



DNA TAMİR MEKANİZMASI İLİŞKİLİ GENLERİN BİYOİNFORMATİK YÖNTEMLERLE GLİOBLASTOMDA TANIMLANMASI

IDENTIFICATION OF GENES RELATED TO DNA REPAIR MECHANISM IN GLIOBLASTOMA BY BIOINFORMATICS METHODS

Hasan Onur Çağlar¹

¹Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum, Türkiye

ORCID iD: Hasan Onur Çağlar: 0000-0002-3637-4755

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Hasan Onur Çağlar e-posta / e-mail: hasan.caglar@erzurum.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 02.10.2021

Kabul Tarihi / Accepted: 06.05.2022

Yayın Tarihi / Published: 31.05.2022

Öz

Amaç: DNA tamir mekanizmalarında (DTM) görev alan genlerin ifade değişimleri glioblastomda (GBM) radyoterapi direnci ile ilişkilendirilmiştir. DTM'de rol oynayan genlerin biyoinformatik yöntemlerle tanımlanması GBM tedavisinde kullanılabilecek potansiyel yeni hedeflerin belirlenmesine yardımcı olabilir. Bu çalışmanın amacı, DNA tamir mekanizmalarında rol oynayan genlerin biyoinformatik yöntemler kullanılarak GBM tümörlerinde tanımlanmasıdır.

Yöntem: DNA tamiri mekanizmaları ile ilişkili genler "Reactome" ve "KEGG" veri tabanları üzerinde tanımlandı. GBM tümörlerinde genlere ait mRNA ifade profilleri GEO GDS1813 ve GDS2853 veri setlerinde "Orange Canvas" yazılımı kullanılarak incelendi. Genlerdeki genetik değişimler cBioPortal veri tabanı kullanılarak GBM TCGA olgularında tanımlandı. GEPIA2, değişen gen ifadelerinin TCGA GBM hasta sağ kalım süreleri üzerindeki etkisini göstermek için kullanıldı.

Bulgular: ERCC6, FAN1, MBD4, PARP1 ve UNG genlerinin mRNA ifade profillerinin GBM tümörlerinde değişime uğradığı bulundu. Tanımlanan genler için farklı tipte mutasyonlar ve kopya sayı değişimleri TCGA GBM olgularında gözlemlendi. Yüksek ve düşük gen ifade profillerinin GBM hastalarının genel ve hastaliksız sağ kalım süreleri üzerinde etkisi olmadığı saptandı.

Sonuç: Bu çalışmada tanımlanan ERCC6, PARP1 ve UNG genleri baskılanması durumunda GBM'de radyoterapi etkinliğini artırabilecek potansiyel birer terapötik hedef olabilir.

Anahtar Kelimeler: Glioblastom, DNA onarımı, biyoinformatik.

Abstract

Objective: Aberrant expression of genes involved in DNA repair mechanisms (DRM) have been associated with radiation sensitivity of glioblastoma (GBM) cells. Identification of genes in DRM through bioinformatics methods may help identify potential novel therapeutic targets that can be used in GBM treatment. This study aims to identify genes that play a role in DRM in GBM using bioinformatics methods.

Methods: Genes associated with DRM were identified using the "Reactome" and "KEGG" databases. The mRNA expression profiles of DRM related genes were analyzed in the GEO GDS1813 and GDS2853 datasets including GBM tumor samples using the "Orange Canvas" software. Genetic changes of genes were identified in GBM TCGA cases using the cBioPortal database. The GEPIA2 was used to show the effect of altered expression profiles of these genes on patient survival.

Results: The mRNA expression profiles of ERCC6, FAN1, MBD4, PARP1 and UNG genes were found to be altered in GBM tumors. Mutations and copy number alterations for the identified genes were observed in TCGA GBM cases. The overall survival and disease-free survival of TCGA GBM patients were not significantly different between high and low expression groups.

Conclusion: ERCC6, PARP1 and UNG genes identified in the current study may be potential therapeutic targets that can increase the efficacy of radiotherapy in GBM in case of their suppression.

Keywords: Glioblastoma, DNA repair, bioinformatics.

Giriş

Glioblastom (GBM) glial hücrelerden köken alan ve tedaviye karşı oldukça agresif davranış sergileyen bir beyin tümörüdür.¹ Multimodal tedaviye rağmen hastaların sağ kalım süreleri hala düşüktür. GBM hastalarının ortalama sağ kalım süresi 14-16 ay olmakla birlikte, hastaların çok az bir kısmı ileri tedaviye rağmen 5 yıldan uzun yaşayabilmektedir.² GBM hastalarında tedavi sonrası alınan kötü klinik sonucun temel nedeni GBM tümörlerinin kemoterapi ve radyoterapiye karşı direnç göstermesidir.³ Bu nedenle, GBM tümörlerinde tedaviye karşı gelişen direncin altında yatan mekanizmalarının incelenmesi, GBM hastalarında tedavi yanıtının iyileştirilmesini sağlayabilecek potansiyel hedeflerin belirlenmesinde kritik olabilir.

GBM hastaları için uygulanan standart tedavi, tümörün rezeksiyonunu takiben “temozolomide” kullanımını içeren kemoterapi ve bu tedavi ile eş zamanlı olarak yürütülen radyoterapiyi içermektedir.⁴ Tedavideki genel amaç, alkilleyici bir anti-kanser ajanı olan “temozolomide” ve iyonize radyasyon ile GBM hücrelerinde DNA hasarı oluşturarak apoptozu indüklemektir.⁵ Radyoterapide kullanılan iyonize radyasyon, DNA’da baz lezyonları, tek iplik ve çift iplik kırıkları gibi farklı tipte hasarlara neden olur.^{6,7} Radyoterapi direncinin gelişmesindeki genel yaygın görüş; DNA tamir mekanizması ilişkili genlerin GBM tümörlerinde yüksek düzeyde ifade edilmesidir.^{8,9} “Ataxia Telangiectasia Mutated” protein kinaz, DNA çift iplik kırığı onarımında ve hücre döngüsü kontrol noktalarında merkezi rol oynayan bir hasar yanıtı bileşenidir.^{10,11} Çalışmalar, ATM ifadesinin GBM tümörlerinde yüksek düzeyde olduğunu ve bu proteinin baskılanması durumunda ise GBM hücrelerinin iyonize radyasyona karşı duyarlı hale geldiğini göstermiştir.¹²⁻¹⁴ Ayrıca, DNA tamir mekanizmasında rol oynayan “DNA-activated protein kinase” ve Rad51 gibi proteinlerin artan ifadesi GBM hücrelerinde radyo-duyarlılığı azalmaktadır.^{15,16}

