T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI TİPTEKİ ALUMİNYUM ADJUVANLARIN MONOSİTİK HÜCRELERDE OLUŞTURDUĞU ETKİLERİN PROTEOMİKS VE METABOLOMİKS DÜZEYDE İNCELENMESİ

Ecz. Fatma SEFEROĞLU

Aşı Çalışmaları Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2023

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI TİPTEKİ ALUMİNYUM ADJUVANLARIN MONOSİTİK HÜCRELERDE OLUŞTURDUĞU ETKİLERİN PROTEOMİKS VE METABOLOMİKS DÜZEYDE İNCELENMESİ

Ecz. Fatma SEFEROĞLU

Aşı Çalışmaları Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Danışman: Prof. Dr. Emirhan NEMUTLU

ANKARA
2023

ONAY SAYFASI

FARKLI TİPTEKİ ALUMİNYUM ADJUVANLARIN MONOSİTİK HÜCRELERDE OLUŞTURDUĞU ETKİLERİN PROTEOMİKS VE METABOLOMİKS DÜZEYDE İNCELENMESİ

Öğrenci: Fatma SEFEROĞLU

Danışman: Prof. Dr. Emirhan Nemutlu

Bu tez çalışması 31.01.2023 tarihinde jürimiz tarafından Aşı Çalışmaları Programı' nda yüksek lisans olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Güneş ESENDAĞLI
(Hacettepe Üniversitesi)

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Emirhan NEMUTLU
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: Doç. Dr. Engin KOÇAK
(Sağlık Bilimleri Üniversitesi)

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **"Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge"** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. (1)
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren … ertelenmiştir. (2)
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

… /…/…

Fatma SEFEROĞLU

"Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge"
(1) Madde 6. 1. Lisansüstü tezle ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, ***tez danışmanının*** *önerisi ve* ***enstitü anabilim dalının*** *uygun görüşü üzerine* ***enstitü*** *veya* ***fakülte yönetim kurulu*** *iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez ***danışmanının*** *önerisi ve* ***enstitü anabilim dalının*** *uygun görüşü üzerine* ***enstitü*** *veya* ***fakülte yönetim kurulunun*** *gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, ***tezin yapıldığı kurum*** *tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise,* ***ilgili kurum ve kuruluşun önerisi*** *ile* ***enstitü*** *veya* ***fakültenin*** *uygun görüşü üzerine* ***üniversite yönetim kurulu*** *tarafından verilir.*
Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

** Tez* ***danışmanının*** *önerisi ve* ***enstitü anabilim dalının*** *uygun görüşü üzerine* ***enstitü*** *veya* ***fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.***

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Emirhan Nemutlu danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Ecz. Fatma SEFEROĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca anlayışı, samimiyeti, emeğiyle bana yol gösteren, ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Emirhan Nemutlu'ya,

Hücre kültürü çalışmalarını gerçekleştirmemde büyük katkısı olan ve deneylerimi yürütebilmem için laboratuvarını açan değerli hocam Prof Dr. Güneş Esendağlı'ya,

Metabolomiks ve proteomiks analizlerini gerçekleştirmemde bana yol gösterici olan ve samimiyetiyle desteğini esirgemeyen Dr. Cemil Can Eylem'e,

Hücre kültürü çalışmalarını yürütmemde bana destek olan sevgili arkadaşım Ecz. Ali Mert Sencer'e,

Her daim yanımda olan, büyük sabır ve anlayış gösteren canım aileme ve eşime teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Seferoğlu, F., Farklı Tipteki Aluminyum Adjuvanların Monositik Hücrelerde Oluşturduğu Etkilerin Proteomiks Ve Metabolomiks Düzeyde İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aşı Çalışmaları Programı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2023. Aşılar, doğal enfeksiyonu taklit ederek ve uzun süreli immünolojik hafıza üreterek bulaşıcı hastalıkların neden olduğu hastalıkların mortalite ve morbiditesini azaltan biyolojik bileşiklerdir. Aşılarda kullanılan antijenlerin çoğu zayıf immünolojik cevaba sebep olduklarından dolayı aşıların etkisinin gücünü ve süresini artırmak amacıyla aşı bileşenlerine adjuvanlar da eklenmektedir. Eski yıllardan beridir aluminyum tuzları adjuvan olarak en sık kullanılan maddelerdir ve özellikle monositlere olgun bir dendritik fenotipe farklılaşmaları için güçlü bir uyarım sağlamaktadırlar. Bu tez çalışmasında U-937 ve THP-1 hücre kültüründe aluminyum oksihidroksit (AH) ve aluminyum hidroksifosfat (AP) tuzlarının farklı derişimleri kullanılarak metabolomiks ve proteomiks çalışmalar yürütülmüştür. Bu amaçla gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile intraselülar ve ekstraselülardametabolomiks analizler ve sıvı kromatografisikuadropol uçuş zamanlı kütle spektrometresi (LC-qTOF-MS) ile proteomiks analizler gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda toplamda 170 metabolit ve 403 protein tanımlanmıştır. Tek değişkenli ve çok değişkenli veri analizleri alüminyum adjuvan tuzlarına ve THP-1 ve U937 hücre kültürü tiplerine bağlı olarak değişen metabolitleri, proteinleri ve yolakların belirlenmesini sağlamıştır. Farklı derişimlerde AH ve AP tuzlarına maruz kalan hücrelerde anlamlı düzeyde değişen endojenik metabolit ve proteinlerin mevcut alüminyum adjuvanların etkisinin güçlendirilmesine ve yeni endojen adjuvanlarının geliştirilmesine öncülük edebileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Aşı, alüminyum oksihidroksit, alüminyum hidroksifosfat, GC-MS, LC-qTOF-MS, proteomiks, metabolomiks, yolak analizi, U-937, THP-1.

ABSTRACT

Seferoğlu, F., Investigation of The Effects of Aluminium Adjuvants on Monocytic Cells at The Proteomics and Metabolomics Level. Hacettepe University, Hacettepe University Health Sciences Institute, Vaccine Studies Program, Master Thesis, Ankara, 2023. Vaccines are biological compounds that reduce the mortality and morbidity of diseases caused by infectious diseases by mimicking natural infection and producing long-term immunological memory. Since most of the antigens used in vaccines cause weak immunological response, adjuvants are also added to the vaccine components in order to increase the potency and duration of the effect of the vaccines. Since ancient times, aluminum salts have been the most commonly used adjuvants and provide a particularly strong stimulus to monocytes to differentiate into a mature dendritic phenotype. In this thesis, metabolomics and proteomics studies were carried out using different concentrations of aluminum oxyhydroxide (AH) and aluminum hydroxyphosphate (AP) salts in U-937 and THP-1 cell cultures. For this purpose, intracellular and extracellular metabolomics analyzes with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and proteomics analyzes were performed with liquid chromatography-cyclopol time-of-flight mass spectrometry (LC-qTOF-MS). As a result of the analysis, a total of 170 metabolites and 403 proteins were identified. Univariate and multivariate data analyzes allowed the identification of metabolites, proteins and pathways that vary depending on aluminum adjuvant salts and THP-1 and U937 cell culture types. It is thought that endogenic metabolites and proteins that change significantly in cells exposed to different concentrations of AH and AP salts may lead to the strengthening of the effect of existing aluminum adjuvants and the development of new endogenous adjuvants.

Keywords: Vaccine, aluminum oxyhydroxide, aluminum hydroxyphosphate, GC-MS, LC-qTOF-MS, proteomics, metabolomics, pathway analysis, U-937, THP-1.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI iv
ETİK BEYAN v
TEŞEKKÜR vi
ÖZET vii
ABSTRACT viii
İÇİNDEKİLER ix
SİMGELER VE KISALTMALAR xii
ŞEKİLLER xiv
TABLOLAR xvii
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Gen ve Genom Kavramı 4
2.2. Protein ve Proteom Kavramı 5
2.3. Metabolit ve Metabolom Kavramı 7
2.4. Omiks Teknolojileri 8
2.5. Proteomiks 10
2.5.1. Proteinlerin Saflaştırılması 12
2.5.2. Proteinlerin Analizleri 15
2.6. Metabolomiks 17
2.6.1. Ayırma Teknikleri 19
2.6.2. Tayin Yöntemleri 20
2.6.3. Uygulama Alanları 21
2.7. Aşı: Genel Kavramlar 22
2.7.1. Aluminyum Adjuvanları 23
2.8. Aşı ve Proteomiks Teknoloji 28
2.9. Aşı ve Metabolomiks Teknoloji 30
2.10. Hücre Kültürü Çalışmaları 32
3. GEREÇ VE YÖNTEM 34
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar 34
3.2. Çözeltilerin Hazırlanması 36

3.3. Hücre Kültürleri 37
3.4. In vitro Analizler İçin Deney Tasarımının Oluşturulması 38
3.4.1. MTT Hücre Canlılık Analizi 38
3.4.2. Propidyum Iyodur Hücre Canlılık Analizi 39
3.4.3. Aluminyum Adjuvanların Hücresel Alımının İncelenmesi 40
3.5. Monosit Hücrelerinin Aktivasyon ve Maturasyonunun Yüzey Belirteci İfadelerinin İncelenmesi 40
3.5.1. İmmunfenotipleme 40
3.6. Proteomiks ve metabolomiks analizler için deney kurulumu 41
3.7. U937 ve THP-1 Hücre Kültürü Analizi 42
3.7.1. LC-qTOF-MS temelli proteomiks analizler 42
3.7.2. U937 ve THP-1 Hücre Kültürü Metabolomiks Analizler için Türevlendirme 43
3.7.3. U937 ve THP-1 Hücre Kültürü GC-MS Temelli Metabolomiks Analizler 44
3.8. Veri Analizi 44
3.8.1. GC-MS temelli metabolomiks analizlere ait veri analizi 44
3.8.2. LC-qTOF-MS temelli proteomiks analizlere ait veri analizi 45
3.9. İstatistiksel Analizler 45
4. BULGULAR 47
4.1. Hücre Kültürü Çalışmaları 47
4.1.1. MTT ve Propidyum İyodür Hücre Canlılık Analizi 47
4.1.2. Lumogallion Analiz 48
4.1.3. Monosit Hücrelerinin Aktivasyon ve Maturasyonunun Yüzey Belirteci İfadelerinin İncelenmesi: İmmunfenotipleme 49
4.2. Metabolomiks Analizler 52
4.3. Proteomiks Analizler 89
4.4. Yolak Analizleri 139
5. TARTIŞMA 146
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 153
7. KAYNAKLAR 154
8. EKLER

EK-1: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

EK-2: Dijital Makbuz

9. ÖZGEÇMİŞ

SİMGELER VE KISALTMALAR

AH	Aluminyum Hidroksit Tuzu
AP	Aluminyum Fosfat Tuzu
APC	Antijen Sunan Hücre
BAP31	B hücresi reseptörü ile ilişkili protein 31
DC	Dendritik Hücre
DTT	Ditiotreitol
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DDX31	ATP Bağımlı RNA Helikaz
ELISA	Enzime Bağlı İmmünosorbent Deneyi
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
FA	Formik Asit
FTICR	İyon Siklotron Rezonans Analizörü
GC	Gaz Kromatofgrafisi
IAA	Iyodoasetamid
ICAT	İzotop Kodlu Afinite Etiketi
IEC	İyon Değişim Kromatografisi
IL	İnterlökin
IT	İyon Kapanı Analizörü
iTRAQ	Göreceli ve Mutlak Niceleme
LC	Sıvı Kromatografisi
LIT	Doğrusal İyon Kapanı
MALDI	Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon
MeOX	Metoksiamin Hidroklorür
MHCII	Majör Doku Uygunluk Kompleksi II
MS/MS	Tandem Kütle Spektrometrisi
MSTFA	N-Methyl-N-Trimetilsilil Trifloroasetamit
MS	Kütle Spektrometrisi
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-İl)-2,5-Difeniltetrazolium Bromid
NLRP3	Nod Benzeri Reseptör 3
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans

OFY	Ortalama Floresans Yoğunluk
PAMPS	Patojenle İlişkili Moleküler Patern
PBS	Fosfat Tamponlu Salin Çözeltisi
PCA	Temel Bileşen Analizi
PI	Propidyum Iyodur
PLS-DA	Kısmi En Küçük Kareler-Ayrım Analizi
PRR	Patern Tanıma Reseptörleri
Q	Kuadrapol Analizörü
QIT	Kuadrapol İyon Kapanı
RIG 1	Retinoik Asitle Etkinleştirilen Gen 1
RLR	RIG-I Benzeri Reseptörler
RNA	Ribonükleik Asit
SDS/DMF	Sodyum Dodesil Sülfat/Dimetilformamit
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SEC	Boyut Dışlama Kromatografisi
SEC61	Protein Taşıma Proteini Sec61 Alt Birim Beta
SILAC	Stabil İzotop Etiketleme
TCR	T hücre antijen reseptörü
Th2	T Yardımcı Hücre 2
TLR	Toll Benzeri Reseptör
TMED-2	Transmembran emp24 alanı içeren Protein 2
TMCS	Trimetil Klorosilan
TOF	Uçuş Zamanlı Kütle Analizörü
2-DE	İki Boyutlu Jel Elektroforezi
2D-DIGE	İki Boyutlu Diferansiyel Jel Elektroforezi
2D-PAGE	İki Boyutlu Poliakrilamid Jel Elektroforezi

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.	DNA sarmal yapısı.	5
2.2.	Aminoasit yapısı.	6
2.3.	Protein birincil, ikincil, üçüncül ve tersiyer yapısı.	7
2.4.	Omiks teknolojileri ve kavramsal ilişki.	8
2.5.	Proteomiks teknolojilerin uygulama teknikleri.	12
2.6.	Kütle spektroskopisi temel kısımları	15
2.7.	LC-MS sistemi temel kısımları.	17
2.8.	Hedeflenmiş ve hedeflenmemiş metabolomik çalışmaların şeması.	18
2.9.	Metabolomiks uygulamaları.	22
3.1.	Akım sitometrisi analizleri için kapılama stratejisi.	40
4.1.	Aluminyum adjuvanların, hücre canlılığına etkisinin incelenmesi.	47
4.2.	Monosit hücrelerinin alüminyum adjuvanlarla etkileşim düzeyinin araştırılması.	48
4.3.	Monosit hücrelerine alüminyum adjuvan uygulamasının akitvasyon ve matürasyon belirteçleri yönünden incelenmesi.	51
4.4.	Intraselüler matrikse ait metabolomiks çalışmalar için elde edilmiş GC-MS kromatogramları.	53
4.5.	THP hücre hattından adjuvan etkisine bağlı olarak elde edilen intraselüler metabolitlere ait sıcak harita grafikleri.	72
4.6.	U937 hücre hatından adjucan etkisine bağlı olarak elde intraselüler metabolitlere ait sıcak harita grafikleri.	73
4.7.	THP hücre hatından adjuvan etkisine bağlı olarak elde ekstraselüler metabolitlere ait sıcak harita grafikleri.	74
4.8.	U937 hücre hatından adjuvan etkisine bağlı olarak elde ekstraselüler metabolitlere ait sıcak harita grafikleri.	75
4.9.	Intraselüler(A) ve ekstraselüler(B) metabolomiks verilerine ait PCA grafikleri.	76
4.10.	THP hücre hatlarında AH dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AH, B) 0.125 mM AH	77
4.11.	THP hücre hatlarında AP dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AP, B) 0.125 mM AP	78
4.12.	U937 hücre hatlarında AH dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AH, B) 0.125 mM AH	79

4.13. U937 hücre hatlarında AP dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AP, B) 0.125 mM AP 80

4.14. THP hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen intraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.972 ve Q^2: 0.512) ve B) VIP grafiği. 81

4.15. U937 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen intraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.979 ve Q^2: 0.549) ve B) VIP grafiği. 82

4.16. THP ve U937 hücre hatının adjuvan tipinin (1 mM) intraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.896 ve Q^2: 0.699) ve B) VIP grafiği. 83

4.17. THP ve U937 hücre hatının adjuvan tipinin (0.125 mM) intraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.972 ve Q^2: 0.512) ve B) VIP grafiği. 84

4.18. THP hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen ekstraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.962 ve Q^2: 0.514) ve B) VIP grafiği. 85

4.19. U937 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen ekstraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.962 ve Q^2: 0.514) ve B) VIP grafiği. 86

4.20. THP ve U937 hücre hatının adjuvan tipinin (1 mM) ekstraselülerr metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.980 ve Q^2: 0.879) ve B) VIP grafiği. 87

4.21. THP ve U937 hücre hatının adjuvan tipinin (0.125 mM) ekstraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.980 ve Q^2: 0.879) ve B) VIP grafiği. 88

4.22. THP hücre hatından adjuvan etkisine bağlı olarak elde edilen proteinlere ait sıcak harita grafikleri. 130

4.23. U937 hücre hatından adjuvan etkisine bağlı olarak elde edilen proteinlere ait sıcak harita grafikleri. 131

4.24. THP hücre hatlarında AP dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AP, B) 0.125 mM AP. 132

4.25. THP hücre hatlarında AH dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AH, B) 0.125 mM AH 133

4.26. U937 hücre hatlarında AH dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AH, B) 0.125 mM AH. 134

4.27. U937 hücre hatlarında AP dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AP, B) 0.125 mM AP. 135

4.28. U937 ve THP-1 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen proteomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.344 ve Q^2: 0.221) 136

4.29. U937 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen proteomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.513 ve Q^2: 0.575) ve B) VIP grafiği. 137

4.30. THP-1 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen proteımik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.*562* ve Q^2: 0.732) ve B) VIP grafiği. 138

4.31. 1 mM AH bağlı olarak THP-1 hücre hattında etkileşen yolaklar. 139

4.32. 1 mM AP bağlı olarak THP hücre hattında etkileşen yolaklar. 140

4.33. 1 mM AH bağlı olarak U937 hücre hattında etkileşen yolaklar. 140

4.34. 1 mM AP bağlı olarak U937 hücre hattında etkileşen yolaklar. 141

TABLOLAR

Tablo		Sayfa
2.1.	Metabolomiks teknolojide sık kullanılan yöntemlerin karşılaştırması.	21
3.1.	Hücre kültürü çalışmasında kullanılan malzemeler	34
3.2	Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan antikorlar.	34
3.3.	Kimyasal maddeler	35
3.4.	Kullanılan cihazlar	35
3.5.	Cam ve sarf malzemeler	35
3.6.	Yazılımlar	36
3.7.	Proteomiks analizlerde kullanılan gradient elüsyon programı	43
3.8.	Proteomiks analizler için optimize edilmiş LC-qTOF-MS analiz koşulları ve cihaz parametreleri	43
3.9.	Optimize edilmiş GC-MS analiz koşulları ve cihaz parametreleri	44
4.1.	PI canlılık analizine ait karşılaştırmalı p değerleri.	47
4.2.	MTT canlılık analizine ait karşılaştırmalı p değerleri.	48
4.3.	Monosit hücrelerinin alüminyum adjuvanlarıyla etkilişimine ait p değerleri.	49
4.4.	THP-1 monosit hücrelerine alüminyum adjuvan uygulamasıyla akitvasyon ve matürasyon belirteçlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmalarına ait p değerleri.	52
4.5.	Ekstraselüler matrikse ait metabolitler ve bağıl derişimleri	54
4.6.	Ekstraselüler matrikse ait grupların istatistiksel olarak karşılaştırılmalarına ait p değerleri	60
4.7.	Intraselüler matrikse ait metabolitler ve bağıl derişimleri*	64
4.8.	İntraselüler matrikse ait grupların istatistiksel olarak karşılaştırılmalarına ait p değerleri	68
4.9.	THP-1 ve U937 hücre kültürüne ait proteinlerin bağıl derişimleri.	90
4.10.	İntraselular matrikse ait grupların istatistiksel olarak karşılaştırılmalarına ait p değerleri	113
4.11.	1 mM AH THP hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişen metabolitlerin ve proteinlerin kullanılmasıyla elde edilen yolak analzi sonuçları.	142
4.12.	1 mM AP THP hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı düzyde değişen metabolitlerin ve proteinlerin kullanılmasıyla elde edilen yolak analzi sonuçları	143

4.13. 1 mM AH U937 hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişen metabolitlerin ve proteinlerin kullanılmasıyla elde edilen yolak analizi sonuçları. 144

4.14. 1 mM AP U937 hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişen metabolitlerin ve proteinlerin kullanılmasıyla elde edilen yolak analzi sonuçları 145

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bulaşıcı hastalıklara bir kişiden (veya hayvandan) diğerine geçen bulaşıcı ajanlar neden olur ve bu ajanlar dünya çapında insan sağlığı üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bu enfeksiyonlara bakteriler, parazitler, virüsler veya mantarlar (veya bunların toksik yan ürünleri) gibi ajanlar neden olur ve bulaşma doğrudan, dolaylı veya bir vektör (örn. sivrisinekler) aracılığıyla gerçekleşir (1). Bulaşıcı hastalıklar tüm dünyada mortalite ve morbiditenin temel sebeplerinden biridir. Aşılar, doğal enfeksiyonu taklit ederek ve uzun süreli immünolojik hafıza oluşturarak bulaşıcı hastalıkların neden olduğu dünya çapındaki ölüm oranını önemli ölçüde azaltmışlardır. Aşıyla önlenebilir hastalıklar, beş yaşın altındaki çocuklar arasında her yıl meydana gelen 10 milyon ölümün yaklaşık %25'inden hala sorumludur (2). Şu anda çok sayıda başarılı aşı kullanımdayken, aşı olmayan hastalıkların listesi uzundur. Aşılama, insan popülasyonundaki bulaşıcı hastalıkların küresel kontrolüne en büyük katkılardan biridir. Aşılamanın, yalnızca Amerika Birleşik Devletleri'nde 1920'lerden bu yana insanlarda 100 milyondan fazla bulaşıcı hastalık vakasını önlediği tahmin edilmektedir (3).

Son yıllarda, biyoteknoloji, moleküler biyoloji ve immünolojideki gelişmeler, yeni aşı antijenlerinin giderek daha hızlı tanımlanmasına ve daha etkili ve daha güvenli aşıların üretilmesine yol açmıştır. Yüksek oranda saflaştırılmış rekombinant antijenlerin çoğu zayıf bir şekilde immünojenik olduğundan, aşılar tarafından indüklenen korumanın seviyesini ve süresini arttırmak için adjuvanlara sıklıkla ihtiyaç duyulmaktadır (3). İmmün uyarıcılar (veya adjuvanlar), tüm patojen aşılara kıyasla azalmış immünojenisiteleri nedeniyle özellikle inaktive ve alt ünite bazlı aşılar için aşı geliştirmede vazgeçilmez ajanlardır (1).

Ölü mikroorganizmaların tamamı veya fraksiyonlarından üretilen cansız (inaktive) aşılar antijenik proliferasyon göstermez. Daha az immünojenik olan ölü aşıların immünizasyon oluşturabilmeleri için belli aralıklarla birkaç doz tekrarlanmaları ve adjuvanla birlikte verilmeleri gerekir (4). Adjuvanlar aşı antijenlerinin oluşturduğu bağışık yanıtı güçlendirmek üzere aşılara eklenen maddelere veya antijen taşıyıcı olarak kullanılan sistemlerdir (5). Adjuvanlar immunojenik etkiye sahip olmayan ancak birlikte verildikleri antijenin immünojenitesini arttıran maddelerdir (4). Adjuvanlar, ideal olarak, aşılamaların

miktarını ve sayısını azaltarak antijenlerin immünojenikliğini artırmayı ve iyileştirmeyi amaçlar; bu nedenle, adjuvan aktiviteye sahip yeni maddelerin araştırılması, on yılı aşkın bir süredir immünolojik araştırmalardaki ana konulardan biri olmuştur (6).

Omiks teknolojilerinin ve biyoinformatik araçların ortaya çıkışı, son zamanlarda insan aşılarının ve adjuvanlarının moleküler ve hücresel etkilerini tanımlamak için kullanılmıştır. Metabolomiks, özellikle ilaç keşfi ve hassas tıpta olmak üzere çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmıştır ancak aşı araştırmalarında uygulanması büyük ölçüde keşfedilmemiştir (7).

Aşıların neden olduğu koruyucu bağışıklık, yalnızca doğal ve adaptif bağışıklık hücrelerinin tepkisini içermez, aynı zamanda hücresel proteomiks ve metabolomiks yollarda derin değişikliklere neden olarak bu bağışıklık hücrelerinin ikincil uyarıma yanıt verme kapasitesini artırır. Yüksek verimli hücresel ve moleküler omiks teknolojilerini kullanan aşı bilimi, aşı kaynaklı bağışıklığı artırmak için bağışıklık tepkisinin kapsamlı bir şekilde çalışılmasına olanak tanımaktadır. Aşı immünojenisitesini ve spesifik protein ve metabolit değişikliklerini belirleyebilmek, yeni aşıların geliştirilmesi ve mevcut aşıların daha etkili hale getirilmesi açısından büyük avantaj sağlamaktadır (8).

Bilimsel çalışmalarda genomiks ve proteomiks teknolojilerin kullanımı, hücre kültürü ürünlerinin geliştirilmesine olanak sağlar. Bir hücre kültürü içindeki mRNA veya protein seviyelerine bakmamızı ve kültürden bir yanıtı neyin ortaya çıkarabileceğini ifade modellerine dayanarak tahmin etmemize yardımcı olur. Araştırmalar için önemli yolları gösterebilecek reseptörlerin (büyüme faktörleri, hormonlari sitokinler vd.), adhezyon moleküllerinin veya hücre sinyalleme bileşenlerinin ekspresyon modelleri incelenerek çoğalmanın düzenlenmesi, apoptoz, farklılaşma, yapışma veya üretim gibi çok çeşitli işlevler açısından faydalı olabileceği düşünülmektedir (9)(10).

Aluminyum tuzları adjuvan olarak en sık kullanılan maddelerdir ve özellikle monositlere olgun bir dendritik fenotipe farklılaşmaları için güçlü bir uyarım sağlamaktadırlar. Aluminyum tuzları bağışıklık sistemini harekete geçirerek vücutta birçok metabolitin ortaya çıkmasına ve proteom düzeyinde değişikliğe sebep olmaktadır (11). Aluminyum hidroksit ve alüminyum fosfat adjuvanların fiziksel ve

kimyasal özellikleri belirgin şekilde farklıdır ve bu durum bağışıklık tepkilerinde farklılıklara yol açmaktadır. Bu nedenle çalışmada alüminyum hidroksit ve alüminyum fosfat olmak üzere iki farklı adjuvan kullanılmıştır. Yapılan çalışmada alüminyum adjuvanlarının proteomiks ve metabolomiks düzeyde oluşturdukları profiller incelenerek ve analizler sonucunda belirlenen ve anlamlı düzeyde değişen endojenik metabolit ve proteinlerin mevcut alüminyum adjuvanlarının etki mekanızması ve adjuvan etkisine nasıl bir katkıda bulunacağı tartışılmıştır. Bu amaçla doku kökenli ve daha olgun aşamada olan U937 ve daha az olgun aşamada olan THP-1 hücre hatlarında metabolomiks ve proteomiks çalışmalar yürütülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

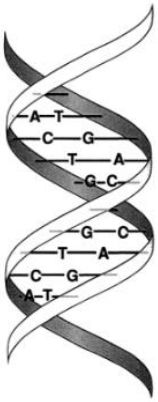
2.1. Gen ve Genom Kavramı

Uzun yıllar boyunca bilim adamları, hücrelerin faaliyetlerini yönlendiren bilgiyi ne tür moleküllerin taşıdığı ve bilginin bir nesilden diğerine nasıl aktarıldığını merak ederek çeşitli araştırmalarda bulunmuşlardır. 1920'ler ile 1950'ler arasında yapılan temel deneyler, bu genetik bilginin deoksiribonükleik asit (DNA) tarafından taşındığını ikna edici bir şekilde ortaya koymuştur. 1953 yılında DNA'nın yapısının aydınlatılmasıyla bu bilginin nasıl aktarıldığını ve nasıl kullanıldığını araştırmaya başlamak mümkün hale gelmiştir (12).

İlk tanımlamalara göre bir organizmanın belirli bir özelliğini ve bu özelliğin kalıtsallığını belirleme yeteneğini içermesine rağmen, terimin çeşitli tanımları vardır. ‘Gen’ kelimesi ilk kez 1909'da Wilhelm Johannsen tarafından kullanılmış ve "(gametlerde) benzersiz, ayrı ve dolayısıyla bağımsız şekillerde (organizmanın birçok özelliğinin belirlendiği) özel koşullar, temeller ve belirleyiciler" olarak adlandırılmıştır (13). 1860'larda bezelye çeşitleri arasında keskin ve açık bir şekilde farklılık gösteren özelliklerin kalıtımını inceleyen Gregor Mendel tarafından geliştirilen konsepte dayalı olarak kullanılmıştır (14). Kelime, Hugo De Vries tarafından Darwin'in varsayımsal kalıtım mekanizması olan pangeneze dahil olan varlıklar için kullanılan bir pangenin bir türevidir (14,15).

Gen, kalıtımın temel fiziksel birimidir ve protein adı verilen belirli bir işlevsel birimi yapan ribonükleik asit (RNA) adı verilen bir bileşikten oluşan genlere sahip bazı virüsler dışında DNA’dan oluşur. Genler ebeveynlerden yavrulara aktarılır ve canlıya özgü özellikleri belirlemek için gereken bilgileri içerir. Genler, kromozom adı verilen yapılarda birbiri ardına düzenlenmiştir. Bir kromozom, yalnızca bir kısmı tek bir gene karşılık gelen tek, uzun bir DNA molekülü içerir. Tüm insan genomunun yaklaşık 21.500 gen içerdiği tahmin edilmektedir (16).

Bir DNA molekülü, birbiri etrafında dolanan iki nükleotid zincirinden oluşur. Kenarları şekerler ve fosfatlardan oluşur ve nitrojenli baz çiftleriyle birbirine bağlanır. Bu bazlar adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timin (T) olarak adlandırılmaktadır.

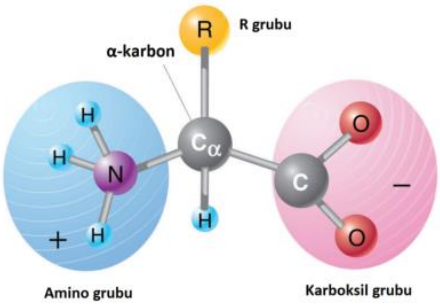


Şekil 2.1. DNA sarmal yapısı.

"Genom" terimi 1920'de Alman botanikçi Hans Winkler tarafından "gen (GENe)" ile "kromozom (chromosOME)" un birleştirilmesiyle geliştirilmiş ve akabinde türlerin 'maddi temeli' olarak haploid bir kromozom setinden bahsetmiştir. Günümüzde genom, ‘Canlı bir organizmanın tüm genetik tamamlayıcısı olarak bir ökaryotun kromozomlarındaki tüm DNA, prokaryotların kromozomundaki tüm DNA veya bir virüsteki tüm DNA veya RNA’’ olarak tanımlanmaktadır. Yani bir organizmanın genomu, bir kromozom setinin eksiksiz bir DNA dizisi demektir. Genom, organizmanın kendini inşa etmesi ve sürdürmesi için gerekli kodlanmış talimatları içerir ve 3 milyar baz çiftinden oluşan DNA'dan oluşur (17–19).

2.2. Protein ve Proteom Kavramı

Proteinler, amino asit monomerlerinden oluşmuş polimerlerdir ve bilinen en karmaşık yapılı ve bir veya birden fazla polipeptid zinciri içeren makromoleküllerdir. Amino asitler, merkez karbon atomuna (Cα) bağlı hidrojen atomu (H), amino grubu (-NH_2), karboksil grubu (-COOH) ve bir değişken yan zincirden (R) meydana gelirler (Şekil 2.2). Bir protein molekülü, amino asitlerin kovalent peptit bağıyla birbirlerine bağlanması sonucu meydana gelen uzun bir zincirden oluşmaktadır. Proteinler bu nedenle polipeptitler olarak da bilinir (20).



Şekil 2.2. Aminoasit yapısı (21).

Proteinler yapısal olarak kovalent bağlar ve kovalent olmayan bağlardan oluşmaktadırlar. Kovalent bağlar, peptit bağları ve disülfid bağlarıdır; kovalent olmayan bağlar ise hidrojen bağları, iyon bağları ve hidrofob bağlardır.

Proteinler hücre içinde meydana gelen tüm metabolik reaksiyonları gerçekleştiren temel yapılardır. Hücrenin dışından içine iletişim kuran ve hücre zarı boyunca iyonların ve küçük moleküllerin akışına izin veren reseptörler ve iyon kanalları, bağ dokusu, kas, kemikler ve hücresel bölünme mekanizmasını oluşturan yapısal proteinler, bağışıklık sistemimizin temeli olarak antikorlar ve RNA, DNA ve karbonhidrat molekülleri ile makromoleküler kompleksler halinde vücutta birçok işlevi yerine getirmekle görevlidirler (22).

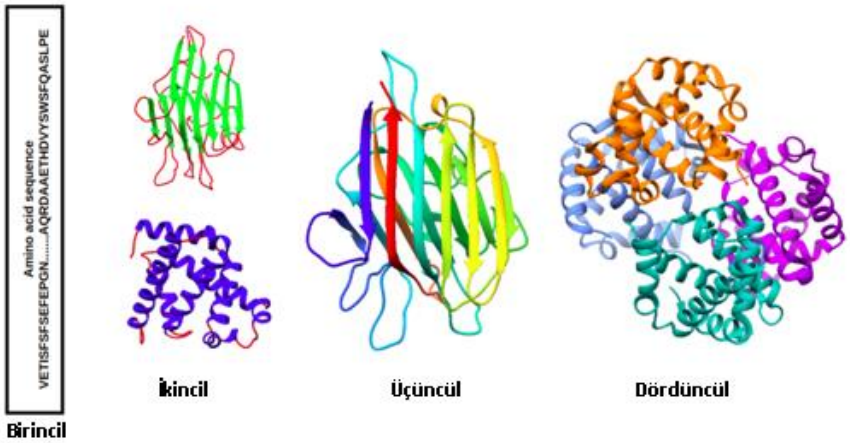
Proteinler üç veya bazen de dört yapının birbirini tamamlamasıyla oluşur. Bu yapılar birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapı olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.3). Protein yapısının en basit seviyesi olan birincil yapı, basitçe peptid bağlarıyla oluşan bir polipeptit zincirindeki amino asit dizisidir (23). Bu proteinin üç boyutlu yapısını ve işlevini belirleyen temel yapıdır. Birincil yapıda meydana gelen düzenli katlanmalar proteinin ikincil yapısını oluşturur.

İkincil yapı, bir polipeptit zincirindeki bitişik amino asit kalıntılarının uzayında düzenli, yinelenen düzenlemeleri ifade eder. Peptit omurgasının amid hidrojenleri ve karbonil oksijenleri arasındaki hidrojen bağları ile korunur. Başlıca ikincil yapılar α-heliksler ve β-yapılardır (24).

Üçüncül yapı, protein molekülünün genel üç boyutlu şekli, üçüncül yapıdır. Protein molekülü, maksimum stabilite veya en düşük enerji durumunu elde edecek şekilde bükülmektedir. Üçüncül yapılar, komşu olmayan amino asit kalıntılarının yan zincirlerinin etkileşimleri ve birincil olarak kovalent olmayan etkileşimler tarafından

stabilize edilir. Üçüncül yapının oluşumu, birincil yapıda birbirinden uzak olan amino asit kalıntılarını birbirine yaklaştırır (24).

Birden fazla polipeptid zincirinden oluşan bazı proteinlerin oluşturduğu yapı ise dördüncül yapı olarak bilinmektedir (25).



Şekil 2.3. Protein birincil, ikincil, üçüncül ve tersiyer yapısı (26).

Proteom, belirli bir zamanda bir hücre, doku veya organizma içinde bir genom tarafından kodlanan proteinlerin toplamıdır (27). Bu protein popülasyonu, gen ekspresyonundaki farklılıklar nedeniyle zaman içinde, büyüme koşulları arasında ve hücre tipleri arasında farklılık gösterebilir. Proteom, genoma göre, doku tipi, metabolik durum ve çeşitli etkileşimler gibi birçok dış faktörden etkilenir ve oldukça dinamiktir. Proteom, genom ekspresyonu, tek bir gene ait proteinlerin farklı formların tamamı olup sadece genler tarafından kodlanan polipeptid yapıları değil, aynı zamanda post translasyonel modifikasyonları da içerir (27–29).

2.3. Metabolit ve Metabolom Kavramı

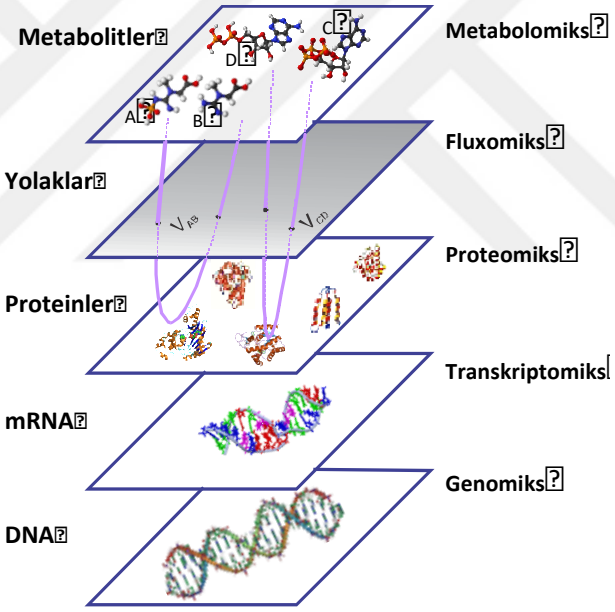
Metabolitler, belirli bir süe içerisinde hücresel metabolizmanın oluşturduğu ürünler ve ara ürünlerdir. Bunlar lipid, vitamin, karbonhidrat ve düğer hücre bileşenleri olarak ortaya çıkmakadır. Metabolitler, enerji dönüşümü, sinyalleşme, epigenetik etki ve kofaktör aktivitesi dahil olmak üzere çok sayıda işleve sahip olabilir (30).

Metabolom, bir hücre veya organizmada bulunan metabolik yollarda ve hücresel süreçlerde önemli roller oynayan düşük moleküler ağırlıklı bileşikler (< 3000 Da) olan metabolitlerin toplam kantitatif koleksiyonudur. Metabolom; hastalık, ilaç,

yaşam tarzı ve beslenme gibi çevresel faktörlerin de sebep olduğu birçok durumu yansıtmaktadır (31). Metabolomdaki değişiklikler, organizmanın genetik değişiklik, hastalık ve çevresel değişikliklere verdiği en son yanıttır. Metabolom; beslenme, cinsiyet, yaş ve hastalık gibi çevresel değişkenlerden anlık olarak etkilenir (32).

2.4. Omiks Teknolojileri

Omiks teknolojileri, bir hücre, doku veya organizmayı oluşturan moleküllerin bütünsel bir görünümünü benimser. Omiks teknoloji genlerin (genomiks), mRNA'nın (transkriptomiks), proteinlerin (proteomiks) ve metabolitlerin (metabolomiks) saptanmasını amaçlamaktadır (Şekil 2.4). Bu aynı zamanda yüksek boyutlu biyoloji olarak da adlandırılabilir; Bu tekniklerin entegrasyonuna sistem biyolojisi adı verilir (18).



Şekil 2.4. Omiks teknolojileri ve kavramsal ilişki.

Popülasyon örneklerinin çoklu omiks ölçümlerini çok boyutlu ağ ve sistem analizlerine dahil etmek, kronik hastalıkların gelişimi sırasında moleküler aracılık mekanizmaları, gen-çevre etkileşimleri ve uzunlamasına etkilerin hakkındaki mevcut bilgilerdeki boşlukları dolduracağı düşünülmektedir (33). Omiks teknolojilerinin bütünleştirici yaklaşımı, hastalıkların patofizyolojisinin altında yatan moleküler faktörlerin anlaşılmasını sağlayabilir ve hastalıkların erken teşhisi, önlenmesi ve tedavisi için yeni stratejilere katkı sağlayabilir. Bu stratejilerin birçok uygulaması ve

potansiyeli vardır (34). Omiks teknolojisi sadece normal fizyolojik süreçlerin daha iyi anlaşılması için değil, aynı zamanda tarama, teşhis ve prognozda rol oynadıkları hastalık süreçlerinde ve hastalıkların etiyolojisini anlamamıza yardımcı olmak için de uygulanabilir. Omiks stratejiler, aynı anda birden fazla molekülü araştırırken biyobelirteç keşfine katkıda bulunur. Omiks araştırma, ilaç keşfinde ve toksisite ve etkinliklerinin değerlendirilmesinde giderek daha fazla kullanılmaktadır (33).

Transkriptomiks, proteomiks ve metabolomiks, gen ürününün biyolojik işlevini ortaya koymaktadır. "-Omiks-" teknolojiler yüksek verimli teknolojilerdir ve karmaşık karışımları gen/ protein ekspresyon profilleri formundaki karmaşık etkilerle ilişkilendirmek için eşzamanlı olarak tespit edilebilen proteinlerin / genlerin sayısını önemli ölçüde artırır. Omiks teknolojilerin birincil amacı, belirli bir biyolojik numunede bulunan tüm gen ürünlerinin (transkriptler, proteinler ve metabolitler) hedeflenmemiş olarak tanımlanmasıdır (19).

‘Genomiks’ ise bir organizmanın genomu veya genetik materyali üzerine yapılan genlerin ve proteinlerin statik dizilimlerini ortaya çıkaran sistematik bir çalışmadır ancak bu teknolojinin odağı günümüzde genlerin ve proteinlerin dinamik işlevlerine ve etkileşimlerine kaymış durumdadır (19,35). Genomiks, nükleotid dizilerinin, genom yapısının ve bileşiminin analizi yoluyla yapılan bir genom araştırmasıdır. Genetik varyantlara sahip bireylerin bulunmasını sağlar; bu nedenle genler / varyantları ile hastalık veya tedaviye yanıt arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarır (18).

Transkriptom, bir organizmanın genomunun protein kodlayan kısmını ifade eder. Haberci RNA (mRNA), transfer RNA (tRNA), ribozomal RNA (rRNA) ve hücrelerde bulunan diğer kodlamayan RNA molekülleri gibi RNA molekülleri kümesini ifade eder. Bu nedenle, mRNA proteinlere daha fazla çevrildiğinden, transkriptom proteomun öncüsü olarak görülebilir (36). Transkriptomiks, bir hücrede transkript olarak adlandırılan tüm RNA dizileri koleksiyonunu içeren transkriptom çalışmasıdır. Bir insan hücresinin yaklaşık 25.000 transkript içerdiği tahmin edilmektedir (35).

Karmaşık da olsa kan transkriptomikleri, bağışıklık tepkisinin erken olayları hakkında çok bilgilendirici olmuştur. Örneğin, aşılamadan sonraki transkriptomiks imzalar, çok sayıda çalışmada aşı ile indüklenen antikor ve T hücre yanıtlarını tahmin

etmek için kullanılmıştır ve farklı aşı sınıfları, farklı gen ekspresyon programlarını indüklemiştir (16).

Tez çalışmalarında omiks analizlerden proteomiks ve metabolomiks analizler gerçekleştirildiğinden bu analizler detaylandırılmıştır.

2.5. Proteomiks

İnsan Genom Projesi'nin tamamlanmasının ve verilerinin açıklanmasının ardından, genlerin temel bileşeni olan proteinlere ait bilgiler artmadıkça genetik bilginin tek başına yeterli olamayacağı ortaya konmuştur. Genom projesi sonrasında proteinlerle ilgili çalışmalar DNA ve RNA çalışmaları içerisinde ağırlık kazanarak "proteomiks" alanı doğmuştur (37). Bu nedenledir ki İnsan Genom Projesi'nin ardından, insan genlerine ait protein ürünlerinin tanımlanmasını ve ifade analizlerini kapsayan "İnsan Proteom Projesi" ile ilgili çalışmalar da başlamıştır (37).

Proteomiks, proteinlerin tanımlanmasını ve miktarının belirlenmesini ile birlikte aynı zamanda proteinlerin yerleşimlerini, değişimlerini, aktivitelerini ve nihayetinde işlevlerini belirlenmesi ve belirli bir organizmanın genomunda kodlanan tüm proteinlerin envanterini çıkararak, bu proteinlerin diğer protein ve makro moleküllerle etkileşimlerin haritalarını ortaya çıkarmak için kullanılan bir dizi anahtar teknolojidir (29,38,39). Metodolojik olarak, proteomiks canlı sistemlerdeki proteinlerin yüksek verimli ayrılması ve analizi yöntemlerine dayanmaktadır. İdeal olarak, bu yöntemlerin kullanımı, canlı sistemlerdeki proteinlerin protein ekspresyon seviyesi, translasyon sonrası modifikasyonlar, protein-protein etkileşimleri gibi biyokimyasal özellikleri hakkında kapsamlı bilgi sağlamaktadır (38,40).

Proteomiks, genin işlevini anlamada en önemli yöntemlerden biridir, ancak genomiks ile karşılaştırıldığında çok daha karmaşıktır. Bununla birlikte, transkriptomiks deneylerden elde edilen veriler, proteomiks analizden türetilenlerle her zaman tutarlı değildir, bu da hücre proteom profilinin düzenlenmesinde translasyon sonrası mekanizmaların bir rolünü ortaya çıkarmaktadır (2,7). Ek olarak, transkript profilleri, protein taşınması, lokalizasyonu ve işlevi için çok önemli olan proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonları (fosforilasyon ve glikozasyon gibi) hakkında herhangi bir bilgi sağlamaz. Proteinler hücre içi ve hücre dışı ortama yanıt olarak sürekli değişkenlik göstermektedir ve protein ekspresyonunun bu dinamik

doğası, onları karmaşık hücre davranışını ve işlevini açıklamak için transkriptomdan daha uygun hale getirmektedir (39,41). Bununla birlikte, genomiks veya transkriptomiksin aksine, proteomiks ve ilgili teknik ve stratejiler hala büyük ölçüde geliştirilme aşamasındadır (18).

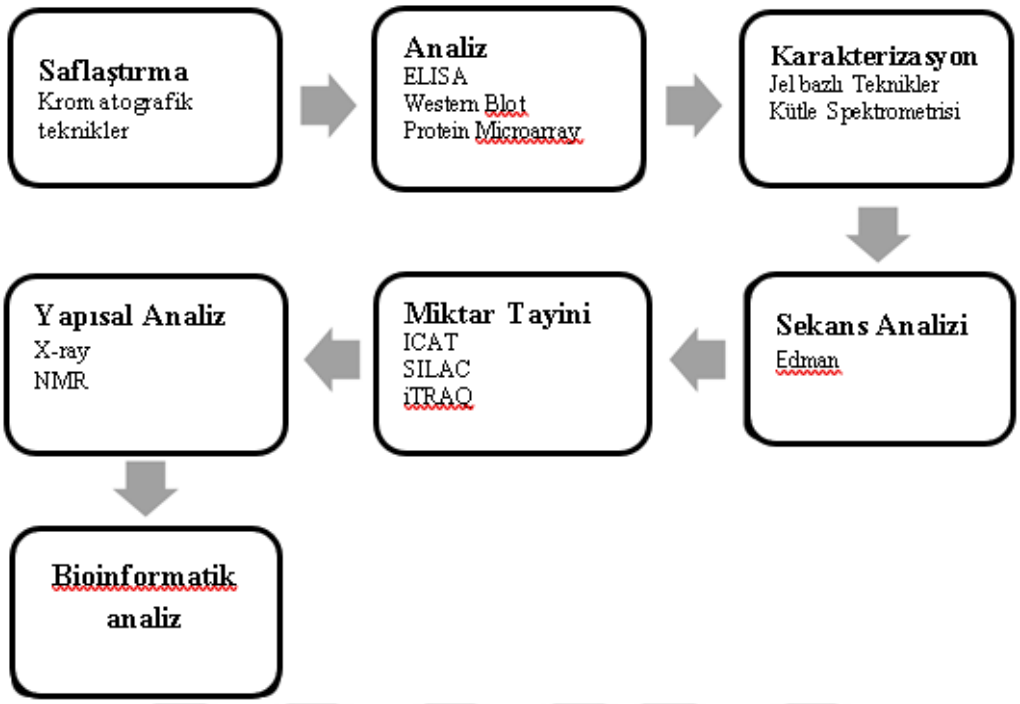
Proteomiks teknolojiye ait çalışmaların aşamaları dört ana başlıkta toplanabilir: Protein izolasyonu, proteinlerin ayrımı (elektroforetik, kromatografik vs.) ve ifade analizleri, protein tanımlaması (kütle spektrometreleri, Edman), protein etkileşimleri ve yapısal analizler (Şekil 2.5) (32). Günümüzde proteomiks çalışmaların temelini, proteinlerin iki boyutlu jel elektroforezi veya sıvı kromatografi gibi yöntemlerle ayrılmasını takiben kütle spektrometreleriyle tanımlanması ve karşılaştırmalı ifade analizleri oluşturmaktadır. Ancak son yıllarda farklı teknikler içeren yeni yaklaşımlar da geliştirilmektedir (37).

Yüksek verimli, ultra duyarlı, düşük maliyetli biyobelirteç analizi yeteneğine sahip yeni nesil mikrodiziler, büyük olasılıkla nanoteknoloji, yüzey enzim reaksiyonları, mikroakışkan ağlar ve gelişmiş veri analizi araçlarının bir kombinasyonunu içerecektir. Bu teknolojinin protein biyobelirteç keşfini ve hastalığa özgü yolakların karakterizasyonunu hızlandıracağı düşünülmektedir (42).

Günümüzde proteinlerin karmaşıklığı ve dinamik aralığını ele almak için yalnızca birkaç çözüm bulunmaktadır. Birincisi, proteomun karmaşıklığını azaltmak ve düşük miktarda bulunan proteinleri daha bol olanlardan ayırmaktır. Bu çok boyutlu ayırma yöntemleriyle gerçekleştirilebilir. Ancak, öngörülemeyen protein kayıpları ve ortaya çıkan çok sayıda fraksiyon, bu yaklaşımı zaman alıcı ve dolayısıyla çok maliyetli hale getirir. Alternatif olarak, araştırılacak proteom, spesifik bir biyolojik bölme ile başlayarak veya uygun bir numune hazırlama yöntemi (örn. Enzim ligand çipleri, işlevselleştirilmiş yüzey çipleri, sınıfa özgü antikorlar) kullanılıp karmaşıklığı azaltarak basitleştirilebilir (43).

Proteomiks analizde geleneksel olarak; iyon değişim, boyut dışlama ve afinite kromatografisi kullanılırken seçici proteinlerin analizi için enzime bağlı immünosorbent deneyi (ELISA) ve western blot kullanılabilir. Bu teknikler, birkaç ayrı proteinin analizi ile sınırlı olabilir, ancak aynı zamanda protein ekspresyon seviyesini tanımlayamayabilir. Karmaşık protein örneklerinin ayrılması için sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE), iki boyutlu jel

elektroforezi (2-DE) ve iki boyutlu diferansiyel jel elektroforezi (2D-DIGE) teknikleri kullanılmaktadır (Şekil 2.5) (7).



Şekil 2.5. Proteomiks teknolojilerin uygulama teknikleri (7).

2.5.1. Proteinlerin Saflaştırılması

Geleneksel Teknikler

Geleneksel teknikler son derece yararlı olmasına rağmen, hem teknik sınırlamalardan hem de protein karakterizasyonu için zorunlu hale gelen yüksek verime sahip değillerdir. Bu nedenle, bu geleneksel proteomiks teknolojilerin yüksek verimli formatlara uyarlanmasının yanı sıra protein işlevini ve etkileşimlerini incelemek için yeni teknolojilerin geliştirilmesine son zamanlarda ilgi duyulmaktadır (39).

Kromatografi:

İyon değişim kromatografisi (IEC): Yüzeyindeki yüklü gruplar temelinde proteinlerin saflaştırılması için çok yönlü bir araçtır. Proteinler amino asit dizilimlerinde birbirinden farklıdır; bazı amino asitler anyonik iken diğerleri katyoniktir. Fizyolojik pH'ta bir protein tarafından yüklenmiş net yüklü içerik, bu

yükler arasındaki denge ile değerlendirilir. Düşük maliyeti ve tampon koşullarında kalma kapasitesi nedeniyle oldukça değerlidir (44).

Boyut dışlama kromatografisi (SEC): SEC, proteinleri geçirgenlik temelinde farklı gözenek boyutuna sahip gözenekli bir taşıyıcı matris yoluyla ayırır; bu nedenle proteinler, moleküler boyut temelinde ayrılır (44).

Afinite kromatografisi: Protein bozunmasını, translasyon sonrası modifikasyonları ve protein-protein etkileşiminin keşfedilmesini sağlayan önemli bir protein saflaştırma yöntemidir. Afinite kromatografisinin arkasındaki temel prensip, kromatografik matrisin afinite ligandı ile saflaştırılacak proteinler arasındaki tersinir etkileşimdir (44).

ELISA: Oldukça hassas bir kantitatif ölçüm yöntemidir ve teşhis amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Test, katı yüzeydeki antijen veya antikorları kullanır ve enzimle konjuge antikorların eklenmesini kullanır ve biyolojik örnekteki antikor ve antijen konsantrasyonuyla orantılı olan enzim aktivitelerindeki dalgalanmaları ölçer (45).

Western Blot: elektroforez kullanılarak proteinlerin ayrılmasını, nitroselüloz membrana aktarılmasını ve hedef proteinin enzimle konjuge antikorlar tarafından kesin olarak tespit edilmesini içeren düşük bolluktaki proteinlerin saptanması için önemli ve güçlü bir tekniktir (46).

Gelişmiş Teknikler

Protein mikrodizi teknolojisi: Protein mikrodizi teknolojisi, uygulamalı proteom araştırmalarında proteinlerin tanımlanması, nicelendirilmesi ve fonksiyonel analizi için hızla ilerlemiştir. Multipleks analizler, proteinlerin kesin karakterizasyonunu ve karmaşık protein-protein etkileşimlerinin yanı sıra peptitleri, düşük moleküler ağırlıklı bileşikleri, oligosakaritleri veya DNA'yı da incelemede az miktarda numuneden yüksek verimli algılama yaparak analiz etmeye olanak tanır. Protein mikrodizileri üç kategoriye ayrılabilir; analitik protein mikrodizisi, fonksiyonel protein mikrodizisi ve ters fazlı protein mikrodizisi (7,42).

Jel bazlı teknolojiler:

SDS-PAGE: Proteinlerin boyutlarına göre ayrılması için yüksek çözünürlüklü bir tekniktir, bu nedenle moleküler ağırlığın yaklaştırılmasını kolaylaştırır. Proteinler, izoelektrik noktalarından farklı bir pH'a sahip bir ortamda elektrik alanıyla hareket edebilirler. Karışımdaki farklı proteinler, yükleri ve kütleleri arasındaki orana göre farklı hızlarda göç ederler. Bununla birlikte, sodyum dodesil sülfat ilavesi, proteinleri denatüre eder, bu nedenle onları kesinlikle moleküler ağırlığa göre ayırır.

Hiçbir protein ayırma tekniği SDS-PAGE'den daha yaygın olarak kullanılmamaktadır, bunun nedeni çoğunlukla basitliği, tekrarlanabilirliği ve kabul edilebilir alet ve sarf malzemesi masraflarıdır. SDS-PAGE, numunelerin saflığını kontrol etmek ve bilinmeyen proteinler için moleküler ağırlıkları tahmin etmek için kullanılabilir (42).

İki Boyutlu Poliakrilamid Jel Elektroforezi (2D-PAGE): Proteinlerin kütle ve yüklerine göre ayrılması için etkili ve güvenilir bir yöntemdir. 2D-PAGE, jel boyutuna bağlı olarak ~ 5.000 farklı proteini art arda çözebilir. Proteinler birinci boyutta yüke göre ayrılırken, ikinci boyutta kütleleri arasındaki farklılıklara göre ayrılır. 2-DE, post-translasyonel modifikasyonların, mutant proteinlerin karakterizasyonu ve metabolik yolların değerlendirilmesi için başarıyla uygulanır (47).

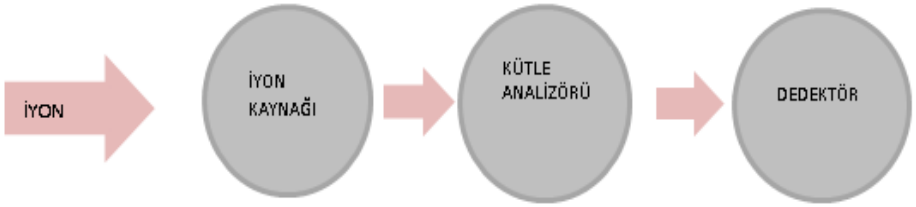
2D-DIGE: Boyayı belirli bir dalga boyunda uyararak kolayca görselleştirilebilen CyDye ile etiketlenmiş proteinleri kullanır. Cy3 ile etiketlenmiş toksik dinoflagellat Alexandrium catenella'nın hücre duvarı proteinleri 2D-DIGE aracılığıyla tanımlanmıştır (47).

Jel bazlı proteomikslerin, tekrarlanabilirlik ve dinamik aralıkta içsel sınırlamaları bulunmaktadır. Aynı laboratuvarlarda bile tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için standart çalışma prosedürlerinin dikkatlice takip edilmesi gerekmektedir. Farklı laboratuvarlarda aynı numunelerden üretilen sonuçlar, niceliksel düzeyde neredeyse karşılaştırılabilir olmamakla beraber yük kapasitesindeki sınırlamalar, kantitatif tekrar üretilebilirlik, kullanım zorlukları ve problemlerin kütle spektrometrisiyle arayüzlenmesi, jel bazlı proteomiks çalışmalarının analiz derinliğini ve kapsamını sınırlandırmaktadır (43).

2.5.2. Proteinlerin Analizleri

Kütle Spektometrisi (MS):

Kütle spektrometreleri, analit moleküllerini gaz fazındaki iyonlara dönüştüren bir iyon kaynağı, iyonize analitleri kütle/yük oranına göre ayıran bir kütle analizörü ve her bir kütle/yük değerindeki iyon sayısını kaydeden bir dedektörden oluşur (48). Kütle spektrometresi moleküllerin iyonize olduğu ve gaz fazına geçtiği iyon kaynağı, iyonların işlendiği kütle analizörü ve bir dedektörden oluşmaktadır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Kütle spektroskopisi temel kısımları

Proteomiks çalışmalarda iki farklı tür iyonlaşma kaynağı kullanılmaktadır. Kütle analizinin hassas bir şekilde yürütülebilmesi için proteinleri ve peptidleri iyonize etmek için en sık kullanılan iyonizasyon yöntemi elektrosprey iyonizasyon (ESI) ve matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon (MALDI) yöntemleridir. ESI ile solüsyondaki peptidler ve proteinler uçucu hale getirilir ve iyonize edilirken, MALDI ile lazer ışınları katı matriksi uyarır ve analiti iyonize eder (48,49).

Kütle analizörleri iyon kaynağında oluşan kütleleri kütle/yük oranına göre ayıran cihaz bileşenleridir. Proteomiks çalışmalarda çoğunlukla kullanılan analizörler kuadrapol analizörü (Q), uçuş zamanlı kütle analizörü (TOF), iyon siklotron rezonans analizörü (FTICR), iyon kapanı analizörü (IT) (doğrusal iyon kapanı (LIT) veya kuadrapol iyon kapanı (QIT)) ve bunları kombinasyonlarıdır (50).

Kütle spektrometrisi, uygulanabilir bir şekilde proteomikste çekirdek teknoloji haline gelerek karmaşık karışımlardan türetilen küresel proteom numunelerinin kalitatif ve kantitatif analizi için uygulanan ve hücresel işlevi anlamamızda çok önemli bir role sahip olan bir yöntemdir (42). Proteinlerin yüksek verimli karakterizasyonu ve tanımlanması için kullanılmaktadır ve düşük konsantrasyonlarda proteinlerin

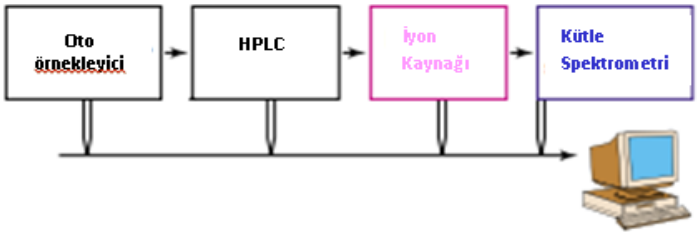
moleküler ağırlığını ve amino asit bileşimini belirlemek için kullanılabilir. MS ayrıca yüksek verimli formatlara kolayca uyarlanabilir, bu da onu protein tanımlama ve karakterizasyon için tercih edilen yöntem haline getirmiştir (39).

MS bir numunede bulunan bir veya daha fazla molekülün kütle-yük oranını ölçmek için yararlı bir analitik aracı temsil etmektedir. Bu ölçümler daha sonra genellikle söz konusu bileşenlerin tam moleküler ağırlığını hesaplamak için kullanılır. MS, bilinmeyen proteinleri moleküler ağırlıklarını belirlemek için ve seçilen moleküllerin yapısını, kimyasal özelliklerini belirlemek için kullanılabilir (42).

Peptid dizilerinin elde edilmesinden önce, proteinlerin peptidlere bölünmesi gerekir. Bunun nedeni, peptit kütlelerini ölçmek veya peptit dizilerini elde etmek için kullanılan kütle spektrometrelerinin bu ölçümleri doğrudan sağlam proteinler üzerinde gerçekleştirememesidir. Modern MS enstrümanları, nispeten karmaşık peptit karışımlarından bile muazzam miktarda veri elde edebilmesine rağmen, karışımların basitleştirilmesi, en fazla sayıda bileşenle ilgili verilerin toplanmasına izin verir (51).

Genel süreç üç adımdan oluşur: İlk aşamada moleküller, sıvı veya katı fazdaki biyomoleküller için bir zorluk oluşturan gaz fazı iyonlarına dönüştürülmelidir. İkinci adım, kütle analizörü olarak bilinen bir bölmede elektrik veya manyetik alanların varlığında kütle/yük değerleri temelinde iyonların ayrılmasını içerir. Son olarak, ayrılmış iyonlar ve belirli bir kütle/yük değerine sahip her türün miktarı ölçülür (7).

MS veya tandem kütle spektrometrisi (MS/MS) ile birlikte yüksek performanslı sıvı kromatografisinin (LC) kullanımı, yeni ilaç keşfinin çeşitli aşamalarında ve birçok çalışmada tercih edilen analitik tekniktir (52). LC-MS sistemleri, sıvı kromatografinin fiziksel ayırma gücü ile MS'in kütle analiz gücünün kombinasyonundan oluşmuş sistemlerdir. LC-MS sisteminin öğeleri arasında otomatik örnekleyici, yüksek performanslı LC sistemi, iyonizasyon kaynağı ve kütle spektrometresi bulunur (Şekil 2.7). İdeal olarak, bu öğelerin tümü tek bir bilgisayar sisteminin kontrolü altındadır.



Şekil 2.7. LC-MS sistemi temel kısımları.

Ek olarak, belirli bir proteinin amino asit dizisini belirlemek için Edman bozunması geliştirilmiştir. İzotop kodlu afinite etiketleme (ICAT), hücre kültüründe amino asitlerle stabil izotop etiketleme (SILAC) ve göreceli ve mutlak niceleme (iTRAQ) teknikleri için izobarik etiket, kantitatif proteomiks için yakın zamanda geliştirilmiştir. X-ışını kristalografisi ve nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi, biyolojik işlevini anlamaya yardımcı olabilecek üç boyutlu protein yapısı sağlayan iki ana yüksek verimli tekniktir (53,54).

Yüksek verimli teknolojilerin desteğiyle, büyük miktarda proteomiks verisi toplanır. Biyoinformatik veritabanları, muazzam miktarda veriyi ve bunların depolanmasını işlemek için oluşturulmuştur. Üç boyutlu yapı tahmini, protein alanı ve motif analizi, protein-protein etkileşiminin hızlı analizi ve MS veri analizi için çeşitli biyoinformatik araçlar geliştirilmiştir. Proteom analizi, hücrenin yapısal ve fonksiyonel bilgilerinin yanı sıra hücrenin çeşitli stres türlerine ve ilaçlara karşı yanıt mekanizmasının tek veya çoklu proteomiks teknikler kullanılarak tam olarak oluşturulmasını sağlar (7).

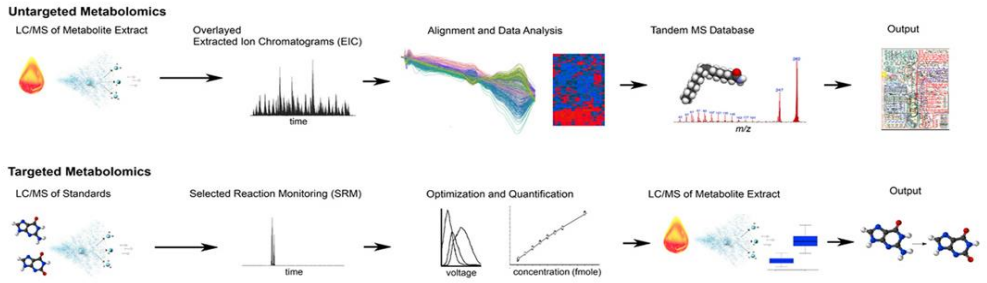
2.6. Metabolomiks

Metabolomiks, hücrelerde, dokuda ve vücut sıvılarında bulunan küçük moleküllerin ölçülmesi ve karşılaştırılmasını kapsayan analitik bir profilleme tekniğidir. Kimyasal kimlikler ve bolluk için hesaplama yöntemlerine sahip mevcut metabolomiks teknolojiler, minimum miktarlarda biyolojik numuneden yüzlerce ila binlerce metabolitin eşzamanlı ölçümüne izin verir (34). Hastalık araştırmalarında güçlü bir araç haline gelen metabolomik, özellikle hastalıkları teşhis etmek, izlemek veya tahmin etmek için kullanılabilen, ölçülebilir biyolojik okumalar olan biyobelirteç keşfinde umut vaat etmektedirler (31). Metabolom, cinsiyet, yaş ve hastalık gibi çevresel değişkenlerden anlık olarak etkilenir (32). Glukoz diyabet hastalığının

biyobelirteci, kreatinin ise böbrek fonksiyonlarını ölçmede biyobelirteç olarak kullanılan metabolitlerdendir. Sağlık alanında amaç hastalıkların tespiti ve tedavisinde kullanılabilecek yeni biyobelirteçlerin tespit edilmesidir (32).

Transkriptomiks veya proteomiks gibi tek bir molekül sınıfına odaklanan sistem biyolojisi yaklaşımları, hastalığın biyolojik mekanizmalarının önemli ancak sınırlı şekilde anlaşılmasını sağlayabilmektedir. Metabolomiks; transkriptomiks, proteomiks ve genomiks tarafından doğrudan çıkarılamayan molekülleri tanımlamak için kullanılan geleneksel omiks teknikleri tamamlamaktadır (55,56). Sonuç olarak, metabolomiks yeni tanısal ve prognostik hastalık biyobelirteçlerinin keşfine ve karmaşık hastalıkların patolojik mekanizmalarının anlaşılmasına yönelik bütünsel bir yaklaşım sunmaktadır (19,31,57).

Biyolojik sistemlerde önemli bir role sahip olan ve hastalık fenotiplerini anlamaya yardımcı olan metabolitlerin analizi çoğunlukla kan, dışkı, hücreler veya bitkisel özler gibi karmaşık matrislerde gerçekleştirilir. Metabolitler; lipidler, amino asitler, peptidler, nükleik asitler, organik asitler, vitaminler, tioller ve karbonhidratlar dahil olmak üzere çeşitli düşük moleküler ağırlıklı yapılar grubunu temsil eder ve bu da çeşitli bileşiklerin hızlı ve aynı anda belirlenmesi için yeterli numune hazırlama ve uygun analitik teknikleri gerekli kılmaktadır (31). Metabolomiks bir profil oluşturmak için, yüksek alan NMR ve MS gibi spektroskopik ve spektrometrik teknikler metabolitlerin analizini sağlayan dedeksiyon tekniklerdir. LC, gaz kromatografisi (GC), kapiler elektroforez (CE), 2D kromatografi gibi teknikler metabolitlerin ayrımını sağlayan metabolit ayrım tekniklerdir. Metabolitlerin ve ilgili metabolik yolların ayrılmasını, saptanmasını, karakterizasyonunu ve miktar tayini bu yöntemlerle mümkün hale gelmektedir (31,58,59).



Şekil 2.8. Hedeflenmiş ve hedeflenmemiş metabolomik çalışmaların şeması (60).

Metabolomiks çalışmalar, en genel anlamıyla metabolit profilleme ve hedeflenmiş metabolomiks olmak üzere 2 ana başlığa ayrılırlar (Şekil 2.8). Hedeflenmiş metabolomiks yaklaşımlar, biyolojik olarak ilgili metabolitlerin bilindiği hipotez testidir. Yüksek özgüllük, hassasiyet ve doğruluk sağlamakta ve hastalıkların anlaşılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Benzer işlevlere sahip olan veya benzer bir metabolit sınıfında yer alan az sayıdaki spesifik metabolitlere odaklanmaktadır (34,61). Örneğin diyabetle ilgili yapılan bir çalışmada, hastanın glikoz yüklemesine verdiği yanıtı araştırmak için hedeflenen metabolomiks yöntemler kullanılmış ve hastalardaki insülin yanıtını belirlemek için glikoz alımından sonra spesifik plazma metabolitlerinin seviyeleri ölçülmüştür (60). Hedeflenen çalışma için başka analitik yöntemler mevcut olsa da, MS ve NMR yöntemleri, hedeflenen metabolomik araştırmalarında geniş çapta benimsenmiştir, çünkü bunlar üstün analitik özgüllük, tekrar üretilebilirlik ve doğru ölçümleme sunarlar (34).

Hedeflenmemiş çalışmalar veya metabolik profilleme, kapsamı küreseldir ve biyolojik numunelerden olabildiğince çok metabolitin -yanlılık olmaksızın- eşzamanlı olarak ölçülmesini amaçlamaktadır. Aslında, çalışmaya dahil edilen vakalar ve kontroller arasında metabolik farklılıklar vardır, ancak belirli farklılıklar bilinmemektedir. Klinik olarak metabolik profilleme uygulandığında genellikle büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır (60,61).

Yakın gelecekte hedeflenmemiş metabolomiks çalışmalar sonucu elde edilen bilgi hedeflenmiş çalışmalar ile valide edilerek metabolom düzeyinde farklı hastalıklar için erken tanı ve süreç inceleme amacıyla kullanılabilecek çok sayıda yeni biyobelirteç klinik uygulamalarda kendine yer bulacaktır (32).

