> <ul style="list-style-type: none">• Aşılarla zayıf antikor tepkisi (ve/veya izohemaglutininlerin olmaması), yani yokluğu• Tanımlandığı yerde aşılama rağmen koruyucu seviyeler• Düşük değiştirilmiş bellek B hücreleri (yaşa bağlı normal değer % 70'inden daha az) <p>ve hipogammaglobulineminin ikincil nedenleri hariç tutulmuştur (örneğin enfeksiyon, protein kaybı, ilaç tedavisi, malignite)</p> <p>ve derin T hücresi eksikliği bulguları olmayan, aşağıdakilerden 2'sinin tanımlanması (yaşamın dörtte biri):</p> <ul style="list-style-type: none">• CD4 sayıları/mikrolitre: 2 ila 6 yaş <300, 6 ila 12 yaş <250, 12 yaşından büyük <200• % saf CD4: 2 ila 6 yaş <% 25, 6 ila 16 yaş <% 20, 16 yaş ve üstü <% 10• T hücre çoğalması yok <p>ESID sınıflandırılmamış antikor eksikliği (UCH/unclassified antibody deficiency)</p> <p>Aşağıdakilerden en az biri:</p> <ul style="list-style-type: none">• Tekrarlayan veya şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar• Otoimmün fenomenler (özellikle sitopeniler)• Poliklonal lenfoproliferasyon• Etkilenen aile üyesi <p>ve aşağıdakilerden en az biri:</p> <ul style="list-style-type: none">• Toplam IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgA veya IgM düzeylerinden en az birinde belirgin azalma• Aşılarla IgG antikor yanıtının başarısızlığı <p>ve hipogammaglobulineminin ikincil nedenleri hariç tutulmuştur (örneğin enfeksiyon, protein kaybı, ilaç tedavisi, malignite)</p> <p>ve T hücresiyle ilişkili hastalığın klinik belirtisi yoktur</p> <p>ve diğer çalışma tanımlarına uymamaktadır ("sınıflandırılmamış immün yetmezlikler" hariç)</p>
--

Tanı kriterlerinde de belirtildiği gibi CVID'de antikor üretimi her zaman sorunludur. Bu durum genellikle B hücresi disfonksiyonundan kaynaklanmaktadır, ancak bununla birlikte birincil olarak T hücre fonksiyonunun bozulması ve antikor üretimi için yeterli yardımın olmaması da bu sonuca neden olabilmektedir.

B hücreleri, plazma hücrelerine olgunlaşarak antikor (immunoglobulin) adı verilen özel proteinler üreten, patojenleri ortadan kaldırarak ve/veya büyümelerini

engellerek immün sistemin savunmasında rol oynayan özelleşmiş beyaz kan hücreleridir. Kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerinden sentezlenen B lenfositler, olgunlaşmalarının farklı aşamalarında apoptoz geçirene veya bir antijen tarafından aktive edilene kadar dalak folikülleri, lenf düğümleri ve kemik iliği arasında dolaşır. Bu durum naif B hücrelerinin değiştirilmiş bellek B hücrelerine olgunlaşmasına izin verir (Şekil 2.2.) (Patuzzo ve diğerleri, 2016). Bilinmeyen pek çok sebepten dolayı bu süreç CVID’de olduğu gibi değişime uğrayabilmektedir. CVID hastalarının çoğunda B hücrelerinin sayısı normaldir, ancak antikor yanıtının hatırlanması için önemli olan immüno globulin izotiplerini üretebilen izotipi değişmiş bellek B hücrelerinin (isotype-switched memory B cells) yüzdeleri azalmıştır (Agematsu, 2002; Brouet, 2000; Resnick, 2012; Sánchez-Ramón, 2008; Warnatz, 2002; Wehr, 2008). CVID’in temel mekanizmasındaki sorun B lenfositlerinin değişmiş bellek B hücrelerine ve plazma hücrelerine farklılaşamamasıdır (Resnick ve Cunningham-Rundles, 2012). Plazma hücrelerine farklılaşamayan B hücrelerinden immüno globulinler sentezlenemez ve bu da CVID klinik tanısında rol oynayan IgG, IgA ve/veya IgM’nin düşük serum seviyeleri ile sonuçlanır.



Şekil 2.2. Enfeksiyöz ajanlarla tekrarlayan stimülasyonu takiben bellek B hücrelerinden olası CD21^{low} B hücrelerinin üretimi (Patuzzo ve diğerleri, 2016).

Serum immunoglobulin düzeyleri kullanılan yöntemlere, etnik kökene, cinsiyete ve referans popülasyonun yaşına bağlıdır. Bu nedenle her yaş grubundaki normal serum immunoglobulin seviye aralıklarını tanımlamak için persentil kullanılır (Chapel ve Cunningham-Rundles, 2009). Çoğu laboratuvarında IgG normal alt sınırı 7-8 g/L'dir (Ameratunga ve diğerleri, 2013). Bir Avrupa Kohort çalışmasında CVID tanısında başlangıç IgG düzeyleri <4,5 g/L olarak belirlenmiştir (Chapel ve diğerleri, 2008). Aynı zamanda Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Avrupa'da gerçekleştirilen retrospektif çalışmalarda, CVID hastalarının çoğunda 4,5 g/L'den daha düşük IgG seviyelerinin saptandığı bildirilmiştir (Cunningham-Rundles ve Bodian, 1999; Quinti, 2007). IgM seviyeleri ise CVID'li hastalarda değişkenlik göstermektedir. Örneğin ABD'de yürütülen 248 hastanın olduğu çalışmada CVID'li hastaların yaklaşık %82'sinin serum IgM seviyelerinin 0,25 g/L'den düşük olduğu bildirilirken (Cunningham-Rundles ve Bodian, 1999), 224 hastadan oluşan bir İtalyan Kohort çalışmasında ortalama IgM seviyesi 0,4 g/L olarak bildirilmiştir (Quinti ve diğerleri, 2007). Bir başka çalışmada, CVID'li kadın hastalarda IgM seviyelerinin erkek hastalara göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Resnick ve diğerleri, 2012). IgA seviyeleri CVID'de saptanamayacak kadar düşüktür: Avrupa kohortunda hastaların %49'unda IgA seviyelerinin 0,07 g/L'nin altında olduğu saptanırken (Quinti ve diğerleri, 2007), ABD kohortunda hastaların %70'inin 0,1 g/L' den daha düşük değerlere sahip olduğu bildirilmiştir (Cunningham-Rundles ve Bodian 1999).

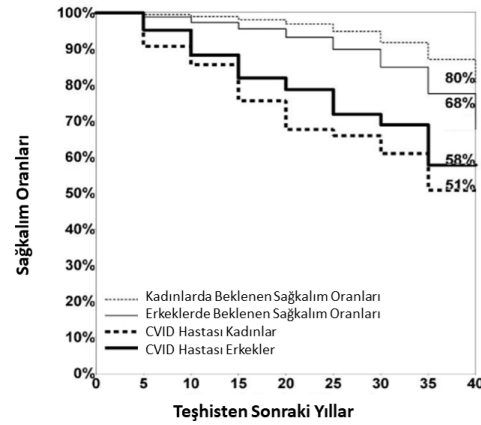
B lenfositlerin yanı sıra düşük T lenfosit seviyelerinin de CVID ile ilişkili olduğu saptanmıştır. T-hücreleri, lenfosit olgunlaşmasında rol oynayan ve timusta olgunlaşan hücrelere farklılaşan veya hücre aracılı bağışıklık yoluyla virüsle enfekte olmuş hücrelerin öldürülmesinde rol oynayan adaptif bağışıklık sistemindeki beyaz kan hücreleridir. Yapılan çalışmalar, CVID ile T hücre çoğalması ve ardından sitokin salınımı arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir (Escobar, 2010; Stagg, 1994).

CVID'de antikor kaybı olan hastalara tedavi olarak ömür boyu immünoglobulin replasman tedavisi uygulanmaktadır. İmmünoglobulin replasman tedavisi intravenöz

(IVIG) veya subkutan (SCIG) olarak uygulanabilmektedir. Çalışmalar, hastalara IVIG/SCIG ile tedavi edildiğinde sağlık sonuçlarında önemli iyileşme olduğunu göstermiştir. Hem yaşam kalitesinde hem de enfeksiyonların sıklığı ve şiddetinde objektif iyileşme vardır (Quinti ve diğerleri, 2011). Otoimmün ve inflamatuvar bozuklukları olan hastalarda etkinliği göz önüne alındığında IVIG kullanımı hızla artmaktadır (Gelfand, 2012; Katz, 2011). Ancak söz konusu tedavi pahalı bir tedavidir ve dünyanın bazı bölgelerinde tedaviye erişim sıkıntısı yaşanmaktadır.

Kadınları ve erkekleri eşit derecede etkileyen CVID, genellikle yirmili veya otuzlu yaşlardaki bireylerde görülmekle birlikte çocukluktan yetişkinliğe kadar herhangi bir zamanda ortaya çıkabilmektedir (Ghafoor ve Joseph, 2020). Özellikle 4 yaşın altındaki çocuklarda CVID tanısı konulmamaktadır, çünkü o zamana kadar dışlanması gereken diğer genetik kusurlarla ya da fizyolojik olgunlaşmamışlık ile karıştırılabilmektedir. Bununla birlikte, çoğu hastada semptomların ortaya çıkışı daha geçtir ve 20-40 yaşlarına kadar teşhis edilmez (<https://rarediseases.org/rare-diseases/common-variable-immune-deficiency/>).

CVID ölüm oranı, hastalığın ciddiyetine ve tekrarlayan enfeksiyonların sıklığına bağlı olarak değişmektedir (Ghafoor ve Joseph, 2020). Yapılan kohort çalışmaları CVID'li kadın ve erkek hastaların sağkalım oranlarının sağlıklı kadın ve erkek bireylere göre daha düşük olduğunu göstermiştir (Şekil 2.3). CVID hastalarının başlıca ölüm nedenleri arasında kronik akciğer hastalığına bağlı gelişen solunum yetmezliği, lenfoid veya diğer maligniteler ya da ağır enfeksiyonlar yer almaktadır (Resnick ve diğerleri, 2012). CVID prevalansına ilişkin kesin bir veri olmamakla birlikte dünya genelinde yaklaşık 10 000-50 000 kişiden birini etkilemektedir ve bu oran dünyanın farklı yerlerindeki farklı popülasyonlarda değişiklik göstermektedir (Aggarwal, 2019; Ghafoor ve Joseph, 2020) (Şekil 2.4).



Şekil 2.3. CVID Kaplan-Meier genel sağkalım eğrileri (Resnick ve diğerleri, 2012). 1994 ABD nüfus yaşam tablolarındaki verilere göre CVID hastalarının sağlıklı kadın ve erkeklere göre hayatta kalma oranları. Hem CVID’li kadınlar ($P<0.0001$) hem de CVID’li erkekler ($P=0,0001$) popülasyon kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha kısa sağkalıma sahiptir.

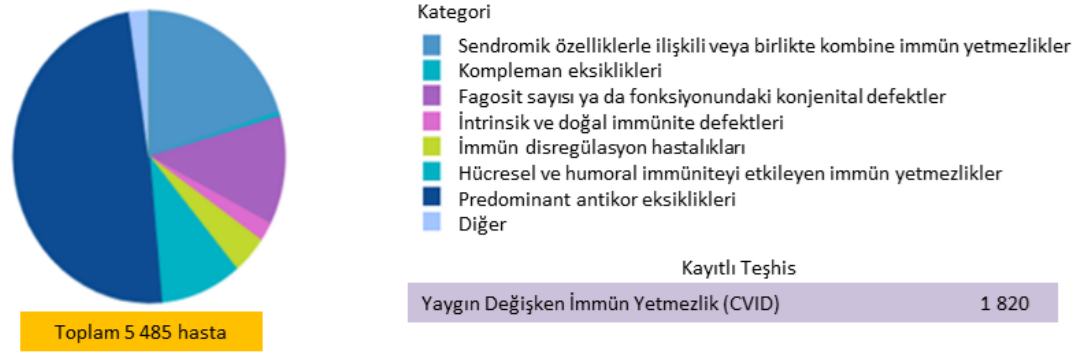
Yapılan bir çalışmada Finlandiya’da CVID’in minimum yetişkin prevalansının 6,9/100 000 olduğu bildirilmiştir (Selenius ve diğerleri, 2017) Diğer İskandinav ülkelerinden Danimarka’da her 100 000 kişiden 3,8’i (West ve diğerleri, 2017), İzlanda’da her 100 000 kişiden 3,1’i (Ludviksson ve diğerleri, 2015) ve Norveç’te her 100 000 kişiden 2,1’i CVID hastasıdır (Stray-Pedersen, Abrahamsen ve Frøland, 2000). Orta ve Güney Avrupa’da ise hastalığın yaygınlığı Birleşik Krallık’ta 1,93/100 000 (Shillitoe ve diğerleri, 2018), Fransa’da 0,7/100 000 (CEREDIH: The French PID study group 2010), İsviçre’de 1,2/100 000 (Marschall ve diğerleri, 2015) olarak bildirilmiştir (Şekil 2.4).

Ülke	CVID prevalansı /100 000	Primer immün yetmezliklerde CVID yüzdesi (%)
Danimarka*	3,8	-
İzlanda	3,1	17
Norveç	2,6	31
Türkiye	1,4	5
Birleşmiş Krallık	1,3	37
İsviçre	1,2	45
Fransa	0,7	14
İspanya	0,6	21

*İki Danimarka bölgesinde prevalans 5/100 000 olarak bildirilmiştir.

Şekil 2.4. Farklı ülkelere ait CVID prevalansları (Selenius ve diğerleri, 2017).

Verilere göre ABD'de her 100 000 kişiden yaklaşık 30'u Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik tanısı almaktadır (Song ve diğerleri, 2018). Primer immün yetmezlik hastalıklarında bilimsel araştırmaları geliştirmek için kurulan Amerika Birleşik Devletleri İmmün Yetmezlik Ağı (USIDNET) veri sayfasındaki kayıtlara göre bildirilen primer immün yetmezlikler ve bunlar içerisindeki CVID hasta dağılımına ilişkin son değerler Şekil 2.5.'te gösterilmiştir (<https://usidnet.org/registry-data/stats-registry-enrollment/>).



Şekil 2.5. Amerika Birleşik Devletleri İmmün Yetmezlik Ağı (USIDNET) primer immün yetmezlikler ve CVID hasta dağılımı (<https://usidnet.org/registry-data/stats-registry-enrollment/>).

Türkiye'de her bir primer immün yetmezlik hastalığının prevalansının minimum bir tahminini sağlamayı ve PID'li hastaların klinik özelliklerini belirlemeyi amaçlayan bir çalışmada CVID prevalansı 1,39/100 000 olarak bildirilmiştir (Kilic ve diğerleri, 2013).

Ülkeler arasında gözlenen bu farklılıkların, daha düşük yaygınlık oranları gösterenlerde eksik bildirim bir sonucu olduğu düşünülmeyle beraber bu raporlar arasındaki tutarsızlıklar farklı metodolojilerin kullanımından ve kesin bir tanı kriteri bulunmamasından kaynaklanabilmektedir. İnsidans/prevalanstaki belirgin coğrafi varyansta ek faktörler, sağlık hizmetlerine erişim, hastaların uygun şekilde teşhis edilme oranı veya popülasyon arası genetik farklılıklar olabilir (Bonilla ve diğerleri, 2016).

2.1.1. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) Hastalığının Risk Faktörleri

CVID hastalarının birçoğunda hastalığın nedeni kesin olarak bilinmemektedir. Çoğu vaka sporadik olmakla beraber klasik bir Mendel kalıtım modelini takip etmez ve hiçbir aile öyküsü bulunmamaktadır (Ameratunga ve diğerleri, 2018). Bununla birlikte hastalık otozomal dominant ve otozomal resesif kalıtım kusurlarından veya çevresel ve genetik nedenlerin karmaşık etkileşimlerinden (multifaktöriyel kalıtım) kaynaklanabilmektedir (<https://rarediseases.org/rare-diseases/common-variable-immune-deficiency/>).

Yapılan kapsamlı genom veya ekzom dizileme temelli çalışmalar ve genetik analizlere rağmen, CVID tanısı alan hastaların çoğunun halen monogenetik bir moleküler tanısı bulunmamaktadır (Rae, 2017) ve günümüzde hastaların yaklaşık %20'sinde genetik bir neden tanımlanmıştır (<https://rarediseases.org/rare-diseases/common-variable-immune-deficiency/>). Yapılan araştırmalar sonucuna göre CVID ile ilişkili genler: *NF-KB1*, *NF-KB2*, *ICOS*, *CTLA4*, *TNFRSF13C* (*BAFF-R*), *BLK*, *TNFSF12* (*TWEAK*), *TNFRSF7* (*CD27*), *CD81*, *CD19*, *CR2* (*CD21*), *MS4A1* (*CD20*), *IL21*, *LRBA*, *PRKCD*, *IL21R*, *PLCG2*, *PIK3CD*, *PIK3R1*, *VAV1*, *RAC2*, *IKZF1* (*IKAROS*), *IRF2BP2* ve *TNFRSF13B* (*TAC1*) olarak bildirilmiştir (Bogaert, 2016; Bonilla, 2016; Maffucci, 2016; Kuehn, 2016, 2017; van Schouwenburg, 2015). Bununla beraber çoğu vakada poligenik kalıtım söz konusudur (Keller, 2013; Orange, 2011; Yong, 2011). Tanımlanan monogenik mutasyonların çoğu bağışıklık hücrelerinde bulunan proteinleri kodlamaktadır ve immün bozukluğun nedenini yansıtmaktadır (Bogaert ve diğerleri, 2016). Aynı zamanda genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), CVID ile ilişkili tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ve kopya sayısı varyasyonlarının tanımlanmasını sağlamıştır ancak tüm bu sonuçlar CVID'in altında yatan moleküler mekanizmanın aydınlatılması için yeterli seviyede değildir (Rae, 2017). Çizelge 2.2.'de CVID gelişiminde rol oynayan genetik immün defektlerin bir listesi verilmiştir.

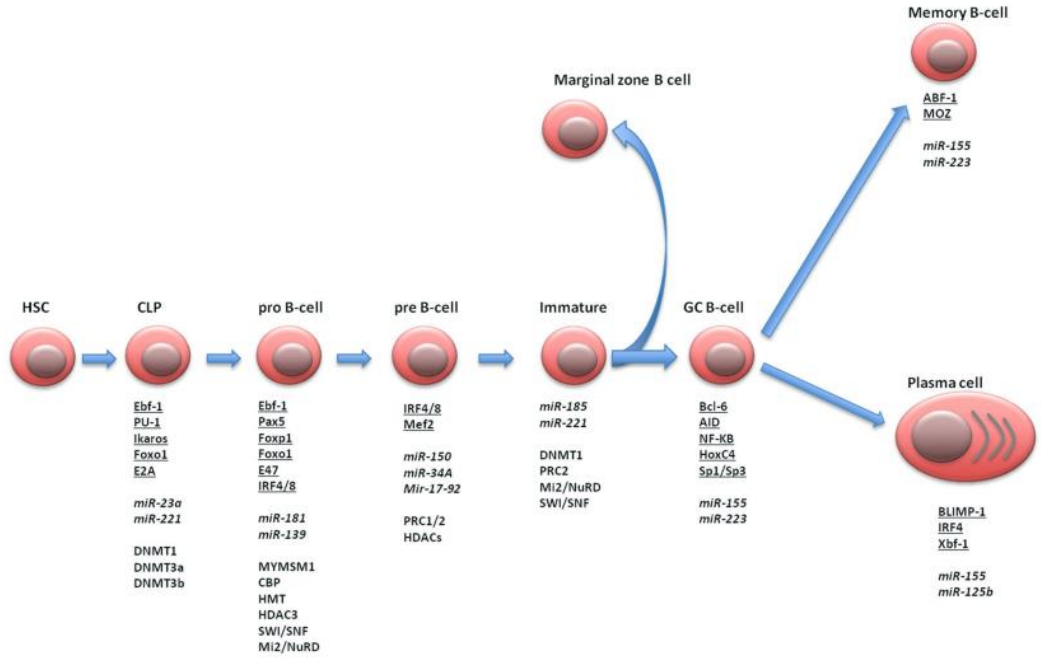
Çizelge 2.2. CVID’te rol oynayan genetik immün defektler (Leone ve diğerleri, 2018).

Gen	Defekt
<i>TNFRSF13B</i>	Homozigot ve heterozigot mutasyonlar
<i>BAFF-R</i>	Homozigot ve heterozigot mutasyonlar
<i>CD20</i>	Homozigot mutasyonlar
<i>CD19-B-hücre reseptör kompleksi</i>	Homozigot mutasyonlar
<i>ICOS</i>	Homozigot delesyonlar
DNA onarımında rol oynayan genler (<i>MSH5, MSH2, MLH1, RAD50 ve NBS1</i>)	Eşanlı olmayan heterozigot mutasyonlar
<i>CARD11</i>	Heterozigot tek nükleotid polimorfizmleri
<i>Bob1</i>	Heterozigot tek nükleotid polimorfizmleri
<i>MHC bölgesi</i>	Tek nükleotid polimorfizmleri
<i>ADAM</i>	Tek nükleotid polimorfizmleri
<i>CTLA4</i>	Heterozigot anlamsız mutasyonlar Çerçeve kayması delesyonu İntronik mutasyonlar
<i>PIK3CD</i>	Heterozigot ek yeri mutasyonları Fonksiyon kazancı mutasyonları
<i>NFκB2</i>	Heterozigot Çerçeve kayması mutasyonu Heterozigot anlamsız mutasyon
<i>PLCG2</i>	Delesyonlar
<i>LRBA</i>	Homozigot mutasyonlar
<i>CD27</i>	Homozigot mutasyonlar

Monogenik mutasyonların CVID’li hastaların azınlığında tanımlanması vakaların çoğunun poligenik olduğunun ve çevresel, epigenetik veya diğer faktörlerin katkıda bulunduğu çok faktörlü mekanizmaların üzerinde durulmasını sağlamıştır (Gereige ve Maglione, 2019). CVID’in altında yatan monogenetik veya poligenetik nedenlere alternatif bir teori, CVID hastalarının çoğunda nedensel olan, henüz moleküler olarak teşhis edilmemiş epigenetik profiller olmasıdır (Rae, 2017).

Epigenetik mekanizmalar, DNA metilasyonu, histon ve kromatin modifikasyonu, hücreye özgü transkripsiyon faktörü ekspresyonu ve kodlamayan RNA’ları içerir ve beslenme, çevresel, bulaşıcı ve iyatrojenik uyaranlar gibi çeşitli faktörlerden etkilenir (Amato ve diğerleri, 2020).

Yapılan çalışmalar yaşam boyunca meydana gelen zararlı epigenetik değişikliklerin, malign hematolojik hastalıklar ve otoimmün bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olduğunu desteklemektedir (Ansell, 2015; Jeffries ve Sawalha, 2015). İmmün sistemde önemli rol oynayan B hücrelerinin normal fizyolojik gelişimlerinin diferansiyel transkripsiyon faktörü ifadesi, DNA metilasyon durumu, histon modifikasyonları ve ncRNA’lar gibi karmaşık epigenetik faktörlerden tarafından düzenlendiği bildirilmiştir (Şekil 2.6) (Rae, 2017).

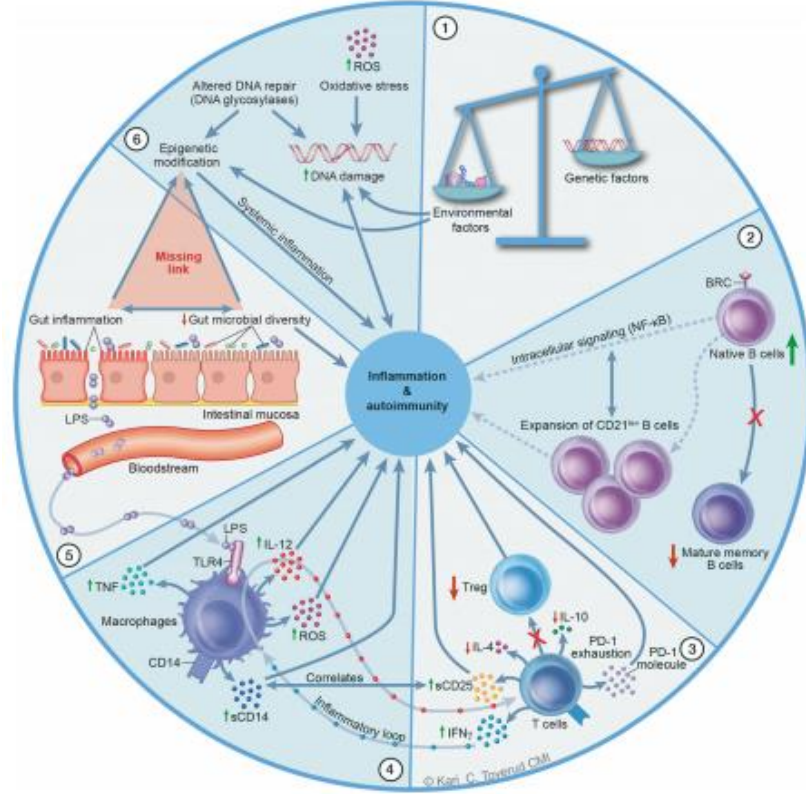


Şekil 2.6. B hücresi gelişiminde rol oynayan bazı tanımlanmış epigenetik faktörler. Altı çizili metin: transkripsiyon faktörleri, italikler: miRNA'lar ve metin: histon modifikasyon faktörleri (Rae, 2017).

MiR-142 ve miR-155'in susturulduğu knock-out fare modellerinde yapılan çalışmalarda, farelerin hipogamaglobulinemi, adaptif immün yetmezlik, poliklonal proliferasyon, akciğer hastalığı ve enterik inflamasyonu olan CVID hastalarına fenotipik benzerlikler gösterdiği bildirilmiştir (Kramer, 2015; Rodriguez, 2007).

Son yıllarda mikrobiyomun da immün düzensizlik ve CVID komplikasyonlarının patogeneğinde rol oynadığına dair artan kanıtlar vardır (Berbers, 2017; Jørgensen, 2019). Bağışıklık sisteminin bozulması, bağırsak bariyerinde mikrobiyal translokasyonun artmasına yol açar. Bu durum kalıcı sistemik bağışıklık aktivasyonunun tetiklenmesi yoluyla bağışıklık homestazının bozulmasına neden olmaktadır (Berbers, 2017; Jørgensen, 2016; Perreau, 2014). Sağlıklı bireylerde mikrobiyal translokasyon düzenli bir şekilde gerçekleşirken, azalmış bağırsak bariyer fonksiyonuna sahip CVID hastalarında mikrobiyal translokasyonda meydana gelen artış, hem lokal hem de sistemik inflamasyona ve immün düzensizliğe yol açmaktadır (Gereige ve Maglione, 2019; Laugerette, 2011).

Tüm bu genetik, epigenetik ve çevresel faktörlerin birbirleriyle olan etkileşimleri yoluyla CVID'deki rollerine ilişkin olası mekanizmalar Şekil 2.7'de gösterilmiştir.



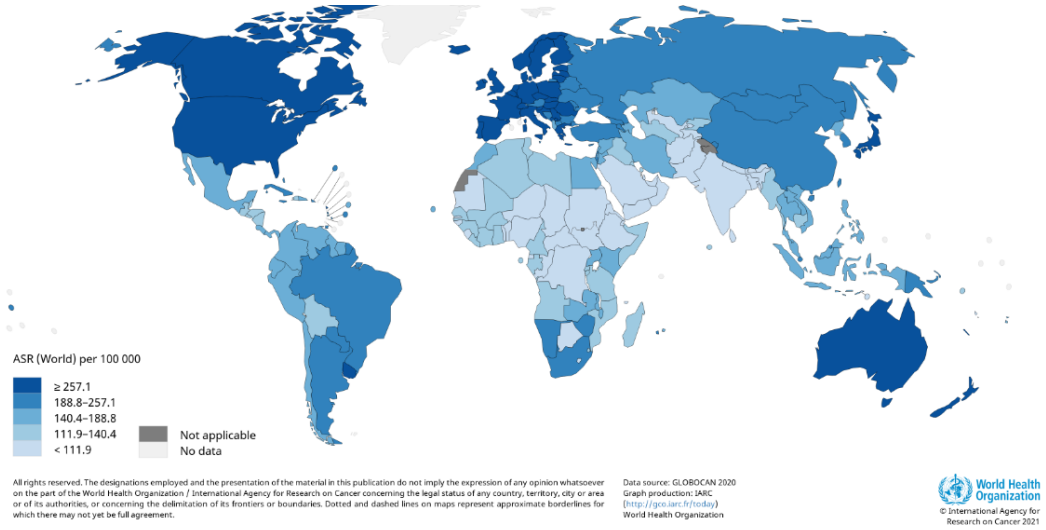
Şekil 2.7. CVID gelişimi ile ilişkili immüno-patojenik mekanizmalara genel bakış (Jørgensen, Fevang ve Aukrust, 2019).

(1-4) B hücreleri, T hücreleri ve monositler/makrofajlar ile etkileşim yoluyla genlerin ve çevresel faktörlerin CVID'de otoimmün ve inflammatuar komplikasyonlara katkıda bulunabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. (5) Bu bilinen mekanizmaların, CVID'deki otoimmün ve inflammatuar fenotipi belirleyen bağırsak mikrobiyotası ve epigenetik modifikasyonlarla etkileşime girebileceği varsayımı Jørgensen ve diğerleri tarafından bildirilmiştir. CVID'de sistemik bağışıklık aktivasyonuna ve iltihaplanmaya neden olan olası bir mekanizma "Sızdıran Bağırsak Teorisi"dir. Bağırsak iltihabı nedeniyle bağırsak mukozasındaki epitel hücreler arasındaki sıkı bağlantılar bozulduğunda, Lipopolisakkaritler (LPS) ve diğer yabancı maddeler gibi bakteri ürünleri akışı olur. LPS, makrofajlar/monositler üzerinde bulunan TLR4 reseptörleri aracılığıyla bağışıklık sistemini aktive eder. Bu hücreler, TNF, IL-1 β ve IL-12 gibi inflammatuar sitokinlerin salınımı yoluyla sistemik inflamasyona neden olur ve bu sitokinlerin bazıları tekrar T hücre aktivasyonunu indükleyebilir, bu da sırayla monosit/makrofajları indükleyerek inflammatuar döngüye yol açar. (6) Epigenetik mekanizmaların CVID'de inflammatuar ve otoimmünite gelişimine katkıda bulunduğu varsayılmaktadır. ROS (Reaktif Oksijen Türleri) üretimi, hücresel metabolizmanın temel bir bileşeni olmasına rağmen, kalıcı inflammatuar ve oksidatif stres, DNA hasarını indükleyebilir ve mutasyonlara yol açabilir. Bozulmuş DNA onarımı buna daha fazla katkıda

bulunabilir ve daha da önemlisi, DNA onarımında yer alan bazı enzimlerin, yani belirli DNA glikozilazların değişmiş işlevleri de COVID'teki epigenetik modifikasyonlara katkıda bulunabilir ve bu, bazı COVID hastalarının inflamasyon ve otoimmünite geliştirmesinin nedeni olabilir.

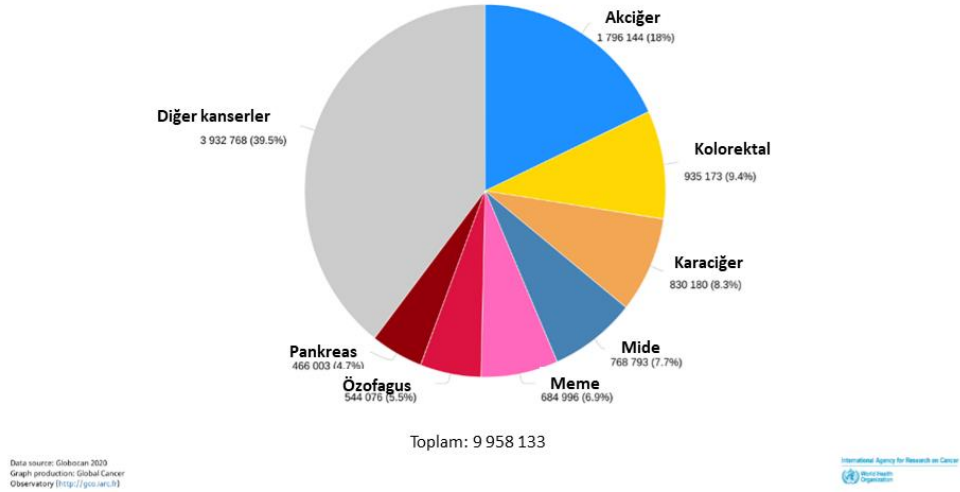
2.2. Mide Kanseri ve Epidemiyolojisi

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyüyüp çoğaldığı ve sonrasında vücudun diğer bölgelerine yayılma potansiyeli kazanabildiğı (metastaz) genetik bir hastalıktır (<https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) istatistiklerine göre dünya çapında önde gelen bir ölüm nedenidir (Şekil 2.8). Kanser, genellikle kanser öncesi bir lezyondan malign bir tümöre ilerleyen çok aşamalı bir süreci kapsayan sağlıklı hücrelerin tümör hücrelerine dönüşmesi ile meydana gelir. Çoğu durumda, onkogenlerin aktivasyonu, tümör baskılayıcı genlerin deaktivasyonu ve/veya DNA onarım mekanizmasında rol oynayan genlerdeki mutasyonlar hücre döngüsünün kontrolsüz ilerlemesine ve apoptotik mekanizmaların inaktivasyonuna yol açarak kanserogenezde rol oynar (Kontomanolis ve diğerleri, 2020). Genetik faktörlerin yanı sıra iyonlaştırıcı radyasyon ve ultraviyole gibi fiziksel kanserojenler, tütün dumanının bileşenleri, asbest, bir gıda kirleticisi olan aflatoksin ve bir içme suyu kirleticisi olan arsenik gibi kimyasal kanserojenler ve bazı viral, bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlar gibi biyolojik kanserojenler de kanser oluşumunda rol oynamaktadır (de Martel, 2020; Lewandowska, 2019; Stein ve Colditz, 2004).