DNA tamir mekanizması oldukça fazla genin birlikte görev aldığı karmaşık ve dinamik bir sistemdir.⁸ Bu nedenle, belirtilen mekanizma içerisinde yer alan genlerin ancak çok sınırlı bir kısmı GBM’de tanımlanmıştır. Bu mekanizmalarda görev üstlenen yüksek ifadede genlerin GBM tümörlerinde tanımlanması radyoterapi yanıtı ile ilişkili olabilecek olası yeni hedefleri ortaya çıkarabilir. Biyoinformatik yöntemler farklı kanser tiplerinde birçok genin kapsamlı analizine imkân sağlamaktadır.¹⁷⁻¹⁹ Bu çalışmanın amacı, DNA tamir mekanizmalarında rol oynayan genlerin biyoinformatik yöntemler kullanılarak GBM tümörlerinde tanımlanmasıdır.

Yöntem

DNA tamir mekanizmaları ile ilişkili genlerin tanımlanması

DNA tamir mekanizmaları ile ilişkili genler “Reactome”²⁰ (<https://reactome.org/>) ve “KEGG”²¹ (<https://www.genome.jp/kegg/>) veri tabanları kullanılarak tanımlandı. “Reactome” veri tabanında bulunan R-HSA-73894 kodlu “DNA repair” modülündeki tüm genler seçildi. DNA tamir mekanizmalarının tamamını içeren R-HSA-73894 kodlu modülün görseli <https://reactome.org/PathwayBrowser/#/R-HSA-73894> adresinden indirilmiştir (Çizim 1a). Bu modül; baz eksizyon tamiri (R-HSA-73884), nükleotid eksizyon tamiri (R-HSA-5696398), Fanconi anemisi sinyal yolağı (R-HSA-6783310),

DNA hasar geçişi (DNA damage bypass, R-HSA-73893), hasarın tersine tamiri (R-HSA-73942), DNA çift zincir kırık tamiri (R-HSA-5693532) ve DNA yanlış eşleşme tamiri (R-HSA-5358508) alt modüllerini içermektedir (Çizim 1a). KEGG veri tabanında, baz eksizyon tamiri (hsa03410), nükleotid eksizyon tamiri (hsa03420), DNA yanlış eşleşme tamiri (hsa03430) ve Fanconi anemisi sinyal yolağı (hsa03460) DNA tamir mekanizmaları içerisinde tanımlanmıştır. Belirtilen sinyal yollarına ait tüm genler seçildi. Her iki veri tabanında ortak olarak tanımlanmış genlerin belirlenmesi için “InteractiVenn” internet aracı²² kullanılarak Venn diagramı oluşturuldu.

DNA tamir mekanizmalarıyla ilişkili genlerin “mRNA microarray” veri setinde incelenmesi

Her iki veri tabanında da bulunduğu belirlenmiş genlere ilişkin mRNA ifade profilleri Orange Canvas yazılımı kullanılarak GBM tümörlerinde tanımlandı.²³ mRNA microarray veri setleri “Gene Expression Omnibus” veri tabanından (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) Orange Canvas yazılımı ile indirildi. mRNA ifade profili Log2 kat sayısına göre belirlendi. mRNA ifade azalışı ve artışı için seçilen Log2 kat sayı eşik değerleri sırasıyla <-1 ve >1 idi. Student's T-testi gen ifade değişimlerine ait P değerlerinin saptanmasında kullanıldı. 0.05’den küçük olan P değeri anlamı olarak kabul edildi. Her iki veri tabanında DNA tamir mekanizmalarıyla ilişkili ortak tanımlanmış 109 genin mRNA ifadesi GSE2223 (GEO erişim kodu: GDS1813) ve GSE3185 (GEO erişim kodu: GDS2853) veri setlerinde^{24,25} incelendi. GSE2223 veri setinde 30 GBM olgusu ve GSE3185 veri setinde ise 6 GBM (high-grade astrocytomas) olgusu bulunmaktadır.

İfade değişimi gösteren genlerde genetik değişikliklerin tanımlanması

cBioPortal veri tabanı, ifade değişimi gösteren genlerdeki genetik değişikliklerin GBM TCGA örneklerinde gösterilmesi için kullanıldı.^{26,27} Bu çalışmada, GBM hasta örneklerinde tanımlanan genetik değişim sonuçlarının tamamı TCGA Araştırma Ağı (“TCGA, PanCancer Atlas”) verilerine dayanmaktadır²⁸⁻³⁰ (<https://www.cancer.gov/tcga>). Mutasyon, yapısal varyant, kopya sayısı değişimleri, tüm örnekler göre z skoru ile normalize edilmiş mRNA ifadesi, protein ifadesi (RPPA) genomik parametrelerin tamamı genlerin her biri için seçildi. Genlerin kopya sayısı değişimleri, Kanserde Önemli Hedeflerin Genomik Tanımlanması (GISTIC 2.0) algoritmasını kullanan cBioPortal veri tabanı ile incelendi.³¹ Bu analizde “deep deletions” ve “shallow deletions” sırasıyla homozigot ve heterozigot delesyonlar olarak tanımlanmaktadır. “Gain” ve “amplification” terimleri ise sırasıyla kazanım ve amplifikasyon olarak adlandırılmaktadır. Genlere ait ifade değişimlerinin genel (Overall Survival) ve hastaliksız sağ kalım (Disease-Free Survival) süreleri üzerine olan etkisi Log-rank test ile GEPIA2 platformu kullanılarak tanımlandı.³² Sağ kalım analizinde TCGA GBM veri seti incelendi ve $p < 0.05$ ise anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

