

T.C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİK VERİ BİLİMİ ANABİLİM DALI

LOKALİZE PROSTAT KANSERİNDE EPİGENETİK
BİYOBELİRTEÇ META ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MELİS TUNCER

OCAK 2022

T.C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİK VERİ BİLİMİ ANABİLİM DALI

LOKALİZE PROSTAT KANSERİNDE EPİGENETİK
BİYOBELİRTEÇ META ANALİZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MELİS TUNCER
DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ FİLİZ KISAAYAK ÇOLLAK
EŞ DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ M. ERKAN KARABEKMEZ

OCAK 2022

ONAY SAYFASI

MELİS TUNCER tarafından hazırlanan “Lokalize Prostat Kanserinde Epigenetik Biyobelirteç Meta Analizi” başlıklı bu yüksek lisans tezi, Biyolojik Veri Bilimi Programında hazırlanmış ve jürimiz tarafından kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

İMZA

Tez Danışmanı:

Dr. Öğr. Üyesi Filiz Kısaayak Çollak

Kurumu: İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Eş Danışmanı:

Dr. Öğr. Üyesi M. Erkan Karabekmez

Kurumu: İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Üyeler:

Prof. Dr. Hasan Güçlü

Kurumu: İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Ümmühan Demir

Kurumu: İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Beste Turanlı

Kurumu: Marmara Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 28 / 01 / 2022

ETİK BEYAN

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım yönergesine göre hazırladığım Yüksek Lisans tezinin tamamen kendim tarafından yazılmış özgün bir çalışma olduğunu, yararlandığım kaynaklara ve her alıntıya bilimsel değerlere uygun biçimde atıfta bulunduğumu, akademik ve etik kuralları gözeterek çalıştığımı ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

imza

Melis TUNCER

TEŞEKKÜR

Disiplinler arası Biyolojik Veri Bilimi programı yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini tez çalışmam süresince hiçbir zaman esirgemeyen, tezin yürütmesinde her koşulda imkan sağlayan, bana destek olarak akademik motivasyonumu daima yükselten, bu süreci sabırla destekledikleri ve bilgi gelişimime katkı sağladıkları için, tez süresince sonsuz destekleri için Dr. Öğr. Üyesi Filiz Kısaayak Çollak ve Dr. Öğr. Üyesi M. Erkan Karabekmez hocalarıma,

Bu yoğun tez süresince her daim yanımda olarak bana gösterdikleri anlayış, sabır ve manevi desteklerini esirgemeyen canım ailem, sevgili eşim Orhan Batın Tuncer'e, babam Engin Tunçer'e, annem Sibel Tunçer'e ve abim Eray Tunçer'e, yanımda olan güzel anlar paylaştığım canım arkadaşlarıma sonsuz ve içten teşekkürlerimi sunarım.

Ocak, 2022

Melis TUNCER

ÖZET
PROSTAT KANSERİNDE EPIGENETİK BİYOBELİRTEÇ
META ANALİZİ

Tuncer, Melis

Yüksek lisans Tezi, Biyolojik Veri Bilimi Programı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Filiz Kısaayak Çollak

Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi M. Erkan Karabekmez

Prostat kanseri, prostatın anormal büyümesi sonucu histoloji ve anatomide ciddi değişimlerle tanımlanır ve erkeklerde en sık görülen ikinci kanser türüdür. Prostat kanserinin teşhisinde kullanılan taramalar erken evrelerde yeterli duyarlılığa sahip değildir. Hastalıkta geç tanı ve teşhis, kanserin ileri seviyelere ulaşmasına ve iyileşme sürecinin uzamasına neden olmaktadır. Prostat kanserinin erken evrelerinde mevcut taramalara karşılık daha etkin biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışmasında, lokalize prostat kanseri içeren yayınlanmış mikrodizin çalışmalarındaki veriler kullanılmış ve tümöre komşu normal dokular ile kıyaslanarak ifade değişimleri analiz edilmiştir. Prostat kanseri doku örneklerinde değişen miRNA ve metilasyon ifadelerinin kanserde değişen gen ifadeleri ile ilişkisi gözlemlenmiştir. İstatistiksel olarak prostat kanserinde ifadesi anlamlı ($q < 0,05$) değişen miRNA ve hedef genlerinin doğrulanması eş zamanlı PZR ile gerçekleştirilmiştir. Meta analiz sonucunda lokalize prostat kanserinde, normal dokulara kıyasla miR-7-5p'nin ifadesinin yukarı yönde düzenlendiği ve prostat kanser doku verilerinde ifadesi yukarı değişen CAMKK2, TMEM97 ve ifadesi aşağı değişen CLIP1 genleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, CAMKK2, CLIP1, TMEM97 genlerinin prostat kanserinde hipermetile durumda olduğu bildirilmiştir. Doğrulama için eş zamanlı PZR, 22RV1 prostat kanseri hücre dizisi ve normal prostat hücre dizisi RWPE1 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Eş zamanlı PZR sonucunda miR-7-5p, CAMKK2, CLIP1 ve TMEM97 ifadelerinde anlamlı ($p < 0.05$) bir değişiklik görülmedi.

Araştırmada elde edilen meta analiz sonuçları, prostat kanserinin erken tanısının hastalığın ilerlemesinde önemli olmasından dolayı lokalize prostat kanserinde değişen anlatımların kritik olabileceğini ve lokalize prostat kanseri doku verilerinde ifadesi

değişen genleri hedef alan miRNA ve ifade seviyelerini etkileyen metilasyonun prostat kanserinde biyobelirteç potansiyeli olabileceğini göstermektedir.

Ocak, 2022. 96 sayfa.

Anahtar Kelimeler: Prostat Kanseri, Epigenetik, Gen Anlatımı, Biyobelirteç

ABSTRACT
EPIGENETIC BIOMARKER META ANALYSIS IN LOCALIZED
PROSTATE CANCER

Tuncer, Melis

Master's Thesis, Biological Data Science Program

Supervisor: Dr.Öğr. Üyesi Filiz Kısaayak Çollak

Co-Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi M. Erkan Karabekmez

Changes in anatomy and histology of prostate as a result of uncontrolled enlargement of the prostate cause prostate cancer. Prostate cancer is the most common type of cancer in men and ranks second in cancer-related deaths. Current screenings used in the diagnosis of prostate cancer do not have sufficient sensitivity in the early stages. Late diagnosis and diagnosis in the disease cause the cancer to reach advanced levels and prolong the recovery process. In the early stages of prostate cancer, more effective biomarkers are needed compared to current screenings.

In this thesis study, using the published microarray data from the database, different expression of mRNA, miRNA and methylation states between localized prostate tissue and prostate tissues adjacent to the tumor (benign prostatic hyperplasia or normal) were determined as a result of meta-analysis. The association of altered miRNA and methylation expressions with altered gene expressions was observed in prostate cancer samples. Statistically significant ($q < 0.05$) changes in expression of miRNA and target genes in prostate cancer were confirmed by real-time PCR. The results of the meta analysis showed that miRNA, mRNA and methylation expressions were significantly altered in localized prostate cancer compared to prostate tissues adjacent to the tumor (benign prostatic hyperplasia or normal). miR-7-5p is upregulated in localized prostate cancer, which is significantly upregulated compared to normal tissues, and is associated with upregulated CAMKK2, TMEM97, and downregulated CLIP1 genes in prostate cancer tissue data. However, CAMKK2, CLIP1, TMEM97 genes have been reported to be hypermethylated in prostate cancer. Real-time PCR for validation was performed using the prostate cancer cell line 22RV1 and the normal prostate cell line

RWPE1. Result of real-time PCR was observed no significant ($p < 0.05$) change in the expressions of miR-7-5p, CAMKK2, CLIP1 and TMEM97.

Meta analysis results shows that miRNA targeting genes with altered expression in localized prostate cancer tissue data and methylation affecting expression levels may have prostate cancer biomarker potential.

January, 2022. 96 page.

Keywords: Prostate Cancer, Epigenetics, Gene Expression, Biomarker

İÇİNDEKİLER TABLOSU

ETİK BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	v
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
KISALTMALAR	xiii
GİRİŞ	1
BÖLÜM I.....	3
1. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI.....	3
1.1 Prostat Bezi	3
1.2 Prostat Kanseri	4
1.2.1 Prostat tümörü oluşumunu ve ilerlemesini sağlayan moleküler süreçler .	
.....	5
1.2.2 Androjen prostat kanseri ilişkisi	7
1.2.3 Prostat kanserinde mevcut tanılar	8
1.2.4 Prostat kanserinde epigenetik mekanizma	9
1.3 DNA Metilasyonu	10
1.4 mikroRNA ve Biyogenezi	11
1.4.1 miRNA’ların etki mekanizması	12
1.4.2 miRNA kanser ilişkisi.....	13
1.4.3 miRBase veri tabanı ve hedef gen platformları	13
1.5 Mikrodizi Teknolojisi.....	14
1.5.1 Mikrodizi veri tabanları	15

1.6 Meta Analiz	16
1.6.1 Kanser çalışmalarında meta analiz	17
BÖLÜM II	19
2. MATERYAL VE METOT	19
2.1 miRNA Veri Setlerinin Elde Edilmesi ve Analizi	19
2.1.1 miRNA verilerinin istatistiksel hesaplanması.....	19
2.1.2 İfadesi değişen miRNA'ların hedef genlerinin bulunması	20
2.1.3 Hedef genlerin GO ve KEGG analizleri	21
2.2 Gen İfade Veri Setlerinin Elde Edilmesi ve Analizi	21
2.2.1 Gen ifade verilerinin istatistiksel hesaplanması.....	21
2.3 miRNA-mRNA İlişkisi	22
2.4 Metilasyon Analizi	22
2.4.1 Metilasyon veri setinin istatistiksel hesaplanması	22
2.5 Validasyon İçin Eş Zamanlı PZR Analizi	23
2.5.1 Hücre hattı.....	23
2.5.2 RNA izolasyonu.....	23
2.5.3 Komplementer dna (cDNA).....	24
2.5.4 Primerlerin tasarımı	24
2.5.5 Primerlerin sulandırılması.....	25
2.5.6 Eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)	25
BÖLÜM III.....	27
3. BULGULAR	27
3.1 miRNA Veri Seti ve İstatistiksel Analiz	27
3.1.1 Değişen miRNA'ların hedef genleri	29
3.1.2 Değişen miRNA'ların hedef genlerinin GO ve KEGG analizi.....	30

3.2 mRNA Veri Seti İncelenmesi.....	30
3.3 miRNA Veri Setlerinin Yeniden İncelenmesi ve Analizi	33
3.3.1 Aday miRNA'ların hedef genlerinin bulunması.....	34
3.4 miRNA'ların Hedef Gen Listesinin DEG Listesiyle Karşılaştırılması	35
3.4.1 Ortak genlerin GO ve KEGG analizleri.....	38
3.5 Metilasyon Analizi	38
3.5.1 Metilasyon durumu değişen gen listesinin ekspresyonu değişen genlerin listesiyile karşılaştırılması.....	39
3.6 Metilasyon Durumu Değişen Gen Listesinin, DEM Ve DEG Listeleriyle Ortak Gen Belirlenmesi	40
3.7 Seçilen miRNA ve Genlerin Eş Zamanlı PZR Sonuçları.....	41
3.7.1 RNA izolasyon sonuçları	41
3.7.2 Eş zamanlı PZR sonuçlarının hesaplanması	42
BÖLÜM IV	45
4. TARTIŞMA	45
4.1 İfadesi Değişen miRNA'ların Biyobelirteç Potansiyeli	46
4.2 miR-7-5p'nin Hedef Genleri ve Metilasyon Durumu	48
4.3 miR-7-5p Ve Hedef Genlerinin Eş Zamanlı PZR Sonuçları.....	50
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKÇA	53
EKLER.....	73
Ek-1. İFADESİ DEĞİŞEN miRNA'LARIN HEDEF GENLERİNİN DAVID SONUÇLARI	73
Ek-2. İFADESİ DEĞİŞEN GENLERİN LİSTESİ	77
Ek-3. VERİ SETLERİNDE İFADESİ ANLAMLI DEĞİŞEN miRNA'LAR.....	81

Ek-4. ADAY miRNA’LARIN İKİ PLATFORMDA ORTAK HEDEF GENLER	87
Ek-5. miRNA’LARIN HEDEF GENLERİ VE DEĞİŞEN GENLER KARŞILAŞTIRILDIĞINDA ELDE EDİLEN ORTAK GENLERİN DAVID ANALİZ SONUÇLARI	91
Ek-6. METİLASYON DURUMU DEĞİŞEN GENLER.....	93
ÖZGEÇMİŞ.....	95

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Tasarlanan primerlerin sekans tablosu	25
Tablo 2.	Kullanılan miRNA veri setleri	27
Tablo 3.	Veri setlerinde ortak bulunan miRNA'ların p-değeri ve kat değişimi tablosu	29
Tablo 4.	GEO veri tabanından elde edilen mRNA veri setlerinin tablosu	31
Tablo 5.	Kullanılan mRNA veri setleri	32
Tablo 6.	Yeniden seçilen miRNA veri setleri tablosu.....	33
Tablo 7.	Prostat kanseri dokularında ifadesi yukarı(A) ve aşağı(B) yönde değişen genlerle belirlenen miRNA'ların hedef genleriyle karşılaştırılması sonucu elde edilen ortak genler	36
Tablo 8.	Seçilen metilasyon verisi tablosu	38
Tablo 9.	MDDG listesiyle DEG listesinin karşılaştırılması sonucu ortak genlerin tablosu	40
Tablo 10.	MDDG, DEM ve DEG listelerinin ortak genlerinin tablosu.....	41
Tablo 11.	Elde edilen toplam RNA izolasyonu örneklerinin nanodrop sonuçları ...	42
Tablo 12.	Örneklerin ΔC_t ve $2^{-\Delta C_t}$ hesaplamalarının sonuç tabloları.....	42
Tablo 13.	Genlerin ve miR-7'nin ifade seviyelerinin hücre hatları arasında karşılaştırma Mann-Whitney U sonucu	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. İnsan prostat dokusunun yapısı ve bölgeleri.....	4
Şekil 2. Prostat kanseri süreci	7
Şekil 3. miRNA biyogenez şeması	12
Şekil 4. GSE76720, GSE21036, GSE36803 ve GSE64318 miRNA gen anlatım omik verilerinden elde edilen DEM sayılarının venn şeması	34
Şekil 5. miRNA'ların hedef gen sayılarının venn şeması.....	35
Şekil 6. miRNA'ların hedef genleri ve değişen genler karşılaştırıldığında elde edilen ortak genlerin venn şeması.....	37
Şekil 7. Genlerin anlamlı olarak değişen metilasyon durum listelerinin sayılarını gösteren venn şeması.....	39
Şekil 8. Eş zamanlı PZR analiz sonucu prostat hücre hatlarında genlerin ifade seviyeleri	43
Şekil 9. Eş zamanlı PZR analiz sonucu prostat hücre hatlarında hsa-miR-7-5p'nin ifade seviyeleri	43

KISALTMALAR

AGO	:	Argonotun
AR	:	Androjen Reseptör
ARE	:	Androjen Bağlanma Bölgeleri
BPH	:	Benign Prostat Hiperplazisi
cDNA	:	Komplementer Dna
Ct	:	Eşik Döngüsü
DEG	:	İfadesi Değişen Genler
DEM	:	İfadesi Değişen miRNA
DHEA	:	Dehidroepiandrosteron
DHEA-S	:	Dehidroepiandrosteron Sülfat
DHT	:	Dihidrotestosteron
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
DRE	:	Dijital Rektal Muayene
EMBL-EBI	:	Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü
Enhancer	:	Hızlandırıcı
F	:	İleri
FC	:	Kat Değişim
FDA	:	Food and Drug Administration
FFPE	:	Formaline Sabitlenmiş, Parafine Gömülmüş
GEO	:	Gene Expression Omnibus
GO	:	Gen Ontoloji
GWAS	:	Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları
KEGG	:	Genler ve Genomların Kyoto Ansiklopedisi
MDDG	:	Metilasyonu Durumu Değişen Genler
miRNA	:	mikroRNA
NCBI	:	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
PCa	:	Prostat Kanseri
PCA3	:	Prostat Kanseri Antijen 3
PIN	:	Prostatik İntraepitelyal Neoplazi
PSA	:	Prostat Spesifik Antijen

PZR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	:	Geri
RISC	:	RNA-İndüklenmiş Susturma Kompleksi
RNA	:	Ribonükleik Asid
RNAseq	:	RNA Dizilemesi
TCGA	:	Kanser Genom Atlası
TK	:	Tümöre Komşu
UTR	:	Untranslated Region

GİRİŞ

Prostat kanseri (PCa) erkeklerde en sık görülen 2. kanser türüdür ve kanserden ölüm oranı yüksek görülmektedir (Sung ve diğerleri, 2021). Hastalığın ileri yaşlarda görülmesi artmakla beraber aile öyküsü ve ırk risk faktörleri olarak bilinmektedir (Rawla, 2019). Bununla birlikte yaşam tarzının prostat kanseri üzerinde etkileri görülmektedir (Wilson ve Mucci, 2019).