2.6.1. Ayırma Teknikleri

GC: Metabolomiks teknolojide en sık kullanılan tekniklerden biridir. GC ayrım kapasitesi yüksek bir tekniktir ancak uçucu metabolitlerin ayrımınında daha başarılı bir tekniktir ve dolayısıyla uçucu olmayan moleküller için türevlendirme gerekebilmektedir. MS ile kombine vaziyette kullanılır. GC-MS, metabolomik alanında kullanılan en verimli tekniklerden biridir. Yüksek ayırma kabiliyetine, hassasiyete ve tekrarlanabilirliğe sahiptir. Yüksek kromatografik ayrım kapasitesi elde edilebilir ancak sadece düşük moleküler ağırlığa sahip uçucu bileşikleri tanımlamak

için kullanılabilir (62). Veri tabanı oldukça geniştir ve bu da analizi daha basit ve daha hızlı hale getirir (63).

GC-MS tabanlı metabolomiks, küçük asitler, alkoller, hidroksil asitler, amino asitler, şekerler, yağ asitleri, steroller, katekolaminler, ilaçlar dahil olmak üzere küçük moleküler metabolitlerin (<650 dalton) tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için kullanılmaktadır. Bu bileşikleri gaz kromatografisi için yeterince uçucu hale getirmek amacıyla kimyasal türevlendirme kullanılmaktadır (64).

LC: Hem hedeflenen hem de hedeflenmeyen analizler için kullanılabilen evrensel bir ayırma tekniğidir. GC'ye göre kromatografik ayrım kapasitesi düşüktür. Ancak daha fazla sayıda metabolitin ayrımına olanak sağlamaktadır (62).

CE: Çok çeşitli kimyasal bileşiklerin yüksek çözünürlüklü ayrılmasını sağlayabilen analitik bir ayırma tekniğidir. LC ve GC' ye göre daha fazla sayıda metabolitin analizine imkan sağlamaktadır (65). Özellikle polar ve yüklü bileşiklerin ayrılması için uygundur. Ayırma verimliliği açısından LC'den daha güçlü bir tekniktir ve analiz için gereken numune miktarı azdır. Ayrıca, çok düşük organik solvent tüketimi (hatta hiç olmaması), az miktarda reaktife ihtiyaç duyulması ve daha pahalı LC kolonları yerine kılcal damarların kullanılması nedeniyle maliyeti LC'den daha düşüktür (65).

2.6.2. Tayin Yöntemleri

NMR: Moleküllerin yapısı ve dinamikleri hakkında bilgi sağlamak için manyetik bir alandaki kimyasal olarak farklı atomik çekirdekler tarafından radyo frekansı uyaranlarına verilen tepkileri ölçen yaygın bir metabolomik yöntemdir NMR spektroskopisi moleküler hakkında ayrıntılı bilgi sağlayabilir. karmaşık karışımlarda bulunan bileşiklerin yapısı ve bir numunedeki çok çeşitli küçük moleküllü metabolitler aynı anda tespit edilebilir (34).

NMR, çok az numune hazırlığı gerektirdiğinden veya hiç gerektirmediğinden çok bileşenli karışımların analizi için önde gelen yöntemlerden biri olarak bilinir; hızlıdır, tahribatsızdır ve invaziv değildir; ve yüksek oranda tekrarlanabilir sonuçlar sağlar (66).

NMR tekniği genellikle bir hidrojen spektrumu (^{1}H NMR), bir karbon spektrumu (^{13}C NMR) veya bir fosfor spektrumu (^{31}P NMR) kullanır ve bunlardan en yaygın olarak ^{1}H NMR kullanılır (67)

MS: Kütle spektrometresi tabanlı metabolomik yaklaşımlar, binlerce metabolit özelliğinin aynı anda saptanmasını ve miktarının belirlenmesini sağlayabilir (68). MS, tek bir ölçümde yüzlerce metabolitin saptanması, miktarının belirlenmesi ve yapı aydınlatması için doğası gereği oldukça hassas bir yöntemdir (69).

Metabolomiks, karmaşık karışımlarda çok sayıda bileşiği kapsamlı bir şekilde tanımlamayı ve ölçmeyi amaçladığından, hedefleri standart analitik kimya için bir sorundur. Bu nedenle her özelliğin kütle-yük oranı ölçüldüğü ve yapısal karakterizasyonunun yapıldığı kütle spektrometrisi NMR bazlı metabolomiklere bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır, yüksek seçicilik ve hassasiyet sunar ve metabolitleri hem kalitatif hem de kantitatif bir şekilde değerlendirme potansiyeline sahiptir (Tablo 2.1) (31,34). Sonuç olarak, MS bazlı metabolomiksler/lipidomiksler, hem biyoakışkanlarda veya dokudaki hastalıkla ilişkili metabolitlerin tanımlanması için yararlı bir yaklaşım sağlar hem de metabolitlerden üretilen hastalık veya tedaviyle ilişkili moleküler kalıpların sınıflandırılmasını ve/veya karakterizasyonunu kapsar (35).

Tablo 2.1. Metabolomiks teknolojide sık kullanılan yöntemlerin karşılaştırması (70).

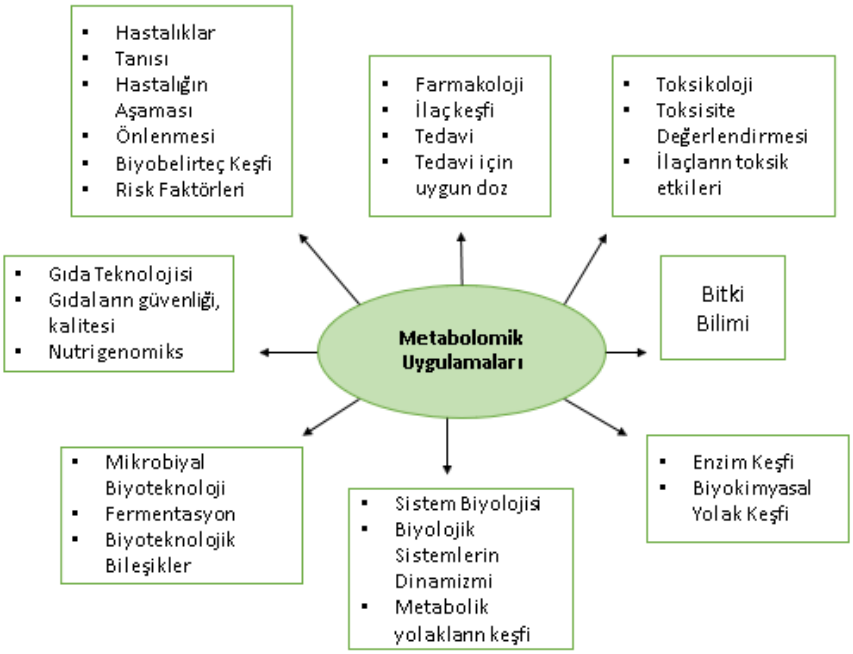
Teknik	Kullanım	Özellikler
LC-MS	a, b, c	Yüksek hassasiyet, uçucu olmayan metabolitler, pahalı
GC-MS	a, c	Yüksek hassasiyet, uçucu bileşikler, ucuz
NMR	b, d	Bol miktarda metabolit, tekrarlanabilir, düşük hassasiyet
MS	a, b, c, d	Yüksek hassasiyet, diğer tekniklerle birlikte kullanım

a: metabolit hedeflenmiş analiz, b: metabolit profilleme, c: metabolomik, d:metabolik akış analizi.

2.6.3. Uygulama Alanları

Metabolomiks ilk olarak toksikoloji ve farmakoloji, doğuştan gelen metabolik bozukluklar ve beslenme çalışmalarına uygulanmıştır. Şu anda farklı patolojik

durumlarını karakterize etmek için metabolomiklerin uygulanmasına büyük ilgi vardır. Şu anda, metabolomiks kanser, diyabet, otoimmün ve koroner hastalıklar gibi çeşitli hastalıkları araştırmak, bunların teşhisini ve önlenmesini sağlamak, iyileştirmek ve daha iyi tedavi stratejileri tasarlamak için uygulanmaktadır. Ayrıca metabolomiks, mikrobiyal biyoteknoloji, gıda teknolojisi, farmakoloji, toksikoloji, enzim keşfi, sistem biyolojisi ve bitki biyoteknolojisi dahil olmak üzere çok çeşitli uygulamalarda değerli araçlar sağlayabilmektedir (Şekil 2.9) (34,66,70–72).



Şekil 2.9. Metabolomiks uygulamaları (70).

2.7. Aşı: Genel Kavramlar

Aşılar patojenlere maruziyet sonucunda oluşabilecek hastalık ya da enfeksiyonlara karşı korunma amacıyla immün cevabı indükleyen biyolojik ürünlerdir. Aşılar, patojenik bir enfeksiyonun sonuçları olan hastalık semptomlarını önlemeyi amaçlar (73). Aşılama yoluyla hastalığın önlenmesi, bulaşıcı hastalıkların yayılmasını kontrol etmenin en iyi yoludur. Aşılar her zaman hastalığın bulaşmasını önlemesede, enfekte olan canlılarda hastalığın şiddetini değiştirebilir veya duyarlı kişilere bulaşmayı azaltabilir (73).

Canlı aşılar, hastalığa neden olan virüslerin veya bakterilerin laboratuvar koşullarında zayıflatılmasıyla elde edilmektedir. Bu aşılardaki mikroorganizmalar çoğalma ve bağışıklık yanıtı oluşturma yeteneğine sahiptir. Hastalık yapıcı özellikleri ise zayıflatılmıştır. Tüberküloz aşısı, oral polio aşısı, sarı humma aşısı, rotavirüs aşısı bu tip aşılara örnek verilebilir.

İnaktive aşılar, bir hastalığa neden olan mikrobun cansız halinin kullanılmasıyla elde edilmektedir. İnaktif aşılar genellikle canlı aşılar kadar güçlü bir bağışıklık sağlamaz. Bu nedenle, hastalıklara karşı sürekli bağışıklık kazanmak için rapel dozlar gereklidir. Hepatit A aşısı bu aşılara örnek verilebilir.

m-RNA aşılar, hedeflenen mikroorganizmanın antikor oluşturan antijenik yapısının mRNA'sını içeren aşılardır. Covid-19 aşısı buna örnek verilebilr.

Alt birim, rekombinant, polisakkarit ve konjuge aşılar, mikroorganizmanın proteini, karbonhidratı veya kapsidi (mikrop etrafındaki bir kılıf) gibi belirli parçalarını kullanılmasıyla elde edilmektedir.

Toksoid aşılar, bir hastalığa neden olan mikroorganizma tarafından yapılan toksinin kullanılmasıyla elde edilmektedirler. Mikrooganizmanın hastalığa neden olan kısımlarına karşı bağışıklık oluştururlar. Difteri aşısı bu aşılara örnek verilebilir.

Aşılar temel olarak antijen, adjuvan, stabilizatör, süspansiyon sıvısı ve kouyucudan oluşmaktadır. Antijenler immünolojik cevaba sebep olan temel bileşenlerdir. Adjuvanlar, antijenle birlikte verildiğinde immün yanıtın artmasına yardımcı olan maddelerdir.

2.7.1. Aluminyum Adjuvanları

Aşılar temel olarak antijen, adjuvan, stabilizatör, süspansiyon sıvısı ve koruyucudan oluşmaktadır. Antijenler immünolojik cevaba sebep olan temel bileşenlerdir. Adjuvanlar, antijenle birlikte verildiğinde immün yanıtın artmasına yardımcı olan maddelerdir.

Aşılarda kullanılan alüminyum adjuvanlar başlıca alüminyum oksihidroksit ($Al(OH)_3$), alüminyum hidroksifosfat ($AlPO_4$) ve alum ($KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$) içerir. Alüminyum hidroksit, fizyolojik pH'da (izoelektrik nokta (pI) = 11) pozitif yüklü olan kristalli bir alüminyumoksihidroksittir. Alüminyum fosfat, fizyolojik pH'da (pI = 5–7)

negatif yüklü olan amorf bir alüminyum hidroksifosfattır. Alum çökeltilmiş aşılarda aluminyum, bazı sülfat anyonlarının yanı sıra genellikle fosfat olmak üzere tamponda kullanılan anyonları içeren bir alüminyum hidroksittir (74). Bunlar arasında adjuvan olarak en sık kullanılan kimyasal alüminyum hidroksittir (75).

Kullanılacak adjuvan dozu optimal etkiye sahip olmalıdır. Az miktarda alüminyum bileşikleri, antijenleri tamamen adsorbe edebilse de optimal adjuvan etki göstermeyebilir. Yüksek miktarda alüminyum bileşikleri ise, antijeni tamamen mineral bileşiklerle kaplayarak bağışıklığı baskılayabilir veya alüminyum bileşikleri makrofajlar için sitotoksik etki gösterebilir. Alüminyum hidroksitin, daha yüksek adsorpsiyon kapasitesi ve bazı antijenlerin nötr pH'ta daha iyi adsorpsiyonu nedeniyle alüminyum fosfattan daha güçlü bir adjuvan etkisi olduğu gösterilmiştir (76).

Alüminyum hidroksit bazlı adjuvanların ve alüminyum fosfat bazlı adjuvanların fiziksel ve kimyasal özellikleri belirgin şekilde farklıdır ve bu bağışıklık tepkilerinde farklılıklara yol açar (75). Bir çalışmada, her iki adjuvan tarafından indüklenen doğuştan gelen bağışıklık tepkisi in vitro ve in vivo olarak karşılaştırılmış ve alüminyum hidroksit ile inkübasyonun, in vitro olarak antijen işleme ve sunum yollarının aktivasyonunu spesifik olarak arttırdığı ve in vivo deneylerin, yalnızca alüminyum hidroksit ile kas içi aşılamanın nötrofilleri salgılattığı, alüminyum fosfat ile kas içi aşılamanın ise enjeksiyon bölgesine monositleri/makrofajları salgılattığı ortaya konmuştur. Bir çalışmada alüminyum fosfat bazlı adjuvanın enjeksiyondan sonra daha kolay çözündüğünü bulunmuştur. Her iki adjuvanın farklı fizikokimyasal özelliklerinden dolayı immunolojik farklılara sahip olduğu düşünülmektedir (77).

Adjuvanlar, aşı içerisine katıldığı durumlarda aşının tek başına kullanılmasına göre daha kuvvetli bağışıklık yanıt oluşturan ve etkisini güçlendiren, bağışıklık yanıtının büyüklüğünü, genişliğini ve dayanıklılığını artıran aşı bileşenleridir. Tek başlarına immunojenik etki oluşturmamaktadırlar. Özellikle zayıf immunojenik özellikteki çiçek aşısı ve sarı humma aşısı gibi protein, peptid ve DNA aşılarının (doğal bağışıklık tetikleme özellikleri zayıf olan) uygulanmasını takiben, bu maddelere karşı gelişen zayıf aktif kazanılmış bağışıklığı tetikleyerek imunojenitelerini arttırırlar (78). Aşılamanın amacı, istenmeyen yan etkilerden kaçınırken enfeksiyonlara karşı uzun süreli koruma sağlamaktır bu nedenle birlikte uygulanan bir antijene karşı adaptif bağışıklık tepkisini artırma yetenekleri açısından aşı adjuvanları kullanılmaktadır (79).

Aşı-adjuvan ilişkileriyle ilgili son zamanlardaki büyük ilerlemelere rağmen, adjuvanların etki mekanizmaları tam olarak halen bilinememektedir (78,80). Ancak, doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini aktive ettikleri bilinmektedir. Etkili bir aşı yanıtının başlatılması, lokal inflamasyon gerektirmektedir (81).

Dendritik hücreler (DC) gibi güçlü antijen sunan hücreler (APC) dahil olmak üzere dokuda yerleşik ve/veya infiltre olan bağışıklık hücreleri, aşı antijenleriyle ilk kez uygulama yerinde karşılaşır. Bu nedenle, aşı uygulama bölgesinde başlayan yerel doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinin büyüklüğü adaptif bağışıklık için önem arz etmektedir (81). Aluminyum adjuvanlar özellikle monositlere olgun bir dendritik fenotipe farklılaşmaları için güçlü bir uyarım sağlamaktadırlar. Dendritik hücreler, aşı uygulamasından sonra gözlemlenen antijen sunumunun ve işlenmesinin çoğundan sorumludur ve bu nedenle alüminyum tuzlarının yönlendirdiği immünomodülatör olaylarda çok önemli bir rol oynamaktadırlar (82). Aluminyum adjuvanlar, in vivo olarak enjeksiyon bölgesinde eozinofillerin birikmesi ile karakterize edilen bir tip 2 enflamatuar yanıtı ortaya çıkarır ve bu etkinin, aluminyumun spesifik bağışıklık tepkileri üzerindeki etkilerine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Eozinofiller, majör doku uygunluk kompleksi II (MHCII) seviyelerini ve B hücrelerinde IL-4 yoluyla sinyal iletimini arttırmakta ve erken IgM yanıtlarını teşvik etmektedir. Aluminyum adjuvanlar ayrıca monositlerin antijen sunan DC'ye dönüşümünü de indükler (83).

Aluminyum adjuvanlar başlangıçta bağışıklık kazandırma bölgesinden antijenin salınmasını yavaşlatarak ve böylece antijen sunumunu uzatarak (depo etkisi) bağışıklık tepkisini artırdığı düşünülüyordu. Bununla birlikte, bu hipotez son zamanlarda, en azından hayvan modellerinde, aşılama bölgesinin enjeksiyondan sonraki saatler içinde çıkarılması, adaptif immün yanıtı bozmadığı için çürütülmüştür (84). Aluminyum adjuvanın adjuvan aktivitesi daha ziyade, hasarlı hücreler tarafından salınan ve spesifik reseptörler tarafından tanınan ürik asit ve konakçı DNA gibi hasarla ilişkili moleküler yapıların (DAMP) salımının interlokin-1beta (IL 1β) üretimine bağlıdır (85).

DAMP'lerin aluminyum adjuvan aktivitesinde kilit bir role sahiptir ve esas olarak doğuştan gelen bağışıklığı tetiklemektedir. Yapılan bir çalışmada, nükleik asitlerin ana metaboliti ve kristalleştiğinde potansiyel bir DAMP olan ürik asidin, alum

aşılamasından sonra DC alımında ve T hücresi aktivasyonunda bir rolü olduğu öne sürülmüştür ve ölmekte olan konak hücreler tarafından salınan DNA'nın, aluminyumun adjuvan aktivitesine aracılık eden önemli bir DAMP olduğu öne sürülmüştür (86).

Bir çalışmada, alüminyum adjuvanlanmış aşının kas içine enjeksiyonunun, ilk olarak nötrofiller, ardından makrofajlar ve ardından eozinofiller ve MHCII hücreleri ile karakterize edilen steril bir inflamatuar yanıtı indüklediği görülmüştür. Enflamatuar yanıt, önceden aşılanmış farelerde eozinofillerin ve MHCII hücrelerinin daha hızlı ve daha güçlü bir şekilde toplandığı gözlemlenmiştir (87).

Alüminyum adjuvanların enjeksiyonu, hücre içeriğinin salınmasına ve enflamasyona yol açan hücre hasarına neden olur. Serbest bırakılan hücresel içerikler, örüntü tanıma reseptörlerine bağlanarak dendritik hücreleri aktive eden ürik asit, ATP ve hücresel DNA gibi moleküler tehlike sinyalleri sağlar. Alüminyum adjuvanlar ayrıca, IL-1 ve IL-18'in kaspaz-1'e bağlı salınımına yol açan nod benzeri reseptör 3 (NLRP3) enflamasomunun birleşmesini indükleyerek doğrudan dendritik hücreleri aktive edebilir (88).

Etkili bağışıklık tepkilerinin erken ortaya çıkması için kritik olan, toll benzeri reseptörler (TLR) veya retinoik asitle etkinleştirilen gen I (RIG-I) benzeri reseptörler (RLR) gibi patern tanıma reseptörlerinin (PRR) dahil edilmesiyle karakterize edilen doğuştan gelen bağışıklık sisteminin devreye girmesidir. Doğal ve adaptif bağışıklık arasında önemli bir bağlantı olan bir model tanıma reseptörleri ailesine dahil olan TLR gibi PRR veya patojenle ilişkili moleküler patern (PAMPS) gibi RLR'ler sitokinlerin ve kemokinlerin üretimine yol açar (89). Buna karşılık, bunlar APC, özellikle de DC’leri etkinleştirerek, onları antijene özgü bağışıklığın gelişimi için hazırlayan, adaptif bağışıklık yanıtının hücrelerine bir dizi sinyal başlatır. Adjuvan tarafından indüklenen doğuştan gelen yanıt, sonraki adaptif yanıtın türü ve gücü için önemlidir.

T hücreleri, bağışıklığın uyarılmasında kilit rol oynayan bir lenfosit türüdür. T hücresi farklılaşması, olgun dendritik hücreler ve yerel farklılaşma ortamı tarafından sağlanan üç moleküler sinyal tarafından etkili bir şekilde aktive edilir. İlk iki sinyal, antijen sunumu ve yardımcı uyarıcı moleküller tarafından sağlanır. Üçüncü sinyal için, alüminyumun DC'lerin IL-1b ve IL-18 üretimlerini indükleyebileceği gösterilmiştir. DC'ler daha sonra efektör T hücrelerinin farklılaşmasını destekler. Adjuvanlar, ortaya

çıkan antikor ve T lenfosit seviyelerini artıran aşı katkı maddeleridir (90). Çalışmalar, alüminyum bazlı adjuvanların, CD4+ T hücrelerinin T yardımcı hücre 2 (Th2) hücrelerine farklılaşmasını indükleyebildiğini göstermiştir (91). Bu nedenle, aşı performansını iyileştirmeye yönelik anahtar stratejilerden biri, antijen alımını kolaylaştıran doğal bağışıklığın uyarılmasını, antijen sunan hücrelerin uyarılmasını içermektedir (79,90).

NLR proteinleri, bağışıklık sisteminde yer alır. Bu proteinler bağışıklık sisteminde mikroorganizmalar yüzünden oluşan yaralanmalara, toksinlere veya istilaya karşı tepkisini Alüminyum adjuvanları, bağışıklık sisteminde yer alan NLRP3 enflamatuar aktivasyonunu uyarabilir. Çalışmalar, alüminyum adjuvanlarının NLRP3 enflamasyon aktivasyonunu indükleyebildiğini ve IL-1b ve IL-18 üretimlerini uyarabildiğini göstermiştir, bu da onların lokal inflamasyonu, APC alımını, dendritik hücre olgunlaşmasını, gelişmiş antijen alımını indükleme yeteneklerini açıklayabilir. Yapılan bir çalışmada NLRP3 olmayan farelerde, ovalbümine absorbe edilmiş alüminyumun antijene özgü antikor üretemediği gözlemlenmiştir. NLRP3 enflamasyon aktivasyonunun alüminyumun adjuvanlıktaki rolü hala tartışılmaktadır (91,92).

Alüminyum adjuvanları aşı preparasyonlarında adjuvan olarak kullanılmakla birlikte proteinleri iyi emdikleri için, saklama sırasında aşıdaki proteinlerin çökelmesini veya kabın duvarlarına yapışmasını önleyerek aşıları stabilize etmektedirler (79).

Aşı geliştirmeye rehberlik edecek bir strateji, enfeksiyon ve aşılamaya yanıt olarak meydana gelen protein değişikliklerinin daha kapsamlı bir şekilde görünümünü elde etmek üzerine odaklanmalıdır (93). Aşı gelişimi için patojenleri ve enfeksiyona ve aşılamaya karşı konağın tepkisini incelemek önemli bir uygulama alanıdır. Gelişen bir disiplin olarak, proteomiks ve metabolomik alanı yeni teknolojiler ve yöntemlerle sürekli olarak değişmektedir (93) ve patojen salgılanan veya yüzeye maruz kalan proteinlerin tanımlanması yoluyla potansiyel aşı adaylarının seçimine izin vermektedir (94).

2.8. Aşı ve Proteomiks Teknoloji

Proteomiks teknolojinin, en bol şekilde ifade edilen ve aşılanmış deneklerin serumlarıyla pozitif tepkimeye giren aday proteinleri tanımlayabilen güçlü bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır. Proteomiks çok sayıda proteini yüksek hassasiyetle hızlı bir şekilde tanımlama yeteneği, hem bakteri hem de virüsler için aşı geliştirilmesine yardımcı olmaktadır. Bakterilerin, virüslerin, mantarların ve parazitlerin yapısı ve etki tarzı arasındaki farklar, aşı antijen tanımlaması için kullanılacak çeşitli proteomiks yöntemlere ihtiyaç duyulmasına neden olmuştur (93). Bu aşamada immunoproteomiks tanımı karşımıza çıkmaktadır. *İmmünoproteomiks,* antijenik peptitleri veya proteinleri tanımlama ve ölçme ortak amacına sahip, hızla büyüyen bir yaklaşımlar koleksiyonunu tanımlamaktadır. Bu alan hızla genişlemekte ve patojenlerden, konakçı hücrelerden veya immün sinyal moleküllerinden türetilen bağışıklık ile ilgili proteinlerin ve peptitlerin tanımlanmasıyla sonuçlanan giderek daha çeşitli teknikler içermektedir. İmmün biyobelirteçler veya antijenlerle ilgili çalışmalar yeni bir çalışma alanı olmamakla birlikte aglütinasyon, ELISA veya Western blot gibi klasik yöntemler, aşılama veya hastalığa verilen immün yanıtı incelemek için uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu geleneksel tekniklerin çoğunda, protein veya peptit tanımlaması genellikle yetersiz kalmıştır. MS enstrümantasyonu dahil olmak üzere genomik ve proteomiksteki son gelişmeler, immünoproteomiks yaklaşımlarda hızlı ilerlemelerin çoğuna yol açmıştır.

İmmünoproteomiksler, hastalık ve hastalığın ilerlemesi, aşı adayları ve biyobelirteçler hakkında önemli bir bakış açısı sağlamaktadır (95). Antijen keşfine ek olarak, aşı biliminde MS'nin yaygın uygulamaları arasında, sekanslarının analizi, translasyon sonrası modifikasyonlar ve konjugasyon bölgesi tanımlamaları yoluyla rekombinant protein alt birimi ve glikokonjugat aşılarının karakterizasyonu yer alır (94).

Çeşitli aşılama tiplerinden biri olan önleyici antiviral aşılamanın amacı, uzun süreli bir immünolojik hafızayı indüklemek ve enfeksiyon sırasında hem humoral hem de hücre aracılı yanıtları hızlandırmaktır. Etkili antiviral aşılar geliştirmek için, konakçı proteomda temsil edilmeyen enfeksiyonda erken eksprese edilen yüksek derecede immünojenik ve bol miktarda epitopların belirlenmesi çok önemlidir. Proteomiks teknoloji, yeni protein epitoplarının tasarlanması, virüs yayılması için yeni

hücresel suşların oluşturulması veya aşılamaya konakçı bağışıklık sisteminin tepkisinin izlenmesi gibi antiviral aşı üretiminin tüm aşamalarında uygulanmaktadır (2).

Etkili antiviral aşının icat edilmesindeki ilerlemeyi sınırlayan ana sorun, aşı üretimi için uygun hücresel suşların mevcudiyetine ilişkin bazı eksikliklerdir. Yüksek seviyede viryonları çoğaltmak için hücre hattının güvenli ve virüs sitotoksisitesine "dirençli" olması gerekir. İki farklı konakçıdan türetilen hücre hatlarının genellikle glikosilasyon mekanizmasında, metabolizmada, enzim aktivitelerinde ve proteom profilinde varyasyonlar gösterdiğine dikkat edilmelidir (2).

Çoğu proteomiks aşı çalışmasındaki ilk adımlardan biri, patojen proteomunun ve konağın enfeksiyondan sonra immün tepkisinin küresel bir görünümünü elde etmektir. Tarihsel olarak bu, patojenin proteomunun 2D jel elektroforezi ve ardından patojenle enfekte olmuş bireylerin serumunda bulunan antikorlar kullanılarak bir Western blot kullanılarak yapılmıştır (93). Antikorlar blottaki proteinlerle reaksiyona girer ve bu proteinler daha sonra saflaştırılır veya MS analizi için sindirilir. MS'in yaygın kullanımı, lekelerdeki proteinlerin hızlı bir şekilde yüksek hassasiyette tanımlanmasına izin vermektedir. Örneğin, üreazın bakteriyel patojen Helicobacter pylori'de baskın bir immünojenik protein olduğunu keşfetmek için 2D jeller ve MS kullanılmıştır. McAtee ve arkadaşları, enfekte hastaların serumlarıyla reaksiyona giren 2D protein noktalarını sindirerek bunları matriks ile desteklenmiş MALDI-TOF-MS ile analiz etmiş ve seropozitif adaylar olarak üreaz dahil 20 protein belirlemişlerdir (93).

MS tabanlı proteomiks en yaygın kullanılan yaklaşımdır ve T hücre profili bağlamında MHC ve ayrıca B hücresi aktivitesini tetikleyen antijenik belirleyicileri tanımlamak çok önemlidir (96). MS yöntemi önceden tanımlanmış proteinlerin kullanımıyla sınırlı olmadığından farklı alanlarda protein keşifleri için tercih edilen yöntem haline gelmiştir. Düşük örnek girişi, yüksek çıktı ve güçlü proteomiks derinlik, bu yöntemi farklı klinik ve bilimsel ortamlarda protein biyobelirteçlerinin tanımlanmasını amaçlayan büyük tanısal çalışmalar için çekici kılmaktadır (96).

Karşılaştırmalı proteomiks analizler, mevcut aşıları daha etkili hale getirmek ve potansiyel olarak evrensel aşılar oluşturulmasına olanak sağlar. Karşılaştırmalı çalışmalar, Mycobacterium tuberculosis ile mevcut tek tüberküloz aşısında kullanılan

bir inek tüberküloz suşu olan Mycobacterium bovis'in proteomları arasındaki farklılıkları tanımlamıştır. Benzer şekilde, B. anthracis'in virülan ve avirülan suşları da dahil olmak üzere Bacillus cereus grubunun spor proteinlerinin bir karşılaştırması, yüksek derecede immünojenik 15 şarbon aşısı adayı tanımlamıştır. İki Bordetella pertussis suşunun karşılaştırılması, mevcut anti boğmaca aşısında temsil edilmeyen 15 protein tespit etmiştir (93).

2.9. Aşı ve Metabolomiks Teknoloji

Metabolomiks, klasik metabolik hastalıklarla olan ilişkisine ek olarak, lökositler ürettikçe ve doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık için önemli olan anahtar metabolitlerden etkilendikçe, önemli bir çalışma alanı olan immünometabolizmanın ortaya çıkmasında kilit rol oynamıştır.

Plazma veya serum metabolomiksleri, enfekte bir hastada metabolomun profilini çıkarabilir, spesifik bir patojenden etkilenen çeşitli organ sistemlerindeki çeşitli hücre tiplerinin sistemik tepkilerini yansıtır ve böylece potansiyel enfeksiyon biyobelirteçlerini belirleyebilir buna bağlı olarak daha fazla metabolomiks keşfi ve hedeflenen metabolitlerin doğrulanması, bulaşıcı hastalıkların yeni biyobelirteçlerini ortaya çıkarmayı ve aşılamayı başarılı bir şekilde yapmayı sağlayabilir. Enfeksiyon sırasında, patojen-konakçı arasında karşılıklı etkileşimler sonucunda bazı metabolik değişiklikler meydana gelmektedir. Ökaryotik konakçılarda bakteriyel veya viral patojenler biyoenerjetik ve biyosentetik gereksinimlerini karşılamak için besinler ve diğer metabolitler için rekabet etmektedir. Bu nedenle mikroorganizmaların çoğu konakçıdaki spesifik anabolik yolları güçlendirmektedir. Bu metabolik değişikliklerin karakterizasyonu tanısal, prognostik ve terapötik uygulamalar alanında aydınlatıcı bir yol sunmaktadır (56,97).

Yapılan bir çalışmada aşı adayı tüberküloz aşı adayı MTBVAC ile onun ebeveyn Mycobacterium tuberculosis suşu arasındaki hücre içi metabolitlerdeki farklılıkları araştırılmıştır. Bazı farklı metabolitlerin M. tuberculosis'e özgü olabileceğini ve bu patojenin virülansıyla ilişkili olabileceğini varsayılmış ve vücut sıvılarında tüberkülozun biyolojik belirteçleri olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, MTBVAC'ye özgü metabolitlerin, klinik çalışmalarda aşılanmış bireyleri enfekte kişilerden ayırmak için kullanılabileceği düşünülmektedir (55). Omiks

teknolojilerinin ve biyoinformatik araçların ortaya çıkışı, son zamanlarda insan aşılarının ve adjuvanlarının moleküler ve hücresel etkilerini tanımlamak için kullanılmıştır. Metabolomiksler, özellikle ilaç keşfi ve hassas tıpta olmak üzere çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmıştır ancak aşı araştırmalarında uygulanması büyük ölçüde keşfedilmemiştir.

Yang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, metabolomikslerin ve proteomikslerin (MS tabanlı) bir kombinasyonu, bir DNA aşısı ile bağışıklaştırıldıktan sonra farelerin serumlarında lipit profillerinde ve protein kompozisyonunda değişiklikler ortaya çıkarırken (98), McClenathan ve arkadaşları NMR bazlı metabolomikslerin kullanılması ile bir bireyin çiçek aşısı uygulamasından önce ve sonra metabolit profillerinde farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur (99).

Aluminyum adjuvanları, aşılarda yıllardır kullanılan adjuvan maddedir ancak aluminyumun etki mekanizması hakkında kesin bir bilgiye büyük ölçüde ulaşılamamıştır. Aluminyum adjuvanının aşılamadan 6, 24, 72 ve 168 saat sonra fare serumu üzerindeki etkilerini izlemek için LC-MS tabanlı metabolik ve lipid profili uygulanmış ve aşı uygulaması sonrası farelerin serumlarında lipit seviyeleri ile ilgili değişiklikler gözlenmiştir. Hatta lipidlerin aluminyum uygulamasından en çok etkilenen metabolitler olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmanın alüminyumun etki mekanizmasına yeni bakış açıları sağlayabileceği düşünülmektedir (100).

Metabolik profillemenin en eski uygulamalarından biri olan ve yine Yang ve arkadaşlarının 2008'de yaptığı çalışmada, hepatit B virüsü yüzey antijenini kodlayan bir plazmid ile farelerde immünizasyona metabolit yanıtları üzerine yapılan bir fare çalışmasında, aşılama grubunda birkaç metabolitin serum seviyelerinin artmasıyla sfingolipid metabolizmasında değişiklikler olduğu ortaya konmuştur (98).

Farelerin canlı bir rekombinant kuduz aşısı (TriGAS) ile bağışıklaştırılması, ardından kuduz virüsü ile enfekte farelerin metabolik profilleri incelenmiştir. Enfekte olan farelerin enerji metabolitlerinde, nörotransmiterlerinde ve viral RNA'nın replikasyon seviyeleri ile ilişkili olan stres hormonlarında çok sayıda değişiklik gözlemlenmiştir. TriGAS ile bağışıklanan farelerde bu etkilerin hiçbiri gözlemlenmezken bu farelerde karnitin ve açilkarnitin ekspresyonunun yukarı regülasyonu gözlemlendi. Bu durum bu bileşiklerin nöroprotektif olduğunu düşündürmüştür. Enfekte farelerde görülen en çarpıcı değişiklik, beyin ve serum

kortikosteron seviyelerinde artış olmuştur. Bu araştırma sonucunda, kuduz virüsü ile enfeksiyon durumunda kortikosteron biyosentezini inhibe etmek için uygulanan farmakolojik müdahalelerin, kuduz virüsünün patojenitesini önemli ölçüde azaltarak beyin homeostazını korumaya yardımcı olduğunu böylece hastalık mortalitesini azalttığını göstermektedir (101).

2.10. Hücre Kültürü Çalışmaları

Hücre kültürü, belirli bir dokudan tek tek hücrelerin toplanmasını ve hücrelerin, insan vücudunun iç ortamını taklit eden zengin bir ortamla kaplı plastik veya cam bir şişede vücut sıcaklığında (37 °C) bir inkübatörde tutulmasını içermektedir (102). Farklı hücre kültür ortamlarının geliştirilmesi ile hücre çoğalması, farklılaşması, büyüme faktörlerinin tanımlanması, çeşitli hücre tiplerinin normal fonksiyonlarının altında yatan mekanizmaların anlaşılması, hücre-hücre veya hücre-matriks etkileşimlerinin ve oluşturulan hastalık modellerinde biyolojik bileşenlerin (aşı ilaç, terapötik proteinler vd.) etkilerinin belirlenmesi gibi birçok deneysel çalışmaların yapılması mümkün olabilmektedir (103). Ayrıca hücre kültürü sistemleri, canlı hayvan testlerine alternatif olarak büyük potansiyele sahiptir. Birçok hastalık için aşılar, varlıklarını hücre kültürünün gelişmesine borçludur (102,104).

Tarihsel sürece bakıldığında; ilk çalışma 1885 yılında Roux tarafından embriyonik civciv hücrelerinin vücut dışında serum çözeltisi içinde canlı kalmaları üzerinedir (105).

Hücre kültürü, embriyoloji, gelişim biyolojisi ve daha sonra kanser araştırmalarından geliştirilmiştir. Yirminci yüzyılın başında Ross Harrison (1870–1959) ve Leo Loeb (1869-1959) tarafından gerçekleştirilen ilk deneylerde, sıvı ortam olarak kan pıhtıları, agar veya tuz çözeltileri kullanılarak test tüplerinde canlı tutulan doku veya organ parçaları kullanılmıştır (102).

Hücrelerin optimum şekilde büyümesi için temel çevresel gereksinimler şunlardır: kontrollü sıcaklık, hücre bağlanması için substrat ve doğru pH ve ozmolaliteyi koruyan uygun büyüme ortamı ve inkübatör. Hücre kültüründeki en önemli ve can alıcı adım, in vitro yetiştirme için uygun büyüme ortamının seçilmesidir (102).

Hücre bazlı üretim teknolojisi, üreticilerin pazar ihtiyaçlarına daha hızlı ve daha kısa üretim döngülerinde yanıt vermesine olanak tanır ve aynı zamanda daha fazla dalgalanma kapasitesi, daha fazla proses kontrolü ve daha güvenilir ve iyi karakterize edilmiş bir ürün sağlar (106). Yeni ilaçların etkinliğinin ve toksisitesinin değerlendirilmesi, aşı ve biyofarmasötik üretimi ve yardımcı üreme teknolojisi dahil olmak üzere çeşitli alanlarda hücre kültürü tabanlı pratik teknolojiler geliştirilmiştir (106).

İlaçların hayvanlar üzerinde test edilmesinin klinik testlerde yetersiz olduğu ve hücre kültürlerinin ilaç adaylarının spesifik metabolizmasını anlamak için bir alternatif olabileceği bilinmektedir. Günümüzde hücre fenotip analizi ve hastalık alt tipinin moleküler sınıflandırması ve ilaç testi çalışmaları, fenotiplerin belirteçlerinin veya ilaç hedeflerinin keşfine odaklanmaktadır. Hücre kültürlerinin metabolik analizi, hücre testi için şu anda kullanılan yöntemlere göre birçok potansiyel uygulamaya ve avantaja sahiptir (107).

Proteomiks de hücre kültürü alanında uygulamaları artık yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, hücre kültürü için proteomiks kullanımı, numune hazırlama, MS ve biyoinformatik optimizasyonu gibi yöntemlerdeki gelişmelerle de ilerleme göstermiştir (108).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar

Tez kapsamında kullanılan kimyasallar, gereçler, cihazlar ve yazılımlar Tablo 3.1-3.6'da verilmiştir.

Tablo 3.1. Hücre kültürü çalışmasında kullanılan malzemeler

Kimyasal	Firma
RPMI 1640	Biological Industries
Fetal Sığır Serum	Advansta
Fosfat Tamponlu Salin Çözeltisi	Advansta
L-glutamin	Advansta
Tripan mavisi	InvivoGen
Metanol	InvivoGen
Alhydrogel® adjuvan 2%	InvivoGen
Adju-Phos® adjuvan	InvivoGen
96 kuyucuklu plaka	Nest
6 kuycuklu plaka	Nest
T25 ve T75 flask	Orange Scientific
Serolojik pipetler	Orange Scientific
Santrifüj Tüpleri	Sarstedt
FACS flow^{TM}, Cell wash^{TM}	BD Biosciences
propidyum iyodür	Sigma-Aldrich
lumogallion	TCI Chemicals
SDS/DMF	

Tablo 3.2 Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan antikorlar.

Hedef	Klon	Florokrom	Üretici Firma	Konsantrasyon
HLA-DR	L243	PERCP	Sony	1:100
CD11b	ICRF44	APC-Cy7	BD	1:100
CD86	IT2.2	Pasific Blue	Biolegend	1:100
CD33	WM53	PE-Cy7	Sony	1:100

Tablo 3.3. Kimyasal maddeler

Kimyasal	Firma
Aseton (GC saflıkta)	Merck
Asetonitril (LC-MS saflıkta)	Merck
Doymuş alkan serisi (C_8-C_{40})	Sigma Aldrich
Diklorometan	Merck
Ditiotreitol	Merck
Formik asit (LC-MS saflıkta)	Merck
Helyum gazı (%99,999)	Ankara Gaz
İyodoasetamit	Merck
Kloroform	Sigma Aldrich
Metoksiamin hidroklorür	Sigma Aldrich
MSTFA + %1 TMCS	Sigma Aldrich
Piridin (GC saflıkta)	Sigma Aldrich

Tablo 3.4. Kullanılan cihazlar

Cihaz	Firma
Derin donduruculu buzdolabı (-20 °C)	Arçelik
Derin dondurucu (-80 °C)	Nüve
GC-MS	Shimadzu (QP2010 Ultra)
Hassas Terazi	Mettler Toledo (AG285)
Kuru blok ısıtıcı	Allsheng MS-100
Milli-Q su cihazı	Barnstead NanoPure Diamond
qTOF-MS	Agilent (6530)
Santrifüj (1)	Hermle (Z233 M-2)
Santrifüj (2)	Hettich (EBA 20)
Ultrasonik banyo	Bandelin Sonorex (RK 514 BH)
UPLC	Agilent (1260 Infinity)
Vakum santrifüj	Labconco CentriVap Concentrator
Vorteks karıştırıcı	Ika Vortex 3
Sıvı azot tankı	MVE Lab10

Tablo 3.5. Cam ve sarf malzemeler

Sarf Malzeme	Firma
Balon joje ve beher (çeşitli hacimlerde)	Isolab
C18 kolon (2.1 x 100 mm, 2.7 µm)	Agilent (Poroshell HPH)
GC kolon (30 m +10 m ön kolon, 0,25 mm, 0,25 µm)	Agilent (DB5-MS)
İnsert (200 µL)	Agilent
Mezür (çeşitli hacimlerde)	Isolab
Otomatik mikropipet (0,1-10, 10-100, 100-1000 µL)	Eppendorf
Santrifüj tüpü (1,5 ve 2 mL)	Isolab
Şırınga	Hamilton
Vial (2 mL) ve vida kapak	Agilent

Tablo 3.6. Yazılımlar

Yazılım	Firma
ABF Converter	Reifycs
Excel 2020	Microsoft
GraphPad Prism (ver. 7.04)	GraphPad Software
MS-DIAL (ver. 4.92)	RIKEN
SIMCA (ver. 14.1)	Umetrics AB
Metaboanalyst (ver. 5.0)	https://www.metaboanalyst.ca

3.2. Çözeltilerin Hazırlanması

Tam RPMI besiyeri: RPMI 1640 besiyeri (1 mM L-glutamin içeren) final derişimi %10 olacak şekilde ısıyla inaktive edilmiş fetal bovin serumu ve son derişimi %1 olacak şekilde penisilin/streptomisin eklenerek tam RPMI besiyeri hazırlanmıştır. Besiyeri 2-8℃' de en fazla 4 hafta saklanmıştır.

Fosfat Tamponlu Salin Çözeltisi (PBS) (1x): Toz formundaki hazır karışım 500 mL distile suda (dH_2O) çözülerek 150 mM sodyum klorür ve 10 mM sodyum fosfat içeren, 7.2 pH değerindeki 1x PBS çözeltisi elde edilir. Otoklavlanarak sterilize edilir ve 2-8℃ sıcaklıkta saklanır.

Tripan Mavisi: 1x PBS ile tripan mavisi tozunun %4' lük (g/mL) çözeltisi hazırlanmıştır.

3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT): 1xPBS ile toz MTT 5 mg/mL derişimde çözülür. Taze hazırlanır. 2-8℃ sıcaklıkta, ışıktan korunarak saklanmıştır.

2.5 mM Propidyum İyodür (PI): Toz propidium iyodürün 5 mg'ı dH2O'da çözündürülmüş ve 2-8℃ sıcaklıkta, ışıktan korunarak saklanmıştır.

Lumogallion: 1xPBS ile toz lumogallion 0.2 mg/mL (0.58 mM) derişimde çözülür. -20℃ sıcaklıkta, ışıktan korunarak saklanır.

%0.1 Formik Asit (FA) çözeltisi: MS saflıkta bir miktar su içeren bir litrelik balon jojeye derişik FA (%98) çözeltisinden 1 mL aktarılmış ve bir litreye MS saflıkta su ile seyreltilmiştir.

%0.1 FA içeren asetonitril çözeltisi: MS saflıkta bir miktar asetonitril içeren bir litrelik balon jojeye derişik FA (%98) çözeltisinden 1 mL aktarılmış ve bir litreye LC-MS saflıkta asetonitril ile seyreltilmiştir.

%0.1 FA ve 10 mM amonyum format (AF) içeren su:asetonitril (6:4, h/h) çözeltisi: MS saflıkta 400 mL asetonitril ile bir miktar su bulunan bir litrelik balon jojeye 0,6306 g amonyum format tartılarak aktarılmıştır. Amonyum format'nin çözünmesi sağlandıktan sonra derişik FA (%98) çözeltisinden 1 mL alınarak balon jojeye ilave edilmiştir. Sonrasında hacim MS saflıkta su ile bir litreye tamamlanmıştır.

%0.1 FA + 10 mM AF içeren isopropil alkol:asetonitril (9:1, h/h) çözeltisi: MS saflıkta 100 mL asetonitril ile bir miktar isopropil alkol bulunan bir litrelik balon jojeye 0.6306 g amonyum format tartılarak aktarılmış ve amonyum formatın ultrasonik banyoda tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra derişik FA (%98) çözeltisinden 1 mL alınarak balon jojeye ilave edilmiştir. Sonrasında hacim MS saflıkta su ile bir litreye tamamlanmıştır.

Metoksiamin Hidroklorür (MeOX) çözeltisi (20 mg/mL): 20 mg MeOX tartılarak viale aktarılmış ve üzerine 1 mL piridin ilave edilerek vortekslenmiştir. MeOX çözeltisi her analizden önce taze olarak hazırlanmıştır.

10 mM ditiotreitol (DTT) çözeltisi: 23.15 mg DTT tartılarak santrifüj tüpüne alınmış ve üzerine 300 µL MS saflıkta su eklenmiştir.

55 mM iyodoasetamid (IAA) çözeltisi: 148 mg IAA tartılarak santrifüj tüpüne alınmış ve üzerine 800 µL MS saflıkta su eklenmiştir.

50 mM Tripsin Reaksiyon Tamponu (pH:8.2): 150 mg Tripsin tartılarak santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 25 mL amonyum bikarbonat çözeltisi eklenerek hazırlanmıştır.

3.3. Hücre Kültürleri

Tez kapsamında çalışılan THP-1 (Prof. Dr. Nesrin Özören, Boğaziçi Üniversitesi, Türkiye, tarafından hediye edilen) ve U937 (Dr. Yulia Nefedova, H. Lee Moffitt Cancer Center, FL, ABD, tarafından hediye edilen) insan monosit hücre hatları süspanse özelliktedir ve kültürleri tam RPMI besiyeri ortamında, T-75 kültür kaplarında, 37 ^{o}C ve %5 CO_2 inkübatör koşullarında idame edilmiştir. Kültür ortamında çoğalan hücrelerin mikroskop (*inverted*) ile yaklaşık %80 yoğunluğa ulaştığının gözlemlenmesiyle pasajlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Pipetaj ile süspande haline getirilen hücreler THP-1 için 2:5, U937 için 1:5 oranında taze tam RPMI ile 20 mL' ye seyreltilerek hücrelerin geri inkübatöre alınmasıyla pasajlama

işlemi tamamlanmıştır. Hücrelerin toplanan kısımları ise deney kurulumunda kullanılabilir veya atılır.

In vitro deney kurulumlarında istenilen canlı hürce sayısının tespiti için pasaj sonrasında toplanan hücre süspansyonundan 10 µL örnek alınır ve 10 µL tripan mavisi çözeltisi ile boyama işlemi gerçekleştirilir. Tripan mavisi ile boyanmayan canlı hücrelerinin sayımı Fuchs-Rosental (*Hausser Scientific*, ABD) kamarası kullanılarak mikroskopta 10x büyütme ile gerçekleştirilir.

3.4. In vitro Analizler İçin Deney Tasarımının Oluşturulması

3.4.1. MTT Hücre Canlılık Analizi

Pasajlama işlemi ardından toplanan THP-1 ve U937 hücreleri, $40x10^3$ hücre/50 µL tam RPMI besiyeri derişimde düz altlı 96 kuyucuklu plaka kuyularına ekilmiştir. Hücrelerin adaptasyonu için 4 saat beklenildikten sonra üzerlerine 50 µL tam RPMI besiyeri içerisinde alüminyum hidroksit (AH, *Alhydrogel*®) veya alüminyum fosfat (AP, *Adju-Phos*®) adjuvanları uygulanmıştır. Her iki adjuvan için, içerdikleri alüminyum (Al) derişimi üzerinden; 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 mM derişimlerde adjuvan uygulanan hücreler 24, 48 veya 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında kuyulara, 5 mg/mL MTT çözeltisi 25 µL hacimde eklenerek 4 saat 37℃' de inkübe edilmiştir. Devamında, 80 µL hacimde sodyum dodesilsülfat/dimetilformamit (SDS/DMF) çözeltisi kuyulara eklenmiştir. 37˚C' de 16 saat inkübasyonun sonrasında kuyularda oluşan renkli çözeltinin absorbansı mikroplaka spektrofotometresinde (*Spectra Max Molecular Devices*, ABD) SDS/DMF kör okumasıyla, 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Her bir kuyudan ölçülen OD (*optical density*, optik yoğunluk) değeri ilgili hücrenin kontrol koşulunun (0 µg/mL Al) dörtlü teknik replikasının OD değerleri ortalamasına oranlanarak rölatif canlılık yüzde değişim değerleri hesaplanmştır.

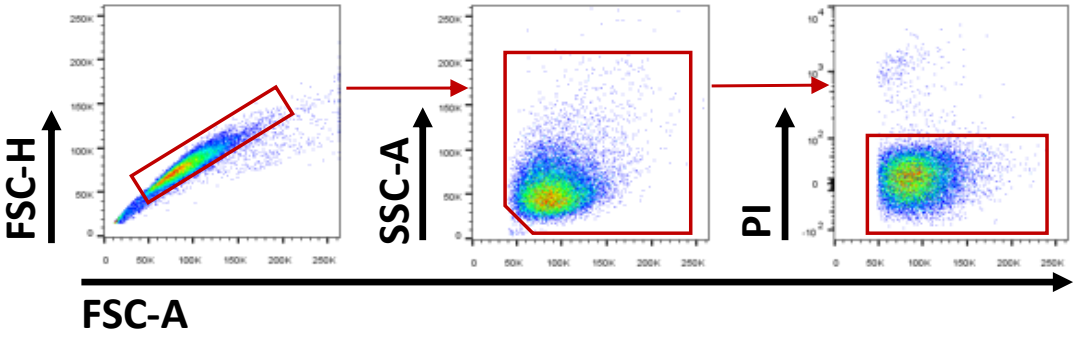
%.Canlı hücre miktarı = Td uygulanmış kuyu OD / Kontrol OD ortalaması x 100

3.4.2. Propidyum Iyodur Hücre Canlılık Analizi

Toksisiteyle membran bütünlüğü bozulan hücrelerde propidyum iyodür (PI) boyası hücre içine geçerek DNA' ya bağlanabilmektedir. Böylelikle PI boyanmayan hücre yüzdesi canlılığın doğrudan ölçülmesine imkân vermektedir. THP-1 ve U937 hücreleri 6 kuyucuklu plaklara, 1 mL hacimde tam RPMI besiyeri içerisinde $1x10^6$ hücre yoğunluğunda ekilmiştir. MTT testi ile incelenen konsantrasyon aralığındaki adjuvan uygulamalarında hücre canlılığının korunduğu gözlemlenmesiyle deneylere yüksek (1 mM Al) ve düşük (125 µM Al) olmak üzere iki derişimde alüminyum oksihidroksit(AH) ve alüminyum hidroksifosfat (AP) uygulamasıyla devam edilmesi kararlaştırılmıştır.

Hücrelerin ekiminin ve 4 saatlik adaptasyon süresinin ardından, belirtilen son konsantrasyonlarına uygun miktarda (2x derişimde) 1 mL hacimde tam RPMI besi yeri ortamı içerisinde kuyulara uygulanmıştır. Adjuvanların uygulanması sonrasında hücreler 72 saat inkübe edililir. Ardından, süspande karakterlerini korumakta olan hücreler toplanıp kuyular PBS çözeltisiyle yıkanarak toplanan hacimle birleştirilmiştir. Toplam hacim PBS çözeltisi ile 10 mL' ye tamamlanıp 1800 devir/dakika'da 5 dakika santrifüjlenerek yıkanmıştır. Süpernatan uzaklaştırılır ve hücre pelleti Cell wash™ standardize 1xPBS ürünü ile dağıtılmasıyla tek hücre süspansiyonu halindeki akım sitometrisi örnekleri hazır hale getirilmiştir. 100 µL Cell wash™ içerisinde analiz tüplerine alınan örneklere 1 µL PI (5 mg/mL) çözeltisi eklenerek 5 dakika süresince oda sıcaklığında ve karanlıkta boyama işlemi gerçekleştirilmiştir. Devamında örneklere Cell wash™ eklenerek 1800 devir/dakika'da 5 dakika santrifüjlenir, böylece serbest PI yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Pellet Cell wash™ ile tekrar dağıtılarak tek hücre süspansyonu elde edilir ve akım sitometrisi cihazıyla (*FACSCanto II*, BD, ABD) analiz gerçekleştirilmiştir.

Akım sitometrisi çalışması, belirlenen kapılama stratejisinde (Bkz. Şekil 3.1.) hücrelerin boyutsal (*Forward Scatter*, FSC) ve granüler (*Side Scatter*, SSC) ayrımlarını sonrasında PI ile boyanmamış en az 10^3 canlı hücrenin analiziyle gerçekleştirilmiştir. Sonuçların veri dosyaları .fcs (*Flow Cytometry Standard*) dosya formatına getirilir ve FlowJo yazılımı (Tree Star, ABD) kullanılarak veri analizi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Akım sitometrisi analizleri için kapılama stratejisi.

3.4.3. Aluminyum Adjuvanların Hücresel Alımının İncelenmesi

THP-1 ve U937 hücrelerinin düşük ve yüksek derişimde AH ve AP ile 72 saatlik inkübasyonunun sonrasında hücreler tarafından internalize edilen Al^{3+} düzeyleri lumogallion boyamasıyla incelenmiştir. Hücreler toplanıp 20 µM lumogallion içeren 2 mL tam RPMI besiyeri ortamında tekrardan 6 kuyucuklu plakalara ekildi ve 37 ºC' de 4 saat inkübe edildi. Boyanan hücrelerin toplanarak 1x PBS ile 2 sefer 1800 devir/dakika'da 5 dakika santrifüjlenerek yıkanmasıyla serbest lumogallion ortamdan uzaklaştırıldı. Hücre pelleti Cell wash™ ile süspande edilerek florokrom konjuge anti-CD33 antikoru ile 1:100 dilüsyonda 25 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta boyama işlemi yapılarak hücrelerin boyanan hücre dışı serbest alüminyum kristallerinden ayrımının sağlanması amaçlandı. İnkübasyon sonrasında bağlanmayan antikor içeriği 1800 devir/dakika'da 5 dakika santrifüjleme işlemiyle yıkanarak uzaklaştırılır. Hücre pelleti Cell wash™ ile tekrar süspande edilir ve başlık 3.4.2 'de belirtilen FSC ve SSC kapılama stratejisi uygulanmasıyla akım sitometrisi analizi gerçekleştirilir. FlowJo yazılımı kullanılarak yüzde lumogallion pozitifliği ve lumogallion OFY değerleri hesaplanmıştır.

3.5. Monosit Hücrelerinin Aktivasyon ve Maturasyonunun Yüzey Belirteci İfadelerinin İncelenmesi

3.5.1. İmmunfenotipleme

THP-1 ve U937 hücrelerinin düşük ve yüksek derişimde AH ve AP ile 72 saatlik inkübasyonunun sonrasında başlık 3.4.2. bölümünde anlatıldığı şekilde 100 µL

Cell wash^{TM} içerisinde tek hücre süspansiyonları elde edilir. İmmünfenotiplemede hücrelerin ifade ettikleri yüzey belirteci düzeyleri, hücrelerin Tablo 3.2' de listelenen florokrom konjuge antikorlar boyama işlemi yapılarak incelenir. Antikorlarla boyama işlemi 1:100 dilüsyonda 25 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta gerçekleştirilir. İnkübasyonun 20. dakikasında ise 5 dakikalık PI boyaması yapılır. İnkübasyon sonrasında bağlanmayan antikor ve PI içeriği 1800 devir/dakika'da 5 dakika santrifüjleme işlemiyle yıkanarak uzaklaştırılır. Hücre pelleti Cell wash^{TM} ile tekrar süspande edilir ve devamında en az 10^3 canlı hücre üzerinden akım sitometrisi analizi gerçekleştirilir FlowJo yazılımı ile yüzey belirteçlerinin ifade düzeyleri için OFY değerleri hesaplanır.

3.6. Proteomiks ve metabolomiks analizler için deney kurulumu

THP-1 ve U937 hücreleri T-25 kültür kaplarına, 5 mL hacimde tam RPMI besiyeri içerisinde $5x10^6$ hücre yoğunluğunda ekilmiştir. Hücrelerin ekiminin ve 4 saatlik adaptasyon süresinin ardından, AH ve AP adjuvanlar 1 mM ve 125 µM Al son konsantrasyonlarına uygun miktarda (2 mM ve 250 µM, 2x derişimde) 5 mL hacimde tam RPMI besi yeri ortamı içerisinde T-25 kültür kaplarına uygulanmıştır. Adjuvanların uygulanması sonrasında hücreler 72 saat inkübe edildi.

İnkübasyon süresinin ardından T-25 kültür kabı içerisindeki hücreler pipetajla tekrar süspande hale getirilip kültür kapları dik pozisyonda inkübatöre geri kaldırıldı. Hücrelerin dibe çöktüğünün gözlemlenmesiyle üst sıvı 15 mL hacimli santrifüj tüplerine toplanarak 4 °C sıcakta 1800 devir/dakika'da 5 dakika santrifüjlenmiştir. Tüpler buz üzerine alınarak süpernatant 5 mL yeni hacimli santrifüj tüplerine toplanılmış ve analiz zamanına kadar -80 °C sıcaklıkta saklanmıştır. Daha sonrasında buz üzerindeki az miktarda geriye kalan hücre pelleti üzerine T-25 kültür kabında kalan hücre örnekleri eklendi ve kap içeriği soğuk 1xPBS çözeltisiyle yıkanmıştır. Ardından, son hacim 14 ml'ye tamamlandı ve örnekler 4 °C sıcakta 1800 devir/dakika'da 5 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernetanın uzaklaştırılmasının ardından pellet üzerinde kalan az miktardaki sıvı 200 µL' lik pipetle toplanarak uzaklaştırılmıştır. Pellet üzerine 1 mL su:metanol (1:9) karışımı eklenmiş ve vortekslenmiştir. Hemen ardından, hücrelerin metabolizması ani bir şekilde sıvı azota

daldırılarak söndürülmüştür. Sonrasında tekrar buz üzerine alınan örnekler analiz zamanına kadar -80 °C sıcaklıkta saklanmıştır.

3.7. U937 ve THP-1 Hücre Kültürü Analizi

Hücre kültürü örneklerinden ekstrakte edilen proteinler soğuk aseton ile yıkanıp 350 µL %20 metanol içeren 100 mM amonyum bikarbonat çözeltisi içerisinde çözündürülmüş ve her bir örneğe (ve medium örnekler) ait protein miktarları Brathford yöntemi ile belirlenmiştir. Protein miktarlarına göre her bir örnekten 100 µg protein eppendorf tüplere transfer edilmiştir. 10 mM DTT eklenen örnekler(ve medium örnekler) 45 dakika boyuca 56 ^{o}C'de inkübe edilip oda sıcaklığına getirildikten hemen sonra örneklere 55 mM IAA eklenmiş ve oda sıcaklığında (karanlıkta) 30 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İndirgenmiş ve alkillenmiş proteinleri saflaştırmak ve kullanılan kimyasalları uzaklaştırmak amacıyla proteinler soğutulmuş (-20 °C) aseton ile çöktürülerek 2 defa yıkanmış ve amonyum bikarbonat içeren tripsin reaksiyon tamponu (pH ~ 8.2) ile yeniden çözündürülmüştür. Devamında, proteinlerin parçalanması için 1:100 (a/a) oranında tripsin eklenen örnekler(ve medium örnekler) gece boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, örneklere(ve medium örnekler) formik asit eklenerek (%0.5) tripsin aktivitesinin durdurulması sağlanmış ve örnekler viallere transfer edildikten sonra optimize edilmiş LC-qTOF-MS koşullarında analiz edilmişlerdir.

3.7.1. LC-qTOF-MS temelli proteomiks analizler

Analizler 0.07 mL/dakika akış hızında gradient elüsyon (Tablo 3.7) ile %0.1 formik asit içeren su (A) ve % 0.1 formik asit içeren asetonitril (B) hareketli fazlarıyla 190 dakikada C18 (100 mm x 2.1 mm, 2.7 µm) kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı 60°C olarak belirlenmiştir. Sıvı kromatografisi ile ayrılan peptitler ESI'da iyonlaştırılmış ve qTOF-MS cihazında analiz edilmiştir. Analizler pozitif iyonizasyon ile oto-MS/MS modunda gerçekleştirilmiş ve yoğunluğu 1000 count ve üzerindeki peptitlerin MS/MS verileri toplanmıştır. Cihaz parametreleri Tablo 3.7'de sunulmuştur.

Tablo 3.7. Proteomiks analizlerde kullanılan gradient elüsyon programı

Zaman (dakika)	% Hareketli faz B*
0	2
140	40
145	90
155	90
156	2
190	2

*%0.1 formik asit içeren asetonitril

Tablo 3.8. Proteomiks analizler için optimize edilmiş LC-qTOF-MS analiz koşulları ve cihaz parametreleri

Kütle aralığı (MS)	300-1700 akb
Kütle aralığı (MS/MS)	50-1700 akb
Tarama hızı (spectrum/sn)	3 (MS), 5(MS/MS)
Sprey voltajı (kV)	3500
Skimmer voltajı (V)	65
Gaz sıcaklığı (°C)	300
Gaz akış hızı (L/dakika)	8
Nebulizer (psig)	35
Arpışma enerjisi (eV)	45
Döngü başına öncü iyon sayısı	10
Yük	+1, +2, +3, >+3

3.7.2. U937 ve THP-1 Hücre Kültürü Metabolomiks Analizler için Türevlendirme

Üst fazları toplanmış örnekler kuruluğa kadar uçurularak örneklere (ve medium örnekler) 20 µL MeOX (piridin içerisinde 20 mg/mL) çözeltisi eklenmiş ve örnekler kuru blok çalkalayıcıda 30 °C'de 90 dakika inkübe edilerek metoksillendirilmiştir. Oda sıcaklığına getirilen örneklere (hücre ve medium örnekler) 80 µL N-methyl-N-trimetilsilil trifloroasetamit (MSTFA) + %1 Trimethyl Chlorosilane (TMCS) eklenmiş ve örnekler kuru blok çalkalayıcıda 37 °C'de 90 dak inkübe edilerek

türevlendirilmiştir. Türevlendirilen örnekler silillenmiş GC-MS viallerine aktarılarak DB5-MS kolon ayrıntıları verilen optimize edilmiş GC-MS koşullarında analiz edilmiştir.

3.7.3. U937 ve THP-1 Hücre Kültürü GC-MS Temelli Metabolomiks Analizler

Hücrelere(ve medium örnekler) ait türevlendirilmiş örnekler GC-MS ile DB-5MS (30 m + 10 m ön kolon x 0,25 mm iç çap ve 0,25 µm film kalınlığı) kolon kullanılarak analiz edilmiştir. Enjeksiyonlar bölmesiz olarak gerçekleştirilmiş ve enjeksiyon hacmi 1 µL olarak belirlenmiştir. Analizler Tablo 3.9'da verilen optimize edilmiş GC-MS koşullarında gerçekleştirilmiştir. Metabolitlere ait alıkonma zamanlarını kontrol etmek ve alıkonma indekslerini hesaplamak için yağ asidi serisi (C_8-C_{40}) kullanılmıştır.

Tablo 3.9. Optimize edilmiş GC-MS analiz koşulları ve cihaz parametreleri

Fırın sıcaklık programı	Fırın sıcaklığı artışı 60 °C'den (1 dak tutulur) 325 °C'ye 10 °C/dak artışla (10 dak tutulur)
Analiz süresi	37,5 dak
Enjeksiyon hacmi	1 µL (bölmesiz)
Taşıyıcı Gaz	Helyum 1 mL/dak
MSD geçiş sıcaklığı	290 ºC
Çözücü gecikme süresi	5,90 dak
Kütle aralığı	50-650 dalton

3.8. Veri Analizi

3.8.1. GC-MS temelli metabolomiks analizlere ait veri analizi

GC-MS temelli metabolomiks analizlerinden elde edilen kompleks kromatogramlar MS-DIAL (ver. 4.90) yazılımı kullanılarak ayrıştırılmış, pik alıkonma zamanları düzeltilmiş ve veri matrisleri oluşturulmuştur. GC-MS analizlerinden elde edilen veri matrisleri Excel çalışma dosyasına aktarılmış ve metabolitlere ait pikler alıkonma indeksli Fiehn ve Golm kütüphaneleri kullanılarak tanımlanmıştır.

3.8.2. LC-qTOF-MS temelli proteomiks analizlere ait veri analizi

Proteomiks analizler sonucunda elde edilen ham verilerin analizi Maxquant (ver. 2.1.4.0) programı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Programda parçalayıcı enzim olarak tripsin, sabit modifikasyon olarak sistein üzerinde karboamidometilasyon, değişen modifikasyon olarak ise metionin üzerindeki oksidasyon ve proteinlerin –N birimleri üzerindeki asetilasyon seçilmiştir. Peptitlerin tanımlanması için en küçük olası peptit uzunluğu 6, en uzun peptit uzunluğu ise 40 aminoasit olarak belirlenmiştir. Yazılım 4600 Daltondan daha ağır peptitleri elimine edecek şekilde programlanmıştır. MS ve MS/MS analizlerinde taramalar 20 ppm hata payı ile yapılmıştır. Proteinlerin tanımlanmasında Uniprot veribankası (Human proteome, Taxonomy ID: 9606) kullanılmıştır. Maxquant programı aracılığıyla deneysel gruplar arasında miktarı değişen proteinlerin belirlenmesinde ‘’işaretsiz nicel analiz algoritması (Label free quantification algorithm)’’ kullanılmıştır. Maxquant yazılımından elde edilen veriler istatistiksel bir araç olan Perseus (ver. 2.0.7) programına aktarılmış ve istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir.

3.9. İstatistiksel Analizler

Veri ön işlemenin ardından hücre kültürü örneklerinin proteomiks ve metabolomiks analizlerinden elde edilen veri matrisleri SIMCA yazılımına aktarılarak temel bileşen analizi (PCA) ve kısmi en küçük kareler-ayrım analizi (PLS-DA) çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemleri ile değerlendirilmiş ve grupların ayrılmasında önemli olan metabolitler, proteinler ve regresyon katsayıları bulunmuştur.

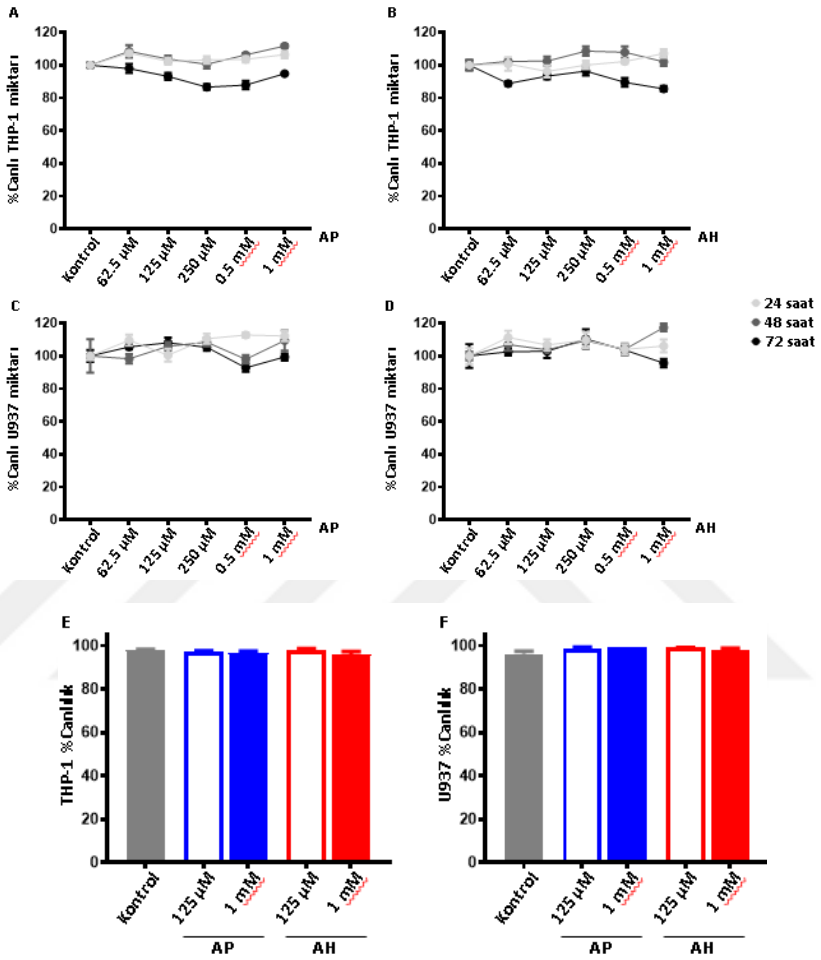
PCA grafikleri veri setinde herhangi bir sistemik hata ve aykırı bir veri olup olmadığını görselleştirmek için oluşturulmuştur. PLS-DA grafikleri ise veri gruplarının farklılaşmasını görselleştirmek için oluşturulmuştur. PLS-DA analizlerindeki farklılaşmaya neden olan metabolitlerin bulunması için VIP (variable important in projection) grafiklerinden yararlanılmıştır. En yüksek VIP değerine sahip metabolit veya protein ayırımda en büyük etkiye sahip metabolit veya protein olarak belirlenmiştir. Ardından kontrol grubuna karşı metabolomiks ve proteomiks analizlerden elde edilen veriler Metaboanalyst platformuna aktarılarak volkan grafikleri oluşturulmuştur. Elde edilen grafiklerde istatistiksel anlamlılık kriterleri p değeri 0.05’ten küçük olması olarak belirlenmiştir.