DNA tamir genleri

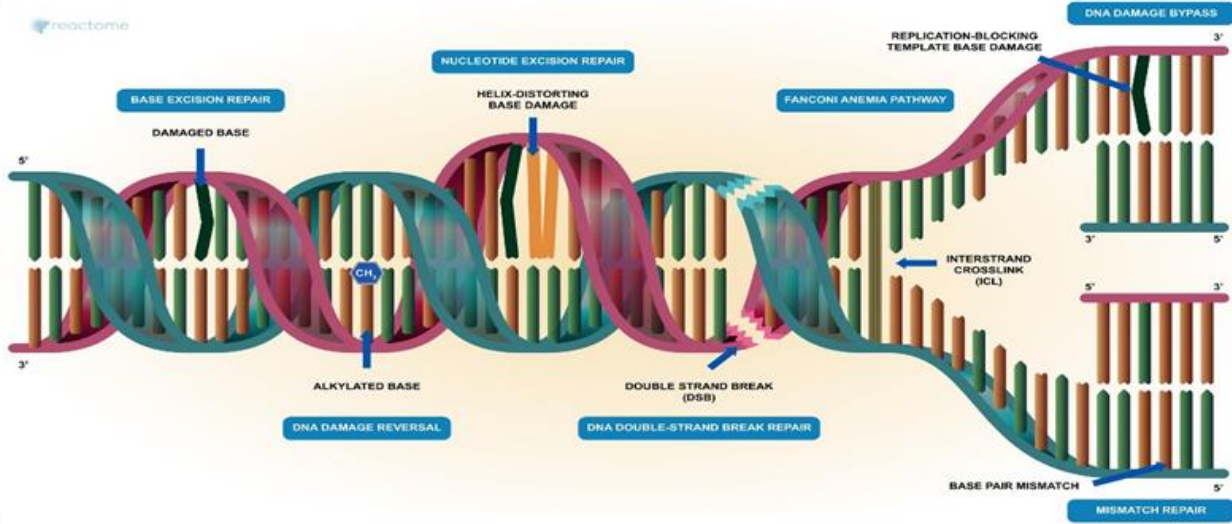
DNA tamir mekanizmaları ile ilişkili genler “Reactome” ve “KEGG” veri tabanları üzerinden belirlendi. Reactome veri

tabanında, DNA tamir mekanizmalarının tamamını içeren modül toplam 312 gen bulunduyordu. KEGG veri tabanında ise belirtilen DNA tamir mekanizmalarına ilişkin

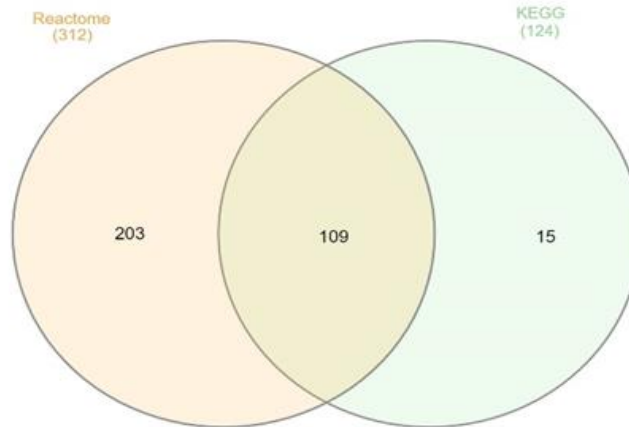
toplam 124 gen vardı. Her iki veri tabanında DNA tamir mekanizmalarına ilişkin ortak olarak tanımlanmış gen sayısı 109'di (Çizim 1b).

Çizim 1. R-HSA-73894 kodlu modülün içerisinde yer alan DNA tamir mekanizmalarının şematik gösterimi (<https://reactome.org/PathwayBrowser/#/R-HSA-73894>) (a). DNA tamir mekanizması genleri Reactome ve KEGG veri tabanları ile tanımlandı (b). Her iki veri tabanında ortak olarak 109 gen bulundu.

a



b



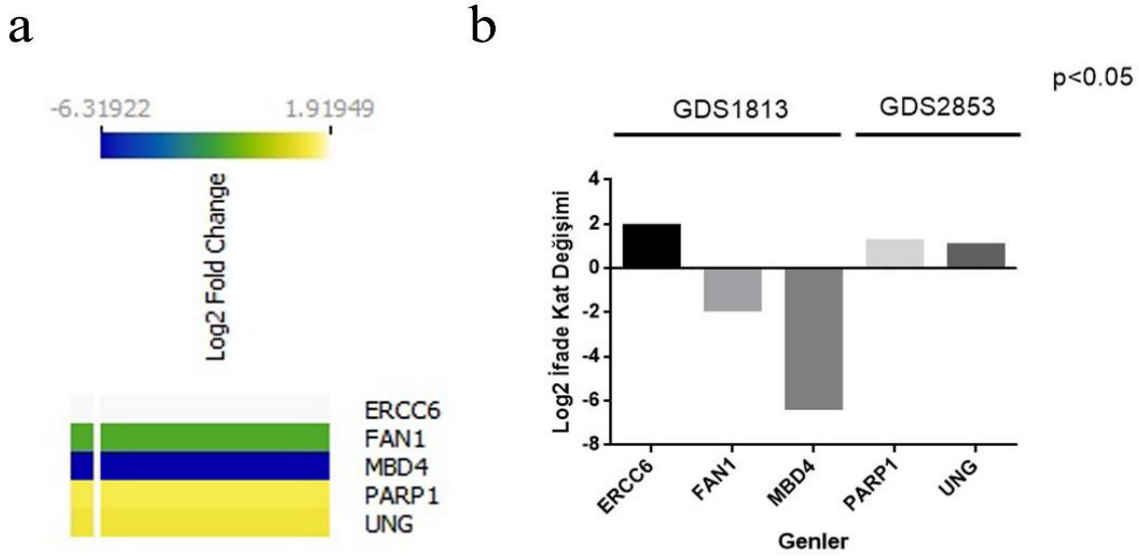
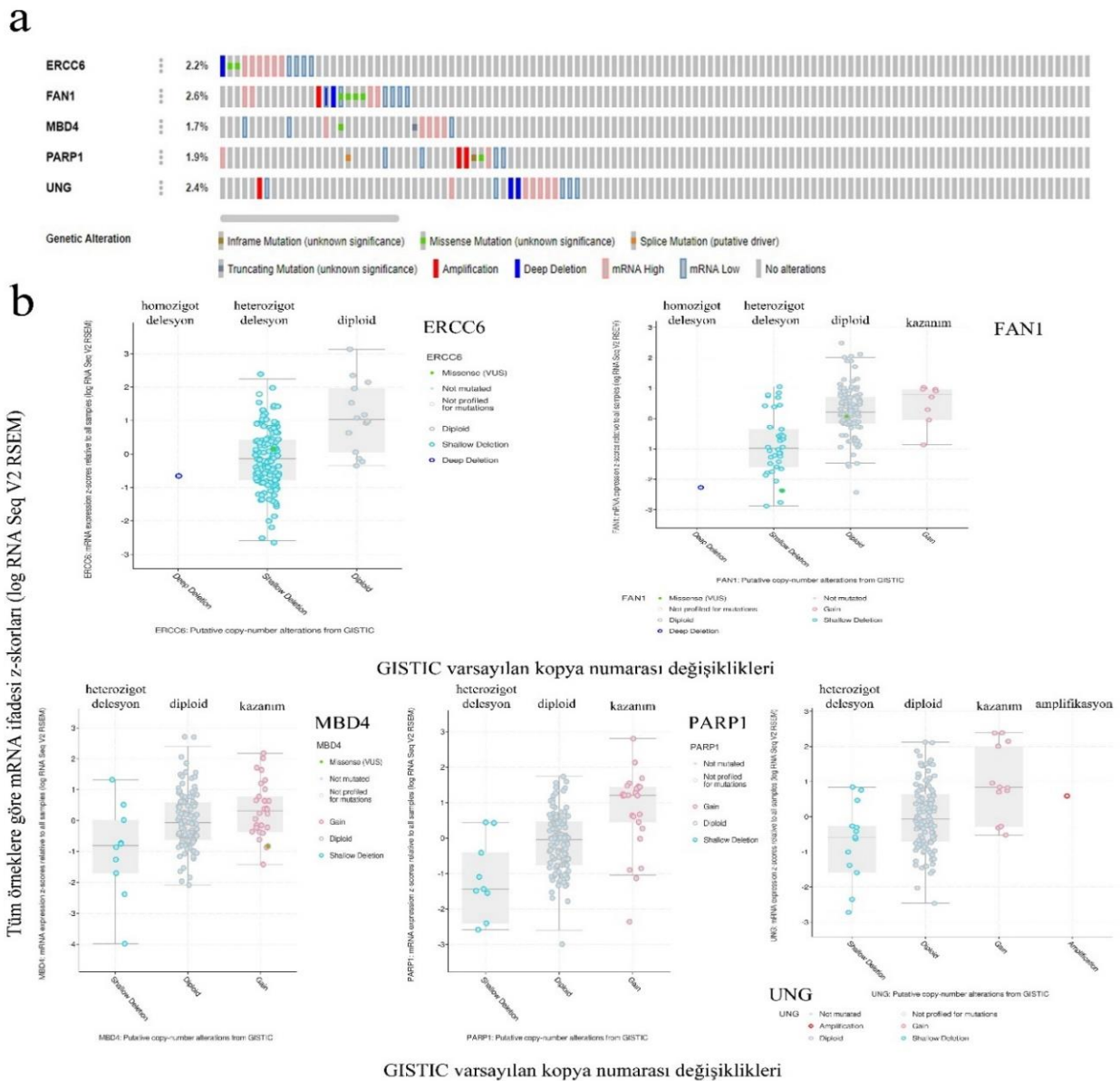
GBM tümörlerinde DNA tamir genlerinin ifade düzeyleri