Şekil 2.8. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre kanserin dünya genelindeki dağılımı (<http://gco.iarc.fr/>).

WHO verilerine göre 2020'de dünya çapında kanser ölümlerinin en yaygın nedenleri arasında sırasıyla akciğer (1.80 milyon ölüm), kolon ve rektum (935 000 ölüm), karaciğer (830 000 ölüm), mide (769 000 ölüm) ve meme (685 000 ölüm) kanseri yer almaktadır (Şekil 2.9). Türkiye'de erkeklerde en yaygın görülen ilk 5 kanser türü akciğer kanseri, prostat kanseri, kolorektal kanser, mesane kanseri ve mide kanseridir. Kadınlarda ise en yaygın görülen ilk 5 kanser türü meme kanseri, tiroid kanseri, kolorektal kanser, akciğer kanseri ve rahim kanseridir (<http://gco.iarc.fr/>).



Şekil 2.9. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre 2020 yılına ait dünya genelinde kansere bağlı ölüm sayıları (<http://gco.iarc.fr/>).

Mide kanseri, hem çevresel hem de genetik birçok faktörün rol oynadığı heterojen bir hastalıktır (Yusefi, Bagheri Lankarani, Bastani, Radinmanesh ve Kavosi, 2018). Mevcut istatistiklere göre mide kanseri dünya çapında kanser ölümlerinin dördüncü önde gelen nedeni olarak bildirilmektedir ve ileri evre için sağkalım oranı 12 aydan azdır (X. Zhang ve Zhang, 2017). Erkeklerde kadınlara göre yaklaşık iki kat daha sık görülür. Mide kanseri insidansı yaşla birlikte giderek artar ve çoğu vaka 60 yaşından sonra ortaya çıkar (Bray ve diğerleri, 2018). Farklı coğrafyalarda insidans çeşitlilik göstermekle beraber yeni vakaların %50'den fazlasının gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıktığı bildirilmiştir (Ang ve Fock, 2014). En yüksek insidansın Doğu Asya, bazı Doğu Avrupa ve Güney Amerika ülkelerinde ve en düşük insidansın ise Kuzey Amerika ve Afrika'da gözlemlendiği bildirilmiştir (Jemal ve diğerleri, 2011). 2020 yılı verilerine göre Türkiye'de erkeklerde en sık görülen beşinci kanser türüdür (<https://gco.iarc.fr/>). Heterojen doğası ve yüksek agresifliğe sahip bir malignite olması nedeniyle mide karsinomu önemli bir küresel halk sağlığı sorunudur.

Mide kanserinin en yaygın sınıflandırması tümörün histolojik tiplerine göre yapılan Lauren sınıflandırmasıdır. Bu sınıflandırmaya göre intestinal ve diffüz olmak üzere iki alt sınıf mevcuttur. Bu iki alt sınıf klinik bulgu, genetik, morfoloji, epidemiyoloji ve yayılma dahil olmak üzere farklı özelliklere sahiptir (Lauren, 1965). İntestinal alt

tip, farklı derecelerde farklılaşma ile tübüler ve glandüler elemanlar içerir ve genelde ülseratif kitle halinde mide korpusu ve distalinde lokalizedir. Diffüz alt tip kanserler, daha agresif olup metastatik özelliğe sahiptir. Ayrıca hızlı progresyon ve kötü prognoz gözlenmektedir. Diffüz kanserde başlıca neden, genetik olaylardır ve E-cadherin ekspresyonunun kaybı en önemli etkidir. İntestinal tip mide kanseri ise çoğunlukla *H. pylori* ile ilişkilidir. Bununla birlikte prognozu, diffüz tipe göre daha iyi seyreder (Goral, 2016). Ek olarak, taşlı yüzük hücreli mide kanseri nispeten yaygındır ve Lauren sınıflandırmasına göre diffüz tip olarak sınıflandırılır (Lauren, 1965).

Bir diğer popüler sınıflandırma lokasyonlarına göre olan distal veya non-kardiya mide kanseri ve proksimal veya kardial mide kanseridir. Distal mide kanserlerinde son yıllarda bir azalma görülürken proksimal (kardia) kanserlerde artış olmaktadır. Proksimal kanserler, distal kanserlere göre daha kötü prognozlu ve daha agresiftir. Proksimal kanserler, derin duvar penetrasyonuna, lenf nodu metastazına, lenfatik damar invazyonuna eğilim göstermektedir (Goral, 2016).

Son zamanlarda mide kanseri sınıflandırmasında gen ekspresyon profili analizine dayanan moleküler sınıflandırmalar önerilmiştir. The Cancer Genome Atlas ağı tarafından 2014 yılında yayınlanan sınıflandırmaya göre, 4 tip mide tümörü bildirilmiştir: (1) EBV (Epstein-Barr virüsü) için pozitif, (2) MSI (Mikrosatellit instabilite), (3) genomik olarak stabil ve (4) kromozomal olarak kararsız (Cancer Genome Atlas Research Network 2014). Bu 4 tipin her biri, tümör hücrelerinde farklı moleküler yolları içeren mekanizmalara sahiptir.

Mide kanseri tedavisinde cerrahi çok önemli bir rol oynamaktadır (Swan ve Miner, 2006). Ameliyat için en iyi zaman, tümörün çoğunlukla kemoterapiye duyarlı olduğu zamandır. Endoskopik rezeksiyon ve minimal invaziv erişim olmak üzere yeni geliştirilen iki yöntem, tedavi stratejileri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Parisi ve diğerleri, 2017). Cerrahiye ek olarak Adjuvan Kemoterapi, Neo-Adjuvan Kemoterapi, Radyasyon tedavisi (vakaların çoğunda kemoterapi ile birlikte verilir) ve ramucirumab (hedefi VEGFR2) ve trastuzumab (hedefi *HER2*) gibi ilaçlarla

hedefe yönelik tedaviler de mide kanseri tedavisinde kullanılan stratejilerdir (Bang, 2019; Cunningham, 2006; Coombes, 1990; De Vita, 2019; Hartgrink, 2004; Lise, 1995; Yan, 2007).

Son yıllarda prevalansı azalmakla birlikte, mide kanseri sağkalım oranlarının düşük olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Erken tanı, sağkalımı uzatmak için önem arz eder. Bu noktada tanı ve tedavide kullanılmak üzere yeni biyolojik belirteçlerin tanımlanması kritiktir.

2.2.1. Mide Kanseri Risk Faktörleri

Gastrik karsinogenez, çevresel faktörler ve konakçı arasında karmaşık etkileşimler ile karakterize çok faktörlü ve birden fazla adımı içeren kompleks bir süreçtir (Petryszyn, Chapelle ve Matysiak-Budnik, 2020). Yaş, aile öyküsü ve kalıtım gibi bazı risk faktörleri değiştirilemezken, alkol, sigara, diyet, *H. pylori* ve Epstein-Barr virüsü (EBV) gibi mide kanseri gelişimini etkileyen değiştirilebilir çevresel faktörler de söz konusudur (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Mide kanseri gelişiminde rol oynayabilecek risk faktörleri.

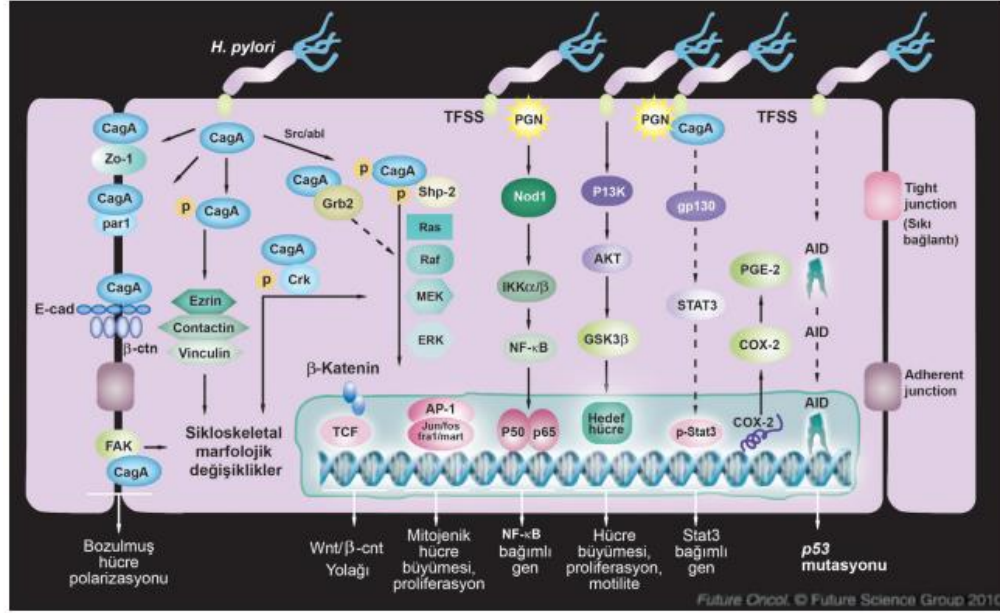
Ailede mide kanseri öyküsü en önemli risk faktörlerinden biri olmakla birlikte mide kanserleri genellikle sporadiktir, yaklaşık %10'u ailesel bir kalıtım göstermektedir (Yaghoobi, Bijarchi ve Narod, 2010). Mendel kalıtım paterni gösteren kalıtsal mide kanserleri, tüm mide karsinomları içinde %3'ten daha azdır (Boland ve Yurgelun, 2017). Kalıtsal diffüz mide kanseri, *CDHI* (kaderin 1) geni değişikliklerinin neden olduğu en çok bilinen ailesel mide kanseri türüdür. Aile öyküsü olan hastalarda mide kanseri riskinin, böyle bir öyküsü olmayan bireylere kıyasla yaklaşık üç kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Pinheiro, Oliveira, Seruca ve Carneiro, 2014).

Diyet ile mide kanseri gelişimi riski arasındaki ilişki yapılan çalışmalarda ayrıntılı olarak incelenmiştir. Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırmaları Enstitüsü (WCRF/AICR) tarafından yapılan araştırmada meyve ve sebzelerin mide kanseri gelişimine karşı koruyucu olduğunu, buna karşın ızgarada ve kömürde pişirilmiş hayvan etlerinin, tuzu korunmuş gıdaların ve tütülenmiş gıdaların mide kanseri ilerlemesini artırdığını bildirilmiştir (Kim, Cho, Choi ve Jeong, 2014). Gıdalarda bulunan kanserojenler de mide epitel hücreleri ile etkileşime girebilmekte ve genlerde ve ekspresyonlarında değişikliklere neden olabilmektedir. Yapılan çalışmalar, yüksek miktarda sodyum klorür alımının mide mukozasını tahrip ettiğini, hayvan modellerinde hücre ölümünü ve rejeneratif hücre proliferasyonunu teşvik ettiğini göstermektedir (Z. Zhang ve Zhang, 2011).

Mide kanseri gelişiminde rol oynayan çeşitli çevresel faktörler arasında sigara ve alkol alımının etkisi göz önünde bulundurulmuştur. Yapılan araştırmalar sigara içenlerde, içmeyenlere kıyasla mide kanseri gelişimi riskinde yaklaşık %80'lik bir artış olduğunu göstermiştir (Moy ve diğerleri, 2010). Avrupa prospektif beslenme kohort çalışmasında mide kanseri ve alkol alımı arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiştir (Duell ve diğerleri, 2011).

Helicobacter pylori (*H. pylori*), 1994'ten beri Dünya Sağlık Örgütü tarafından mide kanseri gelişiminin sınıf I kanserojeni olarak tanımlanan gram-negatif bir bakteridir (Ishaq ve Nunn, 2015). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, *H. pylori* enfeksiyonunun mide kanseri gelişiminin risk faktörlerinden biri olduğunu göstermiştir (Baj ve diğerleri, 2020). *H. pylori*, intestinal tip ve diffüz tip mide

kanserine neden olmaktadır. *H. pylori*'nin CagA, VacA, cagPAI (cag-pathogenicity island), diğ er membran proteinleri (OMPs) olmak üzere 4 majör virulans faktörü bulunmaktadır. Bunlar arasında CagA'nın mide karsinogenezinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. CagA ve vacA s1 ve vacA m1 virulans faktörünü taşıyan suşlarda, gastrit, premalign lezyonlar ve malignite riski daha fazladır. CagA, E-cadherin'in enzimatik parçalanmasına sebep olarak intestinal diferansiyasyonu olumsuz etkiler. *H. pylori* varlığında, midede kemik iliğ inden köken alan hücreler, mide mukozasına yerleşerek epitel hücrelere dönüşmektedir. Ayrıca, *H. pylori*, CagA virulans faktörü aracılığıyla büyüme faktör reseptörlerini aktive ederek, proliferasyonu artırır, apoptozisi durdurur, anjiogenezis ve invazyonu artırır. Bununla beraber, üreaz aracılı myozin II aktivasyonu ile fosfolipaz, üreaz, amonyum, proteaz ve asetaldehid salgılanarak mide mukoza bariyeri bozulur. *H. pylori*'nin ROS salınımını ve nitrojen suşlarını indüklediğ i de bilinmektedir. Konakçının antioksidan savunma mekanizmalarını inhibe ederek DNA'da oksidatif hasara neden olur. Endojen DNA hasarını artırarak, DNA'da nükleer ve mitokondrial mutasyona neden olarak ve DNA onarımında azalma yaparak, anormal DNA metilasyonuna yol açarak mide karsinogenezinin gelişmesine neden olur (Ding, 2010; Ding ve Zheng 2012; Zabaleta, 2012) (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Mide epitel hücrelerinde *Helicobacter pylori*'nin indüklediği konakçı hücre cevabı ve onkojenik sinyal yolağı (Ding, Goldberg ve Hatakeyama, 2010).

H. pylori enfeksiyonu dışında, mide kanseri gelişimi ile ilişkili bir diğer faktör Epstein-Barr virüsüdür (EBV) (Iizasa, Nanbo, Nishikawa, Jinushi ve Yoshiyama, 2012). Mide kanserlerinin yaklaşık %10'unun EBV-pozitif olduğu bildirilmiştir ancak EBV'nin mide kanseri gelişimindeki etiyolojik rolü hakkında henüz yeterli kanıt bulunmamaktadır (Fukayama ve diğerleri, 1994).

Mide kanserinin moleküler biyobelirteçleri üzerine yapılan çalışmalarda anahtar mekanizmalar olarak *HER2* ekspresyonunun modülleri, apoptozu düzenleyen faktörler, hücre döngüsü düzenleyicileri, hücre membran özelliklerini etkileyen faktörleri, çoklu ilaç direnci proteinleri ve mikro satellit kararsızlığı bildirilmiştir (Machlowska, Maciejewski ve Sitarz, 2018) (Çizelge 2.3). Bunların yanında mide kanseri ile ilişkili genlerde hastalıkla ilişkili belli polimorfizmler de tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda fonksiyonel *IL-1B/IL-1RN* polimorfizmlerinin ileri evre mide kanseri hastalarında prognostik etki gösterdiği bildirilmiştir (Graziano ve diğerleri, 2005).

Çizelge 2.3. Mide kanseri gelişiminde rol oynayan moleküler biyobelirteçler (Machlowska, Baj, Sitarz, Maciejewski ve Sitarz, 2020).

Moleküler Biyobelirteçler	Mide Kanseri Gelişimine Etkisi
<i>HER2</i>	MK'de amplifikasyon ve aşırı ekspresyon, pozitif vakalar %6 ila %30 arasında değişir. <i>HER2</i> /neu amplifikasyonu mide kanserinin intestinal histolojik alt tipinde diffüz alt tipe göre daha yüksektir ve cinsiyet ve yaştan bağımsız mide kanseri hastalarının zayıf sağkalımı ile ilişkilidir.
<i>p53</i>	<i>p53</i> genindeki mutasyonlar mide kanseri erken dönemlerinde ortaya çıkar ve bunların sıklığı kanser gelişiminin ileri aşamalarında artar. <i>TP53</i> pozitif hastalar mide kanserinin alt tiplerinden biri olarak sınıflandırılır.
<i>PDI</i>	PCNA ve C-met ekspresyonu olan, EBV pozitif olan ve metastazı olmayan olgularda <i>PDL1</i> ekspresyonu anlamlı olarak artar.
<i>p73</i>	<i>p73</i> geni, mide karsinogenезinde genetik modifikasyonun bir nesnesi değildir, vahşi tip <i>p73</i> , aktif bir alelin transkripsiyonel indüksiyonu veya sessiz bir alelin aktivasyonu ile mide kanseri dokularında sıklıkla eksprese edilir.
<i>Mdm2</i>	MDM2 proteininin ekspresyon seviyesi, basit bağırsak metaplazisi ve kronik gastrite kıyasla bağırsak metaplazisi ve mide karsinomlarında önemli ölçüde artar.
<i>Bcl-2</i>	Lenf nodu metastazları, invazyon derinliği ve <i>Bcl-2</i> 'nin negatif ekspresyonu, artan kanser nüksü olasılığı ile ilişkilidir.
<i>pRb</i> <i>CCND1</i>	Siklin D1, hücre döngüsü sürecinin pozitif düzenleyicisidir; retinoblastoma proteini (pRb) hücre döngüsü baskılayıcı olarak görev yapar, E2F transkripsiyon faktörlerinin inhibisyonu yoluyla G1/S tutuklanmasını ve büyüme kısıtlamasını destekler; daha yüksek ekspresyonları, hücre aşırı büyümesi ve kanser gelişimi ile ilişkilidir. pRb ve siklin D1 ekspresyonu, displazi, intestinal metaplazi, atrofi ve gastritten karsinoma oluşan neoplastik olmayan mukozal arasında Rb ve siklin D1' in daha yüksek ekspresyonu ile mide karsinogenезinin erken evrelerinde mevcut olabilmektedir.
<i>p16</i>	<i>p16</i> geni, bir tümör bastırıcı gen olarak bir ana rol oynar ve <i>p16</i> geninin delesyonu karsinogenез süreci ve mide karsinomu ilerlemesi ile ilişkilidir.
<i>p27</i> ^{Kip1}	Mide kanserinde düşük protein ekspresyonu olan p27 ^{Kip1} olarak adlandırılan sikline bağımlı kinaz inhibitörü 1B, ilerlemiş tümörlere atanır, zayıf diferansiye vakalarda önemli ölçüde daha yüksektir ve hastaların hayatta kalması için negatif bir prognostik faktör olarak tanımlanır.
<i>MUC</i>	Müsinler, hücre dışı, büyük moleküler ağırlıklı, güçlü bir şekilde glikosile edilmiş proteinlerden oluşan bir gruptur; hücre sinyalizasyonu, kimyasal bariyerlerin oluşturulması gibi önemli özelliklere sahiptirler. Ana rollerinden biri de bir inhibitör olarak işlev görmesidir ve MUC1, MUC2, MUC5AC ve MUC6 gibi müsin proteinlerinin yüksek ekspresyonu, mide karsinogenез süreci ile ilişkilidir.
<i>MRP2</i>	<i>MRP2</i> 'nin aşırı ekspresyonu, tümörlerin kemoterapi tedavilerine başlangıçta reaksiyon yokluğunda önemlidir, bu da kemoterapi yanıtı için önemli bir biyobelirteç olduğunu göstermektedir.
<i>MDR1</i>	<i>MDR1</i> , mide kanseri duyarlılığının ilerlemesinde çok önemli bir aday genidir ve ilaç direnci yanıtı üzerinde önemli bir etki gösterir ve <i>MDR1</i> 'in yıkılması, mide kanseri hücreleri arasında bu fenotipi tersine çevirebilir.
<i>GST-P</i>	GST-P'nin ekspresyonu, kimyasal olarak indüklenen tümörlerde gözle görülür şekilde artar, ayrıca kötü prognozunu yanı sıra tümör invazyonu ve nüksü ile de ilişkilidir.
<i>MSI</i>	Mikrosatellit kararsızlığı (MSI), mide karsinogenезinde daha yüksek genetik değişiklik birikiminde bir ajan olan DNA yanlış eşleşme onarım eksikliğinin önemli bir göstergesidir; MSI pozitif hastalarda hedeflenen mutasyon içeriği yüksek değildir, bazıları <i>PIK3CA</i> , <i>EGFR</i> , <i>ERBB3</i> ve <i>ERBB2</i> genlerinde tespit edilmiştir. Yüksek MSI'lı mide kanseri vakaları, pozitif rezeksiyon marjı durumundan bağımsız olarak uzun süreli sağkalıma sahip olabilir.

Mide kanseri ile ilgili geleneksel moleküler çalışmaların çoğu, genetik mutasyonun belirlenmesine dayanmaktadır. Son zamanlarda, çalışmalar erken karsinogenезde epigenetik olarak susturulmuş yeni biyobelirteçleri keşfetmeye odaklanmıştır. Artan kanıtlar, epigenetik değişikliklerin mide kanseri dahil kanser gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Mide kanserinde rol oynayan epigenetik değişiklikler arasında bazı genlerde CpG adalarının hipermetilasyonu ve hipometilasyonu

(Çizelge 2.4) ile kodlanmayan RNA'lar olan miRNA (Çizelge 2.5) ve lncRNA'lar (Çizelge 2.6) söz konusudur (Puneet ve diğerleri, 2018).

Çizelge 2.4. Mide kanseri ile ilişkili majör hipermetile ve hipometile genler (Puneet ve diğerleri, 2018'den uyarlanmıştır)

Gen	Tam Adı	Açıklama/Fonksiyon	Metilasyon Durumu
<i>APC</i>	Adenomatous polyposis coli	Tümör süpresör gen, Wnt sinyal yolunun antagonisti; hücre göçünü ve adezyonu düzenler	Hipermetilasyon
<i>RKIP</i>	Raf kinase inhibitor protein (RKIP) in cancer	Kinaz inhibitörü proteini ve NF-kappaB sinyal yolunu düzenler	Hipermetilasyon
<i>XIAP</i>	X-linked inhibitor of apoptosis	Kaspazları ve apoptozu düzenler; inflamatuvar sinyalleme modüle eder	Hipermetilasyon
<i>Caspase-1</i>	Interleukin 1 beta converting enzyme	pro IL-1 β ve pro IL-18'i aktif formlarına ayırır	Hipermetilasyon
<i>CDH1</i>	Cadherin 1/E Cadherin	Yapışkan bağlantının reseptör bileşenidir	Hipermetilasyon
<i>CASP8</i>	Caspase 8	Apoptoz	Hipermetilasyon
<i>E-Cadherin</i>	Epithelial cadherin	Hücre büyümesi ve göçü	Hipermetilasyon
<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	Hücrenin hayatta kalmasını, bölünmesini, anjiyogenezini, farklılaşmasını ve göçünü düzenler	Hipermetilasyon
<i>AKAP12/Gravin</i>	A-Kinase anchoring protein 12	Protein kinaz A ve C'nin hücre altı bölünmelerini düzenler	Hipermetilasyon
<i>DAPK</i>	Death associated protein kinase 1	Lenf nodu metastazi, ileri evre ve düşük sağkalm	Hipermetilasyon
<i>PDGFRA</i>	Platelet derived growth factor receptor alpha	Hücre proliferasyonu, hayatta kalma ve kemotaksis	Hipermetilasyon
<i>MAGE</i>	Melanoma antigen gene	Transkripsiyonel düzenleme	Hipometilasyon
<i>SNCG</i>	Synuclein- γ	MAPK ve Elk-1 yolunu etkinleştirir	Hipometilasyon
<i>Cyclin D2</i>	Cyclin D2	G1/S geçişi sırasında hücre döngüsünü düzenler	Hipometilasyon

Çizelge 2.5. Mide karsinomu gelişiminde rol oynayan miRNA'lar (Puneet ve diğerleri, 2018).

miRNA	Ekspresyon Durumu	Klinik önemi	Hedef Gen
miR-335	Aşağı regüle	Prognostik belirteç ve terapötikler	<i>SPI</i>
miR-101	Aşağı regüle	Tümör büyümesi	<i>EZH2, Cox-2, Mcl-1 ve Fos</i>
miR-9	Aşağı regüle	Tümör baskılayıcı potansiyel	<i>CDX2</i>
miR-137	Aşağı regüle	Tümör baskılayıcı potansiyel	<i>CDC42</i>
miR-378	Aşağı regüle	Tümör baskılayıcı potansiyel	<i>CDK6 ve VEGF</i>
miR-195	Aşağı regüle	Tümör baskılayıcı potansiyel	<i>CDK6 ve VEGF</i>
miR-449	Aşağı regüle	Tümör baskılayıcı potansiyel	<i>BCL2</i>
miR-375	Aşağı regüle	Tümör baskılayıcı potansiyel	<i>JAK2</i>
miR-200bc/429	Aşağı regüle	Çoklu ilaç direnci	<i>BCL2 ve XIAP</i>
miR-34c-5p	Aşağı regüle	Paklitaksel'e karşı kemosenitivite	<i>MAPT</i>
miR-33b	Aşağı regüle	Tümör baskılayıcı potansiyel	<i>c-Myc</i>
miR-21	Yukarı regüle	Tümör proliferasyonunu ve invazyonunu teşvik eder	<i>PTEN</i>
miR-196a	Yukarı regüle	Prognostik belirteç ve terapötikler	<i>p27</i>
miR-146a	Yukarı regüle	Potansiyel biyobelirteç ve terapötik hedef	<i>SMAD4</i>
miR-183	Yukarı regüle	Potansiyel biyobelirteç ve terapötik hedef	<i>PDCD4</i>

Çizelge 2.6. Mide karsinomu gelişiminde rol oynayan lncRNA'lar (Puneet ve diğerleri, 2018).

lncRNA'lar	Özellik	Biyolojik önemi
H19	Onkojenik	Hücre proliferasyonunu, invazyonunu ve metastazını indükler
HOTAIR	Onkojenik	Hücre proliferasyonunu ve invazyonunu indükler. Kötü prognozla ilişkili
MALAT1	Onkojenik	Migrasyon, proliferasyon ve metastaz ile ilişkili
HULC	Onkojenik	Hücre proliferasyonunu, göçünü ve istilasını indükler
UCA1	Onkojenik	Tümör boyutu, TNM evresi ve lenfatik metastaz ile ilişkili

Epigenetik belirteçler, klinik uygulamada mide kanseri hastalarının tümör davranışını ve prognozunu tahminlenmesi ve ayrıca mide karsinomunun erken tespiti için potansiyel bir tarama belirteci olarak kullanılabilirliği açısından son derece önemlidir. Ayrıca DNA metilasyon inhibitörleri ve HDAC inhibitörlerinin, mide kanseri tedavisi için tek başına veya diğer antikanser ilaçları ile kombinasyon halinde kullanılması da bu ölümcül malignitenin tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesi için kritiktir.

2.3. Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) Hastalığı ve Mide Kanseri İlişkisi

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID), genellikle hücre aracılı immünitedeki kusurlarla ilişkili iki veya üç ana immünooglobulin izotipinin (IgG, IgA ve IgM) serum seviyelerinde azalması ile karakterize edilen, nadir hastalıklar grubunda değerlendirilen klinik olarak oldukça heterojen bir hastalıktır. CVID'li hastalarda azalan antikor seviyelerinin bir sonucu olarak tekrarlayan alt ve üst solunum yolu enfeksiyonları, kronik akciğer hastalığı (bronşektazi), granülomatöz hastalıklar, otoimmün bozukluklar, gastrointestinal hastalıklar ve artmış malignite riski gibi heterojen klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır (Bonilla, 2016; Chapel, 2008; Cunningham-Rundles ve Bodian, 1999; Rezaei, 2012).

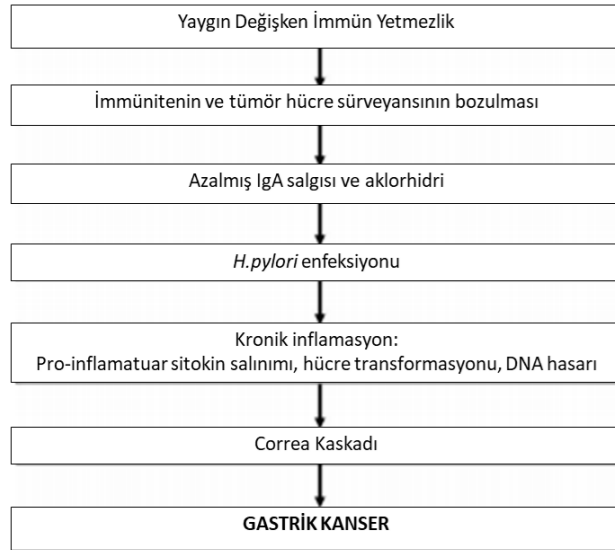
CVID'li hastaların, genel popülasyona kıyasla 10 ila 47 kat daha fazla kanser geliştirme riski taşıdığı bildirilmiştir (Bonilla, 2016; Mayor, 2018; Mellekjaer, 2002; Mortaz, 2016). En sık gözlenen maligniteler gastrointestinal sistem ve lenfoid dokularda gerçekleşmektedir (Cunningham-Rundles, 2002; Gathmann, 2014; Uzzan, 2016; Vajdic, 2010). Yapılan çalışmalarda CVID hastalarının mide kanseri için

yaklaşık 47 kat, lenfoma için 30 kat artmış riske sahip oldukları görülmüştür (Kinlen ve diğerleri, 1985). Yakın tarihli İtalyan popülasyonunda yapılan bir çalışmada mide kanserinin CVID ile ilişkili kanserler arasında lenfoproliferatif hastalıklardan sonra ikinci sırada yer aldığı ve bu popülasyonda kansere bağlı ölümlerin ilk nedeni olduğu bildirilmiştir (Pulvirenti ve diğerleri, 2018). Danimarkalı ve İsveçli CVID hastalarını ve akrabalarını inceleyen çok merkezli bir çalışma, CVID hastaları için mide kanseri riskinin 10 kat daha yüksek olduğunu bildirirken, CVID hastalarının akrabaları arasında mide kanseri veya başka herhangi bir kanser türü için risk artışı bulunmaması, artan mide kanseri riskinin, paylaşılan spesifik genetik değişikliklerden ziyade kendi başına immün yetmezlik ile ilişkili olduğunu kanıtlamıştır (Mellekjær ve diğerleri, 2002).

CVID ile ilişkili mide kanseri tipik olarak kendine özgü özellikler göstermektedir. İlk olarak mide kanseri ve CVID’i olan hastalar, CVID olmayan mide kanseri hastalarından genellikle 15 yaş daha gençtir (Leone, Vacca, Dammacco ve Racanelli, 2018). İkincisi, CVID ile ilişkili mide kanserleri yüksek sayıda tümör içi lenfosit içeren, orta ila kötü diferansiye intestinal tip adenokarsinomdur (De Petris, Dhungel, Chen ve Chang, 2014). Son olarak şiddetli atrofi, pan-gastrik dağılım, bağırsak metaplazisi, plazma hücre yetersizliği, lenfoid nodüler agregatlar ve apoptotik aktivite ile karakterize edilen gastrit bir arka planda gelişmektedir (De Petris, 2014; Leone, 2018).