Medium ve hücreler arasında istatistiksel olarak anlamlı değişen metabolitler t-testi ile belirlenmiş ve gruplara ait ortalama ve standart hata değerleri hesaplanmıştır. Son olarak hücre kültürü örnekleri için istatistiksel olarak anlamlı değişim gösteren metabolitler ve proteinler eş zamanlı olarak MetaboAnalyst platformuna aktarılmış ve yolak analizleri yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Hücre Kültürü Çalışmaları

4.1.1. MTT ve Propidyum İyodür Hücre Canlılık Analizi



Şekil 4.1. Aluminyum adjuvanların, hücre canlılığına etkisinin incelenmesi.

THP-1 hücrelerinin artan konsantrasyonda, (A) alüminyum hidroksit ve (B) alüminyum fosfat adjuvana; U937 hücrelerinin artan konsantrasyonda, (C) alüminyum hidroksit ve (D) alüminyum fosfat adjuvana 24, 48 ve 72 saat sürelerinde maruziyeti sonrası MTT canlılık analizi sonuçları (n=4). Her bir zaman noktasında kontrol koşuluna göre normalizasyon yapılarak göreceli yüzde canlılık değerleri hesaplanmıştır. (E) THP-1 ve (F) U937 hücrelerinin; düşük (125 µM), yüksek (1 mM) konsantrasyonda 72 saat inkübasyonu sonrası propidyum iyodür (PI) canlılık analizi sonuçları (n=3).

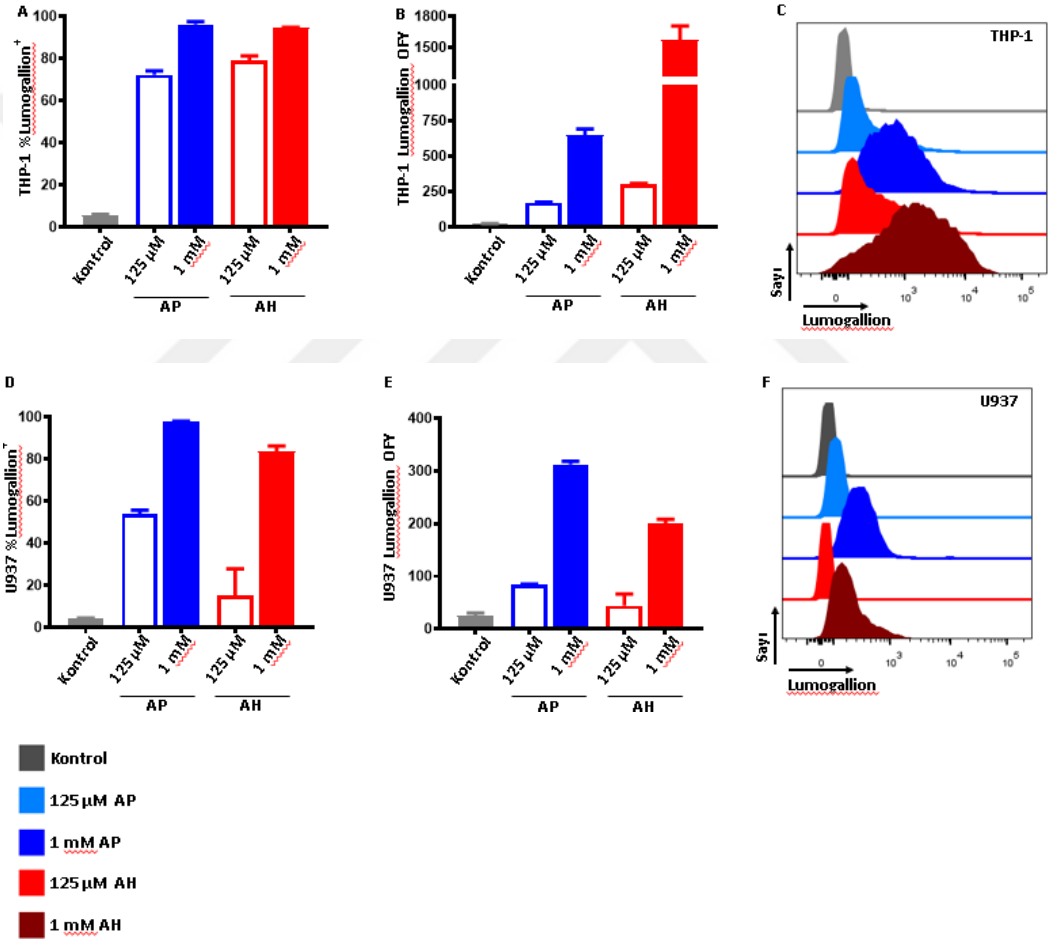
Tablo 4.1. PI canlılık analizine ait karşılaştırmalı p değerleri.

	125uM AP	1Mm AP	125Um AH	1Mm AH
THP-1	0.113	0.132	0.787	0.213
U937	0.193	0.122	0.136	0.350

Tablo 4.2. MTT canlılık analizine ait karşılaştırmalı p değerleri.

		AH					AP				
	Zaman	**0.00625 mM**	**0.125 mM**	**0.25 mM**	**0.5 mM**	**1 mM**	**0.00625 mM**	**0.125 mM**	**0.25 mM**	**0.5 mM**	**1 mM**
THP-1	24 sa	0.836	0.418	0.982	0.193	0.187	0.07	0.460	0.209	0.180	0.219
	48 sa	0.480	0.379	0.094	0.036	0.705	0.098	0.175	0.805	0.003	<0.00
	72 sa	0.03	0.128	0.467	0.071	**0.013**	0.336	**0.003**	**0.005**	**0.013**	**0.037**
U937	24 sa	0.232	0.430	0.211	0.247	0.306	**0.009**	0.849	0.116	**0.038**	0.116
	48 sa	0.161	0.425	0.120	0.517	<0.001	0.850	0.491	0.425	0.826	0.284
	72 sa	0.734	0.7	0.091	0.564	0.606	0.202	0.236	0.355	0.270	0.881

4.1.2. Lumogallion Analiz



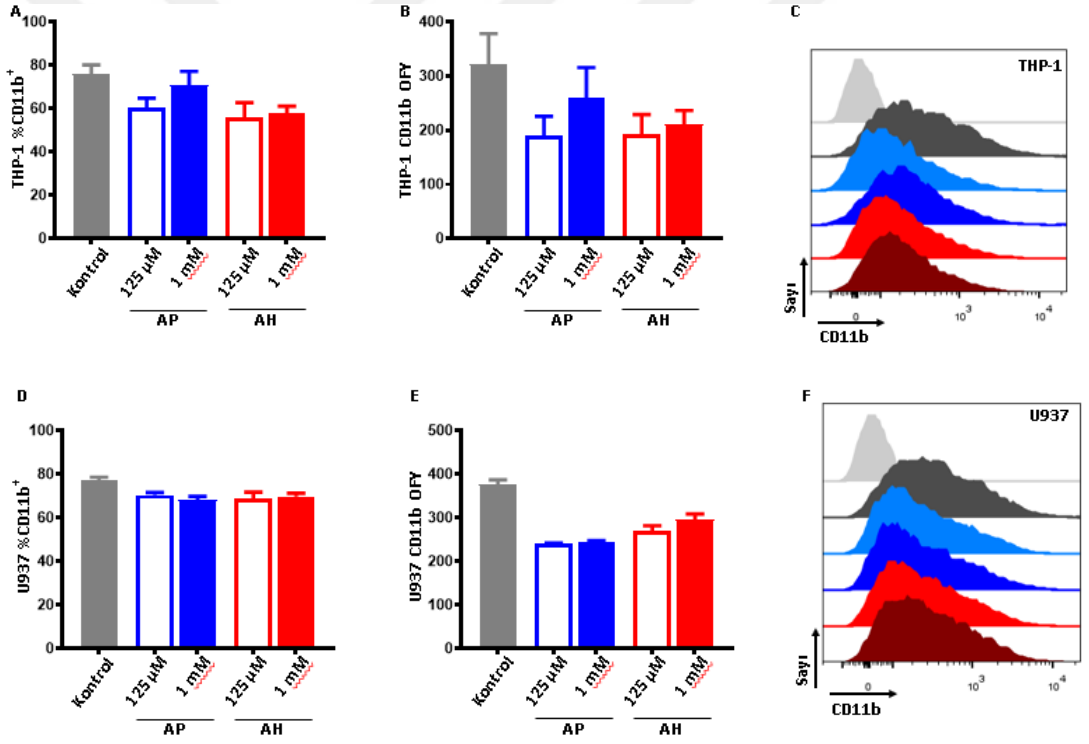
Şekil 4.2. Monosit hücrelerinin alüminyum adjuvanlarla etkileşim düzeyinin araştırılması.

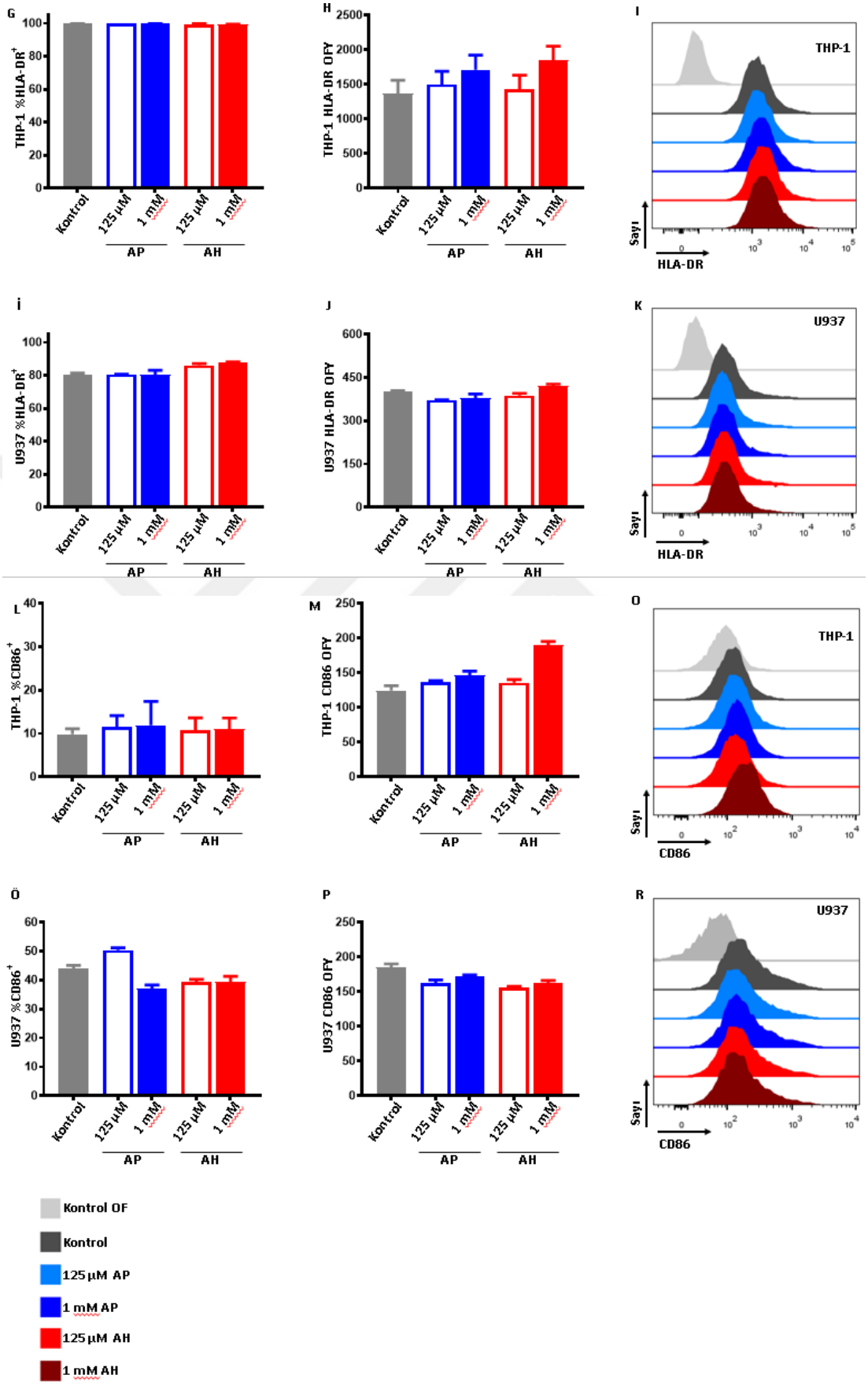
Hücrelerin düşük (125 µM), yüksek (1 mM) konsantrasyonda adjuvanlarla ile 72 saat inkübasyonu sonrası Al^{+3} içeriğinin lumogallion reaktifi ile boyanmasıyla THP-1 için (n=3) alüminyum adjuvan (A) yüzde pozitifliği, (B) ortanca floresan yoğunluğu (OFY) yoğunluğu, (C) temsili histogram gösterimi; U937 için (n=3) alüminyum adjuvan (D) yüzde pozitifliği, (E) ortanca floresan yoğunluğu (OFY) yoğunluğu, (F) temsili histogram gösterimi.

Tablo 4.3. Monosit hücrelerinin alüminyum adjuvanlarıyla etkilişimine ait p değerleri.

	125Um AP	1Mm AP	125Um AH	1Mm AH
THP-1	<0.001	<0.001	0.001	<0.001
THP-1 (OFY)	0.001	0.004	<0.001	0.007
U937	0.001	<0.001	0.464	<0.001
U937 (OFY)	0.008	<0.001	0.420	0.002

4.1.3. Monosit Hücrelerinin Aktivasyon ve Maturasyonunun Yüzey Belirteci İfadelerinin İncelenmesi: İmmunfenotipleme




G
THP-1 %HLA-DR+
H
THP-1 HLA-DR OFY
I
THP-1
Sayı
HLA-DR
İ
U937 %HLA-DR+
J
U937 HLA-DR OFY
K
U937
L
THP-1 %CD86+
M
THP-1 CD86 OFY
O
THP-1
CD86
Ö
U937 %CD86+
P
U937 CD86 OFY
R
U937
Kontrol
125 µM
1 mM
AP
AH
Kontrol OF
Kontrol
125 µM AP
1 mM AP
125 µM AH
1 mM AH

Şekil 4.3. Monosit hücrelerine alüminyum adjuvan uygulamasının akitvasyon ve matürasyon belirteçleri yönünden incelenmesi.

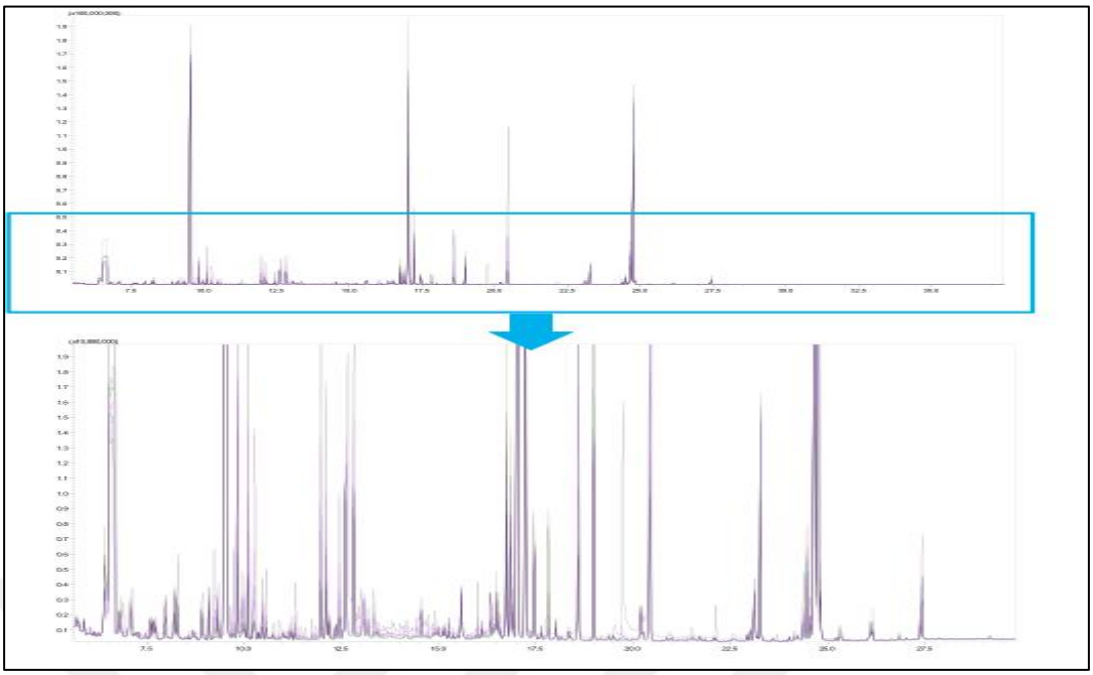
Hücrelerin düşük (125 µM), yüksek (1 mM) konsantrasyonda adjuvanlarla 72 saat inkübasyonu sonrası THP-1 için (n=3) CD11b ifadesi (A) yüzde pozitifliği, (B) ortanca floresan yoğunluğu (OFY) yoğunluğu, (C) temsili histogram gösterimi; U937 için (n≥3) CD11b ifadesi (D) yüzde pozitifliği, (E) ortanca floresan yoğunluğu (OFY) yoğunluğu, (F) temsili histogram gösterimi. THP-1 için (n=3) HLA-DR ifadesi (G) yüzde pozitifliği, (H) ortanca floresan yoğunluğu (OFY) yoğunluğu, (I) temsili histogram gösterimi; U937 için (n≥3) HLA-DR ifadesi (İ) yüzde pozitifliği, (J) ortanca floresan yoğunluğu (OFY) yoğunluğu, (K) temsili histogram gösterimi. THP-1 için (n=3) CD86 ifadesi (L) yüzde pozitifliği, (M) ortanca floresan yoğunluğu (OFY) yoğunluğu, (N) temsili histogram gösterimi; U937 için (n≥3) CD86 ifadesi (O) yüzde pozitifliği, (Ö) ortanca floresan yoğunluğu (OFY) yoğunluğu, (P) temsili histogram gösterimi.

Tablo 4.4. THP-1 monosit hücrelerine alüminyum adjuvan uygulamasıyla akitvasyon ve matürasyon belirteçlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmalarına ait p değerleri (THP-1 için n=3, U937 için n≥2).

		125Um AP	**1Mm AP**	**125Um AH**	**1Mm AH**
THP-1	CD11b (OFY)	0.054	0.074	**0.033**	0.078
	CD11b	0.088	0.275	**0.027**	**0.024**
	HLA-DR(OFY)	**0.011**	**0.004**	0.739	**0.001**
	HLA-DR	0.423	1.000	0.52	0.311
	CD86 (OFY)	0.135	0.085	0.051	**0.01**
	CD86	0.663	0.775	0.815	0.745
U937	CD11b (OFY)	0.054	0.05	0.157	0.174
	CD11b	0.258	0.085	0.079	**0.004**
	HLA-DR(OFY)	0.1	0.39	0.119	0.238
	HLA-DR	0.889	0.779	0.094	0.140
	CD86 (OFY)	**0.014**	0.188	**0.022**	**0.028**
	CD86	**0.035**	**0.047**	0.063	0.092

4.2. Metabolomiks Analizler

THP-1 ve U937 hücrelerinin düşük ve yüksek derişimde AH ve AP ile maruziyetine bağlı olarak değişen metabolomiks ve proteomiks profilleri belirlenmiştir. Bu amaçla hücre hatlarına iki farklı adjuvan ve iki farklı derişimde uygulanmış ve 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda örnekler toplanmış ve GC-MS ve LC-qTOF-MS ile analizleri gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon peryodu sonunda hücre hatlarından toplanan mediumda metabolomiks analizler gerçekleştirilirken instrasellular matriksten elde edilen örneklerde ise metabolomiks ve proteomik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu analizlere ait örnek kromatogramlar Şekil 4.1de verilmiştir.



Şekil 4.4. Intraselüler matrikse ait metabolomiks çalışmalar için elde edilmiş GC-MS kromatogramları.

Elde edilen kompleks kromatogramlar MS-DIAL yazılımı kullanılarak ayrıştırılmış ve Fiehn Alıkonma indeksli kütüphane kullanılarak metabolitlerin tanımlanması gerçekleştirilmiş. Analizler sonucunda 69 tane metabolit intraselüler matrikste (Tablo 4.6) tanımlanabilirken 101 tane metabolit ekstraselüler matrikste (Tablo 4.5) tanımlanabilmiştir. Hücre hatlarındaki metabolit değişimlerini gösteren sıcak harita grafikleri (Şekil 4.5-4.8) verilmiştir. Veri setleri ilk önce temel bileşenler analizi (PCA) yapılarak aykırı örnek olup olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.5). Her bir hücre hattında adjuvan bağlı değişimler T-testi ile karşılaştırılmış ve elde edilen volkano grafikleri (Şekil 4.12-4.19) ve p değerleri (Tablo 4.2 ve 4.4) verilmiştir.

Tablo 4.5. Ekstraselüler matrikse ait metabolitler ve bağıl derişimleri*

Metabolitler	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
1,3-diaminopropane	1.004 ± 0.203	0.539± 0.066	0.54 ± 0.044	0.955± 0.066	0.80± 0.108	0.291 ± 0.160	1.369± 0.059	1.494± 0.095	1.499± 0.115	1.502± 0.057
2-hydroxybutyric acid	0.255 ± 0.015	0.895± 0.087	0.976± 0.092	0.863± 0.025	0.772± 0.034	0.679 ± 0.106	1.229± 0.198	1.017± 0.519	1.696± 0.143	1.617± 0.165
2-ketoisocaproic acid	0.677 ± 0.264	0.843± 0.027	0.893 ± 0.07	0.976± 0.052	0.86 ± 0.043	1.164 ± 0.456	1.197± 0.014	0.854± 0.316	1.285 ±0.076	1.252± 0.016
3-hydroxy-3-methylglutaric acid (dicrotalic acid)	1.322 ± 0.186	1.048± 0.065	0.92 ± 0.042	1.607 ± 0.31	1.265± 0.193	0.874 ± 0.038	0.631± 0.025	0.896 ± 0.11	0.674± 0.041	0.761± 0.058
3-hydroxypropanoic acid	1.23 ± 0.047	0.806± 0.025	1.026± 0.075	1.044± 0.054	1.046± 0.085	0.944 ± 0.150	0.908± 0.016	0.934± 0.096	1.089± 0.052	0.973 ± 0.02
3-indolelactic acid	1.137 ± 0.154	0.831± 0.011	1.031± 0.072	0.93 ± 0.047	0.944± 0.061	1.294 ± 0.164	0.953 ± 0.03	0.917± 0.081	1.011± 0.075	0.953± 0.013
3-methyl-2-oxobutanoic acid	1.177 ± 0.603	0.913± 0.524	0.642± 0.146	0.678± 0.053	0.613± 0.051	1.211 ± 0.248	1.081± 0.047	1.175± 0.112	1.347 ± 0.11	1.164± 0.154
4-guanidinobutyric acid	1.274 ± 0.1	1.164± 0.023	1.186± 0.044	1.139± 0.058	1.175± 0.059	0.002 ± 0.00	1.175± 0.012	0.421± 0.406	1.211± 0.063	1.254 ± 0.03
5'-deoxy-5'-(methylthio)adenosine	1.626 ± 0.062	2.398± 0.082	2.57 ± 0.152	1.113± 0.315	2.11 ± 0.488	0.080 ± 0.00	0.026± 0.007	0.018± 0.007	0.022± 0.004	0.036± 0.002
6-hydroxyhexanoic acid	1.084 ± 0.045	1.113± 0.177	1.349± 0.162	0.901± 0.167	1.271± 0.314	1.448 ± 0.343	0.691± 0.088	0.755± 0.123	0.763± 0.201	0.626 ± 0.05
Acetoacetate	0.6 ± 0.218	0.468± 0.018	0.81 ± 0.187	1.064± 0.033	0.725± 0.136	0.683 ± 0.311	1.52 ± 0.207	1.409± 0.159	1.395± 0.038	1.325± 0.179
Alpha ketoglutaric acid	1.037 ± 0.206	0.813± 0.026	1.029 ± 0.03	0.952± 0.048	0.798± 0.055	0.629 ± 0.101	1.166± 0.027	1.125± 0.085	1.213 ± 0.06	1.239± 0.058
Alpha-D-glucosamine phosphate	2.427 ± 0.394	1.298± 0.174	1.313± 0.055	2.172± 0.342	2.353± 0.744	0.036 ± 0.003	0.089 ± 0.01	0.099± 0.002	0.081± 0.006	0.133 ± 0.01
Arabitol	1.099 ± 0.083	0.834± 0.001	1.004± 0.046	0.934± 0.029	0.932± 0.047	0.818 ± 0.075	1.067± 0.009	1.021± 0.069	1.144 ± 0.06	1.148 ± 0.012
Aspartic acid	0.61 ± 0.118	0.504± 0.065	0.619± 0.048	0.743± 0.044	0.667± 0.092	0.169 ± 0.038	1.373± 0.103	1.741± 0.135	1.799± 0.097	1.775± 0.102
Benzoic acid	0.632 ± 0.242	0.844± 0.029	0.901± 0.062	0.892± 0.024	0.927± 0.053	1.503 ± 0.559	1.004 ± 0.08	1.034± 0.038	1.144± 0.057	1.12 ± 0.036
Beta- alanine	1.163 ± 0.259	0.702± 0.04	0.801± 0.056	1.125 ± 0.07	0.91 ± 0.09	0.399 ± 0.085	1.206 ± 0.05	1.222± 0.096	1.22 ± 0.044	1.251± 0.02

Metabolitler	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Capric acid	1.082 ± 0.096	0.864± 0.045	1.027± 0.055	1.196± 0.006	1.221± 0.086	1.766 ± 0.207	0.857± 0.226	0.595± 0.032	0.683± 0.059	0.708± 0.026
Cholesterol	1.424 ± 0.15	0.889 ± 0.02	0.797± 0.036	1 ± 0.027	1.113± 0.024	1.486 ± 0.113	0.869± 0.033	0.493± 0.028	0.982± 0.064	0.948± 0.013
Cis-4-hydroxycyclohexanecarboxylic acid	0.633 ± 0.362	1.776± 0.201	2.936± 0.247	1.382± 0.271	0.649± 0.307	0.098 ± 0.018	0.442± 0.054	0.544± 0.049	0.908± 0.153	0.632± 0.104
Citric acid	1.066 ± 0.328	0.996± 0.077	0.818± 0.046	0.771± 0.083	0.832± 0.023	0.686 ± 0.116	1.029± 0.049	1.137± 0.071	1.265± 0.068	1.399± 0.026
Citrulline	0.848 ± 0.184	0.834± 0.208	0.58± 0.065	0.909± 0.197	1.047± 0.283	0.226 ± 0.163	1.076± 0.376	1.929± 0.406	1.007± 0.315	1.543± 0.259
Creatinine	0.536 ± 0.043	1.379± 0.097	0.961 ± 0.06	0.82 ± 0.078	0.651± 0.151	0.207 ± 0.059	1.045± 0.128	1.402± 0.069	1.621± 0.083	1.378± 0.053
D (+) galactose	1.507 ± 0.426	1.822± 0.355	1.541± 0.076	1.511 ± 0.32	1.2 ± 0.126	0.339 ± 0.071	0.401 ± 0.04	0.483± 0.019	0.581± 0.137	0.614± 0.082
D-allose	0.963 ± 0.313	1.003± 0.013	0.701± 0.022	0.697± 0.034	1.03 ± 0.136	2.139 ± 0.226	0.982± 0.081	0.927± 0.023	0.726 ± 0.3	0.832± 0.373
Dehydroascorbic acid	1.773 ± 0.75	1.377± 0.27	1.478± 0.155	2.42 ± 0.409	1.612± 0.557	0.127 ± 0.044	0.206± 0.047	0.245± 0.076	0.371± 0.082	0.391± 0.061
D-glucosaminic acid	1.232 ± 0.023	0.868± 0.152	1.207± 0.111	1.098± 0.043	0.965± 0.092	1.154 ± 0.264	0.818± 0.018	0.835± 0.069	0.904± 0.046	0.919 ± 0.02
D-glucose	0.802 ± 0.305	1.319± 0.452	0.653± 0.109	0.686± 0.169	1.596 ± 0.73	1.627 ± 0.156	0.781± 0.079	0.744± 0.019	0.853± 0.088	0.94 ± 0.124
D-Glucose-6-phosphoric acid	1.629 ± 0.084	1.655± 0.039	1.95 ± 0.053	1.526± 0.033	1.488± 0.067	0.16 ± 0.009	0.361± 0.046	0.337± 0.017	0.397± 0.038	0.499 ± 0.1
DL-glyceraldehyde	0.593 ± 0.022	0.791± 0.225	0.878± 0.148	0.611± 0.017	0.769± 0.189	0.907 ± 0.349	1.237± 0.256	0.896± 0.381	1.594± 0.078	1.725± 0.058
DL-isoleucine	0.541 ± 0.267	0.883± 0.041	0.884± 0.052	0.869± 0.044	0.835± 0.119	0.818 ± 0.413	1.288± 0.023	1.218± 0.079	1.308± 0.066	1.354± 0.028
D-lyxose	2.544 ± 0.278	1.182± 0.09	1.142± 0.061	1.237± 0.072	1.558± 0.142	0.615 ± 0.114	0.328± 0.058	0.496± 0.032	0.365± 0.044	0.533± 0.009
D-malic acid	0.963 ± 0.195	0.961± 0.007	1.076± 0.053	0.941± 0.066	0.837± 0.034	0.551 ± 0.102	1.189± 0.053	1.126± 0.102	1.149± 0.072	1.207 ± 0.05
D-mannitol	1.071 ± 0.206	0.915± 0.104	1.067± 0.045	1.08 ± 0.052	0.931± 0.069	0.712 ± 0.058	1.03 ± 0.029	0.984 ± 0.07	1.097± 0.062	1.113± 0.019
D-sorbitol	1.146 ± 0.117	0.856± 0.009	1.054± 0.054	1.038± 0.029	0.97 ± 0.057	0.761 ± 0.062	1.047 ± 0.02	0.985± 0.054	1.059± 0.053	1.084± 0.033

Metabolitler	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
D-threitol	1.036 ± 0.085	0.767± 0.009	0.989± 0.048	1.063± 0.047	0.96 ± 0.117	0.838 ± 0.09	1.039± 0.021	1.027± 0.061	1.164± 0.043	1.116± 0.025
Estradiol	0.358 ± 0.069	0.892± 0.123	0.964± 0.128	7.241± 6.983	0.45 ± 0.169	0.036 ± 0.004	0.017± 0.002	0.012± 0.002	0.011± 0.003	0.02 ± 0.006
Fructose	0.586 ± 0.045	0.482± 0.026	0.327± 0.178	0.236± 0.141	0.409± 0.157	1.813 ± 0.146	1.581± 0.052	1.49 ± 0.046	1.569± 0.128	1.507± 0.029
Fumaric acid	0.994 ± 0.136	0.952± 0.032	1.162± 0.091	0.916± 0.068	0.868± 0.025	0.786 ± 0.134	1.125± 0.055	1.042± 0.051	1.08 ± 0.059	1.074± 0.047
Glucoheptonic acid	1.036 ± 0.264	0.893± 0.025	1.133± 0.107	1.506± 0.069	1.093 ± 0.09	0.348 ± 0.056	0.901± 0.069	1.06± 0.029	1.029± 0.064	0.999± 0.008
Gluconic acid	1.537 ± 1.182	2.768± 2.242	1.022± 0.548	1.097± 0.698	0.974± 0.338	0.32 ± 0.042	0.559± 0.022	0.556± 0.042	0.559± 0.038	0.609± 0.018
Glyceric acid	1.243 ± 0.264	1.285± 0.077	1.414± 0.079	1.065± 0.062	0.934± 0.047	0.482 ± 0.057	0.929± 0.042	0.839 ± 0.07	0.88 ± 0.056	0.928± 0.048
Glycerol	0.793 ± 0.487	0.67± 0.019	1.144± 0.095	1.605± 0.163	0.867± 0.182	1.197 ± 0.036	0.866± 0.087	0.924± 0.101	0.965± 0.068	0.966 ± 0.07
Glycerol 1-phosphate	1.069 ± 0.122	0.956± 0.019	1.145± 0.043	0.998± 0.055	0.929± 0.087	0.517 ± 0.125	1.065± 0.075	1.079± 0.083	1.111± 0.062	1.13 ± 0.014
Glycine	0.709 ± 0.209	0.849± 0.014	0.795± 0.076	1.114± 0.135	0.798± 0.038	0.185 ± 0.053	1.091± 0.197	1.646± 0.108	1.425± 0.081	1.388± 0.098
Glycolic acid	0.495 ± 0.053	0.518± 0.038	0.548± 0.033	0.46 ± 0.024	0.471± 0.031	1.147 ± 0.118	1.595± 0.027	1.682± 0.046	1.598± 0.081	1.487± 0.046
Heptadecanoic acid	1.18 ± 0.077	0.833± 0.025	0.907± 0.038	0.84 ± 0.025	1.069± 0.058	1.943 ± 0.037	0.906± 0.081	0.724± 0.077	0.825± 0.024	0.772± 0.043
Hypotaurine	1.487 ± 0.15	1.036± 0.026	1.205± 0.072	1.503± 0.113	1.385± 0.063	0.421 ± 0.054	0.684± 0.019	0.813 ± 0.06	0.696± 0.092	0.769± 0.048
Isoleucine	1.22 ± 0.276	0.727± 0.063	0.835± 0.071	0.992± 0.144	1.036± 0.199	0.618 ± 0.088	1.156 ± 0.06	1.153± 0.047	1.058± 0.078	1.205± 0.115
Isomaltose	1.413 ± 0.081	0.862± 0.011	1.082± 0.058	1.23 ± 0.04	1.276± 0.071	1.192 ± 0.09	0.756± 0.044	0.655± 0.041	0.745± 0.066	0.789± 0.072
L-(+) lactic acid	0.496 ± 0.056	0.508± 0.031	0.546± 0.033	0.517± 0.048	0.473± 0.032	1.157 ± 0.119	1.592± 0.036	1.627± 0.048	1.598 ± 0.08	1.487± 0.044
Lactamide	0.438 ± 0.136	1.086± 0.049	0.795± 0.098	0.57 ± 0.099	0.939± 0.169	1.627 ± 0.256	1.051± 0.026	1.078± 0.048	1.198± 0.066	1.218± 0.025
Lactulose	2.137 ± 0.09	1.205± 0.377	1.511± 0.059	1.632± 0.236	1.587± 0.237	0.205 ± 0.069	0.415± 0.161	0.29± 0.082	0.361± 0.138	0.652± 0.234

Metabolitler	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
L-alanine	0.666 ± 0.055	0.335± 0.037	0.358± 0.018	0.42± 0.054	0.483± 0.053	2.245 ± 0.248	1.084± 0.075	1.511± 0.132	1.14 ± 0.101	1.748± 0.057
L-canavanine	1.813 ± 0.501	1.472± 0.213	1.624± 0.109	2.123± 0.228	1.7 ± 0.369	0.138 ± 0.072	0.239± 0.023	0.285 ± 0.02	0.358± 0.085	0.248± 0.132
Leucine	1.401 ± 0.341	0.772± 0.063	0.909± 0.076	1.021± 0.056	1.152± 0.233	0.546 ± 0.08	1.03 ± 0.054	1.059± 0.061	0.989± 0.054	1.12 ± 0.1
L-glutamic acid	0.218 ± 0.1	0.936± 0.082	0.871± 0.126	0.71 ± 0.014	0.336± 0.086	0.103 ± 0.008	1.848± 0.176	1.578± 0.178	1.903± 0.075	1.497± 0.065
L-methionine	1.171 ± 0.072	0.993± 0.014	0.983 ± 0.04	0.919± 0.036	1.069± 0.064	1.301 ± 0.079	0.976± 0.054	0.868± 0.031	0.806± 0.017	0.915± 0.101
L-norleucine	0.518 ± 0.246	0.8 ± 0.031	0.823± 0.048	0.793 ± 0.04	0.779± 0.103	0.894 ± 0.442	1.443± 0.036	0.968± 0.484	1.474± 0.084	1.506± 0.039
L-ornithine	0.305 ± 0.091	0.267± 0.079	0.267± 0.058	0.499± 0.087	0.448± 0.118	0.213 ± 0.036	0.627± 0.198	3.068 ± 0.66	2.012± 0.318	2.294± 0.307
L-proline	1.26 ± 0.5	0.747± 0.051	0.75 ± 0.051	2.046± 0.747	1.219± 0.552	0.329 ± 0.094	0.893± 0.039	1.021 ± 0.06	0.867± 0.034	0.867± 0.032
L-pyroglutamic acid	0.926 ± 0.152	0.822± 0.032	0.937± 0.049	1.002± 0.055	0.862± 0.056	0.387 ± 0.053	1.155 ± 0.06	1.292± 0.074	1.323± 0.089	1.294± 0.055
L-serine	1.703 ± 0.598	0.959± 0.248	1.107± 0.107	2.14 ± 0.594	1.283± 0.322	0.187 ± 0.035	0.573± 0.069	0.781± 0.141	0.556± 0.051	0.71 ± 0.093
L-threonine	1.506 ± 0.483	0.698± 0.148	1.017± 0.142	1.652± 0.274	1.095± 0.298	0.215 ± 0.049	0.857± 0.101	1.071± 0.106	0.924± 0.097	0.964± 0.061
L-tryptophan	1.369 ± 0.233	1.023± 0.081	1.131 ± 0.08	1.17 ± 0.116	1.225 ± 0.06	0.697 ± 0.07	0.763± 0.066	0.864± 0.085	0.842 ± 0.07	0.915± 0.038
L-tyrosine	0.877 ± 0.053	0.762± 0.046	0.718± 0.018	0.714 ± 0.04	0.821± 0.052	1.154 ± 0.073	1.225± 0.044	1.204± 0.068	1.228± 0.073	1.297± 0.032
L-valine	1.197 ± 0.203	1.079± 0.051	1.254± 0.084	1.708± 0.141	1.111± 0.205	0.231 ± 0.195	0.882± 0.099	0.887± 0.074	0.736± 0.059	0.915± 0.202
Lysine	0.733 ± 0.121	0.5 ± 0.054	0.441 ± 0.03	0.848± 0.076	0.803± 0.042	0.333 ± 0.111	1.393± 0.105	1.763± 0.135	1.586± 0.091	1.599± 0.056
Malonic acid	1.924 ± 0.725	1.025± 0.111	1.563± 0.126	1.923± 0.231	1.307± 0.316	0.878 ± 0.227	0.299± 0.007	0.322± 0.024	0.432± 0.023	0.329 ± 0.03
Maltose	1.098 ± 0.017	1.504± 0.134	1.649± 0.072	1.646± 0.209	1.975± 0.095	0.491 ± 0.025	0.362± 0.039	0.321± 0.026	0.403± 0.097	0.551± 0.106
Methyl-beta-D-galactopyranoside	1.272 ± 0.53	0.93 ± 0.072	0.855± 0.052	0.808± 0.123	0.842± 0.052	0.652 ± 0.103	0.997± 0.062	1.091± 0.057	1.217± 0.052	1.338± 0.037

Metabolitler	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Myo-inositol	1.148 ± 0.103	0.984± 0.01	1.108± 0.052	1.054± 0.037	1.02 ± 0.021	0.488 ± 0.243	1.049± 0.042	1.013± 0.032	1.039± 0.052	1.098± 0.027
Myristic acid	1.162 ± 0.046	0.877± 0.009	0.975 ± 0.01	0.911± 0.046	1.082± 0.048	1.705 ± 0.076	0.941± 0.118	0.713± 0.057	0.83 ± 0.045	0.804± 0.028
N-acetyl-L-aspartic acid	0.961 ± 0.197	0.764± 0.014	0.857± 0.061	0.742 ± 0.02	0.766± 0.064	0.672 ± 0.165	1.154± 0.085	1.269± 0.131	1.378± 0.123	1.437± 0.072
N-acetyl-L-glutamic acid	0.519 ± 0.311	1.093± 0.01	0.28 ± 0.017	0.444± 0.172	0.985± 0.034	1.332 ± 0.199	1.504± 0.046	1.137± 0.124	1.349± 0.039	1.358± 0.056
N-ethylglycine	0.194 ± 0.093	0.483 ± 0.42	1.148± 0.446	0.671± 0.331	0.534± 0.262	0.288 ± 0.035	1.703± 0.299	0.952± 0.707	1.489± 0.775	2.538± 0.329
Nicotinamide	1.612 ± 0.036	1.047± 0.046	1.115 ± 0.07	1.584± 0.167	1.541± 0.213	1.135 ± 0.307	0.386± 0.058	0.555 ± 0.05	0.507± 0.065	0.52 ± 0.037
Norepinephrine (noradrenalin)	1.823 ± 0.118	0.983± 0.115	1.281 ± 0.13	1.409 ± 0.12	1.255± 0.153	0.391 ± 0.06	0.709± 0.166	0.675 ± 0.05	0.612± 0.046	0.86 ± 0.087
Oxalic acid	5.183 ± 2.615	0.013± 0.008	0.049± 0.003	0.033± 0.002	0.023± 0.002	4.246 ± 4.19	0.104 ± 0.01	0.127± 0.021	0.113± 0.012	0.11 ± 0.012
Palatinitol	1.681 ± 0.166	1.586± 0.032	2.009± 0.087	1.717± 0.014	1.644± 0.091	0.16 ± 0.008	0.261 ± 0.05	0.256± 0.025	0.288± 0.042	0.399 ± 0.09
Palmitic acid	0.997 ± 0.071	0.821± 0.047	0.784 ± 0.02	0.781 ± 0.03	0.938± 0.031	2.173 ± 0.135	1.051 ± 0.19	0.766 ± 0.07	0.824± 0.012	0.865± 0.025
Pantothenic acid	1.092 ± 0.094	0.792± 0.017	1.096± 0.064	1.005 ± 0.03	0.938± 0.075	1.256 ± 0.292	0.889± 0.014	0.908± 0.059	1.022± 0.043	1.002± 0.023
Phenylalanine	1.394 ± 0.122	1.016± 0.04	1.093± 0.056	1.076± 0.015	1.121± 0.047	1.157 ± 0.094	0.853± 0.063	0.695± 0.048	0.764± 0.015	0.829 ± 0.08
Phenyl-beta-glucopyranoside	1.615 ± 0.209	1.219± 0.285	1.691± 0.137	1.711± 0.12	1.332± 0.225	1.522 ± 0.731	0.184± 0.034	0.22 ± 0.005	0.21 ± 0.032	0.296± 0.061
Phosphoric acid	0 ± 0	1.689± 1.678	1.649± 1.616	1.723± 1.488	0.066± 0.066	0.001 ± 0	0.055± 0.054	1.662± 1.621	1.411± 1.406	1.743± 1.556
Proline	1.236 ± 0.414	0.762± 0.053	0.972± 0.091	1.457± 0.228	0.973± 0.229	0.237 ± 0.066	1.121± 0.083	0.85 ± 0.407	1.132± 0.046	1.259± 0.079
Purine riboside	1.169 ± 0.09	0.804± 0.044	1.061± 0.044	1.125± 0.032	1.047± 0.098	0.795 ± 0.117	0.894± 0.066	0.953 ± 0.09	1.064± 0.049	1.088± 0.014
Pyridoxine	0.968 ± 0.073	0.745± 0.036	0.784± 0.032	0.776± 0.046	0.911± 0.024	1.877 ± 0.448	0.912± 0.035	0.906± 0.049	1.062± 0.046	1.059± 0.052
Ribitol	1.03 ± 0.094	0.779± 0.003	0.985± 0.046	0.989± 0.035	0.945 ± 0.07	0.782 ± 0.067	1.109± 0.038	1.043 ± 0.09	1.207± 0.048	1.131± 0.021

Metabolitler	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Ribose	0.772 ± 0.026	0.254± 0.003	0.332± 0.077	0.659± 0.075	0.615± 0.037	5.11 ± 1.673	0.537± 0.031	0.549± 0.046	0.585± 0.034	0.587± 0.014
Sarcosine	0.314 ± 0.051	0.392± 0.272	0.306± 0.163	0.717± 0.124	0.328± 0.097	1.364 ± 0.559	3.727± 1.849	0.193± 0.084	0.179± 0.024	2.481± 1.986
Stearic acid	1.091 ± 0.138	0.876± 0.042	0.851± 0.036	0.836± 0.034	0.991± 0.038	2.005 ± 0.11	0.997± 0.188	0.744± 0.068	0.767± 0.02	0.842± 0.015
Succinic acid	0.681 ± 0.222	0.793± 0.018	1.061± 0.065	1.004± 0.046	0.887± 0.055	0.791 ± 0.07	1.137± 0.024	1.124± 0.091	1.292± 0.069	1.229± 0.024
Sucrose	1.607 ± 0.366	1.47 ± 0.042	2.377± 0.188	1.721± 0.126	1.42 ± 0.363	0.172 ± 0.076	0.235± 0.041	0.263± 0.007	0.338± 0.056	0.396± 0.081
Tagatose	0.564 ± 0.052	0.513± 0.023	0.551± 0.012	0.456± 0.013	0.545± 0.026	1.809 ± 0.134	1.451± 0.011	1.334± 0.038	1.391 ± 0.12	1.384± 0.032
Talose	1.411 ± 0.237	1.422± 0.008	1.116± 0.092	1.166± 0.083	1.498± 0.086	1.095 ± 0.551	0.685± 0.055	0.65 ± 0.016	0.468± 0.238	0.49 ± 0.247
Trans-4-hydroxy-L-proline	0.964 ± 0.142	0.937± 0.017	1.074± 0.057	1.058± 0.021	0.869± 0.048	0.661 ± 0.122	1.213± 0.064	0.97 ± 0.087	1.066± 0.017	1.189± 0.096
Uracil	0.652 ± 0.165	0.39 ± 0.072	0.513± 0.043	0.583± 0.068	0.512± 0.086	0.57 ± 0.121	3.77 ± 1.665	0.925± 0.091	1.251± 0.177	0.834± 0.014
Urea	0.380 ± 0.372	1.743± 0.844	0.049± 0.001	0.049± 0.006	2.013± 1.095	1.86 ± 0.441	0.012± 0.007	1.365± 0.737	1.636± 0.838	0.895± 0.888

*Normalize edilmiş verilerin ortalama ± standart sapma

Tablo 4.6. Ekstraselüler matrikse ait grupların istatistiksel olarak karşılaştırılmalarına ait p değerleri

Metabolitler	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
1,3-diaminopropane	0.095	0.090	0.833	0.443	**0.003**	**0.003**	**0.004**	**0.002**
2-hydroxybutyric acid	**0.002**	**0.001**	**0.000**	**0.000**	0.071	0.558	**0.005**	**0.009**
2-ketoisocaproic acid	0.565	0.472	0.328	0.530	0.946	0.606	0.806	0.856
3-hydroxy-3-methylglutaric acid (dicrotalic acid)	0.237	0.103	0.475	0.843	**0.006**	0.859	**0.023**	0.178
3-hydroxypropanoic acid	**0.001**	0.083	0.060	0.131	0.824	0.957	0.412	0.859
3-indolelactic acid	0.119	0.567	0.268	0.309	0.111	0.109	0.193	0.107
3-methyl-2-oxobutanoic acid	0.757	0.437	0.456	0.404	0.634	0.903	0.642	0.879
4-guanidinobutyric acid	0.345	0.464	0.307	0.440	**0.000**	0.361	**0.000**	**0.000**
5'-deoxy-5'-(methylthio)adenosine	**0.002**	**0.005**	0.186	0.381	**0.001**	**0.001**	**0.000**	**0.000**
6-hydroxyhexanoic acid	0.883	0.192	0.349	0.587	0.099	0.129	0.160	0.077
Acetoacetate	0.581	0.504	0.103	0.650	0.089	0.106	0.086	0.148
Alpha ketoglutaric acid	0.342	0.973	0.711	0.326	**0.007**	**0.020**	**0.008**	**0.006**
Alpha-D-glucosamine phosphate	0.059	**0.049**	0.650	0.934	**0.008**	**0.000**	**0.003**	**0.001**
Arabitol	**0.034**	0.374	0.136	0.157	**0.031**	0.119	**0.028**	**0.012**
Aspartic acid	0.474	0.948	0.350	0.721	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.000**
Benzoic acid	0.434	0.343	0.346	0.300	0.427	0.450	0.559	0.532
Beta- alanine	0.154	0.244	0.895	0.408	**0.001**	**0.003**	**0.001**	**0.001**
Capric acid	0.107	0.645	0.301	0.341	**0.041**	**0.005**	**0.007**	**0.007**
Cholesterol	**0.024**	**0.015**	**0.050**	0.110	**0.006**	**0.001**	**0.018**	**0.009**
Cis-4-hydroxycyclohexanecarboxylic acid	0.051	**0.006**	0.173	0.976	**0.004**	**0.001**	**0.006**	**0.007**
Citric acid	0.845	0.495	0.432	0.515	0.053	**0.030**	**0.013**	**0.004**
Citrulline	0.961	0.243	0.832	0.589	0.107	**0.018**	0.092	**0.013**
Creatinine	**0.001**	**0.004**	**0.033**	0.504	**0.004**	**0.000**	**0.000**	**0.000**
D (+) galactose	0.600	0.941	0.994	0.528	0.486	0.121	0.191	0.063

Metabolitler	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
D-allose	0.905	0.450	0.446	0.855	**0.008**	**0.006**	**0.020**	**0.040**
Dehydroascorbic acid	0.646	0.721	0.491	0.872	0.293	0.250	0.059	**0.025**
D-glucosaminic acid	0.078	0.837	0.052	**0.048**	0.273	0.308	0.404	0.424
D-glucose	0.396	0.668	0.757	0.373	**0.008**	**0.005**	**0.012**	**0.026**
D-Glucose-6-phosphoric acid	0.794	**0.032**	0.315	0.257	**0.013**	**0.001**	**0.004**	**0.028**
DL-glyceraldehyde	0.430	0.130	0.549	0.406	0.488	0.985	0.127	0.082
DL-isoleucine	0.274	0.276	0.292	0.371	0.319	0.395	0.306	0.265
D-lyxose	**0.010**	**0.008**	**0.010**	**0.034**	0.088	0.374	0.111	0.511
D-malic acid	0.992	0.604	0.922	0.559	**0.005**	**0.016**	**0.009**	**0.005**
D-mannitol	0.536	0.987	0.968	0.553	**0.008**	**0.041**	**0.011**	**0.003**
D-sorbitol	0.069	0.514	0.422	0.248	**0.012**	0.054	**0.022**	**0.010**
D-threitol	**0.035**	0.651	0.800	0.625	0.095	0.157	**0.031**	**0.041**
Estradiol	**0.019**	**0.014**	0.380	0.641	**0.013**	**0.006**	**0.008**	0.085
Fructose	0.116	0.230	0.077	0.339	0.208	0.102	0.276	0.108
Fumaric acid	0.778	0.362	0.637	0.415	0.079	0.147	0.114	0.112
Glucoheptonic acid	0.620	0.750	0.160	0.847	**0.003**	**0.000**	**0.001**	**0.000**
Gluconic acid	0.652	0.713	0.764	0.671	**0.007**	**0.016**	**0.013**	**0.003**
Glyceric acid	0.884	0.568	0.548	0.314	**0.003**	**0.017**	**0.008**	**0.004**
Glycerol	0.818	0.518	0.189	0.894	**0.025**	0.063	**0.040**	**0.042**
Glycerol 1-phosphate	0.415	0.590	0.623	0.405	**0.020**	**0.020**	**0.013**	**0.008**
Glycine	0.540	0.716	0.179	0.695	**0.011**	**0.000**	**0.000**	**0.000**
Glycolic acid	0.747	0.449	0.578	0.710	**0.021**	**0.013**	**0.034**	0.055
Heptadecanoic acid	**0.013**	**0.034**	**0.014**	0.315	**0.000**	**0.000**	**0.000**	**0.000**
Hypotaurine	**0.041**	0.166	0.935	0.564	**0.010**	**0.008**	0.061	**0.009**
Isoleucine	0.157	0.249	0.504	0.617	**0.007**	**0.006**	**0.020**	**0.015**

Metabolitler	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Isomaltose	**0.003**	**0.030**	0.115	0.273	**0.012**	**0.005**	**0.016**	**0.025**
L-(+) lactic acid	0.861	0.485	0.783	0.739	**0.025**	**0.022**	**0.037**	0.060
Lactamide	**0.011**	0.101	0.479	0.082	0.088	0.102	0.179	0.186
Lactulose	0.074	**0.004**	0.117	0.096	0.295	0.459	0.369	0.141
L-alanine	**0.008**	**0.006**	**0.037**	0.075	**0.011**	0.059	**0.014**	0.122
L-canavanine	0.565	0.732	0.603	0.866	0.252	0.122	0.120	0.505
Leucine	0.144	0.232	0.334	0.579	**0.007**	**0.007**	**0.010**	**0.011**
L-glutamic acid	**0.005**	**0.015**	**0.008**	0.418	**0.001**	**0.001**	**0.000**	**0.000**
L-methionine	0.073	0.085	**0.036**	0.352	**0.028**	**0.007**	**0.004**	**0.040**
L-norleucine	0.319	0.290	0.331	0.384	0.284	0.916	0.267	0.240
L-ornithine	0.766	0.739	0.198	0.391	0.108	**0.012**	**0.005**	**0.003**
L-proline	0.365	0.368	0.431	0.959	**0.005**	**0.003**	**0.006**	**0.006**
L-pyroglutamic acid	0.539	0.950	0.665	0.712	**0.001**	**0.001**	**0.001**	**0.000**
L-serine	0.315	0.382	0.631	0.570	**0.007**	**0.015**	**0.004**	**0.006**
L-threonine	0.185	0.386	0.806	0.509	**0.005**	**0.002**	**0.003**	**0.001**
L-tryptophan	0.233	0.387	0.485	0.580	0.532	0.203	0.216	0.052
L-tyrosine	0.179	**0.048**	0.071	0.496	0.451	0.643	0.515	0.149
L-valine	0.602	0.810	0.108	0.779	**0.041**	**0.035**	0.068	0.071
Lysine	0.153	0.079	0.468	0.616	**0.002**	**0.001**	**0.001**	**0.001**
Malonic acid	0.287	0.649	0.999	0.479	0.063	0.071	0.122	0.074
Maltose	**0.039**	**0.002**	0.059	**0.001**	**0.048**	**0.009**	0.427	0.609
Methyl-beta-D-galactopyranoside	0.557	0.477	0.441	0.464	**0.046**	**0.020**	**0.008**	**0.003**
Myo-inositol	0.189	0.751	0.441	0.290	0.085	0.099	0.091	0.067
Myristic acid	**0.004**	**0.017**	**0.018**	0.298	**0.006**	**0.000**	**0.001**	**0.000**
N-acetyl-L-aspartic acid	0.376	0.642	0.331	0.401	0.060	**0.047**	**0.026**	**0.013**

Metabolitler	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
N-acetyl-L-glutamic acid	0.139	0.486	0.842	0.211	0.448	0.454	0.937	0.906
N-ethylglycine	0.537	0.104	0.238	0.287	**0.009**	0.402	0.196	**0.002**
Nicotinamide	**0.001**	**0.003**	0.876	0.759	0.074	0.136	0.116	0.117
Norepinephrine (noradrenalin)	**0.007**	**0.036**	0.069	**0.042**	0.147	**0.022**	**0.043**	**0.011**
Oxalic acid	0.119	0.121	0.120	0.120	0.379	0.381	0.380	0.379
Palatinitol	0.601	0.155	0.841	0.852	0.117	**0.021**	**0.040**	0.057
Palmitic acid	0.106	**0.044**	**0.048**	0.491	**0.009**	**0.001**	**0.001**	**0.001**
Pantothenic acid	**0.036**	0.976	0.427	0.269	0.277	0.308	0.473	0.435
Phenylalanine	**0.042**	0.088	0.061	0.105	0.055	**0.012**	**0.014**	0.056
Phenyl-beta-glucopyranoside	0.324	0.778	0.712	0.408	0.142	0.150	0.148	0.170
Phosphoric acid	0.371	0.365	0.311	0.374	0.370	0.363	0.372	0.326
Proline	0.319	0.567	0.664	0.607	**0.001**	0.211	**0.000**	**0.001**
Purine riboside	**0.022**	0.338	0.668	0.407	0.502	0.345	0.102	0.068
Pyridoxine	0.052	0.082	0.090	0.501	0.098	0.098	0.145	0.144
Ribitol	0.056	0.690	0.699	0.506	**0.013**	0.080	**0.007**	**0.008**
Ribose	**0.000**	**0.006**	0.225	**0.025**	0.052	0.053	0.054	0.054
Sarcosine	0.790	0.965	**0.040**	0.906	0.288	0.107	0.101	0.617
Stearic acid	0.210	0.168	0.147	0.525	**0.010**	**0.001**	**0.000**	**0.000**
Succinic acid	0.642	0.176	0.227	0.419	**0.009**	**0.044**	**0.007**	**0.004**
Sucrose	0.729	0.135	0.783	0.735	0.509	0.301	0.155	0.114
Tagatose	0.427	0.822	0.116	0.769	0.056	**0.027**	0.081	**0.037**
Talose	0.965	0.310	0.385	0.748	0.500	0.465	0.355	0.373
Trans-4-hydroxy-L-proline	0.856	0.513	0.548	0.560	**0.016**	0.108	**0.030**	**0.027**
Uracil	0.219	0.462	0.720	0.493	0.128	0.079	**0.034**	0.096
Urea	0.214	0.424	0.424	0.231	**0.014**	0.596	0.825	0.386

Tablo 4.7. Intraselüler matrikse ait metabolitler ve bağıl derişimleri*

Metabolit	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
10-hydroxydecanoic acid	1.508 ± 0.788	0.13 ± 0.028	0.894 ± 0.715	1.807 ± 0.359	1.686 ± 0.483	0.59 ± 0.259	1.963 ± 0.196	0.151± 0.016	0.952 ± 0.499	0.319 ± 0.134
2-butyne-1,4-diol	0.949 ± 0.003	0.927 ± 0.025	0.988± 0.047	1.043 ± 0.037	1.053 ± 0.055	1.065 ± 0.055	1.132 ± 0.042	0.949 ± 0.01	1.003 ± 0.029	0.891 ± 0.062
2-ketoisocaproic acid	1.555 ± 0.201	1.246± 0.441	1.668 ± 0.241	1.165 ± 0.035	1.414 ± 0.355	0.506 ± 0.077	0.483± 0.003	0.622 ± 0.036	0.573 ± 0.039	0.768 ± 0.03
2-keto-L-gulonic acid	2.027 ± 1.03	0.16 ± 0.02	1.189± 0.857	3.241 ± 0.692	2.409 ± 0.595	0.198 ± 0.041	0.392 ± 0.013	0.046 ± 0.012	0.231 ± 0.088	0.108 ± 0.06
Adenosine	1.055 ± 0.072	0.909 ± 0.812	0.564± 0.224	1.952 ± 0.591	1.51 ± 0.281	1.168 ± 0.053	0.511 ± 0.004	0.258 ± 0.093	0.739 ± 0.133	1.333 ± 0.223
Alpha-D-glucosamine phosphate	0.451 ± 0.088	0.335 ± 0.025	0.467 ± 0.029	0.636 ± 0.022	0.773 ± 0.143	1.38 ± 0.022	1.405 ± 0.106	1.489 ± 0.079	1.531 ± 0.03	1.533 ± 0.095
Alpha-glucosamine 1-phosphate	0.736 ± 0.007	0.352 ± 0.024	0.39 ± 0.101	0.747 ± 0.043	0.669 ± 0.054	1.324 ± 0.078	1.333 ± 0.111	1.41 ± 0.074	1.437 ± 0.049	1.601 ± 0.123
Arabitol	0.943 ± 0.075	1.04 ± 0.087	1.133 ± 0.042	0.874 ± 0.008	1.077 ± 0.185	0.863 ± 0.09	0.928 ± 0.032	1.146 ± 0.044	0.879 ± 0.09	1.116 ± 0.052
Aspartic acid	1.504 ± 0.477	1.053 ± 0.283	1.995 ± 0.354	2.538 ± 0.214	2.385 ± 0.126	0.081 ± 0.019	0.109 ± 0.004	0.135 ± 0.044	0.102 ± 0.007	0.098 ± 0.004
Benzoic acid	0.818 ± 0.112	0.644 ± 0.146	1.085 ± 0.392	1.938 ± 1.143	1.44 ± 0.719	1.769 ± 0.259	1.674 ± 0.237	1.6 ± 0.243	1.525 ± 0.211	1.404 ± 0.29
Beta-glycerolphosphate	0.395 ± 0.009	0.399 ± 0.018	0.402 ± 0.003	0.448 ± 0.02	0.385 ± 0.007	0.999 ± 0.061	0.683 ± 0.015	0.91 ± 0.216	0.724 ± 0.177	0.768 ± 0.035
Capric acid	0.906 ± 0.048	0.728 ± 0.086	1.034 ± 0.206	1.957 ± 1.095	1.291 ± 0.417	1.059 ± 0.121	0.68 ± 0.024	0.986 ± 0.193	0.802 ± 0.19	0.753 ± 0.147
Caprylic acid	0.739 ± 0.124	0.668 ± 0.027	1.024 ± 0.255	2.058 ± 1.412	1.231 ± 0.548	0.284 ± 0.105	1.203 ± 0.029	0.693 ± 0.294	0.54 ± 0.318	0.323 ± 0.207
Cholesterol	1.619 ± 0.133	1.294 ± 0.062	1.478 ± 0.039	1.32 ± 0.022	1.245 ± 0.183	0.214 ± 0.108	0.077 ± 0.024	0.093 ± 0.018	0.092 ± 0.025	0.322 ± 0.052
Citric acid	1.888 ± 0.025	1.103 ± 0.06	1.584 ± 0.309	2.397 ± 0.079	2.231 ± 0.522	2.097 ± 0.846	0.549 ± 0.004	0.822 ± 0.045	0.528 ± 0.032	0.798 ± 0.112
D (+) galactose	1.067 ± 0.148	1.389 ± 0.009	0.982 ± 0.041	0.85 ± 0.132	0.918 ± 0.17	0.394 ± 0.088	0.398 ± 0.009	0.557 ± 0.112	0.414 ± 0.04	0.566 ± 0.076
D-allose	1.601 ± 0.132	1.743 ± 0.079	1.542 ± 0.204	1.344 ± 0.239	1.442 ± 0.146	1.116 ± 0.172	1.24 ± 0.113	1.138 ± 0.081	1.305 ± 0.193	1.582 ± 0.217

Metabolit	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
D-glucosaminic acid	0.795 ± 0.039	0.662 ± 0.068	0.628 ± 0.101	0.782 ± 0.202	0.752 ± 0.067	0.145 ± 0.011	0.17 ± 0.024	0.26 ± 0.042	0.157 ± 0.002	0.27 ± 0.037
D-glucose	1.782 ± 0.322	2.356 ± 0.106	1.896 ± 0.096	1.434 ± 0.134	1.531 ± 0.216	0.37 ± 0.083	0.31 ± 0.071	0.229 ± 0.035	0.304 ± 0.08	0.351 ± 0.083
D-Glucose-6-phosphoric acid	1.231 ± 0.196	2.503 ± 0.35	1.954 ± 0.103	1.216 ± 0.128	1.531 ± 0.116	0.809 ± 0.121	0.909 ± 0.047	0.978 ± 0.029	0.827 ± 0.065	0.959 ± 0.029
DL-isoleucine	0.919 ± 0.03	1.272 ± 0.05	1.197 ± 0.062	1.044 ± 0.04	1.087 ± 0.067	0.206 ± 0.018	0.172 ± 0.003	0.214 ± 0.057	0.175 ± 0.011	0.196 ± 0.046
D-lyxose	1.67 ± 0.299	2.7 ± 0.146	1.725 ± 0.028	1.373 ± 0.167	1.568 ± 0.128	0.707 ± 0.081	0.543 ± 0.043	0.683 ± 0.072	0.489 ± 0.042	1.103 ± 0.188
D-malic acid	1.142 ± 0.28	0.879 ± 0.084	1.231 ± 0.061	1.607 ± 0.132	1.616 ± 0.2	0.887 ± 0.133	0.987 ± 0.013	1.152 ± 0.061	0.928 ± 0.087	1.107 ± 0.069
D-mannitol	0.932 ± 0.063	1.24 ± 0.048	1.049 ± 0.075	0.827 ± 0.027	0.892 ± 0.069	0.765 ± 0.077	0.903 ± 0.043	0.943 ± 0.028	0.834 ± 0.121	0.87 ± 0.026
D-sorbitol	1.089 ± 0.056	1.278 ± 0.043	1.192 ± 0.044	1.013 ± 0.054	1.112 ± 0.094	0.779 ± 0.106	0.919 ± 0.026	1.005 ± 0.051	0.845 ± 0.077	0.972 ± 0.037
D-threitol	0.895 ± 0.011	1.25 ± 0.15	1.164 ± 0.044	1.112 ± 0.095	1.06 ± 0.123	0.616 ± 0.069	0.781 ± 0.017	0.995 ± 0.052	0.696 ± 0.076	0.82 ± 0.021
Fructose	1.134 ± 0.138	1.55 ± 0.034	1.294 ± 0.075	1.019 ± 0.056	1.095 ± 0.103	0.915 ± 0.048	0.725 ± 0.029	0.803 ± 0.103	0.623 ± 0.146	0.901 ± 0.093
Fumaric acid	1.149 ± 0.143	1.127 ± 0.107	1.13 ± 0.134	1.349 ± 0.136	1.277 ± 0.048	1.169 ± 0.132	1.121 ± 0.083	1.11 ± 0.068	1.161 ± 0.063	1.274 ± 0.122
Glucoheptonic acid	0.842 ± 0.052	0.741 ± 0.009	0.814 ± 0.022	0.889 ± 0.077	0.88 ± 0.055	0.156 ± 0.004	0.168 ± 0.023	0.134 ± 0.013	0.142 ± 0.048	0.213 ± 0.03
Gluconic acid	2.105 ± 0.213	1.993 ± 0.166	2.072 ± 0.269	1.737 ± 0.307	1.28 ± 0.376	0.51 ± 0.077	0.764 ± 0.015	1.136 ± 0.063	0.694 ± 0.106	1.286 ± 0.108
Glutamic acid	1.011 ± 0.073	0.931 ± 0.051	1.009 ± 0.047	1.165 ± 0.055	1.496 ± 0.383	2.12 ± 0.387	1.88 ± 0.341	1.823 ± 0.447	1.791 ± 0.3	1.402 ± 0.44
Glycerol 1-phosphate	0.199 ± 0.014	0.173± 0.023	0.185 ± 0.003	0.223 ± 0.015	0.202 ± 0.02	0.705 ± 0.102	0.71 ± 0.068	1.109 ± 0.07	0.68 ± 0.04	0.895 ± 0.136
Glycine	0.792 ± 0.124	0.929 ± 0.075	1.31 ± 0.077	1.506 ± 0.433	1.364 ± 0.166	0.705 ± 0.102	0.71 ± 0.068	1.109 ± 0.07	0.68 ± 0.04	0.895 ± 0.136
Glycolic acid	0.376 ± 0.036	0.459 ± 0.043	0.409 ± 0.042	0.288 ± 0.049	0.361 ± 0.053	1.183 ± 0.046	1.726 ± 0.071	1.997 ± 0.085	1.71 ± 0.111	1.491 ± 0.297
Heptadecanoic acid	1.004 ± 0.045	0.753 ± 0.064	0.817 ± 0.007	1.062 ± 0.158	0.922 ± 0.09	0.984 ± 0.078	0.979 ± 0.004	1.168 ± 0.08	1.145 ± 0.081	1.166 ± 0.097

Metabolit	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Hydrocinnamic acid	0.815 ± 0.102	0.72 ± 0.15	1.303 ± 0.551	3.096 ± 2.26	1.686 ± 0.937	0.706 ± 0.142	0.381 ± 0.028	0.592 ± 0.257	0.404 ± 0.251	0.299 ± 0.03
Isoleucine	0.832 ± 0.024	1.152 ± 0.035	1.112 ± 0.083	1.058 ± 0.096	1.043 ± 0.059	0.881 ± 0.134	0.978 ± 0.049	1.029 ± 0.037	0.898 ± 0.077	1.017 ± 0.038
L-(-)-fucose	0.731 ± 0.102	0.879 ± 0.106	0.715 ± 0.165	0.985 ± 0.11	0.721 ± 0.063	1.374 ± 0.14	1.221 ± 0.121	1.287 ± 0.109	1.107 ± 0.174	0.981 ± 0.166
L-(+) lactic acid	0.334 ± 0.028	0.476 ± 0.012	0.423 ± 0.024	0.307 ± 0.019	0.359 ± 0.037	1.409 ± 0.186	1.6 ± 0.086	1.887 ± 0.091	1.584 ± 0.208	1.62 ± 0.166
Lactamide	0.946 ± 0.059	0.744 ± 0.07	0.945 ± 0.083	0.799 ± 0.066	0.906 ± 0.025	1.183 ± 0.045	1.267 ± 0.066	1.053 ± 0.073	1.148 ± 0.188	1.009 ± 0.057
L-alanine	0.251 ± 0.013	0.378 ± 0.025	0.324 ± 0.013	0.344 ± 0.03	0.334 ± 0.029	1.36 ± 0.071	1.599 ± 0.102	1.628 ± 0.043	1.741 ± 0.092	2.043 ± 0.139
L-glutamic acid	1.152 ± 0.303	1.062 ± 0.464	2.504 ± 0.454	2.756 ± 0.975	1.868 ± 0.614	0.156 ± 0.024	0.151 ± 0.024	0.103 ± 0.018	0.149 ± 0.014	0.099 ± 0.009
L-proline	0.482 ± 0.011	0.766 ± 0.044	0.838 ± 0.064	0.82 ± 0.091	0.748 ± 0.01	1.17 ± 0.22	1.244 ± 0.125	1.355 ± 0.09	1.155 ± 0.114	1.421 ± 0.084
L-pyroglutamic acid	1.16 ± 0.27	1.602 ± 0.475	2.323 ± 0.312	2.678 ± 0.036	1.982 ± 0.086	0.055 ± 0.03	0.037 ± 0.009	0.141 ± 0.073	0.008 ± 0.003	0.014 ± 0.005
L-serine	0.776 ± 0.007	0.798 ± 0.055	0.732 ± 0.07	0.694 ± 0.005	0.721 ± 0.048	0.952 ± 0.074	1.066 ± 0.074	1.418 ± 0.057	1.102 ± 0.11	1.741 ± 0.232
Malonic acid	0.992 ± 0.011	0.873 ± 0.07	0.959 ± 0.078	1.007 ± 0.024	1.092 ± 0.071	1.121 ± 0.061	1.175 ± 0.07	0.949 ± 0.015	1.048 ± 0.072	0.784 ± 0.133
Myo-inositol	0.918 ± 0.065	0.795 ± 0.017	0.917 ± 0.034	0.907 ± 0.081	0.979 ± 0.042	1.146 ± 0.152	1.093 ± 0.101	1.053 ± 0.081	1.103 ± 0.106	1.09 ± 0.114
Myristic acid	1.027 ± 0.003	0.823 ± 0.077	0.898 ± 0.013	1.047 ± 0.124	0.883 ± 0.105	0.942 ± 0.066	0.912 ± 0.035	1.209 ± 0.039	1.057 ± 0.11	1.202 ± 0.086
N-acetyl-L-aspartic acid	0.723 ± 0.051	0.797 ± 0.021	0.841 ± 0.011	0.903 ± 0.09	0.893 ± 0.028	0.872 ± 0.329	1.061 ± 0.103	1.507 ± 0.534	0.97 ± 0.395	1.434 ± 0.148
N-acetyl-L-glutamic acid	1.504 ± 0.104	1.687 ± 0.22	1.647 ± 0.18	2.094 ± 0.264	2.008 ± 0.429	0.113 ± 0.05	0.051 ± 0.027	0.371 ± 0.222	0.002 ± 0	0.522 ± 0.26
Oxalic acid	0.973 ± 0.058	0.789 ± 0.051	0.925 ± 0.037	0.99 ± 0.034	1.073 ± 0.087	1.26 ± 0.001	1.011 ± 0.026	1.021 ± 0.096	1.046 ± 0.172	0.912 ± 0.181
Palmitic acid	1.132 ± 0.011	0.939 ± 0.12	1.045 ± 0.013	1.051 ± 0.046	1.015 ± 0.045	0.995 ± 0.003	0.826 ± 0.002	0.984 ± 0.013	0.967 ± 0.083	1.047 ± 0.076
Palmitoleic acid	1.214 ± 0.093	0.741 ± 0.019	0.644 ± 0.135	1.099 ± 0.145	0.866 ± 0.018	1.25 ± 0.165	1.112 ± 0.105	1.158 ± 0.134	0.9 ± 0.068	1.017 ± 0.104