Seçilen genlerin mRNA ifadeleri 30 GBM tümör örneğini içeren GSE2223 ve 6 GBM tümör örneğini içeren GSE3185 veri setlerinde incelendi. GSE2223 veri setinde, DNA tamir mekanizmalarıyla ilişkili ERCC6 gen ifadesinin yüksek olduğu, FAN1 ve MBD4 genlerine ait ifadelerin ise düşük olduğu saptandı. GSE3185 veri setinde ise PARP1 ve UNG genlerine ait mRNA ifadelerinin artmış olduğu gözlemlendi. Her iki veri setinde mRNA ifadesi ortak azalan veya artan bir gen tanımlanmadı. Belirtilen mekanizmalara ait genlerin mRNA ifadelerine ait sonuçlar Çizim 2'de verilmiştir.

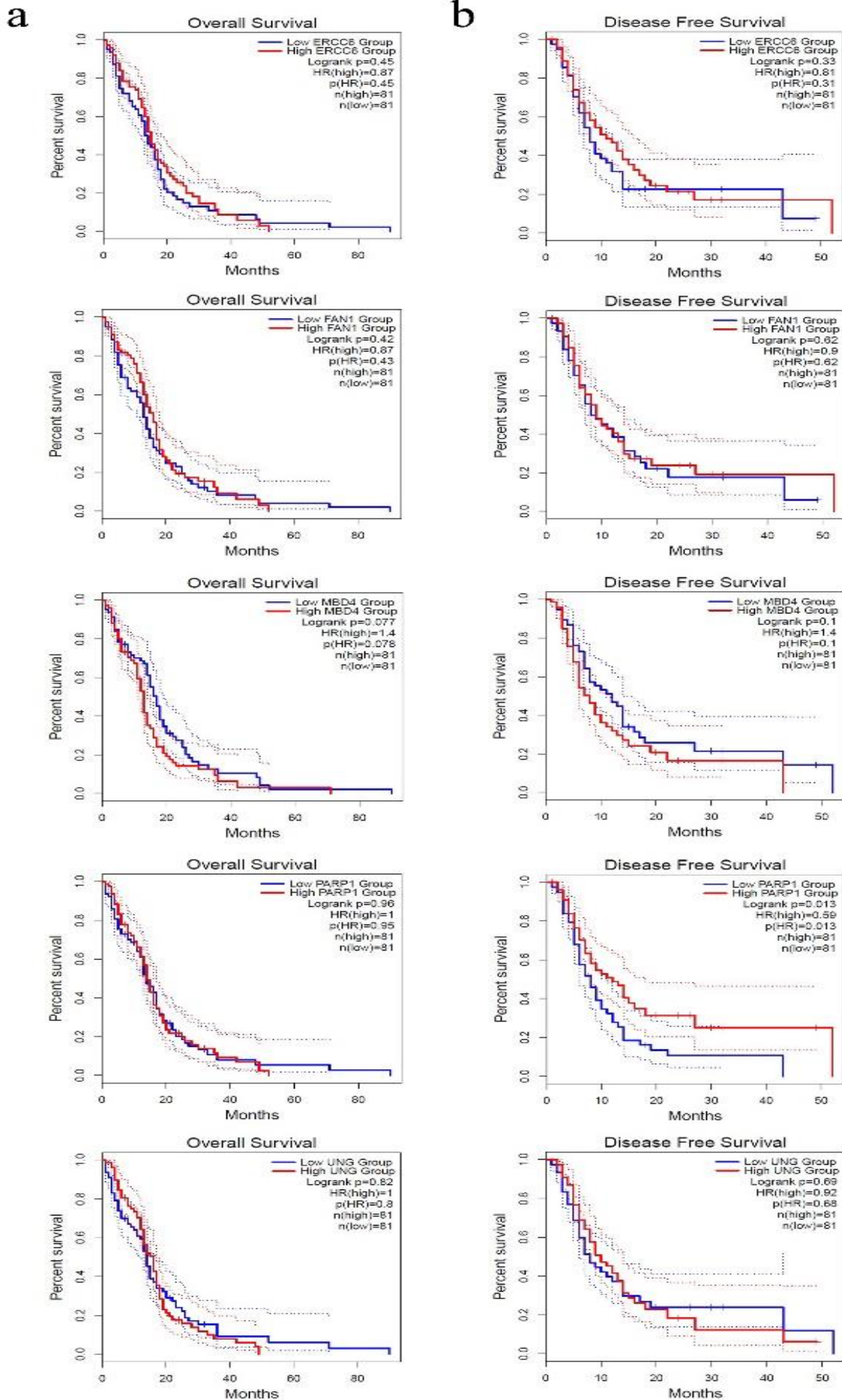
GBM tümörlerinde DNA tamir mekanizması genlerindeki yapısal değişiklikler