CVID hastalarında yüksek mide adenokarsinom insidansı, genetik yatkınlık, kalıcı mukozal inflamasyon ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonu dahil olmak üzere onkojenik viral ve bakteriyel enfeksiyonların klirensinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (Leone, 2018; Tak Manesh, 2017). Özellikle *H. pylori* enfeksiyonlarının CVID’de mide kanseri riskini arttırdığı düşünülmektedir (Şekil 2.12). *H. pylori*, proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını uyararak ve aklorhidriyi destekleyerek kronik gastrite neden olur; ek olarak bazı suşlar, mide epitelinde onkojenik etkilere sahip virülans faktörleri üretir. Onkojenlerin yukarı regülasyonunu ve tümör baskılayıcı genlerin susturulmasını indükleyerek bağırsak metaplazisinden displaziye ve neoplaziye kadar Correa kaskadı adı verilen aşamalı

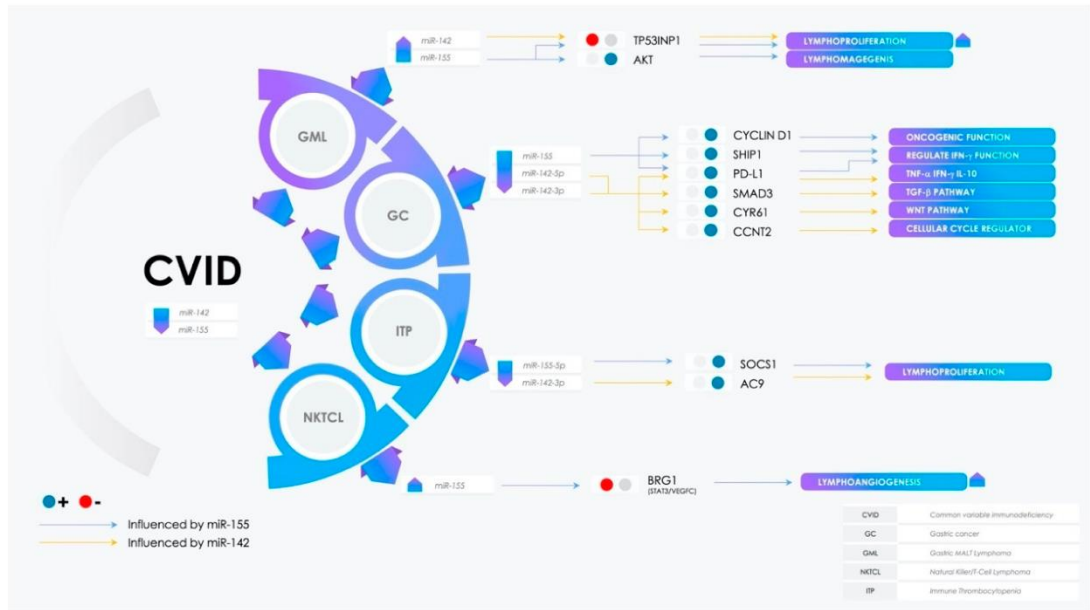
bir olay zincirini tetikler. Replikasyon olan hücrelerin nötrofiller ve monositler tarafından istila edilmesiyle, reaktif oksijen türlerini (ROS) ve reaktif nitrojen türlerini (RNS) serbest bırakarak, hücre replikasyonu ve ölümü için kritik olan genlerde DNA kırılmalarını ve nokta mutasyonlarını tetikleyen bir enflamatuar yanıt üretilmesine neden olur (Leone ve diğerleri, 2018). Otoimmünitenin de CVID'de mide kanseri riskini arttırdığı düşünülmektedir (Dhalla, da Silva, Lucas, Travis ve Chapel, 2011). Tümör hücresi immün sürveyansının bozulmasının, malign öncesi hücrelerin hayatta kalmasını ve çoğalmasını kolaylaştırabileceği düşünülmektedir. Bağışıklık mikroçevresinin CVID ile ilişkili mide kanseri patogenezinde ve ilerlemesinde önemli etkileri olmasına rağmen, bu bağlamda bağışıklık ortamının derinlemesine bir analizi henüz bulunmamaktadır. Bu noktada doğuştan bağışıklık hataları olan hastalar, mide adenokarsinomunda immünolojik, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimini ortaya çıkartmak için önemli bir bağlam oluşturabilir (Gullo ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.12. CVID'li hastalarda mide kanseri gelişiminin varsayımsal mekanizmaları (Leone ve diğerleri, 2018).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda miRNA'ların da CVID'de mide kanseri riskini arttığına dair kanıtlar bildirilmiştir. MiRNA'ların anlatımındaki değişiklikler daha önce kanser, nörodejeneratif hastalıklar, bağışıklık ilişkili hastalıklar ve viral enfeksiyonlar gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir (Li ve Kowdley, 2012).

Literatür verileri miR-142 ve miR-155 olmak üzere iki miRNA'nın primer immün yetmezlikte rol oynadığını göstermektedir (Kramer, 2015; Rodriguez, 2007). MiR-142 ve miR-155'in susturulduğu knock-out fare modellerinde yapılan çalışmalarda, farelerin hipogamaglobulinemi, adaptif immün yetmezlik, poliklonal proliferasyon, akciğer hastalığı ve enterik inflamasyonu olan CVID hastalarına fenotipik benzerlikler gösterdiği bildirilmiştir (Kramer, 2015; Rodriguez, 2007). Bununla birlikte düşük miR-155-5p ve miR-142 seviyeleri mide kanserinde bildirilmiş ve ileri evre tümörler ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir (Jia, 2017; Wang, 2018; Zare, 2019). CVID hastalarında miR-142 ve miR-155 delesyonu henüz tespit edilmemiş olsa da bu miRNA'ların her ikisinin de CVID'in mide kanseri, mide MALT (Mukoza ilişkili lenfoid doku) lenfoma, doğal katil/T hücreli lenfoma (NKTCL) ve immün trombositopeni gibi otoimmün ve neoplastik klinik komplikasyonlarında rol oynadığı tespit edilmiştir. CVID'in enfeksiyöz olmayan komplikasyonlarında bu iki miRNA'yı içeren potansiyel yollar Şekil 2.13'te özetlenmiştir (Amato ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.13. CVID'in bulaşıcı olmayan komplikasyonlarında miRNA'ların rolü (Amato ve diğerleri, 2020).

CVID, mide maligniteleri için predispozan bir faktör gibi görünmektedir. Bu artan duyarlılığın nedenleri hala belirsizliğini korumaktadır ve CVID-kanser ilişkisinin altında yatan moleküler mekanizmaları aydınlatmak için ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır. Potansiyel olarak kanserojen patojenlere karşı zayıf bağışıklık, zayıflamış tümör hücresi gözetimi ve T ve B hücre kusurları şüphesiz predispozan faktörlerdir.

Tüm bu risk faktörlerinin yanı sıra artan kanıtlar CVID ve mide kanseri hastalarında belirgin bir intraepitelyal lenfosit (IEL) artışının olduğunu vurgulamaktadır. CVID'li özellikle kronik malabsorbsiyonlu hastaların gastrointestinal biyopsilerinde artmış IEL seviyeleri yaygın bir histolojik bulgudur (Biagi, 2012; Daniels, 2007; Malamut, 2010). Mide ve kolon kanseri biyopsi örneklerinde yapılan bir çalışmada yüksek düzeyde intraepitelyal mononükleer lenfositler bulunduğu bildirilmiştir (Nadezhin, 2000). Üst gastrointestinal kanalda artan IEL seviyeleri, çeşitli mukozal hasarlara bir yanıttır. Bununla birlikte, gastrointestinal yol biyopsisinde gastrik IEL'in sıklığı ve etiolojisi henüz aydınlatılmamıştır (Sunjida ve Ruliang, 2019).

Artan mide kanseri risklerine rağmen, CVID'li bireylere mide kanseri veya kanser riski yüksek erken lezyonlar için henüz rutin bir tarama önerisi ve dünya çapında bir fikir birliği kılavuzu bulunmamaktadır. CVID hastalarının heterojenliği nedeniyle, tedavileri ve takipleri ile ilgili belirlenmiş kurallar yoktur. Tedavi genel olarak Ig infüzyonunu gerektirmektedir ancak artan malignite riskini önlemek için yeterli immünoglobulin replasmanının olup olmadığı göz ardı edilen bir husustur. Mide kanseri ve lenfoma tedavisinde bağışıklığı yeterli hastalar için mevcut protokoller takip edilmelidir. Ancak gastrik neoplaziler açısından yüksek risk altındaki hastaları daha iyi belirlemek ve tedavi etmek için moleküler biyobelirteçlerin tanımlanması önemlidir. Bu bağlamda bu tez kapsamında CVID ve mide kanseri patogenezinde rol oynayan etkin moleküler düzenleyicilerin ve ortak aday regülatörlerin biyoinformatik araçlar kullanarak tespit edilmesi amaçlanmaktadır. Tespit edilen ortak aday moleküler yollar ve ortak düzenleyici moleküller ileri deneysel çalışmalarla valide edildikten sonra mide kanseri ve CVID hastalığının prognozu, tedavisi ve kontrolünde kullanılabilir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Veri Seçimi ve Diferansiyel Ekprese Edilen Gen (DEG) Analizleri

Bu tez çalışmasında kullanılan veri setleri halka açık erişimi olan National Center for Biotechnology Information Gene Expression Omnibus (NCBI-GEO) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) veri tabanından elde edilmiştir ve herhangi bir insan/hayvan örneği kullanılmamıştır. NCBI-GEO veri seti halka açık erişimi olduğu için çalışmamız etik kurul onayı gerektirmemektedir. Çalışmanın metodolojisine ait şema Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.

NCBI-GEO veri tabanında Nisan 2021'e kadar yüklenen veri setleri içerisinde CVID ve mide kanseri ile ilişkili olanlar iki araştırmacı tarafından bağımsız olarak incelenmiştir. NCBI-GEO veri tabanının arama motorunda farklı filtreler kullanılarak taranan veri setleri arasından çalışmaya uygun olanlar belirlenmiştir. CVID ile ilgili veri setlerini belirlemek için “(“common variable immunodeficiency”[MeSH Terms] OR common variable immunodeficiency[All Fields]) AND “Homo sapiens”[porgn] AND “Expression profiling by array”[Filter]” anahtar kelimeleri kullanılmıştır ve 10 veri seti belirlenmiştir. Mide kanseri ile ilgili veri setleri için ise “(“stomach neoplasms”[MeSH Terms] OR gastric cancer[All Fields]) AND “Homo sapiens”[porgn] AND (“Expression profiling by array”[Filter]” filtresi uygulayarak 290 veri seti belirlenmiştir. Belirlenen veri setleri içerisinde çalışmaya dahil edilenler çeşitli kriterler üzerinden değerlendirilerek seçilmiştir. Her iki hastalık için de veri setleri seçilirken kullanılan kriterler: (i) doku örneği veya tüm kan örneğinden çalışılmış olması; (ii) vaka-kontrol çalışmasının bulunması; (iii) ilaç kullanılmaması (iv) aynı mikroarray platformu ile çalışılması. Tüm bu kriterlere uymayan çalışmalar dışlanmıştır. Sonuç olarak CVID için iki (GSE72625, GSE51405), mide kanseri için bir (GSE29998) olmak üzere üç veri seti çalışmaya dahil edilmiştir ve sonrasında elde edilen DEG'lerin konfirmasyonu için farklı bir mide kanseri veri seti de (GSE26942) kullanılmıştır. CVID veri seti olan GSE72625'te 20 CVID hastasının (8 normal CVID ve 12 artmış IEL (intraepitelyal lenfosit) olan CVID) ve 17 sağlıklı kontrolün

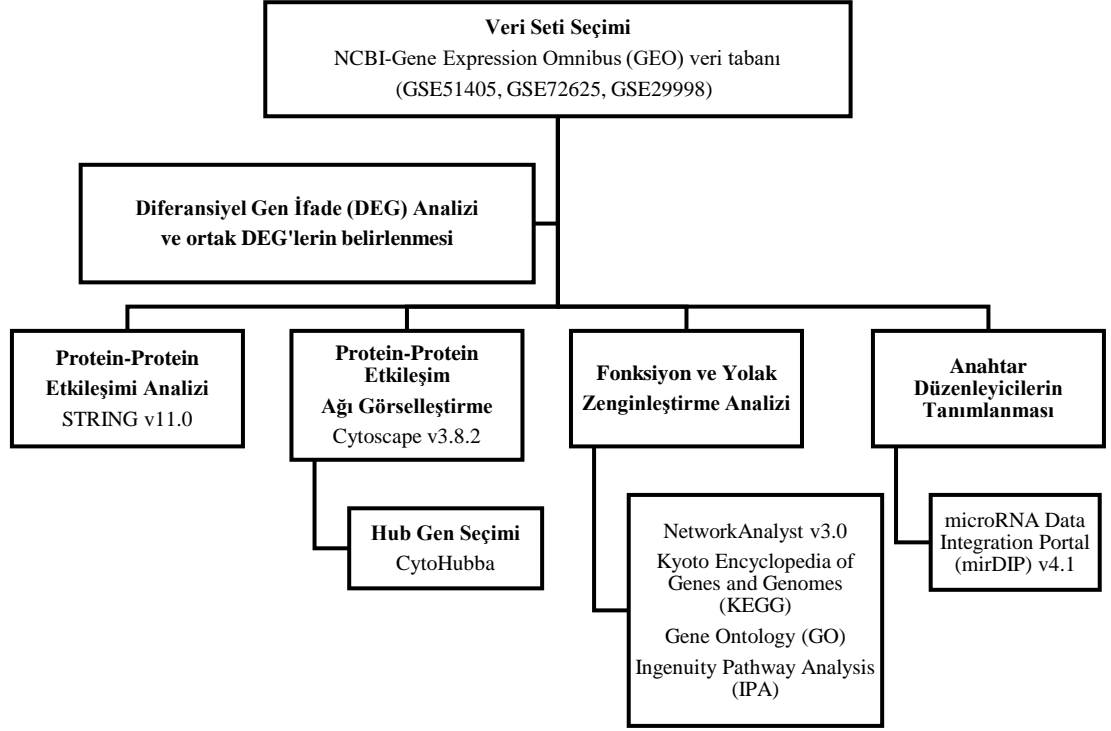
duodenal biyopsi örneklerinde çalışılan mikroarray dataları kullanılmıştır. Bir diğer CVID veri seti olan GSE51405'te hematolojik veya organa özgü otoimmünite, biyopsi ile kanıtlanmış granülomatöz hastalık veya interstisyel akciğer hastalığı, lenfoid hiperplazi/splenomegali veya gastrointestinal inflamatuvar hastalık ile birlikte karakteristik inflamatuvar komplikasyonları olan (n=29) veya olmayan (n=30) toplam 59 CVID hastası ve 24 sağlıklı kontrolü içeren bireylerin tüm kan örneklerinden çalışılan mikroarray dataları kullanılmıştır. Mide kanseri için kullanılan GSE29998 veri setinde ise 50 mide adenokarsinom örneğinin ve 49 kontrol örneğinin mikroarray verileri çalışmaya dahil edilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada analiz edilen GEO veri setleri.

Hastalık	Veri Seti	Örnek Tipi	Kontrol-Vaka Grubu		Metot	Platform
CVID	GSE51405	Tüm kan	24 Kontrol	29 komplikasyonlu CVID hastası 30 komplikasyon olmayan CVID hastası 59 toplam CVID hastası	mRNA-array	Illumina HumanHT-12 V3.0 expression beadchip
CVID	GSE72625	Duodenal biyopsi	17 Kontrol	12 artmış IEL seviyesi olan CVID hastası 8 IEL artışı olmayan CVID hastası 20 toplam CVID hastası	mRNA-array	Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip
MK	GSE29998	Mide adenokarsinomu	49 Kontrol	50 tümör dokusu	mRNA-array	Illumina HumanHT-12 V3.0 expression beadchip
MK	GSE26942	Mide kanseri dokusu	3 Kontrol	3 tümör dokusu	mRNA-array	Illumina HumanHT-12 V3.0 expression beadchip

CVID: Common Variable Immunodeficiency, MK: Mide Kanseri

Çalışmaya dahil edilen veri setleri limma paketi kullanılarak R yazılımı ile analiz edilmiştir (<https://www.r-project.org/>). Analiz edilen verilerde p -değeri $<0,05$, Benjamini & Hochberg (False discovery rate) yöntemi ile düzeltilmiş p -değeri $<0,05$ [adjusted p -value (adj- p)] ve log-transformasyon uygulanmış [Fold change (Katlama değişikliği)] $\log_2FC>1$ - $\log_2FC<-1$ [Fold change (Katlama değişikliği)] olan DEG'ler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Her veri seti kendi içinde analiz edilip istatistiksel olarak anlamlı DEG'ler belirlendikten sonra iki hastalık için de belirlenmiş olan anlamlı DEG'ler karşılaştırılarak ortak DEG'ler belirlenmiş ve Venn diyagramları ile gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmanın metodolojik yaklaşımı.

3.1.1. Bağımsız Veri Setlerinde Sonuçların Validasyon Analizleri

Veri setlerinde tespit edilen ortak DEG'ler daha sonra bağımsız bir mide kanseri veri seti olan GSE26942 ile karşılaştırılarak valide edilmiştir. GSE26942 veri seti 105 mide tümör dokusu, 12 mide tümör çevresi sağlık dokusu içermektedir. Bu örnekler arasından 3 tümör dokusu ve 3 çevreleyen doku örneği analize dahil edilmiştir ve 48 789 prob içerisinden 19 DEG ($p < 0,05$, $\log_2FC > 1$ ve $\log_2FC < -1$, $\text{adj } p < 0,05$) tespit edilmiştir. İki hastalık için veri setlerinde belirlenmiş olan anlamlı ortak DEG'ler ile GSE26942 veri setinde belirlenen DEG'ler karşılaştırarak sonuçların validasyonu gerçekleştirilmiştir. Her iki hastalık için çalışmaya alınan veri setlerinde anlamlı kabul edilen DEG'lere ait keşimleri gösteren Venn diyagramları Venny 2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) web sayfası kullanılarak oluşturulmuştur.

3.2. Protein-Protein Etkileşim Ağı Analizi

İki hastalık için üç ayrı veri setinin ortak DEG'lerinin protein-protein etkileşim (PPE) analizleri STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) v11.0 çevrimiçi veri tabanı kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve protein etkileşim ağı birleşik skoru $>0,4$ seçilmiştir (<https://string-db.org/>). STRING'deki temel etkileşim prensibi iki ya da daha fazla proteinin belirli bir biyolojik işleve ortak olarak katkıda bulunmasına dayanan 'fonksiyonel ilişkidir'. Proteinlerin bu şekilde ilişkilendirilmesi için fiziksel olarak etkileşime girmeleri gerekmez. Bunun yerine, hücredeki işlevsel rollerinin en azından bir kısmının spesifik olarak örtüşmesi yeterlidir. Bu tanım gereği, aynı yolak içerisinde bir inhibitör ve bir aktivatör gibi birbirini antagonize eden proteinler bile fonksiyonel olarak ilişkilendirilebilmektedir (Szklarczyk ve diğerleri, 2019).

3.2.1. Hub Genlerin Tanımlanması

Cytoscape v3.8.2 yazılımı protein-protein etkileşim ağı görselleştirilmesinde kullanılmıştır ve CytoHubba eklentisi ile ağın topolojik özellikleri analiz edilerek PPE ağında en yüksek derecede etkileşime sahip genler hub olarak belirlenmiştir. Cytoscape, hem görselleştirme seçeneklerini hem de ağ analizini genişletmek için birçok eklentiye sahip açık bir platformdur (Shannon ve diğerleri, 2003). CytoHubba eklentisi, 11 farklı topolojik analiz yöntemiyle protein etkileşimlerini hesaplar ve hub genlerin de bu puanlamalara göre seçilmesinde basit bir arayüz sağlamaktadır (Chin ve diğerleri, 2014). Bu tez kapsamındaki çalışmada iki hastalık için ortak olarak tanımlanan “hub genler” topolojik analizde “ağ düğüm derecesine” göre en yüksek değere sahip genler olarak belirlenmiştir. Buna göre seçilen hub genlere ait proteinler, protein etkileşim ağında en fazla etkileşime sahip olan hub moleküllerdir.

3.3. Fonksiyon ve Yolak Zenginleştirme Analizleri

Çalışmaya dahil edilen veri setlerindeki ortak DEG'lerin moleküler yolaklardaki ve biyolojik süreçlerdeki fonksiyonlarını ve kümelenmelerini analiz etmek için gen ifadesi analizinde kapsamlı bir ağ görsel analiz platformu olan NetworkAnalyst 3.0 çevrimiçi veri tabanı kullanılmıştır (<https://www.networkanalyst.ca/>) (Zhou ve diğerleri, 2019). Ayrıca belirlenen hub genlerin moleküler yolaklardaki zenginleşmeleri ve insan hastalıkları ile ilişkilerinin tanımlanması için IPA (Ingenuity Pathway Analysis) yazılımında Ingenuity Pathway Knowledge Base (IPKB) ile gerçekleştirilmiştir (QIAGEN Inc., <https://www.qiagenbioinformatics.com/products/ingenuity-pathway-analysis>).

Fonksiyon zenginleştirme analizlerinde hipergeometrik teste göre $p < 0,05$ değerine sahip Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) ve Gen Ontoloji (GO) terimleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gen Ontoloji (GO) (<http://geneontology.org>), biyolojik bilgiyi temsil etmek için ontolojileri kullanarak genlerin ve gen ürünlerinin (protein veya RNA) işlevleri hakkında deneysel çalışmalara dayanarak bilgi veren topluluk temelli bir biyoinformatik araçtır. GO terimleri, Moleküler fonksiyon (GO-MF), Biyolojik süreç (GO-BP) ve Hücrenel bileşen (GO-CC) olmak üzere üç açıdan genlerin ve gen ürünlerinin tanımlanmasına imkan sağlar (The Gene Ontology Consortium 2019). Bir gen ve genom ansiklopedisi olan KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>) ise çeşitli veri tabanlarını entegre ederek genlerin ve etkileşimlerinin moleküler düzeyde fonksiyonlarını hücrenel yolaklarda kategorize eder (Kanehisa, Furumichi, Tanabe, Sato, Morishima, 2017).

3.4. Aday Moleküler Düzenleyicilerin Tanımlanması

Çalışmaya alınan veri setlerinden elde edilen hub genlerin miRNA regülatörleri miRDIP (microRNA Data Integration Portal) v4.1 veri tabanı kullanılarak tespit edilmiştir (<https://ophid.utoronto.ca/mirDIP/>) (Tokar ve diğerleri, 2018). MiRDIP, 30 farklı kaynaktan toplanan insan microRNA-mRNA hedef tahminlerini sağlayan halka açık bir veri tabanıdır ve tüm hub genlerin girdi olarak gönderilmesine olanak sağlayarak girdi listesinde ortak hedef genleri olan miRNA'ların bir listesini verir.

Veri tabanında arama çeşitli puan skoru kriterlerine göre yapılabilmektedir. Bu tez çalışmasında microRNA-mRNA hedef tahminlemesini daha doğru ve güvenilir hale getirmek için, miRDIP arama kriterinde puan sınıfı “high”/“yüksek” (en iyi %5) olarak belirlenmiştir.

3.5. TCGA Verilerinde Sonuçların Validasyon Analizi

Tez kapsamında belirlenen hub genlerin mide kanserindeki ekspresyon seviyelerinin The Cancer Genome Atlas (TCGA)'daki RNA-seq verileri ile karşılaştırılması GEPIA2 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis) diferansiyel gen ekspresyon analizi ile gerçekleştirilmiştir (<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>). Bu analizde diferansiyel yöntem olarak “ANOVA”, $|\text{Log}_2\text{FC}|$ Cutoff değeri: “1”, p -value Cutoff değeri “0,01”, veri seti “STAD” seçilmiştir ve TCGA normal ve GTEx (The Genotype-Tissue Expression) verileri birlikte kullanılmıştır. TCGA, 33 kanser türünde 9 736 tümör örneği ve 726 normal örnek içermektedir. Bununla birlikte GTEx projesi yaklaşık 8 000 normal numune için RNA-seq verisi sağlamaktadır. Analize mide adenokarsinomu (STAD) için TCGA'dan 408 tümör ve 36 normal, GTEx'ten 175 normal örnek dahil edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. DEG Analizleri ve Ortak DEG'lerin Tanımlanması

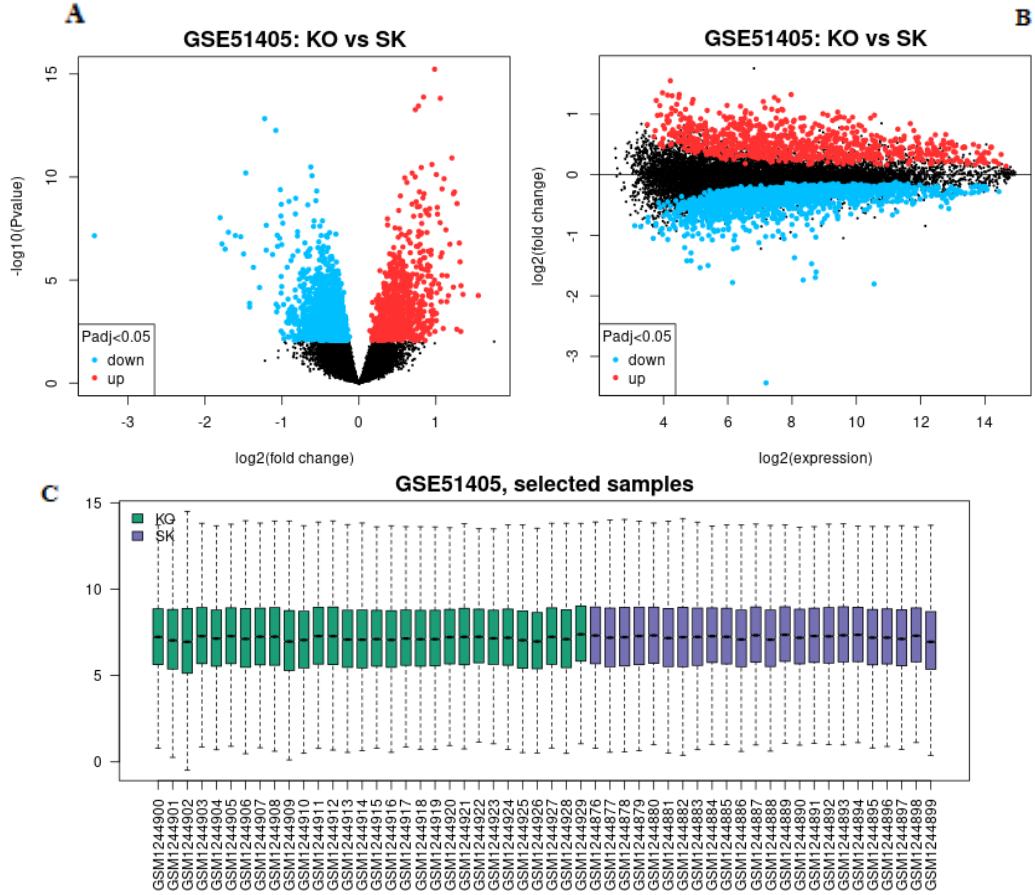
Çalışmaya dahil edilen GSE51405, GSE72625 ve GSE29998 veri setlerindeki mikroaday dataları ayrı ayrı analiz edilmiştir. GSE51405 veri seti GSE51405 Komplikasyonlu (K)-SK (Sağlıklı Kontrol), GSE51405 Komplikasyon Olmayan (KO)-SK ve GSE51405 CVID Tüm örnekler (T)-SK olmak üzere 3 farklı alt grupta analiz edilmiştir. Bu analizler sonucunda GSE51405(K)-SK' de 15 173 prob içinden 231 DEG, GSE51405(KO)-SK grubunda 15 183 prob içinden 51 DEG, GSE51405(T)-SK grubunda 14 490 prob içinden 87 DEG ($p<0,05$, $\log_2FC>1$ ve $\log_2FC<-1$, adj $p<0,05$) tespit edilmiştir. GSE72625 veri seti de GSE72625_IEL(+) (artmış IEL seviyesi olan)-SK, GSE72625_IEL(-) (artmış IEL seviyesi olmayan)-SK ve GSE72625 CVID Tüm örnekler (T)-SK olmak üzere 3 ayrı grupta analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda 47 323 prob içinden GSE72625_IEL(+)-SK grubunda 53 DEG, GSE72625_IEL(-)-SK grubunda 6 DEG, GSE72625(T)-SK grubunda 25 DEG ($p<0,05$, $\log_2FC>1$ ve $\log_2FC<-1$, adj $p<0,05$) tespit edilmiştir. Mide kanseri (MK) veri setinde (GSE29998) 11 483 prob içinden 556 DEG ($p<0,05$, $\log_2FC>1$ ve $\log_2FC<-1$, adj $p<0,05$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Veri setlerinde DEG analiz sonuçları.

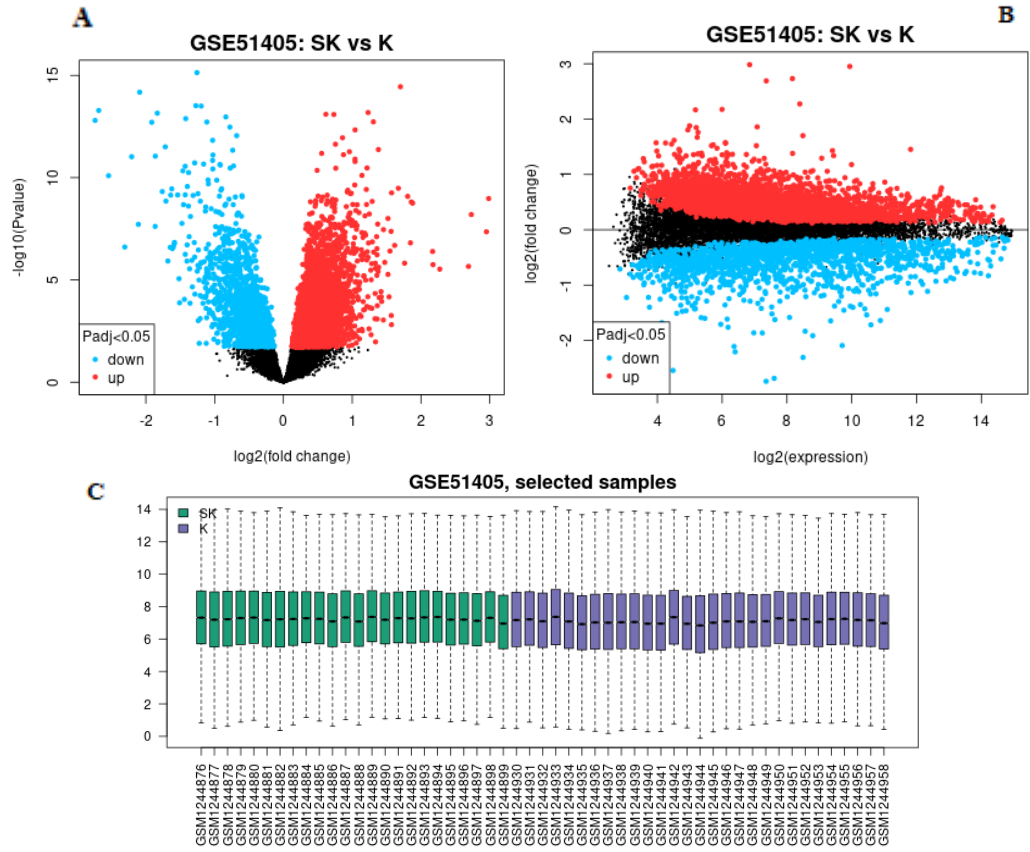
Veri Seti	Adj $p<0,05$, FC<-1, FC>1			
		Toplam prob	Ham DEG sayısı (Kodlanan transkript)	DEG*
GSE51405	K	15 173	247	231
	KO	15 183	57	51
	T	14 490	97	87
GSE72625	IEL(+)	47 323	69	57
	IEL(-)	47 323	6	6
	T	47 323	34	25
GSE29998	MK	11 483	627	556

K: Komplikasyon olan, KO: Komplikasyon Olmayan, T: Tüm örnekler, IEL(+):artmış IEL seviyesi olan, IEL(-):artmış IEL seviyesi olmayan, MK: Mide Kanseri
* Analize alınan DEG sayısı: Arrayde duplike problemlerin kalite kontrol aşamasından sonraki sayısı

Veri setlerinin R yazılımı ile normalizasyon işlemi yapıldıktan sonraki veri dağılımlarını gösteren Volkan grafikleri, ortalama fark grafikleri ve kutu grafikleri Şekil 4.1-4.7.'de verilmiştir (adj $p < 0,05$).