Prostat kanserinin teşhisinde prostat spesifik antijen (PSA) kan testi ve dijital rektal muayene (DRE) kabul edilen mevcut taramalardır (Smith, Mettlin, Davis ve Eyre, 2000). PSA'nın prostat kanserine özgün olmaması nedeniyle farklı etkenlerden (enfeksiyon, iltihaplanma ve benign prostat hiperplazisi (BPH)) seviyesinde artış görülebilmektedir (Nadler, Humphrey, Smith, Catalona ve Ratliff, 1995). Bununla birlikte, yanlış pozitiflik oranları %75'lerde olmaktadır (Mistry ve Cable, 2003) ve gereksiz biyopsiler de dahil aşırı tedavilere sebep olmaktadır (Etzioni ve diğerleri, 2002). Dijital rektal muayenenin PCa'da özgüllüğü %91'lerde (Schroder ve diğerleri, 1998) olmasına rağmen tek başına tümörü ön görememektedir, bu nedenle PSA ile kombinasyonu gerekmektedir (Irekpita, Achor ve Alili, 2020). Bununla birlikte, hastalığın erken dönemlerinde tümörün küçük hacimli oluşu, dijital rektal muayenenin teşhisini zorlaştırmaktadır ve PSA'nın düşük seviyelere sahip olması ile beraber biyopsiye ihtiyaç duyulmaktadır (Schroder ve diğerleri, 1998). Biyopsi işlemi maliyetlidir ve komplikasyonlara neden olabilmektedir (Das, Razik, Sharma ve Verma, 2019). Biyopside hangi bölgelerden örnek alınacağı ve değerlendirileceği tartışma konusudur (Naughton, Smith, Humphrey, Catalona ve Keetch, 1998). Bu durum hastaların gözetim altında olup olmayacağını belirlemede belirsizlik oluşturmaktadır (Klotz, 2005). Hastalığın ilerleme sürecini ve tedaviye verilen yanıtları değerlendirmede, aşırı biyopsilerin engellenmesinde prostat kanserine özgü biyobelirteçler önem taşımaktadır.

Yeni nesil dizileme teknolojisi genomik profillerdeki farklılığı belirlemede ve kanserde teşhis için kullanımına imkan sağlamaktadır. PSA'nın düşük etkinliği sebebiyle yeni biyobelirteçlerin keşfi çalışmaları artmaktadır. Güncel durumda hastaların idrar örneklerinde bulunan FDA onayı alan prostat kanseri antijen 3 (PCA3)

kodlamayan RNA, yüksek PSA'ya ve/veya anormal DRE'ye sahip ve/veya önceki biyopsisi negatif olan hastalar için biyobelirteç olarak önerilmektedir. Buna karşılık klinik kullanımda PSA'nın yerini alan farklı biyobelirteç taramaları bulunmamaktadır, daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Lima ve diğerleri, 2021).

Kanser dokularının normalden farklı ifade olan moleküllerin belirlenmesinde meta analiz yaklaşımlar kullanılmaktadır. Meta analiz, aynı konuda üzerine yapılan çalışmaların sonuçlarını istatistiksel olarak birleştiren bir analizdir (Ince, Ozcimen ve Turan, 2019).

Bu tezde literatürde prostat kanseri üzerine yapılan çalışmaların verileri kullanılarak lokalize prostat kanseri ve normal (BPH ve sağlıklı) insan prostat dokusu arasında farklılık gösteren moleküller meta analiz ile belirlenmektedir. Çalışma insan prostat dokusu üzerine omik seviyedeki tüm miRNA, mRNA ve metilasyon ifade çalışmalarını birlikte incelemektedir. İfadesi değişen miRNA'ların hedef genleri, prostat kanser dokusunda ifadesi değişen genlerle karşılaştırılarak konsensüs genler elde edilmektedir. Genlerin değişimini etkileyebilecek metilasyon düzenlenmeleri de değerlendirilmektedir. Metilasyon durumu promotör bölgesiyle ilişkili olarak değişen genlerin belirlenmesiyle elde edilen tüm listelerden bir meta çıktı elde edilir. Aday görülen genlerin ve miRNA'ların analiz güvenilirliğinin artırılması için prostat kanseri hücre hatlarıyla eş zamanlı PZR çalışmasıyla deneysel olarak valide edilmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamız mevcut tarama yöntemlerine karşılık etkinliği daha yüksek prostat doku potansiyel miRNA ve metilasyon biyobelirteçleri tanımlanmasını amaçlamaktadır. Tanımlanan moleküllerin daha ileri çalışmalarla prostat kanserinde biyobelirteç potansiyelinin arttırılması önerilmektedir.

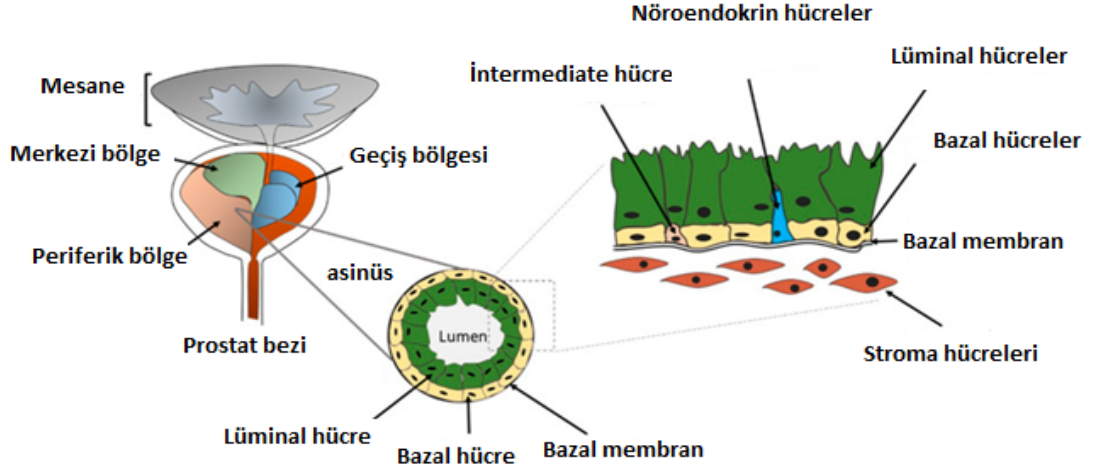
Tezin giriş kısmında önem ve amacından bahsedilmektedir, çalışmayla ilgili detaylı literatür araştırması birinci bölümde verilmiştir. Kullanılan yöntemler ve materyaller ikinci bölümde belirtilmiştir. Analiz sonuçları ve belirlenen aday moleküller üçüncü bölümde gösterilmiştir. Çalışma sonuçlarının geniş literatür incelemesi ve tartışma kısmı dördüncü bölümde anlatılmış, sonuç ve öneriler sunulmuştur.

BÖLÜM I

1. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

1.1 Prostat Bezi

İnsan prostatı, erkeklerde mesanenin altında yer alan ve üreme sistemini destekleyen bir bezdir. Prostatın temel amacı, enzimleri, mineralleri ve proteinleri içeren prostat sıvısını oluşturarak spermi beslemeye ve korumaya yardımcı olmaktır (Kumar ve Majumder, 1995; Price, McNeal ve Stamey, 1990). İnsan prostatının bölgesel anatomisi; duktal tüpü içeren “merkezi bölge”, bezin yüzde 70’ini kapsayan “periferik bölge” ve üretrayı çevreleyen “geçiş bölgesi” olmak üzere 3 farklı bölgeden oluşmaktadır. Ön fibromüsküler stroma prostatın üstünü çevreleyen kas lifleri ve lifli bağ dokusundan oluşan kalınlaşmış bir bölgedir. Bu bölge bez içermemektedir (McNeal, 1981). Prostat epitel bölgesi üç farklı hücre tipi; lüminal, bazal ve nöroendokrin içermektedir. Lüminal hücrelerinde yüksek seviyelerde androjen reseptörleri ve spesifik olarak sitokeratin 8 ve 18 ifade edilmektedir. Bunun yanında hücre protein salgıları üretmektedir. Lüminal epitel altında yer alan bazal hücreler çok düşük seviyelerde androjen reseptörü (AR) ifade etmektedir. Genellikle sitokeratinler 5 ve 14 ve p63’ün ifadesi saptanmaktadır. En dış bölgesi nöroendokrin hücrelerden oluşmaktadır ve AR ifadesi görülmemektedir (M. M. Shen ve Abate-Shen, 2010). İnsan prostatının üç bölgesi ve yapısı Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. İnsan prostat dokusunun yapısı ve bölgeleri (Saranyutanon ve diğerleri, 2020 kaynağından adapte edilmiştir.)

1.2 Prostat Kanseri

Prostat morbiditesine üç ana durum benign prostat hiperplazisi (BPH), prostat kanseri ve prostatit neden olmaktadır (Verze, Cai ve Lorenzetti, 2016).

Prostatit, prostat bezinin bakteriyel enfeksiyon gibi çeşitli nedenlerden iltihaplanması ile her yaşta erkekte görülen bir durumdur. İltihaplanmanın çoğu zaman nedeni belirlenememektedir. Hastalığın farklı türleri farklı semptomlar göstermektedir, genel olarak ağrı belirtisi saptanmıştır (Curtis Nickel, 2011).

Benign prostat hiperplazisi yaşlanan erkeklerde en sık görülen iyi huylu neoplazmdır. Yaşam kalitesini etkileyen semptomlar yaşla beraber artmaktadır. Hastalığın histolojik prevalansı 60 yaşından sonra %50 ve 85 yaşın üzerinde %90'dır (Practice ve Committee, 2003). Genellikle prostatın merkezinde ya da geçiş bölgesinde görülen hiperplazisi, androjene bağımlı olarak büyüme sergilemektedir (K. L. Lee ve Peehl, 2004; Pienta ve Esper, 1993; Price ve diğerleri, 1990). Normal prostat dokusuyla karşılaştırıldığında stromal hücrelerinin ölümü gerçekleşmeden büyümenin gerçekleşmesi, epitel-stroma oranının azalmasına ve stromal büyümesine sebep olmaktadır (Claus, Berges, Senge ve Schulze, 1997).

Prostat kanseri Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'nın ürettiği GLOBOCAN 2020 kanser insidansı ve mortalite tahmin verilerine göre, dünyada erkekler arasında akciğer kanserinden sonra insidansı en yüksek kanser türüdür. 2020 yılında, dünyada yaklaşık 1.414.260 yeni prostat kanseri vakası rapor edilmiştir (Sung ve diğerleri, 2021). Dünyada kanserlerin insidans ve ölüm oranları ekonomik gelişmişlik, sosyal yaşantı ve tıbbi imkanlar (tarama , tanı vb.) yüzünden farklı uluslar ve coğrafi bölgeler göre farklılık göstermektedir (Bray ve diğerleri, 2018).

Prostat kanserinin ABD en yüksek insidans oranı görülürken, en düşük insidans oranı Asya'da görülmektedir (Lichtensztajn ve diğerleri, 2014). Ayrıca Afrikalı-Amerikalı erkeklerde hastalığın ölüm oranının beyaz ırka kıyasla neredeyse iki katı olduğu gösterilmiştir (Panigrahi ve diğerleri, 2019). Prostat kanserinde en önemli risk faktörleri yaş ve genetik (Kiciński, Vangronsveld ve Nawrot, 2011) faktörlerdir. Ayrıca prostat kanserinin yaş ile görülme sıklığı artmasına rağmen kanserin agresifliği azalmaktadır (Crawford, 2003; McClure, Basourakos, Sandhu, Schlegel ve Colt, 2018).

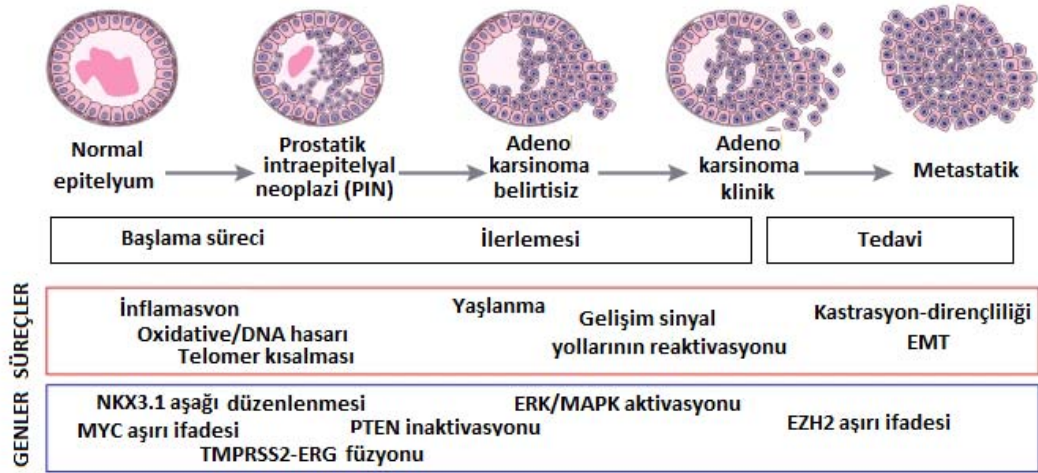
1.2.1 Prostat tümörü oluşumunu ve ilerlemesini sağlayan moleküler süreçler

Prostat bezlerindeki anormalliğin sonucu prostat kanserinin öncüsü olarak düşünülen prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) gelişmesi görülmektedir (Packer ve Maitland, 2016). PIN histolojik açıdan, nükleer genişlemeye bağlı yapısal anormallikler, lümen epitel hiperplazisi ve bazal hücrelerde azalma ile karakterize edilir. Yüksek dereceli ve düşük dereceli olarak iki çeşidi vardır (Shappell ve diğerleri, 2004). Yüksek PIN alanları belirgin yükseklikte hücresel proliferasyon sergilemektedir ve prostat kanseri için öncül lezyon olarak gösterilmektedir (Eminaga ve diğerleri, 2013). Ancak tüm PIN'lerin prostat kanserine dönüştüğü kesin değildir. Prostat kanseri önemli derecede insanlarda fenotipik ve genetik olarak heterojenlik sergilemektedir (Tolkach ve Kristiansen, 2018). Buna rağmen primer prostat kanserlerinin yaklaşık %95'i etkili bir biçimde lümen fenotipi sergileyen adenokarsinomlardır (Alizadeh ve Alizadeh, 2014). Epidemiyolojik çalışmalar aile öyküsünün prostat kanserinde önemli olduğu ve en kalıtsal kanser türlerinden olduğu ortaya koyulmuştur. Genom çapında ilişkilendirme

alışmalarında (GWAS) prostat kanseriyle ilişkili lokus tanımlanmıştır (Vietri ve diğlerleri, 2021). HOXB13 prostat kanseri ilerlemesi ile ilişkili gen olarak görölmektedir (McMullin, Mutton ve Bieberich, 2009). Ayrıca BRCA2, ATM, CHEK2, BRCA1, RAD51D ve PALB2 gibi DNA onarım genleri de tanımlanmıştır (Vietri ve diğlerleri, 2021).

Prostat kanseri uluslara ve kökenlere göre farklı insidans ve ölüm oranları sergilemektedir. Bölgelerdeki gelişmişlik ve tıbbi hizmetler (Tarama ve erken teşhis) insidansı ve ölüm oranlarını etkilemektedir. Gelişmiş bölgelerde (Kuzey Amerika, batı ve Kuzey Avrupa ve Avustralya) kanser insidans oranları, Afrika popölasyonunda, Amerika ve Asya nüfusuna göre daha yüksek ölüm oranları görölmektedir (Bianco ve diğlerleri, 2002).

Prostat kanserinde ırk/etnik köken, genetik kalıtsallıkların yanı sıra ileri yaş en önemli risk olarak gösterilmiştir. Erkeklerde, prostat kanserine yakalanma olasılığı yaşla artmaktadır. 50 yaşından sonra kanserin görölme sıklığı ve ölüm oranı yükselmektedir (Haas ve Sakr, 1997). Yaşa bağılı moleköler değışiklikler inflamasyon, oksidatif stres ve telomer kısalmaları prostat kanserinin gelişimine yardımcı olduğı gösterilmiştir (M. M. Shen ve Abate-Shen, 2010). Bununla birlikte, çoğı kanser türünde olduğı gibi onkogenetik mutasyonlar prostat kanserinin gelişimini için gerekmektedir. PCa'nın gelişiminde NK3 Homeobox 1 (NKX3.1) ve p53 gibi tümör baskılayıcı genlerin kaybı, Myc onkogenin yukarı regölasyonu ve ERG aşırı ifadesinden kaynaklanan TMPRSS2:ERG gen füzyonu erken değışimler olarak görölmektedir. Transkriptom analizlerinde, prostat kanserinde önemli ölçüde SMAD4 ifadelerinde düşme gözlemlenmektedir. Fare modellerinde SMAD4 ve protein tirozin fosfataz (PTEN) ifadelerindeki düşmeler PCa'nın ilerlemesine ve metastatik fenotip kazanımlarına yol açmaktadır (M. M. Shen ve Abate-Shen, 2010).



Şekil 2. Prostat kanseri süreci (Abate-Shen ve Shen, 2000 kaynağından adapte edilmiştir.)

1.2.2 Androjen prostat kanseri ilişkisi

Androjenler, androjen reseptörlerine (AR'lere) bağlanarak kadın ve erkeklerin büyümesini, üremesini ve gelişimini düzenleyen steroid hormonlardır. Androjenler testislerde, yumurtalıklarda ve böbreküstü bezlerde sentezlenir. Dihidrotestosteron (DHT), androstenedion, dehidroepiandrosteron (DHEA) ve dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-S) dahil çok sayıda androjen türleri bulunmaktadır. Testosteron, özellikle erkeklerde cinsel gelişim ve farklılaşmayı sağlayan başlıca androjendir (Shea, Wong ve Chen, 2014).