Metabolit	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Pantothenic acid	0.952 ± 0.011	1.008 ± 0.037	1.089 ± 0.014	1.076 ± 0.064	1.07 ± 0.033	0.868 ± 0.066	0.84 ± 0.006	0.833 ± 0.066	1.002 ± 0.046	1.261 ± 0.158
Phenylalanine	1.145 ± 0.125	1.765 ± 0.453	2.137 ± 0.166	1.993 ± 0.374	1.744 ± 0.074	0.191 ± 0.104	0.335 ± 0.032	0.326 ± 0.161	0.179 ± 0.086	0.185 ± 0.027
Phosphoric acid	0.972 ± 0.018	0.971 ± 0.014	0.964 ± 0.006	0.965 ± 0.034	0.998 ± 0.016	0.959 ± 0.025	1.059 ± 0.033	1.017 ± 0.037	1.055 ± 0.056	1.04 ± 0.04
Ribitol	0.941 ± 0.075	1.038 ± 0.087	1.13 ± 0.042	0.9 ± 0.035	1.074 ± 0.185	0.863 ± 0.086	0.916 ± 0.033	1.149 ± 0.047	0.878 ± 0.091	1.112 ± 0.05
Ribose	0.377 ± 0.051	0.535 ± 0.066	0.442 ± 0.026	0.446 ± 0.016	0.504 ± 0.053	1.181 ± 0.136	1.171 ± 0.036	1.92 ± 0.25	1.273 ± 0.043	2.152 ± 0.457
Serine	1.276 ± 0.092	1.23 ± 0.191	1.467 ± 0.144	1.585 ± 0.304	1.467 ± 0.067	0.547 ± 0.03	0.515 ± 0.062	0.758 ± 0.16	0.499 ± 0.104	0.655 ± 0.103
Stearic acid	1.144 ± 0.04	0.93 ± 0.105	1.003 ± 0.026	1.041 ± 0.032	0.979 ± 0.03	0.969 ± 0.001	0.903 ± 0.011	0.96 ± 0.014	1.016 ± 0.056	1.056 ± 0.091
Succinic acid	0.913 ± 0.012	1.118 ± 0.045	1.234 ± 0.065	1.17 ± 0.064	1.091 ± 0.065	0.965 ± 0.03	0.862 ± 0.01	0.95 ± 0.023	0.844 ± 0.042	0.852 ± 0.026
Sucrose	1.418 ± 0.189	1.082 ± 0.247	1.15 ± 0.238	0.806 ± 0.099	1.77 ± 1.09	0.913 ± 0.342	0.528 ± 0.039	0.824 ± 0.192	0.738 ± 0.324	0.772 ± 0.112
Tagatose	1.117 ± 0.15	1.547 ± 0.041	1.296 ± 0.074	1.01 ± 0.055	1.083 ± 0.098	0.643 ± 0.068	0.792 ± 0.013	1.012 ± 0.06	0.692 ± 0.07	0.807 ± 0.024
Threonine	0.824 ± 0.077	1.035 ± 0.034	1.15 ± 0.05	1.176 ± 0.039	1.162 ± 0.056	0.865 ± 0.091	0.915 ± 0.049	0.917 ± 0.092	0.852 ± 0.125	1.103 ± 0.087
Trans-4-hydroxy-L-proline	1.047 ± 0.269	1.743 ± 0.482	2.492 ± 0.305	2.088 ± 0.22	2.044 ± 0.066	0.008 ± 0.003	0.01 ± 0	0.542 ± 0.27	0.013 ± 0	0.013 ± 0.001
Uracil	0.773 ± 0.073	0.666 ± 0.038	0.777 ± 0.076	0.907 ± 0.157	1.064 ± 0.128	0.792 ± 0.126	0.981 ± 0.075	1.558 ± 0.084	1.172 ± 0.091	1.311 ± 0.327
Valin	0.991 ± 0.036	1.291 ± 0.051	1.221 ± 0.081	1.251 ± 0.205	1.164 ± 0.038	0.75 ± 0.097	0.804 ± 0.024	0.918 ± 0.024	0.752 ± 0.054	0.859 ± 0.052

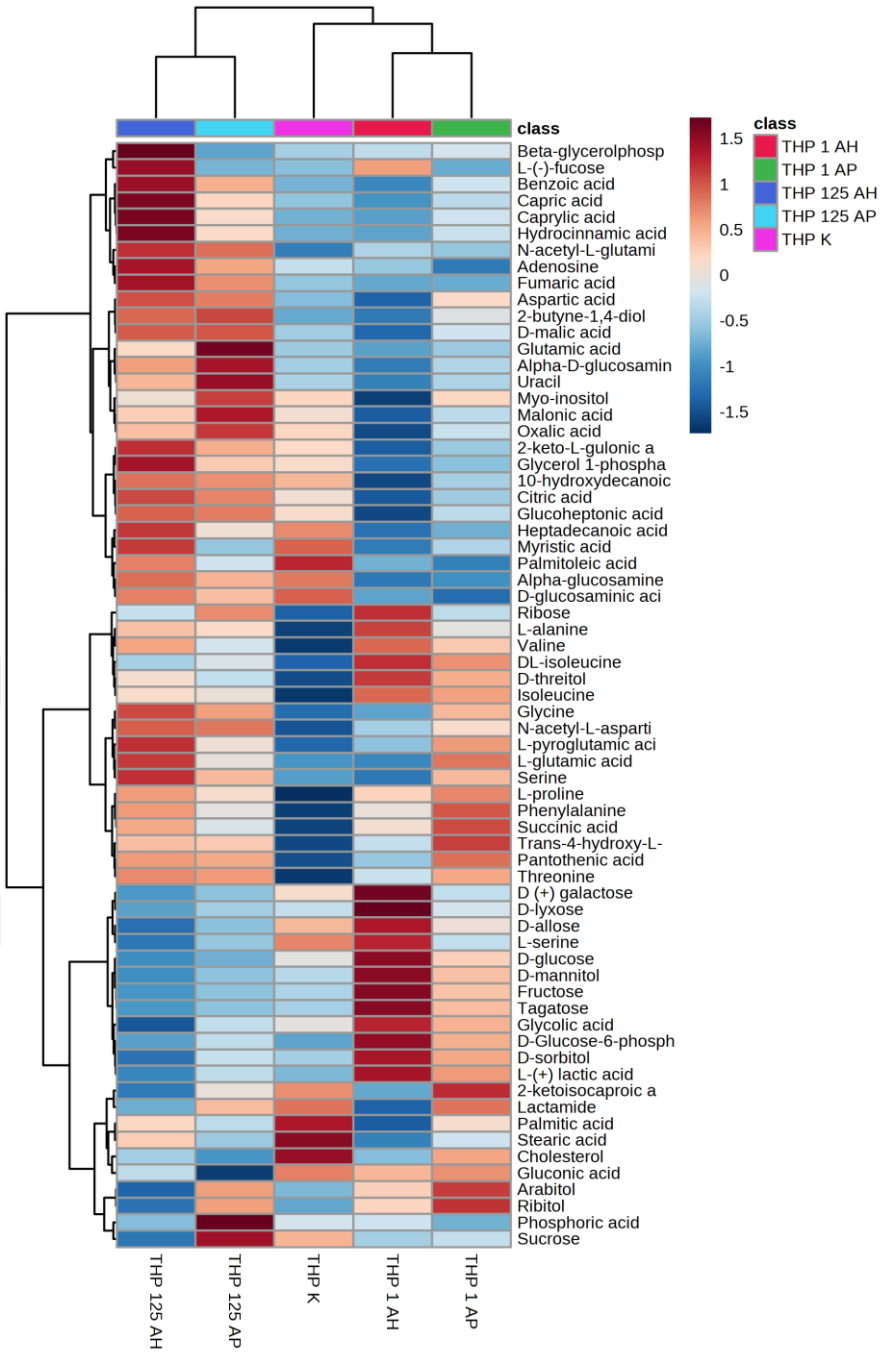
Tablo 4.8. İntraselüler matrikse ait grupların istatistiksel olarak karşılaştırılmalarına ait p değerleri

Metabolit	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
10-hydroxydecanoic acid	0.156	0.595	0.748	0.856	**0.013**	0.166	0.554	0.405
2-butyne-1,4-diol	0.428	0.457	0.065	0.133	0.392	0.110	0.380	0.105
2-ketoisocaproic acid	0.559	0.736	0.129	0.749	0.781	0.242	0.481	**0.034**
2-keto-L-gulonic acid	0.144	0.566	0.383	0.764	**0.011**	**0.025**	0.752	0.286
Adenosine	0.867	0.105	0.206	0.192	**0.000**	**0.001**	**0.040**	0.511
Alpha-D-glucosamine phosphate	0.272	0.876	0.111	0.128	0.825	0.253	**0.015**	0.190
Alpha-glucosamine 1-phosphate	**0.000**	**0.027**	0.809	0.291	0.953	0.469	0.286	0.129
Arabitol	0.447	0.091	0.407	0.540	0.533	**0.047**	0.903	0.071
Aspartic acid	0.462	0.455	0.119	0.149	0.225	0.321	0.354	0.424
Benzoic acid	0.397	0.548	0.385	0.441	**0.040**	0.114	0.275	**0.027**
Beta-glycerolphosphate	0.859	0.479	0.075	0.441	0.798	0.658	0.504	0.400
Capric acid	0.146	0.578	0.392	0.411	**0.007**	0.710	0.216	**0.030**
Caprylic acid	0.600	0.372	0.405	0.431	**0.037**	0.765	0.318	0.184
Cholesterol	0.092	0.368	0.091	0.175	**0.001**	0.260	0.487	0.875
Citric acid	**0.000**	0.382	**0.004**	0.547	0.284	0.334	0.335	0.421
D (+) galactose	0.095	0.609	0.335	0.545	0.141	0.207	0.137	0.202
D-allose	0.408	0.821	0.400	0.467	0.963	0.317	0.842	0.211
D-glucosaminic acid	0.163	0.195	0.952	0.608	0.582	0.915	0.507	0.168

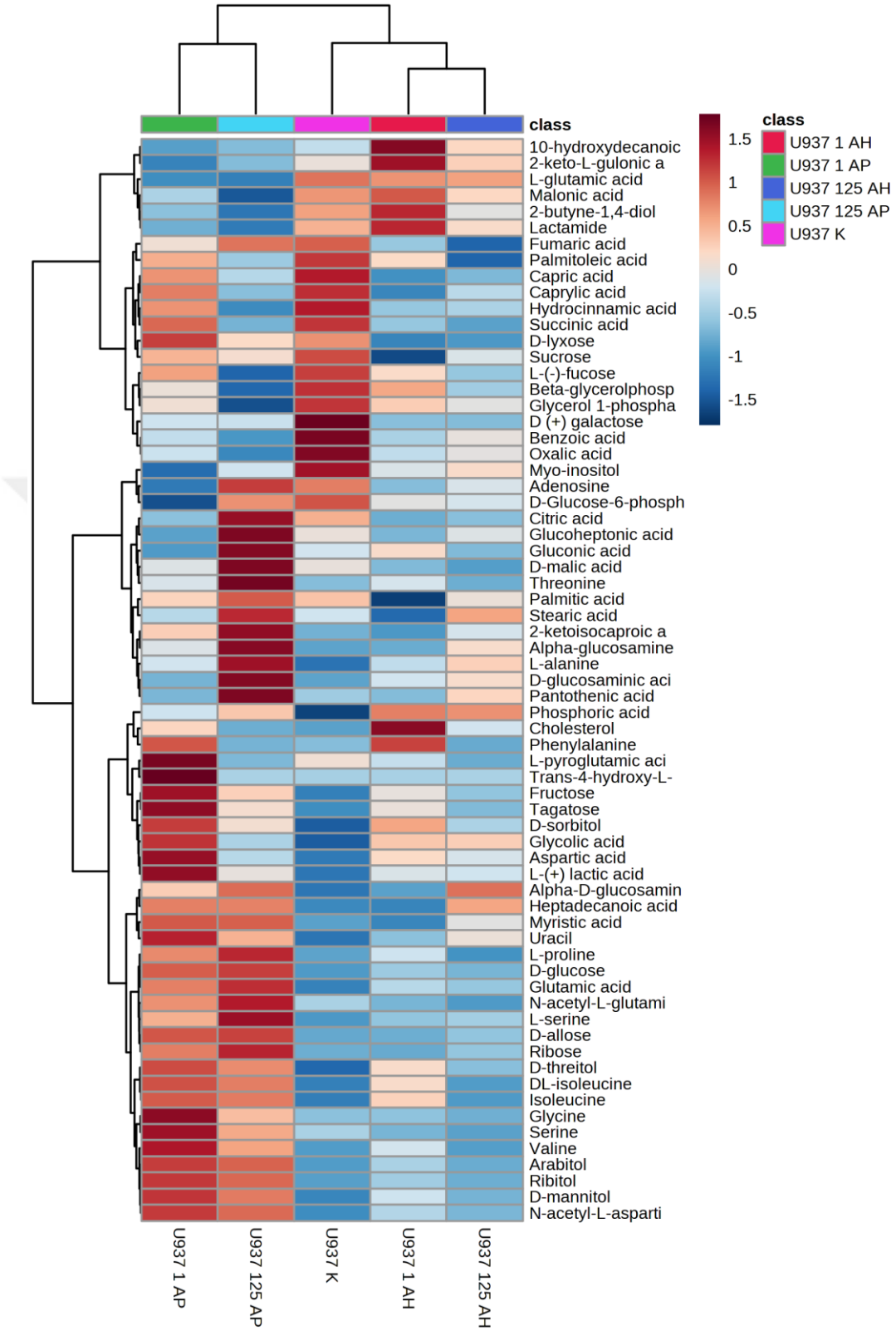
Metabolit	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
D-glucose	0.166	0.752	0.374	0.552	0.412	0.057	0.334	**0.032**
D-Glucose-6-phosphoric acid	**0.034**	**0.031**	0.950	0.259	0.613	0.193	0.597	0.878
DL-isoleucine	**0.004**	**0.015**	0.066	0.083	0.483	0.246	0.901	0.295
D-lyxose	**0.036**	0.863	0.433	0.767	0.137	0.894	0.220	0.854
D-malic acid	0.420	0.769	0.207	0.240	0.145	0.837	0.074	0.124
D-mannitol	**0.018**	0.300	0.203	0.688	0.499	0.146	0.811	0.218
D-sorbitol	0.055	0.223	0.380	0.848	0.197	0.097	0.657	0.269
D-threitol	0.078	**0.004**	0.087	0.252	0.267	0.126	0.637	0.160
Fructose	**0.043**	0.367	0.483	0.832	0.082	**0.012**	0.478	**0.049**
Fumaric acid	0.908	0.926	0.368	0.444	**0.028**	0.379	0.130	0.901
Glucoheptonic acid	0.131	0.651	0.639	0.639	0.775	0.714	0.961	0.589
Gluconic acid	0.700	0.927	0.380	0.129	0.651	0.168	0.775	0.133
Glutamic acid	0.423	0.985	0.167	0.281	**0.032**	**0.003**	0.231	**0.004**
Glycerol 1-phosphate	0.385	0.374	0.312	0.901	0.665	0.642	0.539	0.288
Glycine	0.400	**0.024**	0.188	0.051	0.970	**0.031**	0.834	0.325
Glycolic acid	0.217	0.585	0.221	0.827	**0.003**	**0.001**	**0.012**	0.363
Heptadecanoic acid	**0.033**	**0.015**	0.745	0.462	0.952	0.173	0.221	0.216
Hydrocinnamic acid	0.628	0.433	0.370	0.408	0.088	0.717	0.354	**0.049**
Isoleucine	**0.002**	**0.031**	0.085	**0.029**	0.534	0.347	0.922	0.385

Metabolit	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
L-(-)-fucose	0.371	0.936	0.166	0.938	0.456	0.651	0.298	0.146
L-(+) lactic acid	**0.010**	0.074	0.470	0.628	0.404	0.082	0.564	0.445
Lactamide	0.093	0.993	0.173	0.573	0.356	0.203	0.865	0.075
L-alanine	**0.011**	**0.018**	**0.046**	0.062	0.128	**0.033**	**0.031**	**0.012**
L-glutamic acid	0.878	0.069	0.191	0.355	0.882	0.147	0.798	0.089
L-proline	**0.003**	**0.006**	**0.021**	**0.000**	0.785	0.480	0.955	0.347
L-pyroglutamic acid	0.463	**0.048**	**0.005**	**0.044**	0.588	0.334	0.193	0.246
L-serine	0.714	0.566	**0.001**	0.320	0.336	**0.008**	0.323	**0.031**
Malonic acid	0.170	0.699	0.610	0.235	0.591	0.051	0.482	0.083
Myo-inositol	0.143	0.992	0.925	0.473	0.787	0.618	0.826	0.785
Myristic acid	0.057	**0.001**	0.877	0.244	0.702	**0.025**	0.419	0.075
N-acetyl-L-aspartic acid	0.253	0.085	0.156	**0.043**	0.613	0.369	0.859	0.194
N-acetyl-L-glutamic acid	0.494	0.527	0.106	0.317	0.327	0.321	0.087	0.197
Oxalic acid	0.077	0.522	0.810	0.395	**0.001**	0.067	0.284	0.127
Palmitic acid	0.185	**0.007**	0.161	0.065	**0.000**	0.481	0.756	0.523
Palmitoleic acid	**0.007**	**0.025**	0.537	**0.021**	0.518	0.686	0.122	0.298
Pantothenic acid	0.223	**0.001**	0.132	**0.028**	0.689	0.726	0.172	0.083
Phenylalanine	0.258	**0.009**	0.098	**0.015**	0.255	0.519	0.936	0.957
Phosphoric acid	0.979	0.699	0.872	0.342	0.074	0.268	0.193	0.164

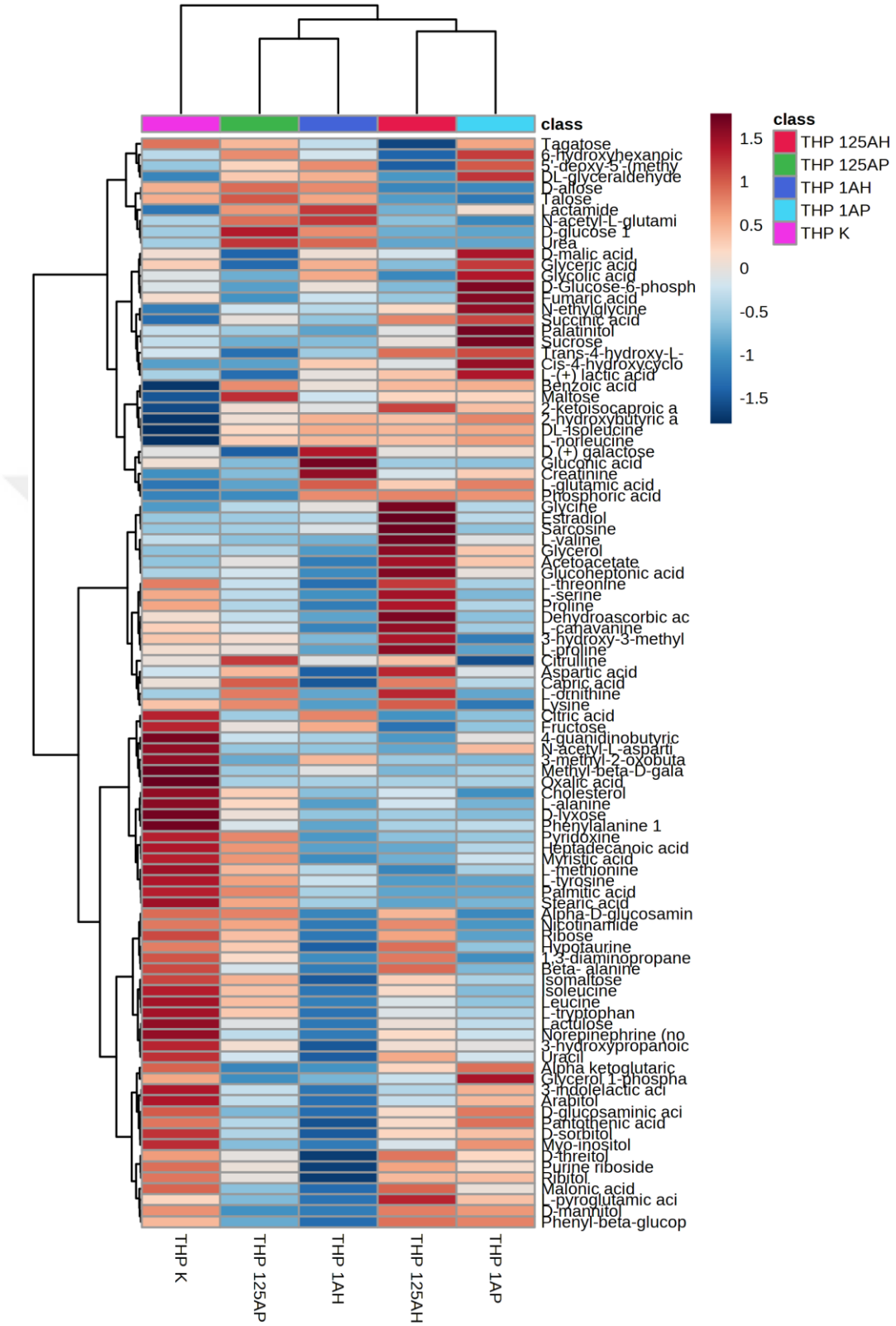
Metabolit	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Ribitol	0.446	0.091	0.648	0.540	0.594	**0.043**	0.911	0.066
Ribose	0.132	0.321	0.271	0.160	0.947	0.060	0.553	0.112
Serine	0.838	0.327	0.387	0.169	0.668	0.266	0.677	0.373
Stearic acid	0.130	**0.041**	0.113	**0.029**	**0.004**	0.562	0.456	0.395
Succinic acid	**0.012**	**0.008**	**0.016**	0.054	**0.031**	0.702	0.079	**0.047**
Sucrose	0.340	0.428	**0.045**	0.766	0.326	0.832	0.729	0.716
Tagatose	0.051	0.345	0.539	0.858	0.097	**0.015**	0.640	0.085
Threonine	0.066	**0.024**	**0.015**	**0.024**	0.656	0.708	0.935	0.131
Trans-4-hydroxy-L-proline	0.276	**0.024**	**0.040**	**0.023**	0.534	0.119	0.154	0.164
Uracil	0.265	0.970	0.483	0.119	0.267	**0.007**	0.071	0.213
Valine	**0.009**	0.061	0.281	**0.029**	0.617	0.168	0.990	0.377



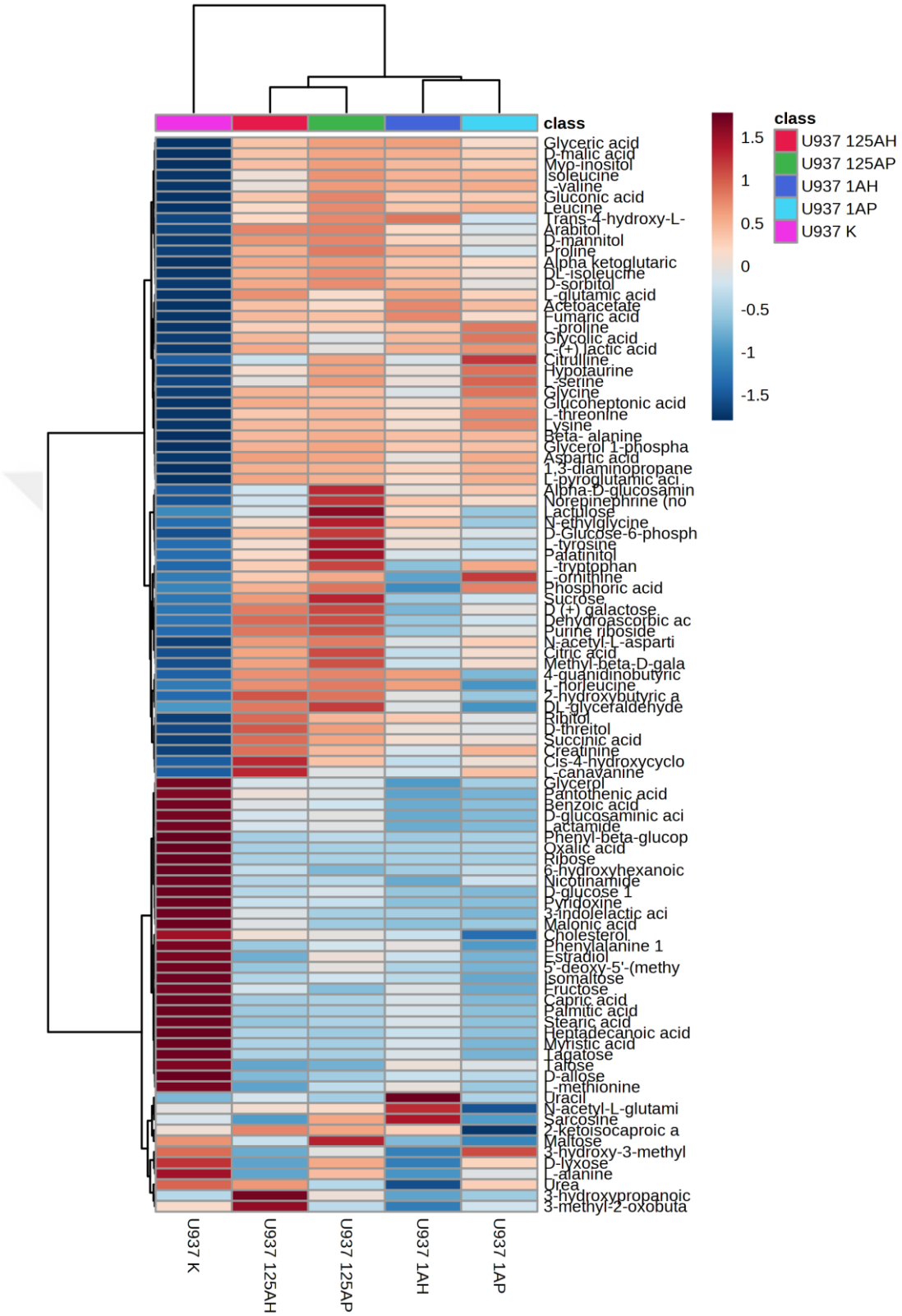
Şekil 4.5. THP hücre hattından adjuvan etkisine bağlı olarak elde edilen intraselüler metabolitlere ait sıcak harita grafikleri.



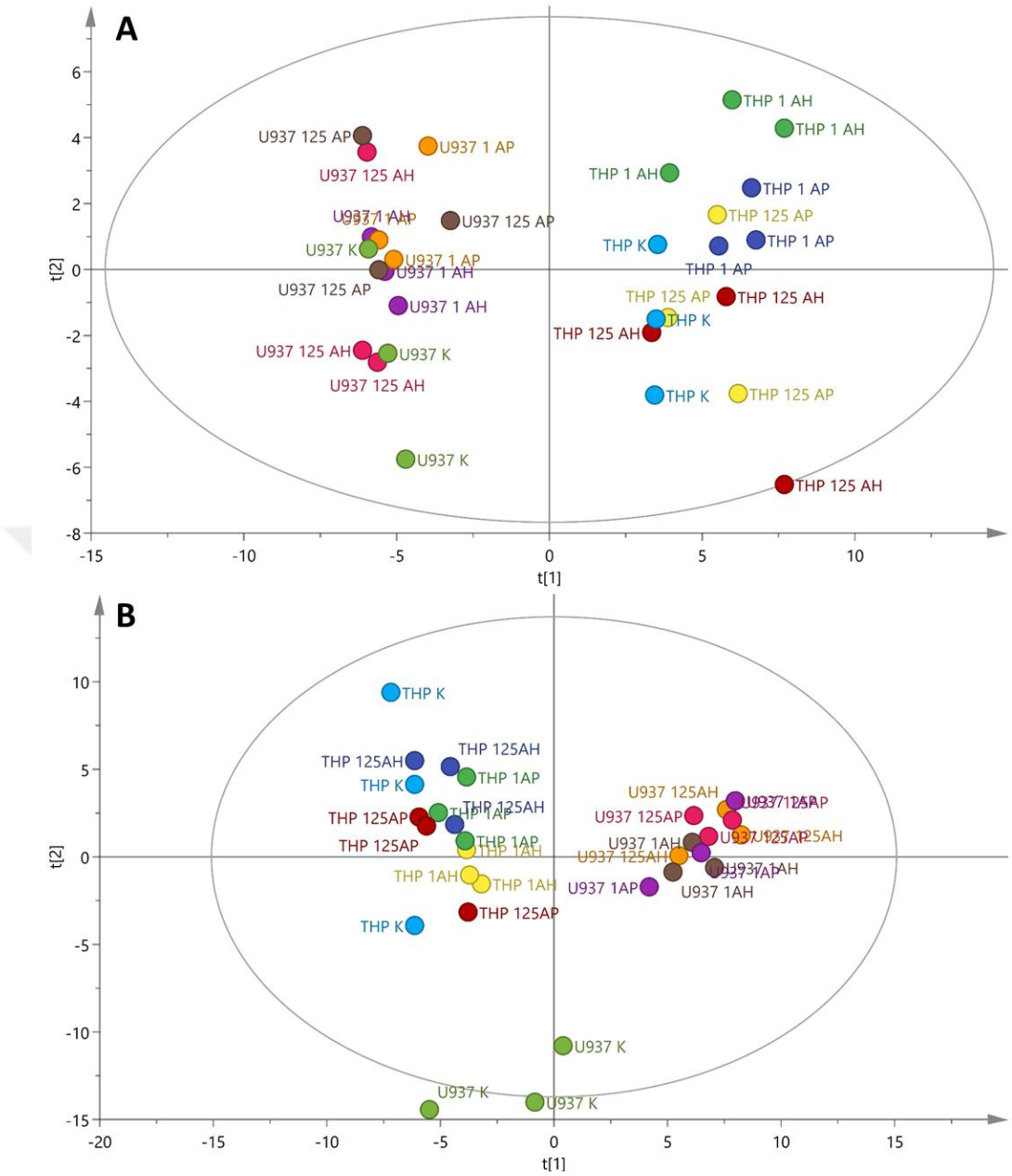
Şekil 4.6. U937 hücre hatından adjucan etkisine bağlı olarak elde intraselüler metabolitlere ait sıcak harita grafikleri.



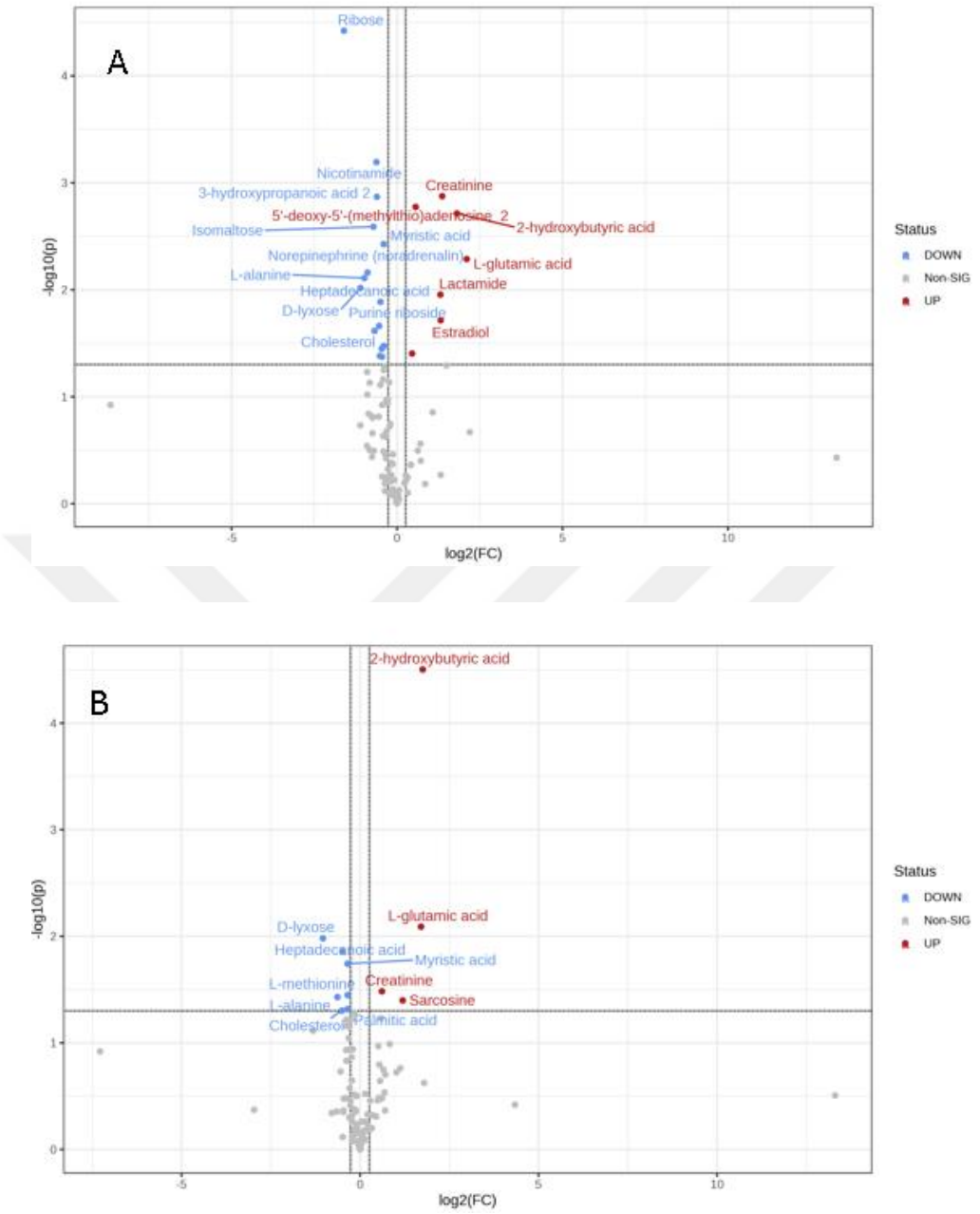
Şekil 4.7. THP hücre hatından adjuvan etkisine bağlı olarak elde ekstraselüler metabolitlere ait sıcak harita grafikleri.



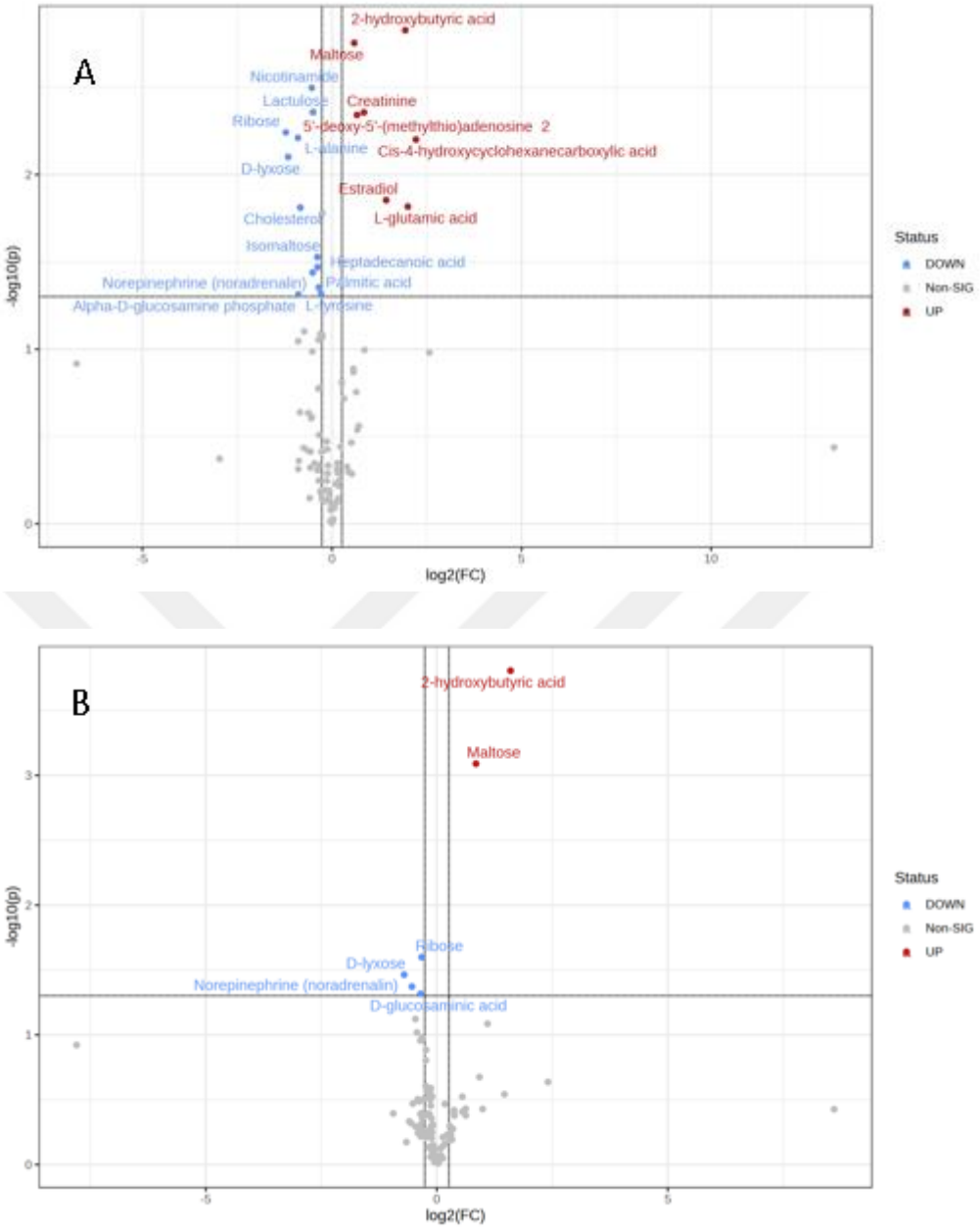
Şekil 4.8. U937 hücre hatından adjuvan etkisine bağlı olarak elde ekstraselüler metabolitlere ait sıcak harita grafikleri.



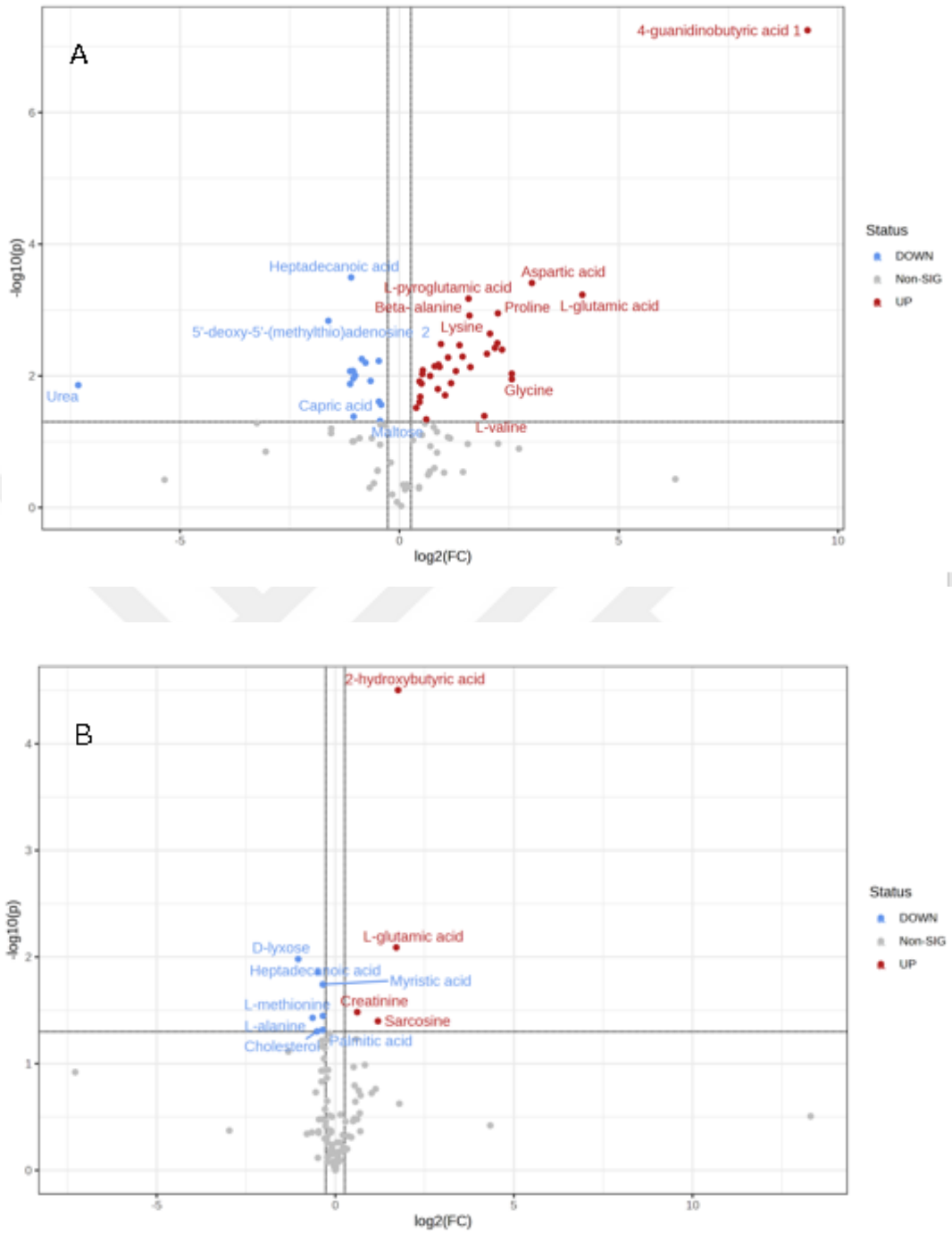
Şekil 4.9. Intraselüler(A) ve ekstraselüler(B) metabolomiks verilerine ait PCA grafikleri.



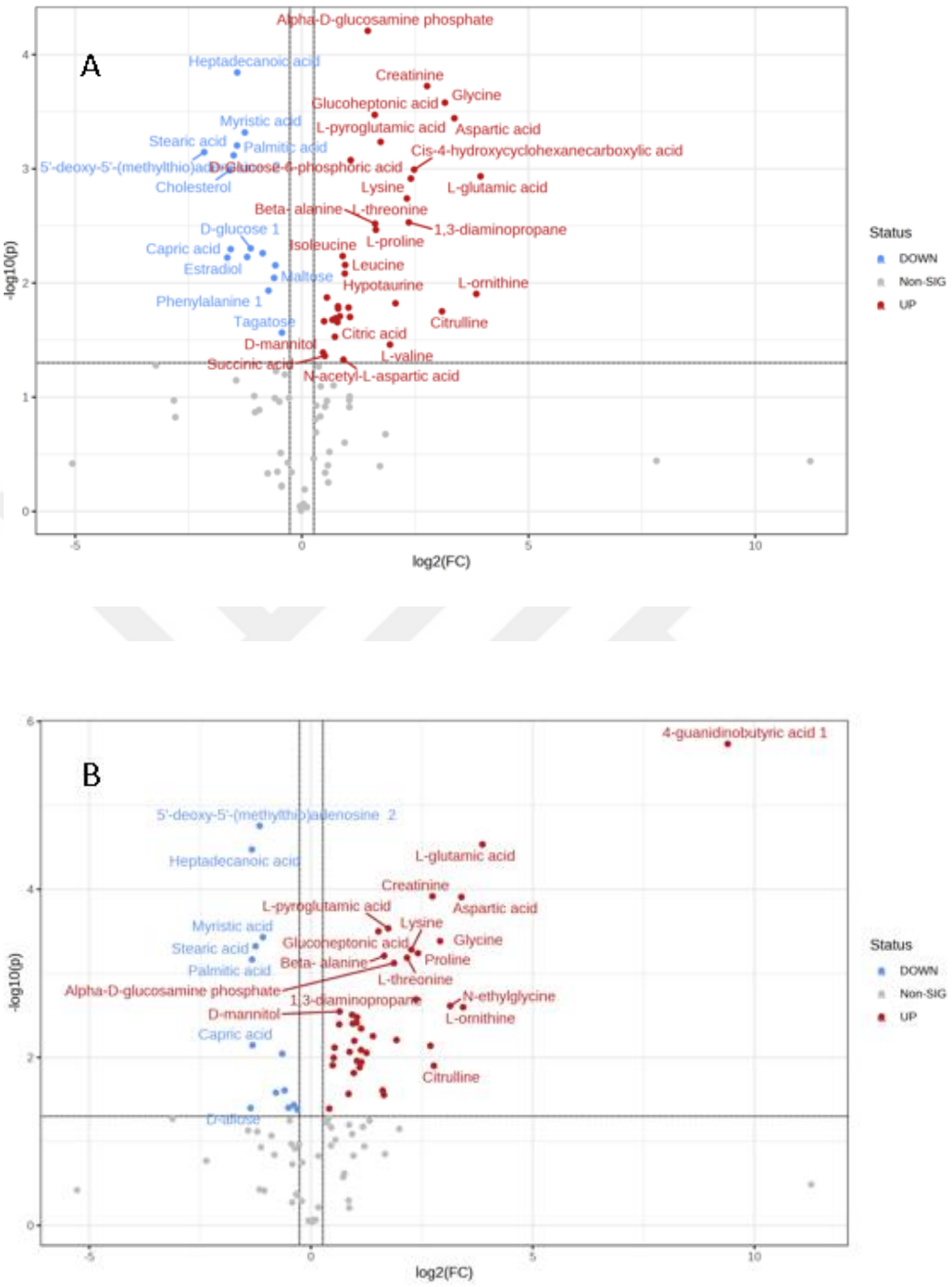
Şekil 4.10. THP hücre hatlarında AH dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AH, B) 0.125 mM AH



Şekil 4.11. THP hücre hatlarında AP dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AP, B) 0.125 mM AP

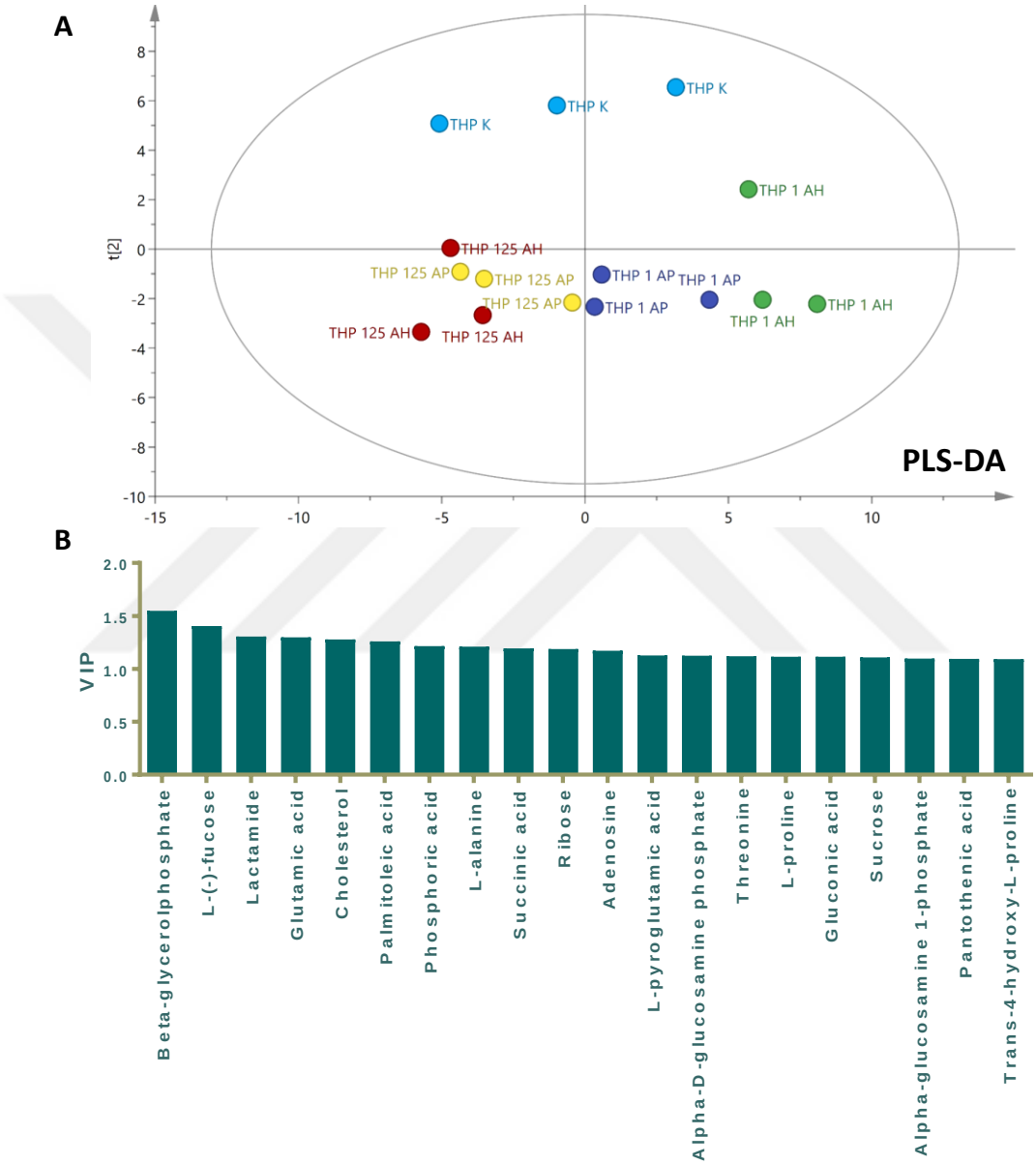


Şekil 4.12. U937 hücre hatlarında AH dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AH, B) 0.125 mM AH

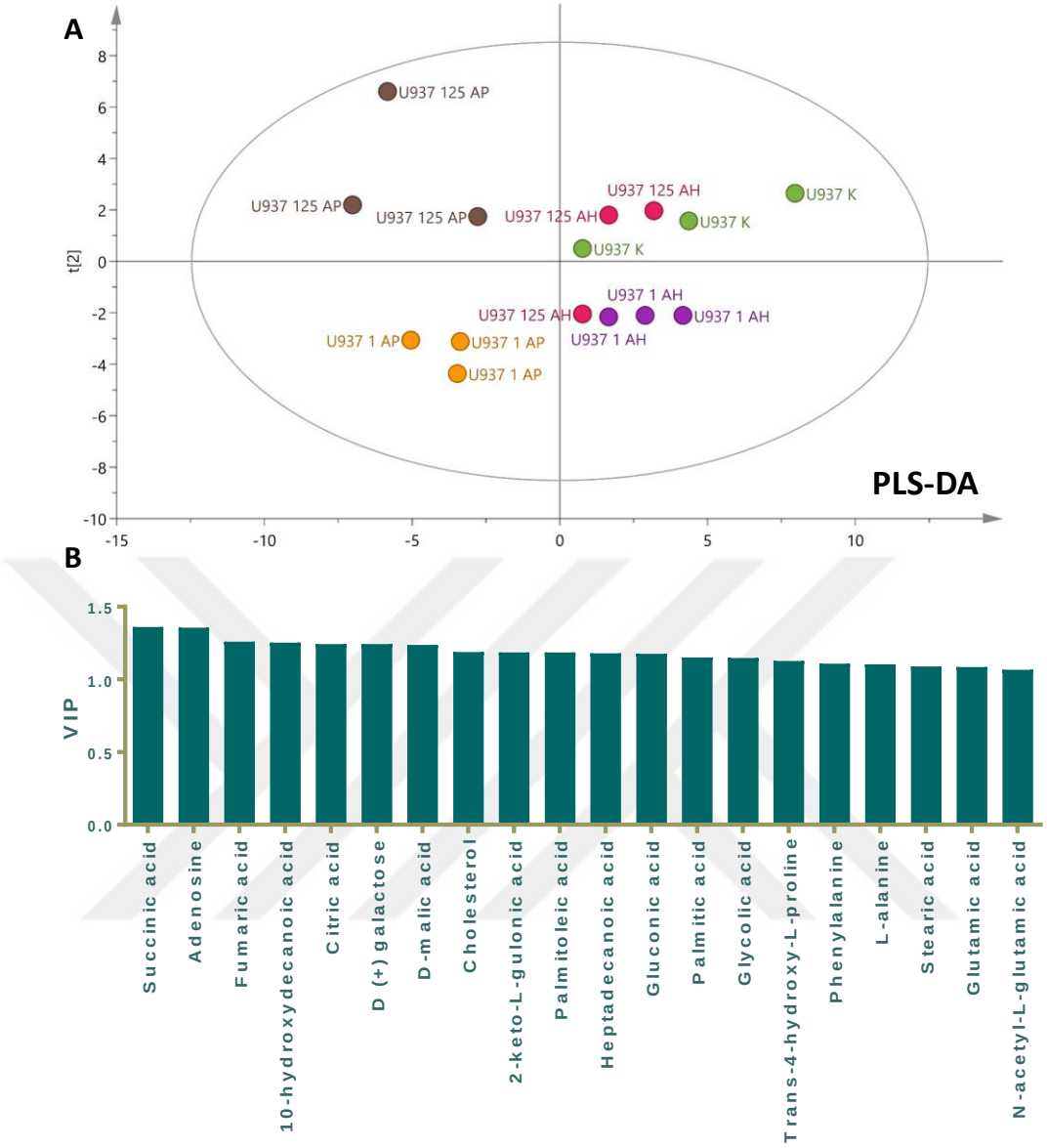


Şekil 4.13. U937 hücre hatlarında AP dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AP, B) 0.125 mM AP

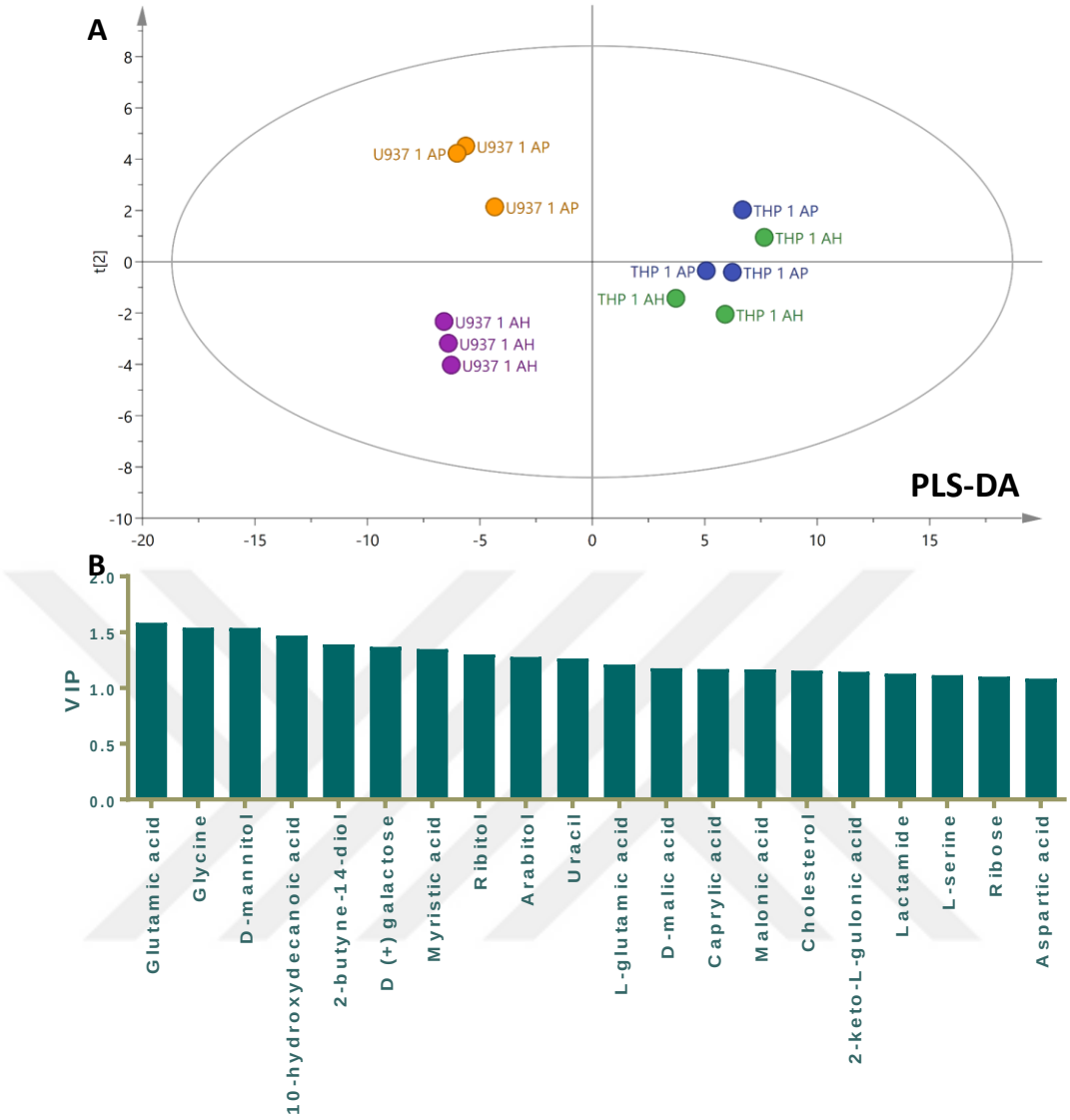
Grupların ayırılmasında önemli olan metabolitler tespit edilmesi için ve en küçük karaler farklılaştırma analizleri (PLS-DA) gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda elde edilen skor grafikleri ve VIP grafikleri Şekil 4.14-4.15 verilmiştir.



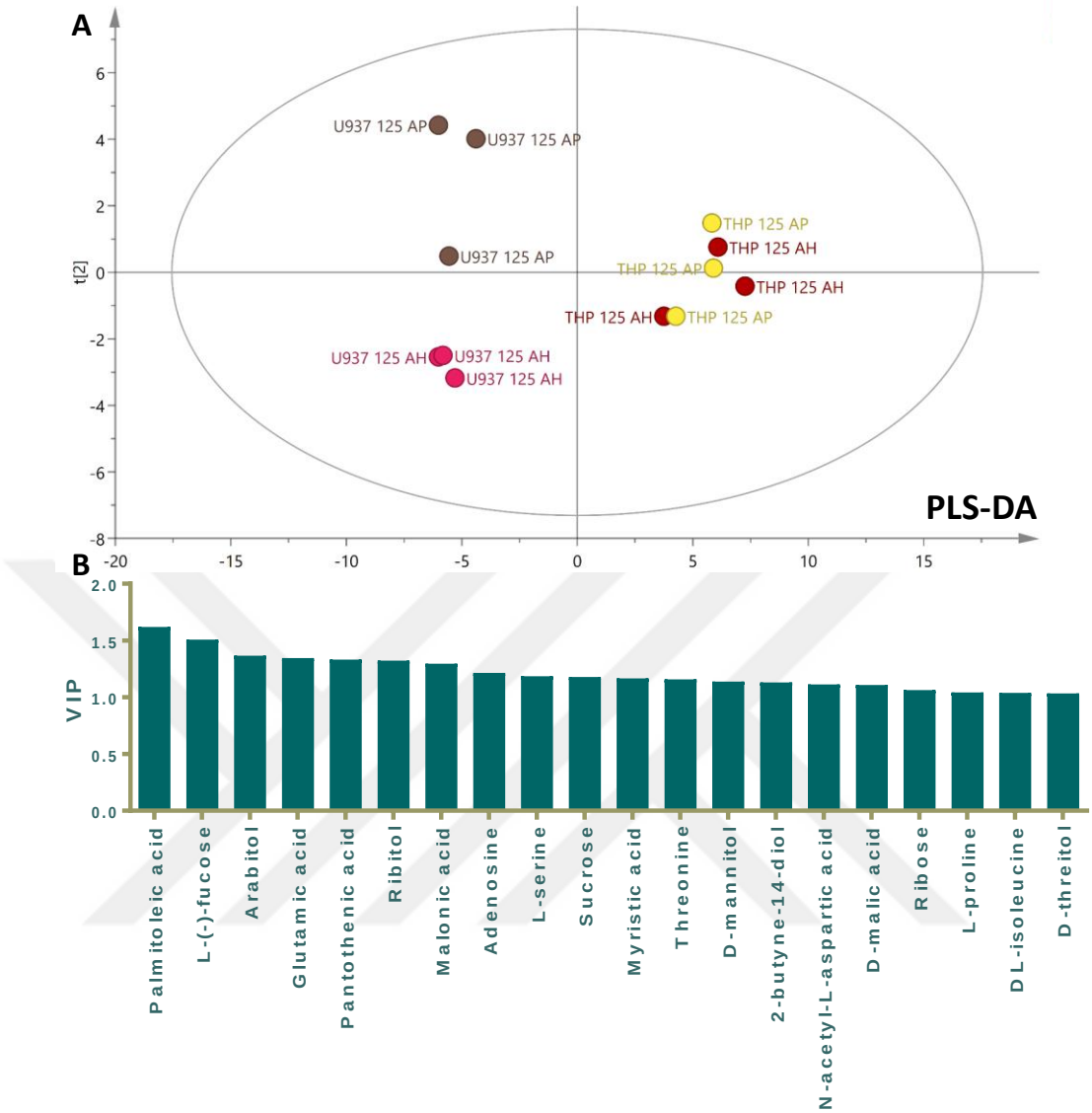
Şekil 4.14. THP hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen intraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.972 ve Q^2: 0.512) ve B) VIP grafiği.



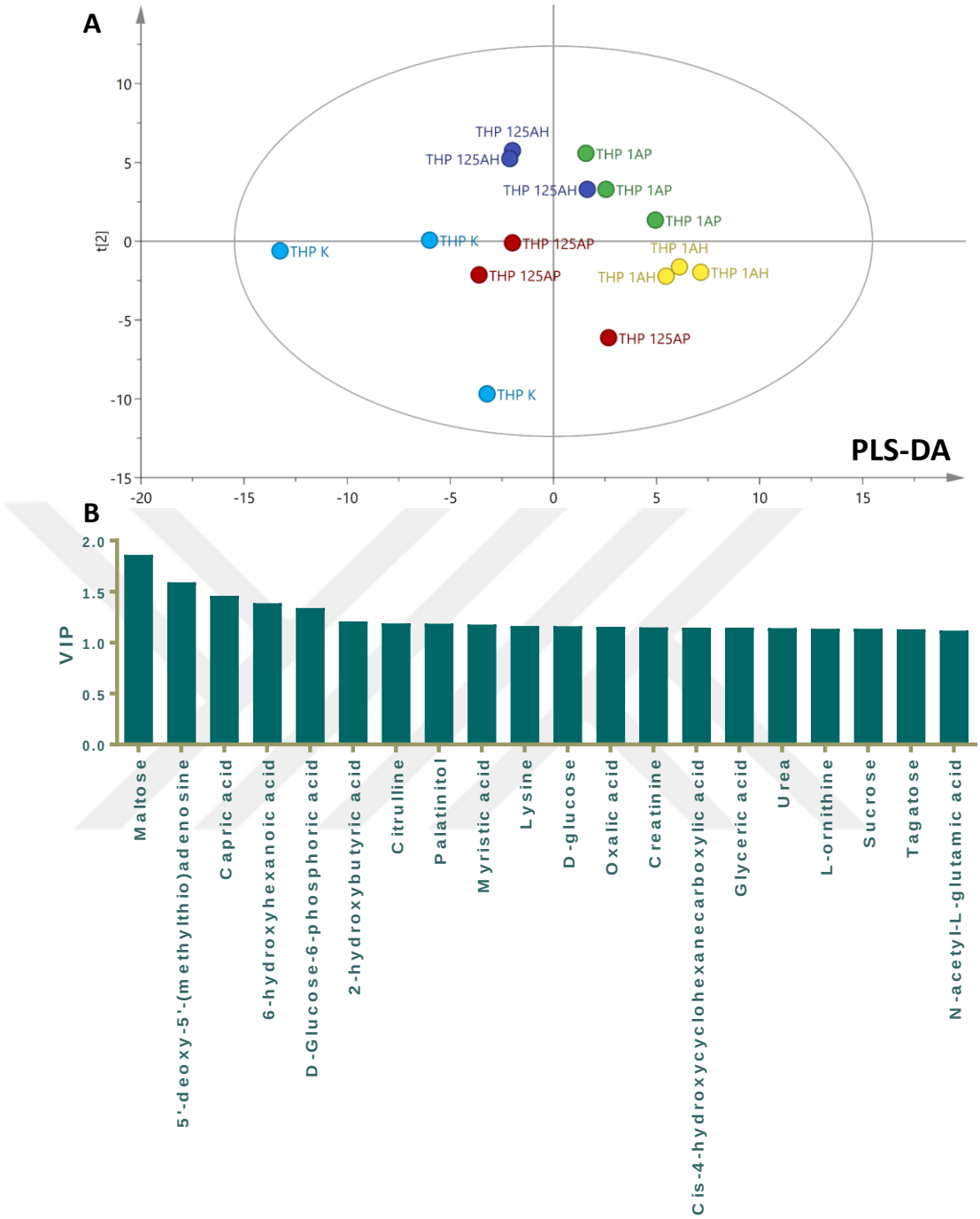
Şekil 4.15. U937 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen intraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.979 ve Q^2: 0.549) ve B) VIP grafiği.



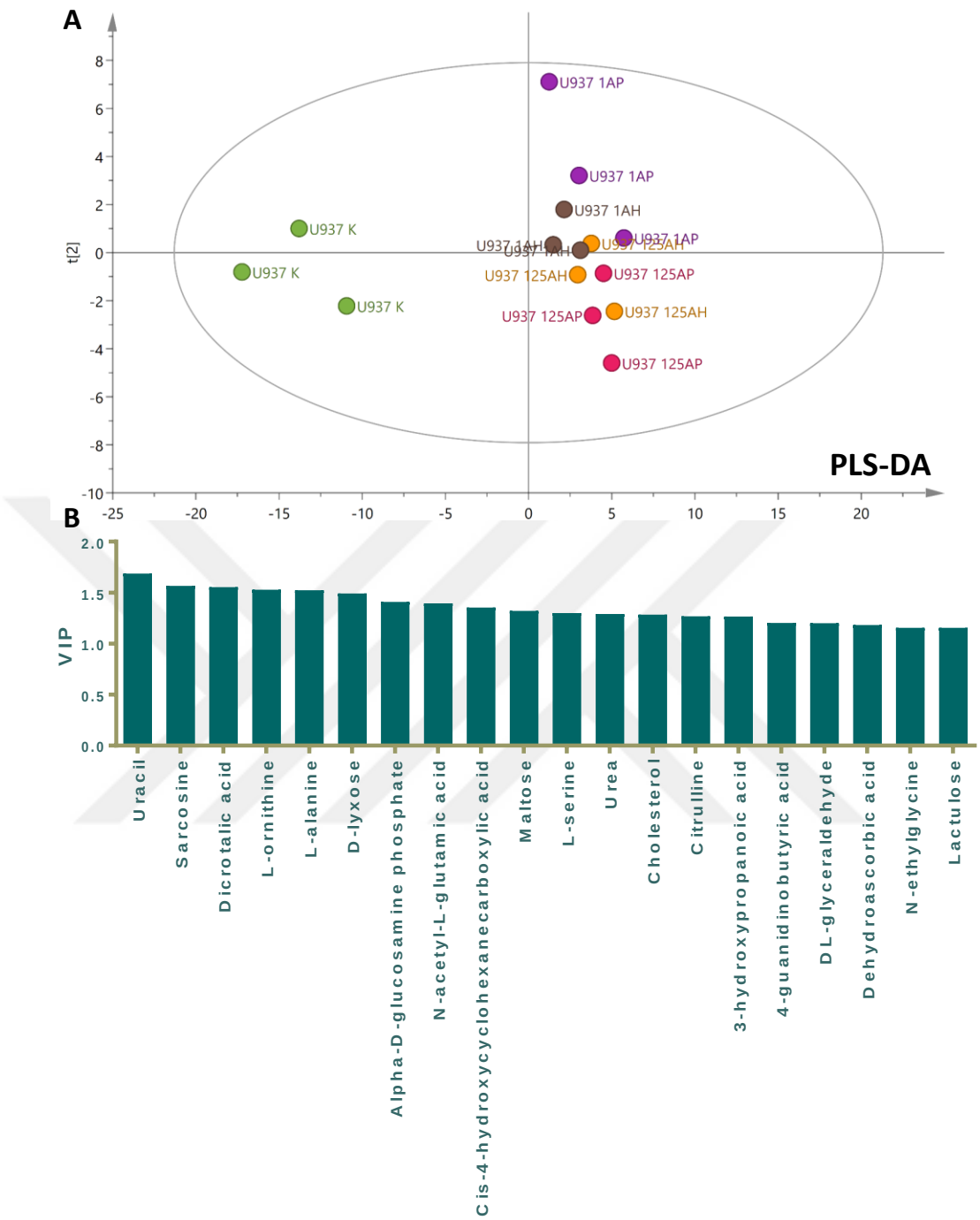
Şekil 4.16. THP ve U937 hücre hatının adjuvan tipinin (1 mM) intraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.896 ve Q^2: 0.699) ve B) VIP grafiği.