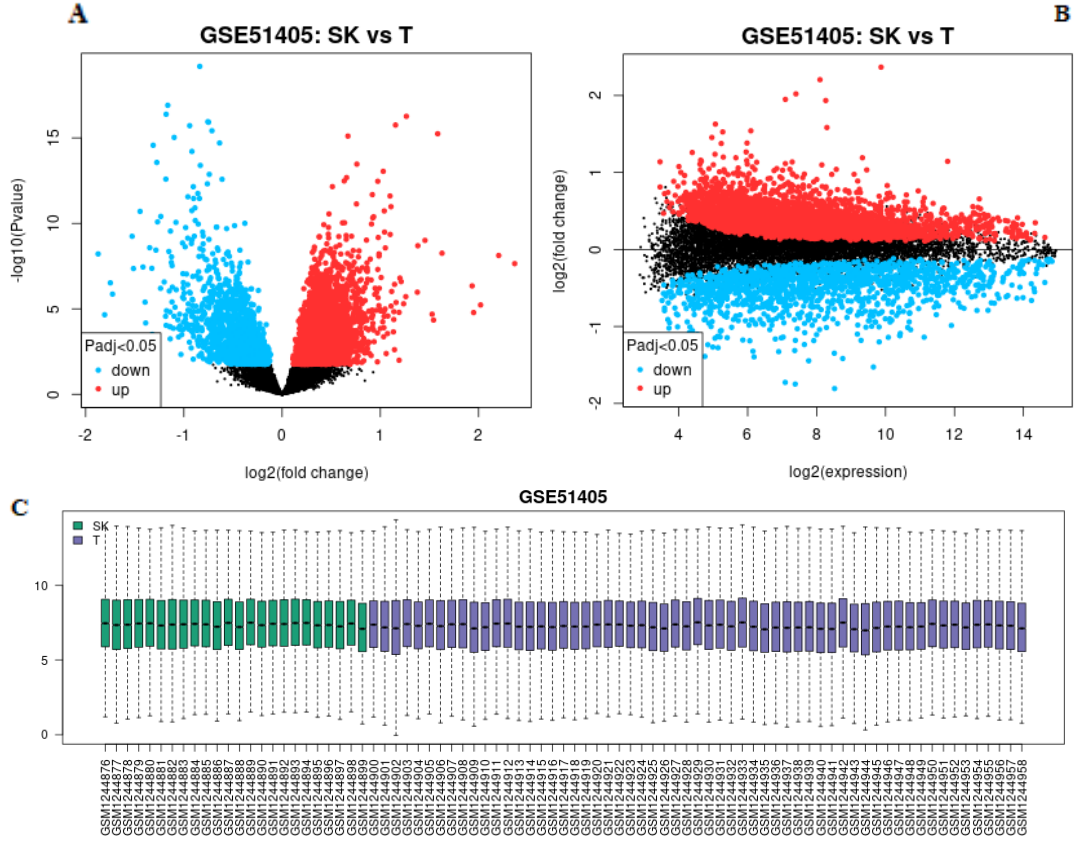


Şekil 4.1. GSE51405(KO)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı. A: Volkan Grafiği, B: Ortalama Fark Grafiği, C: Kutu Grafiği. (Mavi noktalar aşağı regüle DEG'leri, kırmızı noktalar yukarı regüle DEG'leri, siyah noktalar ekspresyonu değişmeyen genleri göstermektedir, KO: Komplikasyon Olmayan, SK: Sağlıklı Kontrol).

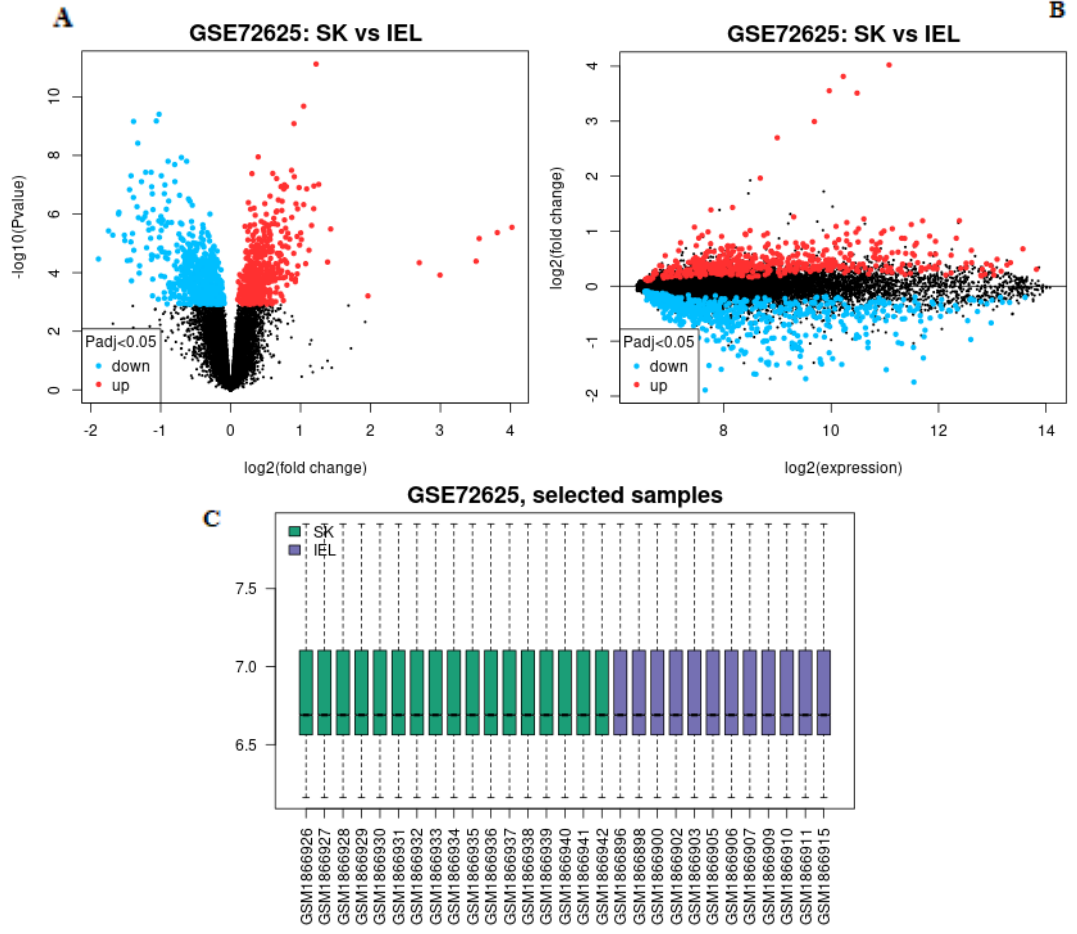


Şekil 4.2. GSE51405(K)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı.

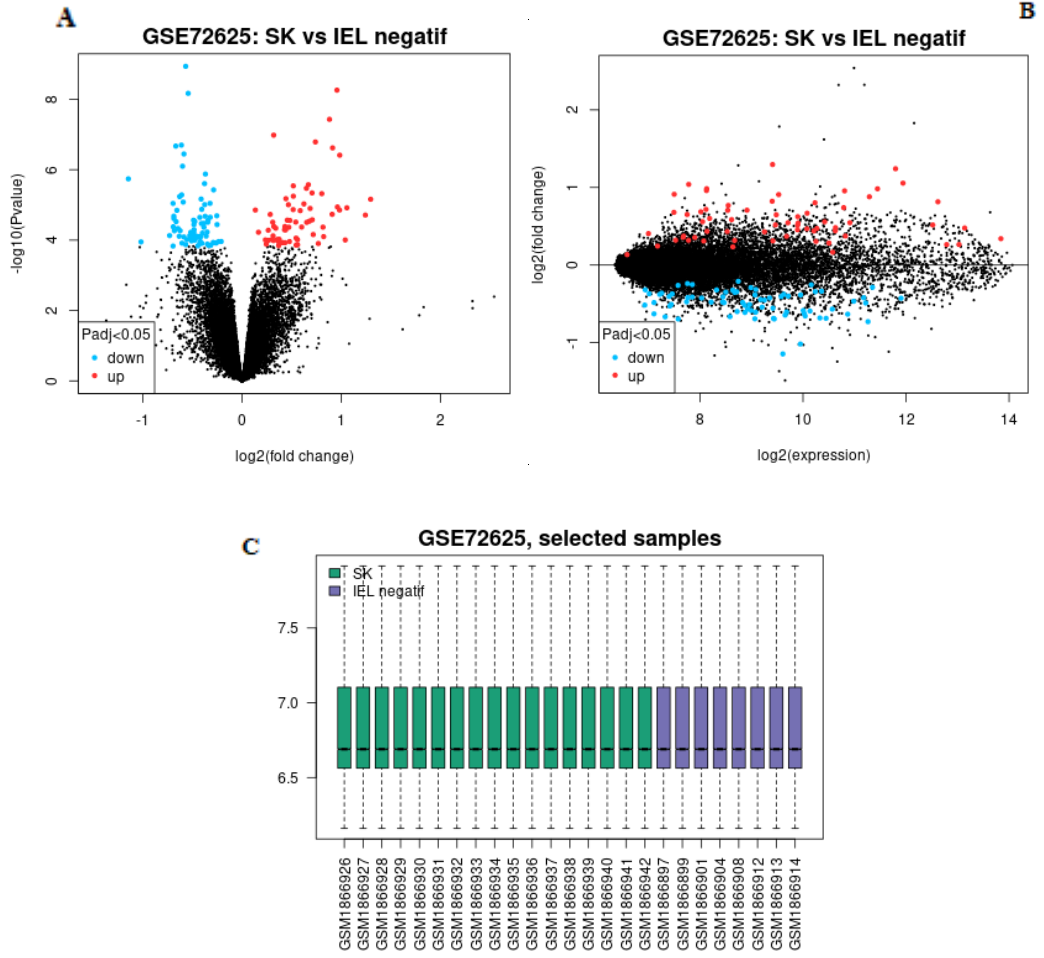
A: Volkan Grafiği, B: Ortalama Fark Grafiği, C: Kutu Grafiği (Mavi noktalar aşağı regüle DEG'leri, kırmızı noktalar yukarı regüle DEG'leri, siyah noktalar ekspresyonu değişmeyen genleri göstermektedir, K: Komplikasyonlu, SK: Sağlıklı Kontrol).



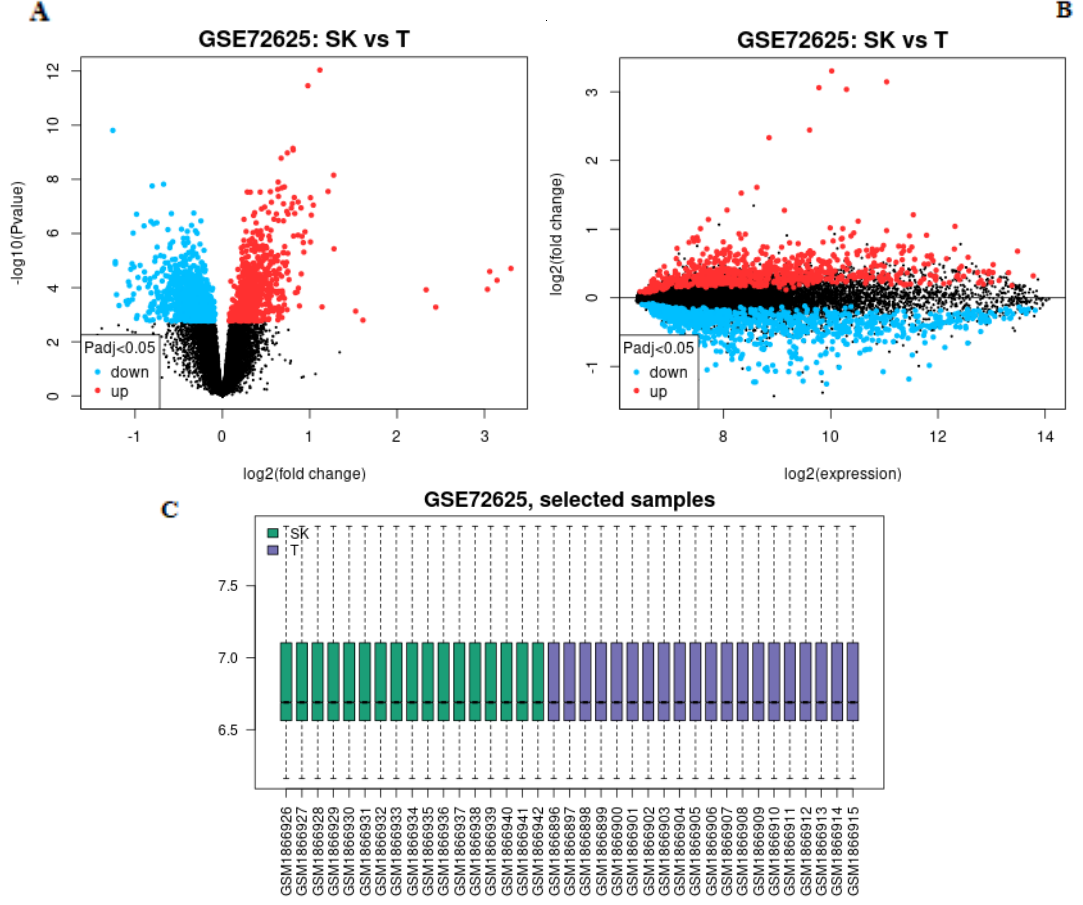
Şekil 4.3. GSE51405(T)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı. A: Volkan Grafiği, B: Ortalama Fark Grafiği, C: Kutu Grafiği (Mavi noktalar aşağı regüle DEG'leri, kırmızı noktalar yukarı regüle DEG'leri, siyah noktalar ekspresyonu değişmeyen genleri göstermektedir, T: Tüm Örnekler, SK: Sağlıklı Kontrol).



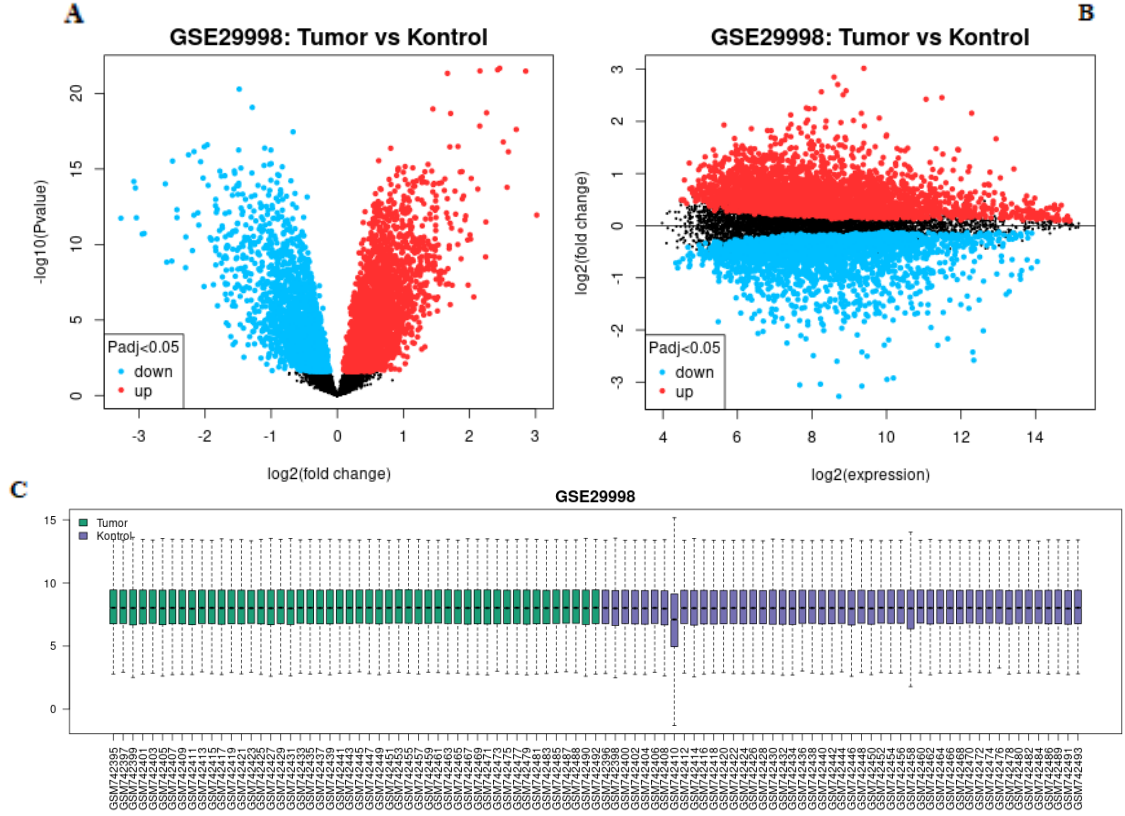
Şekil 4.4. GSE72625_IEL(+)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı. A: Volkan Grafiği, B: Ortalama Fark Grafiği, C: Kutu Grafiği (Mavi noktalar aşağı regüle DEG'leri, kırmızı noktalar yukarı regüle DEG'leri, siyah noktalar ekspresyonu değişmeyen genleri göstermektedir, IEL(+): artmış IEL seviyesi olan, SK: Sağlıklı Kontrol).



Şekil 4.5. GSE72625_IEL(-)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı. A: Volkan Grafiği, B: Ortalama Fark Grafiği, C: Kutu Grafiği (Mavi noktalar aşağı regüle DEG'leri, kırmızı noktalar yukarı regüle DEG'leri, siyah noktalar ekspresyonu değişmeyen genleri göstermektedir, IEL(-): artmış IEL seviyesi olmayan, SK: Sağlıklı Kontrol).



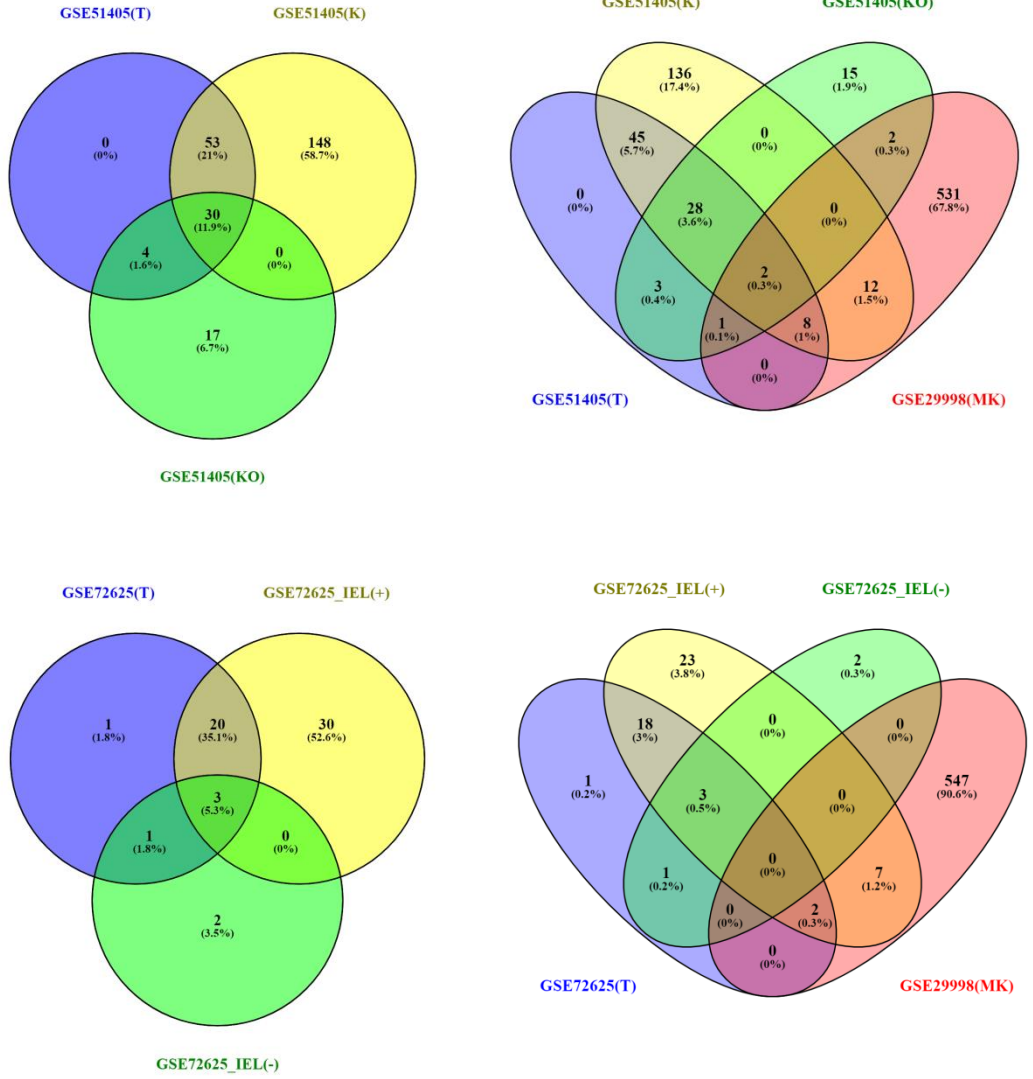
Şekil 4.6. GSE72625(T)-SK grubunda normalizasyon sonrası veri dağılımı. A: Volkan Grafiği, B: Ortalama Fark Grafiği, C: Kutu Grafiği (Mavi noktalar aşağı regüle DEG'leri, kırmızı noktalar yukarı regüle DEG'leri, siyah noktalar ekspresyonu değişmeyen genleri göstermektedir, T: Tüm Örnekler, SK: Sağlıklı Kontrol).



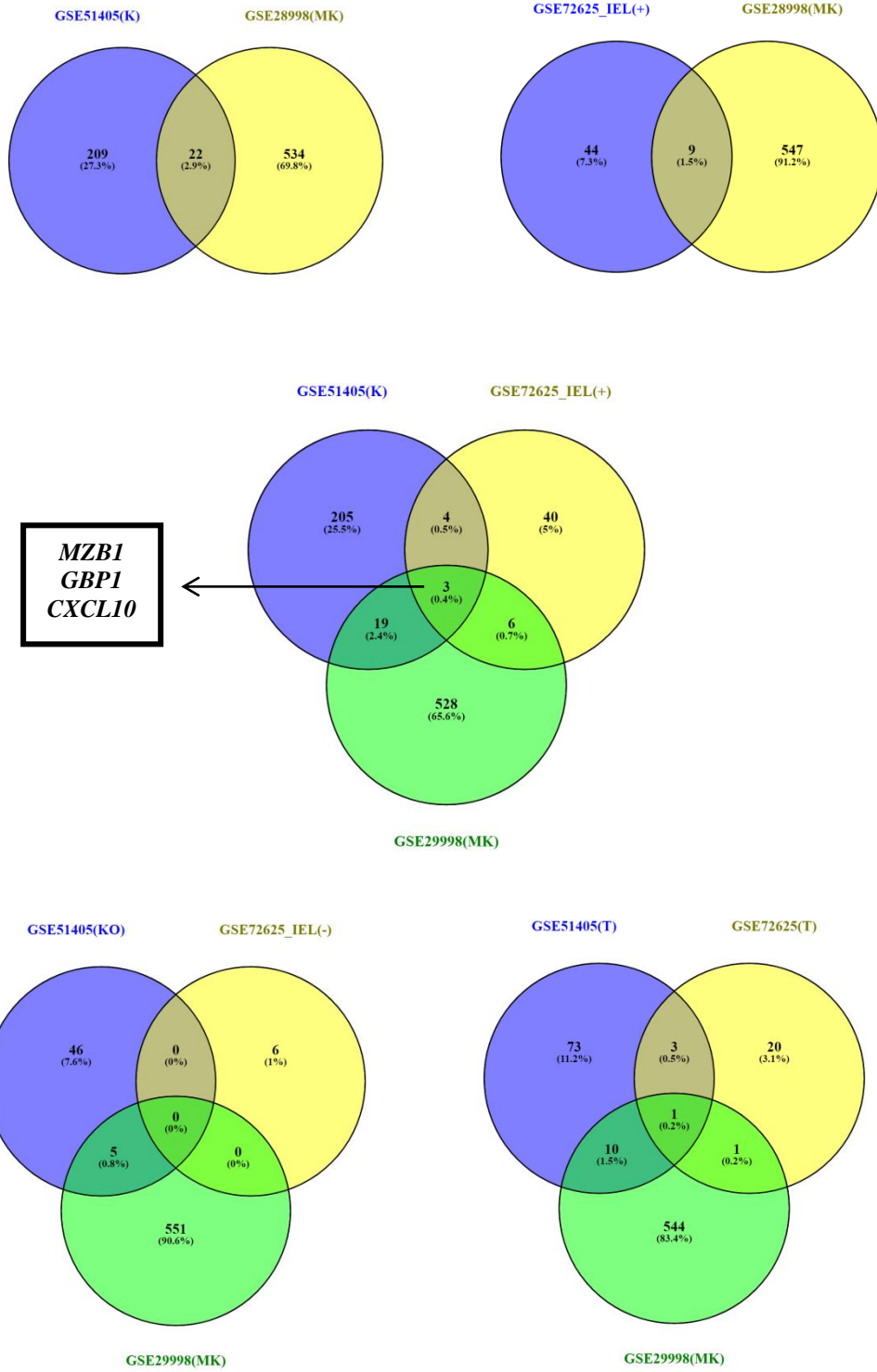
Şekil 4.7. GSE29998(MK) veri setinde normalizasyon sonrası veri dağılımı.

A: Volkan Grafiği, B: Ortalama Fark Grafiği, C: Kutu Grafiği (Mavi noktalar aşağı regüle DEG'leri, kırmızı noktalar yukarı regüle DEG'leri, siyah noktalar ekspresyonu değişmeyen genleri göstermektedir, MK: Mide Kanseri).

Tespit edilen DEG'ler veri setleri içerisinde ve ayrı ayrı mide kanseri ile karşılaştırılarak GSE51405(K)-GSE29998(MK) için 22, GSE51405(KO)-GSE29998(MK) için 5, GSE51405(T)-GSE29998(MK) için 11, GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için 9, GSE72625_IEL(-)-GSE29998(MK) için 0, GSE72625(T)-GSE29998(MK) için 2 ortak DEG tanımlanmıştır (Şekil 4.8). Veri setlerinde tespit edilen DEG'ler daha ayrıntılı incelendiğinde 3 genin (*MZB1*, *GBP1*, *CXCL10*) GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için 3 veri seti grubunda da ortak DEG olduğu ($p < 0,05$, $\log_2\text{FC} > 1$ ve $\log_2\text{FC} < -1$, $\text{adj } p < 0,05$) saptanmıştır (Şekil 4.9). *MZB1*, *GBP1*, *CXCL10* genlerinin GSE51405(K), GSE72625_IEL(+) ve GSE29998(MK) veri setlerine ait regülasyon seviyeleri Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. Veri setlerinde tespit edilen DEG'lerin ve ortak DEG'lerin Venn diyagramları ile gösterilmesi (K: Komplikeyonlu, KO: Komplikeyon Olmayan, T: Tüm örnekler, IEL(+): artmış IEL seviyesi olan, IEL(-): artmış IEL seviyesi olmayan, MK: Mide Kanseri).



Şekil 4.9. Veri setlerinde tespit edilen DEG'lerin ve ortak DEG'lerin Venn diyagramları ile gösterilmesi (K: Komplikasyon, KO: Komplikasyon Olmayan, T: Tüm örnekler, IEL(+):artmış IEL seviyesi olan, IEL(-):artmış IEL seviyesi olmayan, MK: Mide Kanseri).

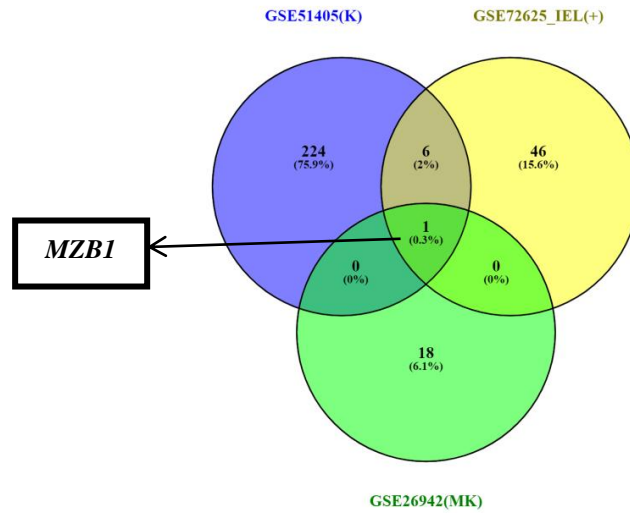
Çizelge 4.2. GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinde tespit edilen ortak DEG'lerin regülasyonları.

Gen	Veri Setlerinde Regülasyon		
	GSE51405(K)	GSE72625_IEL(+)	GSE29998(MK)
<i>MZB1</i>	-	-	-
<i>CXCL10</i>	+	+	+
<i>GBP1</i>	+	+	+

+: yukarı regüle, -: aşağı regüle, K: Komplikasyon, IEL(+):artmış IEL seviyesi olan, MK: Mide Kanseri

4.1.1. Bağımsız Veri Setlerinde Sonuçların Validasyonu

GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için tespit edilen 3 ortak DEG'in (*MZB1*, *GBP1* ve *CXCL10*) validasyonu için farklı bir mide kanseri veri seti olan GSE26942 kullanılmıştır. GSE26942 veri seti 105 mide tümör dokusu, 12 mide tümör çevresi sağlık dokusu içermektedir. Bu örnekler arasından 3 tümör dokusu ve 3 çevreleyen doku örneği analize dahil edilmiştir ve 48 789 prob içerisinden 19 DEG ($p < 0,05$, $\log_2FC > 1$ ve $\log_2FC < -1$, adj $p < 0,05$) tespit edilmiştir. Validasyon için GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE26942(MK) veri setlerinin DEG'leri karşılaştırılmıştır ve 3 veri seti için *MZB1* geninin ($p < 0,05$, $\log_2FC > 1$ ve $\log_2FC < -1$, adj $p < 0,05$) ortak olduğu saptanmıştır (Şekil 4.10.).



Şekil 4.10. Veri setlerinde tespit edilen DEG'lerin bağımsız mide kanseri veri setinde incelenmesi (K: Komplikasyon, IEL(+):artmış IEL seviyesi olan, MK: Mide Kanseri).

4.2. Protein-Protein Etkileşim Ağının Kurulması

STRING veri tabanı kullanılarak ortak DEG'ler için protein-protein etkileşim analizleri yapılmış ve veri kümeleri için istatistiksel olarak anlamlı PPE ağı oluşturulmuştur. Çizelge 4.3.'te veri setleri için PPE değerleri ve istatistiksel olarak anlamlı PPE ağları verilmiştir ($p < 0,05$). Protein-protein etkileşim ağı görselleştirme analizleri Cytoscape yazılımında CytoHubba eklentisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. CytoHubba 12 farklı topolojik terime göre (Betweenness, BottleNeck, Closeness, ClusteringCoefficient, Degree, DMNC, EcCentricity, EPC, MCC, MNC, Radiality, Stress) hub gen seçimine olanak sağlamaktadır. Bu tez kapsamında dereceye (degree) göre olan hub gen seçimi yapılmıştır. Dereceye göre yapılan analiz, ağdaki diğer proteinlerle olan etkileşim seviyesini göstermektedir ve en büyük dereceye sahip protein, ağdaki en çok etkileşime sahip olan en temel molekül olarak belirlenir. Bu hub genler belirtilen kriterlere göre GSE51405(K)-GSE29998(MK) için *GBP1*, *IFIT3*, *ISG15*, *IFI44L*, *EPSTI1*, *CXCL10*, *CD79A*, *MZB1*, *TOP2A*, *CCNB2* (Çizelge 4.4.), GSE51405(T)-GSE29998(MK) için *IFIT3*, *IFI44L*, *EPSTI1*, *CXCL10*, *MZB1*, *CD79A* (Çizelge 4.5.), GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için *GBP1*, *CXCL10*, *CXCL9*, *IFITM1*, *UBD* (Çizelge 4.6) olarak tespit edilmiştir. Dereceye göre yapılan analiz presenbine göre bu genlerin COVID'e bağlı mide kanserinde terapötik yaklaşımları kolaylaştırması muhtemeldir. Bu tez kapsamında belirlenen hub genlerin veri setlerindeki regülasyon yönleri Çizelge 4.7-9.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. PPE değerleri ve istatistiksel olarak anlamlı PPE ağları ($p < 0,05$).

Veri Seti	PPE Zenginleştirme p -değeri	
GSE51405	K	6.88e-09
	KO	1
	T	9.04e-08
GSE72625	IEL(+)	2.17e-05
	T	1
K∩IEL(+)	K∩IEL(+)	0.0224

K: Komplikasyon, KO: Komplikasyon Olmayan, T: Tüm örnekler, IEL(+):artmış IEL seviyesi olan

Çizelge 4.4. GSE51405(K)-GSE29998(MK) ortak DEG'lerinin (n=22) hub gen analiz sonuçları.

Gen	Betweenness	BottleNeck	Closeness	Clustering Coefficient	Degree	DMNC	EcCentricity	EPC	MC	MN	Radiality	Stress
<i>GBP1</i>	0,0	1,0	5,0	1,0	5,0	0,64826	0,54545	3,544	120,0	5,0	0,76364	0,0
<i>IFIT3</i>	0,0	1,0	5,0	1,0	5,0	0,64826	0,54545	3,505	120,0	5,0	0,76364	0,0
<i>ISG15</i>	0,0	1,0	5,0	1,0	5,0	0,64826	0,54545	3,578	120,0	5,0	0,76364	0,0
<i>IFI44L</i>	0,0	1,0	5,0	1,0	5,0	0,64826	0,54545	3,493	120,0	5,0	0,76364	0,0
<i>EPSTI1</i>	0,0	1,0	5,0	1,0	5,0	0,64826	0,54545	3,543	120,0	5,0	0,76364	0,0
<i>CXCL10</i>	0,0	1,0	5,0	1,0	5,0	0,64826	0,54545	3,523	120,0	5,0	0,76364	0,0
<i>CD79A</i>	2,0	3,0	2,0	0,0	2,0	0,0	0,27273	1,512	2,0	1,0	0,95455	2,0
<i>MZB1</i>	0,0	1,0	1,5	0,0	1,0	0,0	0,13636	1,307	1,0	1,0	0,81818	0,0
<i>TOP2A</i>	0,0	1,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,18182	1,246	1,0	1,0	0,54545	0,0
<i>CCNB2</i>	0,0	1,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,18182	1,246	1,0	1,0	0,54545	0,0

Çizelge 4.5. GSE51405(T)-GSE29998(MK) ortak DEG'lerinin (n=11) hub gen analiz sonuçları.