Androjen hormonu testosteron, prostat hücrelerine girdikten 5-redüktaz enzimi tarafından 5 α -dihidrotestosteron (DHT) dönüştürülmektedir (Steers, 2001). DHT bozulmaya dirençli bir reseptör konformasyona sahiptir ve testosterona göre androjen reseptörüne affinitesi daha yüksektir (Heinlein ve Chang, 2004). Androjen stimülasyonu prostat gelişiminden ve büyümesinden sorumludur. DHT, androjen reseptörlerine bağlanarak nükleusa translokasyonuna neden olmaktadır. Çekirdekte, aktif AR, hedef genlerin promotör bölgelerindeki androjen bağlanma bölgelerine (ARE) bağlanır ve prostat spesifik antijen (PSA) ve transmembran proteaseerin 2 (TMPRSS2) gibi hedef genlerin transkripsiyonunu düzenler (Grino, Griffin ve Wilson,

1990; Heinlein ve Chang, 2004). Böylece, prostat gelişimine ve benign prostat hiperplazisi patogeneziine sebep olmaktadır (Steers, 2001).

PCa hastalarının yaklaşık %80-90'ı androjenler ve androjen reseptörü sinyal yoluyla yakından ilişkilidir. Bu yüzden, hastalara ilk tedavi olarak androjen azalması veya androjen reseptörü inhibisyonu uygulanmaktadır (Aurilio ve diğerleri, 2020). Androjenden bağımsız ve ya hormona dirençli ilerlemiş prostat kanserlerinde AR ekspresyonu korunur (Heinlein ve Chang, 2004).

1.2.3 Prostat kanserinde mevcut tanımlar

Kanserin erken evresi genellikle asemptomatiktir ve erken teşhisi edilmesi zordur. Kandaki serum prostat spesifik antijen (PSA) testi ile beraber dijital rektal muayene (DRE) prostat kanserinin erken tanısı için mevcut tarama yöntemleridir (Smith ve diğerleri, 2000). PSA, glandüler kallikrein ile bağlantılı bir serin proteazdır (Lilja, Ulmert ve Vickers, 2008). Bozulan prostat yapısının sonucu prostat sekresyonlarında anormal PSA üretimi gerçekleşmektedir (Epstein, 2010). PSA değeri enfeksiyon, iltihaplanma veya yaşla beraber en çok görülen BPH gibi nedenlerden dolayı artabilmekte ve yanlış pozitifliği %75'lere ulaşabilmektedir (Catalona ve diğerleri, 1994). Yanlış teşhis sonucu lüzumsuz biyopsi ve aşırı tedaviye sebep olabilmektedir (Etzioni ve diğerleri, 2002; Johansson ve diğerleri, 2004). Bu yüzden PSA testinin prostat kanserine özgünlüğü tartışma yaratmaktadır (Harris, Mostaghel, Nelson ve Montgomery, 2009).

Prostat kanserinin mevcut taramalar ele alındığında, dijital rektal muayenenin kanser tespitinde etkinliğinin PSA 'ya göre daha düşük olduğu gösterildi. tek başına DRE yeterli olmadığı PSA'nın DRE ve ultrasonografiyle beraber kanserin saptanma oranını arttırdığı görülmüş (Catalona ve diğerleri, 1991). DRE özgüllüğü prostat kanserinde %91 seviyelerindedir ve hassasiyeti PSA seviyesi ile pozitif korelasyon göstermektedir (Schroder ve diğerleri, 1998). Ancak, PSA'nın düşük seviyelerinde (0 ile 4 ng/ml) mevcut taramaların, hastaların yarısı agresif ve lokalize kansere sahip olmasına rağmen kanseri gözden kaçırdığı tespit edilmiştir (Schroder ve diğerleri, 1998; Schröder ve diğerleri, 2000). Düşük PSA seviyelerine sahip erkeklerde, tümör

hacminin küçüklüğünden DRE sonucu tespitte yeterli olmamaktadır ve daha fazla biyopsiye gerek duyulmaktadır (Schroder ve diğerleri, 1998).

Kanda yüksek PSA seviyelerine sahip hastaların kanser varlığını belirleyebilmek için biyopsi uygulanmaktadır. Biyopsiden alınan dokudaki tümörün yapıları 1'den 5'e (en azdan en çok farklılaşmışa) sınıflandırılır ve en yaygın iki model toplanarak Gleason skorlaması (primer grade + sekonder grade = skor) gerçekleştirilir. Hastalığın durumu Gleason puanı 2'den 10'a derecelendirme kategorisine göre değerlendirilmektedir (Epstein, 2010). Gleason derecelendirme, prostat adenokarsinomunda uzun yıllardır kullanılan ve kabul gören prognostik bir göstergedir. Prostat adenokarsinomunun doku büyüme evrelerine dayanan Gleason derecelendirme sistemi, 1966 yılında Dr.Donald Gleason tarafından geliştirildi (GLEASON ve F., 1966). Şu an en güncel sisteme ulaşana kadar birkaç kez modifiye edilmiştir (Moch, Cubilla, Humphrey, Reuter ve Ulbright, 2016). Derecelendirme sistemindeki eksiklerin giderilmesi ve basitleştirilmesi için Gleason skoru beş kategoriye indirgenmiştir (Epstein ve diğerleri, 2016).

1.2.4 Prostat kanserinde epigenetik mekanizma

Epigenetik düzenleme mekanizmaları, kromatin yeniden şekillenmesi yoluyla DNA diziliminde değişiklik meydana getirmeden gen ifadesinde değişimlere neden olmaktadır (None ve JR, 2001; WA ve J, 2006). Prostat da dahil birçok kanser türünde hücre döngüsü kontrolü, hücre büyümesi ve farklılaşması, DNA onarımı ve anjiyogenez gibi moleküler mekanizmalarındaki epigenetik değişimler kanserin gelişimine ve ilerlemesine katkı sağlamaktadır. Epigenetik değişiklikler prostat kanseri hastalarında sık görülmesine rağmen, prostat kanserinin oluşumunda kesin rolü olan epigenetik mekanizmalar anlaşılamamıştır. Ancak kanser hastalarındaki epigenetik değişimler, mutasyonlara göre çok daha fazla sıklıkta meydana gelmektedir ve erken evrelerde belirgin olmalarından dolayı potansiyel biyobelirteç olabilecekleri düşünülmektedir (Catalona ve diğerleri, 1994). En yaygın epigenetik düzenleme mekanizmaları; DNA metilasyonu ve miRNA'lardır.

1.3 DNA Metilasyonu

DNA metilasyonu, memeli genomundaki sitozinin 5'-karbonuna bir metil (-CH₃) grubunun eklenmesiyle gerçekleşen kovalent bir modifikasyondur. Bu reaksiyon, katalizatör olan DNA metiltransferaz enzimlerinin metil donörü S- Adenosil metiyonin (SAM-e)'den metil grubu alarak sitozinin 5'-karbonuna transfer etmesiyle gerçekleşmektedir. DNA metilasyonu promotör bölgelerindeki CpG adacıklarında, tekrar dizilerinde ve düzenleyici elemanlarda oluşmaktadır (Jones, 2012). Genomdaki CpG dinükleotid dizilerinin yoğun olduğu bölgelere CpG adacıkları denilmektedir ve genomun gen bölgelerinin yarısı CpG adalarını içermektedir (Esteller, 2002).

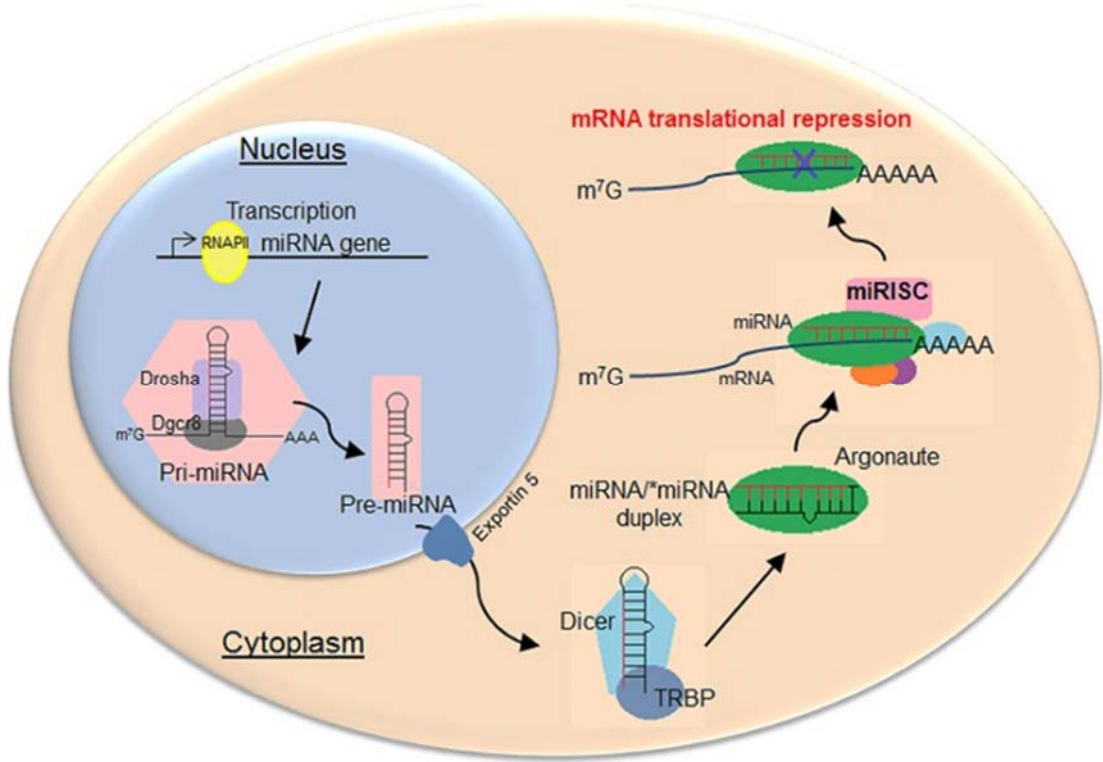
DNA metilasyonu embriyonik hücre gelişiminde, X kromozom inaktivasyonu ve hücreye özgü özel genlerin düzenlenmesinde hayati öneme sahiptir. DNA metilom diziliminde gerçekleşen anormallikler hastalıklara yol açabilmektedir. Karsinogenezde genlerdeki anormal metilasyon durumları hipometilasyon veya hipermetilasyon olarak gerçekleşebilmektedir. Kanseri çalışmalarında kanser oluşum süresince özellikle tümör baskılayıcı genlerin metilasyon düzeyinde artış olduğu bildirilmiştir (Dricu ve diğerleri, 2012).

Son zamanlarda, kanser biyobelirteçlerinde genlerin ifade seviyelerine etkilerinden dolayı promotör bölgesindeki metilasyon düzeylerine yoğunlaşmıştır. Promotör bölgelerinde farklı işlev düzeylerine sahip ilişkili CpG adacıklarının gen susturulmasıyla ilişkili yerlerinin belirlenmesi kanser biyobelirteçleri için önem taşımaktadır (Koch ve diğerleri, 2018).

Prostat kanserinde RASSF1A geninin normal prostattan farklı olarak inaktif ve hipermetile olduğu gözlemlenmiştir (Aitchison, Warren, Neal ve Rabbitts, 2007). Prostat kanseri vakalarının %90'ında GSTP1 geninin CpG adacıklarının hipermetilasyon durumunda olduğu tespit edilmiştir (Nakayama ve diğerleri, 2004). Meme kanserinin gelişimindeki epigenetik değişiklikler gözlenen çalışmada kanser seviyesiyle bazı genlerde metilasyon seviyelerinin arttığı ve metilasyon durumunun kanserin erken evrelerinde potansiyel biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir (Van Hoesel ve diğerleri, 2013).

1.4 mikroRNA ve Biyogenezi

mikroRNA (miRNA)'lar ilk defa 1993 yılında *Ceanorhabditis elegans* adlı nematoddun gelişimi üzerine yapılan çalışmayla lin-4 geninin protein kodlamayamadığının ortaya koyulması sonucu tanımlanmıştır (R. C. Lee, Feinbaum ve Ambrost, 1993). miRNA'lar yaklaşık 21-23 nükleotid uzunluğunda evrimsel olarak korunmuş kodlamayan RNA molekülleridir. mikroRNA'ların oluşumu üç formda gerçekleşmektedir. İlk olarak Nükleus içinde miRNA'lar 500-3000 baz uzunluğundaki primer miRNA(PRI-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından transkript olmaktadır. İkincisi, çekirdekte pri-miRNA hayvanlardaki mikroişlemci kompleks (Drosha ve kofaktörü Pasha (DGCR8)) tarafından öncül prekürsör yapı Pre-miRNA'lar dönüştürülmektedir. Exportin 5 ve RAN-GTP tarafından sitoplazmaya geçen Pre-miRNA'lar Dicer endonükleaz'la etkileşerek sap-ilmği kesildikten sonra olgun miRNA'lara dönüştürülür. Aynı zamanda gen susturmasından sorumlu RNA-indüklenmiş susturma kompleksi (RISC) de oluşmaktadır (Bartel, 2004; He ve Hannon, 2004). Komplekste bulunan argonotun (AGO) etkisiyle RNA ipliğinden sadece biri stabildir ve komplekse dahil edilmektedir. Genellikle 5' ucuna sahip zinciri stabil olarak olgun miRNA'dan seçilmektedir. miRNA* olarak adlandırılan diğer iplik salınır ve bozulmaya uğramaktadır (Zeng, Yi ve Cullen, 2005). Ancak, günümüzdeki ileri sekanslama çalışmalarında komplekse dahil olman zincirinde etkin olabileceği ileri sürülmüştür (Yang ve diğerleri, 2011).



Şekil 3. miRNA biyogenez şeması (Hajarnis, Lakhia ve Patel, 2015)

1.4.1 miRNA'ların etki mekanizması

Tek zincirli ve 20 nükleotid uzunluğundaki Olgun miRNA'lar hedef mRNA'nın 3'UTR bölgesiyle komplementeri olarak genin ifadesini etkilerler. miRNA'ların 5' ucundaki 2-8 nükleotid arasındaki "seed" bölgesiyle mRNA arasındaki baz eşleşmesi genin hangi yolla baskılanacağını belirlemektedir (Lewis, Burge ve Bartel, 2005).

miRNA ve hedef mRNA arasında yüksek komplementerlik görülmesi mRNA'nın parçalanmasına ve genin susturulmasına sebep olmaktadır. Düşük komplementerlik var ise protein sentezinin inhibisyonuna neden olmaktadır. Bazı miRNA'lar genin 5'UTR bölgesine bağlanarak genin inhibisyonuna ya da aktivasyonuna yol açabilmektedir. Ayrıca miRNA'lar genin promotör bölgesiyle etkileşimiyle transkripsiyona teşvik ettiği gösterilmiştir (Catalanotto, Cogoni ve Zardo, 2016).

1.4.2 miRNA kanser ilişkisi

Posttranskripsiyonel gen regülasyonu olarak işlev gören miRNA'lar, protein kodlayan genlerin mRNA'larını baz eşleşmesi yoluyla hedefleyerek kansere sebep olan hücre döngüsü, apoptoz ve anjiyogenez gibi moleküler yolları düzenler (Jansson ve Lund, 2012; D. Li, Hao ve Song, 2018).

Prostat kanserinde miR-182-5p'nin normal prostat dokusuna kıyasla aşırı ifadesinin kanserin ilerlemesi ile ilişkili olduğu ve miR-182-5p'nin yokluğunda kanserin çoğalmasının ve invazyonunun azaldığı bildirilmiştir (Hirata ve diğerleri, 2013). Bir tümör baskılayıcı olan miR-101, prostat kanser hücrelerinde bazı onkogenlerin ifadesini hedefleyerek proliferasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Ancak ilerleyen prostat kanserinde mir-101'nin ifadesi aşağı yönde regüle edilmektedir (Chakravarthi ve diğerleri, 2016). Başka bir çalışmada metastatik prostat kanserinde biyobelirteç potansiyeli olan beş miRNA (miRNA-375, miRNA-9*, miRNA-141, miRNA-200b ve miRNA-516a-3p)'nın doğrulaması yapılmıştır. Doğrulama sonucu, serumda miRNA-375 ve miRNA-141 ifadelerinin hasta örneklerinde anlamlı olarak yüksek olduğu ve yapılan diğer analizler sonucu ileri prostat kanseriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Brase ve diğerleri, 2011).

1.4.3 miRBase veri tabanı ve hedef gen platformları

miRBase, yayınlanmış miRNA dizileri ve geniş bilgilerini içeren halka açık bir veri tabanıdır. miRBase yeni keşfedilmiş miRNA'ların isimlendirilmesinden sorumludur, isimlendirmelerdeki sıralamalardan dolayı deneysel olarak kanıtlanmış olmasına önem gösterilmektedir. Ayrıca veri tabanı, miRNA'ların hedef genlerini içeren kaynaklara (miRWalk, TargetScan ve miRDB) da erişimi sağlamaktadır (Kozomara, Birgaoanu ve Griffiths-Jones, 2019).

miRDB, miRNA'nın hedef genlerini literatürdeki binlerce çalışmayı analiz ederek belirlemektedir. Ayrıca Gen ontoloji analizlerini de içeren bir ara yüze sahiptir (Chen ve Wang, 2020).

TargetScan miRNA'ların seed bölgesiyle eşleşen genlerin 3' UTR'lerini ve bunların ortologlarını ele alarak tahmin etmektedir (Agarwal, Bell, Nam ve Bartel, 2015).

miRWalk, miRNA'ların TargetScan miRDB ve miRTarBase platformlarını bir araya toplayarak hedef genlerini tahmin etmek için kullanıcıya sunan bir platformdur. miRNA hedef bölgelerinin tahmin puanı ağaç tabanlı algoritma yaklaşımıyla hesaplanmaktadır (Sticht, De La Torre, Parveen ve Gretz, 2018).