GBM tümörlerinde ifade değişimi saptanan ERCC6, FAN1, MBD4, PARP1 ve UNG genlerinin yapısal değişimleri GBM TCGA PanCancer Atlas olgularında incelendi. FAN1,

PARP1 ve UNG genlerinin GBM tümörlerinde amplifikasyona uğradığı bulundu (Çizim 3a). ERCC6 ve FAN1 genleri için GBM tümörlerinde yanlış anlamlı ("missense") mutasyonlar gözlemlendi. MBD4 geni için GBM tümörlerinde yanlış anlamlı ve erken sonlanma ("truncating") mutasyonları bulundu. PARP1 geni için "inframe", "splicing" ve yanlış anlamlı mutasyonlar GBM olgularında saptandı. DNA'daki yapısal değişikliklerin GBM hastalarında tanımlanmasına ilişkin sonuçlar ERCC6, FAN1 ve UNG genlerinin homozigot delesyona uğradığını gösterdi (Çizim 3a). İncelenen genlere ait mRNA ifadelerinin GBM tümörleri arasında farklılık gösterdiği bulundu (Çizim 3b). Kopya sayısı kaybı veya artışı gözlenen kimi olgularda mRNA ifadesinin GBM olgularında değişmediği bulundu. Bu genlere ait mRNA ifade profillerinin GBM hastalarının genel sağ kalım süreleri üzerinde etkisi olmadığı saptandı (Çizim 4a). Sadece yüksek PARP1 mRNA ifadesi anlamlı olarak hastalıksız sağ kalım süresini uzatmaktadır ($p=0,013$) (Çizim 4b).

Çizim 2. GBM olgularını içeren GSE2223 ve GSE3185 mRNA microarray veri setlerinde genlere ait heat-map (a) ve ifade düzeyleri (b).**Çizim 3.** GBM'de ifade değişimi saptanan genlere ilişkin yapısal ve ifadesel değişimler. TCGA GBM olgularında tanımlanan genler için mutasyon, kopya sayısı değişimi, mRNA ifade düzeyi ve protein ifade düzeyi gösterilmiştir (a). Genlerin kopya sayısı değişimlerine bağlı olarak mRNA ifade düzeyleri (b)'de verilmiştir.

Çizim 4. ERCC6, FAN1, MBD4, PARP1 ve UNG gen ifadelerinin GBM TGCA olgularındaki genel (a) ve hastalıksız sağ kalım (b) süreleri üzerindeki etkisi.



Tartışma

GBM tümörlerinin radyoterapi ve kemoterapiye karşı direnç göstermesi etkili bir tedavi için engeldir. GBM tümörlerinde DNA tamir mekanizmalarında rol oynayan genlerin yüksek ifadesi radyo-duyarlılığı düşürmektedir.³³ Belirtilen mekanizmaların işlevlerini yerine getirebilmesi için oldukça fazla sayıda gen farklı görevleri üstlenebilecek proteinleri sentezler.³³ Bu genlerin kapsamlı analizi, baskılanması durumunda GBM hücrelerini radyasyona duyarlı hale getirebilecek yeni belirteçleri ortaya çıkarabilir. Bu çalışmada, biyoinformatik analiz araçları kullanılarak, DNA tamir mekanizmaları ile ilişkili genlerin ifade düzeyleri ve taşıdıkları yapısal değişiklikler GBM olgularında incelendi. GEO veri tabanında yer alan veri setlerinde DNA tamir mekanizmasında rol oynayan genlerin mRNA düzeyindeki ifadeleri tanımlandı. Analiz sonucunda, ERCC6, PARP1 ve UNG genlerine ait mRNA ifade düzeylerinin GBM olgularında yüksek olduğu saptandı. ERCC6, transkripsiyonu engelleyen DNA lezyonlarının uzaklaştırılmasını sağlayan transkripsiyona bağlı nükleotid eksizyon onarımında yer almaktadır.³⁴ Bu çalışmada yapılan “In silico” analizle tutarlı bir biçimde, ERCC6 ifadesi yüksek derece gliomlarda daha önce tanımlanmıştır.³⁵ “Capecitabine” ile radyoterapinin eş zamanlı uygulandığı bir klinik faz çalışmasında, düşük düzeyde ERCC6, APEX2 ve RAD54B ifadesi sergileyen GBM tümörlerinin, uygulanan tedaviye karşı daha iyi klinik sonuç verdiği gösterilmiştir.³⁶ Klinik faz çalışmasından elde edilen sonuçlar, ERCC6’nın da bulunduğu radyasyona karşı yanıt genlerine ait ifade düzeylerinin GBM hastalarının tedavi sonrası göstereceği yanıtın önceden tahmin edilmesinde kullanılabileceğini öne sürmektedir.³⁶ PARP-1, XRCC1 iskelesinin poli(ADP-riboz) aracılığıyla DNA kırığına çağırılması ve tek zincir kırığının tanınması gibi kritik olayların gerçekleştiği DNA tek zincir kırık tamiri ve baz ekzizyon tamiri mekanizmalarında rol oynar.^{37,38} Galia ve ark.’ları otopside alınan normal beyin ve GBM tümör örneklerinde PARP1 ifadesini immünohistokimyasal boyama yöntemi ile inceledi.³⁹ GBM tümörlerinde PARP1 için pozitif nükleer sinyal gözlenirken, normal beyin dokusu örnekleri için PARP1 nükleer veya sitoplazmik sinyal göstermemiştir.³⁹ PARP1’in baskılanması ise GBM hücre hatlarında ve primer kültür hücrelerinde radyasyon uygulaması sonrası hücre yaşlanmasını arttırmakta ve etki süresini uzatmaktadır.⁴⁰ Bu nedenle, radyoterapi sonrasında GBM rekürrensi ve PARP1 ifadesi arasında bir ilişkinin olabileceği öne sürülmektedir.⁴⁰ “Uracil-DNA glycosylase” (UDG yada UNG), DNA’nın tek veya çift zincirine yanlışlıkla eklenmiş urasil bazının kesilerek çıkarılması için gereken reaksiyonu katalize eden bir onarım enzimidir.⁴¹ GBM’de UNG gen mutasyonları tanımlanmış olsa da ⁴², bu gende meydana gelen yapısal veya ifadesel değişimlerin GBM hücrelerinin sahip olduğu malign özellikler üzerindeki etkisi henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, ERCC6, PARP1 ve UNG ifadelerin GBM olgularında artmış olduğu gösterildi. İfade artışı saptanan ERCC6 ve UNG genlerinin sağ kalım üzerindeki etkisi incelendiğinde, GBM patogenezi ile ilişkili olmadıkları gözlemlendi. Yüksek PARP1 ifadesi genel sağ kalım süresi üzerine etki etmez ^{43,44} iken hastaliksız sağ kalım süresini uzatmaktadır. Bu nedenle, ERCC6, PARP1 ve UNG ifadeleri GBM hastalarının tedavi sonrası göstereceği yanıtın belirlenmesinde uygun olmayabilir. Ancak, PARP1’de olduğu gibi bu genlerin