Genler	Betweenness	BottleNeck	Closeness	Clustering Coefficient	Degree	DMNC	EcCentricity	EPC	MC	MN	Radiality	Stress
<i>IFIT3</i>	0,0	1,0	3,0	1,0	3,0	0,46346	0,66667	2,581	6,0	3,0	111,111	0,0
<i>IFI44L</i>	0,0	1,0	3,0	1,0	3,0	0,46346	0,66667	2,541	6,0	3,0	111,111	0,0
<i>EPSTI1</i>	0,0	1,0	3,0	1,0	3,0	0,46346	0,66667	2,563	6,0	3,0	111,111	0,0
<i>CXCL10</i>	0,0	1,0	3,0	1,0	3,0	0,46346	0,66667	2,561	6,0	3,0	111,111	0,0
<i>MZB1</i>	0,0	1,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,33333	1,335	1,0	1,0	1,0	0,0
<i>CD79A</i>	0,0	1,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,33333	1,335	1,0	1,0	1,0	0,0

Çizelge 4.6. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) ortak DEG'lerinin (n=9) hub gen analiz sonuçları.

Gen	Betweenness	BottleNeck	Closeness	Clustering Coefficient	Degree	DMNC	EcCentricity	EPC	MC	MN	Radiality	Stress
<i>GBP1</i>	2,0	2,0	3,5	0,66667	3,0	0,30898	0,5	2,507	4,0	3,0	3,75	4,0
<i>CXCL10</i>	2,0	1,0	3,5	0,66667	3,0	0,30898	0,5	2,505	4,0	3,0	3,75	4,0
<i>CXCL9</i>	6,0	2,0	3,5	0,33333	3,0	0,30779	0,5	2,477	3,0	2,0	3,75	8,0
<i>IFITM1</i>	0,0	1,0	283,333	1,0	2,0	0,30779	0,33333	2,227	2,0	2,0	3,25	0,0
<i>UBD</i>	0,0	1,0	233,333	0,0	1,0	0,0	0,33333	1,714	1,0	1,0	3,0	0,0

Çizelge 4.7. GSE51405(K)-GSE29998(MK) veri setlerine ait hub genlerin regülasyonları.

GSE51405(K)-GSE29998(MK)	GSE51405(K)	GSE29998(MK)
<i>GBP1</i>	+	+
<i>IFIT3</i>	+	+
<i>ISG15</i>	+	+
<i>IFI44L</i>	+	+
<i>EPSTI1</i>	+	+
<i>CXCL10</i>	+	+
<i>CD79A</i>	-	-
<i>MZB1</i>	-	-
<i>TOP2A</i>	+	+
<i>CCNB2</i>	+	+

+: yukarı regüle, -: aşağı regüle, K: Komplikasyon, MK: Mide Kanseri

Çizelge 4.8. GSE51405(T)-GSE29998(MK) veri setlerine ait hub genlerin regülasyonları.

GSE51405(T)-GSE29998(MK)	GSE51405(T)	GSE29998(MK)
<i>IFIT3</i>	+	+
<i>IFI44L</i>	+	+
<i>EPSTI1</i>	+	+
<i>CXCL10</i>	+	+
<i>MZB1</i>	-	-
<i>CD79A</i>	-	-

+: yukarı regüle, -: aşağı regüle, MK: Mide Kanseri, T: Tüm örnekler

Çizelge 4.9. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerine ait hub genlerin regülasyonları.

GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK)	GSE72625_IEL(+)	GSE29998(MK)
<i>GBP1</i>	+	+
<i>CXCL10</i>	+	+
<i>CXCL9</i>	+	+
<i>IFITM1</i>	+	+
<i>UBD</i>	+	+

+: yukarı regüle, -: aşağı regüle, IEL(+):artmış IEL seviyesi olan, MK: Mide Kanseri

4.3. DEG'lerin Moleküler Yolaklarda ve Biyolojik Süreçlerde Zenginleştirilmesi

4.3.1. KEGG Yolak Zenginleştirme Analizi

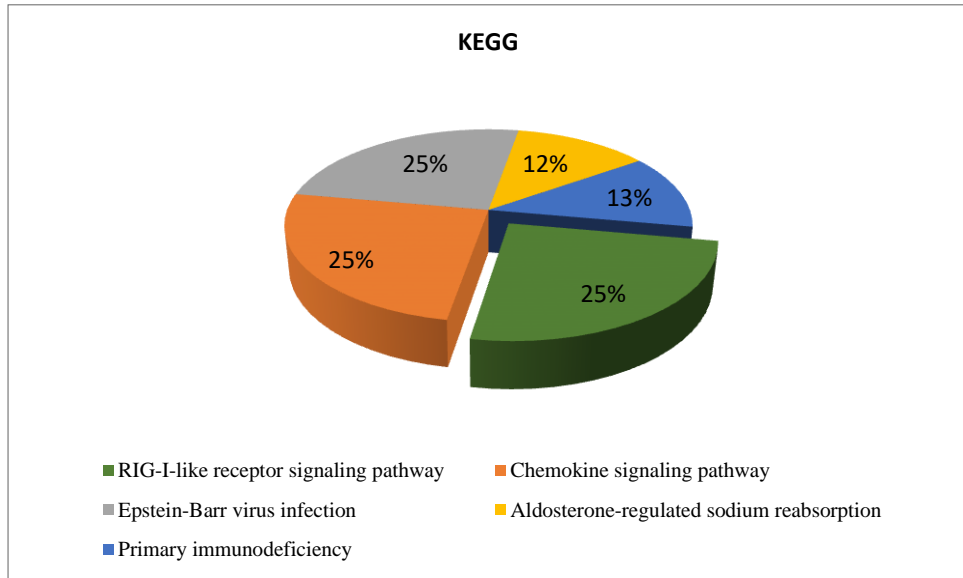
Tespit edilen DEG'ler veri setleri içerisinde ve ayrı ayrı mide kanseri ile karşılaştırıldığında GSE51405(K)-GSE29998(MK) için 22, GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için 9 ortak DEG tespit edilmiştir ve yolak zenginleştirme analizlerine komplikasyonlu hastaları içeren sadece bu iki grupta tanımlanan ortak DEG'ler dahil edilmiştir. Komplike grup içermeyen ve yeterli sayıda ortak DEG bulundurmeyen diğer gruplar dışlanmıştır. Ayrıca GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için 3 veri seti grubunda da ortak DEG olduğu belirlenen hub genlerin (*MZB1*, *GBP1*, *CXCL10*) ($p < 0,05$, $\log_2FC > 1$ ve $\log_2FC < -1$, $\text{adj } p < 0,05$) moleküler yolaklardaki zenginleştirmeleri ve insan hastalıkları ile ilişkilendirmeleri gerçekleştirilmiştir.

Ortak DEG'ler arasından GSE51405(K)-GSE29998(MK) için istatistiksel olarak anlamlı 5 tane KEGG terimi bulunmuştur. Bu KEGG terimleri arasında en anlamlı olan "RIG-I-benzeri reseptör sinyal yolağı" ($p = 0,00346$) olarak belirlenmiştir. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için istatistiksel olarak anlamlı olan KEGG terimleri Çizelge 4.10.'da ve Şekil 4.11.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=22) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı olan KEGG terimleri ($p<0,05$).

KEGG	Pathway	Total	Expected	Hits	P-value	FDR	Genes
hsa04622	RIG-I-like receptor signaling pathway	70	0,0905	2	0,00346	1	<i>CXCL10, ISG15</i>
hsa04062	Chemokine signaling pathway	190	0,246	2	0,0237	1	<i>CXCL10, GNG7</i>
hsa05169	Epstein-Barr virus infection	201	0,26	2	0,0263	1	<i>CXCL10, ISG15</i>
hsa04960	Aldosterone-regulated sodium reabsorption	37	0,0478	1	0,0468	1	<i>NR3C2</i>
hsa05340	Primary immunodeficiency	37	0,0478	1	0,0468	1	<i>CD79A</i>

FDR (False Discovery Rate); Yanlış Keşif Oranı



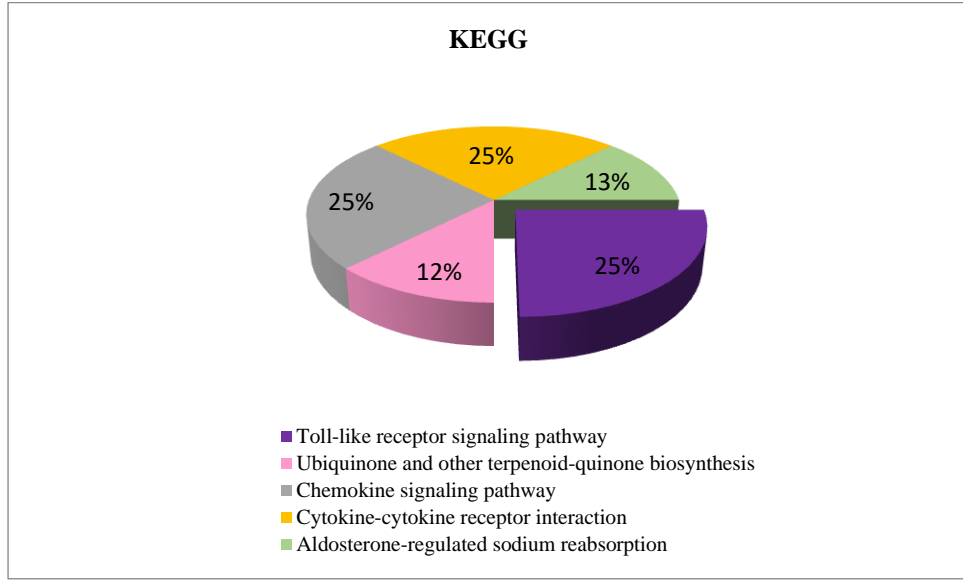
Şekil 4.11. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=22) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı KEGG terimleri ($p<0,05$). Daire diliminin büyüklüğü ilgili yolağın anlamlılık derecesiyle doğru orantılıdır. En anlamlı yolağı içeren daire dilimi ayrı gösterilmiştir.

GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için belirlenen istatistiksel olarak anlamlı 5 tane KEGG terimi içerisinde en anlamlı olan “Toll benzeri reseptör sinyal yolağı” ($p=0,0036$) olarak tanımlanmıştır. Ortak DEG'lerin kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı olan KEGG terimleri Çizelge 4.11.'de ve Şekil 4.12.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=9) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı olan KEGG terimleri ($p<0,05$).

KEGG	Pathway	Total	Expected	Hits	P-value	FDR	Genes
hsa04620	Toll-like receptor signaling pathway	104	0,0941	2	0,0036	1	<i>CXCL10, CXCL9</i>
hsa00130	Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	11	0,00995	1	0,00991	1	<i>NQO1</i>
hsa04062	Chemokine signaling pathway	190	0,172	2	0,0116	1	<i>CXCL10, CXCL9</i>
hsa04060	Cytokine-cytokine receptor interaction	294	0,266	2	0,0266	1	<i>CXCL10, CXCL9</i>
hsa04960	Aldosterone-regulated sodium reabsorption	37	0,0335	1	0,033	1	<i>SCNNIA</i>

FDR (False Discovery Rate); Yanlış Keşif Oranı



Şekil 4.12. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=9) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı KEGG terimleri ($p<0,05$). Daire diliminin büyüklüğü ilgili yolağın anlamlılık derecesiyle doğru orantılıdır. En anlamlı yolağı içeren daire dilimi ayrı gösterilmiştir.

4.3.2. GO Yolak Zenginleştirme Analizi

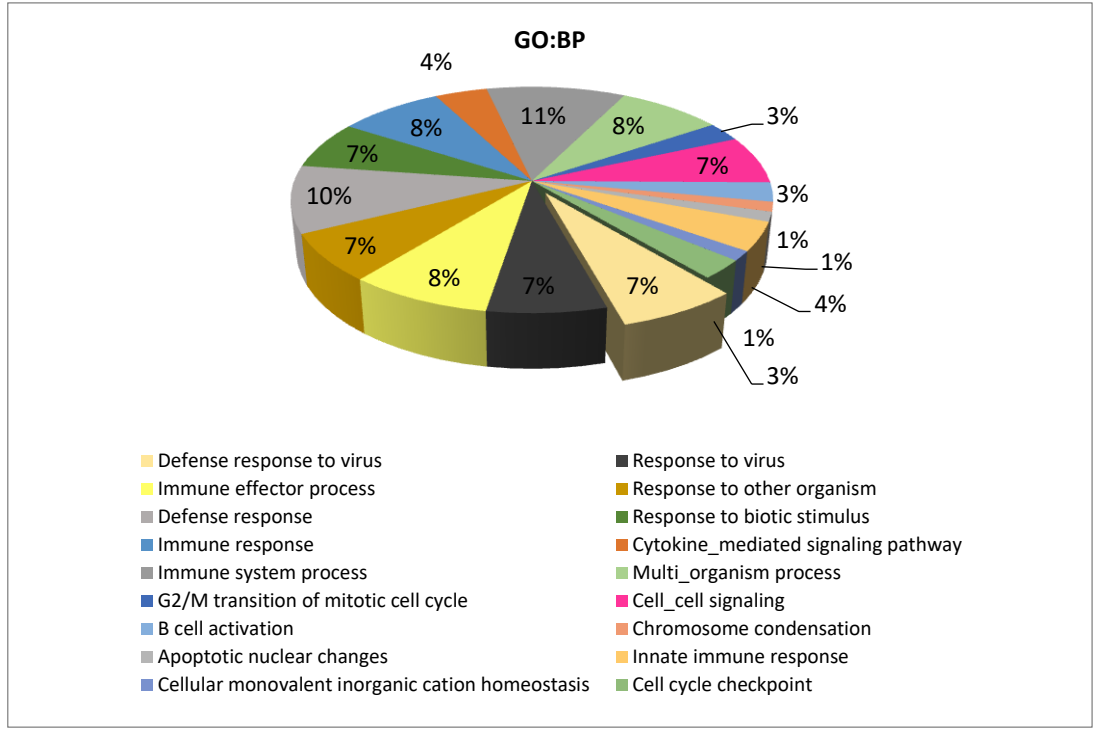
Tespit edilen DEG'ler veri setleri içerisinde ve ayrı ayrı mide kanseri ile karşılaştırıldığında GSE51405(K)-GSE29998(MK) için 22, GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için 9 ortak DEG tespit edilmiştir ve yolak zenginleştirme analizlerine komplikasyonlu hastaları içeren sadece bu iki grupta tanımlanan ortak DEG'ler dahil edilmiştir. Komplike grup içermeyen ve yeterli sayıda ortak DEG bulundurmeyen diğer gruplar dışlanmıştır.

GO zenginleştirme analizi sonucunda GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin kümelendiği 18 tane istatistiksel olarak anlamlı GO-BP terimi belirlenmiştir. Bu terimler arasında istatistiksel olarak en anlamlı GO-BP terimi "virüslere karşı savunma yanıtı" ($p=5,38e-06$) olarak tanımlanmıştır. GSE51405(K)-MK için anlamlı ilk 10 GO-BP terimi Çizelge 4.12.'de ve anlamlı tüm GO-BP terimleri Şekil 4.13.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.12. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=22) kümelendikleri biyolojik süreçlerle ilişkili istatistiksel olarak en anlamlı 10 GO terimi ($p<0,05$).

GO terimi	Pathway	Total	Expected	Hits	P-value	FDR	Genes
GO:0051607	Defense response to virus	215	0,271	5	5,38e-06	0,00441	<i>GBP1, IFIT3, CXCL10, ISG15, IFI44L</i>
GO:0009615	Response to virus	325	0,409	5	3,96e-05	0,014	<i>GBP1, IFIT3, CXCL10, ISG15, IFI44L</i>
GO:0002252	Immune effector process	576	0,726	6	5,13e-05	0,014	<i>GBP1, IFIT3, CXCL10, ISG15, IFI44L, MZB1</i>
GO:0051707	Response to other organism	716	0,902	5	0,00155	0,258	<i>GBP1, IFIT3, CXCL10, ISG15, IFI44L</i>
GO:0006952	Defense response	1510	1,9	7	0,00161	0,258	<i>GBP1, IFIT3, CXCL10, ISG15, IFI44L, GNG7, TNFAIP6</i>
GO:0009607	Response to biotic stimulus	749	0,944	5	0,00189	0,258	<i>GBP1, IFIT3, CXCL10, ISG15, IFI44L</i>
GO:0006955	Immune response	1430	1,8	6	0,00634	0,743	<i>GBP1, IFIT3, CXCL10, ISG15, IFI44L, CD79A</i>
GO:0019221	Cytokine mediated signaling pathway	374	0,471	3	0,0108	1	<i>GBP1, IFIT3, ISG15</i>
GO:0002376	Immune system process	2720	3,42	8	0,012	1	<i>GBP1, IFIT3, CXCL10, ISG15, IFI44L, MZB1, CD79A, CCNB2</i>
GO:0051704	Multi organism process	1710	2,15	6	0,015	1	<i>GBP1, IFIT3, CXCL10, ISG15, IFI44L, TOP2A</i>

FDR (False Discovery Rate); Yanlış Keşif Oranı



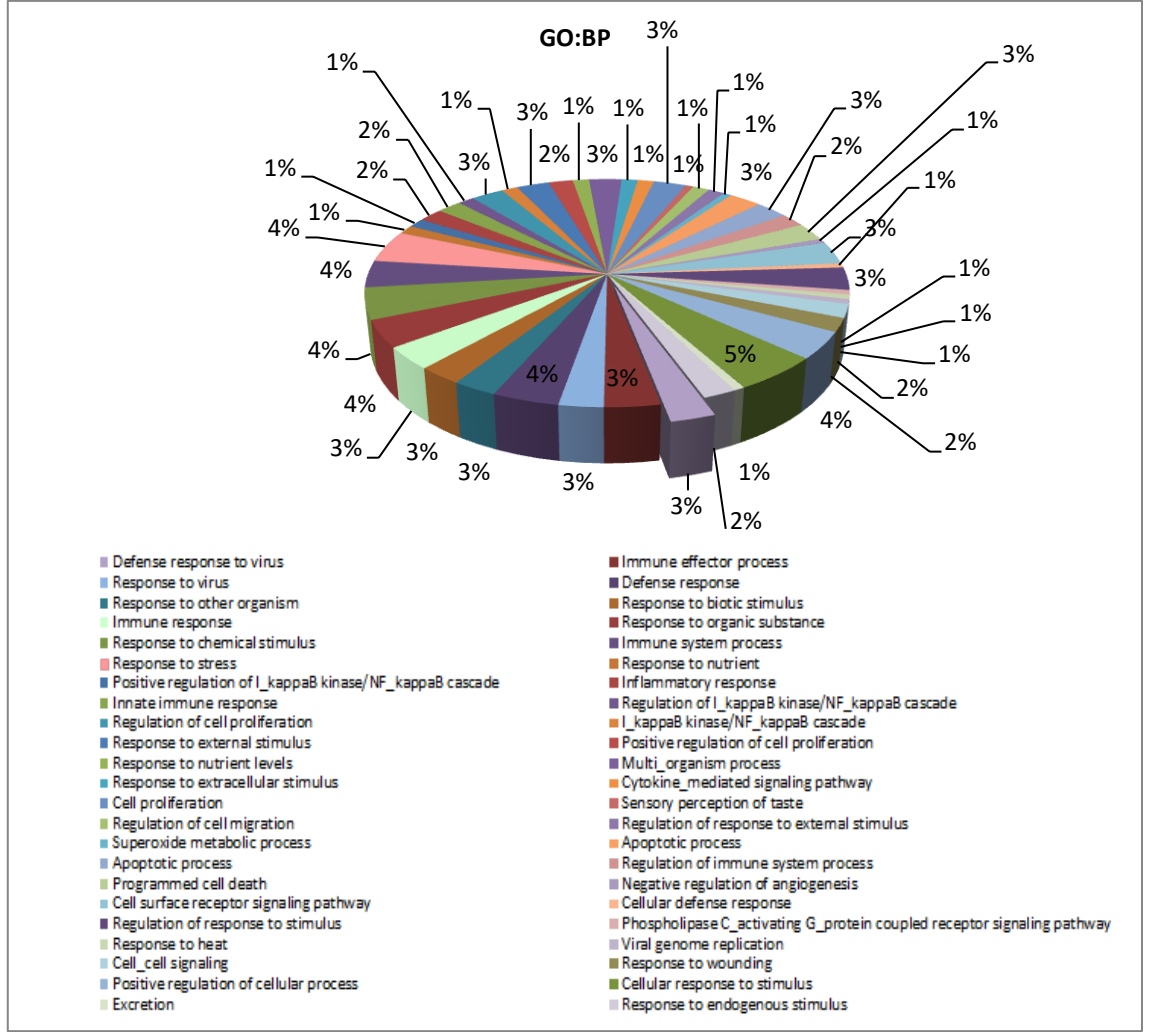
Şekil 4.13. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=22) kümelendikleri biyolojik süreçlerle ilişkili istatistiksel olarak anlamlı tüm GO terimleri ($p < 0,05$). Daire diliminin büyüklüğü ilgili yolağın anlamlılık derecesiyle doğru orantılıdır. En anlamlı yolağı içeren daire dilimi ayrı gösterilmiştir.

GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için biyolojik süreçlerde ortak DEG'lerin kümelendiği istatistiksel olarak anlamlı 46 farklı GO terimi saptanmıştır. Bu terimler arasında GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için istatistiksel olarak en anlamlı olan "virüslere karşı savunma yanıtı" ($p = 5,92e-06$) olarak belirlenmiştir. CVID_IEL-GC için istatistiksel olarak anlamlı ilk 10 GO-BP terimi Çizelge 4.13.'de ve anlamlı tüm GO-BP terimleri Şekil 4.14.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.13. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=9) kümelendikleri biyolojik süreçlerle ilişkili istatistiksel olarak en anlamlı 10 GO terimi ($p < 0,05$).

GO terimi	Pathway	Total	Expected	Hits	P-value	FDR	Genes
GO:0051607	Defense response to virus	215	0,135	4	5,92e-06	0,00472	<i>GBP1, CXCL10, CXCL9, IFITM1</i>
GO:0002252	Immune effector process	576	0,363	5	1,15e-05	0,00472	<i>GBP1, CXCL10, CXCL9, IFITM1, MZB1</i>
GO:0009615	Response to virus	325	0,205	4	3,03e-05	0,00827	<i>GBP1, CXCL10, CXCL9, IFITM1</i>
GO:0006952	Defense response	1510	0,951	6	8,71e-05	0,0178	<i>GBP1, CXCL10, CXCL9, IFITM1, TGM2, UBD</i>
GO:0051707	Response to other organism	716	0,451	4	0,000644	0,103	<i>GBP1, CXCL10, CXCL9, IFITM1</i>
GO:0009607	Response to biotic stimulus	749	0,472	4	0,000764	0,103	<i>GBP1, CXCL10, CXCL9, IFITM1</i>
GO:0006955	Immune response	1430	0,899	5	0,000881	0,103	<i>GBP1, CXCL10, CXCL9, IFITM1, UBD</i>
GO:0010033	Response to organic substance	2500	1,57	6	0,00147	0,151	<i>GBP1, CXCL10, IFITM1, MZB1, UBD, NQO1</i>
GO:0042221	Response to chemical stimulus	3830	2,41	7	0,0021	0,191	<i>GBP1, CXCL10, CXCL9, IFITM1, MZB1, UBD, NQO1</i>
GO:0002376	Immune system process	2720	1,71	6	0,00233	0,191	<i>GBP1, CXCL10, CXCL9, IFITM1, MZB1, UBD</i>

FDR (False Discovery Rate); Yanlış Keşif Oranı



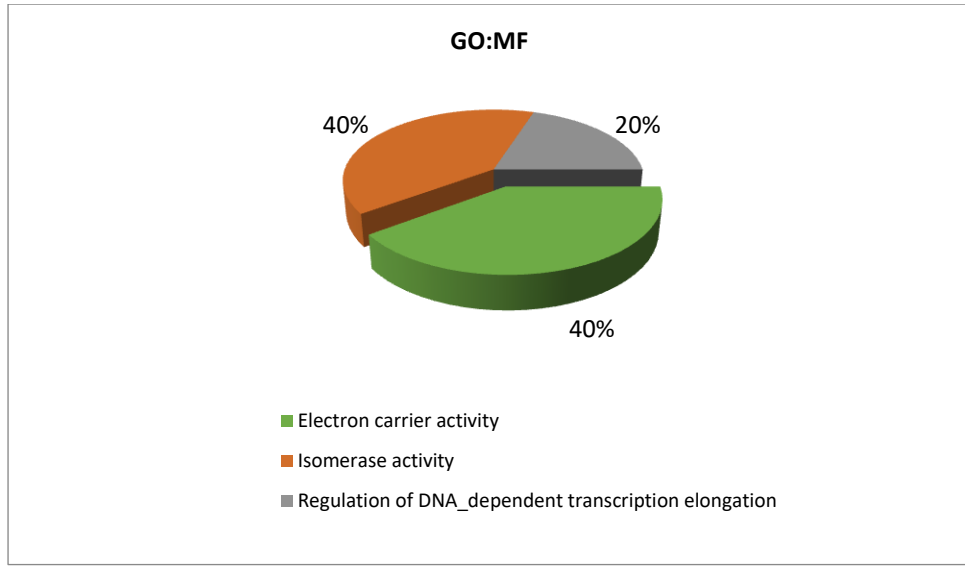
Şekil 4.14. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=9) kümелendikleri biyolojik süreçlerle ilişkili istatistiksel olarak anlamlı tüm GO terimleri ($p < 0,05$). Daire diliminin büyüklüğü ilgili yolağın anlamlılık derecesiyle doğru orantılıdır. En anlamlı yolağı içeren daire dilimi ayrı gösterilmiştir.

GO zenginleştirme analizi sonucunda GSE51405(K)-GSE29998(MK) için moleküler fonksiyonlarda ortak DEG'lerin kümелendiği istatistiksel olarak anlamlı 3 GO terimi arasında en anlamlı terim "Elektron taşıyıcı aktivite" ($p = 0,0128$) olarak belirlenmiştir. GSE51405(K)-MK için istatistiksel olarak anlamlı olan GO-MF terimleri Çizelge 4.14.'de ve Şekil 4.17.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.14. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=22) kümелendikleri istatistiksel olarak anlamlı olan GO-MF terimleri ($p<0,05$).

GO terimi	Pathway	Total	Expected	Hits	P-value	FDR	Genes
GO:0009055	Electron carrier activity	158	0,175	2	0,0128	1	<i>CYP2S1, TXNDC5</i>
GO:0016853	Isomerase activity	170	0,188	2	0,0148	1	<i>TXNDC5, TOP2A</i>
GO:0032784	Regulation of DNA_dependent transcription elongation	37	0,0409	1	0,0401	1	<i>TCEA3</i>

FDR (False Discovery Rate); Yanlış Keşif Oranı



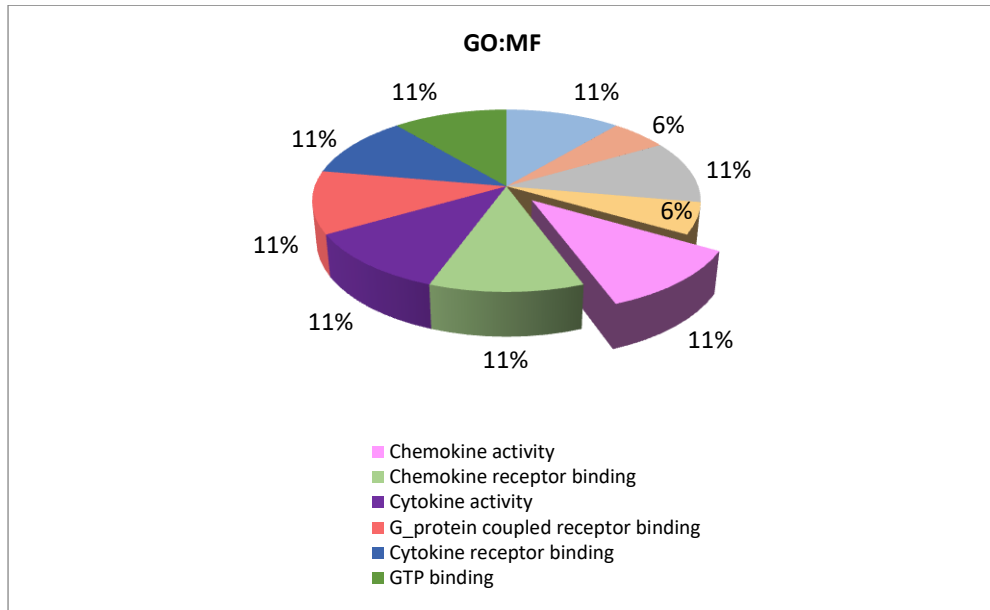
Şekil 4.15. GSE51405(K)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=22) kümелendiği istatistiksel olarak anlamlı olan GO-MF terimleri ($p<0,05$). Daire diliminin büyüklüğü ilgili yolağın anlamlılık derecesiyle doğru orantılıdır. En anlamlı yolağı içeren daire dilimi ayrı gösterilmiştir.

GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için tanımlanan istatistiksel olarak anlamlı GO-MF terimleri içerisinde en anlamlı olan ise “Kemokin aktivitesi” ($p=0,000414$) olarak belirlenmiştir. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için istatistiksel olarak anlamlı ilk 10 GO-MF terimi Çizelge 4.15.’te ve tüm anlamlı GO-MF terimleri Şekil 4.16.’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.15. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=9) kümelendiği istatistiksel olarak anlamlı ilk 10 GO-MF terimi ($p<0,05$).

GO terimi	Pathway	Total	Expected	Hits	P-value	FDR	Genes
GO:0008009	Chemokine activity	50	0,0311	2	0,000414	0,161	<i>CXCL10, CXCL9</i>
GO:0042379	Chemokine receptor binding	75	0,0466	2	0,000931	0,181	<i>CXCL10, CXCL9</i>
GO:0005125	Cytokine activity	220	0,137	2	0,00771	0,829	<i>CXCL10, CXCL9</i>
GO:0001664	G_protein coupled receptor binding	232	0,144	2	0,00854	0,829	<i>CXCL10, CXCL9</i>
GO:0005126	Cytokine receptor binding	266	0,165	2	0,0111	0,862	<i>CXCL10, CXCL9</i>
GO:0005525	GTP binding	371	0,231	2	0,0209	1	<i>GBP1, TGM2</i>
GO:0019001	Guanyl nucleotide binding	402	0,25	2	0,0243	1	<i>GBP1, TGM2</i>
GO:0005272	Sodium channel activity	43	0,0267	1	0,0264	1	<i>SCNNIA</i>
GO:0019904	Protein domain specific binding	560	0,348	2	0,0449	1	<i>TGM2, SCNNIA</i>
GO:0016209	Antioxidant activity	75	0,0466	1	0,0457	1	<i>NQO1</i>

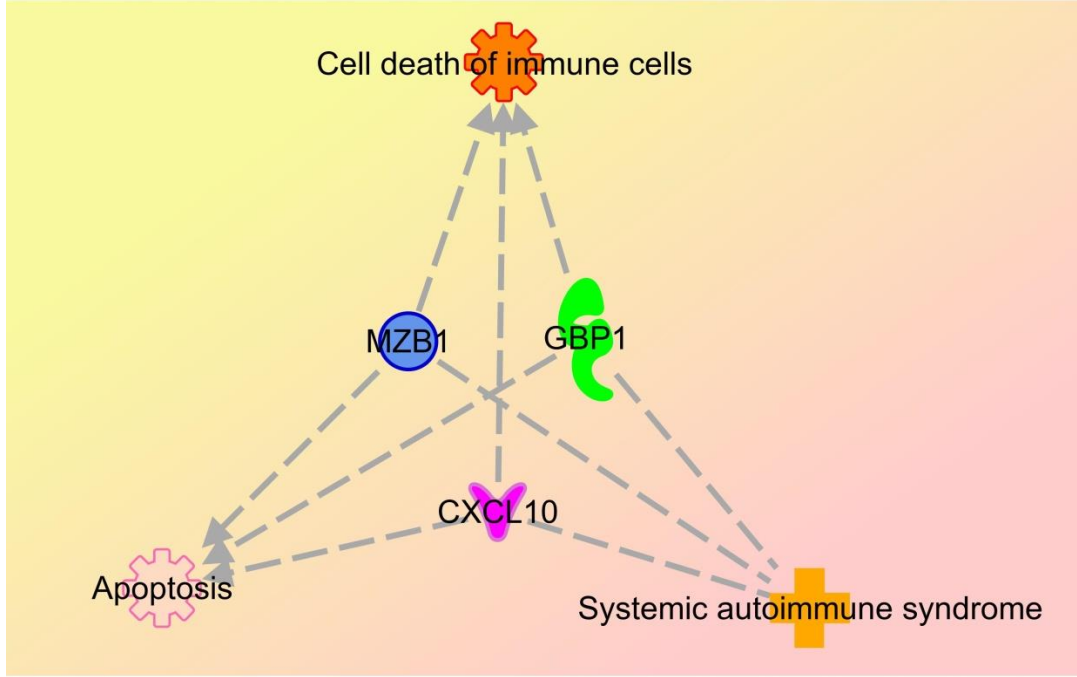
FDR (False Discovery Rate); Yanlış Keşif Oranı



Şekil 4.16. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için ortak DEG'lerin (n=9) kümelendiği istatistiksel olarak anlamlı tüm GO terimleri ($p<0,05$). Daire diliminin büyüklüğü ilgili yolağın anlamlılık derecesiyle doğru orantılıdır. En anlamlı yolağı içeren daire dilimi ayrı gösterilmiştir.