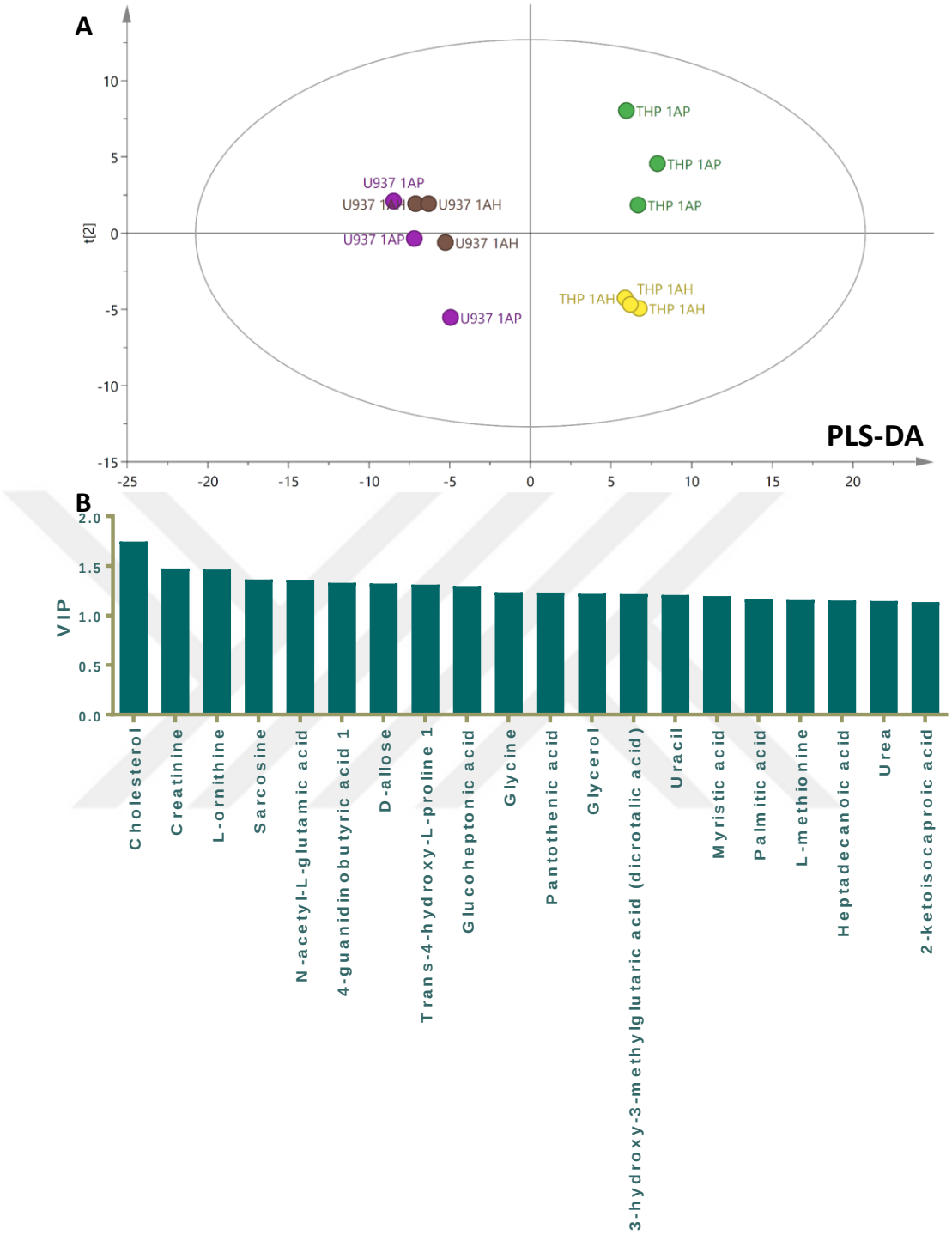
Şekil 4.17. THP ve U937 hücre hatının adjuvan tipinin (0.125 mM) intraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.972 ve Q^2: 0.512) ve B) VIP grafiği.



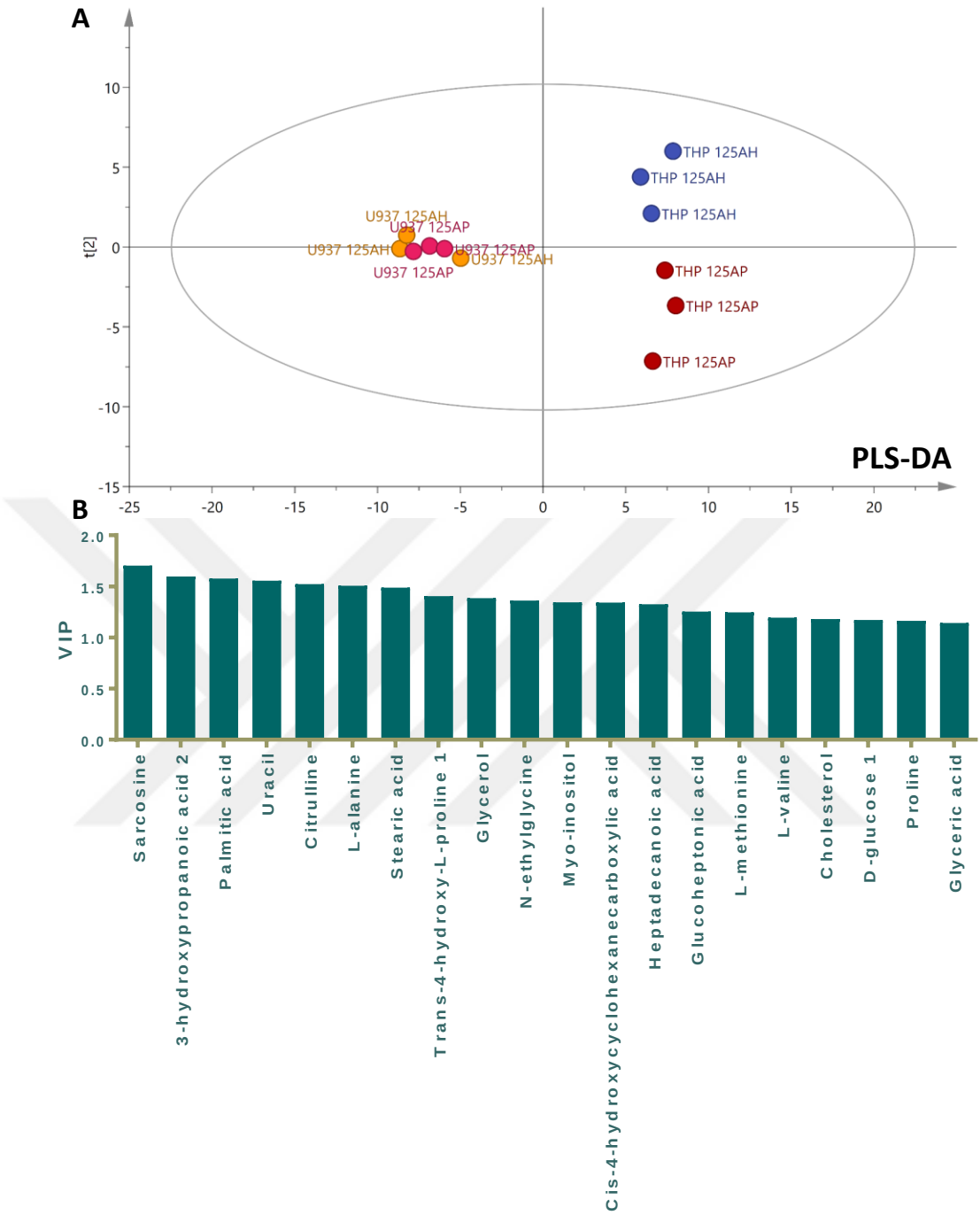
Şekil 4.18. THP hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen ekstraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.962 ve Q^2: 0.514) ve B) VIP grafiği.



Şekil 4.19. U937 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen ekstraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.962 ve Q^2: 0.514) ve B) VIP grafiği.



Şekil 4.20. THP ve U937 hücre hatının adjuvan tipinin (1 mM) ekstraselülerr metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.980 ve Q^2: 0.879) ve B) VIP grafiği.



Şekil 4.21. THP ve U937 hücre hatının adjuvan tipinin (0.125 mM) ekstraselüler metabolomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.980 ve Q^2: 0.879) ve B) VIP grafiği.

4.3. Proteomiks Analizler

THP-1 ve U937 hücrelerinin düşük ve yüksek derişimde AH ve AP ile maruziyetine bağlı olarak intraselülar matrikste değişen proteoin profilleri LC-qTOF-MS analizleri gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon periyodu sonunda hücre hatlarından toplanan instrasellular matriks protein profilindeki değişimler incelenmiş ve toplamda 403 protein tanımlanmıştır (Tablo 4.5).

Tablo 4.9. THP-1 ve U937 hücre kültürüne ait proteinlerin bağıl derişimleri.

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Far upstream element-binding protein 2	KHSRP	11.633 ± 0.224	11.39 ± 0.103	10.727 ± 0.219	11.208 ± 0.221	10.874 ± 0.212	11.571 ± 0.106	11.312 ± 0.342	11.349 ± 0.37	11.514 ± 0.015	10.978 ± 0.424
Magnesium transporter protein 1	MAGT1	10.41 ± 0.07	10.596 ± 0.334	10.756 ± 0.27	10.509 ± 0.018	10.692 ± 0.19	10.619 ± 0.09	10.719 ± 0.053	13.604 ± 1.184	12.397 ± 0.87	12.022 ± 1.277
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 13	PSMD13	11.977 ± 0.289	12.017 ± 0.114	12.858 ± 0.302	12.154 ± 0.328	12.64 ± 0.397	11.05 ± 0.135	10.651 ± 0.295	10.949 ± 0.616	10.816 ± 0.122	12.684 ± 0.059
Farnesyl pyrophosphate synthase	FDPS	11.457 ± 0.69	11.109 ± 1.033	12.023 ± 0.842	13 ± 0.033	11.42 ± 0.702	13.409 ± 0.566	12.46 ± 0.882	11.509 ± 1.195	13.811 ± 0.262	10.524 ± 0.261
Clathrin heavy chain 1	CLTC	12.908 ± 0.481	13.084 ± 0.109	13.387 ± 0.338	12.846 ± 0.191	13.549 ± 0.289	12.735 ± 0.182	12.027 ± 0.086	13.271 ± 0.264	12.886 ± 0.731	13.274 ± 0.625
Elongation factor 1-alpha 1	EEF1A1	16.799 ± 0.07	16.53 ± 0.033	16.532 ± 0.062	16.843 ± 0.027	16.675 ± 0.044	15.91 ± 0.034	15.829 ± 0.014	15.778 ± 0.04	15.858 ± 0.032	15.898 ± 0.123
Tropomyosin alpha-3 chain	TPM3	12.372 ± 0.092	11.854 ± 0.287	11.845 ± 0.12	12.305 ± 0.186	12.004 ± 0.154	12.075 ± 0.112	11.906 ± 0.086	10.666 ± 0.64	12.427 ± 0.13	11.606 ± 0.229
60S ribosomal protein L17	RPL17	12.788 ± 0.074	11.809 ± 0.218	11.884 ± 0.534	12.011 ± 0.641	12.376 ± 0.173	10.52 ± 0.029	11.12 ± 0.283	10.362 ± 0.366	10.736 ± 0.434	11.203 ± 0.333
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M	HNRNPM	12.952 ± 0.071	12.472 ± 0.239	12.521 ± 0.171	12.475 ± 0.118	12.732 ± 0.053	12.765 ± 0.206	12.488 ± 0.109	12.224 ± 0.083	13.018 ± 0.112	12.391 ± 0.444
Elongation factor 1-delta	EEF1D	12.404 ± 0.114	12.248 ± 0.191	12.496 ± 0.019	12.631 ± 0.061	12.415 ± 0.069	12.628 ± 0.113	12.447 ± 0.138	12.079 ± 0.274	12.575 ± 0.114	12.346 ± 0.15
Proteasome activator complex subunit 2	PSME2	11.677 ± 0.365	11.436 ± 0.28	12.203 ± 0.138	12.226 ± 0.114	11.086 ± 0.676	11.422 ± 0.462	10.331 ± 0.186	11.098 ± 0.378	11.482 ± 0.175	11.027 ± 0.329
Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	VDAC2	12.38 ± 0.1	12.196 ± 0.204	12.217 ± 0.157	12.434 ± 0.053	12.251 ± 0.016	12.337 ± 0.126	11.235 ± 0.54	12.064 ± 0.103	12.07 ± 0.123	12.251 ± 0.181
Proto-oncogene vav	VAV1	11.002 ± 0.585	11.137 ± 0.539	11.239 ± 0.483	11.814 ± 0.497	11.097 ± 0.528	10.831 ± 0.122	11.126 ± 0.552	11.898 ± 0.427	11.28 ± 0.609	11.783 ± 0.756
Peroxiredoxin-1	PRDX1	12.447 ± 0.231	13.207 ± 0.437	13.839 ± 0.36	12.319 ± 0.663	13.501 ± 0.302	12.361 ± 0.809	12.678 ± 0.107	12.165 ± 0.186	12.618 ± 0.264	12.773 ± 0.561
Pecanex-like protein 2	PCNXL2	10.996 ± 0.27	10.35 ± 0.115	13.018 ± 2.286	11.04 ± 0.151	10.982 ± 1.149	9.947 ± 0.607	10.738 ± 0.263	12.302 ± 2.531	14.381 ± 2.556	10.215 ± 0.57
Translationally-controlled tumor protein	TPT1	12.015 ± 0.795	10.968 ± 0.227	11.609 ± 0.304	11.999 ± 0.282	11.572 ± 0.326	11.904 ± 0.268	12.075 ± 0.156	10.892 ± 0.452	12.114 ± 0.483	11.851 ± 0.173

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Protein SET	SET	11.047 ± 0.646	11.674 ± 0.075	10.731 ± 0.318	11.638 ± 0.232	11.336 ± 0.327	10.332 ± 0.103	10.486 ± 0.592	10.748 ± 0.414	11.114 ± 0.22	11.092 ± 0.281
40S ribosomal protein SA	RPSA	13.005 ± 0.072	12.743 ± 0.156	12.637 ± 0.05	13.052 ± 0.009	12.668 ± 0.195	12.946 ± 0.032	12.686 ± 0.107	12.725 ± 0.167	12.701 ± 0.141	12.773 ± 0.083
Nesprin-1	SYNE1	11.332 ± 0.754	11.338 ± 1.07	11.428 ± 0.903	12.264 ± 0.91	11.721 ± 1.166	11 ± 0.675	10.494 ± 0.241	10.504 ± 0.139	10.567 ± 0.345	11.324 ± 0.616
Citrate synthase, mitochondrial	CS	12.3 ± 0.086	10.585 ± 0.837	11.046 ± 0.437	12.257 ± 0.041	11.068 ± 0.571	10.991 ± 0.624	11.58 ± 0.787	10.878 ± 0.295	11.036 ± 0.21	11.176 ± 0.543
Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	DDOST	10.391 ± 0.36	10.702 ± 0.071	14.388 ± 0.235	10.298 ± 0.111	11.095 ± 0.357	10.472 ± 0.071	10.668 ± 0.135	11.63 ± 1.363	10.593 ± 0.172	10.319 ± 0.141
ATP-dependent RNA helicase DDX3X	DDX3X	11.561 ± 0.101	11.899 ± 0.062	11.947 ± 0.029	11.464 ± 0.286	10.74 ± 0.556	11.736 ± 0.079	11.12 ± 0.466	11.323 ± 0.378	10.796 ± 0.591	11.377 ± 0.512
Probable ATP-dependent RNA helicase DDX5	DDX5	12.408 ± 0.121	12.16 ± 0.015	12.181 ± 0.236	12.636 ± 0.158	12.364 ± 0.19	12.446 ± 0.146	11.904 ± 0.076	11.909 ± 0.383	12.441 ± 0.214	12.341 ± 0.34
AP-2 complex subunit alpha-2	AP2A2	11.185 ± 0.658	12.288 ± 0.747	10.324 ± 0.171	12.531 ± 0.132	12.033 ± 0.922	10.313 ± 0.323	11.414 ± 0.534	11.455 ± 0.663	10.472 ± 0.167	10.664 ± 0.27
Poly(U)-binding-splicing factor PUF60	PUF60	11.265 ± 0.588	9.923 ± 0.082	11.319 ± 0.538	10.957 ± 0.559	11.155 ± 0.801	11.977 ± 0.206	11.586 ± 0.446	10.742 ± 0.174	10.83 ± 0.632	10.929 ± 0.569
Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1	IQGAP1	11.055 ± 0.614	10.43 ± 0.181	10.54 ± 0.336	11.045 ± 0.516	11.366 ± 0.371	10.292 ± 0.405	11.652 ± 0.85	10.392 ± 0.081	11.66 ± 0.594	10.597 ± 0.575
Fatty acid synthase	FASN	12.664 ± 0.159	12.256 ± 0.175	12.365 ± 0.255	12.675 ± 0.075	12.496 ± 0.062	12.506 ± 0.191	12.457 ± 0.084	12.448 ± 0.117	12.549 ± 0.353	12.413 ± 0.111
Histone H2A type 1-J	HIST1H2AJ	19.159 ± 0.518	19.871 ± 0.494	20.93 ± 0.256	18.573 ± 0.374	20.919 ± 0.349	17.962 ± 0.655	18.784 ± 0.427	20.373 ± 0.267	18.859 ± 0.73	19.702 ± 0.637
Polypyrimidine tract-binding protein 1	PTBP1	13.801 ± 0.117	13.38 ± 0.138	13.455 ± 0.109	13.573 ± 0.048	13.673 ± 0.071	13.617 ± 0.202	13.442 ± 0.087	13.138 ± 0.162	13.572 ± 0.162	13.657 ± 0.048
Cathepsin D	CTSD	11.194 ± 0.095	11.127 ± 0.426	10.899 ± 0.227	11.255 ± 0.354	11.142 ± 0.24	12.403 ± 0.581	11.974 ± 0.137	11.559 ± 0.635	12.184 ± 0.03	11.867 ± 0.416
RNA-binding motif protein, X chromosome	RBMX	12.256 ± 0.098	11.821 ± 0.139	11.914 ± 0.34	12.225 ± 0.145	11.501 ± 0.384	11.977 ± 0.167	12.044 ± 0.109	10.603 ± 0.494	12.054 ± 0.192	11.228 ± 0.496
Dynein heavy chain 10, axonemal	DNAH10	12.293 ± 0.036	11.6 ± 0.435	11.459 ± 0.563	11.856 ± 0.413	11.61 ± 0.548	10.727 ± 0.833	11.226 ± 0.615	11.389 ± 0.682	11.751 ± 0.322	10.903 ± 0.301
Dihydropyrimidinase-related protein 2	DPYSL2	10.938 ± 0.451	11.113 ± 0.361	11.659 ± 0.505	11.669 ± 0.345	10.932 ± 0.316	12.193 ± 0.441	11.559 ± 0.134	11.786 ± 0.75	12.139 ± 0.274	12.412 ± 0.814

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Squalene synthase	FDFT1	11.199 ± 0.761	10.954 ± 0.293	10.914 ± 0.447	10.557 ± 0.086	11.677 ± 0.84	10.588 ± 0.288	10.488 ± 0.231	13.67 ± 1.697	10.854 ± 0.121	10.699 ± 0.08
40S ribosomal protein S10	RPS10	12.979 ± 0.133	12.541 ± 0.152	12.604 ± 0.182	12.841 ± 0.1	12.808 ± 0.132	11.272 ± 0.449	12.392 ± 0.048	12.452 ± 0.274	10.988 ± 0.663	11.915 ± 0.312
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U	HNRNPU	14.233 ± 0.067	13.702 ± 0.147	13.692 ± 0.078	13.996 ± 0.204	14.229 ± 0.136	13.193 ± 0.09	12.91 ± 0.132	12.43 ± 0.261	13.201 ± 0.027	12.853 ± 0.436
D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	PHGDH	10.967 ± 0.557	10.767 ± 0.557	11.348 ± 0.324	11.073 ± 0.631	10.321 ± 0.167	12.634 ± 0.02	12.395 ± 0.048	11.64 ± 0.508	12.241 ± 0.126	12.461 ± 0.072
Palmitoyl-protein thioesterase 1	PPT1	11.611 ± 0.1	12.169 ± 0.078	11.81 ± 0.179	12.047 ± 0.127	12.041 ± 0.135	11.168 ± 0.136	10.528 ± 0.17	10.615 ± 0.062	10.671 ± 0.076	10.944 ± 0.236
Chloride intracellular channel protein 5	CLIC5	12.45 ± 0.298	11.411 ± 0.725	11.382 ± 0.648	11.753 ± 0.108	10.433 ± 0.079	11.743 ± 0.716	11.181 ± 0.491	10.938 ± 0.51	11.356 ± 0.719	11.493 ± 0.996
B-cell receptor-associated protein 31	B CAP31	10.783 ± 0.235	10.269 ± 0.228	15.463 ± 0.51	10.332 ± 0.234	13.26 ± 1.593	12.353 ± 1.057	11.762 ± 1.139	12.676 ± 1.276	10.65 ± 0.404	15.229 ± 0.526
Alpha-enolase	ENO1	14.943 ± 0.033	14.644 ± 0.055	14.619 ± 0.039	14.919 ± 0.031	14.741 ± 0.031	15.423 ± 0.033	15.24 ± 0.03	14.928 ± 0.018	15.303 ± 0.05	15.192 ± 0.118
60S ribosomal protein L5	RPL5	12.726 ± 0.214	11.433 ± 0.422	12.594 ± 0.229	12.448 ± 0.185	10.749 ± 0.218	12.171 ± 0.716	12.273 ± 0.221	11.996 ± 0.476	11.85 ± 0.628	11.99 ± 0.592
40S ribosomal protein S14	RPS14	12.244 ± 0.154	11.683 ± 0.159	11.776 ± 0.169	11.968 ± 0.326	12.1 ± 0.075	12.156 ± 0.138	12.054 ± 0.296	11.326 ± 0.068	12.024 ± 0.139	11.551 ± 0.163
40S ribosomal protein S24	RPS24	11.453 ± 0.491	10.736 ± 0.122	10.297 ± 0.341	11.642 ± 0.838	11.755 ± 0.677	10.478 ± 0.779	12.108 ± 0.122	10.889 ± 0.549	10.718 ± 0.254	10.895 ± 0.172
Androgen-induced gene 1 protein	AIG1	10.116 ± 0.017	11.751 ± 1	11.701 ± 1.514	10.434 ± 0.094	13.549 ± 0.25	10.78 ± 0.046	11.139 ± 0.027	10.336 ± 0.235	10.477 ± 0.151	10.385 ± 0.21
Ribosomal protein L15	RPL15	12.062 ± 0.33	12.537 ± 0.309	12.548 ± 0.197	12.066 ± 0.219	12.544 ± 0.093	12.03 ± 0.507	12.613 ± 0.197	12.701 ± 0.261	12.451 ± 0.432	12.516 ± 0.327
Glucose-6-phosphate isomerase	GPI	13.355 ± 0.126	12.963 ± 0.077	13.589 ± 0.311	13.372 ± 0.049	13.078 ± 0.187	14.964 ± 0.054	14.651 ± 0.045	14.598 ± 0.073	14.95 ± 0.007	15.041 ± 0.071
CTP synthase 1	CTPS1	12.178 ± 0.088	11.715 ± 0.226	11.57 ± 0.444	12.072 ± 0.066	11.863 ± 0.1	11.266 ± 0.162	10.57 ± 0.549	10.473 ± 0.258	11.311 ± 0.126	11.356 ± 0.171
DNA replication licensing factor MCM4	MCM4	11.32 ± 0.043	10.836 ± 0.207	10.69 ± 0.253	11.262 ± 0.729	10.531 ± 0.312	11.288 ± 0.107	11.334 ± 0.054	10.451 ± 0.39	10.461 ± 0.486	10.474 ± 0.397
WD repeat-containing protein 24	WDR24	15.322 ± 0.141	14.72 ± 0.098	13.451 ± 1.734	12.083 ± 1.486	15.011 ± 0.084	13.672 ± 1.589	10.689 ± 0.342	14.77 ± 0.17	10.621 ± 0.199	14.887 ± 0.188
GTP-binding protein Rit2	RIT2	14.043 ± 0.14	12.418 ± 1.06	12.961 ± 0.64	10.519 ± 0.122	11.548 ± 1.131	10.58 ± 0.166	10.563 ± 0.255	10.936 ± 0.173	10.041 ± 0.295	10.772 ± 0.134

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	HNRNPL	13.128 ± 0.191	13.587 ± 0.261	14.215 ± 0.082	13.158 ± 0.08	14.107 ± 0.563	13.292 ± 0.16	13.621 ± 0.208	13.274 ± 0.117	13.098 ± 0.119	13.397 ± 0.072
Tripeptidyl-peptidase 2	TPP2	13.184 ± 1.591	14.68 ± 0.144	14.914 ± 0.056	14.461 ± 0.457	13.401 ± 1.394	12.69 ± 1.222	14.268 ± 0.194	12.889 ± 1.377	14.37 ± 0.264	14.387 ± 0.173
L-lactate dehydrogenase B chain	LDHB	14.085 ± 0.036	13.902 ± 0.008	13.84 ± 0.093	14.162 ± 0.066	14.118 ± 0.024	14.269 ± 0.037	14.045 ± 0.089	14.119 ± 0.123	14.264 ± 0.073	14.158 ± 0.019
Malate dehydrogenase, cytoplasmic	MDH1	12.497 ± 0.919	13.41± 0.075	13.232 ± 0.198	13.53± 0.071	13.437 ± 0.144	13.253 ± 0.146	13.1± 0.073	12.8± 0.146	13.137 ± 0.04	13.176 ± 0.046
Alanine--tRNA ligase, cytoplasmic	AARS	10.519 ± 0.013	10.429 ± 0.077	11.651 ± 1.39	11.556 ± 0.633	12.164 ± 1.401	11.68 ± 1.14	11.659 ± 0.875	10.548 ± 0.395	13.062 ± 0.511	11.584 ± 1.186
Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-1	GNB1	11.079 ± 0.408	10.681 ± 0.451	10.806 ± 0.251	11.754 ± 0.068	11.259 ± 0.33	12.332 ± 0.143	10.963 ± 0.473	11.365 ± 0.717	11.603 ± 0.575	11.363 ± 0.624
Prelamin-A/C	LMNA	12.21 ± 0.079	11.835 ± 0.042	11.874 ± 0.096	12.065 ± 0.062	12.202 ± 0.028	11.462 ± 0.131	10.644 ± 0.498	10.444 ± 0.116	10.812 ± 0.17	11.419 ± 0.321
Ras-related protein Rab-7a	RAB7A	12.027 ± 0.013	12.138 ± 0.21	11.449 ± 0.556	12.066 ± 0.108	12.057 ± 0.047	12.442 ± 0.078	11.726 ± 0.343	11.618 ± 0.606	11.848 ± 0.389	11.436 ± 0.652
Heat shock protein beta-1	HSPB1	14.349 ± 0.195	14.253 ± 0.094	13.979 ± 0.029	14.589 ± 0.101	14.275 ± 0.031	13.51 ± 0.21	13.12 ± 0.162	12.292 ± 0.939	12.731 ± 0.611	13.302 ± 0.105
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R	HNRNPR	10.997 ± 0.356	11.325 ± 0.192	10.634 ± 0.483	11.416 ± 0.045	11.308 ± 0.082	11.863 ± 0.597	12.492 ± 0.066	12.288 ± 0.235	12.493 ± 0.074	11.806 ± 0.783
Stress-70 protein, mitochondrial	HSPA9	12.445 ± 0.077	12.265 ± 0.244	12.149 ± 0.199	12.445 ± 0.062	12.16 ± 0.124	12.782 ± 0.184	12.541 ± 0.166	12.213 ± 0.22	12.697 ± 0.111	12.534 ± 0.112
Nascent polypeptide-associated complex subunit alpha	NACA	12.142 ± 0.213	11.719 ± 0.046	11.604 ± 0.036	11.863 ± 0.063	11.96 ± 0.016	12.277 ± 0.388	11.641 ± 0.577	11.865 ± 0.054	11.894 ± 0.086	11.714 ± 0.201
60S ribosomal protein L13a	RPL13A	11.578 ± 0.279	11.742 ± 0.142	11.347 ± 0.448	11.703 ± 0.461	10.814 ± 0.528	11.846 ± 0.47	12.272 ± 0.052	12.282 ± 0.271	12.01 ± 0.708	12.184 ± 0.223
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3	HNRNPA3	12.471 ± 0.119	13.337 ± 0.211	12.665 ± 1.042	12.646 ± 0.345	12.176 ± 0.085	12.213 ± 0.515	11.857 ± 0.764	11.783 ± 0.826	12.339 ± 0.741	12.592 ± 0.185
Inosine-5-monophosphate dehydrogenase 2	IMPDH2	11.285 ± 0.092	10.839 ± 0.349	10.866 ± 0.452	10.521 ± 0.269	10.409 ± 0.421	12.339 ± 0.337	12.427 ± 0.412	11.46 ± 0.474	12.454 ± 0.267	11.65 ± 0.019
60 kDa heat shock protein, mitochondrial	HSPD1	14.04 ± 0.089	14.062 ± 0.067	13.864 ± 0.032	14.127 ± 0.035	13.945 ± 0.01	14.756 ± 0.051	14.575 ± 0.038	14.461 ± 0.089	14.594 ± 0.028	14.565 ± 0.072
Nucleolin	NCL	14.209 ± 0.088	14.021 ± 0.118	14.137 ± 0.252	13.822 ± 0.148	14.163 ± 0.051	13.446 ± 0.311	13.566 ± 0.156	13.674 ± 0.054	13.493 ± 0.024	13.822 ± 0.147
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	HNRNPA1	13.82 ± 0.051	13.485 ± 0.05	13.482 ± 0.015	13.698 ± 0.076	13.688 ± 0.021	13.596 ± 0.086	13.415 ± 0.117	13.438 ± 0.042	13.455 ± 0.092	13.327 ± 0.175

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Non-POU domain-containing octamer-binding protein	NONO	12.176 ± 0.114	12.397 ± 0.127	12.185 ± 0.078	12.381 ± 0.252	12.461 ± 0.2	12.844 ± 0.152	12.9 ± 0.28	12.02 ± 0.708	12.979 ± 0.17	12.984 ± 0.222
Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	HNRNPA2 B1	13.775 ± 0.031	13.783 ± 0.081	13.543 ± 0.099	13.736 ± 0.128	13.683 ± 0.049	13.825 ± 0.126	13.727 ± 0.078	13.758 ± 0.083	13.663 ± 0.053	13.59 ± 0.242
Polyadenylate-binding protein 1	PABPC1	12.834 ± 0.223	12.766 ± 0.142	12.409 ± 0.116	12.542 ± 0.113	12.559 ± 0.096	12.937 ± 0.083	11.236 ± 0.67	12.455 ± 0.154	11.046 ± 0.805	12.192 ± 0.092
Alpha-actinin-1	ACTN1	11.971 ± 0.124	11.807 ± 0.275	11.129 ± 0.457	12.14 ± 0.132	11.71 ± 0.125	11.457 ± 0.326	10.935 ± 0.128	10.679 ± 0.171	11.503 ± 0.156	10.537 ± 0.648
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q	SYNCRIP	12.875 ± 0.064	12.608 ± 0.2	11.972 ± 0.589	12.756 ± 0.114	12.305 ± 0.392	12.462 ± 0.058	12.303 ± 0.149	12.263 ± 0.213	12.297 ± 0.163	12.125 ± 0.171
Transitional endoplasmic reticulum ATPase	VCP	12.564 ± 0.309	12.419 ± 0.104	12.133 ± 0.391	12.718 ± 0.302	12.642 ± 0.101	12.432 ± 0.072	12.666 ± 0.143	12.296 ± 0.073	12.893 ± 0.215	11.625 ± 0.532
Nucleophosmin	NPM1	14.328 ± 0.031	14.282 ± 0.042	14.125 ± 0.031	14.577 ± 0.078	14.281 ± 0.043	13.959 ± 0.075	14.013 ± 0.037	13.838 ± 0.168	13.989 ± 0.155	13.858 ± 0.167
40S ribosomal protein S20	RPS20	11.101 ± 0.739	11.01 ± 0.438	10.562 ± 0.161	12.279 ± 0.205	10.933 ± 0.352	12.087 ± 0.438	11.16 ± 0.623	10.913 ± 0.721	12.775 ± 0.274	11.214 ± 0.703
Endoplasmin	HSP90B1	12.426 ± 0.332	12.516 ± 0.297	11.78 ± 0.611	12.865 ± 0.219	12.819 ± 0.061	12.023 ± 0.097	12.028 ± 0.165	11.587 ± 0.514	12.188 ± 0.004	11.844 ± 0.133
Calnexin	CANX	12.799 ± 0.072	12.312 ± 0.611	12.596 ± 0.362	12.919 ± 0.319	12.931 ± 0.178	12.925 ± 0.131	12.652 ± 0.219	12.441 ± 0.241	12.493 ± 0.234	12.428 ± 0.121
Protein disulfide-isomerase	P4HB	13.677 ± 0.09	13.832 ± 0.034	14.062 ± 0.091	13.807 ± 0.184	13.861 ± 0.063	13.998 ± 0.172	13.914 ± 0.08	13.744 ± 0.068	13.817 ± 0.087	13.851 ± 0.162
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	PPIB	12.486 ± 0.087	12.049 ± 0.246	11.956 ± 0.134	12.435 ± 0.059	12.294 ± 0.061	13.142 ± 0.061	12.978 ± 0.181	12.848 ± 0.095	12.981 ± 0.089	12.934 ± 0.054
Stathmin	STMN1	12.794 ± 0.162	12.394 ± 0.191	12.197 ± 0.256	12.536 ± 0.077	12.591 ± 0.066	12.136 ± 0.895	12.843 ± 0.032	12.143 ± 0.403	12.791 ± 0.012	12.907 ± 0.169
V-type proton ATPase subunit S1	ATP6AP1	11.829 ± 0.616	11.441 ± 0.738	11.227 ± 0.359	11.953 ± 0.381	10.797 ± 0.55	12.56 ± 0.17	12.568 ± 0.069	11.625 ± 0.528	12.562 ± 0.051	10.003 ± 0.229
Translocon-associated protein subunit delta	SSR4	10.645 ± 0.134	11.967 ± 0.876	12.869 ± 1.109	10.844 ± 0.085	10.648 ± 0.194	10.105 ± 0.149	12.248 ± 0.778	15.005 ± 0.4	13.503 ± 0.341	10.849 ± 0.241
Small ubiquitin-related modifier 3	SUMO3	11.547 ± 0.159	11.914 ± 0.024	11.457 ± 0.056	12.111 ± 0.047	11.485 ± 0.328	11.702 ± 0.08	11.164 ± 0.284	10.658 ± 0.183	11.701 ± 0.067	11.725 ± 0.138
60S ribosomal protein L7	RPL7	12.3 ± 0.028	11.514 ± 0.414	11.377 ± 0.599	12.477 ± 0.088	12.153 ± 0.078	12.316 ± 0.059	11.57 ± 0.665	11.703 ± 0.618	11.02 ± 0.167	12.055 ± 0.721
X-ray repair cross-complementing protein 6	XRCC6	12.524 ± 0.111	12.134 ± 0.082	11.268 ± 0.228	12.05 ± 0.209	12.052 ± 0.309	12.083 ± 0.232	11.348 ± 0.417	11.792 ± 0.166	12.03 ± 0.145	12.048 ± 0.068

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
F-actin-capping protein subunit beta	CAPZB	12.431 ± 0.057	12.285 ± 0.012	10.728 ± 0.139	12.225 ± 0.109	11.828 ± 0.535	11.103 ± 0.495	10.539 ± 0.178	10.453 ± 0.281	10.683 ± 0.276	11.314 ± 0.385
Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2	HNRNPC	13.42 ± 0.056	13.057 ± 0.049	13.097 ± 0.106	13.269 ± 0.018	13.122 ± 0.041	13.671 ± 0.067	13.585 ± 0.044	13.286 ± 0.117	13.556 ± 0.017	13.558 ± 0.061
Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform	PPP2R1A	11.054 ± 0.871	11.945 ± 0.483	10.652 ± 0.094	11.074 ± 0.724	11.011 ± 0.733	11.456 ± 0.557	10.979 ± 0.755	12.149 ± 0.495	10.969 ± 0.881	10.39 ± 0.011
T-complex protein 1 subunit gamma	CCT3	12.965 ± 0.07	12.644 ± 0.153	11.953 ± 0.768	12.928 ± 0.135	12.729 ± 0.098	13.167 ± 0.13	13.002 ± 0.062	12.79 ± 0.092	13.01 ± 0.235	13.014 ± 0.034
Interleukin enhancer-binding factor 2	ILF2	10.243 ± 0.089	10.501 ± 0.199	11.309 ± 0.869	10.87 ± 0.193	10.838 ± 0.353	10.65 ± 0.461	10.781 ± 0.138	10.35 ± 0.282	10.777 ± 0.782	11.387 ± 0.482
40S ribosomal protein S7	RPS7	13.554 ± 0.057	12.807 ± 0.208	13.068 ± 0.288	13.174 ± 0.069	13.36 ± 0.154	13.356 ± 0.047	13.236 ± 0.097	13.188 ± 0.126	13.316 ± 0.055	13.268 ± 0.039
GTP-binding nuclear protein Ran	RAN	12.929 ± 0.409	12.955 ± 0.213	12.888 ± 0.222	13.536 ± 0.093	13.116 ± 0.051	13.126 ± 0.11	12.949 ± 0.008	12.933 ± 0.15	12.868 ± 0.118	12.978 ± 0.041
Cytochrome P450 2C8	CYP2C8	10.513 ± 0.297	10.527 ± 0.084	10.428 ± 0.214	11.195 ± 0.632	10.394 ± 0.464	10.957 ± 0.337	11.474 ± 1.176	10.923 ± 0.332	11.571 ± 1.085	10.686 ± 0.366
60S ribosomal protein L31	RPL31	10.559 ± 0.347	12.51 ± 0.713	11.161 ± 0.667	10.122 ± 0.19	10.584 ± 0.087	10.373 ± 0.18	10.695 ± 0.2	10.245 ± 0.329	10.608 ± 0.107	10.867 ± 0.21
Nucleosome assembly protein 1-like 1	NAP1L1	12.413 ± 0.113	11.762 ± 0.606	11.779 ± 0.396	12.289 ± 0.093	12.116 ± 0.057	12.507 ± 0.156	12.569 ± 0.067	11.808 ± 0.65	12.479 ± 0.08	12.344 ± 0.196
T-complex protein 1 subunit epsilon	CCT5	13.955 ± 0.02	13.644 ± 0.27	14.748 ± 0.25	14.119 ± 0.122	14.307 ± 0.138	14.011 ± 0.271	14.042 ± 0.101	14.07 ± 0.262	14.209 ± 0.152	14.543 ± 0.166
Prothymosin alpha	PTMA	14.837 ± 0.107	14.802 ± 0.025	14.147 ± 0.293	14.948 ± 0.097	14.697 ± 0.182	14.176 ± 0.098	14.522 ± 0.061	13.821 ± 0.101	13.929 ± 0.114	14.409 ± 0.134
60S ribosomal protein L23	RPL23	12.297 ± 0.13	12.056 ± 0.086	10.863 ± 0.554	12.14 ± 0.066	11.648 ± 0.451	11.152 ± 0.171	10.923 ± 0.465	10.478 ± 0.24	10.234 ± 0.356	10.811 ± 0.144
DNA-directed RNA polymerase	POLR2B	10.876 ± 0.271	11.78 ± 0.913	11.446 ± 1.021	12.065 ± 1.405	10.597 ± 0.211	10.479 ± 0.363	12.942 ± 0.211	10.572 ± 0.223	10.263 ± 0.315	11.653 ± 0.648
Ras-related protein Rab-6B	RAB6B	12.486 ± 0.167	11.728 ± 0.181	11.256 ± 0.412	11.893 ± 0.321	11.54 ± 0.615	12.836 ± 0.058	12.308 ± 0.033	11.997 ± 0.487	12.004 ± 0.711	12.067 ± 0.164
Ran-specific GTPase-activating protein	RANBP1	12.535 ± 0.175	11.99 ± 0.291	12.428 ± 0.18	12.859 ± 0.047	12.772 ± 0.084	11.537 ± 0.777	11.946 ± 0.562	11.676 ± 0.689	12.652 ± 0.16	11.939 ± 0.684
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	HNRNPAB	11.399 ± 0.383	11.375 ± 0.493	10.91 ± 0.48	11.537 ± 0.426	11.952 ± 0.109	11.561 ± 0.454	10.942 ± 0.291	10.531 ± 0.208	10.854 ± 0.627	10.666 ± 0.354

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0	HNRNPD	13.044 ± 0.107	12.92 ± 0.1	12.615 ± 0.124	12.235 ± 0.839	12.873 ± 0.118	12.739 ± 0.155	12.665 ± 0.054	11.766 ± 0.458	12.842 ± 0.175	12.265 ± 0.294
60S ribosomal protein L9	RPL9	12.192 ± 0.234	12.6 ± 0.165	11.583 ± 0.47	12.535 ± 0.083	12.782 ± 0.08	12.339 ± 0.248	12.602 ± 0.347	12.531 ± 0.344	12.821 ± 0.312	13.09 ± 0.232
40S ribosomal protein S3a	RPS3A	12.107 ± 0.429	12.455 ± 0.193	12.443 ± 0.131	12.838 ± 0.162	12.417 ± 0.024	12.02 ± 0.115	11.756 ± 0.646	12.199 ± 0.145	11.98 ± 0.089	11.55 ± 0.307
HLA class I histocompatibility antigen, A alpha chain	HLA-A	10.862 ± 0.158	10.458 ± 0.274	10.628 ± 0.254	10.565 ± 0.307	11.164 ± 0.192	12.143 ± 0.438	11.116 ± 0.35	11.161 ± 0.251	11.269 ± 0.481	11.38 ± 0.469
60S ribosomal protein L30	RPL30	12.447 ± 0.069	12.012 ± 0.24	12.046 ± 0.3	12.336 ± 0.051	12.142 ± 0.158	12.627 ± 0.072	12.442 ± 0.205	12.512 ± 0.079	12.631 ± 0.131	12.377 ± 0.28
Putative Ras-related protein Rab-1C	RAB1C	12.036 ± 0.571	11.563 ± 1.006	12.523 ± 0.026	11.901 ± 0.777	12.524 ± 0.041	13.099 ± 0.142	13.048 ± 0.106	12.947 ± 0.145	13.089 ± 0.037	12.971 ± 0.052
60S ribosomal protein L14	RPL14	10.962 ± 0.641	11.87± 0.378	11.774 ± 0.507	12.64± 0.172	12.267 ± 0.13	12.534 ± 0.139	12.1± 0.051	11.937 ± 0.236	11.552 ± 0.698	12.448 ± 0.261
Eukaryotic initiation factor 4A-II	EIF4A2	10.883 ± 0.559	11.309 ± 0.335	11.116 ± 0.641	11.101 ± 0.499	11.463 ± 0.578	11.041 ± 0.302	11.503 ± 0.571	11.698 ± 0.599	11.113 ± 0.197	11.787 ± 0.269
Lupus La protein	SSB	11.727 ± 0.157	11.004 ± 0.469	10.654 ± 0.321	11.269 ± 0.206	11.715 ± 0.11	12.184 ± 0.219	11.82 ± 0.087	10.716 ± 0.14	11.759 ± 0.849	10.861 ± 0.543
THO complex subunit 4	ALYREF	12.076 ± 0.126	12.902 ± 0.092	12.778 ± 0.184	12.665 ± 0.165	11.768 ± 0.922	10.662 ± 0.155	10.865 ± 0.08	10.708 ± 0.354	10.48 ± 0.301	11.848 ± 0.48
Lamin-B1	LMNB1	12.223 ± 0.137	11.301 ± 0.267	11.687 ± 0.147	11.933 ± 0.108	12.245 ± 0.115	11.735 ± 0.32	11.395 ± 0.145	11.847 ± 0.149	11.44 ± 0.52	11.842 ± 0.217
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	HNRNPH1	12.711 ± 0.237	12.094 ± 0.177	11.594 ± 0.619	12.526 ± 0.133	12.514 ± 0.012	12.456 ± 0.195	12.491 ± 0.085	12.534 ± 0.062	12.35 ± 0.021	12.465 ± 0.053
Chitinase domain-containing protein 1	CHID1	12.111 ± 0.247	11.736 ± 0.646	11.545 ± 1.028	11.72 ± 0.608	11.963 ± 0.886	11.304 ± 0.64	11.049 ± 0.204	13.555 ± 0.139	10.454 ± 0.174	11.16 ± 0.477
60S ribosomal protein L8	RPL8	11.95 ± 0.306	11.684 ± 0.118	11.714 ± 0.259	11.596 ± 0.174	11.594 ± 0.502	10.414 ± 0.222	10.866 ± 0.209	11.548 ± 0.162	11.139 ± 0.334	11.119 ± 0.128
Caprin-1	CAPRIN1	10.647 ± 0.193	10.543 ± 0.284	10.356 ± 0.067	11.635 ± 0.431	11.022 ± 0.24	10.858 ± 0.467	10.623 ± 0.096	11.049 ± 0.271	10.767 ± 0.155	10.908 ± 0.218
Outer dense fiber protein 2-like	ODF2L	11.698 ± 0.945	13.868 ± 0.297	11.788 ± 1.259	13.809 ± 0.127	10.547 ± 0.358	10.46 ± 0.123	11.94 ± 1.074	11.755 ± 1.112	10.287 ± 0.237	11.614 ± 0.906
Histone-binding protein RBBP4	RBBP4	11.608 ± 0.28	10.82 ± 0.168	10.814 ± 0.269	10.852 ± 0.198	10.601 ± 0.34	11.255 ± 0.118	10.988 ± 0.505	10.449 ± 0.143	10.539 ± 0.068	11.252 ± 0.551
Transaldolase	TALDO1	12.325 ± 0.088	12.346 ± 0.089	11.86 ± 0.183	12.554 ± 0.132	12.281 ± 0.108	12.455 ± 0.499	12.387 ± 0.041	12.447 ± 0.23	12.703 ± 0.119	12.848 ± 0.118

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
T-complex protein 1 subunit beta	CCT2	13.294 ± 0.103	13.162 ± 0.168	13.34 ± 0.163	13.512 ± 0.026	13.045 ± 0.064	13.415 ± 0.061	13.395 ± 0.024	13.213 ± 0.141	13.237 ± 0.077	13.228 ± 0.048
Transmembrane emp24 domain-containing protein 2	TMED2	10.316 ± 0.364	10.352 ± 0.157	14.099 ± 0.245	11.158 ± 0.52	11.235 ± 0.755	9.901 ± 0.138	10.667 ± 0.093	13.617 ± 1.235	10.456 ± 0.254	10.622 ± 0.282
Pre-mRNA-processing factor 19	PRPF19	11.709 ± 0.481	11.274 ± 0.406	11.187 ± 0.664	11.845 ± 0.476	10.951 ± 0.127	11.713 ± 0.551	11.372 ± 0.426	9.977 ± 0.041	10.747 ± 0.542	10.539 ± 0.209
Putative protein FAM10A4	ST13P4	11.802 ± 0.207	11.617 ± 0.058	11.238 ± 0.543	11.991 ± 0.203	11.764 ± 0.221	11.016 ± 0.358	10.508 ± 0.571	11.122 ± 0.409	11.302 ± 0.24	10.729 ± 0.247
60S ribosomal protein L6	RPL6	12.024 ± 0.198	11.226 ± 0.622	11.967 ± 0.271	11.437 ± 0.555	11.416 ± 0.532	12.236 ± 0.037	12.401 ± 0.09	12.585 ± 0.054	12.573 ± 0.143	12.498 ± 0.049
Poly(rC)-binding protein 2	PCBP2	12.513 ± 0.14	12.262 ± 0.123	11.856 ± 0.323	12.549 ± 0.078	12.223 ± 0.202	12.821 ± 0.255	12.748 ± 0.035	12.73 ± 0.101	12.806 ± 0.126	12.724 ± 0.038
Adenylate kinase 2, mitochondrial	AK2	12.671 ± 0.08	12.34 ± 0.158	12.471 ± 0.083	12.342 ± 0.122	12.57 ± 0.08	12.783 ± 0.222	13.061 ± 0.17	12.891 ± 0.209	13.052 ± 0.133	12.972 ± 0.078
Myosin light polypeptide 6	MYL6	13.391 ± 0.157	13.437 ± 0.143	13.12 ± 0.192	13.186 ± 0.068	13.171 ± 0.153	12.632 ± 0.02	12.682 ± 0.069	12.311 ± 0.284	12.683 ± 0.151	12.745 ± 0.127
Probable ATP-dependent RNA helicase DDX31	DDX31	10.458 ± 0.217	12.64 ± 0.232	10.51 ± 0.098	10.55 ± 0.1	12.81 ± 1.172	10.451 ± 0.225	10.513 ± 0.254	10.368 ± 0.12	10.665 ± 0.167	10.465 ± 0.207
Calmodulin-2	CALM2	10.563 ± 0.193	10.505 ± 0.323	11.237 ± 0.497	10.922 ± 0.361	10.534 ± 0.125	12.574 ± 0.102	12.001 ± 0.232	10.248 ± 0.376	12.444 ± 0.124	11.673 ± 0.398
Actin-related protein 2/3 complex subunit 4	ARPC4-TTLL3	12.016 ± 0.081	12.146 ± 0.137	12.691 ± 0.236	11.712 ± 0.125	11.656 ± 0.662	11.944 ± 0.102	10.732 ± 0.449	10.842 ± 0.435	11.418 ± 0.49	11.541 ± 0.531
60S ribosomal protein L21	RPL21	11.604 ± 0.704	10.506 ± 0.109	11.972 ± 0.533	10.528 ± 0.226	12.921 ± 0.073	11.555 ± 0.751	10.6 ± 0.04	11.152 ± 0.992	10.314 ± 0.382	12.849 ± 0.179
60S ribosomal protein L18	RPL18	12.922 ± 0.192	12.108 ± 0.415	12.706 ± 0.135	12.702 ± 0.154	12.587 ± 0.2	11.596 ± 0.599	12.178 ± 0.18	12.121 ± 0.889	11.917 ± 0.134	12.417 ± 0.553
Nuclease-sensitive element-binding protein 1	YBX1	13.359 ± 0.208	13.07 ± 0.023	12.863 ± 0.223	13.324 ± 0.109	13.104 ± 0.203	11.71 ± 0.752	12.716 ± 0.136	9.802 ± 0.124	11.592 ± 0.551	10.307 ± 0.162
Nebulin	NEB	12.004 ± 0.693	12.116 ± 0.646	12.763 ± 0.177	11.801 ± 0.731	11.383 ± 0.664	13.173 ± 0.203	12.229 ± 0.677	10.277 ± 0.323	11.51 ± 0.547	13.156 ± 0.135
DNA replication licensing factor MCM2	MCM2	11.924 ± 0.237	10.717 ± 0.442	10.857 ± 0.338	10.975 ± 0.126	11.198 ± 0.404	12.085 ± 0.192	11.964 ± 0.159	11.561 ± 0.083	11.391 ± 0.576	11.443 ± 0.295
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit M	EIF3M	11.041 ± 0.441	10.846 ± 0.17	12.113 ± 0.312	10.459 ± 0.434	11.097 ± 0.757	10.683 ± 0.141	10.653 ± 0.195	10.711 ± 0.28	10.798 ± 0.33	11.359 ± 0.335
Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial	HADHA	11.679 ± 0.207	10.921 ± 0.311	11.015 ± 0.379	11.87 ± 0.137	11.753 ± 0.073	11.891 ± 0.129	11.834 ± 0.111	11.725 ± 0.451	12.408 ± 0.171	11.657 ± 0.139

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Deoxyuridine 5-triphosphate nucleotidohydrolase, mitochondrial	DUT	12.045 ± 0.147	11.134 ± 0.36	11.632 ± 0.113	11.445 ± 0.319	11.777 ± 0.151	12.181 ± 0.271	11.674 ± 0.119	11.693 ± 0.274	11.045 ± 0.457	11.385 ± 0.166
Annexin A2	ANXA2	12.162 ± 0.059	12.023 ± 0.203	12.073 ± 0.054	11.934 ± 0.085	12.147 ± 0.082	12.534 ± 0.184	12.109 ± 0.097	12.24 ± 0.139	12.356 ± 0.053	12.459 ± 0.157
Ras-related protein Rab-11A	RAB11A	11.431 ± 0.114	11.255 ± 0.047	11.194 ± 0.408	11.375 ± 0.114	11.201 ± 0.075	11.971 ± 0.073	11.751 ± 0.199	11.859 ± 0.075	11.512 ± 0.668	11.804 ± 0.024
40S ribosomal protein S15a	RPS15A	11.423 ± 0.412	10.968 ± 0.579	11.792 ± 0.274	12.112 ± 0.132	12.374 ± 0.186	10.869 ± 0.457	10.863 ± 0.127	12.124 ± 0.172	12.625 ± 0.345	11.444 ± 0.556
40S ribosomal protein S17	RPS17	12.722 ± 0.625	11.733 ± 0.466	12.444 ± 0.098	13.004 ± 0.303	11.673 ± 0.706	11.5 ± 0.459	12.268 ± 0.118	11.648 ± 0.706	11.745 ± 0.712	11.106 ± 0.455
Coactosin-like protein	COTL1	12.003 ± 0.124	10.732 ± 0.54	12.448 ± 0.249	11.312 ± 0.326	11.381 ± 0.372	10.601 ± 0.063	10.983 ± 0.584	11.024 ± 0.141	11.035 ± 0.329	11.034 ± 0.297
Transmembrane protein 214	TMEM214	10.473 ± 0.282	11.158 ± 0.19	10.614 ± 0.089	10.351 ± 0.161	10.627 ± 0.123	11.046 ± 0.219	10.551 ± 0.274	12.134 ± 1.019	11.107 ± 0.627	10.289 ± 0.281
Protein disulfide-isomerase A3	PDIA3	10.689 ± 0.367	10.626 ± 0.388	10.469 ± 0.228	11.602 ± 0.04	10.648 ± 0.413	10.892 ± 0.232	10.254 ± 0.079	10.488 ± 0.042	11.14 ± 0.175	10.196 ± 0.113
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6	PSMD6	10.325 ± 0.092	10.564 ± 0.194	10.797 ± 0.508	10.676 ± 0.405	10.417 ± 0.24	10.932 ± 0.487	10.817 ± 0.449	10.658 ± 0.257	11.132 ± 0.232	10.696 ± 0.334
PERQ amino acid-rich with GYF domain-containing protein 2	GIGYF2	12.345 ± 1.66	12.632 ± 1.859	14.642 ± 1.934	13.789 ± 1.615	16.366 ± 0.076	10.586 ± 0.318	12.284 ± 1.755	12.356 ± 1.995	15.484 ± 0.214	14.965 ± 2.235
Probable glutamate--tRNA ligase, mitochondrial	EARS2	15.034 ± 0.327	15.013 ± 0.447	15.375 ± 0.205	15.025 ± 0.346	14.779 ± 0.108	13.368 ± 1.431	14.075 ± 1.566	14.842 ± 0.542	15.408 ± 0.39	14.709 ± 0.42
Complement component 1 Q subcomponent-binding protein, mitochondrial	C1QBP	11.28 ± 0.576	11.138 ± 0.368	11.031 ± 0.355	11.236 ± 0.352	11.673 ± 0.921	12.574 ± 0.251	11.022 ± 0.32	11.042 ± 0.37	11.703 ± 0.736	12.738 ± 0.296
Eukaryotic initiation factor 4A-III	EIF4A3	11.949 ± 0.039	11.198 ± 0.341	11.577 ± 0.614	12.06 ± 0.157	11.668 ± 0.288	11.717 ± 0.144	12.182 ± 0.148	11.539 ± 0.53	11.52 ± 0.44	11.946 ± 0.088
Regulatory-associated protein of mTOR	RPTOR	12.32 ± 1.151	11.227 ± 0.621	12.582 ± 0.847	10.334 ± 0.357	11.29 ± 0.94	12.343 ± 0.938	13.217 ± 0.109	12.443 ± 0.635	12.903 ± 0.198	12.444 ± 0.863
40S ribosomal protein S13	RPS13	12.236 ± 0.621	12.239 ± 0.12	12.546 ± 0.089	12.71 ± 0.106	12.48 ± 0.134	12.933 ± 0.098	11.878 ± 0.874	12.621 ± 0.17	12.832 ± 0.076	12.094 ± 0.673
Prohibitin-2	PHB2	10.397 ± 0.131	11.253 ± 0.332	10.986 ± 0.132	11.241 ± 0.319	10.865 ± 0.517	12.372 ± 0.185	12.135 ± 0.091	11.42 ± 0.225	12.305 ± 0.135	12.152 ± 0.77
Rho GDP-dissociation inhibitor 1	ARHGDIA	12.652 ± 0.176	12.775 ± 0.106	13.297 ± 0.141	13.161 ± 0.335	12.331 ± 0.633	12.661 ± 0.266	12.356 ± 0.133	10.871 ± 0.808	12.186 ± 0.201	12.476 ± 0.064

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Histone H3	H3F3A	14.597 ± 0.099	14.516 ± 0.29	14.817 ± 0.177	14.579 ± 0.025	14.773 ± 0.093	12.928 ± 0.195	13.368 ± 0.091	13.295 ± 0.25	13.397 ± 0.104	13.701 ± 0.187
Calreticulin	CALR	13.796 ± 0.04	13.621 ± 0.1	13.783 ± 0.216	13.924 ± 0.096	13.703 ± 0.066	14.111 ± 0.046	13.692 ± 0.131	13.717 ± 0.044	14.024 ± 0.064	13.619 ± 0.319
40S ribosomal protein S15	RPS15	12.046 ± 0.257	12.673 ± 0.224	12.465 ± 0.042	11.966 ± 0.085	11.53 ± 0.508	11.449 ± 0.51	10.226 ± 0.167	10.666 ± 0.172	11.75 ± 0.443	10.933 ± 0.438
Splicing factor U2AF 65 kDa subunit	U2AF2	11.709 ± 0.273	11.858 ± 0.39	11.713 ± 0.371	12.198 ± 0.196	11.907 ± 0.101	11.265 ± 0.585	11.378 ± 0.599	11.572 ± 0.459	11.86 ± 0.586	12.323 ± 0.18
Perilipin-3	PLIN3	11.26 ± 0.048	10.899 ± 0.411	10.534 ± 0.347	11.21 ± 0.428	11.571 ± 0.081	11.765 ± 0.168	11.277 ± 0.183	10.891 ± 0.345	11.01 ± 0.319	10.701 ± 0.603
U1 small nuclear ribonucleoprotein A	SNRPA	11.971 ± 0.799	12.096 ± 0.843	13.48 ± 0.26	10.749 ± 0.165	12.475 ± 0.235	11.487 ± 0.368	12.583 ± 0.358	14.327 ± 0.32	12.376 ± 0.984	13.536 ± 0.415
40S ribosomal protein S5	RPS5	13.504 ± 0.173	13.745 ± 0.255	14.026 ± 0.215	13.727 ± 0.162	13.963 ± 0.175	13.309 ± 0.225	13.56 ± 0.196	13.935 ± 0.426	13.585 ± 0.368	14.425 ± 0.525
60S ribosomal protein L18a	RPL18A	11.944 ± 0.061	11.437 ± 0.281	11.367 ± 0.306	11.854 ± 0.02	11.452 ± 0.25	11.754 ± 0.184	11.517 ± 0.488	11.008 ± 0.27	10.923 ± 0.508	10.817 ± 0.367
40S ribosomal protein S11	RPS11	12.266 ± 0.8	12.079 ± 0.873	12.263 ± 0.958	12.355 ± 1.082	12.113 ± 1.019	12.473 ± 0.955	12.696 ± 0.657	13.226 ± 0.117	12.409 ± 0.453	12.203 ± 1
ER lumen protein-retaining receptor 1	KDELR1	12.046 ± 0.954	11.952 ± 0.594	14.158 ± 0.426	10.338 ± 0.245	14.273 ± 0.231	11.208 ± 0.92	11.208 ± 0.94	13.578 ± 0.342	12.53 ± 1.074	13.934 ± 0.788
40S ribosomal protein S16	RPS16	12.626 ± 0.311	12.178 ± 0.244	12.013 ± 0.168	11.081 ± 0.454	11.736 ± 0.418	11.975 ± 0.739	12.23 ± 0.011	11.744 ± 0.569	12.207 ± 0.83	12.195 ± 0.344
Chloride intracellular channel protein 1	CLIC1	13.757 ± 0.041	13.552 ± 0.048	13.361 ± 0.058	13.738 ± 0.021	13.581 ± 0.045	13.299 ± 0.188	12.933 ± 0.313	12.752 ± 0.142	13.206 ± 0.076	13.065 ± 0.081
Importin-5	IPO5	13.046 ± 0.279	11.853 ± 0.821	12.609 ± 1.222	12.17 ± 0.824	13.657 ± 0.314	14.823 ± 0.126	14.219 ± 0.42	13.191 ± 1.442	14.387 ± 1.065	15.59 ± 0.658
Proteasome subunit alpha type-7	PSMA7	10.657 ± 0.477	11.826 ± 0.307	11.252 ± 0.447	11.174 ± 0.191	11.225 ± 0.063	12.031 ± 0.03	11.766 ± 0.13	11.567 ± 0.135	11.915 ± 0.031	11.371 ± 0.709
Microsomal glutathione S-transferase 3	MGST3	10.759 ± 0.265	11.952 ± 0.128	10.836 ± 0.437	11.183 ± 0.157	11.383 ± 0.44	10.98 ± 0.749	11.535 ± 0.451	13.542 ± 0.472	10.859 ± 0.226	12.776 ± 0.746
Histone acetyltransferase type B catalytic subunit	HAT1	11.775 ± 0.075	11.352 ± 0.347	11.117 ± 0.229	10.658 ± 0.442	11.188 ± 0.229	12.416 ± 0.107	11.139 ± 0.62	11.768 ± 0.534	12.311 ± 0.107	11.539 ± 0.642
Actin-related protein 2/3 complex subunit 1B	ARPC1B	12.182 ± 0.108	12.221 ±0.137	12.293 ± 0.051	12.311 ±0.222	12.175 ± 0.221	11.999 ± 0.364	12.103 ±0.072	10.787 ±0.171	11.6 ± 0.526	11.611 ± 0.463
Alpha-actinin-4	ACTN4	14.361 ± 0.413	14.047 ± 0.227	14.727 ± 0.181	14.234 ±0.082	14.568 ± 0.179	14.513 ± 0.197	14.458 ±0.122	14.144 ±0.211	14.508 ± 0.038	14.091 ± 0.387

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
TBC1 domain family member 4	TBC1D4	13.606 ± 1.486	15.082 ± 0.16	13.237 ± 1.283	13.458 ± 1.526	12.896 ± 1.111	11.496 ± 0.989	10.358 ± 0.177	10.76 ± 0.202	10.457 ± 0.196	10.65 ± 0.339
Histone H2B type 2-F	HIST2H2BF	17.096 ± 0.037	16.706 ± 0.078	16.218 ± 0.467	17.006 ± 0.03	16.784 ± 0.051	16.656 ± 0.069	16.647 ± 0.048	16.42 ± 0.118	16.65 ± 0.04	16.553 ± 0.117
Immunoglobulin superfamily member 3	IGSF3	10.919 ± 0.108	10.733 ± 0.17	11.206 ± 0.451	11.554 ± 0.813	10.781 ± 0.261	10.436 ± 0.029	10.125 ± 0.142	10.402 ± 0.111	10.602 ± 0.134	10.709 ± 0.065
WD repeat-containing protein 1	WDR1	12.767 ± 0.053	12.055 ± 0.477	12.007 ± 0.992	12.654 ± 0.091	12.546 ± 0.052	11.942 ± 0.614	11.699 ± 0.644	10.417 ± 0.165	12.253 ± 0.543	12.529 ± 0.025
Core histone macro-H2A.1	H2AFY	14.018 ± 0.5	14.543 ± 0.404	15.464 ± 0.533	14.146 ± 0.504	15.011 ± 0.308	12.209 ± 1.229	12.216 ± 1.143	11.577 ± 1.207	10.82 ± 0.289	14.771 ± 0.286
Small subunit processome component 20 homolog	UTP20	11.021 ± 0.302	11.024 ± 0.315	11.395 ± 0.287	11.374 ± 0.253	10.528 ± 0.365	11.644 ± 0.912	10.875 ± 0.294	11.108 ± 0.569	10.67 ± 0.014	10.675 ± 0.259
CAAX prenyl protease 1 homolog	ZMPSTE24	14.318 ± 0.049	14.182 ± 0.347	15.108 ± 0.495	13.94 ± 0.308	14.632 ± 0.082	10.539 ± 0.295	10.832 ± 0.175	10.497 ± 0.149	10.287 ± 0.046	10.382 ± 0.381
Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	IDH1	11.997 ± 0.444	11.36 ± 1.073	11.142 ± 0.76	11.6 ± 0.414	11.315 ± 0.695	11.275 ± 1	12.2 ± 0.392	10.322 ± 0.211	12.646 ± 0.133	10.695 ± 0.245
LETM1 and EF-hand domain-containing protein 1, mitochondrial	LETM1	10.562 ± 0.256	10.68 ± 0.275	10.99 ± 0.936	10.531 ± 0.24	10.09 ± 0.39	10.985 ± 0.865	10.698 ± 0.039	10.621 ± 0.336	12.38 ± 1.034	11.838 ± 1.198
6-phosphogluconolactonase	PGLS	11.164 ± 0.271	11.022 ± 0.248	10.397 ± 0.106	11.182 ± 0.131	11.07 ± 0.209	10.433 ± 0.082	10.603 ± 0.131	10.884 ± 0.182	10.542 ± 0.343	10.575 ± 0.156
L-lactate dehydrogenase A chain	LDHA	14.252 ± 0.065	13.991 ± 0.09	13.976 ± 0.118	14.127 ± 0.092	14.229 ± 0.043	14.093 ± 0.074	13.855 ± 0.104	13.242 ± 0.237	13.928 ± 0.183	14.271 ± 0.218
Purine nucleoside phosphorylase	PNP	11.884 ± 0.336	10.83 ± 0.482	10.921 ± 0.571	11.571 ± 0.493	11.878 ± 0.213	10.371 ± 0.161	11.004 ± 0.278	10.278 ± 0.446	11.747 ± 0.09	11.019 ± 0.487
Phosphoglycerate kinase 1	PGK1	14.586 ± 0.068	14.283 ± 0.032	14.173 ± 0.089	14.507 ± 0.011	14.356 ± 0.021	14.94 ± 0.095	14.799 ± 0.079	14.55 ± 0.056	14.766 ± 0.064	14.742 ± 0.029
Carbonic anhydrase 2	CA2	15.061 ± 0.116	14.188 ± 0.098	14.213 ± 0.138	14.795 ± 0.106	14.726 ± 0.055	10.372 ± 0.242	10.606 ± 0.716	10.534 ± 0.095	10.581 ± 0.24	10.481 ± 0.044
Catalase	CAT	13.125 ± 0.114	12.463 ± 0.128	12.774 ± 0.128	12.81 ± 0.198	12.969 ± 0.092	12.003 ± 0.71	12.79 ± 0.269	12.051 ± 0.303	12.587 ± 0.144	11.7 ± 0.468
Fructose-bisphosphate aldolase A	ALDOA	15.153 ± 0.011	14.799 ± 0.038	14.746 ± 0.073	15.124 ± 0.015	15.012 ± 0.036	15.185 ± 0.042	14.921 ± 0.065	14.849 ± 0.08	14.974 ± 0.067	14.973 ± 0.068
Cystatin-B	CSTB	11.397 ± 0.235	11.466 ± 0.248	11.213 ± 0.388	11.874 ± 0.182	11.084 ± 0.446	12.379 ± 0.196	11.291 ± 0.629	12.159 ± 0.329	12.174 ± 0.073	11.119 ± 0.485
Annexin A1	ANXA1	11.947 ± 0.145	11.532 ± 0.106	11.531 ± 0.411	11.969 ± 0.043	12.009 ± 0.046	11.166 ± 0.261	10.607 ± 0.523	10.305 ± 0.241	10.699 ± 0.277	10.92 ± 0.212