1.5 Mikrodizi Teknolojisi

DNA mikrodizi teknolojisi, binlerce genin paralel olarak ekspresyon profillerinin oluşturulmasını sağlayan bir yöntemdir. Belli uzunluklarda bilinen binlerce gen dizisi cam slayta (çipe) yerleştirilmektedir. Floresanla etiketlenen RNA ve cDNA numuneleri gen çipine yerleştirilmektedir ve problara bağlanmaktadır. İfade olan genlerin ürettiği ışık alanları yüksek çözünürlüklü tarayıcılar tarafından algılanır ve piksel olarak sinyaller kaydedilmektedir. Böylece hedef genin ifade seviyesini tahmin etmektedir.

Mikrodizi teknolojisi, komplementer DNA (cDNA) ve oligonükleotit mikrodizileri olarak iki ana türe sahiptir (Richter ve diğerleri, 2002). Standford Üniversitesi tarafından geliştirilen cDNA mikrodizileri, iki floresan boya (Cy3 (570nm; yeşil boya) veya Cy5 (670nm; kırmızı boya)) kullanmaktadır ve etiketlenme sonrasında iki farklı koşuldaki görüntü birleştirilerek Cy3/Cy5 oranı saptanmaktadır (Oberthuer ve diğerleri, 2010). Gen ekspresyon düzeyinin kesin belirlenemesinde yukarı ya da aşağı düzenlenmiş genler bilgisi gözlenmektedir. Oligonükleotit mikro dizileri sekansı bilinen mRNA'lar için 25-75 nt uzunluğunda oligonükleotitler oluşturulmaktadır. Gen ifade düzeyi hakkında kesin tahminler sağlamaktadır (Pereira, Fernandes, Valentão ve Andrade, 2015).

Mikrodizi çalışmalarında genlerin ekspresyon ölçümleri farklı platformlar tarafından elde edilmektedir. Bu alanın öncü ticari firması olan Affymetrix ve daha sonra Agilent firması bilinen en ticari platformlardır (Gershon, 2002).

Kullanılabilirliği artan DNA mikrodizi teknolojisi veya yeni nesil sekanslama (NGS) teknolojileri sayesinde kanser moleküler ve genetik profillemeye ve kanser türlerinde terapötik hedeflerin incelenmesi üzerine yapılan çalışmalarda artışa yol açmıştır.

Meme kanseri çalışmalarında mikrodizi teknolojisi kullanarak genç hastalarda tümör teşhisinde potansiyel 70 gen ifade profillemesi oluşturulmuştur. Bu çalışmayla mikrodizi teknolojisinin tümörde güvenilir bir teşhis aracı olabileceği ilk kez gösterilmiştir (Glas ve diğerleri, 2006).

1.5.1 Mikrodizi veri tabanları

Araştırmacıların mikrodizi verilerini ham ya da işlenmiş olarak halka açık olarak sunabileceği veri tabanları bulunmaktadır. Veri tabanlarında, veriler FGED derneği tarafından oluşturulan Minimum information about a microarray experiment (MIAME) standartlarına uygun olarak sunulmaktadır. MIAME standartlarıyla Ulaşılan veri sonuçlarının değerlendirilmesi ve başka çalışmalarla doğrulanmasını amaçlamaktadır (Brazma ve diğerleri, 2001).

1.5.1.1 Gen ekspresyonu omnibus (GEO)

Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI), araştırmacıların çalışma verilerini yüklemesine ve kullanıcıların ücretsiz erişimini sağlayan Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanını tasarlamıştır. GEO veri tabanında yer alan veri setleri “ham” veya “seri matris” veri halinde bulunmaktadır. GEO veri tabanında yer alan çalışmalarda örnekleri (GSMxxx), platformları (GPLxxx) ve serileri (GSExxx) temsil eden özel terminolojiler kullanılmaktadır. Ayrıca, çalışma verilerinin istatistiksel analizine ve görselleştirmesine olanak sağlayan R istatistiksel paketlerini kullanan GEO2R web aracı bulunmaktadır (Barrett ve diğerleri, 2013).

1.5.1.2 Arrayexpress

Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü (EMBL-EBI)’nde yer alan ARRAYEXPRESS kullanıcıların çalışma verilerini yüklemesini sağlayan açık bir veri tabanıdır. ArrayExpress yüklenen veriler, veri analizine ve görselleştirmeye olanak sağlayan MAGE-TAB formatında bulunmaktadır. ArrayExpress veri tabanı GEO dahil diğer veri tabanlarındaki ifade verilerini içeri aktarmaktadır (Kolesnikov ve diğerleri, 2015).

1.5.1.3 Kanser genom atlası (TCGA)

Kanser Genom Atlası (TCGA), 20 farklı kanser türünün binlerce örnekli RNAseq verilerini içeren veri tabanıdır. TCGA verilerinin boyutları terabaytları bulabildiğinden Firebrowse verilerin analizini kolaylaştırmak için geliştirilmiştir (Zhu, Qiu ve Ji, 2014).

1.6 Meta Analiz

Meta analiz belli bir konuda yapılan farklı çalışma sonuçlarının bir araya getirilerek istatistiksel analizinin gerçekleştirilmesidir. Mikrodizi verilerinin meta analizinin ana işlemleri 7 adımda aşağıda belirtilmiştir (Ramasamy, Mondry, Holmes ve Altman, 2008):

1. Araştırmanın konusuna uygun mikrodizilerin literatür ve veri tabanından seçilmesi
2. Verilerin elde edilmesi
3. Verilerin ön işlenmesi (Farklı platformların birleştirilmesi, ölçümlerin kalite değerlendirmeleri ve benzeri)
4. Prob ID'lerin bilgilerinin edinilmesi ve gen isimlerine çevrilmesi
5. Prob ve genler arasındaki düzenlemelerin yapılması
6. Meta analiz için uygun istatistiksel yöntemin belirlenmesi
7. Elde edilen sonuçların yorumlanması

Bununla birlikte elde edilen sonuçlara gen seti zenginleştirme (Subramanian ve diğerleri, 2005) , birlikte ifade (Chowdhury, Bhattacharyya ve Kalita, 2020) ve hayatta kalma (Clark, Bradburn, Love ve Altman, 2003) analizleri de gerçekleştirilmektedir.

Verilerde ifadesi değişen genlerin belirlenmesi için verilerin birleşmesini sağlayan dört meta analiz yöntem (p-değerlerinin birleştirilmesi, etki büyüklüklerinin birleştirilmesi, sıralamaların birleştirilmesi ve normalizasyon işlemi sonrası doğrudan birleştirme) sunulmaktadır (Tseng, Ghosh ve Feingold, 2012).

Fisher tarafından önerilen P-değerlerini birleştirme, çalışmaların -log dönüştürülmüş p-değerlerini birleştirir. Zamanla fisher yöntemine alternatif yöntemler geliştirilmiştir (Tseng ve diğerleri, 2012). Choi ve diğerleri, 2003 yılında, farklı çalışmalarda yer alan

iki grup arasındaki etki büyüklüğünün birleştirilmesini önermişlerdir (Choi, Yu, Kim ve Yoo, 2003). Sabit ve rastgele etki modelleri olarak yaygın iki yaklaşım bulunmaktadır. Sabit etki modellerinde bir veri setinde bulunan etki büyüklüğünün gerçek etki ve ölçüm hatalarının etkisinin birleşimi olduğu varsayılmaktadır. Rastgele etki modelde çalışma heterojenliğinin de etkisi olduğu varsayılır. Rastgele etkilerin değerlendirilmesi için Q-istatistiği Sabit ve rastgele efekt modellerinde kullanılmıştır (Tseng ve diğerleri, 2012). Sıralamaya dayalı analizler tek bir veride yer alan genlerin kat değişim (FC) değerlerine göre sıralanmasıdır. Her bir veri setindeki FC değerlerine göre sıralan genin birleştirilmesi sonrası sonuç ortalama ya da toplanarak özetlenir (Hong ve Breitling, 2008; Tseng ve diğerleri, 2012). Normalizasyon işlemi sonrası doğrudan birleştirme, veri setlerinin ön işlemi gerçekleştirdikten sonra istatistiksel yöntemler uygulanmadan doğrudan birleştirilmesidir (Lagani, Karozou, Gomez-Cabrero, Silberberg ve Tsamardinos, 2016).

1.6.1 Kanser çalışmalarında meta analiz

Tümör dokularında farklı eksprese edilen genlerin belirlenmesi, benzer çalışmaların veri setlerinin karşılaştırılmasıyla çok sayıda örneğe dayandırılmaktadır. Böylece bireysel çalışmalardan daha güvenilir sonuçlar elde edilmektedir. Ayrıca birçok çalışmada küçük etkileri görülmesine rağmen etkili sonuçlara sebep olan genlerin saptanmasında önemli olduğu görülmüştür (Ramasamy ve diğerleri, 2008). Benzer çalışmaların veri setlerinin arasındaki anlamlılık istatistiksel testleri içeren meta-analiz yaklaşımlarla değerlendirilmektedir (Vennou, Piovani, Kontou, Bonovas ve Bagos, 2020).

Pankreas duktal adenokarsinomunun gelişimindeki genler meta analiz çalışması ile tanımlanmıştır, Pankreas kanser örneklerinde 364 genin yukarı ifade olduğu ve 204 genin aşağı düzenlendiği gösterilmiştir (Grützmann ve diğerleri, 2005).

Song ve diğerleri çalışmalarında 7 meme kanseri hücre hattıyla 3 normal meme hücre hattı arasındaki protein ifadeleri karşılaştırılmıştır. Veri analiz sonucunda RAIDD, Rb p107, Rb p130, SRF, and Tyk2 proteinleri meme kanserinde potansiyel biyobelirteç olarak bulunmuştur (Song ve diğerleri, 2008).

Elek ve diğerkleri çalışmalarında 3 farklı prostat kanseri dokusu ve normal prostat dokusu 588 bilinen gen içeren ip kullanılarak mikrodizi analizi gerçekleştirmiştir. Analiz sonucunda tümör dokusunda 9 genin farklı ifade olduğu bulunmuştur. Glutasyon-S-transferaz teta 1 (GSTT1) geninin eş zamanlı PZR ile doğrulanmasıyla potansiyel hedef olabileceği gösterilmiştir (Elek, Park ve Narayanan, 2000).

Zhang ve arkadaşları tarafından miRNA ve mRNA profillerine dayalı çalışmada GEO veri tabanından alınan 49 prostat tümör örneğinin normal numunelere göre ifadesi değişen 30 gen tanımlanmıştır. Daha önce başka çalışmada tanımlanan altı miRNA'ların hedef genleri microCosm, miRTarbase ve TargetScan platformlarından bulunarak ifadesi değişen genlerle kesişiminden genler belirlenmiştir. miRNA'larla ilişkili olan genlerin prostat kanser sürecini destekleyebileceği gösterilmiştir (X. Zhang, Sun, Wang, Yang ve Li, 2017). Bununla beraber prostat kanseri ile ilişkili AMACR, EZH2, TMPRSS2-ERG, miR-141 ve miR-221 moleküler belirteçlerin olduğu mikrodizi çalışmalarında gösterilmiştir (Dalsgaard, 2010).

BÖLÜM II

2. MATERYAL VE METOT

2.1 miRNA Veri Setlerinin Elde Edilmesi ve Analizi

Bu çalışmada, GEO (Barrett ve diğerleri, 2013) veri tabanında yer alan yayınlanmış farklı miRNA çalışmaları incelenerek birincil prostat kanseri ve normal (benign prostat hiperplazisi ve sağlıklı) insan dokusu örnekleri içeren GSE76260 (El Bezawy ve diğerleri, 2017), GSE21036 (Taylor ve diğerleri, 2010), GSE60117 (Lefort ve diğerleri, 2016), GSE36803 (Lin ve diğerleri, 2013) ve GSE64318 (Wang ve diğerleri, 2015) veri setleri toplanmıştır. Veri seti seçiminde metastatik prostat kanseri, ilaca dirençli prostat kanseri, formaline sabitlenmiş, parafine gömülmüş (FFPE- formalin-fixed, paraffin-embedded) doku, hücre hattı ve serum örnekleri hariç tutulmuştur. Hasta doku örnekleri, Gleason skoru, perinöral invazyon durumu, histopatolojik derecesi ve yaş bilgileri ayırt edilmeden değerlendirilmiştir.

2.1.1 miRNA verilerinin istatistiksel hesaplanması

Seçilen veri setleri önceden işlenmiş seri matris veri olarak “.txt” formatında kullanılmıştır. Her veri setinde iki mikrodizi gruba (prostat kanser örnekleri ve normal örnekleri) ayrılan örnekler arasında miRNA’ların ifadelerini karşılaştırmak için öğrenci t-testi kullanılmıştır. GEO2R (Barrett ve diğerleri, 2013)’a aktarılan veri setinde metastatik prostat kanseri, ilaca dirençli prostat kanseri, FFPE doku, hücre hattı ve serum örnekleri çıkarılmıştır.

Veri setlerinde, çoğu genin gen ifade seviyeleri düşük ve bazı genlerin yüksek olduğundan dolayı genomdaki gen ifade seviyesi dağılımları asimetric haldedir. Log2

transformasyonu veri analizlerinde gen ifade dağılımını simetrik hale getirmektedir ve genleri birbiriyle karşılaştırılabilir kılmaktadır. Analiz öncesinde log2 transformasyonları olmayan veri setlerinin transformasyonları GEO2R’da gerçekleştirildi. Her veri setinin analiz sonucu Excel dosyasına aktarıldı.

Kat değişim (FC-fold change) durumları, normal doku örneklerin ortalaması ve prostat kanseri doku örnekleri ortalaması arasındaki fark alınarak hesaplanmıştır. Prob ID’lerin gen isimleri Agilent (GSE21036-GPL8227, GSE60117-GPL13264, GSE64318- GPL8227), Illumina (GSE76260- GPL8179) ve Affymetrix (GSE36803- GPL8786) platformlarından ulaşılarak ilişkili olduğu veri setlerinde düzenlenmiştir. Veri setlerinin istatistiksel sonuçlarına üç farklı filtreleme uygulanmıştır;

- P- değeri <0,01
- P- değeri <0,01 ve logFC >1
- P- değeri <0,01 ve logFC <-1

Filtrelemeler sonucunda veri setlerinde ortak olan miRNA’lar tespit edilmiştir.

2.1.2 İfadesi değişen miRNA’ların hedef genlerinin bulunması

Bu çalışmada, prostat kanserinde farklı ifade olan miRNA’ların tohum bölgeleriyle eşleşen biyolojik hedef gen tahmini için farklı yazılımlara sahip TargetScan 7.2 (McGeary ve diğerleri, 2019), miRWalk (Sticht ve diğerleri, 2018) ve miRDB (Chen ve Wang, 2020) platformlar kullanılmıştır. Her platform için ayrı puan filtrelemesi uygulanmıştır;

- miRDB platformunda hedef gen tahmin puanı >60
- miRWalk platformunda hedef gen puanı >80
- TargetScan platformunda hedef gen puanı >95 ve >80

2.1.3 Hedef genlerin GO ve KEGG analizleri

Gen Ontoloji (GO-gene ontology) (Ashburner ve diğerleri, 2000) genlerin biyolojik süreçlerini, hücresel bileşenlerini ve moleküler işlevlerini açıklayan bir zenginleştirme analizidir. Genler ve Genomların Kyoto Ansiklopedisi (KEGG-Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) (Ogata ve diğerleri, 1999) genlerin ilişkili olduğu metabolik yolların belirlenmesini sağ bir veri tabanıdır. Hedef genlerin fonksiyonel ve yolak analizlerinde açıklama, görselleştirme ve entegre keşif için veri tabanı (DAVID- The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) (Huang, Sherman ve Lempicki, 2009) 6.8 versiyonu kullanıldı. Sadece GO analizinde biyolojik süreç (BP-Biological Process) kategorisine bakıldı. DAVID BP fonksiyonel analizi ve yolak analizi sonucunda p-değeri'ne göre 0,05 filtrelemesi uygulandı.

2.2 Gen İfade Veri Setlerinin Elde Edilmesi ve Analizi

Bu çalışmada, gen ekspresyon verilerinin analizi için GEO veri tabanında, yayınlanmış farklı çalışmalardan elde edilen insan gen ifade mikrodizi veri setleri (GSE32448 (DeRosa ve diğerleri, 2012), GSE32571 (Kuner ve diğerleri, 2013), GSE69223 (Meller ve diğerleri, 2016), GSE68555 (Y. P. Yu ve diğerleri, 2004), GSE6956 (Wallace ve diğerleri, 2008)) seçilmiştir. Tüm veri setlerinde, birincil prostat kanseri ve kansere komşu (normal ve BPH) prostat dokuları örnek olarak alınmıştır. Veri setleri seçimlerinde normal farklı hasta, metastatik prostat, ilaca dirençli prostat kanseri, FFPE doku örnekleri ve hücre hattı verileri hariç tutulmuştur. Veri setlerinin platformlarına ve kanser seviyelerine bakılmaksızın örnekler incelendi.

2.2.1 Gen ifade verilerinin istatistiksel hesaplanması

Her veri setindeki mikrodizi (kanserli doku ve normal doku) örnek grupları birbiriyle bağımlıdır. Bağımlı (eşleştirilmiş) t-testi (Wadhwa ve Marappa-Ganeshan, 2021), bağımlı gruplar arasındaki gen ifadelerinde anlamlı farkı test etmek üzere kullanılmıştır.