baskılanması GBM hastalarında radyoterapi etkinliğini artırabilir.

GSE2223 veri setinin analizi FAN1 ve MBD4 gen ifadelerinin GBM olgularında düşük olduğunu gösterdi. FAN1, yanlış eşleşme tamir mekanizmasında FANCD2, MLH1 ve PMS2 gibi proteinlerle etkileşime geçen ve endonükleaz aktivitesine sahip olan bir enzimdir.^{45,46} Fokal adezyon kinaz inhibitörü Y15 ve “temozolomide” uygulanan GBM hücre hattında FANCD2 üzerinden FAN1 ifadesinin düştüğü gösterilmiştir.⁴⁷ FAN1 ifadesi düşük olan GBM tümörleri “temozolomide” tedavisine daha hassas olabileceği için radyoterapi etkinliğini dolaylı olarak artırabilir. MBD4, yanlış eşleşme tamir mekanizmasında MLH1 ile etkileşime geçen bir proteindir.⁴⁸ GBM tümörlerinde MBD4’ün yüksek düzeyde ifade edildiği daha önce bildirilmiştir.⁴⁹ FAN1 ve MBD4 genlerinin GBM oluşumundaki rolünü araştıran çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada ise FAN1 ve MBD4 gen ifadelerinin ise GBM’de prognostik bir değere sahip olmadığı bulundu. Ayrıca, TCGA GBM olgularında belirtilen genlerin yapısal değişime uğradığı gösterildi. Bu genlerde meydana gelen değişimler tedavi sonrası yanıtın değerlendirilmesinde değil GBM gelişiminde rol oynayabilir.

Delesyon ve amplifikasyon gibi yapısal değişimler gen ifadesini değiştirebilmektedir. Bu nedenle, DNA tamir mekanizması genlerindeki yapısal değişimler GBM olgularında incelendi. ERCC6 geninin 10. kromozom üzerinde bulunduğu lokus anaplastik oligodendrogliom tümörlerinde sıklıkla delesyona uğramaktadır.⁵⁰ Yüksek dereceli glioma tümörlerinde, ERCC6 mutasyonları daha önce tanımlanmıştır.^{51,52} Bu çalışmada elde edilen bir diğer sonuç, bazı olgularda incelenen genlerin ifade düzeyi ile kopya sayısı değişimleri arasında birlikte olmamasıydı. Bu genlerin GBM’de anormal düzeyde ifade edilmesi yalnızca kopya sayısı değişimleri ile değil aynı zamanda epigenetik değişimler nedeniyle de meydana gelebilir.

Sonuç

Bu çalışmada, DNA tamir mekanizmalarıyla ilişkili genlerin ifade profilleri GBM tümörleri için tanımlandı. DNA tamir mekanizmalarında yer alan genlere Reactome ve KEGG veri tabanlarından ulaşıldı. Her iki veri tabanında tüm mekanizmalar için ortak olan genlerin ifadesi GBM örneklerini içeren mikroarray veri setlerinde incelendi. Sonuçlar, ERCC6, PARP1 ve UNG mRNA ifadelerinin GBM tümörlerinde yüksek olduğunu gösterdi. Mevcut literatür, tanımlanan genlerin radyoterapi etkinliğinde rol oynayabileceğine dikkat çekmektedir. GBM hücrelerinde dahil oldukları biyolojik süreçler göz önüne alınırsa, bu genlerin baskılanması GBM’de radyoterapi etkinliğini artırabilir. Dolayısıyla, keşfedilen biyobelirteç genler, GBM tedavisinin geliştirilmesi için potansiyel birer terapötik hedef olabilir. Ancak, tanımlanan biyobelirteçlerin radyoterapi etkinliği üzerindeki olası etkilerini GBM’de doğrulamak için daha fazla deneysel çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarın herhangi bir çıkarı dayalı ilişkisi yoktur.

Araştırmanın Etik Yönü

Bu çalışma, yazar tarafından doğrudan hasta katılımcı veya deney hayvanları üzerinde yapılan klinik veya deneysel herhangi bir araştırma verisi içermemektedir. Bu

çalışmadaki tüm veriler halka açık veri tabanları üzerinden elde edilmiştir. Bu tür bir çalışma için etik kurul onayı gerekmemektedir.

Maddi Destek

Bu çalışma için herhangi bir kişi veya kurumdan finansal destek alınmadı.