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	15.575 ± 0.028	15.287 ± 0.043	15.332 ± 0.085	15.472 ± 0.022	15.443 ± 0.015	15.971 ± 0.034	15.811 ± 0.006	15.747 ± 0.11	15.93 ± 0.054	15.897 ± 0.064
Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1	RPN1	12.088 ± 0.327	11.779 ± 0.056	11.787 ± 0.3	11.428 ± 0.372	10.928 ± 0.114	11.038 ± 0.559	11.591 ± 0.35	12.193 ± 0.511	10.454 ± 0.218	11.021 ± 0.406
Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	RPN2	10.778 ± 0.337	10.92 ± 0.32	11.155 ± 0.053	10.824 ± 0.487	10.844 ± 0.133	10.234 ± 0.071	10.644 ± 0.47	10.802 ± 0.355	11.272 ± 0.336	10.966 ± 0.284
ADP/ATP translocase 2	SLC25A5	13.108 ± 0.111	12.215 ± 0.298	12.638 ± 0.169	12.514 ± 0.336	12.889 ± 0.082	13.833 ± 0.128	12.997 ± 0.409	13.206 ± 0.196	13.673 ± 0.079	13.504 ± 0.242
60S acidic ribosomal protein P1	RPLP1	13.461 ± 0.079	13.374 ± 0.009	13.771 ± 0.426	13.25 ± 0.076	13.418 ± 0.029	13.91 ± 0.034	13.889 ± 0.053	14.051 ± 0.162	13.862 ± 0.051	13.868 ± 0.071
60S acidic ribosomal protein P2	RPLP2	13.16 ± 0.025	13.037 ± 0.027	12.736 ± 0.302	13.048 ± 0.152	12.907 ± 0.158	13.384 ± 0.163	13.28 ± 0.06	13.352 ± 0.113	13.318 ± 0.176	11.806 ± 0.992
60S acidic ribosomal protein P0	RPLP0	12.536 ± 0.1	12.651 ± 0.254	12.799 ± 0.272	12.628 ± 0.038	12.468 ± 0.112	12.777 ± 0.157	12.695 ± 0.098	12.72 ± 0.18	12.68 ± 0.173	12.725 ± 0.135
ATP synthase subunit beta, mitochondrial	ATP5B	13.811 ± 0.038	13.773 ± 0.044	13.711 ± 0.025	13.769 ± 0.057	13.646 ± 0.022	14.002 ± 0.054	13.636 ± 0.094	13.515 ± 0.111	13.801 ± 0.081	13.89 ± 0.106
Protein S100-A6	S100A6	11.088 ± 0.076	11.265 ± 0.276	11.841 ± 0.224	11.854 ± 0.603	11.908 ± 0.511	12.101 ± 0.24	12.404 ± 0.158	12.859 ± 0.266	12.167 ± 0.185	12.171 ± 0.241
Tubulin beta chain	TUBB	15.163 ± 0.084	14.927 ± 0.049	14.976 ± 0.092	15.166 ± 0.068	15.056 ± 0.014	16.049 ± 0.017	15.886 ± 0.028	15.662 ± 0.034	15.914 ± 0.042	15.963 ± 0.1
Profilin-1	PFN1	14.495 ± 0.063	14.017 ± 0.12	13.967 ± 0.073	14.397 ± 0.068	14.329 ± 0.061	14.55 ± 0.127	14.328 ± 0.08	14.081 ± 0.058	14.507 ± 0.089	14.025 ± 0.332
Glutamate--tRNA ligase	EPRS	11.685 ± 0.285	11.233 ± 0.109	11.309 ± 0.373	11.292 ± 0.162	11.268 ± 0.272	11.669 ± 0.169	11.63 ± 0.245	10.966 ± 0.363	11.013 ± 0.313	11.687 ± 0.06
Heat shock protein HSP 90-alpha	HSP90AA1	13.497 ± 0.16	13.367 ± 0.178	13.544 ± 0.02	13.287 ± 0.234	13.52 ± 0.046	13.239 ± 0.057	12.913 ± 0.026	12.792 ± 0.104	12.891 ± 0.224	12.687 ± 0.247
Fumarate hydratase, mitochondrial	FH	10.943 ± 0.414	11.466 ± 0.713	11.774 ± 0.599	11.49 ± 0.603	10.933 ± 0.501	11.656 ± 0.134	11.969 ± 0.207	12.777 ± 0.139	12.645 ± 0.3	12.157 ± 0.21
Annexin A6	ANXA6	11.671 ± 0.068	12.042 ± 0.108	11.323 ± 0.657	11.892 ± 0.099	11.739 ± 0.254	12.652 ± 0.264	12.438 ± 0.174	12.488 ± 0.211	12.205 ± 0.049	12.391 ± 0.167
Heat shock protein HSP 90-beta	HSP90AB1	15.316 ± 0.055	15.111 ± 0.068	15.098 ± 0.106	15.33 ± 0.011	15.201 ± 0.015	15.231 ± 0.064	14.973 ± 0.02	14.804 ± 0.007	15.067 ± 0.04	15.086 ± 0.046
Neutrophil elastase	ELANE	10.877 ± 0.652	10.449 ± 0.163	10.168 ± 0.191	10.65 ± 0.433	10.435 ± 0.089	13.882 ± 0.279	13.878 ± 0.033	14.57 ± 0.194	12.431 ± 1.132	14.657 ± 0.57
Cathepsin G	CTSG	11.592 ± 0.138	11.13 ± 0.237	11.363 ± 0.115	11.652 ± 0.195	11.213 ± 0.296	13.267 ± 0.333	12.606 ± 0.058	13.264 ± 0.116	13.162 ± 0.235	13.038 ± 0.237

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Pleckstrin	PLEK	10.668 ± 0.338	11.197 ± 0.482	10.577 ± 0.308	10.584 ± 0.027	10.747 ± 0.133	12.272 ± 0.33	10.956 ± 0.449	12.289 ± 0.825	12.075 ± 0.806	12.128 ± 0.803
Vimentin	VIM	13.653 ± 0.031	13.047 ± 0.236	12.864 ± 0.196	13.3 ± 0.249	13.21 ± 0.33	11.522 ± 0.025	11.371 ± 0.033	11.548 ± 0.2	11.409 ± 0.458	11.206 ± 0.301
Annexin A5	ANXA5	11.003 ± 0.635	11.652 ± 0.107	10.691 ± 0.324	11.724 ± 0.053	10.885 ± 0.148	10.837 ± 0.348	10.891 ± 0.334	11.005 ± 0.171	10.15 ± 0.119	10.85 ± 0.354
Gamma-enolase	ENO2	11.509 ± 1.528	12.793 ± 1.22	12.556 ± 0.982	13.158 ± 1.326	11.616 ± 1.254	10.376 ± 0.144	13.008 ± 1.273	12.782 ± 1.098	13.134 ± 1.467	11.978 ± 1.261
Glutathione S-transferase P	GSTP1	13.681 ± 0.251	13.621 ± 0.121	13.767 ± 0.064	13.592 ± 0.1	13.854 ± 0.161	14.643 ± 0.095	14.704 ± 0.111	14.62 ± 0.103	14.76 ± 0.053	15.014 ± 0.229
Galectin-1	LGALS1	14.766 ± 0.146	14.048 ± 0.243	14.284 ± 0.012	14.402 ± 0.257	14.566 ± 0.187	12.819 ± 0.083	12.587 ± 0.255	12.669 ± 0.149	12.425 ± 0.169	12.696 ± 0.141
High mobility group protein B1	HMGB1	13.37 ± 0.103	11.255 ± 0.728	12.348 ± 0.7	12.422 ± 0.781	11.228 ± 1.055	12.381 ± 1.125	12.277 ± 0.658	11.305 ± 0.936	11.45 ± 0.925	12.829 ± 0.056
Poly [ADP-ribose] polymerase 1	PARP1	12.163 ± 0.267	12.131 ± 0.096	12.126 ± 0.173	12.337 ± 0.204	12.452 ± 0.189	11.272 ± 0.467	11.85 ± 0.072	11.97 ± 0.147	11.892 ± 0.356	12.028 ± 0.043
Fructose-bisphosphate aldolase C	ALDOC	12.231 ± 0.945	12.211 ± 0.51	11.92 ± 0.824	13.167 ± 0.104	12.819 ± 0.069	12.08 ± 0.546	11.216 ± 0.787	11.248 ± 0.898	12.693 ± 0.132	11.776 ± 0.57
Histone H2A.V	H2AFV	16.242 ± 0.139	16.505 ± 0.242	17.081 ± 0.487	16.026 ± 0.223	16.911 ± 0.262	15.143 ± 0.234	15.693 ± 0.237	16.424 ± 0.263	15.645 ± 0.362	15.896 ± 0.197
Cytochrome c oxidase subunit 8A, mitochondrial	COX8A	11.088 ± 0.284	10.753 ± 0.264	10.91 ± 0.153	10.464 ± 0.255	10.58 ± 0.017	10.183 ± 0.131	10.036 ± 0.122	13.059 ± 1.09	10.779 ± 0.199	10.586 ± 0.259
Thioredoxin	TXN	12.528 ± 0.178	12.698 ± 0.298	12.106 ± 0.858	12.196 ± 0.207	12.88 ± 0.129	12.864 ± 0.203	13.021 ± 0.199	13.616 ± 0.172	13.286 ± 0.319	13.522 ± 0.322
78 kDa glucose-regulated protein	HSPA5	13.053 ± 0.115	12.983 ± 0.179	12.558 ± 0.082	13.182 ± 0.088	13.028 ± 0.13	12.562 ± 0.063	12.62 ± 0.068	12.188 ± 0.277	12.53 ± 0.148	12.357 ± 0.294
Heat shock cognate 71 kDa protein	HSPA8	14.775 ± 0.096	14.604 ± 0.049	14.397 ± 0.107	14.806 ± 0.019	14.652 ± 0.015	14.297 ± 0.087	14.091 ± 0.047	13.79 ± 0.156	14.222 ± 0.067	14.143 ± 0.074
Ribose-phosphate pyrophosphokinase 2	PRPS2	11.836 ± 0.449	10.721 ± 0.487	12.085 ± 0.249	11.748 ± 0.476	11.798 ± 0.458	11.982 ± 0.684	12.489 ± 0.196	11.925 ± 0.085	11.837 ± 0.629	12.261 ± 0.118
Proliferating cell nuclear antigen	PCNA	11.549 ± 0.069	11.393 ± 0.091	10.967 ± 0.321	11.655 ± 0.032	11.428 ± 0.226	11.871 ± 0.632	12.75 ± 0.249	11.985 ± 0.184	13.106 ± 0.164	12.676 ± 0.272
ADP/ATP translocase 3	SLC25A6	12.462 ± 0.095	12.66 ± 0.048	12.958 ± 0.284	12.35 ± 0.212	12.9 ± 0.172	12.823 ± 0.442	12.496 ± 0.139	12.78 ± 0.18	13.047 ± 0.356	13.218 ± 0.291
X-ray repair cross-complementing protein 5	XRCC5	12.589 ± 0.181	12.29 ± 0.177	13.14 ± 0.115	12.771 ± 0.252	12.787 ± 0.1	12.402 ± 0.074	12.515 ± 0.142	12.421 ± 0.075	12.589 ± 0.261	12.557 ± 0.052

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Ribonuclease inhibitor	RNH1	13.374 ± 0.18	13.119 ± 0.216	13.102 ± 0.272	13.94 ± 0.175	12.98 ± 0.169	12.829 ± 0.041	12.721 ± 0.101	12.172 ± 0.183	12.814 ± 0.104	12.39 ± 0.128
Elongation factor 2	EEF2	14.066 ± 0.049	13.989 ± 0.081	13.962 ± 0.109	14.112 ± 0.061	13.989 ± 0.024	14.245 ± 0.056	14.145 ± 0.056	14.042 ± 0.046	14.132 ± 0.025	14.18 ± 0.105
Plastin-2	LCP1	13.844 ± 0.069	13.809 ± 0.026	13.848 ± 0.041	13.874 ± 0.015	13.882 ± 0.022	15.047 ± 0.041	14.794 ± 0.053	14.807 ± 0.069	14.904 ± 0.032	14.894 ± 0.044
Beta-enolase	ENO3	10.809 ± 0.191	10.761 ± 0.469	11.327 ± 0.183	10.639 ± 0.166	11.026 ± 0.126	10.519 ± 0.366	11.114 ± 0.288	11.5 ± 0.219	10.756 ± 0.012	12.738 ± 1.733
Macrophage migration inhibitory factor	MIF	12.796 ± 0.412	12.903 ± 0.39	13.546 ± 0.083	13.437 ± 0.094	13.427 ± 0.055	12.556 ± 0.083	12.481 ± 0.191	12.514 ± 0.181	12.576 ± 0.224	12.816 ± 0.22
Pyruvate kinase PKM	PKM	13.679 ± 0.013	13.68 ± 0.067	13.548 ± 0.047	13.722 ± 0.037	13.647 ± 0.058	15.073 ± 0.04	14.9 ± 0.018	14.762 ± 0.027	15.02 ± 0.016	14.9 ± 0.069
40S ribosomal protein S2	RPS2	12.981 ± 0.058	12.795 ± 0.213	13.008 ± 0.318	12.934 ± 0.09	12.941 ± 0.11	13.113 ± 0.183	12.722 ± 0.184	12.941 ± 0.046	12.844 ± 0.115	12.989 ± 0.085
Histone H2A type 2-B	HIST2H2AB	14.333 ± 0.168	13.406 ± 0.169	13.963 ± 0.147	13.775 ± 0.252	14.233 ± 0.027	9.89 ± 0.051	10.225 ± 0.196	10.691 ± 0.205	10.15 ± 0.261	10.601 ± 0.132
Histone H1.5	HIST1H1B	13.555 ± 0.338	13.008 ± 0.191	12.988 ± 0.148	13.216 ± 0.165	13.53 ± 0.084	11.904 ± 0.321	11.067 ± 0.671	11.226 ± 0.5	12.024 ± 0.213	11.13 ± 0.311
Histone H1.3	HIST1H1D	14.173 ± 0.044	13.469 ± 0.106	13.582 ± 0.05	13.813 ± 0.213	13.734 ± 0.188	13.724 ± 0.075	13.418 ± 0.045	13.644 ± 0.044	13.346 ± 0.195	13.101 ± 0.111
Heat shock 70 kDa protein 6	HSPA6	13.676 ± 0.032	12.878 ± 0.104	12.931 ± 0.265	12.668 ± 0.803	13.242 ± 0.075	13.27 ± 0.079	12.782 ± 0.088	12.579 ± 0.134	13.219 ± 0.221	12.376 ± 0.54
T-complex protein 1 subunit alpha	TCP1	12.255 ± 0.174	12.338 ± 0.126	13.099 ± 0.359	12.437 ± 0.067	12.285 ± 0.076	11.581 ± 0.245	12.533 ± 0.086	12.498 ± 0.118	12.566 ± 0.035	13.018 ± 0.282
Phosphoglycerate mutase 1	PGAM1	13.625 ± 0.074	13.761 ± 0.118	13.733 ± 0.057	13.636 ± 0.067	13.782 ± 0.114	13.458 ± 0.112	13.385 ± 0.044	13.631 ± 0.164	13.373 ± 0.049	13.676 ± 0.116
Filamin-A	FLNA	10.839 ± 0.089	10.898 ± 0.415	11.073 ± 0.339	10.482 ± 0.628	11.143 ± 0.215	11.866 ± 0.195	11.587 ± 0.273	11.587 ± 0.372	12.086 ± 0.268	11.804 ± 0.136
Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	VDAC1	12.388 ± 0.129	12.334 ± 0.079	11.263 ± 0.771	12.504 ± 0.068	12.276 ± 0.071	12.529 ± 0.19	11.511 ± 0.801	11.556 ± 0.542	12.367 ± 0.145	11.962 ± 0.249
Trifunctional purine biosynthetic protein adenosine-3	GART	10.395 ± 0.026	10.337 ± 0.344	10.676 ± 0.231	10.267 ± 0.499	10.35 ± 0.314	11.241 ± 0.408	10.936 ± 0.429	10.781 ± 0.253	10.76 ± 0.498	10.051 ± 0.164
Phosphoribosylaminoimidazole-succinocarboxamide synthase	PAICS	14.547 ± 0.177	12.507 ± 0.876	14.452 ± 0.605	13.373 ± 0.694	14.423 ± 0.336	14.545 ± 0.179	12.483 ± 1.05	15.272 ± 0.442	13.259 ± 1.224	14.527 ± 0.423
Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1	UBA1	12.322 ± 0.25	11.835 ± 0.196	11.827 ± 0.226	11.738 ± 0.051	12.065 ± 0.237	12.517 ± 0.259	12.565 ± 0.224	12.187 ± 0.006	11.977 ± 0.125	12.347 ± 0.023

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Nucleoside diphosphate kinase	NME1-NME2	14.023 ± 0.121	13.32 ± 0.095	13.694 ± 0.051	13.822 ± 0.026	13.939 ± 0.049	14.185 ± 0.112	13.691 ± 0.191	13.709 ± 0.171	13.98 ± 0.119	13.87 ± 0.042
MHC class II regulatory factor RFX1	RFX1	11.425 ± 0.064	11.666 ± 0.763	12.008 ± 0.654	11.164 ± 0.733	12.005 ± 0.212	11.546 ± 0.018	11.86 ± 0.05	12.914 ± 0.164	11.599 ± 0.781	12.818 ± 0.09
Liver carboxylesterase 1	CES1	12.377 ± 0.343	11.013 ± 0.687	12.504 ± 0.911	11.369 ± 0.299	12.639 ± 1.362	10.923 ± 0.357	10.031 ± 0.132	10.186 ± 0.388	10.841 ± 0.697	12.177 ± 1.143
Splicing factor, proline- and glutamine-rich	SFPQ	13.235 ± 0.102	12.502 ± 0.544	12.611 ± 0.091	12.691 ± 0.415	12.215 ± 0.774	13.277 ± 0.109	12.855 ± 0.024	12.836 ± 0.209	13.013 ± 0.138	13.017 ± 0.053
Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic	WARS	11.143 ± 0.272	10.598 ± 0.297	10.48 ± 0.203	10.858 ± 0.395	10.615 ± 0.396	11.373 ± 0.24	10.863 ± 0.167	10.73 ± 0.326	10.449 ± 0.22	11.008 ± 0.343
40S ribosomal protein S3	RPS3	13.014 ± 0.085	12.947 ± 0.118	12.383 ± 0.16	13.092 ± 0.005	12.839 ± 0.062	13.271 ± 0.08	12.949 ± 0.045	12.846 ± 0.025	13.083 ± 0.063	13.131 ± 0.101
Adenosylhomocysteinase	AHCY	11.652 ± 0.029	11.35 ± 0.12	11.218 ± 0.503	11.823 ± 0.152	11.274 ± 0.348	11.045 ± 0.149	11.697 ± 0.042	11.702 ± 0.014	11.709 ± 0.07	11.22 ± 0.392
Cofilin-1	CFL1	15.467 ± 0.051	15.443 ± 0.004	15.426 ± 0.023	15.573 ± 0.03	15.495 ± 0.028	14.404 ± 0.117	14.207 ± 0.049	14.436 ± 0.057	14.379 ± 0.056	14.441 ± 0.023
Elongation factor 1-beta	EEF1B2	12.668 ± 0.139	11.433 ± 0.53	11.882 ± 0.397	11.762 ± 0.318	11.52 ± 0.576	11.635 ± 0.543	11.73 ± 0.676	10.905 ± 0.449	11.769 ± 0.586	12.134 ± 0.04
DNA replication licensing factor MCM3	MCM3	11.83 ± 0.277	11.632 ± 0.254	11.873 ± 0.217	12.101 ± 0.175	11.371 ± 0.444	10.525 ± 0.523	11.593 ± 0.031	10.728 ± 0.721	10.863 ± 0.611	11.847 ± 0.122
40S ribosomal protein S12	RPS12	13.443 ± 0.035	12.823 ± 0.106	12.984 ± 0.162	13.174 ± 0.208	12.985 ± 0.071	13.143 ± 0.135	12.943 ± 0.069	12.779 ± 0.115	13.108 ± 0.1	12.837 ± 0.304
ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	ATP5A1	13.652 ± 0.095	13.221 ± 0.331	12.959 ± 0.164	13.499 ± 0.049	13.211 ± 0.203	13.544 ± 0.103	13.382 ± 0.074	12.993 ± 0.143	13.258 ± 0.045	13.182 ± 0.032
Moesin	MSN	12.684 ± 0.072	12.29 ± 0.334	12.718 ± 0.143	12.825 ± 0.126	12.014 ± 0.114	14.304 ± 0.107	14.088 ± 0.069	14.033 ± 0.048	14.333 ± 0.086	14.142 ± 0.349
Probable ATP-dependent RNA helicase DDX6	DDX6	12.22 ± 1.208	11.988 ± 1.128	14.989 ± 0.401	10.632 ± 0.138	13.415 ± 1.399	10.828 ± 0.145	11.475 ± 1.069	12.053 ± 1.236	11.648 ± 1.158	11.961 ± 1.326
60S ribosomal protein L13	RPL13	12.694 ± 0.122	11.03 ± 0.596	11.865 ± 0.734	12.424 ± 0.189	12.711 ± 0.079	11.024 ± 0.187	11.659 ± 0.376	11.423 ± 0.643	11.416 ± 0.787	11.097 ± 0.785
Protein S100-A4	S100A4	13.109 ± 0.298	11.914 ± 0.599	11.934 ± 0.835	11.797 ± 0.509	12.337 ± 0.745	12.188 ± 0.056	11.993 ± 0.024	12.683 ± 0.079	11.758 ± 0.078	11.177 ± 0.357
Threonine--tRNA ligase, cytoplasmic	TARS	11.277 ± 0.245	11.576 ± 0.242	11.311 ± 0.332	11.348 ± 0.105	11.42 ± 0.142	11.157 ± 0.283	10.685 ± 0.391	10.965 ± 0.232	10.791 ± 0.48	11.433 ± 0.09
Elongation factor 1-gamma	EEF1G	12.963 ± 0.127	12.934 ± 0.192	13.11 ± 0.162	13.061 ± 0.094	12.989 ± 0.097	13.269 ± 0.052	12.969 ± 0.071	12.898 ± 0.108	12.844 ± 0.322	13.221 ± 0.286

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
14-3-3 protein theta	YWHAQ	11.734 ± 0.457	11.821 ± 0.86	11.689 ± 0.726	12.079 ± 0.083	11.585 ± 0.549	13.689 ± 0.232	13.126 ± 0.029	12.588 ± 0.362	13.733 ± 0.226	14.003 ± 0.526
60S ribosomal protein L10	RPL10	11.687 ± 0.348	11.161 ± 0.552	10.84 ± 0.619	11.556 ± 0.246	11.059 ± 0.327	11.98 ± 0.284	11.17 ± 0.52	10.419 ± 0.235	11.594 ± 0.512	11.126 ± 0.297
Proteasome subunit alpha type-5	PSMA5	12.051 ± 0.248	11.294 ± 0.32	11.358 ± 0.314	11.484 ± 0.399	11.188 ± 0.591	11.47 ± 0.685	11.861 ± 0.11	12.055 ± 0.507	11.992 ± 0.128	12.165 ± 0.078
Transketolase	TKT	12.48 ± 0.142	12.274 ± 0.182	12.651 ± 0.074	12.494 ± 0.251	12.219 ± 0.175	13.256 ± 0.108	12.994 ± 0.085	12.936 ± 0.043	13.095 ± 0.039	13.128 ± 0.158
Endoplasmic reticulum resident protein 29	ERP29	11.444 ± 0.576	11.663 ± 0.058	11.327 ± 0.462	11.853 ± 0.23	11.005 ± 0.457	10.528 ± 0.451	11.008 ± 0.334	11 ± 0.394	11.012 ± 0.434	11.193 ± 0.314
Peroxiredoxin-6	PRDX6	12.225 ± 0.56	11.66 ± 0.75	12.584 ± 0.182	12.241 ± 0.33	12.59 ± 0.12	13.073 ± 0.067	12.521 ± 0.536	12.966 ± 0.046	12.761 ± 0.262	12.811 ± 0.086
Thioredoxin-dependent peroxide reductase, mitochondrial	PRDX3	12.368 ± 0.862	13.043 ± 0.155	12.805 ± 0.063	13.342 ± 0.047	12.929 ± 0.095	13.908 ± 0.558	12.452 ± 0.129	11.472 ± 1.109	12.586 ± 0.207	12.941 ± 0.095
60S ribosomal protein L12	RPL12	12.326 ± 0.114	11.977 ± 0.073	12.241 ± 0.174	12.3 ± 0.013	11.973 ± 0.032	10.768 ± 0.476	11.369 ± 0.235	10.696 ± 0.023	10.685 ± 0.291	10.868 ± 0.359
Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	PEBP1	12.606 ± 0.128	12.351 ± 0.086	12.201 ± 0.176	12.411 ± 0.234	12.015 ± 0.486	12.173 ± 0.102	11.019 ± 0.559	10.362 ± 0.294	11.743 ± 0.601	12.103 ± 0.217
Leukocyte elastase inhibitor	SERPINB1	10.793 ± 0.216	10.717 ± 0.167	10.54 ± 0.157	10.746 ± 0.201	10.246 ± 0.147	11.034 ± 0.478	10.721 ± 0.469	10.673 ± 0.069	10.968 ± 0.404	11.399 ± 0.665
Coronin-1A	CORO1A	13.049 ± 0.127	13.031 ± 0.034	13.043 ± 0.057	13.079 ± 0.133	13.017 ± 0.114	13.796 ± 0.027	13.669 ± 0.078	13.247 ± 0.1	13.569 ± 0.099	13.88 ± 0.041
Phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransferase	ATIC	11.052 ± 0.427	10.789 ± 0.1	10.849 ± 0.595	10.538 ± 0.46	11.111 ± 0.478	11.434 ± 0.242	11.4 ± 0.22	11.485 ± 0.831	10.805 ± 0.03	11.413 ± 0.309
14-3-3 protein beta/alpha	YWHAB	11.781 ± 0.721	12.095 ± 0.257	12.987 ± 0.412	11.772 ± 0.524	12.843 ± 0.542	11.301 ± 0.466	11.505 ± 0.778	13.204 ± 0.573	11.676 ± 0.859	13.2 ± 0.72
Protein S100-A11	S100A11	12.967 ± 0.243	13.54 ± 0.073	13.623 ± 0.187	13.009 ± 0.027	13.362 ± 0.304	13.125 ± 0.201	13.345 ± 0.084	13.332 ± 0.199	13.247 ± 0.276	13.004 ± 0.159
DNA replication licensing factor MCM7	MCM7	10.934 ± 0.3	10.696 ± 0.456	11.251 ± 0.325	11.76 ± 0.115	11.013 ± 0.447	10.915 ± 0.434	11.428 ± 0.188	10.981 ± 0.282	11.3 ± 0.276	11.252 ± 0.324
Heat shock 70 kDa protein 1-like	HSPA1L	10.805 ± 0.065	10.832 ± 0.629	11.292 ± 0.432	10.527 ± 0.133	10.997 ± 0.815	10.542 ± 0.296	10.705 ± 0.605	11.461 ± 0.298	10.318 ± 0.145	11.396 ± 0.333
60S ribosomal protein L22	RPL22	12.84 ± 0.142	12.497 ± 0.051	12.282 ± 0.072	12.742 ± 0.095	12.599 ± 0.09	13.117 ± 0.093	11.89 ± 0.659	11.993 ± 0.972	12.857 ± 0.117	12.316 ± 0.387
Myosin-9	MYH9	13.048 ± 0.282	11.978 ± 0.218	11.935 ± 0.122	13.003 ± 0.176	12.474 ± 0.254	12.37 ± 0.121	12.251 ± 0.392	11.532 ± 0.192	12.245 ± 0.112	11.128 ± 0.254

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
60S ribosomal protein L4	RPL4	12.73 ± 0.339	12.242 ± 0.253	12.482 ± 0.069	12.547 ± 0.078	11.929 ± 1.064	12.28 ± 1.023	12.43 ± 0.081	12.4 ± 0.071	11.851 ± 0.843	12.515 ± 0.008
Signal recognition particle 14 kDa protein	SRP14	11.69 ± 0.71	11.531 ± 0.44	11.645 ± 0.365	12.3 ± 0.255	11.329 ± 0.39	10.474 ± 0.075	11.899 ± 0.15	10.25 ± 0.326	11.4 ± 0.613	11.379 ± 0.466
Transgelin-2	TAGLN2	13.094 ± 0.064	12.876 ± 0.168	12.8 ± 0.059	12.777 ± 0.28	12.906 ± 0.047	13.031 ± 0.102	12.8 ± 0.13	12.724 ± 0.091	13.012 ± 0.129	12.591 ± 0.279
60S ribosomal protein L3	RPL3	13.239 ± 0.101	12.369 ± 0.682	13.313 ± 0.039	13.132 ± 0.035	12.992 ± 0.034	12.789 ± 0.274	13.112 ± 0.079	13.121 ± 0.102	12.075 ± 0.929	13.163 ± 0.06
Flap endonuclease 1	FEN1	11.019 ± 0.486	10.524 ± 0.456	10.523 ± 0.21	10.69 ± 0.208	10.678 ± 0.202	11.107 ± 0.203	11.064 ± 0.239	10.403 ± 0.178	10.576 ± 0.4	10.726 ± 0.146
Macrophage-capping protein	CAPG	12.508 ± 0.165	12.95 ± 0.194	12.806 ± 0.074	13.177 ± 0.077	13.074 ± 0.201	12.473 ± 0.271	12.08 ± 0.297	12.202 ± 0.126	11.957 ± 0.065	11.497 ± 0.721
T-complex protein 1 subunit zeta	CCT6A	12.343 ± 0.024	11.898 ± 0.08	11.497 ± 0.408	11.724 ± 0.074	11.668 ± 0.078	12.06 ± 0.247	12.113 ± 0.099	12.007 ± 0.057	12.1 ± 0.167	12.335 ± 0.26
Malate dehydrogenase, mitochondrial	MDH2	13.672 ± 0.061	13.357 ± 0.14	13.458 ± 0.025	13.668 ± 0.059	13.499 ± 0.069	13.77 ± 0.022	13.461 ± 0.136	13.227 ± 0.067	13.611 ± 0.048	13.614 ± 0.08
40S ribosomal protein S27	RPS27	12.067 ± 0.205	11.562 ± 0.252	11.202 ± 0.48	11.202 ± 0.493	11.599 ± 0.548	11.806 ± 0.099	10.939 ± 0.688	11.372 ± 0.296	11.221 ± 0.453	11.332 ± 0.452
Leucine-rich PPR motif-containing protein, mitochondrial	LRPPRC	12.377 ± 0.272	12.56 ± 0.826	12.584 ± 0.786	12.29 ± 0.945	12.315 ± 0.808	12.399 ± 0.574	12.208 ± 0.928	11.473 ± 0.881	12.27 ± 0.933	13.843 ± 0.336
ATP synthase subunit O, mitochondrial	ATP5O	10.895 ± 0.575	11.666 ± 0.154	10.92 ± 0.637	11.68 ± 0.282	10.729 ± 0.636	11.76 ± 0.206	11.673 ± 0.121	11.611 ± 0.318	11.769 ± 0.252	12.325 ± 0.174
Isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial	IDH2	11.995 ± 0.105	11.711 ± 0.052	11.887 ± 0.097	11.641 ± 0.498	11.751 ± 0.127	11.981 ± 0.268	11.691 ± 0.322	11.272 ± 0.825	11.185 ± 0.625	11.771 ± 0.013
Nuclear autoantigenic sperm protein	NASP	12.637 ± 0.117	12.365 ± 0.153	11.817 ± 0.878	12.33 ± 0.298	12.434 ± 0.16	12.44 ± 0.092	12.57 ± 0.093	10.703 ± 0.195	12.619 ± 0.025	12.492 ± 0.164
Elongation factor Tu, mitochondrial	TUFM	11.37 ± 0.397	11.604 ± 0.144	11.193 ± 0.29	11.474 ± 0.276	11.107 ± 0.297	12.033 ± 0.188	12.067 ± 0.104	12.329 ± 0.181	12.375 ± 0.095	12.225 ± 0.054
Signal recognition particle 9 kDa protein	SRP9	11.264 ± 0.301	11.851 ± 0.19	11.555 ± 0.044	10.996 ± 0.465	11.155 ± 0.305	11.92 ± 0.222	11.738 ± 0.181	11.35 ± 0.548	11.052 ± 0.517	11.347 ± 0.367
Rab GDP dissociation inhibitor beta	GDI2	13.025 ± 0.163	12.782 ± 0.046	12.407 ± 0.075	12.927 ± 0.089	12.901 ± 0.078	12.16 ± 0.086	12.12 ± 0.18	12.002 ± 0.151	12.092 ± 0.057	12.185 ± 0.138
T-complex protein 1 subunit theta	CCT8	13.575 ± 0.079	13.317 ± 0.173	13.539 ± 0.36	13.661 ± 0.095	13.382 ± 0.1	13.579 ± 0.147	13.508 ± 0.064	13.476 ± 0.116	13.755 ± 0.06	13.488 ± 0.128
T-complex protein 1 subunit delta	CCT4	13.84 ± 0.179	13.667 ± 0.09	13.868 ± 0.207	13.441 ± 0.262	14.614 ± 0.336	13.804 ± 0.073	13.818 ± 0.021	14.487 ± 0.322	14.255 ± 0.131	14.183 ± 0.238

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	PGD	11.827 ± 0.091	11.717 ± 0.067	10.719 ± 0.409	11.7 ± 0.059	11.9 ± 0.109	11.768 ± 0.151	11.996 ± 0.122	11.566 ± 0.278	11.685 ± 0.128	11.945 ± 0.085
Rho GDP-dissociation inhibitor 2	ARHGDIB	13.625 ± 0.058	13.287 ± 0.092	13.245 ± 0.086	13.576 ± 0.063	13.455 ± 0.093	14.38 ± 0.054	13.995 ± 0.203	13.851 ± 0.027	14.267 ± 0.115	13.994 ± 0.124
F-actin-capping protein subunit alpha-1	CAPZA1	11.621 ± 0.446	12.146 ± 0.289	11.34 ± 0.389	11.968 ± 0.21	11.507 ± 0.346	12.009 ± 0.037	11.918 ± 0.156	10.199 ± 0.208	12.098 ± 0.056	10.908 ± 0.606
ATP-citrate synthase	ACLY	11.925 ± 0.114	11.415 ± 0.608	11.815 ± 0.38	12.145 ± 0.08	11.953 ± 0.135	12.119 ± 0.061	10.353 ± 0.199	10.932 ± 0.55	10.522 ± 0.178	11.494 ± 0.328
Activated RNA polymerase II transcriptional coactivator p15	SUB1	13.577 ± 0.171	12.904 ± 0.036	12.971 ± 0.161	13.343 ± 0.249	13.265 ± 0.2	11.062 ± 0.472	11.166 ± 0.834	10.51 ± 0.386	11.252 ± 0.476	10.581 ± 0.387
Exportin-2	CSE1L	11.079 ± 0.268	11.708 ± 0.211	10.535 ± 0.405	10.663 ± 0.226	10.835 ± 0.568	10.311 ± 0.181	11.598 ± 0.268	10.798 ± 0.237	11.183 ± 0.769	10.579 ± 0.101
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B	EIF3B	11.198 ± 0.347	10.744 ± 0.556	10.535 ± 0.097	11.112 ± 0.395	11.119 ± 0.297	11.025 ± 0.223	10.515 ± 0.451	11.551 ± 0.038	11.118 ± 0.538	10.823 ± 0.319
Triosephosphate isomerase	TPI1	12.947 ± 0.084	12.609 ± 0.078	12.379 ± 0.344	12.867 ± 0.051	12.867 ± 0.085	13.193 ± 0.14	13.284 ± 0.021	13.116 ± 0.103	13.306 ± 0.182	13.118 ± 0.123
Protein transport protein Sec61 subunit beta	SEC61B	11.621 ± 0.715	13.924 ± 0.714	15.453 ± 0.291	11.058 ± 0.55	14.287 ± 0.253	12.437 ± 0.242	12.574 ± 1.016	15.904 ± 0.326	13.094 ± 1.51	12.759 ± 0.839
Actin, cytoplasmic 1	ACTB	18.404 ± 0.056	18.204 ± 0.055	18.09 ± 0.097	18.426 ± 0.038	18.292 ± 0.029	17.792 ± 0.076	17.528 ± 0.028	17.342 ± 0.061	17.683 ± 0.037	17.584 ± 0.092
Eukaryotic initiation factor 4A-I	EIF4A1	13.131 ± 0.088	12.868 ± 0.095	12.608 ± 0.191	13.205 ± 0.088	12.947 ± 0.052	13.514 ± 0.062	13.538 ± 0.038	13.23 ± 0.067	13.548 ± 0.039	13.425 ± 0.11
Cell division control protein 42 homolog	CDC42	11.658 ± 0.345	11.67 ± 0.08	11.517 ± 0.202	11.888 ± 0.172	11.627 ± 0.153	11.58 ± 0.236	11.302 ± 0.027	11.437 ± 0.242	11.677 ± 0.253	10.887 ± 0.418
Actin-related protein 3	ACTR3	13.042 ± 0.134	12.982 ± 0.047	13 ± 0.11	13.456 ± 0.078	13.205 ± 0.227	12.606 ± 0.155	12.325 ± 0.135	12.062 ± 0.576	12.168 ± 0.436	12.72 ± 0.148
Actin-related protein 2	ACTR2	12.589 ± 0.108	11.86 ± 0.186	12.139 ± 0.055	12.257 ± 0.055	12.306 ± 0.388	12.192 ± 0.176	11.934 ± 0.124	11.695 ± 0.08	12.26 ± 0.073	11.797 ± 0.038
Ras-related protein Rap-1b	RAP1B	11.074 ± 0.406	10.869 ± 0.314	11.196 ± 0.367	11.504 ± 0.027	11.615 ± 0.062	10.809 ± 0.537	11.079 ± 0.426	11.423 ± 0.215	11.621 ± 0.056	11.206 ± 0.265
10 kDa heat shock protein, mitochondrial	HSPE1	13.457 ± 0.11	13.089 ± 0.159	12.871 ± 0.174	13.393 ± 0.086	13.121 ± 0.083	13.739 ± 0.065	13.685 ± 0.026	13.127 ± 0.107	13.56 ± 0.063	13.536 ± 0.14
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	HNRNPK	14.153 ± 0.071	13.807 ± 0.088	13.84 ± 0.07	14.153 ± 0.037	13.939 ± 0.02	14.337 ± 0.077	14.184 ± 0.068	14.132 ± 0.005	14.231 ± 0.062	14.075 ± 0.15
14-3-3 protein gamma	YWHAG	12.276 ± 0.05	12.073 ± 0.136	12.864 ± 0.173	12.436 ± 0.101	12.497 ± 0.158	12.46 ± 0.123	12.198 ± 0.166	12.583 ± 0.054	12.447 ± 0.138	12.454 ± 0.121

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
40S ribosomal protein S8	RPS8	12.667 ± 0.056	12.372 ± 0.095	12.237 ± 0.137	12.508 ± 0.031	12.57 ± 0.086	12.425 ± 0.138	12.281 ± 0.094	11.313 ± 0.562	12.047 ± 0.076	12.375 ± 0.055
14-3-3 protein epsilon	YWHAE	12.225 ± 0.514	12.087 ± 0.113	12.027 ± 0.085	12.33 ± 0.188	12.394 ± 0.08	13.421 ± 0.105	12.727 ± 0.137	12.773 ± 0.057	13.29 ± 0.191	12.815 ± 0.199
40S ribosomal protein S18	RPS18	11.515 ± 0.298	10.983 ± 0.133	11.366 ± 0.403	11.332 ± 0.498	10.434 ± 0.153	11.375 ± 0.428	11.967 ± 0.793	11.015 ± 0.295	11.098 ± 0.311	10.921 ± 0.429
Small nuclear ribonucleoprotein E	SNRPE	12.259 ± 0.061	11.733 ± 0.164	11.576 ± 0.664	11.856 ± 0.042	11.741 ± 0.398	11.593 ± 0.185	11.797 ± 0.039	10.513 ± 0.091	11.948 ± 0.068	11.617 ± 0.316
Small nuclear ribonucleoprotein Sm D1	SNRPD1	11.776 ± 0.055	11.529 ± 0.487	11.504 ± 0.173	11.65 ± 0.444	10.883 ± 0.205	10.748 ± 0.171	10.959 ± 0.51	10.489 ± 0.221	11.339 ± 0.373	11.242 ± 0.498
Thymosin beta-4	TMSB4X	12.059 ± 0.183	12.778 ± 0.257	12.26 ± 0.831	11.242 ± 0.607	11.711 ± 0.063	12.395 ± 0.86	11.192 ± 0.738	14.989 ± 0.639	11.99 ± 1.24	11.354 ± 0.669
60S ribosomal protein L7a	RPL7A	13.226 ± 0.065	13.083 ± 0.496	13.371 ± 0.368	12.226 ± 0.102	12.981 ± 0.292	11.984 ± 0.347	11.776 ± 0.858	12.455 ± 0.89	12.985 ± 0.323	12.828 ± 0.362
40S ribosomal protein S4, X isoform	RPS4X	11.897 ± 0.131	11.419 ± 0.177	11.582 ± 0.081	11.757 ± 0.237	11.554 ± 0.15	12.052 ± 0.111	10.888 ± 0.534	10.764 ± 0.316	11.919 ± 0.214	10.787 ± 0.378
40S ribosomal protein S6	RPS6	12.377 ± 0.437	11.926 ± 0.32	12.005 ± 0.213	12.543 ± 0.299	12.534 ± 0.103	12.357 ± 0.119	12.302 ± 0.113	11.892 ± 0.044	12.791 ± 0.259	11.876 ± 0.074
Histone H4	HIST1H4A	17.712 ± 0.13	17.534 ± 0.304	17.17 ± 0.36	17.809 ± 0.099	17.726 ± 0.07	16.494 ± 0.16	16.1 ± 0.077	15.786 ± 0.09	15.955 ± 0.205	16.518 ± 0.469
40S ribosomal protein S26	RPS26	12.199 ± 0.087	11.715 ± 0.199	11.863 ± 0.096	12.287 ± 0.201	12.262 ± 0.135	11.757 ± 0.587	12.159 ± 0.025	11.427 ± 0.468	11.792 ± 0.644	12.046 ± 0.164
60S ribosomal protein L10a	RPL10A	12.823 ± 0.359	12.871 ± 0.342	13.841 ± 0.134	13.309 ± 0.404	13.968 ± 0.117	13.333 ± 0.221	13.487 ± 0.436	14.136 ± 0.221	13.821 ± 0.457	13.852 ± 0.243
60S ribosomal protein L11	RPL11	11.855 ± 0.797	11.891 ± 0.55	11.523 ± 0.514	12.581 ± 0.107	12.463 ± 0.026	12.436 ± 0.565	12.212 ± 0.705	11.799 ± 0.66	12.775 ± 0.127	11.368 ± 0.547
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	PPIA	15.408 ± 0.087	15.099 ± 0.173	15.194 ± 0.071	15.303 ± 0.039	15.327 ± 0.078	14.888 ± 0.023	14.79 ± 0.06	14.722 ± 0.065	14.752 ± 0.155	14.596 ± 0.169
Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a	RPS27A	15.448 ± 0.081	14.812 ± 0.164	14.8 ± 0.138	15.288 ± 0.038	15.093 ± 0.067	14.904 ± 0.07	14.582 ± 0.071	14.204 ± 0.105	14.529 ± 0.326	14.68 ± 0.09
14-3-3 protein zeta/delta	YWHAZ	13.91 ± 0.056	13.418 ± 0.088	13.643 ± 0.101	13.718 ± 0.071	13.659 ± 0.066	14.314 ± 0.067	14.059 ± 0.085	14.125 ± 0.105	14.392 ± 0.08	14.358 ± 0.213
40S ribosomal protein S21	RPS21	11.882 ± 0.081	10.665 ± 0.251	11.01 ± 0.347	11.597 ± 0.095	11.299 ± 0.303	11.23 ± 0.329	10.629 ± 0.335	10.749 ± 0.33	11.413 ± 0.399	10.949 ± 0.008
Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	EIF5A	11.782 ± 0.121	11.899 ± 0.187	11.946 ± 0.112	12.193 ± 0.13	11.359 ± 0.893	12.709 ± 0.189	12.469 ± 0.1	12.095 ± 0.135	12.646 ± 0.126	12.431 ± 0.114

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like 1	GNB2L1	12.676 ± 0.07	12.341 ± 0.104	12.289 ± 0.139	12.707 ± 0.191	12.58 ± 0.078	12.948 ± 0.05	12.655 ± 0.134	12.56 ± 0.231	12.887 ± 0.088	12.554 ± 0.246
Actin, cytoplasmic 2	ACTG1	13.925 ± 0.116	13.731 ± 0.069	13.633 ± 0.118	13.76 ± 0.105	13.773 ± 0.04	13.316 ± 0.09	12.955 ± 0.115	13.039 ± 0.169	12.855 ± 0.236	13.126 ± 0.116
Actin, alpha cardiac muscle 1	ACTC1	17.678 ± 0.031	16.684 ± 0.22	16.948 ± 0.09	17.177 ± 0.153	17.252 ± 0.061	16.413 ± 0.104	16.373 ± 0.046	15.543 ± 0.069	16.703 ± 0.102	14.506 ± 1.808
Ubiquitin-conjugating enzyme E2 L3	UBE2L3	12.747 ± 0.262	11.938 ± 0.141	12.162 ± 0.208	11.674 ± 0.42	12.167 ± 0.353	11.726 ± 0.242	11.99 ± 0.053	11.097 ± 0.431	11.825 ± 0.105	11.021 ± 0.6
Tubulin alpha-1B chain	TUBA1B	15.192 ± 0.046	14.806 ± 0.031	14.846 ± 0.062	15.114 ± 0.031	14.98 ± 0.013	15.687 ± 0.052	15.532 ± 0.006	15.264 ± 0.082	15.662 ± 0.03	15.481 ± 0.111
Tubulin beta-4B chain	TUBB4B	15.198 ± 0.065	14.426 ± 0.146	14.602 ± 0.19	15.128 ± 0.079	14.889 ± 0.039	14.684 ± 0.162	13.909 ± 0.319	14.127 ± 0.069	14.272 ± 0.107	14.087 ± 0.279
Histone H3.1	HIST1H3A	16.101 ± 0.194	15.43 ± 0.875	16.025 ± 0.428	16.234 ± 0.163	16.697 ± 0.143	14.911 ± 0.303	15.536 ± 0.253	15.68 ± 0.209	15.386 ± 0.299	15.953 ± 0.24
DNA-dependent protein kinase catalytic subunit	PRKDC	13.819 ± 0.131	13.885 ± 0.126	14.081 ± 0.208	12.88 ± 0.957	13.828 ± 0.014	14.041 ± 0.104	12.628 ± 0.849	14.327 ± 0.079	11.741 ± 1.28	13.344 ± 1.483
ADP-ribosylation factor 1	ARF1	12.883 ± 0.062	12.661 ± 0.093	12.678 ± 0.089	12.895 ± 0.095	12.635 ± 0.048	13.094 ± 0.066	13.091 ± 0.024	13.085 ± 0.049	13.059 ± 0.053	12.829 ± 0.143
Enhancer of rudimentary homolog	ERH	10.436 ± 0.134	11.381 ± 0.827	12.03 ± 0.214	12.634 ± 0.128	11.383 ± 0.757	11.153 ± 0.027	10.139 ± 0.195	10.394 ± 0.289	10.303 ± 0.098	10.377 ± 0.206
RNA-binding protein 3	RBM3	13.291 ± 0.108	12.907 ± 0.34	12.989 ± 0.196	12.997 ± 0.394	13.145 ± 0.094	10.97 ± 0.582	10.82 ± 0.47	10.558 ± 0.263	11.365 ± 0.362	10.706 ± 0.334
Phosphate carrier protein, mitochondrial	SLC25A3	15.225 ± 0.138	14.783 ± 0.152	15.495 ± 0.113	14.637 ± 0.294	14.903 ± 0.283	14.57 ± 0.035	14.48 ± 0.08	14.974 ± 0.389	14.611 ± 0.146	14.299 ± 0.281
Fatty acid-binding protein, epidermal	FABP5	12.42 ± 0.052	12.192 ± 0.053	12.068 ± 0.125	12.336 ± 0.142	12.284 ± 0.078	13.323 ± 0.109	13.211 ± 0.119	12.935 ± 0.083	13.057 ± 0.097	12.86 ± 0.203
Adenylyl cyclase-associated protein 1	CAP1	16.279 ± 0.032	16.173 ± 0.059	16.263 ± 0.029	16.181 ± 0.051	16.293 ± 0.038	11.107 ± 0.563	11.151 ± 0.246	12.331 ± 0.311	11.346 ± 0.116	13.36 ± 0.391
ATP-dependent 6-phosphofructokinase, platelet type	PFKP	11.673 ± 0.627	11.438 ± 0.467	12.068 ± 0.143	11.887 ± 0.078	11.131 ± 0.586	11.24 ± 0.49	11.196 ± 0.435	11.498 ± 0.646	11.485 ± 0.483	11.004 ± 0.441
Lactoylglutathione lyase	GLO1	12.303 ± 0.537	12.383 ± 0.032	11.894 ± 0.298	12.276 ± 0.296	12.579 ± 0.392	13.887 ± 0.071	13.815 ± 0.204	13.604 ± 0.296	13.679 ± 0.231	13.676 ± 0.38
ATP-dependent RNA helicase A	DHX9	13.845 ± 0.097	13.255 ± 0.221	13.787 ± 0.235	13.644 ± 0.254	13.695 ± 0.094	14.262 ± 0.322	13.922 ± 0.014	13.054 ± 1.387	14.195 ± 0.052	13.886 ± 0.136
Neuroblast differentiation-associated protein AHNAK	AHNAK	10.514 ± 0.125	11.481 ± 0.418	11.35 ± 0.096	11.483 ± 0.102	11.317 ± 0.163	10.887 ± 0.2	10.662 ± 0.251	10.915 ± 0.172	11.11 ± 0.339	10.127 ± 0.183

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Cingulin-like protein 1	CGNL1	10.424 ± 0.469	10.178 ± 0.231	12.242 ± 1.367	10.792 ± 0.113	10.744 ± 0.343	10.289 ± 0.387	10.321 ± 0.069	10.355 ± 0.348	10.014 ± 0.274	10.27 ± 0.109
Interleukin enhancer-binding factor 3	ILF3	10.567 ± 0.136	10.25 ± 0.196	10.512 ± 0.093	10.917 ± 0.333	10.728 ± 0.098	11.136 ± 0.365	10.776 ± 0.08	10.985 ± 0.283	10.583 ± 0.386	10.818 ± 0.373
Chromobox protein homolog 3	CBX3	12.03 ± 0.157	11.461 ± 0.229	10.887 ± 0.341	11.969 ± 0.149	11.583 ± 0.188	11.946 ± 0.139	11.775 ± 0.001	11.416 ± 0.295	11.44 ± 0.174	11.757 ± 0.084
Transcription intermediary factor 1-beta	TRIM28	11.611 ± 0.41	11.885 ± 0.093	11.359 ± 0.025	11.859 ± 0.274	11.916 ± 0.144	11.656 ± 0.06	11.788 ± 0.044	11.578 ± 0.154	11.705 ± 0.187	11.04 ± 0.375
Spliceosome RNA helicase DDX39B	DDX39B	12.82 ± 0.241	12.522 ± 0.195	11.965 ± 0.607	13.024 ± 0.178	12.835 ± 0.041	12.308 ± 0.939	13.214 ± 0.2	12.81 ± 0.072	12.523 ± 0.952	13.114 ± 0.077
DNA replication licensing factor MCM6	MCM6	11.69 ± 0.159	10.601 ± 0.415	10.833 ± 0.674	11.524 ± 0.087	11.048 ± 0.606	11.287 ± 0.478	11.076 ± 0.389	11.394 ± 0.52	11.7 ± 0.268	11.327 ± 0.531
Neutral alpha-glucosidase AB	GANAB	11.827 ± 0.143	12.063 ± 0.183	11.631 ± 0.608	12.302 ± 0.03	12.055 ± 0.169	11.993 ± 0.146	12.335 ± 0.197	11.353 ± 0.329	12.583 ± 0.224	11.432 ± 0.506
Importin subunit beta-1	KPNB1	10.768 ± 0.182	11.022 ± 0.292	11.015 ± 0.666	12.062 ± 0.721	11.499 ± 0.653	12.47 ± 0.366	12.224 ± 0.19	11.495 ± 0.389	11.114 ± 0.731	12.451 ± 0.036
Protein disulfide-isomerase A6	PDIA6	12.886 ± 0.121	12.531 ± 0.108	12.454 ± 0.059	12.705 ± 0.01	12.674 ± 0.043	13.064 ± 0.185	12.85 ± 0.204	12.854 ± 0.046	12.964 ± 0.031	12.806 ± 0.016
3-beta-hydroxysteroid-Delta(8),Delta(7)-isomerase	EBP	10.478 ± 0.473	10.745 ± 0.301	10.947 ± 0.067	11.106 ± 0.216	11.432 ± 1.029	10.381 ± 0.04	10.959 ± 0.325	13.449 ± 1.762	12.398 ± 1.175	10.708 ± 0.219
Poly(rC)-binding protein 1	PCBP1	12.78 ± 0.18	12.18 ± 0.078	12.09 ± 0.149	11.88 ± 0.67	12.379 ± 0.075	13.363 ± 0.04	13.034 ± 0.042	12.9 ± 0.044	13.175 ± 0.068	13.199 ± 0.008
Histone H2A type 2-A	HIST2H2AA3	18.844 ± 0.518	19.562 ± 0.392	20.705 ± 0.336	18.393 ± 0.369	20.454 ± 0.412	17.218 ± 0.514	18.322 ± 0.407	19.639 ± 0.283	18.441 ± 0.596	18.844 ± 0.168
Tubulin beta-8 chain	TUBB8	13.838 ± 0.126	13.527 ± 0.053	13.551 ± 0.068	13.745 ± 0.14	13.692 ± 0.026	14.686 ± 0.052	14.358 ± 0.082	14.151 ± 0.084	14.57 ± 0.056	14.358 ± 0.212
Beta-actin-like protein 2	ACTBL2	15.581 ± 2.568	17.341 ± 0.174	17.487 ± 0.151	10.587 ± 0.211	15.056 ± 2.333	12.591 ± 2.029	14.771 ± 2.111	12.515 ± 1.902	14.576 ± 2.066	10.818 ± 0.174
Putative heat shock protein HSP 90-beta 4	HSP90AB4P	13.58 ± 0.124	12.917 ± 0.26	13.276 ± 0.181	13.452 ± 0.116	13.354 ± 0.031	13.116 ± 0.002	13.195 ± 0.053	12.407 ± 0.338	13.361 ± 0.208	13.102 ± 0.192
Putative heat shock protein HSP 90-beta 2	HSP90AB2P	14.301 ± 0.076	13.32 ± 0.094	13.814 ± 0.253	14.092 ± 0.121	14.148 ± 0.051	10.545 ± 0.215	12.003 ± 0.042	10.809 ± 0.517	12.566 ± 0.165	12.515 ± 0.301
GTP-binding protein SAR1a	SAR1A	11.025 ± 0.565	11.127 ± 0.818	11.339 ± 0.792	10.419 ± 0.267	12.022 ± 0.65	11.505 ± 0.605	11.015 ± 0.779	12.219 ± 1.55	10.325 ± 0.069	10.662 ± 0.481
Probable ATP-dependent RNA helicase DDX59	DDX59	10.616 ± 0.07	12.042 ± 0.164	11.813 ± 0.208	11.485 ± 0.251	10.888 ± 0.145	10.492 ± 0.097	10.561 ± 0.091	11.92 ± 0.108	10.811 ± 0.218	11.207 ± 0.203

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Xaa-Pro aminopeptidase 1	XPNPEP1	10.489 ± 0.015	11.466 ± 0.491	11.933 ± 0.809	10.506 ± 0.101	11.404 ± 0.548	10.597 ± 0.354	10.461 ± 0.427	11.831 ± 1.503	11.628 ± 0.506	10.463 ± 0.298
Histone H3.2	HIST2H3A	15.748 ± 0.222	16.425 ± 0.203	16.672 ± 0.159	16.022 ± 0.132	16.322 ± 0.202	13.994 ± 0.18	14.759 ± 0.198	15.117 ± 0.145	14.837 ± 0.246	15.432 ± 0.172
Tubulin alpha-1A chain	TUBA1A	11.106 ± 0.612	11.247 ± 0.651	10.865 ± 0.227	10.693 ± 0.046	11.258 ± 0.674	11.287 ± 0.8	11.462 ± 0.242	11.265 ± 0.261	12.891 ± 0.188	11.213 ± 0.685
Polyadenylate-binding protein 2	PABPN1	11.834 ± 0.086	11.689 ± 0.311	11.533 ± 0.107	11.464 ± 0.537	11.356 ± 0.446	11.375 ± 0.152	11.585 ± 0.253	11.643 ± 0.249	11.305 ± 0.35	10.773 ± 0.127
CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 2	CISD2	11.255 ± 0.838	11.084 ± 1.218	13.29 ± 1.212	10.562 ± 0.249	12.808 ± 1.163	10.614 ± 0.527	10.975 ± 0.023	14.842 ± 0.318	11.525 ± 1.103	13.377 ± 1.106
POU domain, class 5, transcription factor 2	POU5F2	10.848 ± 0.321	10.876 ± 0.237	10.652 ± 0.165	10.809 ± 0.373	10.512 ± 0.319	11.172 ± 0.126	10.657 ± 0.165	10.65 ± 0.005	10.635 ± 0.373	11.09 ± 0.154
Saccharopine dehydrogenase-like oxidoreductase	SCCPDH	12.884 ± 1.067	13.477 ± 1.206	15.385 ± 0.134	10.835 ± 0.053	13.593 ± 1.714	12.889 ± 1.115	12.953 ± 1.402	13.233 ± 1.574	11.782 ± 1.474	13.237 ± 1.406
Plasminogen activator inhibitor 1 RNA-binding protein	SERBP1	10.706 ± 0.653	11.359 ± 0.51	10.43 ± 0.249	11.51 ± 0.439	11.839 ± 0.543	10.763 ± 0.346	10.973 ± 0.132	11.148 ± 0.544	10.715 ± 0.147	11.069 ± 0.637
DIS3-like exonuclease 1	DIS3L	11.118 ± 0.716	12.607 ± 0.215	11.846 ± 0.53	11.937 ± 0.56	10.282 ± 0.125	12.543 ± 0.705	12.892 ± 0.09	12.17 ± 0.896	12.622 ± 0.155	11.93 ± 0.809
Nuclear pore complex protein Nup133	NUP133	10.616 ± 0.159	11.126 ± 0.771	12.259 ± 0.748	10.419 ± 0.084	11.594 ± 0.844	10.65 ± 0.192	10.308 ± 0.177	12.306 ± 0.729	10.749 ± 0.377	11.522 ± 1.509
Heat shock protein 105 kDa	HSPH1	11.095 ± 0.233	10.984 ± 0.73	11.849 ± 0.137	11.703 ± 0.394	11.813 ± 0.478	11.392 ± 0.372	12.056 ± 0.098	11.687 ± 0.642	11.657 ± 0.478	11.205 ± 0.672
Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B	ANP32B	12.783 ± 0.112	11.972 ±0.481	11.836 ± 0.643	12.908 ±0.084	11.873 ± 0.532	10.664 ± 0.482	11.23 ±0.416	11.136 ±0.557	11.252 ± 0.431	11.709 ± 0.571
Leucine-rich repeat-containing protein 59	LRRC59	13.162 ± 0.428	13.522 ± 0.681	14.905 ± 0.5	12.513 ± 0.796	14.543 ± 0.196	11.607 ± 0.7	11.724 ± 0.79	14.351 ± 0.593	12.022 ± 1.158	13.711 ± 0.707
Myeloid-associated differentiation marker	MYADM	11.791 ± 0.866	13.211 ± 1.415	15.07 ± 0.338	11.346 ± 0.638	14.546 ± 0.188	12.14 ± 0.796	12.175 ± 0.693	13.3 ± 1.661	11.665 ± 0.821	11.601 ± 1.316
Protein deglycase DJ-1	PARK7	13.185 ± 0.058	12.682 ± 0.049	12.764 ± 0.107	13.09 ± 0.123	12.743 ± 0.117	12.993 ± 0.224	12.786 ± 0.164	12.849 ± 0.184	13.143 ± 0.067	12.88 ± 0.186
T-complex protein 1 subunit eta	CCT7	12.858 ± 0.022	13.01 ± 0.142	13.089 ± 0.123	13.06 ± 0.219	13.133 ± 0.062	12.947 ± 0.27	12.916 ± 0.225	13.563 ± 0.265	13.038 ± 0.226	13.1 ± 0.065
Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member E	ANP32E	12.061 ± 0.05	11.961 ± 0.205	10.865 ± 0.547	11.949 ± 0.046	11.96 ± 0.159	11.363 ± 0.386	12.165 ± 0.307	10.34 ± 0.285	10.861 ± 0.639	11.563 ± 0.766
Tubulin beta-2B chain	TUBB2B	12.898 ± 1.215	14.169 ± 0.103	14.152 ± 0.204	14.26 ± 0.107	10.535 ± 0.423	12.128 ± 1.594	14.36 ± 1.021	13.486 ± 1.719	13.673 ± 1.869	13.96 ± 1.341

Protein	Gen	THP Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 Kontrol	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP
Transmembrane protein 109	TMEM109	11.656 ± 0.896	12.464 ± 1.001	14.936 ± 0.3	10.394 ± 0.023	13.823 ± 0.26	11.41 ± 1.174	11.398 ± 1.058	15.019 ± 0.239	11.858 ± 0.952	14.308 ± 0.694
Transmembrane emp24 domain-containing protein 9	TMED9	12.048 ± 0.907	12.825 ± 1.318	13.812 ± 1.761	11.307 ± 0.583	12.284 ± 1.367	13.102 ± 0.431	13.819 ± 0.479	13.554 ± 1.659	11.405 ± 1.506	13.275 ± 1.209
dCTP pyrophosphatase 1	DCTPP1	10.599 ± 0.266	10.517 ± 0.421	11.12 ± 0.459	10.48 ± 0.332	10.382 ± 0.293	10.856 ± 0.514	11.505 ± 0.335	12.37 ± 0.843	11.399 ± 1.01	11.303 ± 0.742
Calcyclin-binding protein	CACYBP	11.799 ± 0.644	12.75 ± 0.153	12.03 ± 0.618	11.828 ± 0.786	12.749 ± 0.139	13.114 ± 0.05	12.999 ± 0.214	12.228 ± 0.745	13.099 ± 0.064	13.195 ± 0.054
UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1	UGGT1	10.876 ± 0.357	10.396 ± 0.168	11.12 ± 0.456	10.547 ± 0.319	11.109 ± 0.644	11.598 ± 0.451	11.974 ± 0.552	12.044 ± 0.801	11.941 ± 0.958	12.618 ± 0.534
Protein RCC2	RCC2	11.616 ± 0.649	11.85 ± 0.12	11.428 ± 0.581	11.92 ± 0.219	11.739 ± 0.21	11.685 ± 0.45	12.637 ± 0.188	12.638 ± 0.07	12.649 ± 0.043	12.247 ± 0.151
Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD	PYCARD	12.263 ± 0.119	11.931 ± 0.62	12.74 ± 0.244	12.433 ± 0.266	12.535 ± 0.172	12.122 ± 0.161	11.788 ± 0.416	11.787 ± 0.492	12.139 ± 0.072	11.768 ± 0.374
Proliferation-associated protein 2G4	PA2G4	11.989 ± 0.211	12.397 ± 0.217	11.577 ± 0.9	11.702 ± 0.434	12.448 ± 0.131	11.633 ± 0.12	11.356 ± 0.422	12.082 ± 0.927	12.223 ± 0.441	11.9 ± 0.482
RuvB-like 2	RUVBL2	10.648 ± 0.105	10.429 ± 0.114	11.172 ± 0.273	10.696 ± 0.384	10.276 ± 0.105	10.499 ± 0.173	11.871 ± 0.094	11.575 ± 0.349	10.814 ± 0.455	10.984 ± 0.46
RuvB-like 1	RUVBL1	11.554 ± 0.06	10.96 ± 0.36	10.662 ± 0.689	11.736 ± 0.04	11.441 ± 0.055	11.63 ± 0.222	11.758 ± 0.158	10.825 ± 0.373	11.775 ± 0.06	11.29 ± 0.35
Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	VDAC3	11.739 ± 0.563	11.31 ± 0.248	11.355 ± 0.285	12.053 ± 0.123	12.13 ± 0.222	10.979 ± 0.548	10.756 ± 0.561	10.902 ± 0.663	10.675 ± 0.586	12.013 ± 0.06
Phosphoserine aminotransferase	PSAT1	10.685 ± 0.197	10.67 ± 0.018	10.335 ± 0.297	10.375 ± 0.69	10.36 ± 0.27	10.713 ± 0.514	11.307 ± 0.525	11.096 ± 0.565	10.649 ± 0.154	11.118 ± 0.499

Tablo 4.10. İntraselular matrikse ait grupların istatistiksel olarak karşılaştırılmalarına ait p değerleri

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Far upstream element-binding protein 2	KHSRP	0.38	**0.044**	0.248	0.069	0.51	0.595	0.625	0.246
Magnesium transporter protein 1	MAGT1	0.615	0.284	0.246	0.237	0.394	0.066	0.112	0.335
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 13	PSMD13	0.903	0.103	0.707	0.248	0.286	0.88	0.269	**0**
Farnesyl pyrophosphate synthase	FDPS	0.793	0.63	0.089	0.972	0.417	0.224	0.554	**0.01**
Clathrin heavy chain 1	CLTC	0.739	0.461	0.911	0.316	**0.025**	0.17	0.851	0.454
Elongation factor 1-alpha 1	EEF1A1	**0.026**	**0.047**	0.593	0.208	0.095	0.066	0.333	0.929
Tropomyosin alpha-3 chain	TPM3	0.161	**0.025**	0.764	0.11	0.297	0.096	0.11	0.14
60S ribosomal protein L17	RPL17	**0.013**	0.169	0.295	0.095	0.102	0.69	0.646	0.111
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M	HNRNPM	0.127	0.08	**0.026**	0.067	0.301	0.072	0.342	0.488
Elongation factor 1-delta	EEF1D	0.52	0.473	0.153	0.939	0.37	0.137	0.76	0.207
Proteasome activator complex subunit 2	PSME2	0.627	0.248	0.224	0.484	0.094	0.617	0.909	0.524
Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	VDAC2	0.462	0.432	0.66	0.27	0.118	0.17	0.205	0.717
Proto-oncogene vav	VAV1	0.873	0.77	0.35	0.91	0.629	0.074	0.509	0.282
Peroxiredoxin-1	PRDX1	0.198	**0.031**	0.864	0.05	0.717	0.825	0.778	0.697
Pecanex-like protein 2	PCNXL2	0.093	0.43	0.896	0.991	0.298	0.417	0.167	0.764
Translationally-controlled tumor protein	TPT1	0.274	0.658	0.985	0.633	0.611	0.126	0.724	0.876
Protein SET	SET	0.389	0.684	0.437	0.71	0.811	0.384	**0.032**	0.064
40S ribosomal protein SA	RPSA	0.202	**0.014**	0.556	0.181	0.08	0.263	0.166	0.124
Nesprin-1	SYNE1	0.996	0.939	0.474	0.793	0.519	0.512	0.598	0.741
Citrate synthase, mitochondrial	CS	0.111	**0.048**	0.671	0.1	0.589	0.878	0.949	0.833
Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	DDOST	0.444	**0.001**	0.817	0.237	0.269	0.444	0.549	0.389
ATP-dependent RNA helicase DDX3X	DDX3X	**0.046**	**0.021**	0.765	0.219	0.263	0.345	0.19	0.526
Probable ATP-dependent RNA helicase DDX5	DDX5	0.113	0.439	0.317	0.853	**0.03**	0.261	0.986	0.792

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
AP-2 complex subunit alpha-2	AP2A2	0.33	0.274	0.115	0.496	0.152	0.196	0.686	0.451
Poly(U)-binding-splicing factor PUF60	PUF60	0.087	0.95	0.723	0.917	0.471	**0.01**	0.159	0.158
Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1	IQGAP1	0.384	0.502	0.991	0.687	0.222	0.82	0.13	0.687
Fatty acid synthase	FASN	0.159	0.375	0.954	0.381	0.827	0.808	0.919	0.696
Histone H2A type 1-J	HIST1H2AJ	0.376	**0.037**	0.41	**0.048**	0.353	**0.027**	0.412	0.13
Polypyrimidine tract-binding protein 1	PTBP1	0.08	0.096	0.146	0.405	0.469	0.138	0.87	0.858
Cathepsin D	CTSD	0.884	0.297	0.876	0.849	0.512	0.382	0.726	0.495
RNA-binding motif protein, X chromosome	RBMX	0.063	0.389	0.868	0.129	0.754	0.058	0.776	0.225
Dynein heavy chain 10, axonemal	DNAH10	0.188	0.213	0.352	0.282	0.655	0.572	0.315	0.852
Dihydropyrimidinase-related protein 2	DPYSL2	0.777	0.347	0.268	0.991	0.241	0.664	0.923	0.825
Squalene synthase	FDFT1	0.779	0.763	0.449	0.695	0.8	0.148	0.441	0.729
40S ribosomal protein S10	RPS10	0.096	0.172	0.454	0.413	0.068	0.088	0.741	0.305
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U	HNRNPU	**0.03**	**0.006**	0.332	0.983	0.152	0.051	0.94	0.487
D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	PHGDH	0.812	0.587	0.906	0.329	**0.01**	0.122	**0.037**	0.082
Palmitoyl-protein thioesterase 1	PPT1	**0.012**	0.388	0.055	0.064	**0.042**	**0.021**	**0.033**	0.457
Chloride intracellular channel protein 5	CLIC5	0.256	0.209	0.093	**0.003**	0.553	0.412	0.722	0.849
B-cell receptor-associated protein 31	BCAP31	0.192	**0.001**	0.246	0.199	0.723	0.855	0.207	0.071
Alpha-enolase	ENO1	**0.009**	**0.003**	0.611	**0.011**	**0.015**	**0**	0.119	0.131
60S ribosomal protein L5	RPL5	0.052	0.695	0.381	**0.003**	0.898	0.848	0.753	0.855
40S ribosomal protein S14	RPS14	0.064	0.11	0.486	0.446	0.771	**0.006**	0.538	**0.047**
40S ribosomal protein S24	RPS24	0.229	0.125	0.856	0.736	0.107	0.688	0.784	0.628
Androgen-induced gene 1 protein	AIG1	0.178	0.354	**0.029**	**0**	**0.003**	0.137	0.126	0.14
Ribosomal protein L15	RPL15	0.352	0.274	0.992	0.232	0.344	0.305	0.561	0.465
Glucose-6-phosphate isomerase	GPI	0.057	0.524	0.908	0.287	**0.011**	**0.016**	0.812	0.439
CTP synthase 1	CTPS1	0.129	0.25	0.391	0.078	0.291	0.06	0.839	0.723

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
DNA replication licensing factor MCM4	MCM4	0.084	0.07	0.94	0.066	0.72	0.107	0.172	0.119
WD repeat-containing protein 24	WDR24	**0.025**	0.343	0.096	0.132	0.14	0.53	0.129	0.49
GTP-binding protein Rit2	RIT2	0.203	0.174	**0**	0.094	0.958	0.213	0.187	0.419
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	HNRNPL	0.229	**0.006**	0.894	0.175	0.278	0.932	0.384	0.582
Tripeptidyl-peptidase 2	TPP2	0.402	0.338	0.483	0.923	0.271	0.919	0.25	0.241
L-lactate dehydrogenase B chain	LDHB	**0.008**	0.069	0.368	0.491	0.081	0.307	0.956	0.055
Malate dehydrogenase, cytoplasmic	MDH1	0.374	0.478	0.322	0.369	0.587	0.142	0.484	0.639
Alanine--tRNA ligase, cytoplasmic	AARS	0.313	0.461	0.177	0.305	0.989	0.401	0.331	0.956
Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-1	GNB1	0.548	0.599	0.178	0.75	0.051	0.257	0.287	0.205
Prelamin-A/C	LMNA	**0.014**	0.054	0.219	0.921	0.187	**0.004**	**0.039**	0.905
Ras-related protein Rab-7a	RAB7A	0.624	0.358	0.742	0.574	0.112	0.249	0.208	0.2
Heat shock protein beta-1	HSPB1	0.68	0.134	0.335	0.726	0.215	0.274	0.294	0.426
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R	HNRNPR	0.464	0.577	0.308	0.443	0.354	0.544	0.354	0.957
Stress-70 protein, mitochondrial	HSPA9	0.523	0.238	1	0.123	0.387	0.119	0.714	0.316
Nascent polypeptide-associated complex subunit alpha	NACA	0.124	0.067	0.277	0.44	0.412	0.352	0.389	0.267
60S ribosomal protein L13a	RPL13A	0.628	0.684	0.829	0.27	0.418	0.467	0.856	0.551
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3	HNRNPA3	**0.023**	0.863	0.657	0.113	0.718	0.681	0.896	0.527
Inosine-5-monophosphate dehydrogenase 2	IMPDH2	0.284	0.415	0.055	0.112	0.876	0.205	0.802	0.111
60 kDa heat shock protein, mitochondrial	HSPD1	0.855	0.137	0.415	0.35	**0.048**	**0.045**	0.05	0.096
Nucleolin	NCL	0.27	0.799	0.087	0.677	0.748	0.511	0.888	0.336
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	HNRNPA1	**0.009**	**0.003**	0.252	0.077	0.283	0.176	0.327	0.24
Non-POU domain-containing octamer-binding protein	NONO	0.265	0.953	0.499	0.284	0.869	0.319	0.585	0.63
Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	HNRNPA2 B1	0.936	0.089	0.781	0.187	0.548	0.679	0.304	0.439
Polyadenylate-binding protein 1	PABPC1	0.811	0.167	0.307	0.321	0.065	0.051	0.08	**0.004**