Yapılan bağımlı testin hata oranlarını kontrol etmek için q-değer (Lai, 2017) yaklaşımı uygulandı. Veri setleri için q-değeri <0,05 filtrelemesi yapıldı. Probe ID'lerin gen

isimleri Illumina (GSE32571-GLP6947) ve Affymetrix (GSE69223-GLP570, GSE68555-GLP93, GSE6956-GLP571, GSE32448-GLP570) platformlarından ulaşılarak ilişkili olduğu veri setleri düzenlenmiştir. Her veri setinde anlamlı değişim gösteren genler yukarı ya da aşağı düzenlenmiş olarak ikiye ayrıldı ve en az 3 veri setinde ortak olan genler belirlendi.

2.3 miRNA-mRNA İlişkisi

İfadesi değiştiği gözlenen miRNA'ların konsensüs hedef gen listeleriyle, yukarı ve aşağı değişen gen ifadeleri listeleri karşılaştırılarak ortak genler belirlenmiştir.

2.4 Metilasyon Analizi

Bu çalışmada, metilasyon veri seti GSE76938 (El Bezawy ve diğerleri, 2017) GEO veri tabanından elde edilmiştir. Veri seti seçiminde birincil prostat kanseri ve kansere komşu (normal ve BPH) prostat dokuları insan doku örneklerinden en az bir tane içermesine dikkat edildi. Veri setleri seçimlerinde kansersiz normal hasta, metastatik prostat, ilaca dirençli prostat kanseri, FFPE doku örnekleri ve hücre hattı verileri hariç tutulmuştur. Veri setlerinin platformlarına ve kanser seviyelerine bakılmaksızın örnekler incelendi.

2.4.1 Metilasyon veri setinin istatistiksel hesaplanması

Anlamlı değişen metilasyon bölgelerinin tespiti için veri setinin seri matris dosyası kullanıldı ve bağımlı t-test (Wadhwa ve Marappa-Ganeshan, 2021) uygulandı. Bulunan p-değerlerinin hata oranını düzeltmek için q-değerleri (Lai, 2017) hesaplandı. Veri seti için q-değeri $<0,05$ filtrelemesi yapıldı. Illumina platformundan probe ID'lerin gen isimleri bulunmuştur. Veri setinin GEO'da Illumina GPL8179 platformunda belirtilen promotör bölgesiyle ilişkili olan genlerle çalışmaya devam edildi.

Q-değer $<0,05$ filtrelemesine "beta farkı" filtrelemesi de eklenerek sonuçlar elde edildi. Beta farkının mutlak değeri (Delta- Δ) için üç yaklaşım (0,15, 0,2, 0,25)

gerçekleştirildi. Metilasyon durumu değişen genler, yukarı ve aşağı düzenlenmiş olarak iki grupta listelendi. Listelenen genlerin fonksiyonel ve yolak analizleri DAVID’de yapıldı.

2.5 Validasyon İçin Eş Zamanlı PZR Analizi

2.5.1 Hücre hattı

Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (ATCC-American Type Culture Collection)’ndan alınmış insan primer prostat kanseri hücre hattı 22RV-1 çalışma grubu olarak kullanıldı. Kontrol grubu olarak insan normal prostatının periferik bölgesinden türetilen epitel hücreleri, RWPE-1 hücre hattı ATCC alınarak kullanıldı.

22RV-1 prostat kanser hücreleri RPMI-1640 (Gibco) ortamında, %10 fetal bovine serumu ve penisilin / streptomisin (Gibco) içinde kültürlendi. RWPE-1 hücreleri, insan rekombinant epidermal büyüme faktörü (EGF), sığır hipofiz bezi ekstresi (BPE-bovine pituitary extract) ile desteklenen özel keratinosit olmayan (Keratinocyte Serum Free Medium (K-SFM) Kit, Gibco) besiyerinde, büyütüldü. Kültürler 37°C, %5 CO₂ içeren bir atmosfer altında tutuldu.

2.5.2 RNA izolasyonu

Hücre hatlarının RNA izolasyonu EZ-10 Total RNA Miniprep Kit (Bio Basic, Kanada) protokolüne göre yapıldı. Kitin protokolüne göre solüsyonlar için 50 reaksiyonluk ön hazırlık yapıldı.

-80 °C’de pellet halinde saklanan hücre hatları buza alındı. Ependorf tüplerde pellet halinde bulunan hücrelere 300 µl lizis tamponu (Buffer RTL) ilave edilip vortekslendi ve 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Ardından tüplere 0,59 ml RNAaz içermeyen su ve 10 µl proteinaz K eklenerek tekrar vortekslendi. Karıştırılan tüpler 55 °C’ye ayarlı ısıtıcı blokta 10 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 12000 x g 4°C’de 3 dk. santrifüj edildi ve oluşan süpernat karışımı yeni RNAaz içermeyen 1,5 ml santrifüj tüplerine aktarıldı. Tüplere ½ hacminde etanol ilave edilerek alt üst karıştırıldı.

Tüplerin içindeki karışım spin kolon tüplerine aktararak oda sıcaklığında 12000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi. Ardından tüplerdeki süpernat kısım uzaklaştırıldı ve spin kolonlar yeni tüplere yerleştirildi. Yeni tüplere 0,35 ml DW solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 12000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi. Tüplerdeki süpernat kısım uzaklaştırıldı ve tüplere 0,5 ml RPE solüsyonu ilave edildi. Ardından tüpler oda sıcaklığında 12000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi ve süpernat kısım uzaklaştırıldı. Tekrar tüplere RPE solüsyonu eklenerek santrifüj edildikten sonra süpernat kısım uzaklaştırıldı. Tüpler oda sıcaklığında 12000 x g'de 2 dk. santrifüj edildi ve ardından oda sıcaklığında 2 dk. inkübasyon gerçekleştirildi. Spin kolon yeni 1,5 ml santrifüj tüplerine yerleştirildi. Tüplere 50 µl RNAaz içermeyen su ilave edilerek oda sıcaklığında 2 dk. inkübe edildi. Son olarak tüpler oda sıcaklığında 12000 x g'de 1 dk. santrifüj edildi. miRNA ve mRNA için total RNA miktarı ve saflığı, 260 nm ve 280 nm absorbansta, NanoDrop spektrofotometresi kullanılarak değerlendirildi. Kitin önerdiği saf RNA 1,9 - 2,0 OD260/OD280 oranındadır.

2.5.3 Komplementer dna (cDNA)

İzole edilen toplam RNA'dan cDNA sentezi, OneScript Plus cDNA Synthesis kit (abmGood, Kanada), protokolü izlenerek gerçekleştirildi. Her bir reaksiyon başına toplam 1000 ng RNA cDNA'ya çevrildi. Kitin protokolüne göre 4 µL (5X) RT Buffer, 1 µL dNTP ve 1 µL Primerler 6'lı strip PCR tüpüne ilave edildi. Toplam RNA'lar ayrı ayrı strip PCR tüplerine eklendi. Ardından karışımlara 1 µL Reverse Transkriptaz enzimi ilave edildi. Son olarak su eklenerek karışımların toplam hacmi 20 µL'ye tamamlandı. 6'lı strip PCR tüpü karıştırıldı ve 3 sn. santrifüj edildi. cDNA sentezi için karışımlar 15 dk. 50-55°C'de hemen ardından 5 dk. 85°C'de inkübasyon edildi. Son olarak 1 dk. 4°C'de bekletildi. Elde edilen cDNA örnekleri -20°C'de muhafaza edildi. Ardından cDNA'ya çevrilmeyen toplam RNA numuneleri -80°C'de saklandı.

2.5.4 Primerlerin tasarımı

Genler ve miRNA'lar için eş zamanlı PZR'da kullanılan primerler NCBI Primer-BLAST platformu kullanılarak tasarlandı. Tasarlanan primerlerin ileri (F-Forward) ve geri (R-Reverse) sekansları Tablo 1'de gösterilmiştir. Elde edilen primer dizilerinin

dimerizasyonu için delta G değerlerine OligoAnalyzer Tool, IDTDNA kullanılarak bakıldı. miR-7-3p için primer tasarımı ve sentezi abmGOOD firması tarafından temin edildi. Diğer primerlerin sentezi Sentromer DNA Teknolojileri tarafından elde edildi.

Tablo 1. Tasarlanan primerlerin sekans tablosu

PRİMER	SEKANS
RNU6 F	5'- GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3
RNU6 R	5' -CGCTTCACGAATTTGCGTGTC AT-3'
CLIP1 F	5'- GAAAACGCCTCTGCCAAGTCC-3'
CLIP1 R	5'- ATCAATCTGACTCTCCTGGGC-3'
CAMKK2 F	5'-CCCTTTTGGCTGTTTGGCAGG-3'
CAMKK2 R	5'-CACACTGGGGCACTCCCATC- 3'
TMEM 97 F	5'- GCTCTACCCAGTCGAGTTTAG- 3'
TMEM 97 R	5'- AGTTCGAATCCACTTGCAGC-3'

2.5.5 Primerlerin sulandırılması

Liyofilize halde olan primerlere rapora uygun miktarda ddH₂O eklenerek 100 µM konsantrasyonunda stok primerler elde edildi. Su eklendikten sonra tüpler vortekslendi ve 1 dk. santrifüj edildi. Her primerden 10 µL ependorfa alındı ve üzerine 90 µL saf su eklenerek toplam hacim 100 µl, 10 µM çalışma stoğu hazırlanarak -20°C'de muhafaza edildi. Ana stok primer tüpleri -80°C'de saklandı.

2.5.6 Eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Eş zamanlı PZR karışımı toplam hacim 15 µl olacak şekilde abm Blastaq 2X qPCR Master mix kiti kullanılarak hazırlandı. Kitin protokolüne göre PCR tüplerine 7,5 µL (1x) Blastaq ve 3,3 ng/µL cDNA ilave edildi. Tüplere genler için 0,25 µM F-R

primerleri ve miRNA örnekleri için 0,25 µM F-R primerleri ilave edildi. Son olarak toplam hacim 15 µL olacak şekilde tüplere su ilavesi yapıldı. miRNA ifade seviyesi RNU6'yla ve genlerin ekspresyon seviyeleri gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) ile normalizasyon için kullanıldı.

mRNA ve miRNA cDNA numuneleri spesifik primerler kullanılarak eş zamanlı PZR (Rotor-Gene Q, QIAGEN) cihazında PZR tüplerinde çoğaltıldı. mRNA'ların ısı profili kitin önerdiği 1 döngü (95 °C'de 3 dk.), 40 döngü (95 °C'de 15 sn., 60 °C'de 1 dk.) olarak ayarlandı. miRNA'lar için reaksiyonun termal koşulları 1 döngü (95 °C'de 20 sn.), 40 döngü (95 °C'de 1 sn., 60 °C'de 10 sn.) olacak şekilde belirlendi. Her cDNA numunesi, üç kez çalıştırıldı. Optik ölçümler otomatik olarak cihaz tarafından yapıldı ve eş zamanlı PZR amplifikasyon eğrisi elde edildi. Eğrilerdeki arka okumalar için eşik değeri belirlendi ve Ct (Eşik döngüsü-Cycle threshold) değerleri bulundu. Amplifikasyonun ardından ekspresyon seviyeleri, miRNA için RNU6, genler için GAPDH Ct değerlerine normalize edilerek karşılaştırılmalı Δ Ct metodu ile hesaplandı. Hücre hatları arasındaki anlamlı farklılık Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

BÖLÜM III

3. BULGULAR

3.1 miRNA Veri Seti ve İstatistiksel Analiz

Lokelize prostat kanseri ve normal olarak normal veya tümöre komşu (TK) (BPH ve sağlıklı) prostat insan dokusu örnekleri içeren beş miRNA mikrodizi veri seti GEO (Barrett ve diğerleri, 2013) veri tabanından tespit edilmiştir. Seçilen veri setleri “GSE” kodlarıyla Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Kullanılan miRNA veri setleri

GEO-ACC	TOPLAM ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK TANIMI	NORMAL ÖRNEK SAYISI	NORMAL ÖRNEK TANIMI
GSE76260	64	32	Prostat kanseri dokusu	32	TK. BPH dokusu
GSE21036	127	99	Prostat kanseri dokusu	28	TK. BPH dokusu
GSE60117	77	56	Prostat kanseri dokusu	21	Normal prostat dokusu
GSE36803	42	21	Prostat kanseri dokusu	21	Sağlıklı prostat dokusu
GSE64318	54	27	Prostat kanseri dokusu	27	TK. Sağlıklı prostat dokusu

Veri setlerinde örnek grupları (prostat kanser ve normal) arasında ifadesi anlamlı değişen genlerin belirlenmesinde bağımsız t-testi analizi GEO2R’da (Barrett ve diğerleri, 2013) gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesinde çalışmaların veri setinde yer alan metastatik prostat kanseri, ilaca dirençli prostat kanseri, hücre hattı ve serum örnekleri çıkarılmıştır. Veri setlerinde Log2 transformasyon yapılmayan veriler için transformasyon GEO2R’da gerçekleştirildi.

Analiz sonuçları her veri seti için ayrı Excel dosyalarına aktarıldı. GEO (Barrett ve diğerleri, 2013) veri tabanından GLPxxx numaralı veri setleriyle ilişkili Agilent (GSE21036-GPL8227, GSE60117-GPL13264, GSE64318- GPL8227), Illumina (GSE76260- GPL8179) ve Affymetrix (GSE36803- GPL8786) platformlardan Probe ID’lerin gen isimleri karşılıkları bulunmuştur.

Oluşturulan beş excel dosyalarındaki örnekler iki gruba ayrıldı ve grupların ortalaması alınarak prostat kanseri doku örnekleri ve normal doku örnekler arasındaki kat değişimi durumları hesaplandı. Veri setlerinde p-value <0,01 filtreleme sonucunda sadece ortak miRNA (hsa-miR-153-3p, hsa-miR-183-5p ve hsa-miR-25-3p) elde edildi. Veri setlerinde ifadesi değişen ortak miRNA’ların p-değeri ve kat değişimi Tablo 3’te gösterilmiştir.

Tablo 3. Veri setlerinde ortak bulunan miRNA'ların p-değeri ve kat değişimi tablosu

miRNA (P<0,01)		hsa-miR-153	hsa-miR-183	hsa-miR-25
GSE21036	P- DEĞER	2,35E-16	9,97E-15	3,49E-12
GSE36803	P- DEĞER	1,17E-06	5,28E-03	1,62E-06
GSE60117	P- DEĞER	3,01E-03	2,59E-03	4,46E-11
GSE64318	P- DEĞER	1,69E-03	3,34E-04	4,82E-03
GSE76260	P- DEĞER	9,65E-03	1,31E-03	1,58E-03
GSE21036	logFC	2,2	1,71	0,74
GSE36803	logFC	2,17	0,92	1,01
GSE60117	logFC	0,35	0,34	0,64
GSE64318	logFC	0,91	1,63	0,57
GSE76260	logFC	0,83	0,56	0,14
miRNA SEKANSI		TTGCATAGTCACAAAAG TGA	ATGGCACTGGTAGAAT TCA	ATTGCACTTGCTCTCG GTC

3.1.1 Değişen miRNA'ların hedef genleri

Aday 3 miRNA (hsa-miR-153-3p, hsa-miR-183-5p ve hsa-miR-25-3p)'nin hedef genleri TargetScan (McGeary ve diğerleri, 2019), miRWalk (Sticht ve diğerleri, 2018) ve miRDB (Chen ve Wang, 2020) platformları kullanılarak tespit edilmiştir. TargetScan'de hsa-miR-183-5p arama sonucunda hsa-miR-183-5p.1 ve hsa-miR-183-5p.2 ulaşılmıştır. “1” ve “2” sayıları olgun miRNA'nın iki farklı bölgeden ifade olmuş iki farklı pre-miRNA'ya ait olduğunu göstermektedir (Bartel, 2004). hsa-miR-183-5p'nin arama sonucunda ulaşılan iki farklı hedef gen listeleri bir araya getirildi. Diğer miRNA'lar ile eşleşen hedef genler eşleşme puanlarıyla beraber her miRNA için ayrı excel dosyalarına aktarıldı.

TargetScan'de 0-1 arasındaki “Aggregate PCT” puanına >0,80 ve >0,95, 0-1 puan aralığına sahip miRWalk'ta “bindingp” >0,80, 0-100 tahmin puanı gösteren miRDB'de “target score” >60 filtrelemesi uygulandı.

hsa-miR-183-5p için TargetScan'de “aggregate PCT” puanı >95 filtrelemesi sonucu az sayıda gen içeriyordu. Bu yüzden TargetScan'de sadece “aggregate PCT” puanı >80 filtrelemesi kullanıldı.

Belirlenen puan filtrelemeleri sonucunda platformlarda ortak;

hsa-miR-153-3p = 95 gen

hsa-miR-183-5p = 65 gen

hsa-miR-25-3p = 53 gen bulundu.

Ayrıca miRNA'ların hedef genleri birbiriyle kıyaslanması sonucu NUDT4, QKI genleri hsa-miR-183-5p ve hsa-miR-153-3p miRNA'larının, DMXL1, LHFPL2 genleri hsa-miR-183-5p ve hsa-miR-25-3p miRNA'larının ortak hedefi olarak bulunmuştur.

3.1.2 Değişen miRNA'ların hedef genlerinin GO ve KEGG analizi

miRNA (hsa-miR-153-3p, hsa-miR-183-5p ve hsa-miR-25-3p)'ların hedef gen listeleri ayrı ayrı DAVID (Huang ve diğerleri, 2009) 6.8 versiyonuna yüklendi. DAVID'de GO ve KEGG analizi sonucunda p-değeri'ne göre 0,05 filtrelemesi uygulandı ve sonuçlar tablo halinde Ek-1'de gösterildi. hsa-miR-183-5p hedef genlerinin yolak analizi sonucunda anlamlı p-değeri bulunamamıştır.