Kaynaklar

- Louis DN, Perry A, Reifenger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016; 131(6):803-820. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1.
- Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009; 10(5):459-466. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70025-7.
- Henson JW. Treatment of glioblastoma multiforme: a new standard. *Arch Neurol*. 2006; 63(3): 337-341. doi: 10.1001/archneur.63.3.337.
- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352(10): 987-996. doi: 10.1056/NEJMoa043330.
- Palanichamy K, Chakravarti A. Combining drugs and radiotherapy: from the bench to the bedside. *Curr Opin Neurol* 2009; 22(6): 625-632. doi: 10.1097/WCO.0b013e3283327d33.
- Erasimus H, Gobin M, Niclou S, Van Dyck E. DNA repair mechanisms and their clinical impact in glioblastoma. *Mutat Res Rev Mutat Res* 2016; 769: 19-35. doi: 10.1016/j.mrrev.2016.05.005.
- Meng W, Palmer JD, Siedow M, Haque SJ, Chakravarti A. Overcoming Radiation Resistance in Gliomas by Targeting Metabolism and DNA Repair Pathways. *Int. J. Mol. Sci* 2022; 23(4): 2246. doi: 10.3390/ijms23042246.
- Biau J, Chautard E, Verrelle P, Dutreix M. Altering DNA Repair to Improve Radiation Therapy: Specific and Multiple Pathway Targeting. *Front Oncol* 2019; 9: 1009. doi: 10.3389/fonc.2019.01009.
- Kesari S, Advani SJ, Lawson JD, Kahle KT, Ng K, Carter B, et al. DNA damage response and repair: insights into strategies for radiation sensitization of gliomas. *Future Oncol* 2011; 7(11): 1335-1346. doi: 10.2217/fon.11.111.
- Riballo E, Kuhne M, Rief N, Doherty A, Smith GC, Recio MJ, et al. A pathway of double-strand break rejoining dependent upon ATM, Artemis, and proteins locating to gamma-H2AX foci. *Mol Cell* 2004; 16(5): 715-724. doi: 10.1016/j.molcel.2004.10.029.
- Lee JH, Paull TT. Activation and regulation of ATM kinase activity in response to DNA double-strand breaks. *Oncogene* 2007; 26(56): 7741-7748. doi: 10.1038/sj.onc.1210872.
- Vecchio D, Daga A, Carra E, Marubbi D, Baio G, Neumaier CE, et al. Predictability, efficacy and safety of radiosensitization of glioblastoma-initiating cells by the ATM inhibitor KU-60019. *Int J Cancer* 2014; 135(2): 479-491. doi: 10.1002/ijc.28680.
- Seol HJ, Yoo HY, Jin J, Joo KM, Kong DS, Yoon SJ, et al. Prognostic implications of the DNA damage response pathway in glioblastoma. *Oncol Rep* 2011; 26(2): 423-430. doi: 10.3892/or.2011.1325.
- Hashimoto T, Urushihara Y, Murata Y, Fujishima Y, Hosoi Y. AMPK increases expression of ATM through transcriptional factor Sp1 and induces radioresistance under severe hypoxia in glioblastoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 2022; 590: 82-88. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.12.076.
- Short SC, Giampieri S, Worku M, Alcaide-German M, Sioftanos G, Bourne S, et al. Rad51 inhibition is an effective means of targeting DNA repair in glioma models and CD133+ tumor-derived cells. *Neuro Oncol* 2011; 13(5): 487-499. doi: 10.1093/neuonc/nor010.
- Lees-Miller SP, Godbout R, Chan DW, Weinfeld M, Day RS 3rd, Barron GM, et al. Absence of p53 subunit of DNA-activated protein kinase from a radiosensitive human cell line. *Science* 1995; 267(5201): 1183-1185. doi: 10.1126/science.7855602.
- Li L, Lei Q, Zhang S, Kong L, Qin B. Screening and identification of key biomarkers in hepatocellular carcinoma: Evidence from bioinformatic analysis. *Oncol Rep* 2017; 38(5): 2607-2618. doi: 10.3892/or.2017.5946.
- Yan P, He Y, Xie K, Kong S, Zhao W. In silico analyses for potential key genes associated with gastric cancer. *PeerJ* 2018; 6:e6092. doi: 10.7717/peerj.6092.
- Zhang Y, Li Y, Chachad D, Liu B, Godavarthi JD, Williams-Villalobo A, et al. In silico analysis of DND1 and its co-expressed genes in human cancers. *Biochem Biophys Res* 2022; 29: 101206. doi: 10.1016/j.bbrep.2022.101206.
- Fabregat A, Sidiropoulos K, Garapati P, Gillespie M, Hausmann K, Haw R, et al. The Reactome pathway Knowledgebase. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(D1): D481-D487. doi: 10.1093/nar/gkv1351.
- Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res* 2000; 28(1): 27-30. doi: 10.1093/nar/28.1.27.
- Heberle H, Meirelles GV, da Silva FR, Telles GP, Minghim R. InteractiVenn: a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams. *Bmc Bioinformatics* 2015; 16: 169. doi: 10.1186/s12859-015-0611-3.
- Demšar J, Curk T, Erjavec A, Gorup Č, Hočevar T, Milutinovič M, et al. Orange: data mining toolbox in Python. *the Journal of machine Learning research* 2013; 14(1): 2349-2353.
- Bredel M, Bredel C, Juric D, Harsh GR, Vogel H, Recht LD, et al. Functional network analysis reveals extended gliomagenesis pathway maps and three novel MYC-interacting genes in human gliomas. *Cancer Res* 2005; 65(19): 8679-8689. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1204.
- Khatua S, Peterson KM, Brown KM, Lawlor C, Santi MR, LaFleur B, et al. Overexpression of the EGFR/FKBP12/HIF-2alpha pathway identified in childhood astrocytomas by angiogenesis gene profiling. *Cancer Res* 2003; 63(8): 1865-1870.
- Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer SO, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal* 2013; 6(269): p11. doi: 10.1126/scisignal.2004088.
- Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov* 2012; 2(5): 401-404. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0095.
- Liu J, Lichtenberg T, Hoadley KA, Poisson LM, Lazar AJ, Cherniack AD, et al. An Integrated TCGA Pan-Cancer Clinical Data Resource to Drive High-Quality Survival Outcome Analytics. *Cell* 2018; 173(2): 400-16 e11. doi: 10.1016/j.cell.2018.02.052.
- Cancer Genome Atlas Research N, Weinstein JN, Collisson EA, Mills GB, Shaw KR, Ozenberger BA, et al. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. *Nat Genet* 2013; 45(10): 1113-1120. doi: 10.1038/ng.2764.
- Hoadley KA, Yau C, Hinoue T, Wolf DM, Lazar AJ, Drill E, et al. Cell-of-Origin Patterns Dominate the Molecular Classification of 10,000 Tumors from 33 Types of Cancer. *Cell* 2018;173(2):291-304. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.022.
- Mermel CH, Schumacher SE, Hill B, Meyerson ML, Beroukhim R, Getz G. GISTIC2.0 facilitates sensitive and confident localization of the targets of focal somatic copy-number alteration in human cancers. *Genome Biol* 2011; 12(4): R41. doi: 10.1186/gb-2011-12-4-r41.
- Tang Z, Kang B, Li C, Chen T, Zhang Z. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and