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Alpha-actinin-1	ACTN1	0.615	0.15	0.407	0.214	0.211	0.102	0.905	0.274
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q	SYNCRIP	0.272	0.202	0.412	0.225	0.378	0.419	0.394	0.137
Transitional endoplasmic reticulum ATPase	VCP	0.68	0.435	0.739	0.823	0.216	0.257	0.112	0.207
Nucleophosmin	NPM1	0.429	**0.01**	**0.041**	0.426	0.548	0.548	0.868	0.613
40S ribosomal protein S20	RPS20	0.92	0.515	0.2	0.847	0.291	0.237	0.253	0.351
Endoplasmin	HSP90B1	0.851	0.405	0.332	0.31	0.981	0.451	0.164	0.339
Calnexin	CANX	0.473	0.612	0.732	0.53	0.345	0.152	0.182	**0.049**
Protein disulfide-isomerase	P4HB	0.181	**0.039**	0.559	0.169	0.681	0.242	0.4	0.567
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	PPIB	0.168	**0.029**	0.651	0.145	0.436	0.059	0.207	0.063
Stathmin	STMN1	0.185	0.12	0.223	0.31	0.474	0.995	0.505	0.445
V-type proton ATPase subunit S1	ATP6AP1	0.707	0.446	0.872	0.279	0.967	0.167	0.99	**0.001**
Translocon-associated protein subunit delta	SSR4	0.21	0.117	0.278	0.993	0.054	**0**	**0.001**	0.058
Small ubiquitin-related modifier 3	SUMO3	0.084	0.622	**0.027**	0.874	0.142	**0.006**	0.997	0.891
60S ribosomal protein L7	RPL7	0.132	0.199	0.127	0.154	0.327	0.379	**0.002**	0.737
X-ray repair cross-complementing protein 6	XRCC6	**0.048**	**0.008**	0.116	0.224	0.199	0.367	0.856	0.892
F-actin-capping protein subunit beta	CAPZB	0.067	**0**	0.169	0.325	0.344	0.317	0.5	0.753
Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2	HNRNPC	**0.008**	0.055	0.064	**0.013**	0.347	**0.047**	0.172	0.281
Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform	PPP2R1A	0.422	0.67	0.987	0.972	0.638	0.405	0.665	0.128
T-complex protein 1 subunit gamma	CCT3	0.13	0.26	0.823	0.122	0.319	0.078	0.59	0.321
Interleukin enhancer-binding factor 2	ILF2	0.303	0.29	**0.042**	0.178	0.8	0.608	0.895	0.331
40S ribosomal protein S7	RPS7	**0.026**	0.173	**0.013**	0.303	0.328	0.28	0.604	0.222
GTP-binding nuclear protein Ran	RAN	0.958	0.933	0.222	0.674	0.185	0.36	0.185	0.278
Cytochrome P450 2C8	CYP2C8	0.965	0.828	0.384	0.84	0.694	0.947	0.618	0.616
60S ribosomal protein L31	RPL31	0.07	0.468	0.331	0.947	0.297	0.75	0.326	0.149

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Nucleosome assembly protein 1-like 1	NAP1L1	0.351	0.199	0.445	0.079	0.734	0.355	0.878	0.549
T-complex protein 1 subunit epsilon	CCT5	0.315	**0.034**	0.257	0.065	0.919	0.884	0.559	0.17
Prothymosin alpha	PTMA	0.763	0.091	0.487	0.542	**0.04**	0.066	0.177	0.233
60S ribosomal protein L23	RPL23	0.198	0.065	0.343	0.239	0.669	0.084	0.081	0.203
DNA-directed RNA polymerase	POLR2B	0.396	0.618	0.453	0.462	**0.004**	0.839	0.676	0.189
Ras-related protein Rab-6B	RAB6B	**0.037**	0.051	0.177	0.212	**0.001**	0.162	0.308	**0.012**
Ran-specific GTPase-activating protein	RANBP1	0.184	0.692	0.148	0.288	0.692	0.9	0.233	0.718
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	HNRNPAB	0.971	0.47	0.821	0.237	0.315	0.108	0.413	0.195
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0	HNRNPD	0.446	0.059	0.393	0.344	0.678	0.114	0.683	0.227
60S ribosomal protein L9	RPL9	0.228	0.311	0.241	0.076	0.571	0.674	0.294	0.092
40S ribosomal protein S3a	RPS3A	0.501	0.496	0.187	0.51	0.708	0.388	0.798	0.226
HLA class I histocompatibility antigen, A alpha chain	HLA-A	0.27	0.477	0.439	0.291	0.141	0.124	0.25	0.3
60S ribosomal protein L30	RPL30	0.156	0.262	0.264	0.151	0.443	0.341	0.981	0.437
Putative Ras-related protein Rab-1C	RAB1C	0.704	0.441	0.896	0.442	0.789	0.495	0.948	0.443
60S ribosomal protein L14	RPL14	0.286	0.377	0.065	0.117	**0.049**	0.095	0.24	0.785
Eukaryotic initiation factor 4A-II	EIF4A2	0.548	0.797	0.785	0.51	0.515	0.383	0.852	0.139
Lupus La protein	SSB	0.218	**0.04**	0.152	0.953	0.198	**0.005**	0.653	0.087
THO complex subunit 4	ALYREF	**0.006**	**0.034**	**0.047**	0.757	0.31	0.912	0.62	0.078
Lamin-B1	LMNB1	**0.037**	0.056	0.173	0.909	0.387	0.767	0.654	0.796
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	HNRNPH1	0.105	0.167	0.535	0.455	0.877	0.722	0.619	0.966
Chitinase domain-containing protein 1	CHID1	0.616	0.621	0.583	0.88	0.723	**0.026**	0.269	0.866
60S ribosomal protein L8	RPL8	0.463	0.587	0.371	0.577	0.212	**0.015**	0.145	0.051
Caprin-1	CAPRIN1	0.778	0.229	0.105	0.291	0.648	0.741	0.862	0.927
Outer dense fiber protein 2-like	ODF2L	0.094	0.957	0.091	0.319	0.243	0.311	0.552	0.276
Histone-binding protein RBBP4	RBBP4	0.073	0.11	0.092	0.084	0.634	**0.012**	**0.006**	0.996

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Transaldolase	TALDO1	0.875	0.084	0.222	0.77	0.898	0.988	0.655	0.487
T-complex protein 1 subunit beta	CCT2	0.539	0.821	0.11	0.11	0.768	0.258	0.143	0.074
Transmembrane emp24 domain-containing protein 2	TMED2	0.932	**0.001**	0.256	0.335	**0.01**	**0.04**	0.127	0.083
Pre-mRNA-processing factor 19	PRPF19	0.528	0.559	0.851	0.202	0.65	**0.035**	0.279	0.117
Putative protein FAM10A4	ST13P4	0.439	0.387	0.549	0.906	0.493	0.856	0.543	0.545
60S ribosomal protein L6	RPL6	0.289	0.875	0.375	0.345	0.168	**0.006**	0.084	**0.013**
Poly(rC)-binding protein 2	PCBP2	0.25	0.135	0.834	0.305	0.791	0.758	0.96	0.725
Adenylate kinase 2, mitochondrial	AK2	0.135	0.158	0.087	0.42	0.375	0.741	0.356	0.466
Myosin light polypeptide 6	MYL6	0.837	0.335	0.296	0.373	0.527	0.322	0.756	0.43
Probable ATP-dependent RNA helicase DDX31	DDX31	**0.002**	0.839	0.719	0.12	0.864	0.76	0.488	0.965
Calmodulin-2	CALM2	0.885	0.274	0.43	0.908	0.086	**0.004**	0.464	0.093
Actin-related protein 2/3 complex subunit 4	ARPC4-TTLL3	0.457	0.054	0.11	0.618	0.058	0.069	0.352	0.498
60S ribosomal protein L21	RPL21	0.198	0.698	0.219	0.136	0.273	0.762	0.215	0.169
60S ribosomal protein L18	RPL18	0.15	0.409	0.421	0.294	0.405	0.65	0.629	0.371
Nuclease-sensitive element-binding protein 1	YBX1	0.24	0.179	0.888	0.43	0.259	0.067	0.905	0.142
Nebulin	NEB	0.911	0.348	0.85	0.553	0.253	**0.002**	**0.046**	0.948
DNA replication licensing factor MCM2	MCM2	0.074	0.061	**0.024**	0.196	0.652	0.066	0.317	0.142
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit M	EIF3M	0.7	0.118	0.4	0.953	0.908	0.933	0.765	0.136
Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial	HADHA	0.112	0.199	0.486	0.752	0.751	0.74	0.073	0.285
Deoxyuridine 5-triphosphate nucleotidohydrolase, mitochondrial	DUT	0.079	0.089	0.163	0.271	0.162	0.274	0.099	0.066
Annexin A2	ANXA2	0.545	0.324	0.093	0.886	0.111	0.272	0.406	0.773
Ras-related protein Rab-11A	RAB11A	0.224	0.605	0.745	0.166	0.36	0.347	0.533	0.096
40S ribosomal protein S15a	RPS15A	0.557	0.497	0.187	0.104	0.99	0.062	**0.037**	0.469
40S ribosomal protein S17	RPS17	0.274	0.683	0.705	0.329	0.18	0.869	0.787	0.574

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Coactosin-like protein	COTL1	0.084	0.184	0.119	0.188	0.552	0.052	0.264	0.227
Transmembrane protein 214	TMEM214	0.115	0.66	0.727	0.645	0.231	0.355	0.932	0.1
Protein disulfide-isomerase A3	PDIA3	0.912	0.636	0.069	0.944	0.059	0.161	0.441	0.054
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6	PSMD6	0.328	0.412	0.447	0.739	0.87	0.645	0.73	0.709
PERQ amino acid-rich with GYF domain-containing protein 2	GIGYF2	0.914	0.418	0.567	0.073	0.395	0.431	**0**	0.124
Probable glutamate--tRNA ligase, mitochondrial	EARS2	0.972	0.426	0.987	0.501	0.756	0.39	0.241	0.419
Complement component 1 Q subcomponent-binding protein, mitochondrial	C1QBP	0.845	0.731	0.951	0.736	**0.019**	**0.027**	0.325	0.695
Eukaryotic initiation factor 4A-III	EIF4A3	0.094	0.579	0.531	0.389	0.087	0.762	0.692	0.245
Regulatory-associated protein of mTOR	RPTOR	0.451	0.864	0.175	0.527	0.407	0.934	0.59	0.94
40S ribosomal protein S13	RPS13	0.997	0.647	0.494	0.721	0.297	0.187	0.464	0.285
Prohibitin-2	PHB2	0.074	**0.034**	0.071	0.43	0.314	**0.031**	0.785	0.795
Rho GDP-dissociation inhibitor 1	ARHGDIA	0.58	**0.046**	0.249	0.651	0.362	0.103	0.227	0.535
Histone H3	H3F3A	0.805	0.34	0.871	0.266	0.111	0.313	0.102	**0.046**
Calreticulin	CALR	0.181	0.957	0.285	0.297	**0.04**	**0.003**	0.332	0.202
40S ribosomal protein S15	RPS15	0.14	0.182	0.783	0.416	0.085	0.219	0.679	0.486
Splicing factor U2AF 65 kDa subunit	U2AF2	0.77	0.993	0.22	0.533	0.898	0.7	0.511	0.159
Perilipin-3	PLIN3	0.432	0.107	0.914	**0.03**	0.121	0.085	0.104	0.164
U1 small nuclear ribonucleoprotein A	SNRPA	0.919	0.147	0.209	0.578	0.1	**0.004**	0.445	**0.021**
40S ribosomal protein S5	RPS5	0.479	0.132	0.4	0.136	0.447	0.263	0.558	0.122
60S ribosomal protein L18a	RPL18A	0.153	0.139	0.235	0.128	0.673	0.085	0.199	0.085
40S ribosomal protein S11	RPS11	0.882	0.998	0.951	0.912	0.857	0.478	0.955	0.855
ER lumen protein-retaining receptor 1	KDELR1	0.937	0.113	0.158	0.086	1	0.073	0.403	0.088
40S ribosomal protein S16	RPS16	0.32	0.158	**0.048**	0.163	0.747	0.817	0.845	0.8
Chloride intracellular channel protein 1	CLIC1	**0.031**	**0.005**	0.705	**0.044**	0.372	0.081	0.67	0.318

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Importin-5	IPO5	0.241	0.745	0.371	0.219	0.241	0.323	0.705	0.316
Proteasome subunit alpha type-7	PSMA7	0.108	0.414	0.372	0.303	0.117	**0.029**	0.055	0.405
Microsomal glutathione S-transferase 3	MGST3	**0.015**	0.888	0.241	0.291	0.56	**0.044**	0.885	0.164
Histone acetyltransferase type B catalytic subunit	HAT1	0.299	0.053	0.067	0.072	0.112	0.3	0.527	0.249
Actin-related protein 2/3 complex subunit 1B	ARPC1B	0.835	0.408	0.631	0.977	0.793	**0.039**	0.566	0.546
Alpha-actinin-4	ACTN4	0.543	0.462	0.779	0.669	0.824	0.27	0.982	0.386
TBC1 domain family member 4	TBC1D4	0.379	0.86	0.948	0.722	0.321	0.506	0.361	0.464
Histone H2B type 2-F	HIST2H2BF	**0.011**	0.134	0.133	**0.008**	0.916	0.159	0.939	0.486
Immunoglobulin superfamily member 3	IGSF3	0.409	0.569	0.482	0.65	0.098	0.781	0.29	**0.019**
WD repeat-containing protein 1	WDR1	0.212	0.487	0.343	**0.041**	0.798	0.074	0.724	0.394
Core histone macro-H2A.1	H2AFY	0.46	0.119	0.866	0.166	0.997	0.732	0.333	0.112
Small subunit processome component 20 homolog	UTP20	0.994	0.42	0.42	0.356	0.467	0.644	0.346	0.365
CAAX prenyl protease 1 homolog	ZMPSTE24	0.719	0.188	0.293	**0.03**	0.44	0.907	0.448	0.762
Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	IDH1	0.613	0.386	0.548	0.454	0.437	0.404	0.246	0.604
LETM1 and EF-hand domain-containing protein 1, mitochondrial	LETM1	0.769	0.682	0.934	0.369	0.757	0.715	0.359	0.595
6-phosphogluconolactonase	PGLS	0.719	0.058	0.957	0.796	0.334	0.087	0.773	0.466
L-lactate dehydrogenase A chain	LDHA	0.078	0.11	0.328	0.78	0.136	**0.027**	0.45	0.483
Purine nucleoside phosphorylase	PNP	0.147	0.22	0.628	0.988	0.121	0.853	**0.002**	0.275
Phosphoglycerate kinase 1	PGK1	**0.016**	**0.021**	0.318	**0.032**	0.318	**0.024**	0.203	0.118
Carbonic anhydrase 2	CA2	**0.005**	**0.009**	0.166	0.06	0.772	0.568	0.573	0.68
Catalase	CAT	**0.018**	0.11	0.239	0.346	0.359	0.954	0.466	0.74
Fructose-bisphosphate aldolase A	ALDOA	**0.001**	**0.005**	0.203	**0.02**	**0.027**	**0.021**	0.056	0.057
Cystatin-B	CSTB	0.851	0.705	0.183	0.567	0.174	0.595	0.381	0.074
Annexin A1	ANXA1	0.082	0.394	0.891	0.705	0.394	0.073	0.288	0.506

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	**0.005**	0.053	**0.042**	**0.013**	**0.01**	0.122	0.554	0.359
Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1	RPN1	0.405	0.535	0.253	**0.029**	0.449	0.202	0.386	0.981
Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	RPN2	0.774	0.332	0.941	0.865	0.437	0.191	**0.039**	0.067
ADP/ATP translocase 2	SLC25A5	**0.048**	0.081	0.168	0.187	0.122	0.055	0.347	0.295
60S acidic ribosomal protein P1	RPLP1	0.337	0.513	0.128	0.642	0.756	0.44	0.476	0.625
60S acidic ribosomal protein P2	RPLP2	**0.029**	0.234	0.509	0.189	0.58	0.876	0.794	0.191
60S acidic ribosomal protein P0	RPLP0	0.695	0.416	0.44	0.674	0.678	0.822	0.697	0.812
ATP synthase subunit beta, mitochondrial	ATP5B	0.551	0.093	0.58	**0.02**	**0.028**	**0.017**	0.108	0.403
Protein S100-A6	S100A6	0.57	**0.033**	0.276	0.188	0.352	0.102	0.837	0.845
Tubulin beta chain	TUBB	0.072	0.208	0.975	0.277	**0.008**	**0.001**	**0.039**	0.447
Profilin-1	PFN1	**0.024**	**0.005**	0.35	0.131	0.213	**0.029**	0.793	0.214
Glutamate--tRNA ligase	EPRS	0.212	0.468	0.296	0.35	0.901	0.154	0.139	0.928
Heat shock protein HSP 90-alpha	HSP90AA1	0.615	0.786	0.5	0.898	**0.006**	**0.02**	0.206	0.095
Fumarate hydratase, mitochondrial	FH	0.56	0.317	0.496	0.989	0.274	**0.004**	**0.039**	0.115
Annexin A6	ANXA6	**0.044**	0.626	0.142	0.809	0.535	0.651	0.171	0.45
Heat shock protein HSP 90-beta	HSP90AB1	0.079	0.142	0.817	0.113	**0.018**	**0.003**	0.096	0.139
Neutrophil elastase	ELANE	0.559	0.355	0.786	0.539	0.988	0.113	0.281	0.289
Cathepsin G	CTSG	0.167	0.27	0.815	0.31	0.122	0.995	0.81	0.606
Pleckstrin	PLEK	0.419	0.852	0.818	0.838	0.077	0.986	0.832	0.876
Vimentin	VIM	0.063	**0.017**	0.231	0.252	**0.021**	0.904	0.818	0.354
Annexin A5	ANXA5	0.371	0.683	0.321	0.864	0.916	0.688	0.135	0.98
Gamma-enolase	ENO2	0.547	0.595	0.461	0.959	0.109	0.096	0.135	0.275
Glutathione S-transferase P	GSTP1	0.84	0.757	0.76	0.593	0.697	0.88	0.346	0.209
Galectin-1	LGALS1	0.065	**0.03**	0.286	0.447	0.435	0.429	0.105	0.493

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
High mobility group protein B1	HMGB1	**0.045**	0.222	0.296	0.113	0.94	0.503	0.557	0.711
Poly [ADP-ribose] polymerase 1	PARP1	0.915	0.913	0.632	0.426	0.288	0.227	0.351	0.182
Fructose-bisphosphate aldolase C	ALDOC	0.986	0.816	0.38	0.568	0.418	0.473	0.337	0.72
Histone H2A.V	H2AFV	0.398	0.173	0.458	0.087	0.174	**0.022**	0.309	0.07
Cytochrome c oxidase subunit 8A, mitochondrial	COX8A	0.436	0.61	0.178	0.149	0.459	0.059	0.066	0.237
Thioredoxin	TXN	0.65	0.655	0.29	0.184	0.611	**0.048**	0.328	0.159
78 kDa glucose-regulated protein	HSPA5	0.759	**0.025**	0.422	0.894	0.559	0.26	0.856	0.533
Heat shock cognate 71 kDa protein	HSPA8	0.189	0.058	0.766	0.272	0.106	**0.047**	0.534	0.25
Ribose-phosphate pyrophosphokinase 2	PRPS2	0.167	0.653	0.9	0.956	0.516	0.938	0.884	0.708
Proliferating cell nuclear antigen	PCNA	0.245	0.151	0.235	0.636	0.265	0.871	0.132	0.307
ADP/ATP translocase 3	SLC25A6	0.136	0.173	0.657	0.089	0.52	0.933	0.713	0.497
X-ray repair cross-complementing protein 5	XRCC5	0.304	0.062	0.589	0.394	0.519	0.864	0.528	0.159
Ribonuclease inhibitor	RNH1	0.416	0.452	0.087	0.185	0.377	**0.025**	0.899	**0.031**
Elongation factor 2	EEF2	0.462	0.433	0.593	0.232	0.276	**0.049**	0.139	0.619
Plastin-2	LCP1	0.664	0.96	0.689	0.624	**0.02**	**0.04**	0.052	0.065
Beta-enolase	ENO3	0.929	0.122	0.538	0.397	0.271	0.083	0.553	0.279
Macrophage migration inhibitory factor	MIF	0.86	0.149	0.204	0.204	0.738	0.845	0.936	0.33
Pyruvate kinase PKM	PKM	0.985	0.055	0.337	0.615	**0.017**	**0.003**	0.28	0.096
40S ribosomal protein S2	RPS2	0.446	0.936	0.683	0.761	0.206	0.413	0.28	0.571
Histone H2A type 2-B	HIST2H2AB	**0.018**	0.173	0.139	0.589	0.174	**0.019**	0.384	**0.007**
Histone H1.5	HIST1H1B	0.232	0.199	0.419	0.947	0.323	0.318	0.772	0.158
Histone H1.3	HIST1H1D	**0.004**	**0.001**	0.173	0.085	**0.025**	0.411	0.146	**0.01**
Heat shock 70 kDa protein 6	HSPA6	**0.002**	**0.049**	0.278	**0.006**	**0.014**	**0.011**	0.84	0.177
T-complex protein 1 subunit alpha	TCP1	0.719	0.102	0.385	0.882	**0.021**	**0.028**	**0.016**	**0.018**

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Phosphoglycerate mutase 1	PGAM1	0.386	0.316	0.922	0.314	0.579	0.431	0.527	0.246
Filamin-A	FLNA	0.896	0.541	0.604	0.262	0.451	0.543	0.545	0.806
Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	VDAC1	0.741	0.224	0.467	0.491	0.284	0.165	0.535	0.145
Trifunctional purine biosynthetic protein adenosine-3	GART	0.875	0.294	0.81	0.893	0.634	0.393	0.497	0.054
Phosphoribosylaminoimidazole-succinocarboxamide synthase	PAICS	0.085	0.888	0.177	0.762	0.125	0.202	0.357	0.971
Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1	UBA1	0.2	0.216	0.084	0.497	0.897	0.271	0.134	0.547
Nucleoside diphosphate kinase	NME1-NME2	**0.01**	0.066	0.179	0.555	0.089	0.08	0.278	0.057
MHC class II regulatory factor RFX1	RFX1	0.769	0.425	0.741	0.059	**0.004**	**0.001**	0.949	**0**
Liver carboxylesterase 1	CES1	0.15	0.902	0.091	0.861	0.079	0.235	0.922	0.354
Splicing factor, proline- and glutamine-rich	SFPQ	0.255	**0.01**	0.271	0.261	**0.02**	0.135	0.208	0.099
Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic	WARS	0.247	0.122	0.584	0.334	0.155	0.187	**0.047**	0.432
40S ribosomal protein S3	RPS3	0.668	**0.025**	0.411	0.174	**0.025**	**0.007**	0.141	0.339
Adenosylhomocysteinase	AHCY	0.07	0.437	0.332	0.339	**0.014**	**0.012**	**0.016**	0.698
Cofilin-1	CFL1	0.651	0.496	0.146	0.653	0.196	0.814	0.859	0.769
Elongation factor 1-beta	EEF1B2	0.087	0.135	0.059	0.125	0.918	0.358	0.875	0.411
DNA replication licensing factor MCM3	MCM3	0.625	0.909	0.456	0.431	0.111	0.831	0.696	0.07
40S ribosomal protein S12	RPS12	**0.005**	0.051	0.271	**0.004**	0.256	0.109	0.844	0.408
ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	ATP5A1	0.279	**0.022**	0.227	0.121	0.271	**0.035**	0.064	**0.029**
Moesin	MSN	0.312	0.842	0.386	**0.008**	0.164	0.082	0.845	0.68
Probable ATP-dependent RNA helicase DDX6	DDX6	0.895	0.095	0.262	0.553	0.581	0.381	0.521	0.444
60S ribosomal protein L13	RPL13	0.052	0.328	0.296	0.914	0.205	0.583	0.653	0.932
Protein S100-A4	S100A4	0.149	0.256	0.09	0.39	**0.032**	**0.007**	**0.011**	**0.049**
Threonine--tRNA ligase, cytoplasmic	TARS	0.435	0.939	0.804	0.64	0.383	0.628	0.547	0.406
Elongation factor 1-gamma	EEF1G	0.907	0.513	0.568	0.879	**0.028**	**0.036**	0.263	0.876

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
14-3-3 protein theta	YWHAQ	0.933	0.961	0.498	0.845	0.074	0.063	0.898	0.613
60S ribosomal protein L10	RPL10	0.465	0.299	0.774	0.259	0.244	**0.013**	0.546	0.107
Proteasome subunit alpha type-5	PSMA5	0.135	0.158	0.294	0.249	0.603	0.53	0.495	0.371
Transketolase	TKT	0.423	0.346	0.963	0.312	0.13	0.051	0.232	0.541
Endoplasmic reticulum resident protein 29	ERP29	0.724	0.882	0.546	0.583	0.44	0.474	0.482	0.293
Peroxiredoxin-6	PRDX6	0.579	0.575	0.982	0.558	0.365	0.257	0.313	0.073
Thioredoxin-dependent peroxide reductase, mitochondrial	PRDX3	0.484	0.64	0.323	0.553	0.064	0.121	0.09	0.163
60S ribosomal protein L12	RPL12	0.062	0.702	0.826	**0.041**	0.321	0.887	0.889	0.875
Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	PEBP1	0.174	0.137	0.506	0.305	0.112	**0.004**	0.52	0.786
Leukocyte elastase inhibitor	SERPINB1	0.794	0.396	0.881	0.104	0.664	0.496	0.921	0.679
Coronin-1A	CORO1A	0.894	0.966	0.881	0.857	0.201	**0.006**	0.091	0.162
Phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransferase	ATIC	0.581	0.795	0.458	0.931	0.922	0.956	0.061	0.96
14-3-3 protein beta/alpha	YWHAB	0.703	0.22	0.992	0.304	0.833	0.062	0.721	0.091
Protein S100-A11	S100A11	0.087	0.099	0.872	0.367	0.369	0.506	0.739	0.663
DNA replication licensing factor MCM7	MCM7	0.685	0.513	0.062	0.89	0.34	0.906	0.497	0.568
Heat shock 70 kDa protein 1-like	HSPA1L	0.969	0.328	0.132	0.827	0.821	0.094	0.534	0.127
60S ribosomal protein L22	RPL22	0.085	**0.025**	0.598	0.225	0.139	0.314	0.157	0.114
Myosin-9	MYH9	**0.04**	**0.022**	0.898	0.205	0.788	**0.021**	0.493	**0.012**
60S ribosomal protein L4	RPL4	0.313	0.513	0.627	0.513	0.891	0.912	0.762	0.829
Signal recognition particle 14 kDa protein	SRP14	0.859	0.958	0.464	0.679	**0.001**	0.54	0.209	0.128
Transgelin-2	TAGLN2	0.293	**0.028**	0.331	0.076	0.234	0.088	0.913	0.213
60S ribosomal protein L3	RPL3	0.276	0.531	0.374	0.082	0.321	0.319	0.502	0.254
Flap endonuclease 1	FEN1	0.5	0.403	0.568	0.553	0.9	0.06	0.302	0.203
Macrophage-capping protein	CAPG	0.157	0.173	**0.021**	0.095	0.384	0.417	0.138	0.274
T-complex protein 1 subunit zeta	CCT6A	**0.006**	0.107	**0.001**	**0.001**	0.852	0.845	0.901	0.486

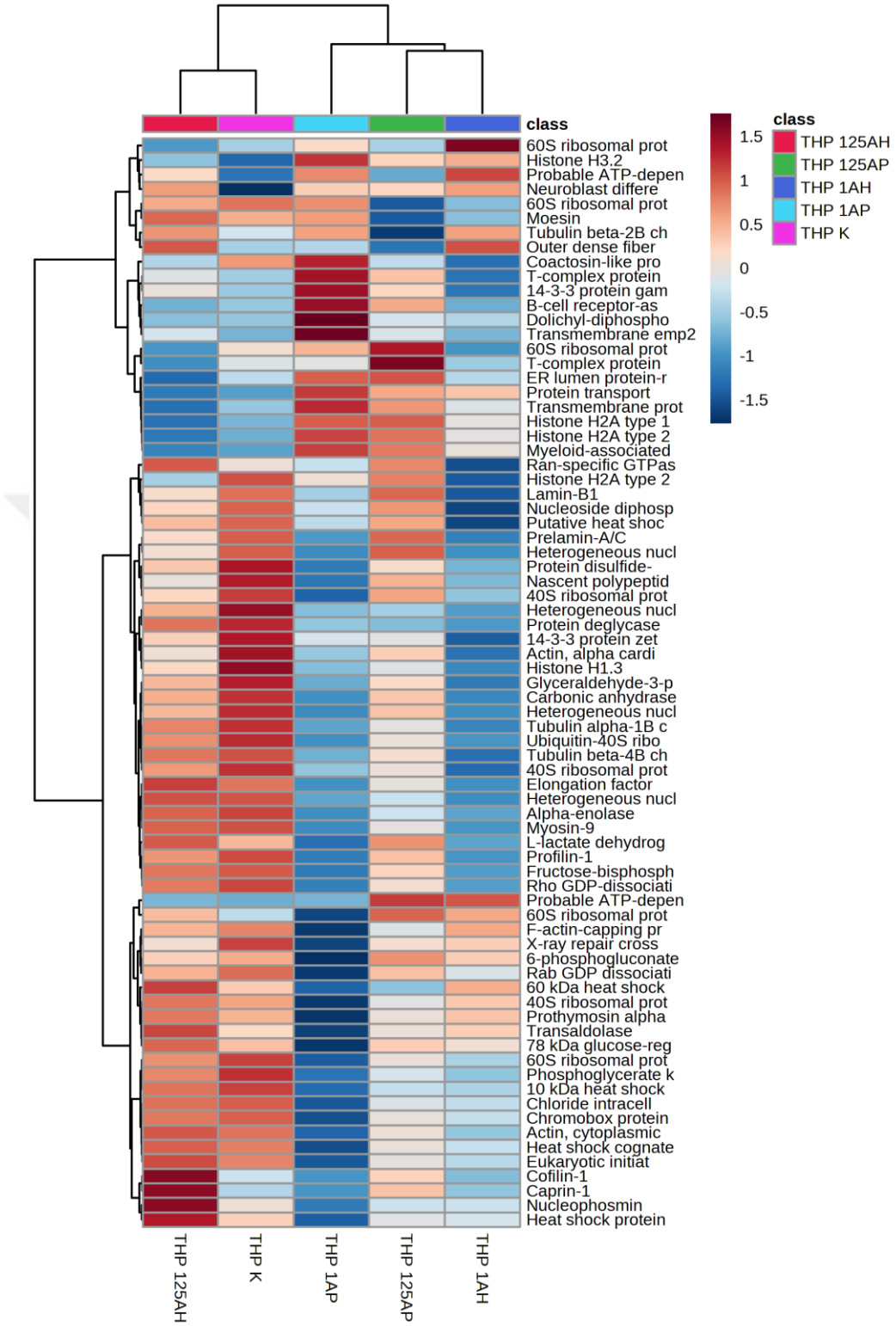
Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Malate dehydrogenase, mitochondrial	MDH2	0.108	**0.031**	0.959	0.133	0.088	**0.002**	**0.04**	0.133
40S ribosomal protein S27	RPS27	0.195	0.173	0.18	0.468	0.28	0.236	0.276	0.364
Leucine-rich PPR motif-containing protein, mitochondrial	LRPPRC	0.844	0.815	0.934	0.946	0.87	0.428	0.912	0.096
ATP synthase subunit O, mitochondrial	ATP5O	0.265	0.979	0.287	0.855	0.734	0.713	0.98	0.104
Isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial	IDH2	0.073	0.49	0.525	0.213	0.527	0.46	0.307	0.477
Nuclear autoantigenic sperm protein	NASP	0.231	0.408	0.392	0.364	0.377	**0.001**	0.133	0.794
Elongation factor Tu, mitochondrial	TUFM	0.608	0.737	0.839	0.625	0.883	0.32	0.179	0.381
Signal recognition particle 9 kDa protein	SRP9	0.174	0.393	0.654	0.811	0.56	0.39	0.198	0.252
Rab GDP dissociation inhibitor beta	GDI2	0.225	**0.026**	0.627	0.531	0.853	0.415	0.546	0.883
T-complex protein 1 subunit theta	CCT8	0.247	0.927	0.525	0.206	0.684	0.613	0.33	0.665
T-complex protein 1 subunit delta	CCT4	0.435	0.925	0.276	0.112	0.867	0.108	**0.039**	0.203
6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	PGD	0.385	0.057	0.307	0.635	0.306	0.557	0.695	0.365
Rho GDP-dissociation inhibitor 2	ARHGDIB	**0.036**	**0.022**	0.597	0.198	0.14	**0.001**	0.423	**0.046**
F-actin-capping protein subunit alpha-1	CAPZA1	0.379	0.66	0.519	0.85	0.601	**0.001**	0.253	0.144
ATP-citrate synthase	ACLY	0.456	0.796	0.189	0.883	**0.001**	0.099	**0.001**	0.134
Activated RNA polymerase II transcriptional coactivator p15	SUB1	**0.018**	0.061	0.483	0.302	0.919	0.417	0.791	0.475
Exportin-2	CSE1L	0.139	0.325	0.301	0.717	**0.016**	0.177	0.331	0.264
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B	EIF3B	0.527	0.139	0.878	0.872	0.368	0.081	0.88	0.632
Triosephosphate isomerase	TPI1	**0.042**	0.184	0.463	0.541	0.555	0.679	0.648	0.707
Protein transport protein Sec61 subunit beta	SEC61B	0.085	**0.008**	0.566	**0.025**	0.902	**0.001**	0.689	0.73
Actin, cytoplasmic 1	ACTB	0.063	**0.049**	0.764	0.149	**0.031**	**0.01**	0.267	0.156
Eukaryotic initiation factor 4A-I	EIF4A1	0.111	0.067	0.584	0.145	0.757	**0.036**	0.67	0.518
Cell division control protein 42 homolog	CDC42	0.973	0.742	0.582	0.939	0.306	0.693	0.793	0.223
Actin-related protein 3	ACTR3	0.694	0.819	0.056	0.571	0.243	0.413	0.397	0.624
Actin-related protein 2	ACTR2	**0.028**	**0.021**	0.052	0.52	0.297	0.062	0.74	0.093

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Ras-related protein Rap-1b	RAP1B	0.71	0.834	0.35	0.258	0.714	0.348	0.207	0.543
10 kDa heat shock protein, mitochondrial	HSPE1	0.13	**0.047**	0.669	0.071	0.482	**0.008**	0.118	0.257
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	HNRNPK	**0.037**	**0.035**	0.995	**0.045**	0.207	0.055	0.341	0.195
14-3-3 protein gamma	YWHAG	0.234	**0.031**	0.229	0.253	0.274	0.411	0.947	0.976
40S ribosomal protein S8	RPS8	0.055	**0.044**	0.067	0.399	0.439	0.127	0.074	0.756
14-3-3 protein epsilon	YWHAE	0.807	0.723	0.857	0.762	**0.016**	**0.006**	0.579	0.055
40S ribosomal protein S18	RPS18	0.178	0.781	0.769	**0.032**	0.547	0.527	0.628	0.495
Small nuclear ribonucleoprotein E	SNRPE	**0.04**	0.364	**0.005**	0.268	0.343	**0.006**	0.147	0.952
Small nuclear ribonucleoprotein Sm D1	SNRPD1	0.641	0.21	0.793	**0.014**	0.715	0.406	0.224	0.401
Thymosin beta-4	TMSB4X	0.085	0.825	0.267	0.146	0.348	0.073	0.801	0.393
60S ribosomal protein L7a	RPL7A	0.79	0.717	**0.001**	0.459	0.833	0.648	0.102	0.168
40S ribosomal protein S4, X isoform	RPS4X	0.096	0.11	0.634	0.16	0.1	**0.018**	0.61	**0.033**
40S ribosomal protein S6	RPS6	0.452	0.486	0.769	0.743	0.755	**0.022**	0.203	**0.027**
Histone H4	HIST1H4A	0.62	0.23	0.583	0.928	0.091	**0.018**	0.107	0.964
40S ribosomal protein S26	RPS26	0.089	0.06	0.709	0.716	0.531	0.683	0.97	0.659
60S ribosomal protein L10a	RPL10A	0.928	0.057	0.42	**0.039**	0.769	0.062	0.392	0.189
60S ribosomal protein L11	RPL11	0.972	0.744	0.418	0.488	0.816	0.504	0.59	0.246
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	PPIA	0.187	0.131	0.334	0.53	0.203	0.075	0.434	0.162
Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a	RPS27A	**0.026**	**0.015**	0.15	**0.028**	**0.032**	**0.005**	0.324	0.121
14-3-3 protein zeta/delta	YWHAZ	**0.009**	0.082	0.101	**0.044**	0.079	0.203	0.496	0.855
40S ribosomal protein S21	RPS21	**0.01**	0.071	0.084	0.136	0.27	0.361	0.741	0.44
Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	EIF5A	0.625	0.377	0.082	0.664	0.324	0.057	0.795	0.277
Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like 1	GNB2L1	0.056	0.067	0.886	0.41	0.11	0.176	0.583	0.192
Actin, cytoplasmic 2	ACTG1	0.223	0.152	0.351	0.282	0.069	0.221	0.142	0.267
Actin, alpha cardiac muscle 1	ACTC1	**0.011**	**0.002**	**0.032**	**0.003**	0.746	**0.002**	0.118	0.352

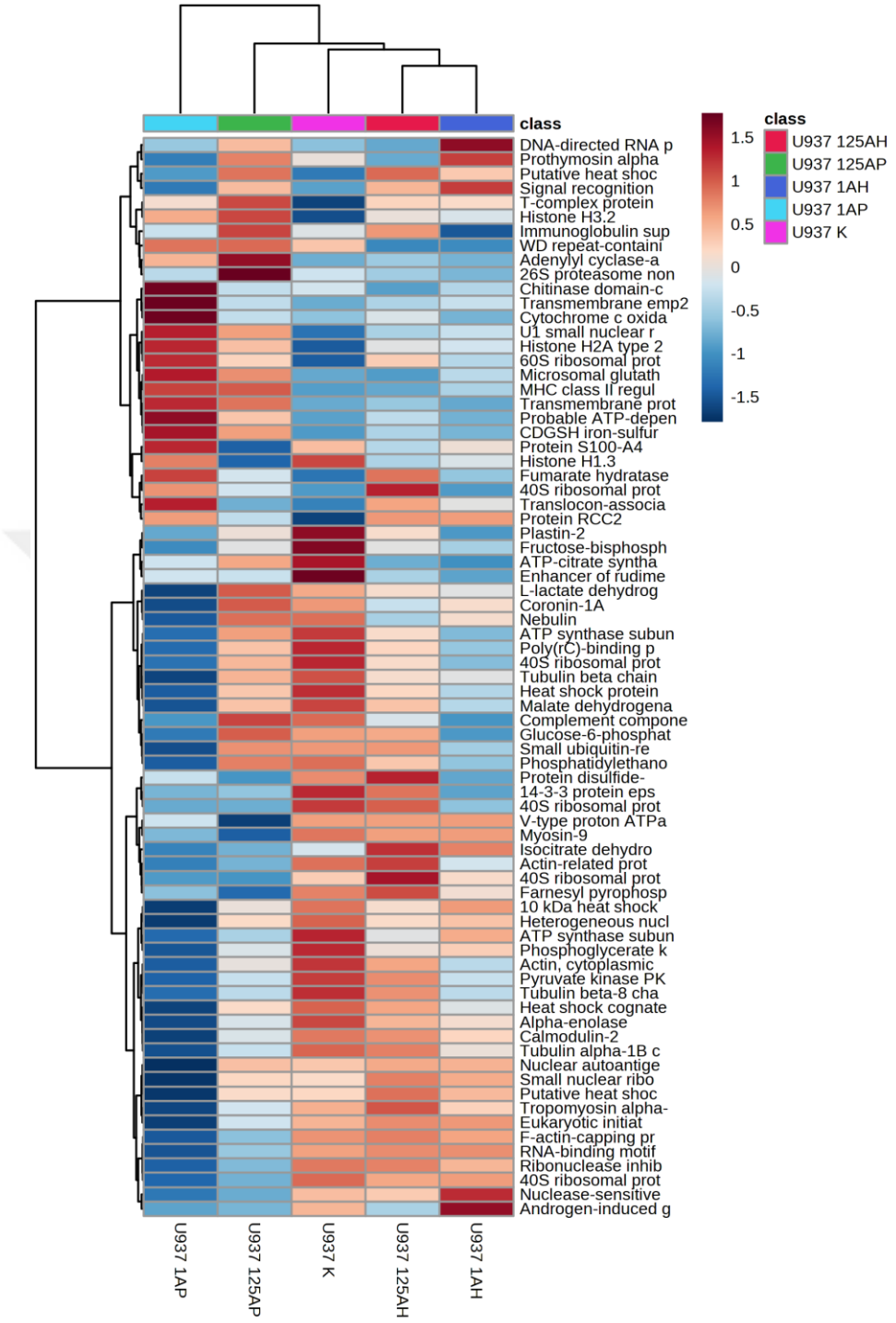
Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Ubiquitin-conjugating enzyme E2 L3	UBE2L3	0.053	0.155	0.096	0.258	0.346	0.272	0.725	0.337
Tubulin alpha-1B chain	TUBA1B	**0.002**	**0.011**	0.233	**0.012**	**0.041**	**0.012**	0.693	0.167
Tubulin beta-4B chain	TUBB4B	**0.009**	**0.041**	0.531	**0.015**	0.096	**0.034**	0.101	0.138
Histone H3.1	HIST1H3A	0.495	0.879	0.628	0.069	0.189	0.105	0.327	0.054
DNA-dependent protein kinase catalytic subunit	PRKDC	0.734	0.346	0.386	0.948	0.174	0.094	0.148	0.664
ADP-ribosylation factor 1	ARF1	0.118	0.132	0.921	**0.034**	0.969	0.926	0.707	0.169
Enhancer of rudimentary homolog	ERH	0.323	**0.003**	**0**	0.285	**0.007**	0.059	**0.001**	**0.02**
RNA-binding protein 3	RBM3	0.343	0.249	0.513	0.366	0.851	0.554	0.595	0.714
Phosphate carrier protein, mitochondrial	SLC25A3	0.098	0.204	0.145	0.364	0.362	0.359	0.796	0.392
Fatty acid-binding protein, epidermal	FABP5	**0.037**	0.06	0.605	0.219	0.525	**0.047**	0.142	0.114
Adenylyl cyclase-associated protein 1	CAP1	0.188	0.725	0.177	0.79	0.946	0.13	0.699	**0.03**
ATP-dependent 6-phosphofructokinase, platelet type	PFKP	0.778	0.573	0.752	0.562	0.95	0.766	0.739	0.739
Lactoylglutathione lyase	GLO1	0.889	0.542	0.967	0.699	0.755	0.404	0.438	0.613
ATP-dependent RNA helicase A	DHX9	0.071	0.83	0.5	0.329	0.351	0.444	0.847	0.343
Neuroblast differentiation-associated protein AHNAK	AHNAK	0.091	**0.006**	**0.004**	**0.017**	0.524	0.92	0.6	**0.049**
Cingulin-like protein 1	CGNL1	0.663	0.277	0.488	0.611	0.94	0.905	0.593	0.964
Interleukin enhancer-binding factor 3	ILF3	0.254	0.756	0.385	0.393	0.391	0.76	0.356	0.576
Chromobox protein homolog 3	CBX3	0.11	**0.038**	0.791	0.142	0.285	0.18	0.085	0.31
Transcription intermediary factor 1-beta	TRIM28	0.551	0.572	0.642	0.521	0.152	0.663	0.817	0.18
Spliceosome RNA helicase DDX39B	DDX39B	0.39	0.261	0.533	0.954	0.399	0.622	0.88	0.44
DNA replication licensing factor MCM6	MCM6	0.07	0.284	0.414	0.364	0.75	0.887	0.493	0.958
Neutral alpha-glucosidase AB	GANAB	0.367	0.769	**0.031**	0.361	0.235	0.15	0.092	0.347
Importin subunit beta-1	KPNB1	0.501	0.739	0.157	0.342	0.583	0.142	0.172	0.962
Protein disulfide-isomerase A6	PDIA6	0.093	**0.033**	0.211	0.174	0.48	0.331	0.62	0.237
3-beta-hydroxysteroid-Delta(8),Delta(7)-isomerase	EBP	0.659	0.382	0.294	0.447	0.153	0.157	0.161	0.217

Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Poly(rC)-binding protein 1	PCBP1	**0.038**	**0.042**	0.264	0.108	**0.005**	**0.001**	0.076	**0.016**
Histone H2A type 2-A	HIST2H2AA3	0.33	**0.039**	0.518	0.072	0.168	**0.015**	0.195	**0.04**
Tubulin beta-8 chain	TUBB8	0.085	0.116	0.647	0.318	**0.028**	**0.006**	0.204	0.206
Beta-actin-like protein 2	ACTBL2	0.532	0.5	0.125	0.887	0.498	0.979	0.531	0.433
Putative heat shock protein HSP 90-beta 4	HSP90AB4P	0.083	0.238	0.494	0.153	0.205	0.104	0.305	0.944
Putative heat shock protein HSP 90-beta 2	HSP90AB2P	**0.001**	0.138	0.217	0.17	**0.003**	0.662	**0.002**	**0.006**
GTP-binding protein SAR1a	SAR1A	0.923	0.763	0.387	0.312	0.646	0.69	0.125	0.337
Probable ATP-dependent RNA helicase DDX59	DDX59	**0.001**	**0.006**	**0.029**	0.166	0.629	**0.001**	0.252	**0.034**
Xaa-Pro aminopeptidase 1	XPNPEP1	0.118	0.149	0.87	0.17	0.818	0.469	0.17	0.787
Histone H3.2	HIST2H3A	0.088	**0.028**	0.349	0.128	**0.046**	**0.008**	0.051	**0.004**
Tubulin alpha-1A chain	TUBA1A	0.882	0.731	0.538	0.876	0.845	0.981	0.123	0.948
Polyadenylate-binding protein 2	PABPN1	0.677	0.094	0.534	0.353	0.516	0.41	0.864	**0.039**
CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 2	CISD2	0.913	0.239	0.472	0.34	0.532	**0.002**	0.498	0.087
POU domain, class 5, transcription factor 2	POU5F2	0.947	0.615	0.941	0.499	0.068	**0.014**	0.244	0.702
Saccharopine dehydrogenase-like oxidoreductase	SCCPDH	0.731	0.081	0.127	0.743	0.973	0.867	0.582	0.856
Plasminogen activator inhibitor 1 RNA-binding protein	SERBP1	0.475	0.713	0.365	0.253	0.602	0.583	0.904	0.695
DIS3-like exonuclease 1	DIS3L	0.117	0.46	0.419	0.314	0.65	0.759	0.919	0.598
Nuclear pore complex protein Nup133	NUP133	0.552	0.098	0.337	0.318	0.261	0.093	0.826	0.597
Heat shock protein 105 kDa	HSPH1	0.892	0.05	0.254	0.248	0.159	0.711	0.683	0.82
Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B	ANP32B	0.176	0.221	0.421	0.169	0.424	0.557	0.415	0.234
Leucine-rich repeat-containing protein 59	LRRC59	0.678	0.057	0.513	**0.043**	0.917	**0.04**	0.774	0.102
Myeloid-associated differentiation marker	MYADM	0.44	**0.024**	0.7	**0.036**	0.975	0.563	0.699	0.744
Protein deglycase DJ-1	PARK7	**0.003**	**0.026**	0.523	**0.028**	0.498	0.646	0.554	0.718
T-complex protein 1 subunit eta	CCT7	0.35	0.138	0.413	**0.014**	0.934	0.178	0.808	0.611

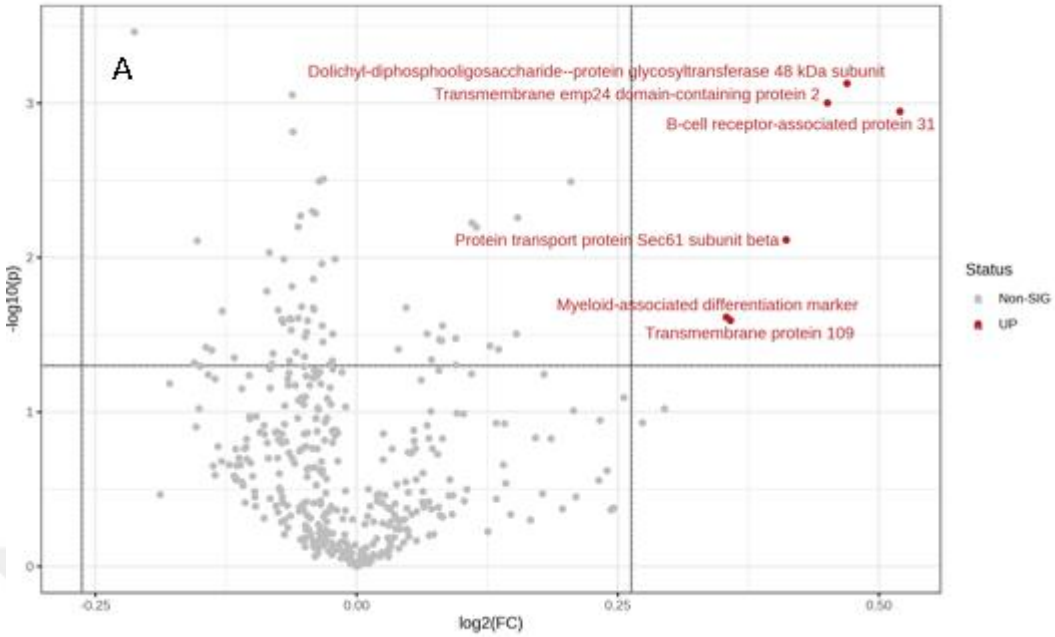
Protein	Gen	THP 1AH	THP 1AP	THP 125AH	THP 125AP	U937 1AH	U937 1AP	U937 125AH	U937 125AP
Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member E	ANP32E	0.659	0.095	0.176	0.578	0.179	0.1	0.538	0.827
Tubulin beta-2B chain	TUBB2B	0.356	0.366	0.327	0.14	0.304	0.594	0.564	0.429
Transmembrane protein 109	TMEM109	0.58	**0.026**	0.232	0.081	0.994	**0.04**	0.782	0.101
Transmembrane emp24 domain-containing protein 9	TMED9	0.653	0.424	0.53	0.893	0.328	0.805	0.34	0.899
dCTP pyrophosphatase 1	DCTPP1	0.878	0.382	0.794	0.613	0.35	0.2	0.657	0.647
Calcyclin-binding protein	CACYBP	0.225	0.809	0.979	0.223	0.629	0.301	0.866	0.333
UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1	UGGT1	0.29	0.695	0.53	0.768	0.626	0.653	0.762	0.219
Protein RCC2	RCC2	0.741	0.839	0.68	0.866	0.123	0.105	0.1	0.302
Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD	PYCARD	0.626	0.154	0.591	0.264	0.496	0.554	0.926	0.434
Proliferation-associated protein 2G4	PA2G4	0.249	0.679	0.585	0.138	0.561	0.656	0.266	0.62
RuvB-like 2	RUVBL2	0.229	0.148	0.911	0.066	**0.002**	0.051	0.552	0.38
RuvB-like 1	RUVBL1	0.179	0.267	0.064	0.238	0.663	0.138	0.562	0.458
Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	VDAC3	0.523	0.575	0.615	0.553	0.79	0.933	0.724	0.134
Phosphoserine aminotransferase	PSAT1	0.945	0.381	0.688	0.386	0.464	0.643	0.911	0.602

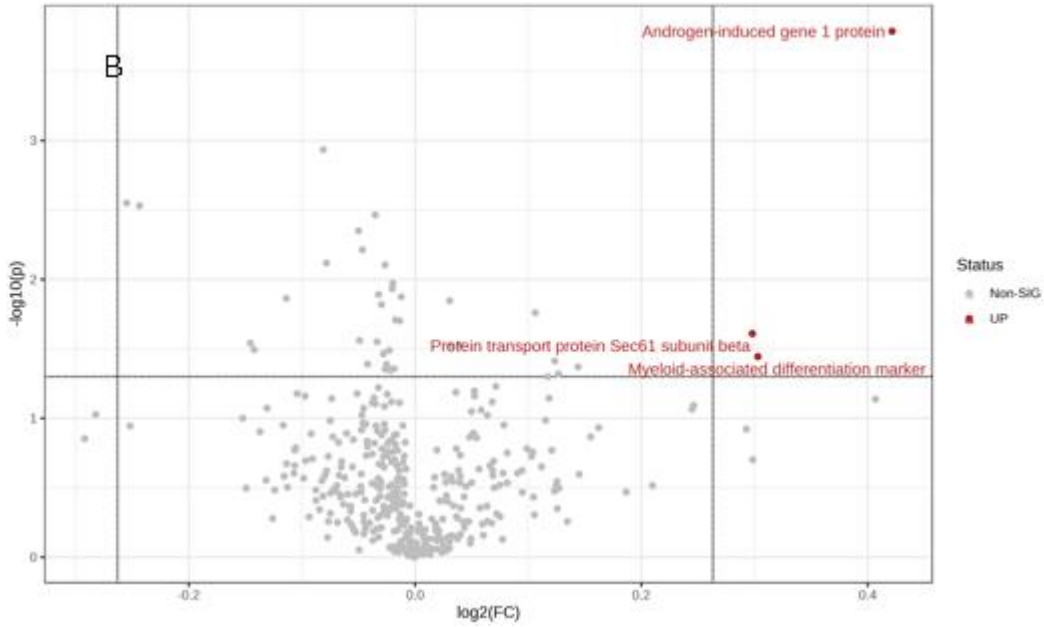


Şekil 4.22. THP hücre hatından adjuvan etkisine bağlı olarak elde edilen proteinlere ait sıcak harita grafikleri.

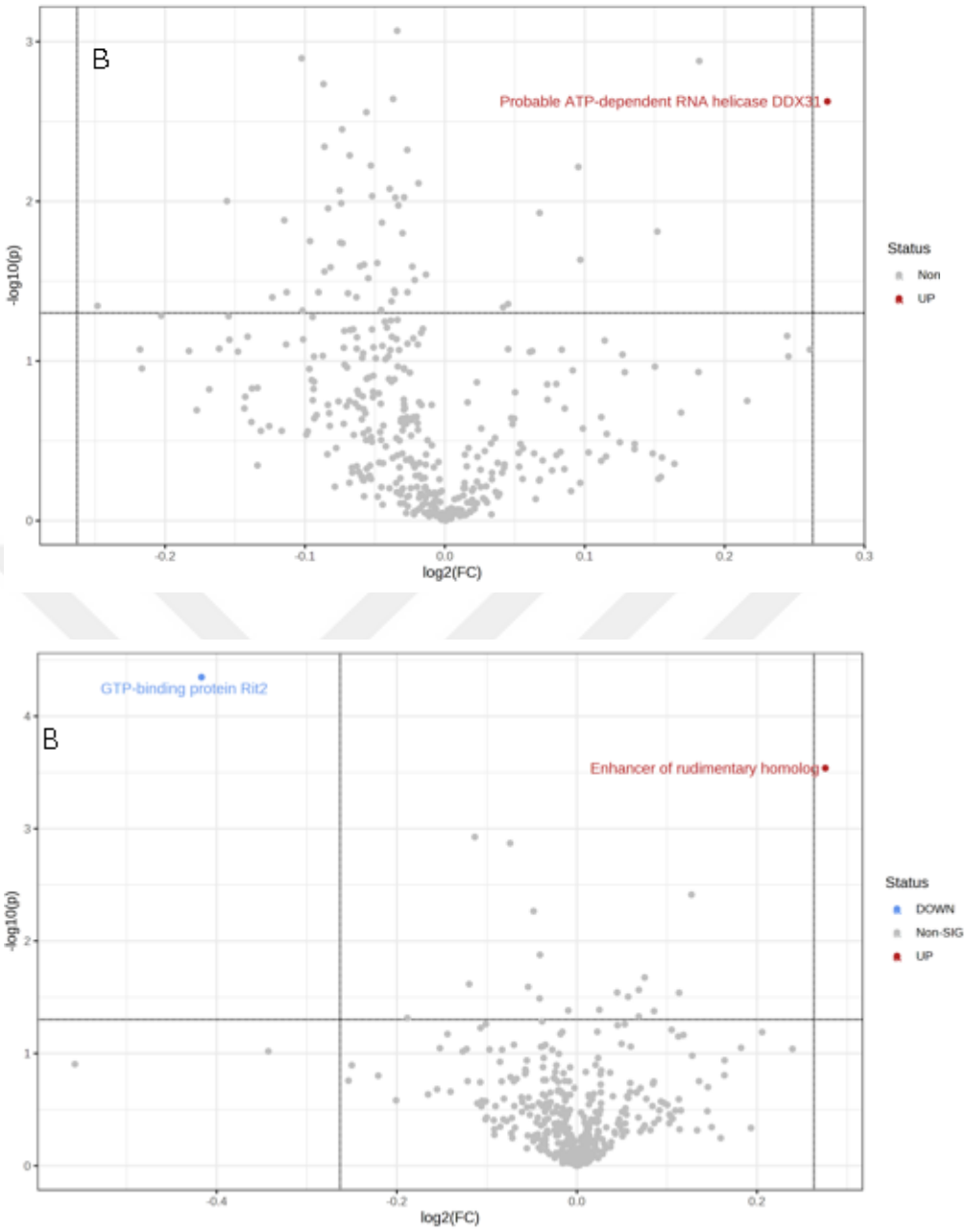


Şekil 4.23. U937 hücre hatından adjuvan etkisine bağlı olarak elde edilen proteinlere ait sıcak harita grafikleri.

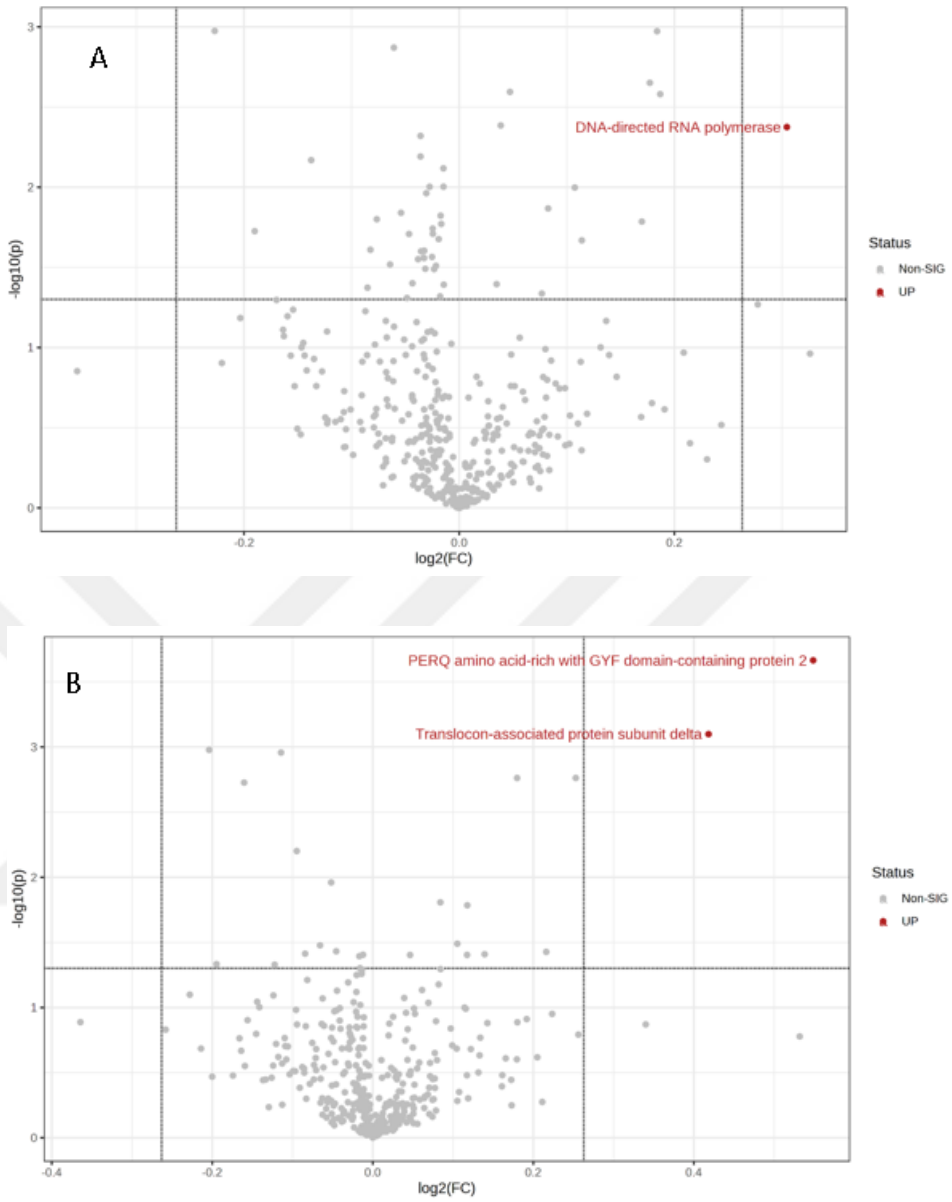




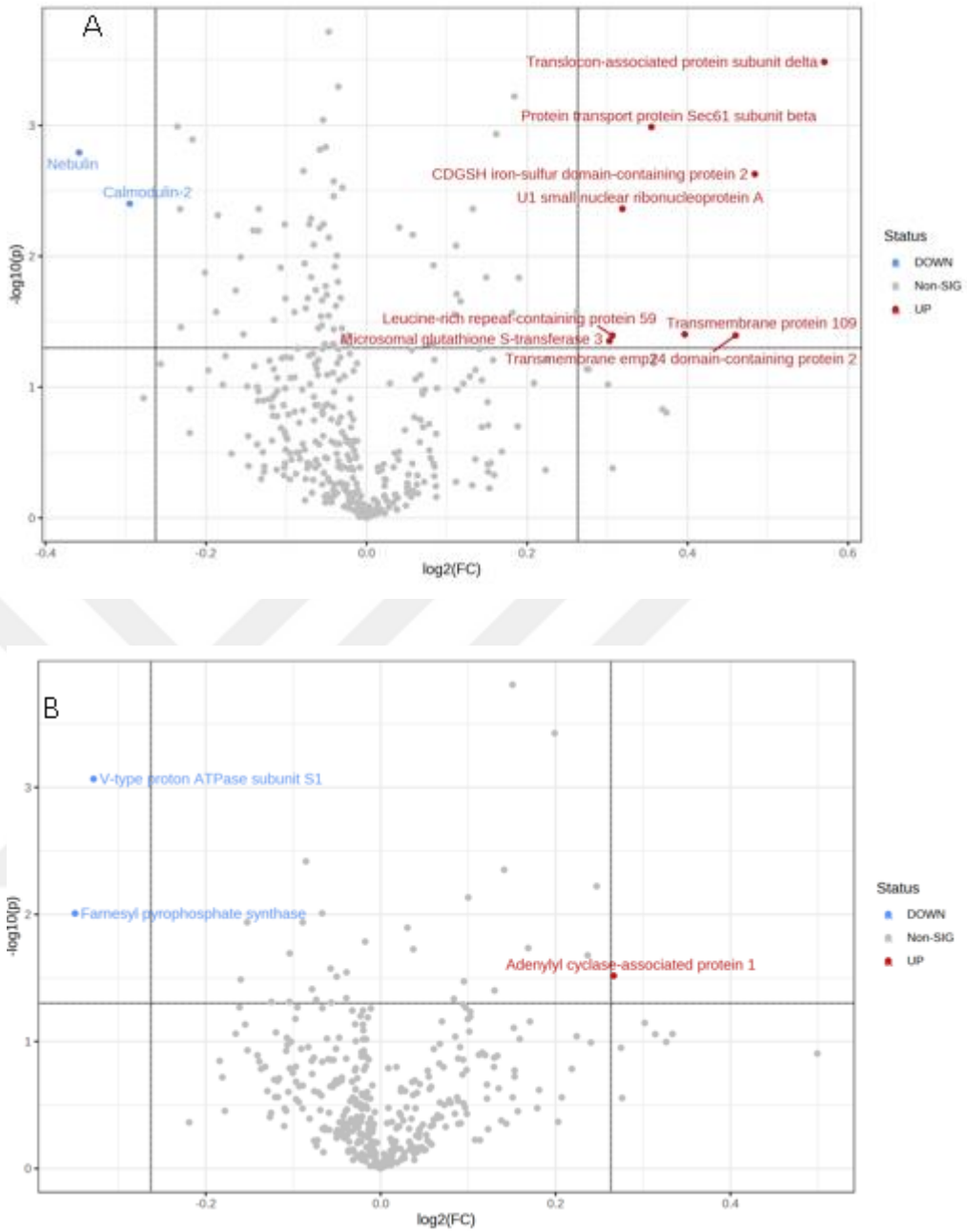
Şekil 4.24. THP hücre hatlarında AP dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AP, B) 0.125 mM AP.



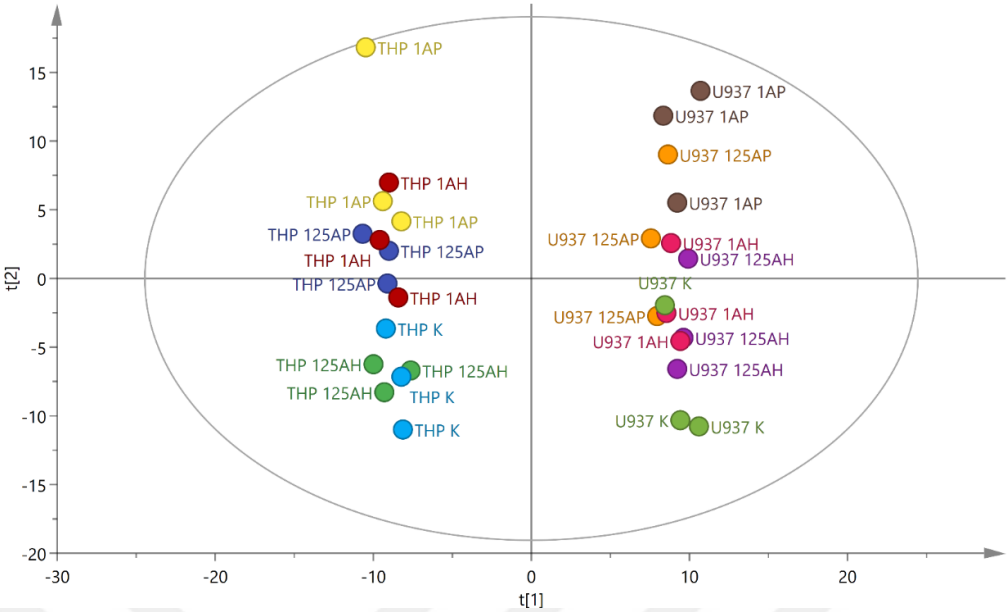
Şekil 4.25. THP hücre hatlarında AH dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AH, B) 0.125 mM AH



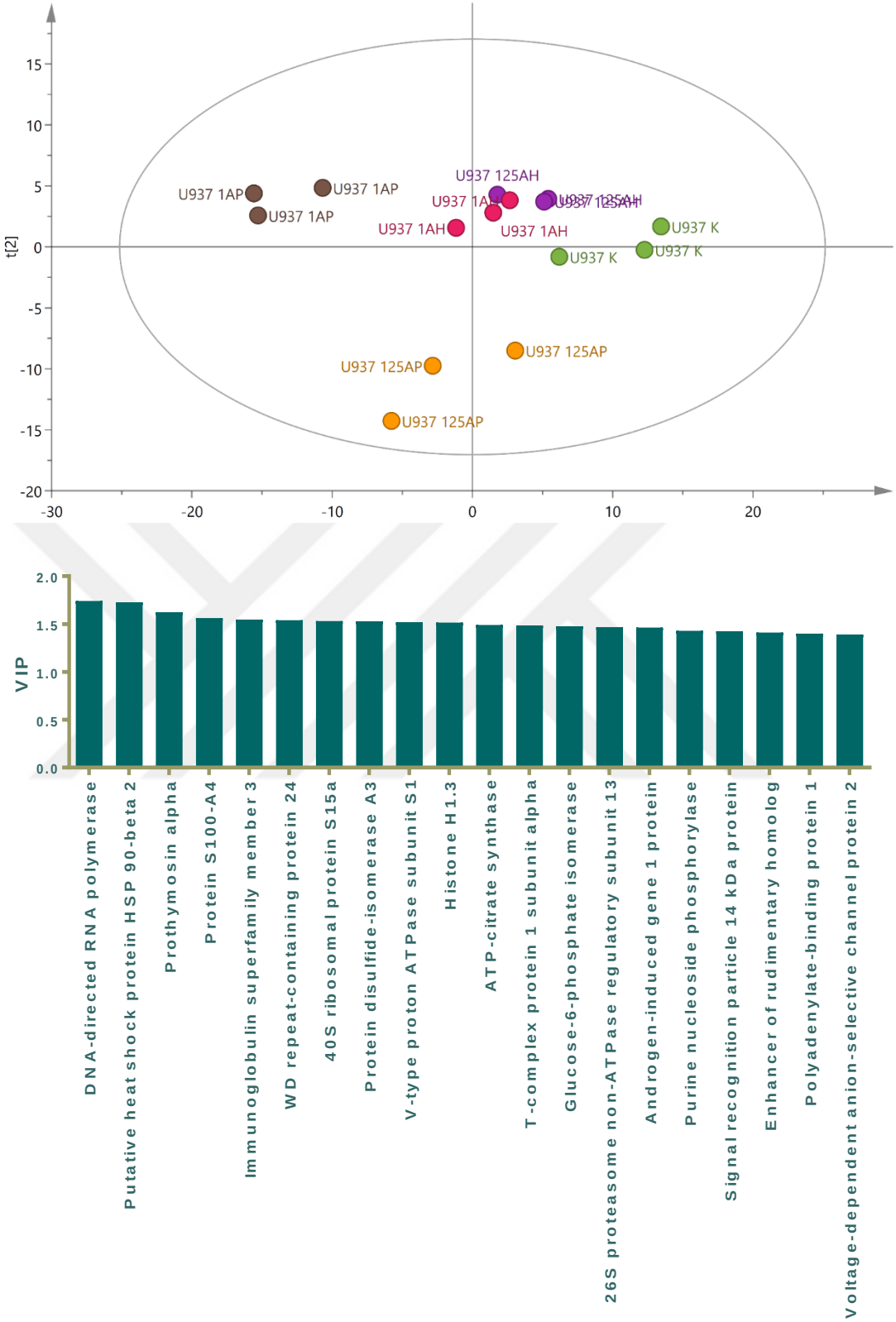
Şekil 4.26. U937 hücre hatlarında AH dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AH, B) 0.125 mM AH.