3.2 mRNA Veri Seti İncelenmesi

GEO veri tabanından beş gen ekspresyon veri seti (GSE32448 (DeRosa ve diğerleri, 2012), GSE32571 (Kuner ve diğerleri, 2013), GSE69223(Meller ve diğerleri, 2016), GSE68555(Y. P. Yu ve diğerleri, 2004), GSE6956(Wallace ve diğerleri, 2008)) belirlendi ve örnek bilgileri Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. GEO veri tabanından elde edilen mRNA veri setlerinin tablosu

GEO-ACC	TOPLAM ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK TANIMI	NORMAL ÖRNEK SAYISI	NORMAL ÖRNEK TANIMI
GSE3325	9	5	Prostat kanseri dokusu	4	BPH dokusu
GSE46602	46	36	Prostat kanseri dokusu	10	BPH dokusu
GSE32448	80	40	Prostat kanseri dokusu	40	TK. Normal prostat dokusu
GSE32571	98	59	Prostat kanseri dokusu	39	TK. BPH prostat dokusu
GSE69223	30	15	Prostat kanseri dokusu	15	TK. Normal prostat dokusu
GSE32982	6	3	Prostat kanseri dokusu	3	TK. BPH prostat dokusu
GSE68555	82	62	Prostat kanseri dokusu	20	Normal prostat dokusu
	102	51		51	TK. Normal prostat dokusu
GSE6956	28	14	Prostat kanseri dokusu	14	TK. Normal prostat dokusu

mRNA ve miRNA veri setlerinde normal doku veri seti olarak çoğunluk olarak prostat kanseri hastalarından alınan normal dokular bulunmaktadır. Böylece çalışmaya sadece normal doku olarak kanser hastalarından alınan tümöre komşu (BPH ve normal) dokularla devam edilmesine karar verildi. Seçilen mRNA veri setleri Tablo 5’te gösterilmiştir.

Tablo 5. Kullanılan mRNA veri setleri

GEO-ACC	TOPLAM ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK TANIMI	NORMAL ÖRNEK SAYISI	NORMAL ÖRNEK TANIMI
GSE32448	80	40	Prostat kanser dokusu	40	TK. Normal prostat dokusu
GSE32571	98	59	Prostat kanser dokusu	39	TK. BPH dokusu
GSE69223	30	15	Prostat kanser dokusu	15	TK. Normal prostat dokusu
GSE68555	102	51	Prostat kanser dokusu	51	TK. Normal prostat dokusu
GSE6956	28	14	Prostat kanser dokusu	14	TK. Normal prostat dokusu

Veri setlerinde Kriterlere uygun seçilen veri setlerine (GSE32448, GSE69223, GSE68555, GSE6956) excel’de bağımlı t-test analizi gerçekleştirildi. GSE32571 veri setinde örnekler arasında eşleşme sağlanamadığı için t-test analizi GEO2R’da gerçekleştirilmiştir. Veri setlerinin analiz sonuçları ayrı ayrı Excel dosyalarına aktarılarak q-değer hesaplamaları yapılmıştır.

Her veri setinde q-değerine göre anlamlı ($<0,05$) olarak değişen genler, düzenlenmelerine göre listeye alındı ve en az 3 veri setinde anlamlı bulunan genler aday gösterildi. İfadesi değişen genler (DEG)’in ifadesi aşağı veya yukarı düzenlenen genlerin listesi Ek-2’te gösterilmiştir.

Analiz sonucu en az üç veri setinde ifadesi anlamlı olarak değişen 901 (371 ifadesi yukarı yönde düzenlenmiş, 530 ifadesi aşağı yönde düzenlenmiş) ortak gen bulunmuştur.

3.3 miRNA Veri Setlerinin Yeniden İncelenmesi ve Analizi

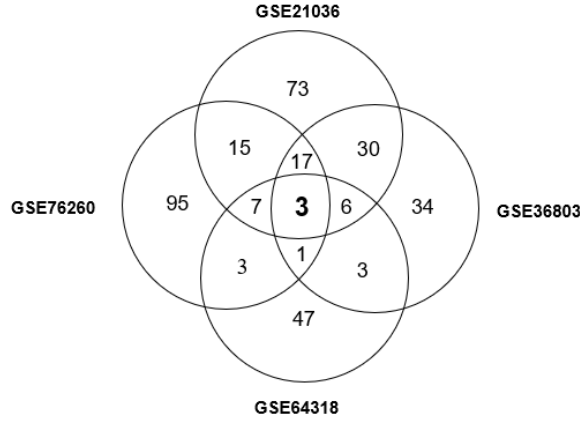
mRNA veri setlerinin incelenmesi sonucunda çalışmaya sadece normal doku olarak tümöre komşu (BPH ve normal) dokularla devam edilmesine karar verilmiştir. Böylece miRNA veri setleri tekrar incelenmiş ve uygun olmayan veri setleri çıkarılarak analize devam edilmiştir. Seçilen miRNA veri setleri Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6. Yeniden seçilen miRNA veri setleri tablosu

GEO-ACC	TOPLAM ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK TANIMI	NORMAL ÖRNEK SAYISI	NORMAL ÖRNEK TANIMI
GSE76260	52	26	Prostat Kanseri dokusu	26	TK. BPH prostat dokusu
GSE21036	56	28	Prostat Kanseri dokusu	28	TK. BPH prostat dokusu
GSE36803	42	21	Prostat Kanseri dokusu	21	TK. BPH prostat dokusu
GSE64318	54	27	Prostat Kanseri dokusu	27	TK. Sağlıklı prostat dokusu

GEO veri tabanından elde edilen veri setlerine (GSE32448, GSE32571, GSE69223, GSE68555, GSE6956) excel’de bağımlı t-test uygulanmıştır. Daha sonra veri setlerinin analiz sonuçlarına q-değer hesaplamaları yapılmıştır. İstatistiksel olarak ifadesi anlamlı ($<0,05$) değişen miRNA’lar her veri seti için belirlendi. Veri setlerinin değişen miRNA listeleri karşılaştırıldı ve tüm veri setleri için ortak olan miRNA’lar gösterildi. Veri setlerinde ifadesi anlamlı değişen miRNA’lar Ek-3’te gösterilmiştir.

İstatistiksel analiz sonucu GSE76260’da 141 tane, GSE21036’da 144 tane, GSE36803’da 94 tane, GSE64318’da 70 tane prostat kanseri dokularında ifadesi değişen miRNA tespit edilmiştir. Veri setlerinde gen ifadesi değişen miRNA (DEM)’lerin belirlenmesi için Venny (OLIVEROS ve C., 2007) 2.1 versiyonu aracılığıyla venn şeması kullanılmıştır, Şekil 4’te gösterilmiştir.



Şekil 4. GSE76260, GSE21036, GSE36803 ve GSE64318 miRNA gen anlatım omik verilerinden elde edilen DEM sayılarının venn şeması

Dört veri setinde 3 tane ortak DEM (hsa-miR7-5p, hsa-miR221-5p ve hsa-miR-153-3p)'lar biyobelirteç aday olarak gösterilmiştir.

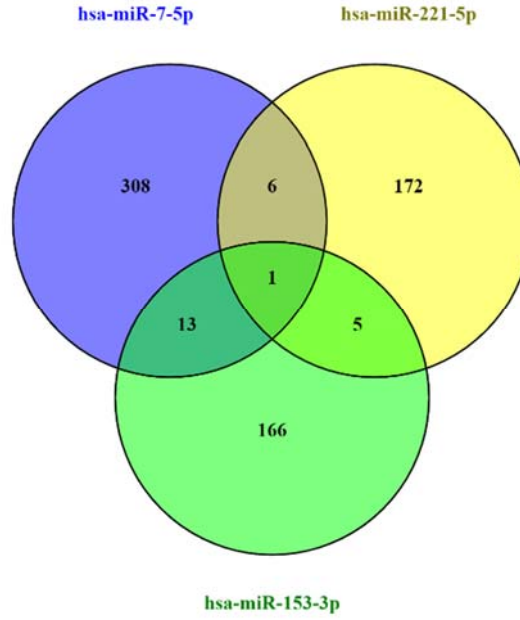
3.3.1 Aday miRNA'ların hedef genlerinin bulunması

miRNA (hsa-miR7-5p, hsa-miR-221-5p ve hsa-miR-153-3p)'ların hedef gen tahminlerinde TargetScan, miRWalk ve miRDB platformları kullanılmıştır. hsa-miR-221-5p için TargetScan'de sonuç alınamamıştır. Bu yüzden TargetScan platformu çıkarılmıştır, ifadesi değişen miRNA'ların hedef genleri miRWalk ve miRDB ile tespit edilmiştir.

Hedef genler için miRWalk'da "bindingp" >0,80, miRDB'de "target score" >60 filtrelemesi uygulandı. Platform sonuçları miRNA'lara özgü excel dosyalarına aktarılmıştır ve hedef genleri için iki platformda ortak olan genler belirlenmiştir. Aday miRNA'ların hedef genleri Ek-4'te gösterilmiştir.

Filtrelemeler sonucu iki platformda göre hsa-miR-7-5p 328'nin tane hsa-miR-221-5p'nin 184 tane ve hsa-miR-153-3p'nin 185 tane ortak hedef genleri bulunmaktadır. 3

miRNA'nın ortak olarak hedefleri Venny 2.1 versiyonu kullanılarak venn şemasında gösterilmiştir.



Şekil 5. miRNA'ların hedef gen sayılarının venn şeması

3.4 miRNA'ların Hedef Gen Listesinin DEG Listesiyle Karşılaştırılması

İfadesi değişen genlerin listesi örnek grupları karşılaştırılarak yukarı ve aşağı düzenlenmiş olarak iki gruba ayrılan ifadesi değişen genlerin listesi miRNA'ların hedef genleriyle karşılaştırıldı. Elde edilen ortak genler aşağıda tabloda gösterilmiştir.

Tablo 7. Prostat kanseri dokularında ifadesi yukarı(A) ve aşağı(B) yönde değişen genlerle belirlenen miRNA'ların hedef genleriyle karşılaştırılması sonucu elde edilen ortak genler

(A)

hsa-miR-7-5p	hsa-miR-153-3p	hsa-miR-221-5p
ARF4	ATP8A1	ABCG1
CAMKK2	CAMKK2	LIG3
GSPT1	PGM3	LPCAT3
LRRC8E	TRIM36	RAB3B
PGM3		SLC7A1
RUSC1		SPTBN2
TMEM97		

(B)

hsa-miR-7-5p	hsa-miR-153-3p	hsa-miR-221-5p
ADCY9	CCND1	CAMK2G
BNC2	CDC42BPA	COL4A1
CDC14B	ITGB1	DMD
CLIP1	LPAR1	DSE
COX11	PRNP	MEF2C
DPYSL2	SH3PXD2A	PIK3R1
DPYSL3	TP63	TP53INP2
EIF4EBP2		
GATA5		
GLG1		
LPP		
MYLK		
PARVA		
PDE4D		

RBMS1

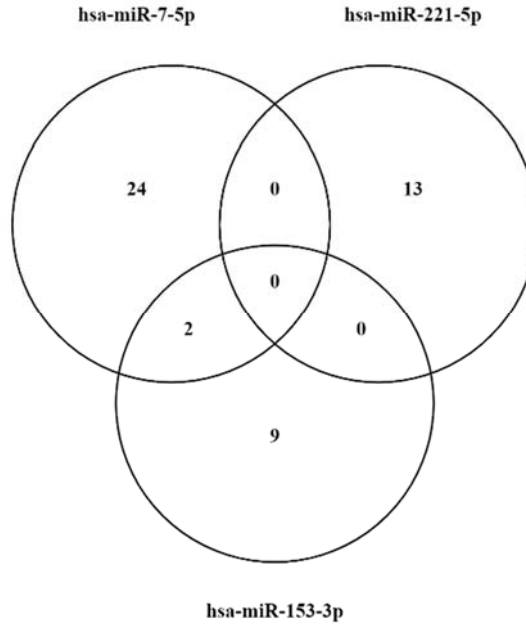
SLC24A3

TFPI

TGFB2

ZMAT3

miRNA'ların hedef genleri ve değişen genler karşılaştırıldığında 50 ortak gen bulunmuştur. Ayrıca, genlerden iki tanesi (CAMKK2 ve PGM3), hsa-miR-7-5p ve hsa-miR-153-3p'nin ortak hedef gen listesinde çıkmıştır (Şekil 7).



Şekil 6. miRNA'ların hedef genleri ve değişen genler karşılaştırıldığında elde edilen ortak genlerin venn şeması

3.4.1 Ortak genlerin GO ve KEGG analizleri

Karşılaştırma sonucu elde edilen ortak 50 gen DAVID 6.8 versiyonuna yüklendi. DAVID biyolojik süreç (BP) ve yolak analiz sonucunda p-değeri'ne göre 0,05 filtrelemesi uygulandı ve sonuçlar tablo halinde Ek-5'te gösterilmiştir.

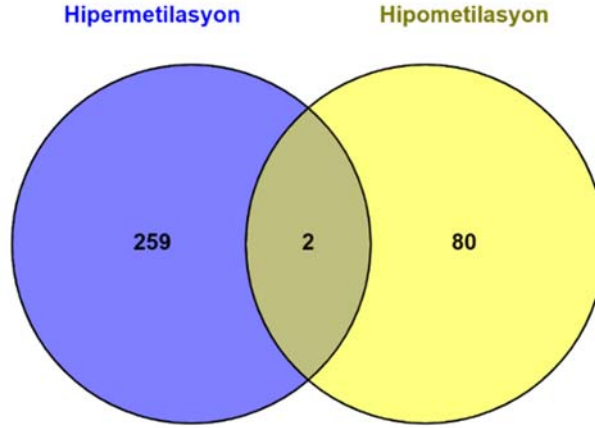
3.5 Metilasyon Analizi

GEO veri tabanından kriterlere uygun seçilen GSE76938 seri matris dosyası indirilerek excel'e aktarıldı. Veri setine excel'de bağımlı t-test analizi gerçekleştirildi. Bulunan p-değerlerinin hata oranını düzeltmek için q-değerleri hesaplandı ve anlamlı q-değeri <0,05 filtrelemesi uygulandı. Delta mutlak değerlerine göre (0,15, 0,2, 0,25) filtrelemesi gerçekleştirildi. Sonuçlar değerlendirildiğinde q-değeri <0,05 ve $|\Delta| > 0,2$ filtrelemesine karar verildi ve prostat kanseri dokularında metilasyonu durumu değişen genler (MDDG) belirlendi. Elde edilen genler hipermetilasyon ve hipometilasyon olarak listelendi.

Tablo 8. Seçilen metilasyon verisi tablosu

GEO-ACC	TOPLAM ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK SAYISI	KANSER ÖRNEK TANIMI	NORMAL ÖRNEK SAYISI	NORMAL ÖRNEK TANIMI
GSE76938	126	63	Prostat Kanseri dokusu	63	TK. BPH prostat dokusu

Analiz sonucu PC dokularında 351 tane (261 hipermetilasyon, 82 hipometilasyon) genin metilasyon durumlarının değiştiği tespit edilmiştir. Metilasyon durumları değişen genlerin listesi Ek-6'da gösterilmiştir. Genlerin isoformlarının farklı durumlarında olup olmadığının incelenmesi için genlerin metilasyon durum listeleri Venny 2.1 versiyonu kullanılarak karşılaştırılmıştır.



Şekil 7. Genlerin anlamlı olarak değişen metilasyon durum listelerinin sayılarını gösteren venn şeması

Karşılaştırma sonucu metilasyon durumları değişen 2 genin (ATP2B4, TNRC6B) hem hiper hem hipo metilasyon olarak düzenlendiği görülmüştür.

3.5.1 Metilasyon durumu değişen gen listesinin ekspresyonu değişen genlerin listesiyle karşılaştırılması

İfadesi değişen genlerin yukarı ve aşağı düzenlenmiş olarak ayrılan listeleri metilasyon durumu (hipermetilasyon ve hipometilasyon) değişen gen listesiyle karşılaştırıldı ve Tablo 9'da ortak genler gösterilmiştir.

Tablo 9. MDDG listesiyle DEG listesinin karşılaştırılması sonucu ortak genlerin tablosu

	HİPERMETİLASYON OLAN GENLER		HİPOMETİLASYON OLAN GENLER
YUKARI REGÜLE GENLER	CAMKK2		ATP6V0E2
	TMEM97		TMEM8A
	DEAF1		GPR160
	SLC44A4		RAC3
	SLC25A39		
AŞAĞI REGÜLE GENLER	PRNP	TBC1D1	ATP2B4
	LMNA	MAML2	
	SPG20	CCND2	
	LMO4	DSE	
	S100A6	PEX14	
	NMI	CLIP1	
	RHOQ	ATP2B4	
	AKR1B1	DENND5A	
	ANXA6	FLNA	
	BTG3	LGALS1	
	CLIP4	MSN	
	SPATA6	SH3PXD2A	
	SVIL	DCHS1	
	MX1		

3.6 Metilasyon Durumu Değişen Gen Listesinin, DEM Ve DEG Listeleriyle Ortak Gen Belirlenmesi

Metilasyon durumları değişen genlerin listesiyle DEM ve DEG listesi birbiriyle karşılaştırılmıştır ve bulunan ortak gen aşağıda bilgileriyle Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. MDDG, DEM ve DEG listelerinin ortak genlerinin tablosu

	İFADE DEĞİŞİM DURUMU	METİLYASYON DURUMU	miRNA
TMEM97	Yukarı	Hipermetilasyon	hsa-miR-7-5p
CAMKK2	Yukarı	Hipermetilasyon	hsa-miR-7-5p, hsa-miR-153-3p
CLIP1	Aşağı	Hipermetilasyon	hsa-miR-7-5p
PRNP	Aşağı	Hipermetilasyon	hsa-miR-221-5p
SH3PXD2A	Aşağı	Hipermetilasyon	hsa-miR-221-5p
DSE	Aşağı	Hipermetilasyon	hsa-miR-153-3p

Veri analizleri sonucunda ifadesi değişen genlerle ilişkili miRNA hedef genleri ve metilasyon durumu değişen genleri kesişiminde aday altı gen bulunmuştur. Metilasyon durumları altı gen içinde hipermetile gösterilmektedir. Biyobelirteç potansiyeli taşıyabilecek aday miRNA'lar, literatürdeki çalışmaların incelenmesi yapılmıştır. Prostat kanserinde daha önce yukarı ifadesi gösterilmemiş miR-7-5p ile çalışmaya devam edilmiştir.