Ayrıca GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için 3 hub genin (*MZB1, GBP1, CXCL10*) IPA yazılımı kullanılarak gerçekleştirilen moleküler yollardaki zenginleştirme analizi sonucunda en anlamlı yolak "immün hücrelerin

hücre ölümü” ($p=7,32E-05$) olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.17.’de bu analiz sonucunda 3 hub gen (*MZB1*, *GBP1*, *CXCL10*) ile zenginleştirilmiş istatistiksel olarak anlamlı kanonik yollar gösterilmiştir ($p<0,05$).



© 2000-2021 QIAGEN. All rights reserved.

Şekil 4.17. *MZB1*, *GBP1*, *CXCL10* genlerinin IPA moleküler yolak zenginleştirme analizi ($p<0,05$). Grafik, IPA yazılımı (IPA, Qiagen Inc., Almanya) kullanılarak oluşturulmuştur.

4.4. mikroRNA-Hub Gen Etkileşim Analizi

GSE51405(K)-GSE29998(MK) ve GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinden elde edilen hub genlerin regülatör miRNA’ları miRDIP veri tabanı kullanılarak belirlenmiştir. GSE51405(K)-GSE29998(MK) veri seti için 10 hub gen (Çizelge 4.3.), GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri seti için 5 hub gen (Çizelge 4.5) analize dahil edilmiştir.

GSE51405(K)-GSE29998(MK) veri setindeki 10 hub genin 9 tanesi miRDIP veri tabanında “yüksek” minimum puan arama kriterine göre tanımlıdır. Belirlenen minimum arama kriterinde *ISG15* geni için regülatör miRNA tespit edilmemiştir bu

nedenele analizden dışlanmıştır. Analiz sonucunda tespit edilen 54 miRNA'nın 3 tanesi (hsa-miR-4251, hsa-miR-6832-5p, hsa-miR-7152-5p) üçer hub geni ortak olarak hedeflemektedir. Geri kalan 51 miRNA'nın ise ikişer hub genin ortak düzenlenmesinde olası rol oynayabileceği yapılan *in silico* analiz sonucunda belirlenmiştir (Çizelge 4.16.).

Çizelge 4.16. GSE51405(K)-GSE29998(MK) veri setinde hub genleri hedefleyen miRNA'lar.

miRNAs\Gene	CCNB2	CD79A	CXCL10	EPSTII	GBP1	IFI44L	IFIT3	MZB1	TOP2A	Shared Genes
hsa-miR-4251	✓		✓	✓						3
hsa-miR-6832-5p				✓		✓	✓			3
hsa-miR-7152-5p			✓	✓		✓				3
hsa-let-7c-3p	✓			✓						2
hsa-miR-1193								✓	✓	2
hsa-miR-1253	✓								✓	2
hsa-miR-1262						✓	✓			2
hsa-miR-1270						✓			✓	2
hsa-miR-1301-5p						✓			✓	2
hsa-miR-203b-3p					✓		✓			2
hsa-miR-3117-3p					✓	✓				2
hsa-miR-3122					✓	✓				2
hsa-miR-3137				✓		✓				2
hsa-miR-3143					✓				✓	2
hsa-miR-3156-5p					✓				✓	2
hsa-miR-3167				✓			✓			2
hsa-miR-323b-5p					✓	✓				2
hsa-miR-3659					✓	✓				2
hsa-miR-3684						✓	✓			2
hsa-miR-410-5p					✓	✓				2
hsa-miR-4280						✓			✓	2
hsa-miR-4296				✓		✓				2
hsa-miR-4483					✓	✓				2
hsa-miR-4511						✓			✓	2
hsa-miR-4516		✓				✓				2
hsa-miR-454-5p				✓		✓				2
hsa-miR-4640-3p				✓		✓				2
hsa-miR-4641					✓				✓	2
hsa-miR-4774-3p				✓		✓				2
hsa-miR-4796-5p				✓		✓				2
hsa-miR-5089-5p						✓	✓			2
hsa-miR-548au-3p				✓		✓				2
hsa-miR-5587-5p			✓						✓	2
hsa-miR-5681b						✓	✓			2
hsa-miR-5682				✓		✓				2
hsa-miR-5699-3p						✓	✓			2
hsa-miR-644a				✓		✓				2
hsa-miR-6502-5p						✓			✓	2
hsa-miR-670-3p	✓					✓				2
hsa-miR-6748-3p				✓		✓				2

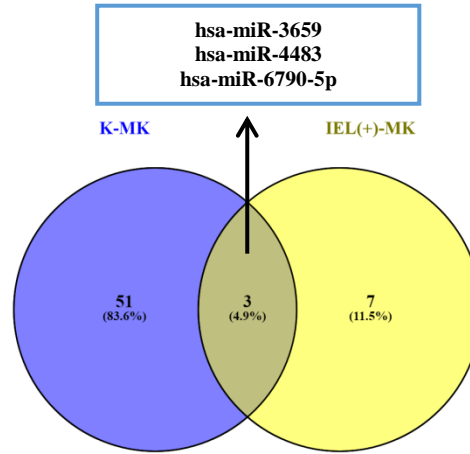
miRNA	Gene	Gene	Gene	Gene	Gene	Gene	Gene	Gene	Gene	Gene
hsa-miR-6782-5p		✓				✓				2
hsa-miR-6790-5p						✓	✓			2
hsa-miR-6794-3p				✓		✓				2
hsa-miR-6826-5p	✓					✓				2
hsa-miR-6837-3p						✓	✓			2
hsa-miR-6859-3p				✓		✓				2
hsa-miR-7161-3p						✓	✓			2
hsa-miR-758-5p						✓			✓	2
hsa-miR-769-5p				✓			✓			2
hsa-miR-7705				✓					✓	2
hsa-miR-8063	✓					✓				2
hsa-miR-8066				✓		✓				2
hsa-miR-8073		✓		✓						2
hsa-miR-876-3p						✓	✓			2

GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setinde belirlenen 5 hub gen için “yüksek” minimum puan kriterinde 10 miRNA tespit edilmiştir. Bu miRNA'ların en fazla ikişer hub genin ortak düzenlenmesinde olası regülatör rollerinin bulunduğu yapılan *in silico* analiz sonucunda belirlenmiştir (Çizelge 4.17.).

Çizelge 4.17. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setinde hub genleri hedefleyen miRNA'lar.

miRNAs(Gene)	CXCL10	CXCL9	GBP1	IFITM1	UBD	Shared Genes
hsa-miR-297	✓	✓				2
hsa-miR-3659		✓	✓			2
hsa-miR-3913-5p		✓	✓			2
hsa-miR-4289		✓	✓			2
hsa-miR-4483		✓	✓			2
hsa-miR-450a-1-3p		✓			✓	2
hsa-miR-4658		✓	✓			2
hsa-miR-4724-5p		✓	✓			2
hsa-miR-6790-5p		✓	✓			2
hsa-miR-8083		✓	✓			2

GSE51405(K)-GSE29998(MK) ve GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerindeki hub genleri hedefleyen ve bu genlerin regülasyonlarında olası rol oynayan miRNA'ların belirlenmesinin ardından iki ayrı veri setinde ortak olan 3 miRNA (hsa-miR-3659, hsa-miR-4483, hsa-miR-6790-5p) tespit edilmiştir (Şekil 4.20). Bu miRNA'lar ve veri setlerindeki hedef genleri Çizelge 4.18.'de gösterilmiştir.



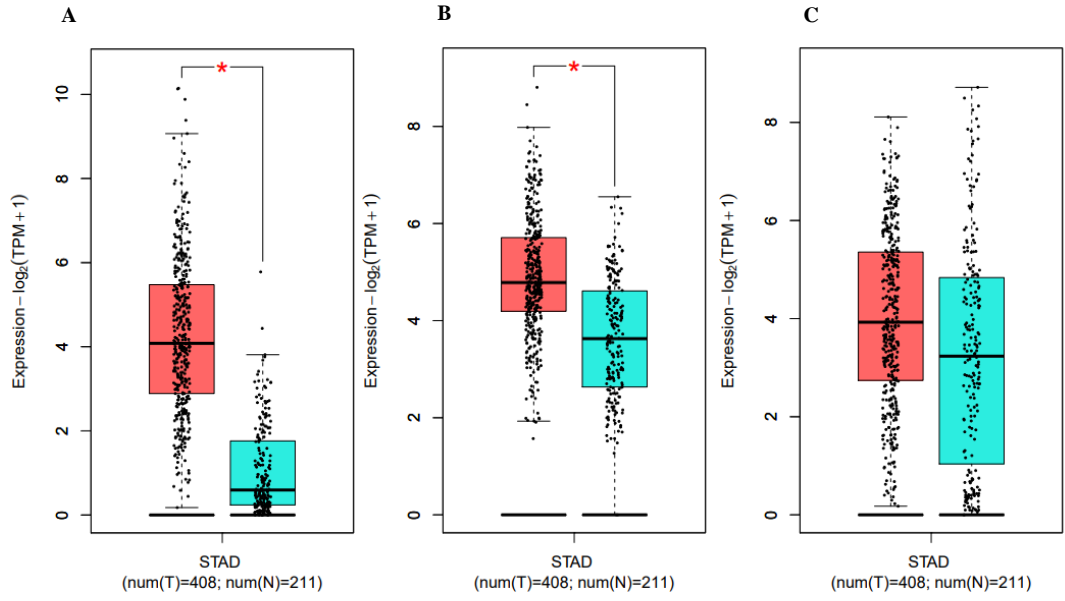
Şekil 4.18. GSE51405(K)-GSE29998(MK) ve GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinde ortak miRNA'lar (K: Komplikasyon, IEL(+):artmış IEL seviyesi olan, MK: Mide Kanseri).

Çizelge 4.18. GSE51405(K)-GSE29998(MK) ve GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinde ortak miRNA'lar ve hedef hub genler.

miRNA	GSE51405(K)-GSE29998(MK)	GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK)
hsa-miR-3659	<i>GBP1, FI44L</i>	<i>CXCL9, GBP1</i>
hsa-miR-4483	<i>GBP1, FI44L</i>	<i>CXCL9, GBP1</i>
hsa-miR-6790-5p	<i>GBP1, FI44L</i>	<i>CXCL9, GBP1</i>

4.5. Hub Genlerin TCGA Verileri ile Karşılaştırılması

GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinde tespit edilen 3 hub genin (*MZB1*, *GBP1*, *CXCL10*) mide kanserindeki ekspresyon seviyeleri GEPIA2 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis) web sayfası kullanılarak The Cancer Genome Atlas (TCGA)'daki RNA-seq verileri (STAD) ile karşılaştırılmıştır (<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>). *MZB1*, *GBP1*, *CXCL10* genlerine ait TCGA ve GTEx RNA-seq verilerinde tümör ve normal örnekler arasındaki ekspresyon farkları Şekil 4.19.'da gösterilmiştir. Yapılan analizlerde *CXCL10* ve *GBP1* genlerinin ekspresyon seviyelerinin TCGA mide kanseri verilerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilirken *MZB1* geni ekspresyon düzeyleri TCGA verilerinde anlamlı değildir. *MZB1*, *GBP1*, *CXCL10* genlerinin mikroarray ve RNA-seq verilerine ait ekspresyon seviyeleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.19.'da gösterilmiştir.



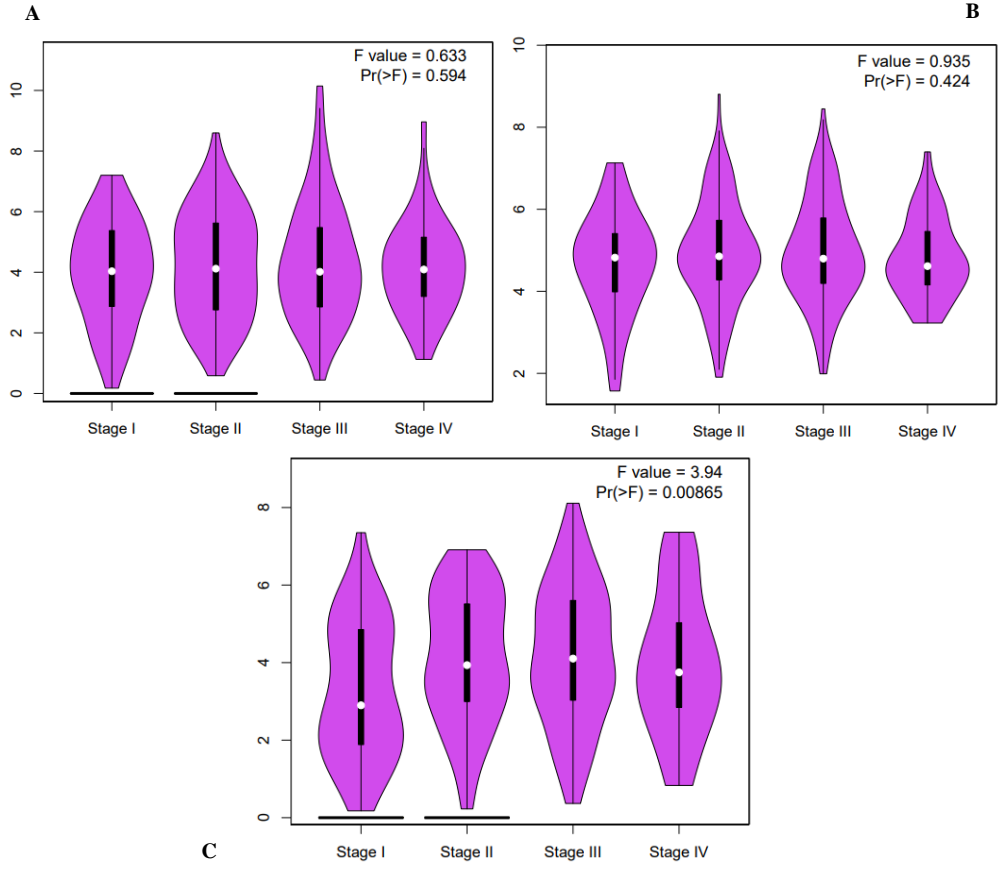
Şekil 4.19. A. *CXCL10*, B. *GBP1*, C. *MZB1* genlerine ait TCGA ve GTEx verilerinde ekspresyonları gösteren kutu grafiği (Kırmızı kutu tümör örneklerini, mavi kutu sağlıklı örnekleri ve kırmızı yıldız istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir).

Çizelge 4.19. Hub genlerin ekspresyonlarının TCGA verileri ile karşılaştırılması.

Gen	Mikroarray			RNA-Seq (TCGA-GTEx)
	GSE51405(K)	GSE72625_IEL(+)	GSE29998(MK)	
<i>MZB1</i>	-	-	-	
<i>CXCL10</i>	+	+	+	+
<i>GBP1</i>	+	+	+	+

+: yukarı regüle, -: aşağı regüle, K: Komplikasyon, IEL(+):artmış IEL seviyesi olan, MK: Mide Kanseri

Bununla birlikte hastaların patolojik evrelerine dayalı olarak diferansiyel ifadeleri hesaplayan gen ekspresyonu evre grafiklerine (stage plot) bakıldığında *MZB1* geninin diferansiyel ekspresyonunun patolojik evrelerde istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($Pr(>F)=0,00865$), *CXCL10* ve *GBP1* genlerinin diferansiyel ekspresyonlarının patolojik evrelerde istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.20.).



Şekil 4.20. **A.** *CXCL10*, **B.** *GBP1*, **C.** *MZB1* genlerine ait TCGA ve GTEx verilerinde gen ekspresyonu patolojik evre grafikleri.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) hastalığı primer immün yetmezlikler içerisinde en sık görülen türdür. Yapılan araştırmalar CVID hastalarında ciddi bir malignite yatkınlığı olduğunu göstermektedir (Bonilla, 2016; Mayor, 2018; Mellekjaer, 2002; Mortaz, 2016). Mide kanseri dünya genelinde CVID'li hastalarda görülen en yaygın malignitelerden biridir ve İtalyan popülasyonunda yapılan bir çalışma ile CVID ile ilişkili kanserler arasında mide kanserinin ikinci sırada bulunduğu ve kansere bağlı ölümlerin ilk nedeni olduğu bildirilmiştir (Pulvirenti ve diğerleri, 2018). Son yıllarda yapılan çalışmalarla CVID hastalarında yüksek mide adenokarsinom insidansı genetik yatkınlık, kalıcı mukozal inflamasyon, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, bağışıklık mikro çevresi ve epigenetik değişiklikler ile ilişkilendirilmiştir ancak iki hastalık arasındaki moleküler bağlantı henüz aydınlatılamamıştır (Gullo, 2020; Jia, 2017; Kramer, 2015; Leone, 2018; Rodriguez, 2007; Tak Manesh, 2017; Wang, 2018; Zare, 2019).

Bu bağlamda bu tez çalışmasında CVID ve mide kanseri patagonezinde rol oynayan etkin moleküler düzenleyiciler ve ortak aday regülatörler biyoinformatik araçlar kullanılarak araştırılmıştır. Bu tez çalışması araştırmacılara tedavi yaklaşımı, yeni ilaç etken maddesi ve hastalığın gelişimiyle alakalı *in silico* kanıtlar sunarak deneysel araştırmalar için bir ön bilgi sunmayı amaçlamaktadır. Bu sayede iki hastalığın patagonezinde rol oynayan etkin moleküler düzenleyiciler ve ortak aday regülatörler ileri deneysel çalışmalarla valide edildikten sonra mide kanseri ve CVID hastalığının prognozu, tedavisi ve kontrolünde kullanılabilecektir.

Tez kapsamında ilk olarak NCBI-GEO veri tabanından iki hastalık için belirli kriterlere göre seçilen mikroarray veri setleri analiz edilmiştir. CVID için iki (GSE72625, GSE51405), mide kanseri için bir (GSE29998) olmak üzere üç veri setinin DEG'leri kendi içerisinde analiz edilmiştir ($p < 0,05$, $\log_2FC > 1 - \log_2FC < -1$, $\text{adj } p < 0,05$) ve her bir CVID veri seti mide kanseri veri seti ile karşılaştırılarak ortak DEG'ler belirlenmiştir. Daha sonra ortak DEG'lerin moleküler yollarda ve biyolojik süreçlerde zenginleştirme analizleri gerçekleştirilmiştir. Ortak DEG'ler

üzerinden gerçekleştirilen yolak zenginleştirme analizleri sonuçlarına göre CVID ve mide kanseri etiyojisi ile ilişkili olabilecek pek çok moleküler yolak, biyolojik süreç ve moleküler fonksiyon tanımlanmıştır ve bunlar Çizelge 4.10-4.15.'te gösterilmiştir.

Yapılan biyoinformatik analizlerde GSE51405(K)-GSE29998(MK) için istatistiksel olarak en anlamlı KEGG terimi “RIG-I-benzeri reseptör sinyal yolağı” ($p=0,00346$) olarak belirlenmiştir. RIG-I (Retinoic acid-induced protein I) benzeri reseptörler virüs enfeksiyonunun anahtar sensörleri olarak rol oynarlar ve tip I interferonların transkripsiyonel indüksiyonuna ve toplu olarak bir anti-viral konak tepkisi oluşturan diğer genlere aracılık eder. RIG-I, ekzojen viral RNA'ları tanıyarak bağışıklık tepkisini başlatabilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar RIG-I'in ekspresyon seviyelerindeki azalmanın kötü prognoz ile ilişkili olduğunu ve insan mide kanserinde hücre istilasını desteklediğini bildirmiştir (L. Chen ve diğerleri, 2018). GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) için belirlenen istatistiksel olarak en anlamlı KEGG terimi ise “Toll benzeri reseptör sinyal yolağı”dır ($p=0,0036$). Toll benzeri reseptörler, çeşitli mikroplardan türetilen patojenle ilişkili moleküler yapıları tanıyarak doğuştan gelen bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynar. Son kanıtlar aynı zamanda Toll benzeri reseptörlerin insan mide kanseri hücre dizilerinde tümörün ilerlemesine katkı sağladığının altını çizmektedir (Kaczanowska, Joseph ve Davila, 2013). Yine yapılan biyoinformatik analizler sonucunda ortak DEG'lerin CVID ve mide kanseri arasındaki bağlantıda biyolojik süreçlerde genel olarak immün sistem savunmasında ve moleküler olarak kemokin ve elektron taşıyıcılar olarak önemli rollerinin olduğu dikkat çekmektedir.

Veri setlerinde tespit edilen DEG'ler daha ayrıntılı incelendiğinde GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinde 3 genin (*MZB1*, *GBP1*, *CXCL10*) ortak hub genler olduğu gözlenmiştir. ($p<0,05$, $\log_2FC>1$ ve $\log_2FC<-1$, $\text{adj } p<0,05$) (Şekil 4.9). *MZB1* (Marginal Zone B And B1 Cell Specific Protein) geni aynı zamanda farklı bir mide kanseri veri seti olan GSE26942 ile yapılan validasyon sonucunda GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE26942(MK) için ortak DEG olarak tespit edilmiştir ($p<0,05$, $\log_2FC>1$ - $\log_2FC<-1$, $\text{adj } p<0,05$) (Şekil 4.10).

MZBI (Marginal Zone B And B1 Cell Specific Protein) geni B hücrelerinin plazma hücrelerine farklılaşması sırasında indüklenmektedir ve olgun IgM'nin salgılanmasında rol oynar (Flach ve diğerleri, 2010). *MZBI*'in Marginal Zone B (MZB) (Marjinal Bölge B) hücrelerinde ve antikor salgılayan hücrelerde ekspresyon seviyeleri yüksektir (Rosenbaum ve diğerleri, 2014). MZB hücreleri dolaşımda olmayan olgun B hücreleridir ve IgM, CD21, CD1 ve CD9'u yüksek seviyelerde eksprese edebilir, aynı zamanda T hücresinden bağımsız bir şekilde erken adaptif bağışıklık tepkilerine hızla dahil olabilmektedir (Martin ve Kearney, 2002). Yapılan çalışmalar *MZBI* geninin B hücresi çoğalmasını ve ER kalsiyum depolarını regüle ettiğini, integrin aracılı hücre adezyonunu arttırdığını, T hücresi ekspresyonunu ve kalsiyum akışını düzenlediğini göstermiştir (Flach ve diğerleri, 2010). *MZBI*'in epigenetik düzenlemelerini araştıran bir başka çalışmada miR-185'in *MZBI* mRNA'sını hedefleyerek T hücrelerinin gelişiminin durmasına ve buna bağlı olarak T hücre lenfopenisine sebep olduğu bildirilmiştir (Belkaya ve diğerleri, 2013). *MZBI*'in onkolojik işlevi ile ilgili yeterince bilgi bulunmamakla beraber Matsumura ve diğerlerinin yaptığı yakın tarihli bir çalışmada *MZBI* geni ekspresyonunun metilasyon aracılı susturulmasının, hepatokarsinogenezde önemli bir rolü olduğu ve hepatosellüler karsinomda baskılayıcı aktivitesinin kaybına yol açtığı bildirilmiştir (Matsumura ve diğerleri, 2012). Artan kanıtlar mide kanseri dokusunda *MZBI* geni ekspresyonunun siRNA aracılı inhibisyonunun mide kanseri hücrelerinin çoğalmasına, yayılmasına ve göçüne katkıda bulunduğunu ve *MZBI*'in mide kanserinde supresör (baskılayıcı) bir rolünün olduğunu bildirmektedir (Kanda ve diğerleri, 2016). Bu noktada çalışmamızda elde ettiğimiz *in silico* kanıtlar literatür verileriyle uyumlu olup *MZBI* geninin hem CVID hem de mide kanserinde düşük ekspresyon seviyelerinin görülmesi (Çizelge 4.2) bu geni iki hastalığın moleküler etiolojisinde ortak aday bir moleküler biyobelirteç haline getirmiştir.

Önemli ortak hub genlerden olan *CXCL10* (C-X-C Motif Chemokine Ligand 10) geni ise, CXC alt ailesinin bir kemokinini ve CXCR3 reseptörünün ligandını kodlamaktadır. Bu proteinin CXCR3'e bağlanması sonucunda monositlerin uyarılması, doğal katil hücrelerin ve T hücrelerinin göçü ve adezyon molekülü ekspresyonunun modülasyonu dahil olmak üzere immün yanıtta görev alan pek çok

işlev gerçekleşir. *CXCL10* periferik bağışıklık hücrelerinin farklılaşması ve aktivasyonu, kemotaksisi, hücre büyümesinin düzenlenmesi, anjiyostatik etkilerin modülasyonu ve apoptoz gibi çeşitli biyolojik süreçlerde yer alan proinflamatuvar bir sitokin görevindedir. Bu sayede bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu ve enfekte olmuş bölgelere göçünü uyararak viral enfeksiyonlar sırasında önemli bir rol oynar (Angiolillo, 1995; Romagnani, 2001; Sidahmed, 2012).

Bir diğer ortak DEG olan *GBP1* (Guanylate Binding Protein 1) ise ekspresyonu interferon tarafından indüklenen diğer guanilat bağlayıcı proteinler gibi guanin nükleotidlerini (GMP, GDP ve GTP) spesifik olarak bağlama yeteneğiyle karakterize, doğuştan gelen bağışıklıkta önemli bir role sahip olduğu bilinen bir gendir. Yapılan çalışmalarda enteropatisi olan CVID hastalarında ve gastrointestinal inflamasyonu olan ve olmayan çeşitli inflamatuvar komplikasyonları bulunan CVID hastalarında bağışıklık yanıtında rol oynayan *CXCL10*'un da dahil olduğu kemokinlerin ve *GBP1*'in disregülasyonları bildirilmiştir (Park, 2013; Shulzhenko, 2018). Bir başka çalışma plazma *CXCL10* seviyelerindeki düzensizliğin CVID'de immün düzensizliğin potansiyel bir biyolojik belirteci olabileceğini vurgulamaktadır (Hultberg, Ernerudh, Larsson, Nilsson-Augustinsson ve Nyström, 2020). Farklı bir çalışma CXCR3 ligandı tarafından indüklenen *CXCL10* aktivasyonunun mide kanseri hücrelerinde hücre istilasını ve göçünü arttığını desteklemektedir (Zhou, Wu, Wang, Zhang ve Liu, 2016). Bir diğer çalışmada tekrarlayan mide kanseri olan hastalarda tümör drenaj kanında ve periferik kanda *CXCL10* ve diğer CXC kemokin ligand ailesi üyelerinin seviyelerinin nüksü olmayan hastalara oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (X. Chen, Chen, Jin ve Huang, 2020). Meng ve diğerleri ise mide kanseri hücrelerinde gerçekleşen otofajinin inhibisyonu ile JNK sinyalinin baskılanması ve ardından *CXCL10* ekspresyonunun indüklenmesi aracılığıyla tümör içi *CXCL10*'un, mide kanserinde T lenfositlerin tümör içi infiltrasyonuna katkıda bulunduğunun altını çizmektedir (Meng, Zhang ve Hu, 2020). Yakın tarihli bir başka yayında ise mide kanserinde bağışıklıktan kaçış faktörü olarak kanser immünite döngüsünde anahtar rol oynayan PD-L1'in (Programmed death-ligand 1) (programlanmış ölüm ligandı 1) ekspresyon seviyelerinin düzenlenmesinde

CXCL9/10/11'in rol oynadığı ve *PD-L1* ekspresyonunu yukarı yönde regüle ederek kanserojeneze katkı sağladı bildirilmiştir (C. Zhang ve diğerleri, 2018).

MZB1, *GBP1*, *CXCL10* genlerinin IPA yazılımı kullanılarak gerçekleştirilen moleküler yolaklardaki zenginleştirme analizi sonucunda istatistiksel olarak en anlamlı yollar CVID ve mide kanseri etiyojisi ile ilişkili olabilecek immün hücrelerin hücre ölümü ($p=7,32E-05$), sistemik otoimmün sendrom ($p=2,99E-04$) ve apoptoz ($p=5,57E-03$) olarak belirlenmiştir.

CVID'li hastaların kliniklerine bakıldığında hastaların büyük bir çoğunluğunda eşlik eden otoimmün bozukluklar olduğu görülmektedir. CVID ile ilişkili en yaygın otoimmün bozukluklar arasında otoimmün sitopeniler yani immün trombositopenik purpura ve otoimmün hemolitik anemi bulunmaktadır. Bununla birlikte CVID hastalarında artrit, Sjögren hastalığı, sistemik lupus eritematozus, vaskülit, Behçet sendromu gibi romatolojik hastalıklar ve ülseratif kolit, otoimmün atrofik gastrit, çölyak hastalığı gibi gastrointestinal otoimmün bozuklukların gözlendiği bildirilmiştir (Lenti, Savioli, Achilli ve Di Sabatino, 2020). CVID'te görülen B hücre olgunlaşması ve farklılaşmasının altında yatan moleküler mekanizmaların aydınlatılması hastalığın patogenezinin anlaşılması açısından oldukça önemlidir. CVID'li hastalarda B hücre apoptozunun araştırıldığı bir çalışmada CVID hastalarında uyarılmamış ve uyarılmış B hücrelerinde toplam apoptoz, erken apoptoz ve geç apoptoz/nekrozun sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir (Ganjalkhani-Hakemi ve diğerleri, 2017). CVID hastalarında B hücrelerinde görülen apoptoz artışı, bozulmuş endojen immünoglobulin üretimine ve farklılaşmış B hücre alt gruplarının anormalliğine neden olan bir etken olabilir. CVID hastalarının B hücrelerinde pro/anti-apoptotik süreçlerde rol oynayan moleküllerin ekspresyonlarına ilişkin gerçekleştirilecek ileri çalışmalar, artan B hücre apoptozunun arkasındaki moleküler mekanizmaya ışık tutabilir ve potansiyel terapötik yaklaşımlar sağlayabilir. Sidahmed ve arkadaşlarının aktifleştirilmiş insan primer T lenfositlerinde *CXCL10*'un apoptoz ve hayatta kalma açısından etkilerinin in vitro araştırıldığı bir çalışmada *CXCL10*'un IL-2 ve/veya IFN α ile birlikte T lenfositlerinde apoptozu indüklediği tespit edilmiştir (Sidahmed ve diğerleri, 2012).

Bir başka çalışmada *GBP1*'in insanlarda özellikle enfekte edici mikroplara yanıt veren piroptoz ve bununla birlikte apoptoz gibi hücre ölüm yollarının bir bekçisi olarak rol oynadığı bildirilmiştir (Fisch ve diğerleri, 2019). Bu noktada literatür verileri IPA yazılımı kullanarak gerçekleştirdiğimiz moleküler yolaklardaki zenginleştirme analizi sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Hub genlerin regülatör mikroRNA'larının belirlenmesi için miRDIP veri tabanı kullanılarak gerçekleştirilen *in silico* analiz sonucunda GSE51405(K)-GSE29998(MK) için tespit edilen 54 miRNA'dan 3 tanesinin (hsa-miR-4251, hsa-miR-6832-5p, hsa-miR-7152-5p) üçer hub geni (sırasıyla *CCNB2*, *CXCL10*, *EPST11*; *EPST11*, *IFI44L*, *IFIT3*; *CXCL10*, *EPST11*, *IFI44L*) ortak olarak hedeflediği gözlenmiştir. Geri kalan 51 miRNA'nın ise ikişer hub genin ortak düzenlenmesinde olası rol oynayabileceği yapılan biyoinformatik analiz sonucunda belirlenmiştir. GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setinde ise hub genleri hedefleyen 10 miRNA tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen *in silico* analiz sonucunda bu miRNA'ların en fazla ikişer hub genin ortak düzenlenmesinde olası regülatör rollerinin bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.16.-4.17.). Ardından GSE51405(K)-GSE29998(MK) ve GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerindeki hub genleri hedefleyen ve bu genlerin regülasyonlarında olası rol oynayan ortak miRNA'lar venn grafiği ile belirlenmiştir. Analiz sonucunda ortak 3 miRNA regülatörü (hsa-miR-3659, hsa-miR-4483, hsa-miR-6790-5p) tespit edilmiştir (Şekil 4.20). Bu miRNA'ların (hsa-miR-3659, hsa-miR-4483, hsa-miR-6790-5p) GSE51405(K)-GSE29998(MK) veri setinde *GBP1*, *IFI44L* genlerinin ve GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setinde *CXCL9*, *GBP1* genlerinin regülasyonunda olası rollerinin olabileceği düşünülebilir. Ancak henüz bu bulgularımızı destekleyen herhangi bir literatür verisi bulunmamaktadır. Bununla beraber gerçekleştirilen *in silico* analizler sonucunda belirlenen hub genlerin ortak düzenlenmesinde olası rol oynayabilecek bu aday miRNA'ların COVID'e bağlı mide kanserinde terapötik yaklaşımları kolaylaştırması muhtemeldir ve ileri deneysel çalışmalarla valide edilmesi önem arz etmektedir.