- interactive analysis. *Nucleic Acids Res* 2019; 47(W1): W556-W60. doi: 10.1093/nar/gkz430.
33. Wang M, Chen S, Ao D. Targeting DNA repair pathway in cancer: Mechanisms and clinical application. *MedComm* 2021; 2(4): 654-691. doi: 10.1002/mco2.103.
 34. Anindya R, Mari PO, Kristensen U, Kool H, Giglia-Mari G, Mullenders LH, et al. A ubiquitin-binding domain in Cockayne syndrome B required for transcription-coupled nucleotide excision repair. *Mol Cell* 2010; 38(5): 637-648. doi: 10.1016/j.molcel.2010.04.017.
 35. Dabholkar MD, Berger MS, Vionnet JA, Overton L, Thompson C, Bostick-Bruton F, et al. Comparative analyses of relative ERCC3 and ERCC6 mRNA levels in gliomas and adjacent non-neoplastic brain. *Mol Carcinog* 1996; 17(1): 1-7. doi: 10.1002/(SICI)1098-2744(199609)17:1<1::AID-MC1>3.0.CO;2-M.
 36. Grunda JM, Fiveash J, Palmer CA, Cantor A, Fathallah-Shaykh HM, Nabors LB, et al. Rationally designed pharmacogenomic treatment using concurrent capecitabine and radiotherapy for glioblastoma; gene expression profiles associated with outcome. *Clin Cancer Res* 2010; 16(10): 2890-2898. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-3151.
 37. Pascal JM. The comings and goings of PARP-1 in response to DNA damage. *DNA repair* 2018; 71: 177-182. doi: 10.1016/j.dnarep.2018.08.022.
 38. Alesmasova EE, Lavrik OI. Poly(ADP-ribosylation) by PARP1: reaction mechanism and regulatory proteins. *Nucleic Acids Res* 2019; 47(8): 3811-3827. doi: 10.1093/nar/gkz120.
 39. Galia A, Calogero AE, Condorelli R, Frassetto F, La Corte A, Ridolfo F, et al. PARP-1 protein expression in glioblastoma multiforme. *Eur J Histochem* 2012; 56(1): e9. doi: 10.4081/ejh.2012.e9.
 40. Ghorai A, Mahaddalkar T, Thorat R, Dutt S. Sustained inhibition of PARP-1 activity delays glioblastoma recurrence by enhancing radiation-induced senescence. *Cancer Lett* 2020; 490: 44-53. doi: 10.1016/j.canlet.2020.06.023.
 41. Pearl LH. Structure and function in the uracil-DNA glycosylase superfamily. *Mutat Res* 2000; 460(3-4): 165-181. doi: 10.1016/s0921-8777(00)00025-2.
 42. Moon YW, Park WS, Vortmeyer AO, Weil RJ, Lee YS, Winters TA, et al. Mutation of the uracil DNA glycosylase gene detected in glioblastoma. *Mutat Res* 1998; 421(2): 191-196. doi: 10.1016/s0027-5107(98)00165-1.
 43. Kase M, Vardja M, Lipping A, Asser T, Jaal J. Impact of PARP-1 and DNA-PK expression on survival in patients with glioblastoma multiforme. *Radiother Oncol* 2011; 101(1): 127-31. doi: 10.1016/j.radonc.2011.06.024.
 44. Murnyák B, Kouhsari MC, Hershkovitch R, Kálmán B, Marko-Varga G, Klekner Á, et al. PARP1 expression and its correlation with survival is tumour molecular subtype dependent in glioblastoma. *Oncotarget* 2017; 8(28): 46348-46362. doi: 10.18632/oncotarget.18013.
 45. Deshmukh AL, Porro A, Mohiuddin M, Lanni S, Panigrahi GB, Caron MC, et al. FAN1, a DNA Repair Nuclease, as a Modifier of Repeat Expansion Disorders. *J Huntingtons Dis* 2021; 10(1): 95-122. doi: 10.3233/JHD-200448.
 46. Goold R, Hamilton J, Menneveau T, Flower M, Bunting EL, Aldous SG, et al. FAN1 controls mismatch repair complex assembly via MLH1 retention to stabilize CAG repeat expansion in Huntington's disease. *Cell Rep* 2021; 36(9): 109649. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109649.
 47. Wang Z, Chen N, Yang J, Wang Q, Li A. Microarray gene profiling analysis of glioblastoma cell line U87 reveals suppression of the FANCD2/Fanconi anemia pathway by the combination of Y15 and temozolomide. *Arch Med Sci* 2019; 15(4): 1035-1046. doi: 10.5114/aoms.2019.86063.
 48. Bellacosa A, Cicchillitti L, Schepis F, Riccio A, Yeung AT, Matsumoto Y, et al. MED1, a novel human methyl-CpG-binding endonuclease, interacts with DNA mismatch repair protein MLH1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(7): 3969-3974. doi: 10.1073/pnas.96.7.3969.
 49. Schlegel J, Guney S, Mennel HD. Expression of the genes of methyl-binding domain proteins in human gliomas. *Oncol Rep* 2002; 9(2): 393-395.
 50. Sasaki H, Zlatescu MC, Betensky RA, Ino Y, Cairncross JG, Louis DN. PTEN is a target of chromosome 10q loss in anaplastic oligodendrogliomas and PTEN alterations are associated with poor prognosis. *Am J Pathol* 2001; 159(1): 359-67. doi: 10.1016/S0002-9440(10)61702-6.
 51. Jaeckle K, Zhang L, Lee P, Connor T, Ali-Osman F. ERCC6 mutations in human malignant astrocytomas. *Neuro-oncology* 1999; 1: 317.
 52. Rodriguez-Hernandez I, Perdomo S, Santos-Briz A, Garcia JL, Gomez-Moreta JA, Cruz JJ, et al. Analysis of DNA repair gene polymorphisms in glioblastoma. *Gene* 2014; 536(1): 79-83. doi: 10.1016/j.gene.2013.11.077.