Prostat kanseri doku veri sonuçlarımıza göre miR-7-5p'nin yüksek ifadesi ve miR-7-5p'nin hedeflediği TMEM97, CAMKK2 genlerinin yukarı ifadeleri ve CLIP1'in aşağı ifadesi eş zamanlı PZR çalışması ile doğrulanmaya çalışılmıştır.

3.7 Seçilen miRNA ve Genlerin Eş Zamanlı PZR Sonuçları

3.7.1 RNA izolasyon sonuçları

RNA izolasyonu sonrasında elde edilen toplam RNA numunelerinin konsantrasyonları nanodropla ölçülmüştür ve sonuçlar aşağıdaki Tablo 11'de gösterilmiştir. RNA saflığı protokoldeki değerlere göre kabul edildi.

Tablo 11. Elde edilen toplam RNA izolasyonu örneklerinin nanodrop sonuçları

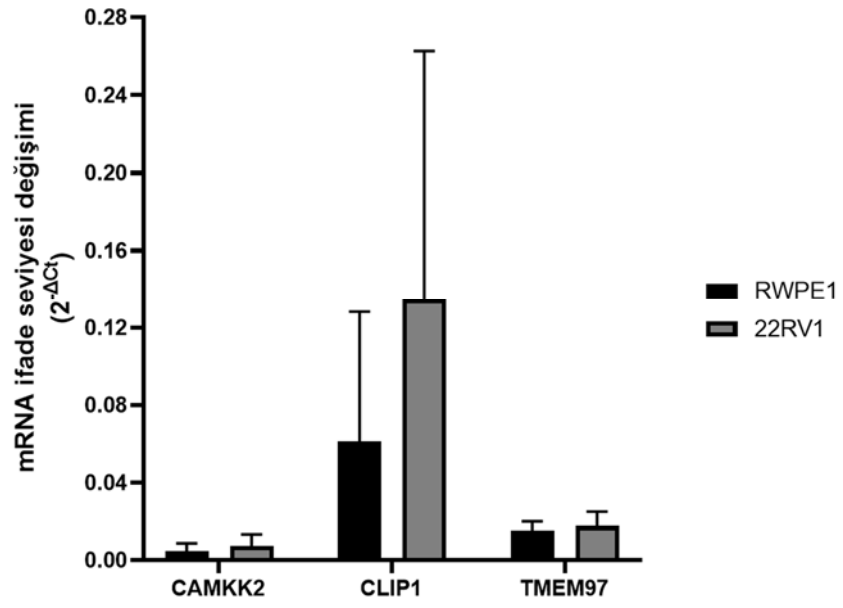
HÜCRE HATTI	NG/UL	260/280
22RV1 P25	199,89	2,08
22RV1 P22	306	2,18
22RV1 P19	138,08	1,96
RWPE-1 P10	169,79	2,03
RWPE-1 P16	518,7	2,06
RWPE-1 P18	139	2,04

3.7.2 Eş zamanlı PZR sonuçlarının hesaplanması

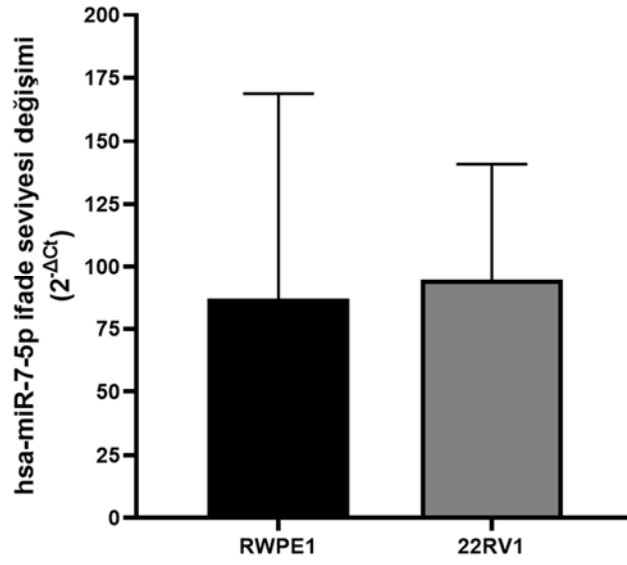
Eş zamanlı PZR 3 tekrar 3 replika olarak gerçekleştirildi. Eş zamanlı PZR sonucu elde edilen amplifikasyon eğrilerine eşik değeri belirlenerek Ct (cycle threshold) değerleri oluşturuldu. miRNA için RNU6, genler için GAPDH Ct değerlerine normalize edilerek ΔCt hesaplandı. Bulunan $2^{-\Delta Ct}$ değerleri deney tekrarları için Tablo 12’de gösterilmiştir. Ardından ekspresyon seviyelerinin karşılaştırılması için Mann-Whitney U analizi yapıldı.

Tablo 12. Örneklerin ΔCt ve $2^{-\Delta Ct}$ hesaplamalarının sonuç tabloları

HÜCRE HATTI	RWPE1				22RV1			
ÖRNEKLER	CAMKK2	CLIP1	TMEM97	miR-7-5p	CAMKK2	CLIP1	TMEM97	miR-7-5p
$2^{-\Delta Ct}$	0,005	0,061	0,015	87,046	0,007	0,135	0,018	94,438



Şekil 8. Eş zamanlı PZR analiz sonucu prostat hücre hatlarında genlerin ifade seviyeleri



Şekil 9. Eş zamanlı PZR analiz sonucu prostat hücre hatlarında hsa-miR-7-5p'nin ifade seviyeleri

$2^{-\Delta Ct}$ hesaplamaları sonucunda iki hücre hattı arasında genler ve miRNA karşılaştırılmıştır. İki grup arasında karşılaştırma Mann-Whitney U uygulanarak gerçekleştirildiğinde anlamlı ($p < 0,05$) bir sonuç elde edilememiştir (Tablo 13.).

Tablo 13. Genlerin ve miR-7'nin ifade seviyelerinin hücre hatları arasında karşılaştırma Mann-Whitney U sonucu

	P-DEĞERİ
CAMKK2	0,7
CLIP1	0,4
TMEM97	1,00
hsa-miR-7-5p	1,00

BÖLÜM IV

4. TARTIŞMA

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen kanser ve ölüm oranı en yüksek kanser türüdür. Prostat kanseri, erken evrelerde asemptomatik olduğundan geç tespit edilmesi, kanserin ileri seviyelere ulaşmasına ve iyileşme sürecinin uzamasına neden olmaktadır. PCa hastalar arasında, diğer tümörler arasında ve tümörün kendi içerisinde heterojenliğe sahip olması kansere özel tanı ve teşhisleri zorlaştırmaktadır.

Hastalar arasında daha önce yapılan birçok çalışmalarda tekrarlayan genlerin (ERG, PTEN, SPINK1 ve EZH2 gibi) olduğu belirlenmesine rağmen klinik uygulamalarda hastaların kanser heterojenliğine karşı yeterli prognostik etki gösterememiştir. Özellikle primer kanserde ve kanserin karakterizasyonunda çoklu gen imzalarının hastalığı tespit etme başarısı oldukça düşüktür. Kanser sürekli kendini yenilemesi ve evrimleşmesi ile farklı klonlarının oluşması tümörün kendi içerisinde heterojenliğini sağlamaktadır. Ayrıca aynı hastada birbirine yakın iki farklı tümörler arasındaki benzerliklerin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalarda eksiktir (Tolkach ve Kristiansen, 2018). Tüm bunlar ele alındığında prostat kanserinin özellikle erken evrelerde tanısının çok büyük bir önemi olduğu ve hastalığın oluşmasına neden olan genler ve genleri etkileyen mekanizmalar üzerine daha çok çalışma yapılması gerektiği anlaşılmaktadır.

Bu amaçla tez çalışmamız prostat kanseri ve kansere komşu kansersiz doku veri setleri meta analiz ile karşılaştırılarak değişen mRNA, miRNA ve metilasyon durumlarını belirlemiştir. Bu doğrultuda birincil prostat kanserinde erken tanıda potansiyel hedef moleküller belirlemek amaçlanmaktadır. Analiz sonucunda anlamlı olarak ifadesi, metilasyon durumu değişen ve aday gösterilen miRNA'lerden birinin hedefi olan

konsensüs aday genler belirlendi. Aday moleküllerin biyobelirteç potansiyeli eş zamanlı PZR ile incelenmiş ve literatür çalışmalarıyla tartışılmıştır.

4.1 İfadesi Değişen miRNA'ların Biyobelirteç Potansiyeli

Çalışmada prostat kanseri doku verilerinin tümöre komşu normal (BPH ve sağlıklı) karşılaştırma analizi miR-221-5p'nin ifadesinin önemli ($q < 0,05$) ölçüde düşük olduğunu göstermektedir. Literatür incelendiğinde birincil prostat kanseri kansere komşu normal doku veri setlerine kıyasla miR-221-5p ve miR-221-3p prostat kanser dokularında anlamlı ($p < 0.001$) olarak düşük ifade olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda, prostat kanser hücrelerinin çoğalması ve gelişimiyle ilişkili olduğu gösterilmektedir (Kiener ve diğerleri, 2019). miR-221-5p'nin tümör baskılayıcı SOC1 ailesini hedefleyerek tümör büyümesine ve gelişimine katkıda bulunduğu, epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) ile ilgili genleri düzenlediği rapor edilmektedir (Shao, Ma, Zhang ve Zhu, 2018). Prostat kanseriyle ilişkili diğer çalışmalar (Coarfa ve diğerleri, 2016; Tong ve diğerleri, 2009) sonuçlarımızla uyumlu olduğunu bildirmektedir.

Prostat kanseri örneklerinde önemli seviyede düşük ifade edilmesi miR-221-5p'nin kanserde potansiyel biyobelirteç olabileceği düşündürmektedir (Leidinger ve diğerleri, 2016; T. Li ve diğerleri, 2012; Rao ve diğerleri, 2020; J. Shen ve diğerleri, 2012).

Çalışmada prostat kanser doku tüm verileri tümöre komşu normal verilerine göre miR-153-5p'nin yüksek ifade olduğunu göstermektedir. Literatür incelendiğinde sonuçlarımız ile uyumlu, veri çalışmasında miR-153'un kanser dokularında tümöre komşu prostat dokularına göre ifadesinin arttığı ve prostat hücrelerinde PTEN tümör baskılayıcı geni hedefleyerek tümörün çoğalmasına destek olduğu bildirilmiştir (Wu, He, He ve Mao, 2013). Başka bir çalışmada TCGA alınan veri setinde prostat kanserinde hsa-miR-153-2 aşırı ifade olduğu rapor edilmiştir (Xiaoli, Yawei, Lianna, Haifeng ve Hui, 2015).

Buna karşılık farklı kanser türlerinde düşük olduğu görülmektedir. Meme kanseri doku örneklerinde önemli derecede düşük ifadesi gösterilmiş ve kanserin ilerlemesinin azalması gözlenmiştir (W. Li, Zhai, Zhao ve Lv, 2015). Mir-153 ADAM19 geniyle

ters korele olduğu ve miR-153'ün aşırı ifadesinin akciğer tümör hücrelerinde hücre göçünü ve istilasını engellediği bildirilmiştir (Shan, Shen, Wang, He ve Duan, 2015).

Çalışmamız prostat kanser doku tüm verilerinde miR-7-5p'nin yüksek ifade olduğunu göstermektedir. Kanserde miR-7'nin aşırı ifadesinin transkripsiyon faktörü KLF4'ü hedef aldığı ve KLF4/PI3K/Akt/p21 yolağını baskılaması ile tümör büyümesini önlediği bildirildi (Chang ve diğerleri, 2015). Bununla birlikte KLF4'ün miR-7'nin transkripsiyonunu destekleyerek kendi ifadesini baskıladığı görülmüş, prostat kanserinde karşılıklı düzenleme geri besleme (feedback) ilişkisinin bozulması ile miR-7'nin ifadesinin azaldığı bildirilmiştir. Bu nedenle geri besleme döngüsünün düzenlenmesi PCa tedavisinde önerilmiştir (Wei ve diğerleri, 2018). Tümör hücrelerinde miR-7'nin hücre çoğalmasından ve sağ kalımla ilişkili EGFR sinyalini düzenlemesi (Kalinowski ve diğerleri, 2014; Webster ve diğerleri, 2009) nedeniyle kanser hücrelerinde ifadesinin arttırılmasının terapötik etki olacağı önerilmektedir (Kalinowski ve diğerleri, 2014). miR-7'nin diğer kanser türlerinde (tiroid (Kitano ve diğerleri, 2011), akciğer (Q. Li, Wu, Guo, Shi ve Li, 2019; N. Zhang ve diğerleri, 2013), meme (H. Zhang ve diğerleri, 2014), kolorektal (Xu, Chen, Qin ve Song, 2014)) tümör baskılayıcı olduğu bildirilmiştir. Buna karşılık, miR-7'nin aşırı ifadesinin meme kanserinin agresifleşmesiyle ilişkisi görülmüş ve metastatik meme kanserinde potansiyel terapötik hedef olabileceği önerilmiştir (Foekens ve diğerleri, 2008). Bununla birlikte böbrek (Z. Yu ve diğerleri, 2013) ve testis tümörlerinde (Mallik, Qin, Jia ve Zhao, 2021) miR-7 onkogen olarak bildirilmiştir.

miR-7'nin diğer kanser türlerindeki bu farklılığında miRNA'ların hedef genlerle baz eşleşimi her zaman tamamen tamamlayıcı olmaması etkili olabilmektedir (Kim, 2005), bu nedenle kanserdeki onkogen ve tümör baskılayıcı işlevleri kusurlu tohum eşleşmeleri (Broughton, Lovci, Huang, Yeo ve Pasquinelli, 2016) ile farklılık gösterebilir. Bununla birlikte, miRNA'ların ifadesini düzenleyen yeni mekanizmalar, gen ifade hızının artmasını sağlayan hızlandırıcıların (Enhancer), miRNA'ların sentezi üzerindeki etkileri rapor edilmiştir (Tang ve diğerleri, 2020; Xiao ve diğerleri, 2017). 31 kanser türünden farklı olarak akciğer adenokarsinomunda iki hızlandırıcı tarafından miR-28'in sentezinin düzenlediği görülmüştür, bu hızlandırıcı-miRNA etkileşimin tümöre özgü olabileceği ortaya koyulmuştur (Tang ve diğerleri, 2020).

Tüm çalışmalar değerlendirildiğinde *miR-7-5p'nin diğer kanser türlerinde ifadesinin yukarı ve aşağı düzenlenmesi, miR-7'nin hedef moleküler mekanizması anlaşılamadığını düşündürmektedir. Çalışmamız prostat kanserinde miR-7'nin aşırı ifade olması ile literatüre prostat kanseri için farklı düzenleme sunmaktadır. Tez sürecinde sonuçlarımıza destekleyici güncel yayınlanan in silico çalışmasında lenf bezlerinde metastatik prostat kanseri doku örneklerinin normal prostat dokularına kıyasla miR-7-5p'nin aşırı ifadesi ve miR-221-3p'nin düşük ifadesi olduğu bildirilmiştir (Pudova ve diğerleri, 2020).*

4.2 miR-7-5p'nin Hedef Genleri Ve Metilasyon Durumu

Çalışmamızda, prostat kanseri doku verileri tümöre komşu normal (BPH ve sağlıklı) doku verileri kıyaslandığında ifadesi değişen birçok gen tanımlanmıştır. miR-7-5p hedefi ve metilasyon durumu değişen genler tanımlandığında aday üç gen belirlenmiştir. CAMKK2, CLIP1 ve TMEM97 aday genlerinin miR-7-5p'in hedefi olduğu bulunmuştur ve tümör dokularında ifade düzeylerinde anlamlı ($q < 0,05$) CAMKK2, TMEM97 artış, CLIP1 azalış görülmüştür. Analiz sonuçlarında CAMKK2, CLIP1 ve TMEM97'nin metilasyon durumlarının yüksek olduğu görülmüştür.