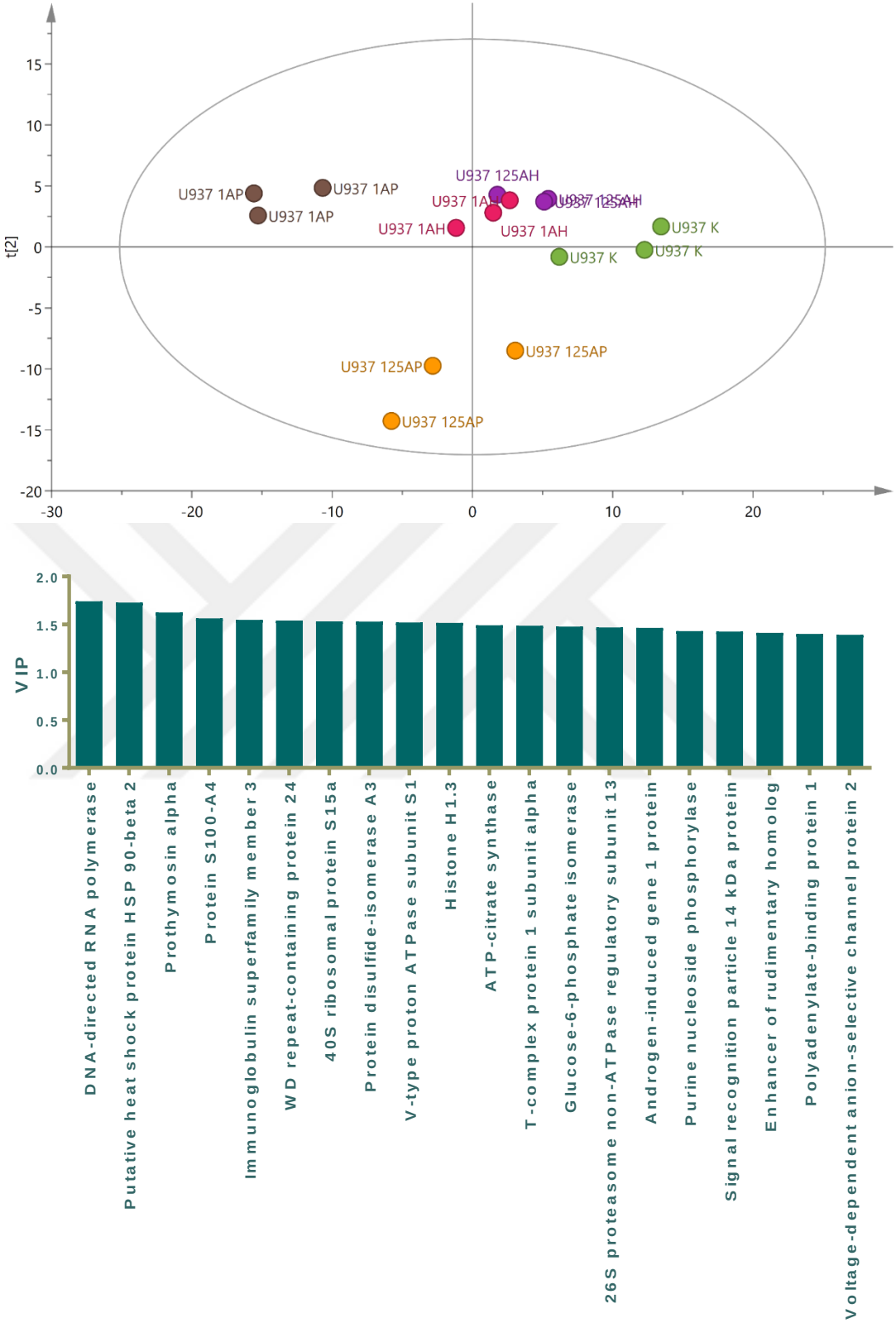
Şekil 4.27. U937 hücre hatlarında AP dozuna bağlı olarak kontrol grubuna karşı oluşturulmuş yanardağ grafikleri A) 1 mM AP, B) 0.125 mM AP.



Şekil 4.28. U937 ve THP-1 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen proteomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.344 ve Q^2: 0.221)



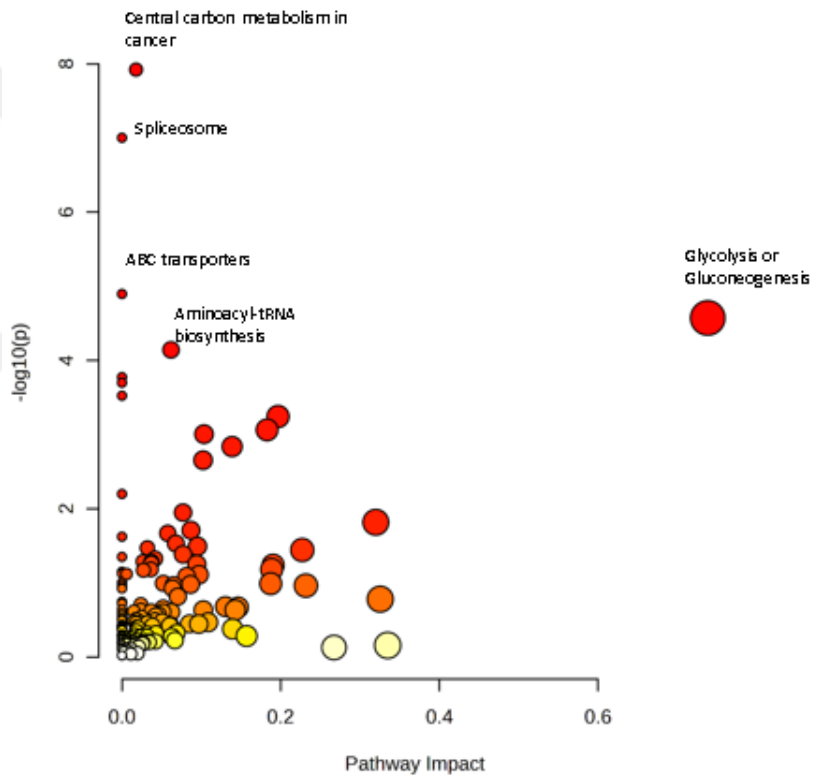
Şekil 4.29. U937 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen proteomik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.513 ve Q^2: 0.575) ve B) VIP grafiği.



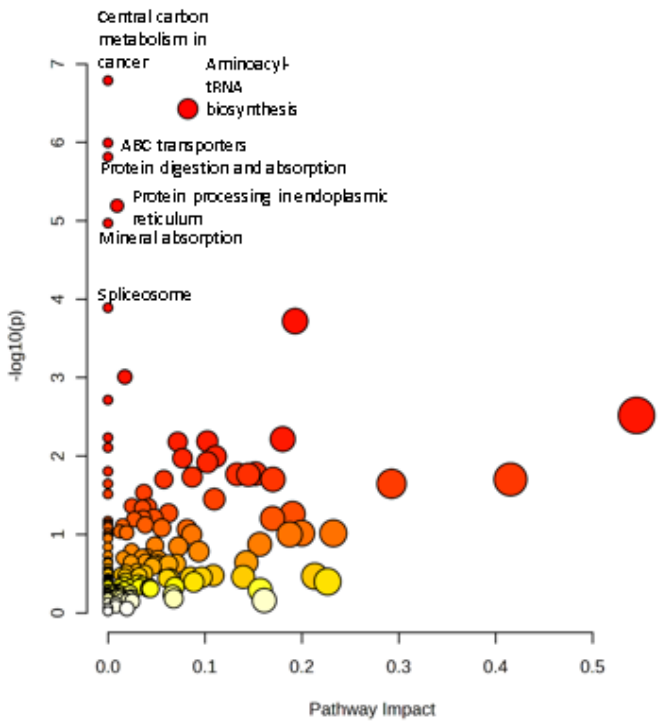
Şekil 4.30. THP-1 hücre hatının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen proteımik profillerine ait A) PLS-DA skor (R^2: 0.*562* ve Q^2: 0.732) ve B) VIP grafiği.

4.4. Yolak Analizleri

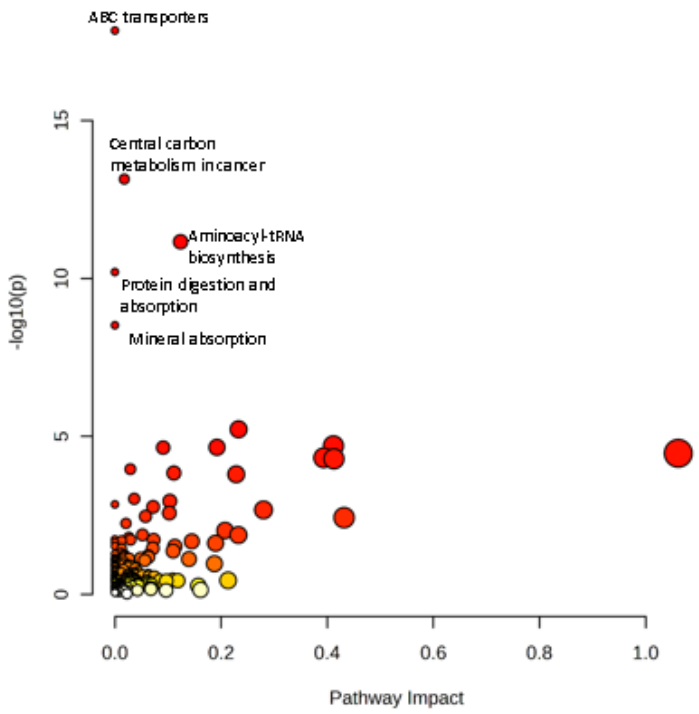
Hücre hatları kontrol gruplarına karşı adjuvan türü ve dozuna bağlı olarak yolak analilzeri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla iki grup arasında anlamlı olarak değişen metabolitler ve proteinler MetaboAnalyst 5.0 yazılımı ile yolak analizleri gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasında anlamlı değişen yolaklar Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'de verilmiştir. Tablo 4.6'da ise belirtilen yolaklarda yer alan istatistiksel olarak anlamlı değişen toplam metabolit-protein sayısı, p değerleri ve yolak etki değerleri verilmiştir.



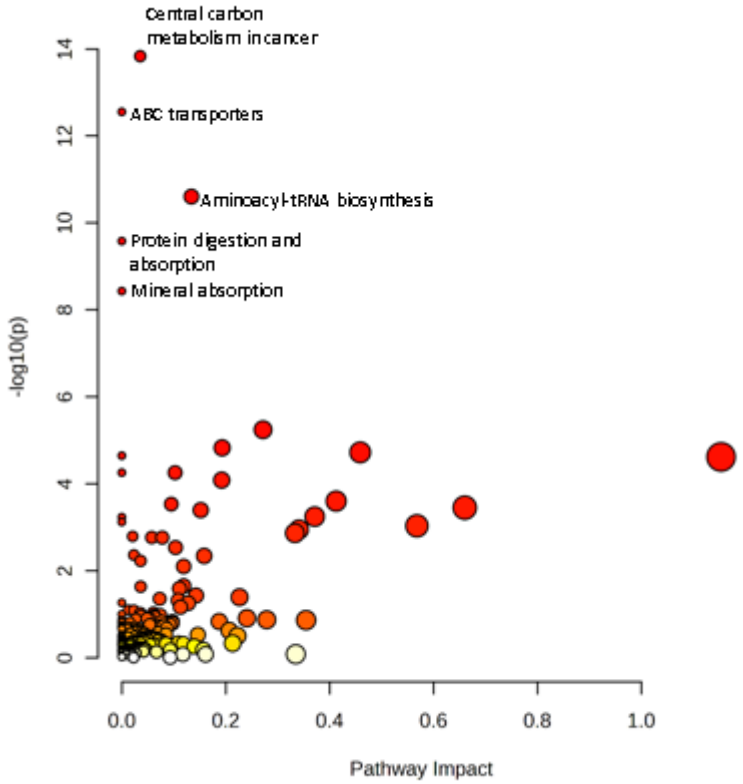
Şekil 4.31. 1 mM AH bağlı olarak THP-1 hücre hattında etkileşen yolaklar.



Şekil 4.32. 1 mM AP bağlı olarak THP hücre hattında etkileşen yolaklar.



Şekil 4.33. 1 mM AH bağlı olarak U937 hücre hattında etkileşen yolaklar.



Şekil 4.34. 1 mM AP bağlı olarak U937 hücre hattında etkileşen yolaklar.

Tablo 4.11. 1 mM AH THP hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişen metabolitlerin ve proteinlerin kullanılmasıyla elde edilen yolak analzi sonuçları.

	Toplam	Beklenen	n	p	FDR	Etki
Kanserde merkez karbon metabolizması	106	0.635	9	1.2×10^{-8}	3.96×10^{-6}	0.0176
Splisozom	135	0.809	9	9.9×10^{-8}	1.64×10^{-5}	0
ABC taşıyıcı sistem	183	1.097	8	1.27×10^{-5}	0.0014	0
Glikoliz veya Glikoneogenez	99	0.593	6	2.68×10^{-5}	0.0022	0.7384
Aminoaçil-tRNA biyosentez	118	0.707	6	7.2×10^{-5}	0.0047	0.0618
Mineral absorbsiyonu	87	0.521	5	0.0001	0.0092	0
Protein sindirimi ve absorbsiyonu	142	0.851	6	0.0002	0.0094	0
Ribozom	153	0.917	6	0.0003	0.0123	0
Alanin, aspartat and glutamat metabolizması	64	0.384	4	0.0005	0.021	0.1967
HIF-1 sinyal yolağı	124	0.743	5	0.0008	0.0286	0.1829
Taurin and hipotaurin metabolizması	33	0.198	3	0.0009	0.0297	0.1034
Propanoat metabolizması	82	0.491	4	0.0014	0.04	0.1388
Glioksilat and dikarboksilat metabolizması	92	0.551	4	0.0022	0.0564	0.1022
Vitamin sindirimi and absorbiyonu	63	0.378	3	0.0063	0.1495	0
Valin, lösin and izolösin biyosentezi	27	0.162	2	0.0112	0.2488	0.0769
Fruktoz and mannoz metabolizması	87	0.521	3	0.015	0.3154	0.32
Nitrojen metabolizması	36	0.216	2	0.0195	0.3806	0.0869
Geçit bağlantıları	99	0.593	3	0.0214	0.3944	0.0576
Proksimal tübülde bikarbonat azaltılması	40	0.240	2	0.0238	0.4152	0
Sistein ve metiyonin metabolizması	112	0.671	3	0.0295	0.4883	0.0679
Pantotenat and CoA biyosentezi	47	0.282	2	0.0321	0.5069	0.0952
Patojenik Escherichia coli enfeksiyonu	204	1.222	4	0.0338	0.509	0.032
Sitrat siklusu (TCA siklusu)	50	0.300	2	0.036	0.5186	0.2272
Arjinin and prolin metabolizması	128	0.767	3	0.0413	0.57	0.07692
Glukagon sinyal yolağı	132	0.791	3	0.0446	0.5906	0
Lejyoner	58	0.348	2	0.0471	0.6005	0.04166

Tablo 4.12. 1 mM AP THP hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı düzyde değişen metabolitlerin ve proteinlerin kullanılmasıyla elde edilen yolak analzi sonuçları

	Toplam	Beklenen	n	Ham p	FDR	Etki
Kanserde merkez karbon metabolizması	106	0,6165	8	$1,63x10^{-7}$	$5,39x0^{-5}$	0
Aminoaçil-tRNA biyosentezi	118	0,6862	8	$3,74x10^{-6}$	$6,2x10^{-5}$	0,0824
ABC taşıyıcı sistem	183	1,0643	9	$1,02x10^{-6}$	0,0001	0
Protein sindirimi ve absorbsiyonu	142	0,8258	8	$1,54x10^{-6}$	0,0001	0
Endoplazmik reikulumda protein işleme	172	1,0004	8	$6,43x10^{-6}$	0,0004	0,0094
Mineral absorbsiyonu	87	0,5059	6	$1,07x10^{-5}$	0,0005	0
Splizom	135	0,7851	6	0,0001	0,006	0
Glioksilat ve dikarboksilat metabolizması	92	0,535	5	0,0001	0,0078	0,1931
Yağ asidi biyosentezi	76	0,442	4	0,0009	0,0359	0,0174
Ribozom	153	0,8898	5	0,0019	0,0637	0
Sitrat siklusu (TCA siklusu)	50	0,2908	3	0,003	0,0911	0,545
Vitamin sindirimi ve absorbsiyonu	63	0,3664	3	0,0058	0,1451	0
Alanin, aspartat and glutamat metabolizması	64	0,3722	3	0,0060	0,1451	0,180
Arjinin and prolin metabolizması	128	0,7444	4	0,0064	0,1451	0,102
Patojenik Escherichia coli enfeksiyonu	204	1,1865	5	0,0065	0,1451	0,072
Protein taşıma	23	0,1337	2	0,0077	0,1611	0
Fenilalanin metabolizması	77	0,4478	3	0,0101	0,1958	0,111
Valin, losin and izolösin biyosentezi	27	0,15703	2	0,0106	0,1958	0,0769
Fagozom	153	0,8898	4	0,0119	0,2089	0,1025
Taurin ve hipotaurin metabolizması	33	0,1919	2	0,0156	0,243	0
Hipertrofik kardiyomiyopati (HCM)	93	0,5408	3	0,0168	0,243	0,152
Sıkı bağlantı	170	0,9887	4	0,0170	0,243	0,133
Glutatyon metabolizması	94	0,5467	3	0,0172	0,243	0,144
Nitrojen metabolizması	36	0,2093	2	0,0184	0,243	0,0869
Geçit bağlantısı	99	0,5757	3	0,0198	0,243	0,0576
Genişletilmiş kardiyomiyopati (DCM)	99	0,5757	3	0,0198	0,243	0,1702
Glikoliz veya glukoneogenez	99	0,5757	3	0,0198	0,243	0,4153
Proksimal tübülde bikarbonat azaltılması	40	0,2326	2	0,0225	0,2573	0
Fenilalanin, tirozin ve triptofan biyosentezi	40	0,2326	2	0,0225	0,2573	0,2926
Vazopressin tarafından düzenlenen su geri emilimi	46	0,2675	2	0,0292	0,3228	0,0370
Tiamin metabolizması	47	0,2733	2	0,0304	0,325	0
HIF-1 sinyal yolağı	124	0,7211	3	0,0354	0,3662	0,1097
Kokain bağımlılığı	57	0,3315	2	0,0433	0,4345	0,0246
Lejyoner	58	0,3373	2	0,0447	0,4352	0,0416
Vibrio kolera enfeksiyonu	59	0,3431	2	0,0461	0,436	0,0357

Tablo 4.13. 1 mM AH U937 hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişen metabolitlerin ve proteinlerin kullanılmasıyla elde edilen yolak analizi sonuçları.

	Toplam	Beklenen	n	Ham p	FDR	Etki
ABC taşıyıcı sistem	183	1,145	19	$1,4 \times 10^{-18}$	$4,72 \times 10^{-16}$	0
Kanserde merkez karbon metabolizması	106	0,6632	13	$7,2 \times 10^{-14}$	$1,19 \times 10^{-11}$	0,0176
Aminoaçil-tRNA biyosentezi	118	0,7382	12	$6,9 \times 10^{-12}$	$7,6 \times 10^{-10}$	0,1237
Protein sindirimi ve absorbsiyonu	142	0,8884	12	$6,2 \times 10^{-11}$	$5,2 \times 10^{-9}$	0
Mineral absorbsiyonu	87	0,5443	9	$3,0 \times 10^{-8}$	2×10^{-7}	0
Sistein ve metiyonin metabolizması	112	0,7007	7	$5,9 \times 10^{-8}$	0,0003	0,2331
Glisin, serin ve treonin metabolizması	90	0,5630	6	$1,2 \times 10^{-7}$	0,00083	0,4117
Valin, losin and izolosin biyosentezi	27	0,1689	4	$2,2 \times 10^{-5}$	0,0008	0,1923
Glioksilat ve dikarboksilat metabolizması	92	0,5756	6	$2,2 \times 10^{-5}$	0,0008	0,0909
Glikoliz veya glikoneogenez	99	0,6194	6	$3,4 \times 10^{-5}$	0,0011	1,0615
Alanin, aspartat ve glutamat metabolizması	64	0,4004	5	$4,76 \times 10^{-5}$	0,0014	0,3934
Pentoz fosfat yolağı	65	0,4066	5	$5,13 \times 10^{-5}$	0,0014	0,412
Yağ asidi biyosentezi	76	0,4755	5	0,0001	0,0027	0,029
Arjinin ve prolin metabolizması	128	0,8008	6	0,0001	0,0034	0,1111
Arjinin biyosentezi	44	0,2752	4	0,0001	0,0034	0,2285
Butanoat metabolizması	70	0,4379	4	0,0009	0,0195	0,0363
Taurin ve hipotaurin metabolizması	33	0,2064	3	0,0011	0,0217	0,1034
Antijen işleme ve sunma	78	0,488	4	0,0014	0,0260	0
Patojenik Escherichia coli enfeksiyonu	204	1,2763	6	0,0017	0,0296	0,072
Fruktoz ve mannoz metabolizması	87	0,5443	4	0,0021	0,0350	0,28
Fagozom	153	0,9572	5	0,0026	0,0418	0,1025
Geçit bağlantıları	99	0,6194	4	0,0033	0,0509	0,0576
Sitrat siklusu (TCA siklusu)	50	0,3128	3	0,0037	0,0536	0,4318
Lejiyoner	58	0,3628	3	0,0056	0,078	0,0208
Pirüvat metabolizması	70	0,4379	3	0,0095	0,126	0,2075
Östrojen sinyal yolağı	146	0,9134	4	0,0131	0,162	0,0519
Purin metabolizması	225	1,4077	5	0,0132	0,162	0,2326
Biotin metabolizması	31	0,1939	2	0,0159	0,1887	0,0263
Pentoz ve glukuronat dönüşümleri	89	0,5568	3	0,0181	0,1997	0
Sinaptik vezikül döngüsü	90	0,563	3	0,0187	0,1997	0,0294
Valin, losin and izolösin degradasyonu	90	0,563	3	0,0187	0,1997	0,0729
Nikotinat ve nikotinamit metabolizması	92	0,5756	3	0,0198	0,205	0,0123
Glutatyon metabolizması	94	0,5881	3	0,0209	0,2103	0,1449
Endoplazmik retikulumda protein işleme	172	1,0761	4	0,0225	0,2196	0
Gliserolipid metabolizması	99	0,6194	3	0,0240	0,227	0,1896
Sulfur metabolizması	43	0,269	2	0,0295	0,2687	0
Prostat kanseri	108	0,6757	3	0,0300	0,2687	0,1129
Pantotenat ve CoA biyosentezi	47	0,294	2	0,0348	0,299	0,0714
Lizin degredasyonu	115	0,7195	3	0,0352	0,299	0,0129
HIF-1 sinyal yolağı	124	0,7758	3	0,0425	0,352	0,1097
Glukagon sinyal yolağı	132	0,8258	3	0,04961	0,4007	0,012

Tablo 4.14. 1 mM AP U937 hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişen metabolitlerin ve proteinlerin kullanılmasıyla elde edilen yolak analzi sonuçları

	Toplam	Beklenen	n	p	FDR	Etki
Kanserde merkez karbon metabolizması	106	0,9247	15	$1,46 \times 10^{-14}$	$4,8 \times 10^{-12}$	0,0353
ABC taşıyıcı sistem	183	1,5965	17	$2,8 \times 10^{-13}$	$4,6 \times 10^{-11}$	0
Aminoaçil-tRNA biyosentezi	118	1,0294	13	$2,4 \times 10^{-11}$	$2,7 \times 10^{-9}$	0,1340
Protein sindirim ve absorbsiyonu	142	1,2388	13	$2,6 \times 10^{-10}$	$2,1 \times 10^{-8}$	0
Mineral absorbsiyonu	87	0,7589	10	$3,7 \times 10^{-7}$	$2,4 \times 10^{-7}$	0
Sistein ve metiyonin metabolizması	112	0,977	8	$5,7 \times 10^{-6}$	0,0003	0,2718
Glioksilat ve dikarboksilat metabolizması	92	0,8026	7	$1,48 \times 10^{-5}$	0,0007	0,1931
Alanin, aspartat and glutamat metabolizması	64	0,5583	6	$1,9 \times 10^{-5}$	0,0007	0,4590
Splizom	135	1,1777	8	$2,2 \times 10^{-5}$	0,0007	0
Glikoliz veya glikoneogenez	99	0,8636	7	$2,4 \times 10^{-5}$	0,0007	1,1538
Ribozom	153	1,3348	8	$5,5 \times 10^{-5}$	0,0015	0
Fagozom	153	1,3348	8	$5,5 \times 10^{-5}$	0,0015	0,1025
Valin, losin ve izolösin biyosentezi	27	0,2355	4	$8,20 \times 10^{-5}$	0,0020	0,1923
Pentoz fosfat yolağı	65	0,567	5	0,0002	0,0058	0,4127
Ateroskleroz	147	1,282	7	0,0002	0,0064	0,0952
Pirüvat metabolizması	70	0,61	5	0,0003	0,0072	0,6603
Patojenik Escherichia coli enfeksiyonu	204	1,779	8	0,0004	0,0078	0,152
Arjinin biyosentezi	44	0,3838	4	0,0005	0,0101	0,3714
Antigen işleme ve sunma	78	0,6804	5	0,0005	0,0101	0
Endoplazmik retikulumda protein işleme	172	1,5005	7	0,0007	0,0124	0
Sitrat siklusu (TCA siklusu)	50	0,4362	4	0,0009	0,0145	0,5681
Glisin, serin ve treonin biyosentezi	90	0,7851	5	0,0011	0,0168	0,3411
Glutatyon metabolizması	94	0,82	5	0,0013	0,0195	0,3333
Lejyoner	58	0,5059	4	0,0016	0,0218	0,0208
Geçit bağlantıları	99	0,8636	5	0,0017	0,0218	0,0576
Östrojen sinyal yolağı	146	1,2737	6	0,0017	0,0218	0,0779
Taurin ve hipotaurin biyosentezi	33	0,2878	3	0,0029	0,0356	0,1034
Yağ asidi biyosentezi	76	0,663	4	0,0043	0,0511	0,0232
HIF-1 sinyal yolağı	124	1,0818	5	0,0045	0,0517	0,1585
Glukagon sinyal yolağı	132	1,1516	5	0,0059	0,0651	0,0361
Pantotenat ve CoA biyosentezi	47	0,41	3	0,0079	0,0844	0,1190
Şigelloz	69	0,6019	3	0,0222	0,2305	0,1190
Butanoat metabolizması	70	0,6106	3	0,0231	0,2320	0,0363
Arjinin ve prolin metabolizması	128	1,1167	4	0,0255	0,2488	0,1111
Salmonella enfeksiyonu	84	0,7328	3	0,0369	0,3492	0,1428
Fructoz and mannoz metabolizması	87	0,7589	3	0,0403	0,3708	0,2266
Valin, losin and izolösin degredasyonu	90	0,7851	3	0,0438	0,3925	0,0729
Hipertrofik kardiyomiyopati (HCM)	93	0,8113	3	0,0475	0,4145	0,1087

5. TARTIŞMA

Adjuvanlar, birlikte verildikleri antijenin etkisinin süresini, büyüklüğünü ve kalıcılığını artıran maddelerdir. Tek başlarına vücutta herhangi bir immun cevaba sebep olmamaktadırlar. Genel olarak, bağışıklık sisteminin antijenle savaşan antikorlar üretmesine yardımcı olmak için bir antijenle beraber enjekte edilirler (4). Yıllardır adjuvan madde olarak aluminyum adjuvanları sıklıkla kullanılmaktadır. Alüminyum bazlı adjuvanların etki mekanizmaları tam olarak anlaşılmamasına rağmen, aşılarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar (79) .

Antijenler adjuvan agregatlarının üzerine adsorbe olarak aşılama yerinde salınarak etki gösterdiği düşünülmekle beraber, alüminyum tuzlarının enjeksiyonunun hücre hasarı kaynaklı bir tepkiye sebep olduğu bilinmektedir. Alüminyum adjuvanlar, Th2 bağışıklık tepkisini seçici olarak uyarırlar. CD8-T hücrelerinin aktivasyonunu desteklerler. Antijenlerin alüminyum adjuvanlara adsorpsiyonu, fagositozu kolaylaştırarak ve antijenlerin enjeksiyon bölgesinden difüzyonunu yavaşlatarak, enflamatuar hücrelerin birikmesi için zaman tanıyarak bağışıklık tepkisini arttırmaktadırlar. Enjeksiyon yerinde hücre hasarına sebep olarak, DAMP'lerin salınmasını tetikler ve inokülasyon yerinde ilgili kemokinlerin artan seviyeleri ile birlikte inflamatuar hücrelerin infiltrasyonu artırmaktadırlar (85).

Alüminyum adjuvanlar, doğrudan ve dolaylı mekanizmalar yoluyla dendritik hücreleri aktive etmektedirler. Alüminyum adjuvanların fagositozunu takiben fagolizozomun bozulması, aktif IL-1β ve IL-18'in salınmasıyla sonuçlanan NLRP3-enflamasomları aktive etmektedir. Alüminyum adjuvanlar ayrıca membran lipid sallarına bağlanarak dendritik hücreleri aktive eder. Alüminyum ile adjuvanlanmış aşıların enjeksiyonu, sırayla dendritik hücreleri aktive eden hasarlı hücrelerden ürik asit, DNA ve ATP'nin salınmasına neden olur (88).

Proteomiks teknolojinin çok sayıda proteini yüksek hassasiyetle hızlı bir şekilde tanımlama yeteneği, aşılarla ilgili birçok çalışmada kullanılmasına izin vermektedir. Patojen proteomunun ve konağın enfeksiyondan sonra immün tepkisinin ne şekilde değiştiği yeni adjuvanların keşfinde fayda sağlayabilmektedir. Enfeksiyon sırasında, patojen-konakçı arasındaki etkileşimler sonucunda bazı metabolik değişiklikler oluşmaktadır. Patojenler biyoenerjetik ve biyosentetik

gereksinimlerini karşılamak için besinler ve diğer metabolitler için rekabet ederek kendilerine özgü metabolitler meydana getirmektedirler. Bu metabolitlerin aşılarla ilgili çalışmalarda birçok adjuvanın etki mekanizmasıyla ilgili yeni yolakların keşfine aracılık edeceği düşünülmektedir.

Alüminyum bazlı adjuvanların uzun süreli kalıcılığı in vitro olarak çalışmak zordur çünkü hücre hatları sürekli olarak bölünür, bu nedenle her hücre bölünmesi, hücre içi birikmiş adjuvanı seyreltir ve hızlı bir şekilde adjuvan saptama sınırına ulaşır. Alüminyum adjuvanlar, lumogallion kullanılarak floresan olarak etiketlenebilir ve böylece fagositoz üzerine izlenebilir hale gelir. Son yıllarda alüminyum adjuvanların etki mekanizmasının anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Yeni sinyal yolları, sitokinler ve endojen tehlike sinyalleri keşfedilmiştir, ancak bu çeşitli, ancak aynı anda tetiklenen sinyallerin bağışıklık tepkilerini nasıl etkilediğini aydınlatmak için birçok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda öncelikle aluminyum tuzlarının hücre hatları üzerinde sitotoksik bir etki gösterip göstermediği ile ilgili MTT ve PI canlılık analizleri yapılmıştır. MTT canlılık analizi sonucu THP-1 hücre kültüründe AP'nin farklı derişimlerinde canlılıkta anlamlı düzeyde bir azalma görülmüştür (Şekil 4.1). PI canlılık analizi daha doğrulayıcı ve seçici bir analiz yöntemidir ve çalışmanın sonuçlarının kalitesini artırmak amacıyla uygulanmaktadır. PI canlılık analizinin sonuçlarına bakıldığında ise canlılıkta herhangi bir azalmanın olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak AH ve AP'nin kullanılan derişimlerinde THP-1 ve U937 hücre kültürlerinde herhangi bir sitotoksik etkinin olmadığı söylenebilir.

Çalışmamızda lumogallion kullanılarak yapılan histolojik boyama yöntemi, hücre içi alüminyum adjuvanların varlığı tespit edilmiştir. Her iki aluminyum tuzu ve iki farklı hücre hattında doza bağımlı olarak hücre içi alüminyum girişinin olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde Mile ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada lumogallionun, klinik aşılarda kullanılan iki alüminyum tuzu olan AlO(OH) ve AlPO4'ün üzerinde kuvvetli bir şekilde adsorbe edildiği gözlemlenmiştir (109). Yapılan başka bir çalışmada ise monositik T helper 1 (THP-1) hücre hattı alüminyum adjuvanının yalnızca hücre sitoplazmasında bulunduğu ortaya konmaktadır (110). Çalışmamızda AH tuzunun hücre içine giriş miktarının AP tuzuna kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.2).

Tez çalışmasında monosit hücrelerine alüminyum adjuvan uygulamasının akitvasyon ve matürasyon belirteçleri yönünden incelenmesi amacıyla CD11b, CD86 ve HLA-DR antikorlarını içeren immunfenotipleme çalışması yapılmıştır. İmmunfenotiplemede HLA-DR, T hücresi aktivasyonunun bir belirteci olarak kabul edilmektedir (111). CD11b, lökosit spesifik bir reseptördür ve monosit/makrofajlar, granülositler ve doğal öldürücü hücreler için bir maturasyon belirteci olarak kabul edilir (112). Makrofajlarda ifade edilen CD86, bellek efektör T hücreleridir (113).

THP-1 hücre hattında AH'nin farklı derişimlerinde CD11b maturasyon belirtecinde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde bir azalma görülmüştür. Aktivasyon belirteci olan HLA-DR belirtecinde THP-1 hücre hattında AH ve AP'nin farklı derişimlerinde anlamlı düzeyde bir artış görülmüştür. U937 hücre hattında ise herhangi bir artış veya azalış görülmemiştir. U937 hücre hattında CD86 aktivasyon belirtecinde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma görülmüştür.

AH ve AP adjuvanlarının vücutta protein ve metabolit düzeyinde meydana gelen değişikliklerin saptanması amacıyla in vitro hücre kültürü modeli olarak kullanılan U937 ve THP-1 hücre hatlarının alüminyum tuzunun tipine ve dozuna bağlı olarak değişen metabolomiks profiller GC-MS ile incelenmiştir. Bu analizler sonucunda 69 metabolit intraselüler matikste bulunurken, 101 metabolit ekstraseülerl matrikste tanımlanmıştır. LC-qTOF-MS ile yapılan proteomiks analizlerde ise toplamda 403 protein tanımlanmıştır.

U937 ve THP-1 hücreleri için elde edilen metabolomiks profilleri çoklu veri analizleri ile incelenmiştir. Bu amaçla ilk önce PCA analizleri gerçekleştirilerek veri setinde herhangi bir sistemik hata veya aykırı bir değer olup olmadığı araştırılmıştır (Şekil 4.9). Aykırı değerler uzaklaştırıldıktan sonra PLS-DA analizleri her iki hücre hattı için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.14-4.21). PLS-DA analizlerindeki farklılaşmaya neden olan metabolitlerin belirlenmesi için VIP (projede önemli değişken) grafiklerinden yararlanılmıştır.

İkili gruplara ait PLS-DA skor grafikleri ve grupların ayrılmasında etkili olan ilk 20 metabolit VIP grafikleri ile gösterilmiştir. PLS-DA modellerinin R^2 (modelin uyumluluğunu) ve Q^2 (tahmin kapasitesini) değerleri sırası ile THP-1 hücre tipi ve adjuvanına göre intraselüler metabolitler için; 0.972-0.512, U937 hücre tipi ve adjuvanına göre intraselüler metabolitler için 0.979- 0.549, THP ve

U937 hücre hattının adjuvan tipinin (1 mM) intraselüler metabolitler için 0.896-0.699, THP ve U937 hücre hattının adjuvan tipinin (0.125 mM) intraselüler metabolitler için 0.972-0.512, THP hücre hattının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen ekstraselüler metabolitler için 0.962-0.514, U937 hücre hattının adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen ekstraselüler metabolitler için 0.962-0.514, THP ve U937 hücre hattının adjuvan tipinin (1 mM) ekstraselüler metabolitler için 0.980- 0.879 olarak bulunmuştur. Bu değerlerin 0.5' den büyük olması elde edilen PLS-DA modellerinin geçerliliğini göstermektedir.

Değişen yolaklar incelendiğinde çıkarılacak en temel sonuç aslında metabolit düzeylerindeki farklılık açısından her iki adjuvan tipi ile elde edilen değişimlerin benzer olmasıdır. THP-1 hücre kültüründe her iki alüminyum adjuvanla en çok değişim saptanan yolak tek karbon metabolizmasıdır . U937 hücre kültüründe ise en çok değişim saptanan yolaklar tek karbon metabolizması, ABC taşıyıcı sistem, aminoaçil t-RNA biyosentez yolaklarıdır. Farklı hücre kültürlerinde aynı alüminyum tuzunun kullanıldığı yolaklarda da temel benzerlikler saptanmıştır (Şekil 4.31-4.34).

THP ve U937 hücre hattına ait adjuvan tipi ve derişimine bağlı olarak değişen metabolomik profiller incelendiğinde; temelde 2-hidroksi bütirik asit metaboliti en anlamlı değişim düzeyine sahip metabolit olarak saptanmıştır (Şekil 4.10-4.12). U937 hücre hattı için en yüksek anlamlılık düzeyine sahip metabolit olan 4-guanidinobutirik asit metaboliti ise THP-1 hücre kültürü açısından anlamlı bir metabolit olarak saptanamamıştır. 2-hidroksibutirik asit metaboliti glisin, serin, treonin metabolizması veya glutatyon metabolizmasındaki artışa bağlı olarak meydan çıkan bir metabolittir. Yolak analizinde bu yolaklarda anlamlı düzeyde bir artış olduğu sonucuna varılmıştır. Bu yolaklara ait diğer metabolitler incelendiğinde ise sadece treonin metabolitinin 2-hidroksibutirik asit metaboliti gibi arttığı görülmektedir. Serin metabolitinde ise THP-1 hücrelerinde herhangi bir artış veya azalış olmazken U937 hücrelerindeki serin metabolitinde artış görülmektedir.

Hücrelerin tek karbonlu birimler ürettiği birkaç yol vardır. Bu, glisinden serin metabolizmasını, glisin parçalama sistemini ve ayrıca kolin ve diğer amino asitlerin metabolizmasını içermektedir. Serin tek karbon metabolizmasında önemli aminoasitlerden biridir. Serin aminoasiti ekstrasular matrikste U937 hücre

hattındaki alüminyum tuzlarının farklı derişimlerinde anlamlı düzeyde artış göstermiştir (Tablo 4.6). Yolak analizlerinde serin, glisin treonin biyosentezinde anlamlı düzeyde artış görülmüştür. Bu yolağın aşırı aktivasyonuna bağlı olarak serin üretimindeki artış sonucu tek karbon metabolizmasının aktive olduğu düşünülebilir.

D-glukoz-6-fosfat metaboliti ekstraselüler matrikste U937 hücre hattında her iki alüminyum tuzunda ve derişimlerinde anlamlı düzeyde artış göstermektedir. Bu metabolit yolak analizi sonucu anlamlı düzeyde artış görülen glikoliz ve glinogenez yolağında etkili bir bileşiktir.

U937 hücrelerinde alüminyum tuzlarının farklı derişimlerinde suksinik asit metabolitinin ekstraselüler matrikste artış gösterip intaselular maktrikste azaldığı görülmektedir. Suksinik asit metaboliti yolak analizinde de anlamlı düzeyde artış olduğu görülen sitrat döngüsünün metabolitlerinden biridir. Sitrat, fagositik fonksiyonlarda ve sitokin üretiminde rol oynayan yağ asidi sentezi, membran biyosentezi ve prostaglandin sentezi için öncü olarak kullanılmaktadır (114). Ekstraselüler matriksteki sitrik asit artışının bağışıklık sistemindeki bazı bileşiklerin oluşumundan sorumlu olabileceği düşünülebilir.

İzolösin, bağışıklık organları, hücreler ve reaktif maddeler dahil olmak üzere bağışıklık sistemini geliştirebilir. Yakın tarihli çalışmalar, izolösinin, konakçının doğal ve adaptif bağışıklığını düzenleyebilen konakçı savunma peptidlerinin (yani, β-defensinler) ekspresyonunu indükleyebileceğini de göstermektedir (115). Yapılan çalışmada THP-1 hücresinde 1 mM derişimde izolosin metabolitinde anlamlı düzeyde bir artış görülmektedir. İzolosin; anlamlı düzeyde artış görülen valin, losin ve izolösin biyosentez yolağın aracılığıyla sentezlenen metabolitlerden biridir.

Proteomik analizlere ait değerler incelendiğinde; THP hücre kültüründe 1 mM derişimdeki AH adjuvanının ATP bağımlı RNA helikaz (DDX31) adlı proteinde anlamlı düzeyde artışa sebep olduğu görülmüştür (Şekil 4.5). Bu protein, transkripsiyonu, mRNA olgunlaşmasını ve mRNA dışa aktarımını ve çevirisini düzenleyen ATP'ye bağımlı bir RNA helikazdır. Bazı RNA virüsünün replikasyonunu eşzamanlı olarak modüle etmektedir ve doğuştan gelen bağışıklığı desteklemektedir.

THP hücre kültüründe 1 mM derişimde AH adjuvanının transmembran emp24 alanı içeren protein 2 (TMED-2) düzeyinde anlamlı düzeyde artışa sebep olduğu görülmektedir. TMED'ler proteinlerin taşınmasının önemli düzenleyicileri olarak bilinmektedirler. Yine aynı derişimdeki AH adjuvanında B hücresi reseptörü ile ilişkili protein 31 (BAP31) düzeyinde anlamlı bir artış olduğu görülmektedir (Şekil 4.24) (116). BAP31, endoplazmik retikulumun her yerde ifade edilen bir integral zar proteinidir (117). BAP31, nötrofillerde CD11b/CD18'in diğer hücresel bileşenlere taşınmasında rol alır. BAP31, bağışıklık sisteminde hayati bir rol oynar. MHCI molekülleri, lenfosit tanıma ve antijen sunumundan sorumlu bir dizi hücre yüzeyi molekülüdür. MHC-I moleküllerinin peptidler tarafından yüklenmesi ER içinde gerçekleşir. MHC moleküllerinin ER'den taşınması dışında, T hücre antijen reseptörünün (TCR) olgunlaşması ve aktivasyonunda rol oynar (116).

Protein taşıma proteini Sec61 alt birim beta (SEC61) ER zarının protein translokasyon aparatının merkezi bileşenidir. THP hücre kültüründe 1 mM derişimde AP adjuvanının SEC61 proteinini anlamlı düzeyde artırdığı görülmüştür (Şekil 4.24). Aynı derişimdeki AP adjuvanının yolak analizleri incelendiğinde ER ile alakalı yolağı da anlamlı düzeyde aktive ettiği görülmektedir.

5'-deoxy-5'-(methylthio)adenosine metaboliti, metiyonin sentezinde rol oynayan metabolitlerden biridir. Yolak analizine göre metiyonin-sistein metabolizmasında anlamlı düzeyde bir değişiklik olduğu saptanmıştır. U937 hücresinin yolak analizi ile ilgli metabolitlerine bakıldığında metiyonin metabolitinde anlamlı düzeyde bri azalma olduğu görülmüştür (Şekil 4.10). Bu durumda metiyonin-sistein metabolizmasındaki anlamlı değişikliğin azalma yönünde olduğu söylenebilir. Ayrıca adenozin metabolitinin de U937 hücrelerinde anlamlı düzeyde azaldığı görülmektedir. Bu metabolitin sentezinde ara ürün olarak ortaya çıkan adenosilhomosistein metabolitindeki anlamlı düzeydeki azalma adenozin seviyesindeki düşüşten kaynaklığı olduğu düşünülebilir.

Yapılan bir çalışmada D-glutamik asit ve L-glutamik asit kombinasyonunda oluşan bir bileşik alum ile birleştirilerek farelerde adjuvan olarak kullanılmıştır. Bu modelin antijen iletimini ve antijene özgü immünojenisiteyi arttırdığı sonucuna varlmıştır. Ayrıca antikor üretimini, sitotoksik T lenfosit aktivitesini ve antikora bağlı hücresel sitotoksisiteyi büyük ölçüde artırdığı görülmüştür (118). Yapılan

çalışmada L-glutamik asitin her iki hücre hattında anlamlı düzeyde arttığı görülmektedir.

Yapılan tez çalışmasıyla alüminyum adjuvan tuzlarına ve THP-1 ve U937 hücre kültürü tiplerine bağlı olarak birçok metabolit ve proteinde anlamlı düzeyde değişiklikler saptanmıştır. Bu değişiklikler hücre tiplerine göre artma veya azalma eğiliminde olmak üzere değişkenlik göstermektedir. Özellikle alüminyum adjuvanların muhtemel etki mekanizmalarıyla paralel olarak immün sistem endojen bileşiklerinde ekstraselüler ve intraselüler düzeyde artışlar görülmüştür (Şekil 4.24, 4.26). Bazı metabolitler ise ekstraselüler düzeyde artış gösterirken intraselüler düzeyde azalma eğilim göstermiştir (süksinik asit gibi).

Vücutta herhangi bir eksojen adjuvan varlığı olmaksızın bazı durumlarda immün sistemi harekete geçiren (organ nakli, tümör vs) durumlar yaşanmaktadır. Bu durum göz önüne alındığında vücutta mevcut şekilde bulunan ve endojen adjuvan etki gösterebilen metabolit ve proteinlerin varlığı düşünülebilir. Yapılan tez çalışmasında iki farklı hücre hattı ve iki farklı alüminyum tuzunun farklı derişimleri kullanılmıştır ve hücrelerde alüminyum tipine ve derişimine bağlı olarak metabolomiks ve proteomiks değişikikler meydana gelmiştir. Bunun sonucunda bu çalışmanın aluminyum tuzlarının etkisiyle artan veya azalan, alüminyum tuzlarının etkisini güçlendirebilecek veya taklit edebilecek benzer alternatif bir endojen metabolitin veya proteinin bulunabilmesi ve alüminyum adjuvalarının etki mekanizmasının aydınlatılması ile ilgili bilgilerin bulunabilmesine öncülük edebileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez kapsamında omik temelli araştırma tekniklerinin mekanizma bazlı çalışmalarda etkilenen yolakların ortaya konulması açısından yüksek potansiyele sahip olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca, alüminyum adjuvanlarının hücre düzeyinde sebep olduğu değişen ağların, süreçlerin ve yolakların belirlenmesine dayanarak elde edilen bilgilerin, yeni adjuvan metabolitler ve proteinlerin tanımlanması açısından yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Fan J, Jin S, Gilmartin L, Toth I, Hussein WM, Stephenson RJ. Advances in Infectious Disease Vaccine Adjuvants. Vaccines. 2022;10(7).
2. Adamczyk-Poplawska M, Markowicz S, Jagusztyn-Krynicka EK. Proteomics for development of vaccine. J Proteomics. 2011;74(12):2596–616.
3. HogenEsch H, O'Hagan DT, Fox CB. Optimizing the utilization of aluminum adjuvants in vaccines: you might just get what you want. npj Vaccines. 2018;3(1):1–11.
4. Yurdakök K, İnce T. Aşı adjuvanları. 2008;225–39.
5. Eratalay A, Öner F. Aşılar ve Aşı Adjuvanları. 2001;25:21–33.
6. Martiñón S, Cisneros A, Villicaña S, Hernández-Miramontes R, Mixcoha E, Calderón-Vargas P. Chemical and immunological characteristics of aluminum-based, oil-water emulsion, and bacterial-origin adjuvants. J Immunol Res. 2019;2019.
7. Aslam B, Basit M, Nisar MA, Khurshid M, Rasool MH. Proteomics: Technologies and their applications. J Chromatogr Sci. 2017;55(2):182–96.
8. Circelli L, Petrizzo A, Tagliamonte M, Tornesello ML, Buonaguro FM, Buonaguro L. Systems biology approach for cancer vaccine development and evaluation. Vaccines. 2015;3(3):544–55.
9. Korke R, Rink A, Seow TK, Chung MCM, Beattie CW, Hu WS. Genomic and proteomic perspectives in cell culture engineering. J Biotechnol. 2002;94(1):73–92.
10. Noguera-Solano R, Ruiz-Gutierrez R, Rodriguez-Caso JM. Genome: Twisting stories with DNA. Endeavour [Internet]. 2013;37(4):213–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.endeavour.2013.05.003
11. Verhoeckx K, Cotter P, López-Expósito I, Kleiveland C, Lea T, Mackie A, et al. The impact of food bioactives on health: In vitro and Ex Vivo models. Impact Food Bioact Heal Vitr Ex Vivo Model. 2015;1–327.
12. Courtney D. Information processing. Hospitals (Lond). 1971;45(7):97-99 passim.
13. Gerstein MB, Bruce C, Rozowsky JS, Zheng D, Du J, Korbel JO, et al. What is a gene, post-ENCODE? History and updated definition. Genome Res. 2007;17(6):669–81.
14. Susman M. Genes: Definition and Structure. Encycl Life Sci. 2005;(1):1–7.
15. National Institute of General Medical Sciences. National Institute of General Medical Sciences Publicatoins: The New Genetics. 2010;(10–662):98.
16. Li S, Sullivan NL, Rouphael N, Yu T, Banton S, Maddur MS, et al. Metabolic Phenotypes of Response to Vaccination in Humans. Cell. 2017;169(5):862-877.e17.

17. Stencel A, Crespi B. What Is a Genome? Mol Ecol. 2013;22(22):3437–43.

18. Karahalil B. Overview of Systems Biology and Omics Technologies. Curr Med Chem. 2016;23(37):4221–30.

19. Debnath M, Prasad GBKS, Bisen PS. Molecular diagnostics: Promises and possibilities. Mol Diagnostics Promises Possibilities. 2005;(July 2015):1–520.

20. B A, A J, J L. Molecular Biology of the Cell. 4th ed. Garland Science; 2002.

21. Özel Demiralp FD, İğci N, Peker S, Ayhan B. Temel Proteomik Stratejiler. 2014. 122 p.

22. Littlechild JA. Protein structure and function. Introduction to Biological and Small Molecule Drug Research and Development: Theory and Case Studies. Elsevier Ltd; 2013. 57–79 p.

23. Marin F, Luquet G, Marie B, Medakovic D. Molluscan Shell Proteins: Primary Structure, Origin, and Evolution. Curr Top Dev Biol. 2007;80(07):209–76.

24. Gromiha M. Protein Bioinformatic. Academic Press. 2010. 1–27 p.

25. Çakmak E, Selvi İ. Derin Öğrenme (CNN, RNN, LSTM, GRU) Kullanarak Protein İkincil Yapı Tahmini. Acta Infologica. 2022;0(0):0–0.

26. Jisna VA, Jayaraj PB. Protein Structure Prediction: Conventional and Deep Learning Perspectives. Protein J. 2021;40(4):522–44.

27. De Angelis M, Calasso M. Molecular Biology: Proteomics. In: Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition. 2014. p. 793–802.

28. Haldun BAL S, Budak F, Üniversitesi Tıp Fakültesi U, DURUSOY Kan Merkezi R, Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü U, Anabilim Dalı M, et al. Genomik, Proteomik Kavramlarına Genel Bakış ve Uygulama Alanları. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg. 2013;39(1):65–9.

29. Nenni M, Celebier M, Suslu I. Proteomik Çalışmalara Genel Bakış. Hacettepe Univ J Fac Pharm. 2020;40(1):48–58.

30. Teunissen CE, Verheul C, Willemse EAJ. The use of cerebrospinal fluid in biomarker studies. 1st ed. Vol. 146, Handbook of Clinical Neurology. Elsevier B.V.; 2018. 3–20 p.

31. Segers K, Declerck S, Mangelings D, Heyden Y Vander, Eeckhaut A Van. Analytical techniques for metabolomic studies: A review. Bioanalysis. 2019;11(24):2297–318.

32. Kaplan O, Çelebier M. Past, present and future of metabolomic studies. Turkiye Klin J Med Sci. 2020;40(3):366–74.

33. Horgan RP, Kenny LC. ‘Omic’ technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. Obstet Gynaecol. 2011;13(3):189–95.

34. Sun Y V., Hu YJ. Integrative Analysis of Multi-omics Data for Discovery and Functional Studies of Complex Human Diseases. Vol. 93, Advances in Genetics. Elsevier Ltd; 2016. 147–190 p.

35. Nalbantoglu S. Metabolomics: Basic Principles and Strategies. In: Molecular Medicine. IntechOpen; 2019.

36. Kaur S. Genomics. In: Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition. 2013. p. 310–2.

37. Özel Demiralp D, İgci N, Peker S, Ayhan B. Basic Proteomic Strategies. Ankara Üniversitesi Yayınevi. 2014.

38. Govorun VM, Archakov AI. Review: Proteomic technologies in modern biomedical science. Biokhimiya. 2002;67(10):1341–59.

39. Yarmush ML, Jayaraman A. Advances in proteomic technologies. Annu Rev Biomed Eng. 2002;4:349–73.

40. Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. Nature. 2000;405(6788):837–46.

41. Yu LR, Stewart NA, Veenstra TD. Proteomics. The Deciphering of the Functional Genome. Essentials Genomic Pers Med. 2010;89–96.

42. Proteomics Methods.

43. Reinders J, Sickmann A. Proteomic Methods and Protocols. Human Press. 2009.

44. Neverova I, Van Eyk JE. Role of chromatographic techniques in proteomic analysis. J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci. 2005;815(1–2):51–63.

45. Braitbard O, Bishara-Shieban J, Glickstein H, Kott-Gutkowski M, Pace U, Rund DG, et al. An ELISA-based procedure for assaying proteins in digests of human leukocytes and cell lines, using specifically selected peptides and appropriate antibodies. Proteome Sci. 2006;4:1–12.

46. Mann M. Can Proteomics Retire the Western Blot? J Proteome Res. 2008;7(8):3065.

47. Abdallah C, Dumas-Gaudot E, Renaut J, Sergeant K. Gel-based and gel-free quantitative proteomics approaches at a glance. Int J Plant Genomics. 2012;2012.

48. Han X, Aslanian A. Mass Spectrometry for Proteomics. Curr Opin Chem Biol. 2008;12(5):483–90.

49. Nadler WM, Waidelich D, Kerner A, Hanke S, Berg R, Trumpp A, et al. MALDI versus ESI: The Impact of the Ion Source on Peptide Identification. J Proteome Res. 2017;16(3):1207–15.

50. Bİberoglu G, Klin T. KÜTLE SPEKTROMETRES VE TIP ALANINDA KULLANIMI. 2003;23:491–9.

51. Liebler DC. Introduction to Proteomics. 2002.

52. Korfmacher WA. Foundation review: Principles and applications of LC-MS in new drug discovery. Drug Discov Today. 2005;10(20):1357–67.

53. Trinh H V., Grossmann J, Gehrig P, Roschitzki B, Schlapbach R, Greber UF, et al. iTRAQ-Based and Label-Free Proteomics Approaches for Studies of Human Adenovirus Infections. Int J Proteomics. 2013;2013(Cid):1–16.

54. Wiese S, Reidegeld KA, Meyer HE, Warscheid B. Protein labeling by iTRAQ: A new tool for quantitative mass spectrometry in proteome research. Proteomics. 2007;7(3):340–50.

55. Díaz C, Pérez Del Palacio J, Valero-Guillén PL, Mena García P, Pérez I, Vicente F, et al. Comparative Metabolomics between Mycobacterium tuberculosis and the MTBVAC Vaccine Candidate. ACS Infect Dis. 2019;5(8):1317–26.

56. Diray-Arce J, Conti MG, Petrova B, Kanarek N, Angelidou A, Levy O. Integrative metabolomics to identify molecular signatures of responses to vaccines and infections. Metabolites. 2020;10(12):1–18.

57. Manchester M, Anand A. Metabolomics: Strategies to Define the Role of Metabolism in Virus Infection and Pathogenesis. 1st ed. Vol. 98, Advances in Virus Research. Elsevier Inc.; 2017. 57–81 p.

58. Zhang A, Sun H, Wang P, Han Y, Wang X. Modern analytical techniques in metabolomics analysis. Analyst. 2012;137(2):293–300.

59. Çelebier M. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi Archives Medical Review Journal Metabolomik Çalışmalarda Yazılım ve Veribankası Desteği: LC-MS Verilerinin Değerlendirilmesinde XCMS Kullanımı Software and Database Usage on Metabolomic Studies: Using XCMS on LC-MS Data Analysi. Arch Med Rev J. 2014;23(2):168–85.

60. Patti G, Yanes O, Siuzdak G. Metabolomics: the apogee of the omic triology Gary. Nat Rev Mol Cell Biol. 2013;13(4):263–9.

61. Tan SZ, Begley P, Mullard G, Hollywood KA, Bishop PN. Introduction to metabolomics and its applications in ophthalmology. Eye. 2016;30(6):773–83.

62. David A, Rostkowski P. Analytical techniques in metabolomics. Environmental Metabolomics. Elsevier Inc.; 2020. 35–64 p.

63. Munjal Y, Tonk RK, Sharma R. Analytical Techniques Used in Metabolomics: A Review. Syst Rev Pharm. 2022;13(5):550–6.

64. Fiehn O. Metabolomics by gas chromatography-mass spectrometry: Combined targeted and untargeted profiling. Vol. 2016, Current Protocols in Molecular Biology. 2016. 1–32 p.

65. Ramautar R, Demirci A, Jong GJ d. Capillary electrophoresis in metabolomics. TrAC - Trends Anal Chem. 2006;25(5):455–66.

66. Nagana Gowda GA, Raftery D. NMR-Based Metabolomics. Vol. 1280, Advances in Experimental Medicine and Biology. 2021. 19–37 p.

67. Zeng HL, Chen D, Yan J, Yang Q, Han QQ, Li SS, et al. Proteomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid in critical COVID-19 patients. FEBS J. 2020;0–3.

68. Alseekh S, Aharoni A, Brotman Y, Contrepois K, D'Auria J, Ewald J, et al. Mass spectrometry-based metabolomics: a guide for annotation, quantification and best reporting practices. Nat Methods. 2021;18(7):747–56.

69. Nagana Gowda GA, Djukovic D. Overview of mass spectrometry-based metabolomics: Opportunities and challenges. In: Methods in Molecular Biology. 2014. p. 3–12.

70. Gomez-Casati DF, Zanor MI, Busi M V. Metabolomics in plants and humans: Applications in the prevention and diagnosis of diseases. Biomed Res Int. 2013;2013.

71. Suhre K, Meisinger C, Döring A, Altmaier E, Belcredi P, Gieger C, et al. Metabolic footprint of diabetes: A multiplatform metabolomics study in an epidemiological setting. PLoS One. 2010;5(11).

72. Yang K, Xia B, Wang W, Cheng J, Yin M, Xie H, et al. A Comprehensive Analysis of Metabolomics and Transcriptomics in Cervical Cancer. Sci Rep. 2017;7(January):1–11.

73. Bartlett BL, Pellicane AJ, Tyring SK. Vaccine immunology. 2009.

74. Baylor NW, Egan W, Richman P. Aluminum salts in vaccines - US perspective. Vaccine. 2002;20(SUPPL. 3):18–23.

75. He P, Zou Y, Hu Z. Advances in aluminum hydroxide-based adjuvant research and its mechanism. Hum Vaccines Immunother. 2015;11(2):477–88.

76. Gupta RK, Rost BE, Relyveld E, Siber GR. Adjuvant properties of aluminum and calcium compounds. Pharm Biotechnol. 1995;6:229–48.

77. Kooijman S, Vrieling H, Verhagen L, de Ridder J, de Haan A, van Riet E, et al. Aluminum Hydroxide And Aluminum Phosphate Adjuvants Elicit A Different Innate Immune Response. J Pharm Sci. 2022 Apr 1;111(4):982–90.

78. Gül B, Yurdakök-Dikmen B. Aşı Adjuvanları ve İstenmeyen Etkileri. Vet Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni. 2019;10(2):91–10.

79. Kool M, Fierens K, Lambrecht BN. Alum adjuvant: Some of the tricks of the oldest adjuvant. J Med Microbiol. 2012;61(PART7):927–34.

80. Pulendran B, S. Arunachalam P, O'Hagan DT. Emerging concepts in the science of vaccine adjuvants. Nat Rev Drug Discov. 2021;20(6):454–75.

81. Liang F, Loré K. Local innate immune responses in the vaccine adjuvant-injected muscle. Clin Transl Immunol. 2016;5(4).

82. Shardlow E, Mold M, Exley C. The interaction of aluminium-based adjuvants with THP-1 macrophages in vitro: Implications for cellular survival and systemic translocation. J Inorg Biochem. 2020;203:110915.

83. McKee A, Munks M, MacLeod M, Fleenor C, Rooijen N. Alum induces innate immune responses through macrophage and mast cell sensors, but

these are not required for alum to act as an adjuvant for specific immunity. j İmmunol. 2009;183(7):4403–14.

84. Hutchison S, Benson RA, Gibson VB, Pollock AH, Garside P, Brewer JM. Antigen depot is not required for alum adjuvanticity. FASEB J. 2012;26(3):1272–9.

85. Braga TT, Forni MF, Correa-Costa M, Ramos RN, Barbuto JA, Branco P, et al. Soluble Uric Acid Activates the NLRP3 Inflammasome. Sci Rep. 2017;7(January):1–14.

86. Marichal T, Ohata K, Bedoret D, Mesnil C, Sabatel C, Kobiyama K, et al. DNA released from dying host cells mediates aluminum adjuvant activity. Nat Med. 2011;17(8):996–1002.

87. Lu F, HogenEsch H. Kinetics of the inflammatory response following intramuscular injection of aluminum adjuvant. Vaccine. 2013;31(37):3979–86.

88. Sahin C, Aricioglu F. A Novel Aspect for Depression and Cytokine Hypothesis: \NLRP3 Inflammasome\. J Marmara Univ Inst Heal Sci. 2013;3(2):65.

89. Kwissa M, Kasturi SP, Pulendran B. Adjuvan bilimi. Expert Rev Vaccines TÜRKÇE BASKI. 2007;1(3):160–73.

90. Gavin AL, Hoebe K, Duong B, Ota T, Martin C, Beutler B, et al. Adjuvant-enhanced antibody responses occur without Toll-like receptor signaling *. Science (80-). 2006;314(5807):1936–8.

91. Shi S, Zhu H, Xia X, Liang Z, Ma X, Sun B. Vaccine adjuvants: Understanding the structure and mechanism of adjuvanticity. Vaccine. 2019;37(24):3167–78.

92. Oleszycka E, Lavelle EC. Immunomodulatory properties of the vaccine adjuvant alum. Curr Opin Immunol. 2014;28(1):1–5.

93. Galassie AC, Link AJ. Proteomic contributions to our understanding of vaccine and immune responses. Proteomics - Clin Appl. 2015;9(11–12):972–89.

94. Donnarumma D, Faleri A, Costantino P, Rappuoli R, Norais N. The role of structural proteomics in vaccine development: Recent advances and future prospects. Expert Rev Proteomics. 2016;13(1):55–68.

95. Fulton KM, Twine SM. Immunoproteomics: Current technology and applications. Vol. 1061, Methods in Molecular Biology. 2013. 21–57 p.

96. Cotugno N, Ruggiero A, Santilli V, Manno EC, Rocca S, Zicari S, et al. OMIC Technologies and vaccine development: From the identification of vulnerable individuals to the formulation of invulnerable vaccines. J Immunol Res. 2019;2019:1–10.

97. Nguyen CTQ, Shetty V, Maresso AW. Global metabolomic analysis of a mammalian host infected with Bacillus anthracis. Infect Immun. 2015;83(12):4811–25.

98. Yang F, Yan S, Wang F, He Y, Guo Y, Zhou Q, et al. DNA immunization perturbs lipid metabolites and increases risk of atherogenesis. J Proteome Res. 2008;7(2):741–8.

99. McClenathan B, Stewart D, Spooner C, Pathmasiri W, Burgess J, McRitchie M, et al. Metabolites as Biomarkers of Adverse Reactions Following Vaccination: A Pilot Study using Nuclear Magnetic Resonance Metabolomics. Vaccine. 2017;35(9):1238–45.

100. Olafsdottir TA, Lindqvist M, Nookaew I, Andersen P, Maertzdorf J, Persson J, et al. Comparative systems analyses reveal molecular signatures of clinically tested vaccine adjuvants. Sci Rep. 2016;6(December):1–14.

101. Schutsky K, Portocarrero C, Hooper DC, Dietzschold B, Faber M. Limited brain metabolism changes differentiate between the progression and clearance of rabies virus. PLoS One. 2014;9(4).

102. Taylor MW. Viruses and man: A history of interactions. Viruses Man A Hist Interact. 2015;1–430.

103. Koçanci FG, Ad B, Ad B. Üç Boyutlu Hücre Kültürü Modelleri ve Uygulamaları. 2019;8–14.

104. Eylül H, Duruel E, Çağan NS, Işik S, Esin F. Hücre Kültürlerine Genel Bakış. SÜ FenFakültesi FeDergisi. 2021;47(2):136–49.

105. Ergen HA, Ataş MN, Gelmez MY, Deniz G, Hakan MT, Yaylım İ. “Moleküler Tıp” Özel Sayısı Sayı. Vol. 9, ÜCD Güncelleme Serileri. Ürolojik Cerrahi Derneği; 2020. 21–24 p.

106. Rubio AP, Eiros JM. Cell culture-derived flu vaccine: Present and future. Hum Vaccines Immunother. 2018;14(8):1874–82.

107. la Luz K De. Metabolomics and Mammalian Cell Culture. Metabolomics. 2012;(May).

108. Heffner K, Kaas CS, Kumar A, Baycin-Hizal D, Betenbaugh M. Proteomics in Cell Culture: From Genomics to Combined ‘Omics for Cell Line Engineering and Bioprocess Development. In Springer, Cham; 2015. p. 591–614.

109. Mile I, Svensson A, Darabi A, Mold M, Siesjö P, Eriksson H. Al adjuvants can be tracked in viable cells by lumogallion staining. J Immunol Methods [Internet]. 2015;422(201):87–94. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2015.04.008

110. Nies I, Hidalgo K, Bondy SC, Campbell A. Distinctive cellular response to aluminum based adjuvants. Environ Toxicol Pharmacol. 2020;78(January).

111. Saraiva DP, Jacinto A, Borralho P, Braga S, Cabral MG. HLA-DR in cytotoxic T lymphocytes predicts breast cancer patients’ response to neoadjuvant chemotherapy. Front Immunol. 2018;9(NOV):1–14.

112. Rhein P, Mitlohner R, Basso G, Gaipa G, Dworzak MN, Kirschner-Schwabe R, et al. CD11b is a therapy resistance- and minimal residual disease-specific

marker in precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2010;115(18):3763–71.

113. Wang L xun, Zhang S xi, Wu H juan, Rong X lu, Guo J. M2b macrophage polarization and its roles in diseases. J Leukoc Biol. 2019;106(2):345–58.

114. Williams NC, O'Neill LAJ. A role for the krebs cycle intermediate citrate in metabolic reprogramming in innate immunity and inflammation. Front Immunol. 2018;9(FEB):1–11.

115. Gu C, Xiangbing M, Chen D. Isoleucine Plays an Important Role for Maintaining Immune Function. Curr Protein Pept Sci. 2019;20(7):644–51.

116. Namusamba M, Li Z, Qhi Z. Biological roles of the B cell receptor-associated protein 31: Functional Implication in Cance. Mol Biol Rep. 2021;48(2021):773–86.

117. Jia CC, Li G, Jiang R, Liu X, Yuan Q, Le W, et al. B-Cell Receptor-Associated Protein 31 Negatively Regulates the Expression of Monoamine Oxidase A Via R1. Front Mol Biosci. 2020;7(April):1–12.

118. Ikeda M, Akagi T, Yasuoka T, Nagao M, Akashi M. Characterization and analytical development for amphiphilic poly(γ-glutamic acid) as raw material of nanoparticle adjuvants. J Pharm Biomed Anal. 2018;150:460–8.

8. EKLER

EK-1: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

Tez son

ORIGINALITY REPORT

17%	16%	3%	3%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	www.biorxiv.org Internet Source	5%
2	www.cell.com Internet Source	3%
3	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet Source	1%
4	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	1%
5	Submitted to Inonu University Student Paper	1%
6	publikationen.ub.uni-frankfurt.de Internet Source	1%
7	Submitted to Hacettepe University Student Paper	1%
8	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet Source	1%
9	gut.bmj.com Internet Source	<1%

EK-2: Dijital Makbuz

turnitin

Digital Receipt

This receipt acknowledges that Turnitin received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author:	Fatma Kabakoğlu
Assignment title:	Fatma Pre- tez
Submission title:	Tez son
File name:	FATMAKABAKO_LU_TEZ24012023-_2.docx
File size:	7.91M
Page count:	175
Word count:	46,518
Character count:	262,566
Submission date:	01-Feb-2023 10:56AM (UTC+0300)
Submission ID:	2003956868

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK ENSTİTÜSÜ

FARKLI TİPTEKİ ALUMİNYUM ARŞUYANLARIN MONOSİTİK HÜCRELERDE OLUŞTURDUĞU ETKİLERİN PROTEOMİKS VE METABOLOMİKS İŞIĞINDA İNCELENMESİ

Ecz. Fatma KABAKOĞLU

Ana Çalışmalar Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA
2021

9. ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad: Fatma SEFEROĞLU

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2019
Lise	Hüseyin Özbuğday Anadolu Lisesi	2013

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer	Görev
2019-2020	Okur Eczanesi	Yardımcı Eczacılık
2020-2021	Afyonkarahisar Emirdağ Devlet Hastanesi	Kamu Eczacısı
2021- Halen	Kabakoğlu Eczanesi	Sahip/Mesul Müdür

YABANCI DİL

İngilizce

Arapça