Ayrıca bu tez kapsamında GSE51405(K)-GSE72625_IEL(+)-GSE29998(MK) veri setlerinde tespit edilen önemli ortak 3 hub genin (*MZB1*, *GBP1*, *CXCL10*) mide kanserindeki ekspresyon seviyelerinin validasyonları için mikroarray verileri ve The Cancer Genome Atlas (TCGA)'daki RNA-seq verileri (STAD) ile karşılaştırılmıştır. Çizelge 4.19.'da *MZB1*, *GBP1*, *CXCL10* genlerinin tez kapsamında kullanılan mikroarray veri setlerinde ve TCGA RNA-seq verilerinde ekspresyon yönleri gösterilmiştir. Analiz sonuçlarında *GBP1* ve *CXCL10* genlerinin ifade profillerinin mikroarray sonuçlarında ve RNA-seq verilerinde uyumluluğu olduğu gözlenirken, *MZB1* geninin mikroarray sonuçları ve RNA-seq verileri arasında farklılık olduğu gözlenmiştir. *MZB1* geni GSE29998(MK) ve GSE26942(MK) veri setlerinde aşağı regüle iken TCGA verilerinde (STAD) tümör ve normal örnekler arasında ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu noktada *GBP1* ve *CXCL10* genlerinin CVID'e bağlı mide kanserinde ortak önemli hub genler olduğu, ileri düzey çalışmalarda önemli birer aday biyobelirteç olabileceği söylenebilir. Bununla birlikte *CXCL10* ve *GBP1* genlerinin diferansiyel ekspresyonlarının patolojik evrelerde istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilirken, *MZB1* geninin diferansiyel ekspresyonunun mide kanserinin patolojik evrelerinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($Pr(>F)=0,00865$) belirlenmiştir. Ayrıca *MZB1* geninin mide kanseri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalar, bu genin CVID ve mide kanseri arasındaki moleküler bağlantıda önemli bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir ancak *MZB1* geninin mide kanserinde moleküler etiyojisinin öneminin daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak, tez çalışmamız CVID ve mide kanseri için ortak yollar ve aday moleküler biyobelirteçlerin yanı sıra önemli ortak hub genlerin olduğunu ve bu bulguların CVID hastalarının mide kanserine yatkınlıklarında risk değerlendirmesinde ve aynı zamanda terapötik yaklaşımlarda göz önünde bulundurulması gerektiğini önermektedir. Mevcut tez çalışması, *in silico* temelli bulgularının olması ve sonuçlarının deneysel olarak test edilmemiş olması gibi bazı limitasyonlara sahiptir. Bu nedenle mevcut bulgularımızın ileri deneysel araştırmalarla da doğrulanması gerekmektedir. Ancak sonuçlarımız literatür verileri

ile karşılaştırıldığında metodoloji ve bulgularımızı destekleyen önemli deneysel kanıtlar mevcuttur. Bu sonuçlar, daha fazla araştırma ve deneysel araştırmalarla desteklendiğinde ilaç yeniden konumlandırma, risk değerlendirme ve ilaç geliştirme araştırmalarına da veri oluşturma potansiyeli bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abrahamian, F., Agrawal, S., & Gupta, S. (2010). Immunological and clinical profile of adult patients with selective immunoglobulin subclass deficiency: response to intravenous immunoglobulin therapy. *Clinical and experimental immunology*, *159*(3), 344–350. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.04062.x>
- Agarwal, S., & Mayer, L. (2009). Pathogenesis and treatment of gastrointestinal disease in antibody deficiency syndromes. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *124*(4), 658–664. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.06.018>
- Agematsu, K., Futatani, T., Hokibara, S., Kobayashi, N., Takamoto, M., Tsukada, S., Suzuki, H., Koyasu, S., Miyawaki, T., Sugane, K., Komiyama, A., & Ochs, H. D. (2002). Absence of memory B cells in patients with common variable immunodeficiency. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, *103*(1), 34–42. <https://doi.org/10.1006/clim.2001.5197>
- Aggarwal, V., Banday, A. Z., Jindal, A. K., Das, J., & Rawat, A. (2019). Recent advances in elucidating the genetics of common variable immunodeficiency. *Genes & diseases*, *7*(1), 26–37. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.10.002>
- Aghamohammadi, A., Allahverdi, A., Abolhassani, H., Moazzami, K., Alizadeh, H., Gharagozlou, M., Kalantari, N., Sajedi, V., Shafiei, A., Parvaneh, N., Mohammadpour, M., Karimi, N., Sadaghiani, M. S., & Rezaei, N. (2010). Comparison of pulmonary diseases in common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinaemia. *Respirology (Carlton, Vic.)*, *15*(2), 289–295. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1843.2009.01679.x>
- Ahn, S., & Cunningham-Rundles, C. (2009). Role of B cells in common variable immune deficiency. *Expert review of clinical immunology*, *5*(5), 557–564. <https://doi.org/10.1586/eci.09.43>
- Al-Herz W. (2008). Primary immunodeficiency disorders in Kuwait: first report from Kuwait National Primary Immunodeficiency Registry (2004--2006). *Journal of clinical immunology*, *28*(2), 186–193. <https://doi.org/10.1007/s10875-007-9144-5>
- Amato, G., Vita, F., Quattrocchi, P., Minciullo, P. L., Pioggia, G., & Gangemi, S. (2020). Involvement of miR-142 and miR-155 in Non-Infectious Complications of COVID-19. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *25*(20), 4760. <https://doi.org/10.3390/molecules25204760>
- Ameratunga, R., Allan, C., & Woon, S. T. (2020). Defining Common Variable Immunodeficiency Disorders in 2020. *Immunology and allergy clinics of North America*, *40*(3), 403–420. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2020.03.001>
- Ameratunga, R., Becroft, D. M., & Hunter, W. (2000). The simultaneous presentation of sarcoidosis and common variable immune deficiency. *Pathology*, *32*(4), 280–282.
- Ameratunga, R., Lehnert, K., Woon, S. T., Gillis, D., Bryant, V. L., Slade, C. A., & Steele, R. (2018). Review: Diagnosing Common Variable Immunodeficiency Disorder in the Era of Genome Sequencing. *Clinical reviews in allergy & immunology*, *54*(2), 261–268. <https://doi.org/10.1007/s12016-017-8645-0>

- Ameratunga, R., Woon, S. T., Gillis, D., Koopmans, W., & Steele, R. (2013). New diagnostic criteria for common variable immune deficiency (CVID), which may assist with decisions to treat with intravenous or subcutaneous immunoglobulin. *Clinical and experimental immunology*, *174*(2), 203–211. <https://doi.org/10.1111/cei.12178>
- Ang, T. L., & Fock, K. M. (2014). Clinical epidemiology of gastric cancer. *Singapore medical journal*, *55*(12), 621–628. <https://doi.org/10.11622/smedj.2014174>
- Angiolillo, A. L., Sgadari, C., Taub, D. D., Liao, F., Farber, J. M., Maheshwari, S., Kleinman, H. K., Reaman, G. H., & Tosato, G. (1995). Human interferon-inducible protein 10 is a potent inhibitor of angiogenesis in vivo. *The Journal of experimental medicine*, *182*(1), 155–162. <https://doi.org/10.1084/jem.182.1.155>
- Ansell S. M. (2015). DNA methylation in lymphoma: an opportunity?. *Blood*, *125*(12), 1848–1849. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-02-625293>
- Baj, J., Brzozowska, K., Forma, A., Maani, A., Sitarz, E., & Portincasa, P. (2020). Immunological Aspects of the Tumor Microenvironment and Epithelial-Mesenchymal Transition in Gastric Carcinogenesis. *International journal of molecular sciences*, *21*(7), 2544. <https://doi.org/10.3390/ijms21072544>
- Baj, J., Korona-Główniak, I., Forma, A., Maani, A., Sitarz, E., Rahnama-Hezavah, M., Radzikowska, E., & Portincasa, P. (2020). Mechanisms of the Epithelial-Mesenchymal Transition and Tumor Microenvironment in *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Cancer. *Cells*, *9*(4), 1055. <https://doi.org/10.3390/cells9041055>
- Bang, Y. J., Van Cutsem, E., Fuchs, C. S., Ohtsu, A., Tabernero, J., Ilson, D. H., Hyung, W. J., Strong, V. E., Goetze, T. O., Yoshikawa, T., Tang, L. H., Hwang, P., Webb, N., Adelberg, D., & Shitara, K. (2019). KEYNOTE-585: Phase III study of perioperative chemotherapy with or without pembrolizumab for gastric cancer. *Future oncology (London, England)*, *15*(9), 943–952. <https://doi.org/10.2217/fon-2018-0581>
- Baumgart, K. W., Britton, W. J., Kemp, A., French, M., & Robertson, D. (1997). The spectrum of primary immunodeficiency disorders in Australia. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *100*(3), 415–423. [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(97\)70257-4](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(97)70257-4)
- Belkaya, S., Murray, S. E., Eitson, J. L., de la Morena, M. T., Forman, J. A., & van Oers, N. (2013). Transgenic expression of microRNA-185 causes a developmental arrest of T cells by targeting multiple genes including Mzb1. *The Journal of biological chemistry*, *288*(42), 30752–30762. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.503532>
- Berbers, R. M., Nierkens, S., van Laar, J. M., Bogaert, D., & Leavis, H. L. (2017). Microbial Dysbiosis in Common Variable Immune Deficiencies: Evidence, Causes, and Consequences. *Trends in immunology*, *38*(3), 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.11.008>
- Bernasconi, N. L., Traggiai, E., & Lanzavecchia, A. (2002). Maintenance of serological memory by polyclonal activation of human memory B cells. *Science (New York, N.Y.)*, *298*(5601), 2199–2202. <https://doi.org/10.1126/science.1076071>

- Biagi, F., Bianchi, P. I., Zilli, A., Marchese, A., Luinetti, O., Lougaris, V., Plebani, A., Villanacci, V., & Corazza, G. R. (2012). The significance of duodenal mucosal atrophy in patients with common variable immunodeficiency: a clinical and histopathologic study. *American journal of clinical pathology*, 138(2), 185–189. <https://doi.org/10.1309/AJCPEILH2C0WFYE>
- Bogaert, D. J., Dullaers, M., Lambrecht, B. N., Vermaelen, K. Y., De Baere, E., & Haerynck, F. (2016). Genes associated with common variable immunodeficiency: one diagnosis to rule them all?. *Journal of medical genetics*, 53(9), 575–590. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103690>
- Boland, C. R., & Yurgelun, M. B. (2017). Historical Perspective on Familial Gastric Cancer. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*, 3(2), 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2016.12.003>
- Bonilla, F. A., Barlan, I., Chapel, H., Costa-Carvalho, B. T., Cunningham-Rundles, C., de la Morena, M. T., Espinosa-Rosales, F. J., Hammarström, L., Nonoyama, S., Quinti, I., Routes, J. M., Tang, M. L., & Warnatz, K. (2016). International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*, 4(1), 38–59. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2015.07.025>
- Bousfiha, A., Jeddane, L., Picard, C., Al-Herz, W., Ailal, F., Chatila, T., Cunningham-Rundles, C., Etzioni, A., Franco, J. L., Holland, S. M., Klein, C., Morio, T., Ochs, H. D., Oksenhendler, E., Puck, J., Torgerson, T. R., Casanova, J. L., Sullivan, K. E., & Tangye, S. G. (2020). Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification. *Journal of clinical immunology*, 40(1), 66–81. <https://doi.org/10.1007/s10875-020-00758-x>
- Boyle, J. M., & Buckley, R. H. (2007). Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. *Journal of clinical immunology*, 27(5), 497–502. <https://doi.org/10.1007/s10875-007-9103-1>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Brouet, J. C., Chedeville, A., Femand, J. P., & Royer, B. (2000). Study of the B cell memory compartment in common variable immunodeficiency. *European journal of immunology*, 30(9), 2516–2520. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200009\)30:9<2516::AID-IMMU2516>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200009)30:9<2516::AID-IMMU2516>3.0.CO;2-Z)
- Bruton, O. C., Apt, L., Gitlin, D., & Janeway, C. A. (1952). Absence of serum gamma globulins. *A.M.A. American journal of diseases of children*, 84(5), 632–636.
- Busse, P. J., Farzan, S., & Cunningham-Rundles, C. (2007). Pulmonary complications of common variable immunodeficiency. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 98(1), 1–43. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)60853-8](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)60853-8)
- Cadranel, J., Bouvry, D., & Wislez, M. (2003). Manifestations respiratoires au cours du déficit immunitaire commun variable de l'adulte [Respiratory manifestations of

- common variable immunodeficiency in adults]. *Revue des maladies respiratoires*, 20(1 Pt 1), 126–133.
- Cancer Genome Atlas Research Network (2014). Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature*, 513(7517), 202–209. <https://doi.org/10.1038/nature13480>
- CEREDIH: The French PID study group (2010). The French national registry of primary immunodeficiency diseases. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 135(2), 264–272. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2010.02.021>
- Chapel, H., & Cunningham-Rundles, C. (2009). Update in understanding common variable immunodeficiency disorders (CVIDs) and the management of patients with these conditions. *British journal of haematology*, 145(6), 709–727. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.07669.x>
- Chapel, H., Lucas, M., Lee, M., Bjorkander, J., Webster, D., Grimbacher, B., Fieschi, C., Thon, V., Abedi, M. R., & Hammarstrom, L. (2008). Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. *Blood*, 112(2), 277–286. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-11-124545>
- Chen, L., Feng, J., Wu, S., Xu, B., Zhou, Y., Wu, C., & Jiang, J. (2018). Decreased RIG-I expression is associated with poor prognosis and promotes cell invasion in human gastric cancer. *Cancer cell international*, 18, 144. <https://doi.org/10.1186/s12935-018-0639-3>
- Chen, X., Chen, R., Jin, R., & Huang, Z. (2020). The role of CXCL chemokine family in the development and progression of gastric cancer. *International journal of clinical and experimental pathology*, 13(3), 484–492.
- Chin, C. H., Chen, S. H., Wu, H. H., Ho, C. W., Ko, M. T., & Lin, C. Y. (2014). cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. *BMC systems biology*, 8 Suppl 4(Suppl 4), S11. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-8-S4-S11>
- Coombes, R. C., Schein, P. S., Chilvers, C. E., Wils, J., Beretta, G., Bliss, J. M., Rutten, A., Amadori, D., Cortes-Funes, H., & Villar-Grimalt, A. (1990). A randomized trial comparing adjuvant fluorouracil, doxorubicin, and mitomycin with no treatment in operable gastric cancer. International Collaborative Cancer Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 8(8), 1362–1369. <https://doi.org/10.1200/JCO.1990.8.8.1362>
- Cunningham, D., Allum, W. H., Stenning, S. P., Thompson, J. N., Van de Velde, C. J., Nicolson, M., Scarffe, J. H., Lofts, F. J., Falk, S. J., Iveson, T. J., Smith, D. B., Langle, R. E., Verma, M., Weeden, S., Chua, Y. J., & MAGIC Trial Participants (2006). Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *The New England journal of medicine*, 355(1), 11–20. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa055531>
- Cunningham-Rundles C. (2010). How I treat common variable immune deficiency. *Blood*, 116(1), 7–15. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-01-254417>

- Cunningham-Rundles, C., & Bodian, C. (1999). Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 92(1), 34–48. <https://doi.org/10.1006/clim.1999.4725>
- Cunningham-Rundles, C., Cooper, D. L., Duffy, T. P., & Strauchen, J. (2002). Lymphomas of mucosal-associated lymphoid tissue in common variable immunodeficiency. *American journal of hematology*, 69(3), 171–178. <https://doi.org/10.1002/ajh.10050>
- Cunningham-Rundles, C., Radigan, L., Knight, A. K., Zhang, L., Bauer, L., & Nakazawa, A. (2006). TLR9 activation is defective in common variable immune deficiency. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 176(3), 1978–1987. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.3.1978>
- Daniels, J. A., Lederman, H. M., Maitra, A., & Montgomery, E. A. (2007). Gastrointestinal tract pathology in patients with common variable immunodeficiency (CVID): a clinicopathologic study and review. *The American journal of surgical pathology*, 31(12), 1800–1812. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3180cab60c>
- de Martel, C., Georges, D., Bray, F., Ferlay, J., & Clifford, G. M. (2020). Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *The Lancet. Global health*, 8(2), e180–e190. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30488-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30488-7)
- De Petris, G., Dhungel, B. M., Chen, L., & Chang, Y. H. (2014). Gastric adenocarcinoma in common variable immunodeficiency: features of cancer and associated gastritis may be characteristic of the condition. *International journal of surgical pathology*, 22(7), 600–606. <https://doi.org/10.1177/1066896914532540>
- De Vita, F., Borg, C., Farina, G., Geva, R., Carton, I., Cuku, H., Wei, R., & Muro, K. (2019). Ramucirumab and paclitaxel in patients with gastric cancer and prior trastuzumab: subgroup analysis from RAINBOW study. *Future oncology (London, England)*, 15(23), 2723–2731. <https://doi.org/10.2217/fon-2019-0243>
- Devonshire, A. L., & Makhija, M. (2019). Approach to primary immunodeficiency. *Allergy and asthma proceedings*, 40(6), 465–469. <https://doi.org/10.2500/aap.2019.40.4273>
- Dhalla, F., da Silva, S. P., Lucas, M., Travis, S., & Chapel, H. (2011). Review of gastric cancer risk factors in patients with common variable immunodeficiency disorders, resulting in a proposal for a surveillance programme. *Clinical and experimental immunology*, 165(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04384.x>
- Ding, S. Z., & Zheng, P. Y. (2012). Helicobacter pylori infection induced gastric cancer; advance in gastric stem cell research and the remaining challenges. *Gut pathogens*, 4(1), 18. <https://doi.org/10.1186/1757-4749-4-18>
- Ding, S. Z., Goldberg, J. B., & Hatakeyama, M. (2010). Helicobacter pylori infection, oncogenic pathways and epigenetic mechanisms in gastric carcinogenesis. *Future Oncology*, 6(5), 851–862. doi:10.2217/fon.10.37
- Duell, E. J., Travier, N., Lujan-Barroso, L., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M. C., Morois, S., Palli, D., Krogh, V., Panico, S., Tumino, R., Sacerdote, C., Quirós,

- J. R., Sánchez-Cantalejo, E., Navarro, C., Gurrea, A. B., Dorronsoro, M., Khaw, K. T., Allen, N. E., Key, T. J., Bueno-de-Mesquita, H. B., ... González, C. A. (2011). Alcohol consumption and gastric cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort. *The American journal of clinical nutrition*, 94(5), 1266–1275. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.012351>
- Escobar, D., Pons, J., Clemente, A., Iglesias, J., Regueiro, V., Bengoechea, J. A., Matamoros, N., & Ferrer, J. M. (2010). Defective B cell response to TLR9 ligand (CpG-ODN), *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* extracts in common variable immunodeficiency patients. *Cellular immunology*, 262(2), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2010.01.002>
- Fasano, M. B., Sullivan, K. E., Sarpong, S. B., Wood, R. A., Jones, S. M., Johns, C. J., Lederman, H. M., Bykowsky, M. J., Greene, J. M., & Winkelstein, J. A. (1996). Sarcoidosis and common variable immunodeficiency. Report of 8 cases and review of the literature. *Medicine*, 75(5), 251–261. <https://doi.org/10.1097/00005792-199609000-00002>
- Fernández-Castro, M., Mellor-Pita, S., Citores, M. J., Muñoz, P., Tutor-Ureta, P., Silva, L., Vargas, J. A., Yebra-Bango, M., & Andreu, J. L. (2007). Common variable immunodeficiency in systemic lupus erythematosus. *Seminars in arthritis and rheumatism*, 36(4), 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2006.09.005>
- Filion, C. A., Taylor-Black, S., Maglione, P. J., Radigan, L., & Cunningham-Rundles, C. (2019). Differentiation of Common Variable Immunodeficiency From IgG Deficiency. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*, 7(4), 1277–1284. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.12.004>
- Fisch, D., Bando, H., Clough, B., Hornung, V., Yamamoto, M., Shenoy, A. R., & Frickel, E. M. (2019). Human GBP1 is a microbe-specific gatekeeper of macrophage apoptosis and pyroptosis. *The EMBO journal*, 38(13), e100926. <https://doi.org/10.15252/embj.2018100926>
- Flach, H., Rosenbaum, M., Duchniewicz, M., Kim, S., Zhang, S. L., Cahalan, M. D., Mittler, G., & Grosschedl, R. (2010). Mzb1 protein regulates calcium homeostasis, antibody secretion, and integrin activation in innate-like B cells. *Immunity*, 33(5), 723–735. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.11.013>
- Fukayama, M., Hayashi, Y., Iwasaki, Y., Chong, J., Ooba, T., Takizawa, T., Koike, M., Mizutani, S., Miyaki, M., & Hirai, K. (1994). Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma and Epstein-Barr virus infection of the stomach. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 71(1), 73–81.
- Fuss, I. J., Friend, J., Yang, Z., He, J. P., Hooda, L., Boyer, J., Xi, L., Raffeld, M., Kleiner, D. E., Heller, T., & Strober, W. (2013). Nodular regenerative hyperplasia in common variable immunodeficiency. *Journal of clinical immunology*, 33(4), 748–758. <https://doi.org/10.1007/s10875-013-9873-6>
- Ganjalikhani-Hakemi, M., Yazdani, R., Esmaeili, M., Abolhassani, H., Rae, W., Azizi, G., Dizaji, M. Z., Shaghaghi, M., Rezaei, A., Abbasi-Rad, F., Afshar-Qasemloo, S., Mohammadi, S., Rezaei, N., & Aghamohammadi, A. (2017). Role of Apoptosis in the Pathogenesis of Common Variable Immunodeficiency (CVID).

- Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*, 17(4), 332–340.
<https://doi.org/10.2174/1871530317666170919120245>
- Gathmann, B., Grimbacher, B., Beauté, J., Dudoit, Y., Mahlaoui, N., Fischer, A., Knerr, V., Kindle, G., & ESID Registry Working Party (2009). The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: results 2006-2008. *Clinical and experimental immunology*, 157 Suppl 1(Suppl 1), 3–11.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.03954.x>
- Gathmann, B., Mahlaoui, N., CEREDIH, Gérard, L., Oksenhendler, E., Warnatz, K., Schulze, I., Kindle, G., Kuijpers, T. W., Dutch WID, van Beem, R. T., Guzman, D., Workman, S., Soler-Palacín, P., De Gracia, J., Witte, T., Schmidt, R. E., Litzman, J., Hlavackova, E., Thon, V., ... European Society for Immunodeficiencies Registry Working Party (2014). Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 134(1), 116–126.
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.12.1077>
- Gelfand E. W. (2012). Intravenous immune globulin in autoimmune and inflammatory diseases. *The New England journal of medicine*, 367(21), 2015–2025.
<https://doi.org/10.1056/NEJMr1009433>
- Gereige, J. D., & Maglione, P. J. (2019). Current Understanding and Recent Developments in Common Variable Immunodeficiency Associated Autoimmunity. *Frontiers in immunology*, 10, 2753.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02753>
- Ghafoor, A., & Joseph, S. M. (2020). Making a Diagnosis of Common Variable Immunodeficiency: A Review. *Cureus*, 12(1), e6711.
<https://doi.org/10.7759/cureus.6711>
- Golan, H., Dalal, I., Garty, B. Z., Schlesinger, M., Levy, J., Handzel, Z., Wolach, B., Rottem, M., Goldberg, A., Tamir, R., Koren, A., Levy, Y., Katz, Y., Passwell, J., & Etzioni, A. (2002). The incidence of primary immunodeficiency syndromes in Israel. *The Israel Medical Association journal : IMAJ*, 4(11 Suppl), 868–871.
- Goral V. (2016). Etiopathogenesis of Gastric Cancer. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 17(6), 2745–2750.
- Grabenstein, J. D., & Manoff, S. B. (2012). Pneumococcal polysaccharide 23-valent vaccine: long-term persistence of circulating antibody and immunogenicity and safety after revaccination in adults. *Vaccine*, 30(30), 4435–4444.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.04.052>
- Graziano, F., Ruzzo, A., Santini, D., Humar, B., Tonini, G., Catalano, V., ... Magnani, M. (2005). *Prognostic Role of Interleukin-1 β Gene and Interleukin-1 Receptor Antagonist Gene Polymorphisms in Patients With Advanced Gastric Cancer*. *Journal of Clinical Oncology*, 23(10), 2339–2345. doi:10.1200/jco.2005.02.345
- Gullo, I., Costa, C., Silva, S. L., Ferreira, C., Motta, A., Silva, S. P., Ferreira, R. D., Rosmaninho, P., Faria, E., Costa, J., Câmara, R., Gonçalves, G., Santos-Antunes, J., Oliveira, C., Machado, J. C., Carneiro, F., & Sousa, A. E. (2020). The Dysfunctional Immune System in Common Variable Immunodeficiency Increases

- the Susceptibility to Gastric Cancer. *Cells*, 9(6), 1498. <https://doi.org/10.3390/cells9061498>
- Hartgrink, H. H., van de Velde, C. J., Putter, H., Songun, I., Tesselaaar, M. E., Kranenbarg, E. K., de Vries, J. E., Wils, J. A., van der Bijl, J., van Krieken, J. H., & Cooperating Investigators of The Dutch Gastric Cancer Group (2004). Neoadjuvant chemotherapy for operable gastric cancer: long term results of the Dutch randomised FAMTX trial. *European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, 30(6), 643–649. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2004.04.013>
- Hultberg, J., Ernerudh, J., Larsson, M., Nilsson-Augustinsson, Å., & Nyström, S. (2020). Plasma protein profiling reflects TH1-driven immune dysregulation in common variable immunodeficiency. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 146(2), 417–428. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.01.046>
- Iizasa, H., Nanbo, A., Nishikawa, J., Jinushi, M., & Yoshiyama, H. (2012). Epstein-Barr Virus (EBV)-associated gastric carcinoma. *Viruses*, 4(12), 3420–3439. <https://doi.org/10.3390/v4123420>
- Ishaq, S., & Nunn, L. (2015). Helicobacter pylori and gastric cancer: a state of the art review. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 8(Suppl 1), S6–S14.
- Jeffries, M. A., & Sawalha, A. H. (2015). Autoimmune disease in the epigenetic era: how has epigenetics changed our understanding of disease and how can we expect the field to evolve?. *Expert review of clinical immunology*, 11(1), 45–58. <https://doi.org/10.1586/1744666X.2015.994507>
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., & Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*, 61(2), 69–90. <https://doi.org/10.3322/caac.20107>
- Jia, L., Xi, Q., Wang, H., Zhang, Z., Liu, H., Cheng, Y., Guo, X., Zhang, J., Zhang, Q., Zhang, L., Xue, Z., Li, Y., Da, Y., Zhao, P., & Zhang, R. (2017). miR-142-5p regulates tumor cell PD-L1 expression and enhances anti-tumor immunity. *Biochemical and biophysical research communications*, 488(2), 425–431. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.05.074>
- Jørgensen, S. F., Fevang, B., & Aukrust, P. (2019). Autoimmunity and Inflammation in CVID: a Possible Crosstalk between Immune Activation, Gut Microbiota, and Epigenetic Modifications. *Journal of clinical immunology*, 39(1), 30–36. <https://doi.org/10.1007/s10875-018-0574-z>
- Jørgensen, S. F., Trøseid, M., Kummen, M., Anmarkrud, J. A., Michelsen, A. E., Osnes, L. T., Holm, K., Høivik, M. L., Rashidi, A., Dahl, C. P., Vesterhus, M., Halvorsen, B., Mollnes, T. E., Berge, R. K., Moum, B., Lundin, K. E., Fevang, B., Ueland, T., Karlsen, T. H., Aukrust, P., ... Hov, J. R. (2016). Altered gut microbiota profile in common variable immunodeficiency associates with levels of lipopolysaccharide and markers of systemic immune activation. *Mucosal immunology*, 9(6), 1455–1465. <https://doi.org/10.1038/mi.2016.18>
- Kaczanowska, S., Joseph, A. M., & Davila, E. (2013). TLR agonists: our best frenemy in cancer immunotherapy. *Journal of leukocyte biology*, 93(6), 847–863. <https://doi.org/10.1189/jlb.1012501>

- Kainulainen, L., Suonpää, J., Nikoskelainen, J., Svedström, E., Vuorinen, T., Meurman, O., & Ruuskanen, O. (2007). Bacteria and viruses in maxillary sinuses of patients with primary hypogammaglobulinemia. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery*, *133*(6), 597–602. <https://doi.org/10.1001/archotol.133.6.597>
- Kanda, M., Tanaka, C., Kobayashi, D., Tanaka, H., Shimizu, D., Shibata, M., Takami, H., Hayashi, M., Iwata, N., Niwa, Y., Yamada, S., Fujii, T., Nakayama, G., Fujiwara, M., & Kodera, Y. (2016). Epigenetic suppression of the immunoregulator MZB1 is associated with the malignant phenotype of gastric cancer. *International journal of cancer*, *139*(10), 2290–2298. <https://doi.org/10.1002/ijc.30286>
- Kanehisa, M., Furumichi, M., Tanabe, M., Sato, Y., & Morishima, K. (2017). KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic acids research*, *45*(D1), D353–D361. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1092>
- Katz, U., Shoenfeld, Y., & Zandman-Goddard, G. (2011). Update on intravenous immunoglobulins (IVIg) mechanisms of action and off- label use in autoimmune diseases. *Current pharmaceutical design*, *17*(29), 3166–3175. <https://doi.org/10.2174/138161211798157540>
- Keller, M. D., & Jyonouchi, S. (2013). Chipping away at a mountain: genomic studies in common variable immunodeficiency. *Autoimmunity reviews*, *12*(6), 687–689. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.10.017>
- Kilic, S. S., Ozel, M., Hafizoglu, D., Karaca, N. E., Aksu, G., & Kutukculer, N. (2013). The prevalences [correction] and patient characteristics of primary immunodeficiency diseases in Turkey--two centers study. *Journal of clinical immunology*, *33*(1), 74–83. <https://doi.org/10.1007/s10875-012-9763-3>
- Kim, J., Cho, Y. A., Choi, W. J., & Jeong, S. H. (2014). Gene-diet interactions in gastric cancer risk: a systematic review. *World journal of gastroenterology*, *20*(28), 9600–9610. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i28.9600>
- Kinlen, L. J., Webster, A. D., Bird, A. G., Haile, R., Peto, J., Soothill, J. F., & Thompson, R. A. (1985). Prospective study of cancer in patients with hypogammaglobulinaemia. *Lancet (London, England)*, *1*(8423), 263–266. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(85\)91037-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(85)91037-2)
- Kirkpatrick, P., & Riminton, S. (2007). Primary immunodeficiency diseases in Australia and New Zealand. *Journal of clinical immunology*, *27*(5), 517–524. <https://doi.org/10.1007/s10875-007-9105-z>
- Knight, A. K., & Cunningham-Rundles, C. (2006). Inflammatory and autoimmune complications of common variable immune deficiency. *Autoimmunity reviews*, *5*(2), 156–159. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2005.10.002>
- Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., Diakosavvas, M., Angelou, K., Tsatsaris, G., Pagkalos, A., Ntounis, T., & Fasoulakis, Z. (2020). Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. *Anticancer research*, *40*(11), 6009–6015. <https://doi.org/10.21873/anticancer.14622>

- Koopmans, W., Woon, S. T., Brooks, A. E., Dunbar, P. R., Browett, P., & Ameratunga, R. (2013). Clinical variability of family members with the C104R mutation in transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor (TACI). *Journal of clinical immunology*, 33(1), 68–73. <https://doi.org/10.1007/s10875-012-9793-x>
- Kralickova, P., Milota, T., Litzman, J., Malkusova, I., Jilek, D., Petanova, J., Vydakova, J., Zimulova, A., Fronkova, E., Svaton, M., Kanderova, V., Bloomfield, M., Parackova, Z., Klocperk, A., Haviger, J., Kalina, T., & Sediva, A. (2019). CVID-Associated Tumors: Czech Nationwide Study Focused on Epidemiology, Immunology, and Genetic Background in a Cohort of Patients With CVID. *Frontiers in immunology*, 9, 3135. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03135>
- Kramer, N. J., Wang, W. L., Reyes, E. Y., Kumar, B., Chen, C. C., Ramakrishna, C., Cantin, E. M., Vonderfecht, S. L., Taganov, K. D., Chau, N., & Boldin, M. P. (2015). Altered lymphopoiesis and immunodeficiency in miR-142 null mice. *Blood*, 125(24), 3720–3730. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-10-603951>
- Kuehn, H. S., Boisson, B., Cunningham-Rundles, C., Reichenbach, J., Stray-Pedersen, A., Gelfand, E. W., Maffucci, P., Pierce, K. R., Abbott, J. K., Voelkerding, K. V., South, S. T., Augustine, N. H., Bush, J. S., Dolen, W. K., Wray, B. B., Itan, Y., Cobat, A., Sorte, H. S., Ganesan, S., Prader, S., ... Rosenzweig, S. D. (2016). Loss of B Cells in Patients with Heterozygous Mutations in IKAROS. *The New England journal of medicine*, 374(11), 1032–1043. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1512234>
- Kuehn, H. S., Niemela, J. E., Sreedhara, K., Stoddard, J. L., Grossman, J., Wysocki, C. A., de la Morena, M. T., Garofalo, M., Inlora, J., Snyder, M. P., Lewis, D. B., Stratakis, C. A., Fleisher, T. A., & Rosenzweig, S. D. (2017). Novel nonsense gain-of-function *NFKB2* mutations associated with a combined immunodeficiency phenotype. *Blood*, 130(13), 1553–1564. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-05-782177>
- Laugerette, F., Vors, C., Géoën, A., Chauvin, M. A., Soulage, C., Lambert-Porcheron, S., Peretti, N., Alligier, M., Burcelin, R., Laville, M., Vidal, H., & Michalski, M. C. (2011). Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. *The Journal of nutritional biochemistry*, 22(1), 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.11.011>
- Lauren P. (1965). THE TWO HISTOLOGICAL MAIN TYPES OF GASTRIC CARCINOMA: DIFFUSE AND SO-CALLED INTESTINAL-TYPE CARCINOMA. AN ATTEMPT AT A HISTO-CLINICAL CLASSIFICATION. *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica*, 64, 31–49. <https://doi.org/10.1111/apm.1965.64.1.31>
- Lenti, M. V., Savioli, J., Achilli, G., & Di Sabatino, A. (2020). Autoimmune diseases associated with common variable immune deficiency. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 31 Suppl 26, 60–62. <https://doi.org/10.1111/pai.13339>

- Leone, P., Vacca, A., Dammacco, F., & Racanelli, V. (2018). Common Variable Immunodeficiency and Gastric Malignancies. *International journal of molecular sciences*, *19*(2), 451. <https://doi.org/10.3390/ijms19020451>
- Lewandowska, A. M., Rudzki, M., Rudzki, S., Lewandowski, T., & Laskowska, B. (2019). Environmental risk factors for cancer - review paper. *Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM*, *26*(1), 1–7. <https://doi.org/10.26444/aaem/94299>
- Li, Y., & Kowdley, K. V. (2012). MicroRNAs in common human diseases. *Genomics, proteomics & bioinformatics*, *10*(5), 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2012.07.005>
- Lise, M., Nitti, D., Marchet, A., Sahnoud, T., Buyse, M., Duez, N., Fiorentino, M., Dos Santos, J. G., Labianca, R., & Rougier, P. (1995). Final results of a phase III clinical trial of adjuvant chemotherapy with the modified fluorouracil, doxorubicin, and mitomycin regimen in resectable gastric cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, *13*(11), 2757–2763. <https://doi.org/10.1200/JCO.1995.13.11.2757>
- Lucas, M., Lee, M., Lortan, J., Lopez-Granados, E., Misbah, S., & Chapel, H. (2010). Infection outcomes in patients with common variable immunodeficiency disorders: relationship to immunoglobulin therapy over 22 years. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *125*(6), 1354–1360.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.02.040>
- Ludviksson, B. R., Sigurdardottir, S. T., Johannsson, J. H., Haraldsson, A., & Hardarson, T. O. (2015). Epidemiology of Primary Immunodeficiency in Iceland. *Journal of clinical immunology*, *35*(1), 75–79. <https://doi.org/10.1007/s10875-014-0107-3>
- Machlowska, J., Baj, J., Sitarz, M., Maciejewski, R., & Sitarz, R. (2020). Gastric Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Classification, Genomic Characteristics and Treatment Strategies. *International journal of molecular sciences*, *21*(11), 4012. <https://doi.org/10.3390/ijms21114012>
- Machlowska, J., Maciejewski, R., & Sitarz, R. (2018). The Pattern of Signatures in Gastric Cancer Prognosis. *International journal of molecular sciences*, *19*(6), 1658. <https://doi.org/10.3390/ijms19061658>
- Maffucci, P., Filion, C. A., Boisson, B., Itan, Y., Shang, L., Casanova, J. L., & Cunningham-Rundles, C. (2016). Genetic Diagnosis Using Whole Exome Sequencing in Common Variable Immunodeficiency. *Frontiers in immunology*, *7*, 220. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00220>
- Mahi, N. A., Najafabadi, M. F., Pilarczyk, M., Kouril, M., & Medvedovic, M. (2019). GREIN: An Interactive Web Platform for Re-analyzing GEO RNA-seq Data. *Scientific reports*, *9*(1), 7580. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43935-8>
- Malamut, G., Verkarre, V., Suarez, F., Viillard, J. F., Lascaux, A. S., Cosnes, J., Bouhnik, Y., Lambotte, O., Béchade, D., Zioli, M., Lavergne, A., Hermine, O., Cerf-Bensussan, N., & Cellier, C. (2010). The enteropathy associated with common variable immunodeficiency: the delineated frontiers with celiac disease.

- The American journal of gastroenterology*, 105(10), 2262–2275.
<https://doi.org/10.1038/ajg.2010.214>
- Malamut, G., Zioli, M., Suarez, F., Beaugrand, M., Viillard, J. F., Lascaux, A. S., Verkarre, V., Bechade, D., Poynard, T., Hermine, O., & Cellier, C. (2008). Nodular regenerative hyperplasia: the main liver disease in patients with primary hypogammaglobulinemia and hepatic abnormalities. *Journal of hepatology*, 48(1), 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.08.011>
- Marschall, K., Hoernes, M., Bitzenhofer-Grüber, M., Jandus, P., Duppenhaler, A., Willemin, W. A., Rischewski, J., Boyman, O., Heininger, U., Hauser, T., Steiner, U., Posfay-Barbe, K., Seebach, J., Recher, M., Hess, C., Helbling, A., Reichenbach, J., & Swiss PID Registry Working Group (2015). The Swiss National Registry for Primary Immunodeficiencies: report on the first 6 years' activity from 2008 to 2014. *Clinical and experimental immunology*, 182(1), 45–50. <https://doi.org/10.1111/cei.12661>
- Martin, F., & Kearney, J. F. (2002). Marginal-zone B cells. *Nature reviews. Immunology*, 2(5), 323–335. <https://doi.org/10.1038/nri799>
- Matamoros Florí, N., Mila Llambi, J., Español Boren, T., Raga Borja, S., & Fontan Casariego, G. (1997). Primary immunodeficiency syndrome in Spain: first report of the National Registry in Children and Adults. *Journal of clinical immunology*, 17(4), 333–339. <https://doi.org/10.1023/a:1027382916924>
- Matsumura, S., Imoto, I., Kozaki, K., Matsui, T., Muramatsu, T., Furuta, M., Tanaka, S., Sakamoto, M., Arii, S., & Inazawa, J. (2012). Integrative array-based approach identifies MZB1 as a frequently methylated putative tumor suppressor in hepatocellular carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 18(13), 3541–3551. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1007>
- Mayor, P. C., Eng, K. H., Singel, K. L., Abrams, S. I., Odunsi, K., Moysich, K. B., Fuleihan, R., Garabedian, E., Lugar, P., Ochs, H. D., Bonilla, F. A., Buckley, R. H., Sullivan, K. E., Ballas, Z. K., Cunningham-Rundles, C., & Segal, B. H. (2018). Cancer in primary immunodeficiency diseases: Cancer incidence in the United States Immune Deficiency Network Registry. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 141(3), 1028–1035. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.024>
- Mellemkjaer, L., Hammarstrom, L., Andersen, V., Yuen, J., Heilmann, C., Barington, T., Bjorkander, J., & Olsen, J. H. (2002). Cancer risk among patients with IgA deficiency or common variable immunodeficiency and their relatives: a combined Danish and Swedish study. *Clinical and experimental immunology*, 130(3), 495–500. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2002.02004.x>
- Meng, Q., Zhang, Y., & Hu, L. G. (2020). Targeting Autophagy Facilitates T Lymphocyte Migration by Inducing the Expression of CXCL10 in Gastric Cancer Cell Lines. *Frontiers in oncology*, 10, 886. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00886>

- Molina-Castro, S., Pereira-Marques, J., Figueiredo, C., Machado, J. C., & Varon, C. (2017). Gastric cancer: Basic aspects. *Helicobacter*, 22 Suppl 1, 10.1111/hel.12412. <https://doi.org/10.1111/hel.12412>
- Mortaz, E., Tabarsi, P., Mansouri, D., Khosravi, A., Garssen, J., Velayati, A., & Adcock, I. M. (2016). Cancers Related to Immunodeficiencies: Update and Perspectives. *Frontiers in immunology*, 7, 365. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00365>
- Moy, K. A., Fan, Y., Wang, R., Gao, Y. T., Yu, M. C., & Yuan, J. M. (2010). Alcohol and tobacco use in relation to gastric cancer: a prospective study of men in Shanghai, China. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 19(9), 2287–2297. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0362>
- Musher, D. M., Manof, S. B., Liss, C., McFetridge, R. D., Marchese, R. D., Bushnell, B., Alvarez, F., Painter, C., Blum, M. D., & Silber, J. L. (2010). Safety and antibody response, including antibody persistence for 5 years, after primary vaccination or revaccination with pneumococcal polysaccharide vaccine in middle-aged and older adults. *The Journal of infectious diseases*, 201(4), 516–524. <https://doi.org/10.1086/649839>
- Nadezhin A. S. (2000). Vnutriépitelial'nye mononuklearnye leikotsity i stepen' progressii raka zheludka i tolstoï kishki [Intraepithelial mononuclear lymphocytes and progression of stomach and colon cancers]. *Voprosy onkologii*, 46(5), 567–569.
- Oksenhendler, E., Gérard, L., Fieschi, C., Malphettes, M., Mouillot, G., Jaussaud, R., Viillard, J. F., Gardembas, M., Galicier, L., Schleinitz, N., Suarez, F., Soulas-Sprauel, P., Hachulla, E., Jaccard, A., Gardeur, A., Théodorou, I., Rabian, C., Debré, P., & DEFI Study Group (2008). Infections in 252 patients with common variable immunodeficiency. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 46(10), 1547–1554. <https://doi.org/10.1086/587669>
- Olinder-Nielsen, A. M., Granert, C., Forsberg, P., Friman, V., Vietorisz, A., & Björkander, J. (2007). Immunoglobulin prophylaxis in 350 adults with IgG subclass deficiency and recurrent respiratory tract infections: a long-term follow-up. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 39(1), 44–50. <https://doi.org/10.1080/00365540600951192>
- Orange, J. S., Glessner, J. T., Resnick, E., Sullivan, K. E., Lucas, M., Ferry, B., Kim, C. E., Hou, C., Wang, F., Chiavacci, R., Kugathasan, S., Sleasman, J. W., Baldassano, R., Perez, E. E., Chapel, H., Cunningham-Rundles, C., & Hakonarson, H. (2011). Genome-wide association identifies diverse causes of common variable immunodeficiency. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 127(6), 1360–7.e6. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.02.039>
- Orange, J. S., Hossny, E. M., Weiler, C. R., Ballow, M., Berger, M., Bonilla, F. A., Buckley, R., Chinen, J., El-Gamal, Y., Mazer, B. D., Nelson, R. P., Jr, Patel, D. D., Secord, E., Sorensen, R. U., Wasserman, R. L., Cunningham-Rundles, C., & Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy,

- Asthma and Immunology (2006). Use of intravenous immunoglobulin in human disease: a review of evidence by members of the Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 117(4 Suppl), S525–S553. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.01.015>
- Pagnini, I., Simonini, G., Lippi, F., Azzari, C., & Cimaz, R. (2012). Cutaneous polyarteritis nodosa and common variable immunodeficiency: a previously unreported association. *Clinical and experimental rheumatology*, 30(1 Suppl 70), S169.
- Pan-Hammarström, Q., Salzer, U., Du, L., Björkander, J., Cunningham-Rundles, C., Nelson, D. L., Bacchelli, C., Gaspar, H. B., Offer, S., Behrens, T. W., Grimbacher, B., & Hammarström, L. (2007). Reexamining the role of TAC1 coding variants in common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency. *Nature genetics*, 39(4), 429–430. <https://doi.org/10.1038/ng0407-429>
- Parisi, A., Reim, D., Borghi, F., Nguyen, N. T., Qi, F., Coratti, A., Cianchi, F., Cesari, M., Bazzocchi, F., Alimoglu, O., Gagnière, J., Pernazza, G., D'Imporzano, S., Zhou, Y. B., Azagra, J. S., Facy, O., Brower, S. T., Jiang, Z. W., Zang, L., Isik, A., ... Desiderio, J. (2017). Minimally invasive surgery for gastric cancer: A comparison between robotic, laparoscopic and open surgery. *World journal of gastroenterology*, 23(13), 2376–2384. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i13.2376>
- Park, J., Munagala, I., Xu, H., Blankenship, D., Maffucci, P., Chaussabel, D., Banchereau, J., Pascual, V., & Cunningham-Rundles, C. (2013). Interferon signature in the blood in inflammatory common variable immune deficiency. *PloS one*, 8(9), e74893. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074893>
- Patuzzo, G., Barbieri, A., Tinazzi, E., Veneri, D., Argentino, G., Moretta, F., Puccetti, A., & Lunardi, C. (2016). Autoimmunity and infection in common variable immunodeficiency (CVID). *Autoimmunity reviews*, 15(9), 877–882. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.07.011>
- Perreau, M., Vigano, S., Bellanger, F., Pellaton, C., Buss, G., Comte, D., Roger, T., Lacabaratz, C., Bart, P. A., Levy, Y., & Pantaleo, G. (2014). Exhaustion of bacteria-specific CD4 T cells and microbial translocation in common variable immunodeficiency disorders. *The Journal of experimental medicine*, 211(10), 2033–2045. <https://doi.org/10.1084/jem.20140039>
- Pescador Ruschel, M. A., & Vaqar, S. (2020). Common Variable Immunodeficiency. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Petryszyn, P., Chapelle, N., & Matysiak-Budnik, T. (2020). Gastric Cancer: Where Are We Heading?. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*, 38(4), 280–285. <https://doi.org/10.1159/000506509>
- Pinheiro, H., Oliveira, C., Seruca, R., & Carneiro, F. (2014). Hereditary diffuse gastric cancer - pathophysiology and clinical management. *Best practice & research. Clinical gastroenterology*, 28(6), 1055–1068. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2014.09.007>
- Pulvirenti, F., Pecoraro, A., Cinetto, F., Milito, C., Valente, M., Santangeli, E., Crescenzi, L., Rizzo, F., Tabolli, S., Spadaro, G., Agostini, C., & Quinti, I.

- (2018). Gastric Cancer Is the Leading Cause of Death in Italian Adult Patients With Common Variable Immunodeficiency. *Frontiers in immunology*, 9, 2546. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02546>
- Puneet, Kazmi, H. R., Kumari, S., Tiwari, S., Khanna, A., & Narayan, G. (2018). Epigenetic Mechanisms and Events in Gastric Cancer-Emerging Novel Biomarkers. *Pathology oncology research : POR*, 24(4), 757–770. <https://doi.org/10.1007/s12253-018-0410-z>
- Quinti, I., Soresina, A., Guerra, A., Rondelli, R., Spadaro, G., Agostini, C., Milito, C., Trombetta, A. C., Visentini, M., Martini, H., Plebani, A., Fiorilli, M., & IPINet Investigators (2011). Effectiveness of immunoglobulin replacement therapy on clinical outcome in patients with primary antibody deficiencies: results from a multicenter prospective cohort study. *Journal of clinical immunology*, 31(3), 315–322. <https://doi.org/10.1007/s10875-011-9511-0>
- Quinti, I., Soresina, A., Spadaro, G., Martino, S., Donnanno, S., Agostini, C., Claudio, P., Franco, D., Maria Pesce, A., Borghese, F., Guerra, A., Rondelli, R., Plebani, A., & Italian Primary Immunodeficiency Network (2007). Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency. *Journal of clinical immunology*, 27(3), 308–316. <https://doi.org/10.1007/s10875-007-9075-1>
- Rae W. (2017). Indications to Epigenetic Dysfunction in the Pathogenesis of Common Variable Immunodeficiency. *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis*, 65(2), 101–110. <https://doi.org/10.1007/s00005-016-0414-x>
- Reda, S. M., Afifi, H. M., & Amine, M. M. (2009). Primary immunodeficiency diseases in Egyptian children: a single-center study. *Journal of clinical immunology*, 29(3), 343–351. <https://doi.org/10.1007/s10875-008-9260-x>
- Resnick, E. S., & Cunningham-Rundles, C. (2012). The many faces of the clinical picture of common variable immune deficiency. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 12(6), 595–601. <https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e32835914b9>
- Resnick, E. S., Moshier, E. L., Godbold, J. H., & Cunningham-Rundles, C. (2012). Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood*, 119(7), 1650–1657. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-09-377945>
- Rezaei, N., Aghamohammadi, A., Moin, M., Pourpak, Z., Movahedi, M., Gharagozlou, M., Atarod, L., Ghazi, B. M., Isaeian, A., Mahmoudi, M., Abolmaali, K., Mansouri, D., Arshi, S., Tarash, N. J., Sherkat, R., Akbari, H., Amin, R., Alborzi, A., Kashef, S., Farid, R., ... Farhoudi, A. (2006). Frequency and clinical manifestations of patients with primary immunodeficiency disorders in Iran: update from the Iranian Primary Immunodeficiency Registry. *Journal of clinical immunology*, 26(6), 519–532. <https://doi.org/10.1007/s10875-006-9047-x>
- Rezaei, N., Hedayat, M., Aghamohammadi, A., & Nichols, K. E. (2011). Primary immunodeficiency diseases associated with increased susceptibility to viral infections and malignancies. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 127(6), 1329–1343. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.02.047>

- Rodriguez, A., Vigorito, E., Clare, S., Warren, M. V., Couttet, P., Soond, D. R., van Dongen, S., Grocock, R. J., Das, P. P., Miska, E. A., Vetrie, D., Okkenhaug, K., Enright, A. J., Dougan, G., Turner, M., & Bradley, A. (2007). Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science (New York, N.Y.)*, *316*(5824), 608–611. <https://doi.org/10.1126/science.1139253>
- Romagnani, P., Annunziato, F., Lazzeri, E., Cosmi, L., Beltrame, C., Lasagni, L., Galli, G., Francalanci, M., Manetti, R., Marra, F., Vanini, V., Maggi, E., & Romagnani, S. (2001). Interferon-inducible protein 10, monokine induced by interferon gamma, and interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant are produced by thymic epithelial cells and attract T-cell receptor (TCR) alphabeta+ CD8+ single-positive T cells, TCRgammadelta+ T cells, and natural killer-type cells in human thymus. *Blood*, *97*(3), 601–607. <https://doi.org/10.1182/blood.v97.3.601>
- Rosenbaum, M., Andreani, V., Kapoor, T., Herp, S., Flach, H., Duchniewicz, M., & Grosschedl, R. (2014). MZB1 is a GRP94 cochaperone that enables proper immunoglobulin heavy chain biosynthesis upon ER stress. *Genes & development*, *28*(11), 1165–1178. <https://doi.org/10.1101/gad.240762.114>
- Sánchez-Ramón, S., Radigan, L., Yu, J. E., Bard, S., & Cunningham-Rundles, C. (2008). Memory B cells in common variable immunodeficiency: clinical associations and sex differences. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, *128*(3), 314–321. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2008.02.013>
- Seidel, M. G., Kindle, G., Gathmann, B., Quinti, I., Buckland, M., van Montfrans, J., Scheible, R., Rusch, S., Gasteiger, L. M., Grimbacher, B., Mahlaoui, N., Ehl, S., & ESID Registry Working Party and collaborators (2019). The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry Working Definitions for the Clinical Diagnosis of Inborn Errors of Immunity. *The journal of allergy and clinical immunology. In practice*, *7*(6), 1763–1770. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.02.004>
- Selenius, J. S., Martelius, T., Pikkarainen, S., Siitonen, S., Mattila, E., Pietikäinen, R., Suomalainen, P., Aalto, A. H., Saarela, J., Einarsdottir, E., Järvinen, A., Färkkilä, M., Kere, J., & Seppänen, M. (2017). Unexpectedly High Prevalence of Common Variable Immunodeficiency in Finland. *Frontiers in immunology*, *8*, 1190. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01190>
- Shabestari, M. S., Maljaei, S. H., Baradaran, R., Barzegar, M., Hashemi, F., Mesri, A., & Rezaei, N. (2007). Distribution of primary immunodeficiency diseases in the Turk ethnic group, living in the northwestern Iran. *Journal of clinical immunology*, *27*(5), 510–516. <https://doi.org/10.1007/s10875-007-9101-3>
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., & Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research*, *13*(11), 2498–2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- Shillitoe, B., Bangs, C., Guzman, D., Gennery, A. R., Longhurst, H. J., Slatter, M., Edgar, D. M., Thomas, M., Worth, A., Huissoon, A., Arkwright, P. D., Jolles, S., Bourne, H., Alachkar, H., Savic, S., Kumararatne, D. S., Patel, S., Baxendale, H., Noorani, S., Yong, P., ... Buckland, M. (2018). The United Kingdom Primary

- Immune Deficiency (UKPID) registry 2012 to 2017. *Clinical and experimental immunology*, 192(3), 284–291. <https://doi.org/10.1111/cei.13125>
- Shulzhenko, N., Dong, X., Vyshenska, D., Greer, R. L., Gurung, M., Vasquez-Perez, S., Peremyslova, E., Sosnovtsev, S., Quezado, M., Yao, M., Montgomery-Recht, K., Strober, W., Fuss, I. J., & Morgun, A. (2018). CVID enteropathy is characterized by exceeding low mucosal IgA levels and interferon-driven inflammation possibly related to the presence of a pathobiont. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 197, 139–153. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2018.09.008>
- Sidahmed, A. M., León, A. J., Bosinger, S. E., Banner, D., Danesh, A., Cameron, M. J., & Kelvin, D. J. (2012). CXCL10 contributes to p38-mediated apoptosis in primary T lymphocytes in vitro. *Cytokine*, 59(2), 433–441. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.05.002>
- Song, J., Lleo, A., Yang, G. X., Zhang, W., Bowlus, C. L., Gershwin, M. E., & Leung, P. (2018). Common Variable Immunodeficiency and Liver Involvement. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 55(3), 340–351. <https://doi.org/10.1007/s12016-017-8638-z>
- Stagg, A. J., Funachi, M., Knight, S. C., Webster, A. D., & Farrant, J. (1994). Failure in antigen responses by T cells from patients with common variable immunodeficiency (CVID). *Clinical and experimental immunology*, 96(1), 48–53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1994.tb06228.x>
- Stein, C. J., & Colditz, G. A. (2004). Modifiable risk factors for cancer. *British journal of cancer*, 90(2), 299–303. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601509>
- Stray-Pedersen, A., Abrahamsen, T. G., & Frøland, S. S. (2000). Primary immunodeficiency diseases in Norway. *Journal of clinical immunology*, 20(6), 477–485. <https://doi.org/10.1023/a:1026416017763>
- Sunjida A., Ruliang X. (2019). Common Etiologies and Clinical Significance of Gastric Intraepithelial Lymphocytosis, *American Journal of Clinical Pathology*, 152, S61–S62. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqz113.060>
- Swan, R., & Miner, T. J. (2006). Current role of surgical therapy in gastric cancer. *World journal of gastroenterology*, 12(3), 372–379. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i3.372>
- Swierkot, J., Lewandowicz-Uszynska, A., Chlebicki, A., Szmyrka-Kaczmarek, M., Polańska, B., Jankowski, A., & Szechinski, J. (2006). Rheumatoid arthritis in a patient with common variable immunodeficiency: difficulty in diagnosis and therapy. *Clinical rheumatology*, 25(1), 92–94. <https://doi.org/10.1007/s10067-005-1141-6>
- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., Simonovic, M., Doncheva, N. T., Morris, J. H., Bork, P., Jensen, L. J., & Mering, C. V. (2019). STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic acids research*, 47(D1), D607–D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
- Tak Manesh, A., Azizi, G., Heydari, A., Kiaee, F., Shaghghi, M., Hossein-Khannazer, N., Yazdani, R., Abolhassani, H., & Aghamohammadi, A. (2017). Epidemiology

- and pathophysiology of malignancy in common variable immunodeficiency?. *Allergologia et immunopathologia*, 45(6), 602–615. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2017.01.006>
- Tang, Z., Kang, B., Li, C., Chen, T., & Zhang, Z. (2019). GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis. *Nucleic acids research*, 47(W1), W556–W560. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz430>
- Tangye, S. G., Al-Herz, W., Bousfiha, A., Chatila, T., Cunningham-Rundles, C., Etzioni, A., Franco, J. L., Holland, S. M., Klein, C., Morio, T., Ochs, H. D., Oksenhendler, E., Picard, C., Puck, J., Torgerson, T. R., Casanova, J. L., & Sullivan, K. E. (2020). Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *Journal of clinical immunology*, 40(1), 24–64. <https://doi.org/10.1007/s10875-019-00737-x>
- The Gene Ontology Consortium (2019). The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic acids research*, 47(D1), D330–D338. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1055>
- Tokar, T., Pastrello, C., Rossos, A., Abovsky, M., Hauschild, A. C., Tsay, M., Lu, R., & Jurisica, I. (2018). mirDIP 4.1-integrative database of human microRNA target predictions. *Nucleic acids research*, 46(D1), D360–D370. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1144>
- Uzzan, M., Ko, H. M., Mehandru, S., & Cunningham-Rundles, C. (2016). Gastrointestinal Disorders Associated with Common Variable Immune Deficiency (CVID) and Chronic Granulomatous Disease (CGD). *Current gastroenterology reports*, 18(4), 17. <https://doi.org/10.1007/s11894-016-0491-3>
- Vajdic, C. M., Mao, L., van Leeuwen, M. T., Kirkpatrick, P., Grulich, A. E., & Riminton, S. (2010). Are antibody deficiency disorders associated with a narrower range of cancers than other forms of immunodeficiency?. *Blood*, 116(8), 1228–1234. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-03-272351>
- van Schouwenburg, P. A., Davenport, E. E., Kienzler, A. K., Marwah, I., Wright, B., Lucas, M., Malinauskas, T., Martin, H. C., WGS500 Consortium, Lockstone, H. E., Cazier, J. B., Chapel, H. M., Knight, J. C., & Patel, S. Y. (2015). Application of whole genome and RNA sequencing to investigate the genomic landscape of common variable immunodeficiency disorders. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 160(2), 301–314. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.05.020>
- Vogelaar, I. P., van der Post, R. S., van Krieken, J., Spruijt, L., van Zelst-Stams, W. A., Kets, C. M., Lubinski, J., Jakubowska, A., Teodorczyk, U., Aalfs, C. M., van Hest, L. P., Pinheiro, H., Oliveira, C., Jhangiani, S. N., Muzny, D. M., Gibbs, R. A., Lupski, J. R., de Ligt, J., Vissers, L., Hoischen, A., ... Hoogerbrugge, N. (2017). Unraveling genetic predisposition to familial or early onset gastric cancer using germline whole-exome sequencing. *European journal of human genetics : EJHG*, 25(11), 1246–1252. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2017.138>
- Wang, Y., Cao, Z., Wang, L., Liu, S., & Cai, J. (2018). Downregulation of microRNA-142-3p and its tumor suppressor role in gastric cancer. *Oncology letters*, 15(5), 8172–8180. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8330>

- Warnatz, K., Denz, A., Dräger, R., Braun, M., Groth, C., Wolff-Vorbeck, G., Eibel, H., Schlesier, M., & Peter, H. H. (2002). Severe deficiency of switched memory B cells (CD27(+)IgM(-)IgD(-)) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: a new approach to classify a heterogeneous disease. *Blood*, *99*(5), 1544–1551. <https://doi.org/10.1182/blood.v99.5.1544>
- Wehr, C., Kivioja, T., Schmitt, C., Ferry, B., Witte, T., Eren, E., Vlkova, M., Hernandez, M., Detkova, D., Bos, P. R., Poerksen, G., von Bernuth, H., Baumann, U., Goldacker, S., Gutenberger, S., Schlesier, M., Bergeron-van der Cruyssen, F., Le Garff, M., Debré, P., Jacobs, R., ... Warnatz, K. (2008). The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency. *Blood*, *111*(1), 77–85. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-06-091744>
- Westh, L., Mogensen, T. H., Dalgaard, L. S., Bernth Jensen, J. M., Katzenstein, T., Hansen, A. E., Larsen, O. D., Terpling, S., Nielsen, T. L., & Larsen, C. S. (2017). Identification and Characterization of a Nationwide Danish Adult Common Variable Immunodeficiency Cohort. *Scandinavian journal of immunology*, *85*(6), 450–461. <https://doi.org/10.1111/sji.12551>
- Yaghoobi, M., Bijarchi, R., & Narod, S. A. (2010). Family history and the risk of gastric cancer. *British journal of cancer*, *102*(2), 237–242. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605380>
- Yan, T. D., Black, D., Sugarbaker, P. H., Zhu, J., Yonemura, Y., Petrou, G., & Morris, D. L. (2007). A systematic review and meta-analysis of the randomized controlled trials on adjuvant intraperitoneal chemotherapy for resectable gastric cancer. *Annals of surgical oncology*, *14*(10), 2702–2713. <https://doi.org/10.1245/s10434-007-9487-4>
- Yong, P. F., Thaventhiran, J. E., & Grimbacher, B. (2011). "A rose is a rose is a rose," but CVID is Not CVID common variable immune deficiency (CVID), what do we know in 2011?. *Advances in immunology*, *111*, 47–107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385991-4.00002-7>
- Yu, J. E., Knight, A. K., Radigan, L., Marron, T. U., Zhang, L., Sanchez-Ramón, S., & Cunningham-Rundles, C. (2009). Toll-like receptor 7 and 9 defects in common variable immunodeficiency. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *124*(2), 349–356.e3563. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.05.019>
- Yusefi, A. R., Bagheri Lankarani, K., Bastani, P., Radinmanesh, M., & Kavosi, Z. (2018). Risk Factors for Gastric Cancer: A Systematic Review. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, *19*(3), 591–603. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.3.591>
- Zabaleta J. (2012). MicroRNA: A Bridge from H. pylori Infection to Gastritis and Gastric Cancer Development. *Frontiers in genetics*, *3*, 294. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00294>
- Zare, A., Alipoor, B., Omrani, M. D., Zali, M. R., Malekpour Alamdari, N., & Ghaedi, H. (2019). Decreased miR-155-5p, miR-15a, and miR-186 Expression in Gastric Cancer Is Associated with Advanced Tumor Grade and Metastasis. *Iranian biomedical journal*, *23*(5), 338–343. <https://doi.org/10.29252/23.5.338>

- Zhang, C., Li, Z., Xu, L., Che, X., Wen, T., Fan, Y., Li, C., Wang, S., Cheng, Y., Wang, X., Qu, X., & Liu, Y. (2018). CXCL9/10/11, a regulator of PD-L1 expression in gastric cancer. *BMC cancer*, *18*(1), 462. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4384-8>
- Zhang, X. Y., & Zhang, P. Y. (2017). Gastric cancer: somatic genetics as a guide to therapy. *Journal of medical genetics*, *54*(5), 305–312. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-104171>
- Zhang, Z., & Zhang, X. (2011). Salt taste preference, sodium intake and gastric cancer in China. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, *12*(5), 1207–1210.
- Zhou, G., Soufan, O., Ewald, J., Hancock, R., Basu, N., & Xia, J. (2019). NetworkAnalyst 3.0: a visual analytics platform for comprehensive gene expression profiling and meta-analysis. *Nucleic acids research*, *47*(W1), W234–W241. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz240>
- Zhou, H., Wu, J., Wang, T., Zhang, X., & Liu, D. (2016). CXCL10/CXCR3 axis promotes the invasion of gastric cancer via PI3K/AKT pathway-dependent MMPs production. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, *82*, 479–488. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.04.069>