Literatürde prostat kanserinde CAMKK2'nin ifadesinin yukarı yönde değiştiği (FU ve diğerleri, 2015; Penfold ve diğerleri, 2018; Shima ve diğerleri, 2012) bildirilmiştir, sonuçlarımızla uyumlu olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, ilaca dirençli prostat kanserinde kanserin nüksünü desteklediği ve CAMKK2 geninin belirgin bağlanma bölgeleriyle AR'nin hedefi olduğu gösterilmiştir (Frigo ve diğerleri, 2011). Glioma beyin tümöründe CAMKK2'nin yüksek ifadesinde, genin promotör bölgesinin hipometilasyon durumu etkili olduğu bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2016).³

Çalışmada TMEM97'nin prostat kanseri doku verilerinde anlamlı ($q < 0,05$) olarak yüksek ifade olduğu bulundu. Literatür incelendiğinde sonucumuzla uyumlu olarak prostat kanserinde TMEM97'nin aşırı ifade olduğu rapor edilmiş (Ramalho-Carvalho ve diğerleri, 2018). Diğer kanser çalışmalarında, beyin tümöründe TMEM97 ifadesinin aşağı yönde düzenlenmesinin hücre invazyonuna ve hücre göçünün azalmasına neden olduğu bildirilmektedir (Qiu ve diğerleri, 2015), akciğer kanserinde

TMEM97'nin mir-7 tarafından hedeflenerek ifadesinin azaldığı görülmektedir (Lei ve diğerleri, 2017).

Çalışmada CLIP1'in prostat kanseri doku verilerinde aşağı ifade olduğu gösterilmiştir. CLIP1'in LTK etkileşimiyle akciğer tümöründe onkogen olduğu rapor edildi (Izumi ve diğerleri, 2021).

Literatürde diğer kanser ve prostat kanserinde CAMKK2, CLIP1 ve TMEM97'nin miR-7-5p ile ilişkisinin bildirildiği çalışma bulunmamaktadır. Tez çalışmamızda kanser türlerinde özellikle prostat kanserinde miR-7-5p'nin CAMKK2, CLIP1 ve TMEM97'nin ifadesi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

miR-7-5p ve CAMKK2, CLIP1 ve TMEM97 genleri arasındaki etkileşimin çalışmada korele olduğu görülmektedir. Literatür incelendiğinde birçok miRNA birden fazla geni hedeflemektedir. Bununla beraber, bir geni hedefleyen birçok miRNA olması (Peter, 2010) mRNA ve miRNA ilişkisinin karmaşıklığını ortaya koymaktadır. Genel olarak miRNA'ların hedef aldığı genin ifadesi aşağı yönde düzenlediği ya da genin transkripsiyonel inhibisyonunu gerçekleştirdiği bilinmektedir. Buna karşın miR-24-1'in DUSP16 ve ENO3 genlerini aktive ettiği ve kromatin durumunda farklılıkla doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, miR-24-1'in sitoplazmadaki işlevinin yanı sıra çekirdekte lokuslara bağlanma yoluyla gen ifadesini düzenleyebileceği öne sürülmüştür (Xiao ve diğerleri, 2017). miRNA'ların hedef genlerinin aktivasyonunu genlerin promotör bölgesi ile eşleşerek gerçekleştirdiği gösterilmektedir (Younger, Pertsemliadis ve Corey, 2009). Güncel bir makalede miRNA'ların çekirdekte aktive edici özellik göstermesi ile NamiRNA'lar olarak adlandırıldığı bildirilmektedir (Odame ve diğerleri, 2021).

Literatürde diğer kanser ve prostat kanserinde CAMKK2, CLIP1 ve TMEM97'nin hipermetile durumunda olduğu bildiren çalışma bulunmamaktadır. Tez çalışmamızda kanser türlerinde özellikle prostat kanserinde genlerin hipermetilasyon durumunda ve CAMKK2, CLIP1 ve TMEM97'nin ifadesi ile ilişkili olabileceğini sunulmaktadır.

Çalışmada aday genlerin yüksek ifade gösterdiği ve hipermetilasyon durumuyla ilişkili olduğu bulunmaktadır. Literatürde prostat kanseri üzerine güncel çalışma kanser örneklerinde DNA metilasyonun gen ifadesini yukarı yönde düzenleyiciliği bildirilmiştir (Rauluseviciute, Drabløs ve Rye, 2020).

4.3 miR-7-5p Ve Hedef Genlerinin Eş Zamanlı PZR Sonuçları

Çalışmada prostat kanser doku verilerinde farklı ifade olan miR-7-5p ve CAMKK2, TMEM97 ve CLIP1 hedef genlerinin doğrulanması eş zamanlı PZR çalışmasında gerçekleştirilmiştir. Validasyon çalışmasında aday genlerin ve miRNA'nın eş zamanlı PZR çalışması sonucunda prostat kanseri 22RV1 hücre hattının normal prostat RWPE-1 hücre hattına kıyasla ifadelerinde anlamlı ($p < 0,05$) olarak farklılık görülememiştir. Doğrulama çalışmamızda kullanılan örnek miktarının yetersizliği istatistiksel olarak anlamlılığı etkiyebilmektedir. Bununla birlikte, eş zamanlı PZR çalışmalarında çalışmalara bağlı olarak teknik farklılıklar görülebilmektedir, tüm örneklerin aynı anda analiz edilmesi önerilmektedir (Derveaux, Vandesompele ve Hellemans, 2009).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Prostat kanserinde, kanser türleri arasında erkeklerde akciğerden sonra yüksek ölüm oranı görülmektedir. Mevcut tanıların duyarlılığının erken evrelerde düşük olması, tümörün vakalar arasında ve kendi içindeki heterojenliği kanserin tanısını ve teşhisini zorlaştırdığı bilinmektedir. Erken tanı için önerilecek biyobelirteçler hastalığın geç teşhis edilmesini ve kanserin ilerlemesini önlemede büyük önem taşımaktadır. Biyobelirteç çalışmalarında multi-omik analizli yaklaşımlar kanser türünde potansiyel olabilecek moleküllerin belirlenmesinde daha geniş kapsamlı çalışmayı sağlamaktadır. Bu tezde veri tabanından gen ifade, miRNA ve metilasyon verisetleri elde edilerek lokalize prostat kanseri doku örnekleri ile tümöre komşu prostat dokuları arasında önemli ölçüde farklılık gösteren ifadeler belirlendi. Elde edilen farklı ifade olan genler, miRNA'lar ve metilasyon durumu değişen genler karşılaştırılarak konsensüs bir sonuç çıkarıldı. Literatür incelemesi doğrultusunda aday miRNA ve genler belirlendi. Son olarak, aday biyobelirteçlerin doğrulanması deneysel olarak gerçekleştirildi.

Çalışmamızda prostat kanser dokuları verilerinde sağlıklı tümöre komşu prostat dokulara kıyasla önemli ölçüde miR-153-3p, miR-7-5p ifadeleri yüksek ve miR-221-3p düşük bulundu. Çalışmamızda prostat kanser doku verilerinde ifadesi yukarı değişen CAMKK2, TMEM97 ve ifadesi aşağı değişen CLIP1 genlerinin miR-7-5p'nin hedef genleri ile ilişkisi gösterilmektedir. Literatürde miR-7-5p'nin hedef genleri ile ilişkisi CAMKK2, CLIP1, TMEM97 prostat kanseri ve diğer kanser çalışmalarında bildirilmemektedir. Bununla birlikte alt çalışmada prostat kanseri doku verilerinde miR-153-3p yukarı ve miR-221-3p'nin aşağı ifadelerinin literatürdeki çalışmalarla uyumluluk gösterdiği görülmektedir, potansiyel biyobelirteç olarak bildiren çalışmaları desteklemektedir.

İfadesi artan genlerin metilasyon durumunun değiştiği ve hipermetile oldukları gösterilmektedir. Daha önceki çalışmalarda bulduğumuz genlerle hipermetilasyon durumu arasındaki ilişki prostat kanserinde gösterilmemektedir. İfadesi değişen CAMKK2, CLIP1, TMEM97 genlerinin prostat kanserinde hipermetile durumda olduğunu çalışmamız sunmaktadır.

Elde edilen miR-7-5p'nin prostat kanserinde ifadesi değişen genlerle ilişkisi ve hipermetile durumlarının daha kapsamlı çalışmalarla biyobelirteç potansiyelinin artırılmasına ihtiyaç duymaktadır. Sonuçlarımızın gelecekteki çalışmalara destek sağlayacağını ve veri setleri arttırılarak daha geniş kapsamlı meta analiz çalışmalarıyla sonuçlarımızın doğrulanması ile prostat kanserindeki moleküler yapıların daha iyi anlaşılacağını dūřunmekteyiz. Bunun yanı sıra ileri çalışmalarla farklılık gōsteren moleküllerin farklı hūcre hatlarında veya tūmōr ve tūmōrle ilişkili doku ۆrnekleriyle deneysel çalışmalarla moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılması ۆnerilmektedir. Bōylece kanser prostatının erken tanı ve teşhisinde biyobelirteç potansiyeli yūksek moleküller hedeflenmektedir.

KAYNAKÇA

- Abate-Shen, C. ve Shen, M. M. (2000). Molecular genetics of prostate cancer. *Genes and Development*, 14(19), 2410–2434. doi:10.1101/GAD.819500
- Agarwal, V., Bell, G. W., Nam, J. W. ve Bartel, D. P. (2015). Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *eLife*, 4(AUGUST2015). doi:10.7554/ELIFE.05005
- Aitchison, A., Warren, A., Neal, D. ve Rabbitts, P. (2007). RASSF1A promoter methylation is frequently detected in both pre-malignant and non-malignant microdissected prostatic epithelial tissues. *The Prostate*, 67(6), 638–644. doi:10.1002/PROS.20475
- Alizadeh, M. ve Alizadeh, S. (2014). Survey of Clinical and Pathological Characteristics and Outcomes of Patients With Prostate Cancer. *Global Journal of Health Science*, 6(7), 49. doi:10.5539/GJHS.V6N7P49
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., ... Sherlock, G. (2000). Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nature genetics*, 25(1), 25. doi:10.1038/75556
- Aurilio, G., Cimadamore, A., Mazzucchelli, R., Lopez-Beltran, A., Verri, E., Scarpelli, M., ... Montironi, R. (2020, 10 Aralık). Androgen Receptor Signaling Pathway in Prostate Cancer: From Genetics to Clinical Applications. *Cells*. NLM (Medline). doi:10.3390/cells9122653
- Barrett, T., Wilhite, S. E., Ledoux, P., Evangelista, C., Kim, I. F., Tomashevsky, M., ... Soboleva, A. (2013). NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D991–D995. doi:10.1093/NAR/GKS1193
- Bartel, D. P. (2004, 23 Ocak). MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Cell*. Cell Press. doi:10.1016/S0092-8674(04)00045-5
- Bianco, F. J., Wood, D. P., Grignon, D. J., Sakr, W. A., Pontes, J. E. ve Powell, I. J. (2002). Prostate cancer stage shift has eliminated the gap in disease-free survival in black and white American men after radical prostatectomy. *Journal of Urology*, 168(2), 479–482. doi:10.1016/S0022-5347(05)64662-9

- Brase, J. C., Johannes, M., Schlomm, T., Haese, A., Steuber, T., Beissbarth, T., ... Sltmann, H. (2011). Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer. *International Journal of Cancer*, 128(3), 608–616. doi:10.1002/IJC.25376
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A. ve Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. doi:10.3322/caac.21492
- Brazma, A., Hingamp, P., Quackenbush, J., Sherlock, G., Spellman, P., Stoeckert, C., ... Vingron, M. (2001). Minimum information about a microarray experiment (MIAME)-toward standards for microarray data. *Nature genetics*, 29(4), 365–371. doi:10.1038/NG1201-365
- Broughton, J. P., Lovci, M. T., Huang, J. L., Yeo, G. W. ve Pasquinelli, A. E. (2016). Pairing Beyond the Seed Supports MicroRNA Targeting Specificity. *Molecular cell*, 64(2), 320. doi:10.1016/J.MOLCEL.2016.09.004
- Catalanotto, C., Cogoni, C. ve Zardo, G. (2016). MicroRNA in Control of Gene Expression: An Overview of Nuclear Functions. *International journal of molecular sciences*, 17(10). doi:10.3390/IJMS17101712
- Catalona, W. J., Richie, J. P., Ahmann, F. R., Hudson, M. A., Scardino, P. T., Flanigan, R. C., ... Southwick, P. C. (1994). Comparison of Digital Rectal Examination and Serum Prostate Specific Antigen in the Early Detection of Prostate Cancer: Results of a Multicenter Clinical Trial of 6,630 Men. *Journal of Urology*, 151(5), 1283–1290. doi:10.1016/S0022-5347(17)35233-3
- Catalona, W. J., Smith, D. S., Ratliff, T. L., Dodds, K. M., Coplen, D. E., Yuan, J. J. J., ... Andriole, G. L. (1991). Measurement of Prostate-Specific Antigen in Serum as a Screening Test for Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*, 324(17), 1156–1161. doi:10.1056/NEJM199104253241702
- Chakravarthi, B. V. S. K., Goswami, M. T., Pathi, S. S., Robinson, A. D., Cieşlik, M., Chandrashekar, D. S., ... Varambally, S. (2016). MicroRNA-101 regulated transcriptional modulator SUB1 plays a role in prostate cancer. *Oncogene 2016*

35:49, 35(49), 6330–6340. doi:10.1038/onc.2016.164

- Chang, Y. L., Zhou, P. J., Wei, L., Li, W., Ji, Z., Fang, Y. X. ve Gao, W. Q. (2015). MicroRNA-7 inhibits the stemness of prostate cancer stem-like cells and tumorigenesis by repressing KLF4/PI3K/Akt/p21 pathway. *Oncotarget*, 6(27), 24017–24031. doi:10.18632/oncotarget.4447
- Chen, Y. ve Wang, X. (2020). miRDB: an online database for prediction of functional microRNA targets. *Nucleic Acids Research*, 48(D1), D127. doi:10.1093/NAR/GKZ757
- Choi, J. K., Yu, U., Kim, S. ve Yoo, O. J. (2003). Combining multiple microarray studies and modeling interstudy variation. *Bioinformatics*, 19(suppl_1), i84–i90. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTG1010
- Chowdhury, H. A., Bhattacharyya, D. K. ve Kalita, J. K. (2020). (Differential) Co-Expression Analysis of Gene Expression: A Survey of Best Practices. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*, 17(4), 1154–1173. doi:10.1109/TCBB.2019.2893170
- Clark, T. G., Bradburn, M. J., Love, S. B. ve Altman, D. G. (2003). Survival Analysis Part I: Basic concepts and first analyses. *British Journal of Cancer*, 89(2), 232. doi:10.1038/SJ.BJC.6601118
- Claus, S., Berges, R., Senge, T. ve Schulze, H. (1997). Cell kinetic in epithelium and stroma of benign prostatic hyperplasia. *Journal of Urology*, 158(1), 217–221. doi:10.1097/00005392-199707000-00074
- Coarfa, C., Fiskus, W., Eedunuri, V. K., Rajapakshe, K., Foley, C., Chew, S. A., ... Mitsiades, N. (2016). Comprehensive proteomic profiling identifies the androgen receptor axis and other signaling pathways as targets of microRNAs suppressed in metastatic prostate cancer. *Oncogene*, 35(18), 2345–2356. doi:10.1038/ONC.2015.295
- Crawford, E. D. (2003). Epidemiology of prostate cancer. *Urology*, 62(6 SUPPL. 1), 3–12. doi:10.1016/j.urology.2003.10.013
- Curtis Nickel, J. (2011). Prostatitis. *Canadian Urological Association Journal*, 5(5), 306. doi:10.5489/CUAJ.11211

- Dalsgaard, K. (2010). Discovery of prostate cancer biomarkers by microarray gene expression profiling, 49–64.
- Das, C. J., Razik, A., Sharma, S. ve Verma, S. (2019). Prostate biopsy: when and how to perform. *Clinical radiology*, 74(11), 853–864. doi:10.1016/J.CRAD.2019.03.016
- DeRosa, C. A., Furusato, B., Shaheduzzaman, S., Srikantan, V., Wang, Z., Chen, Y., ... Petrovics, G. (2012). Elevated osteonectin/SPARC expression in primary prostate cancer predicts metastatic progression. *Prostate cancer and prostatic diseases*, 15(2), 150–156. doi:10.1038/PCAN.2011.61
- Derveaux, S., Vandesompele, J. ve Hellemans, J. (2009). How to do successful gene expression analysis using real-time PCR. *Methods*, 50, 227–230. doi:10.1016/j.ymeth.2009.11.001
- Dricu, A., Purcaru, S. O., Buteica, A. S., Tache, D. E., Daianu, O., Stoleru, B., ... Tataranu, L. G. (2012). DNA Methylation, Stem Cells and Cancer. *Methylation - From DNA, RNA and Histones to Diseases and Treatment*. doi:10.5772/53263
- El Bezawy, R., Cominetti, D., Fenderico, N., Zuco, V., Beretta, G. L., Dugo, M., ... Gandellini, P. (2017). miR-875-5p counteracts epithelial-to-mesenchymal transition and enhances radiation response in prostate cancer through repression of the EGFR-ZEB1 axis. *Cancer Letters*, 395, 53–62. doi:10.1016/j.canlet.2017.02.033
- Elek, J., Park, K. H. ve Narayanan, R. (2000). Microarray-based expression profiling in prostate tumors. *In Vivo (Athens, Greece)*, 14(1), 173–182.
- Eminaga, O., Hinkelammert, R., Abbas, M., Titze, U., Eltze, E., Bettendorf, O. ve Semjonow, A. (2013). High-Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia (HGPIN) and topographical distribution in 1,374 prostatectomy specimens: Existence of HGPIN near prostate cancer. *The Prostate*, 73(10), 1115–1122. doi:10.1002/PROS.22660
- Epstein, J. I. (2010, Şubat). An Update of the Gleason Grading System. *Journal of Urology*. J Urol. doi:10.1016/j.juro.2009.10.046
- Epstein, J. I., Egevad, L., Amin, M. B., Delahunt, B., Srigley, J. R. ve Humphrey, P.

- A. (2016). The 2014 international society of urological pathology (ISUP) consensus conference on gleason grading of prostatic carcinoma definition of grading patterns and proposal for a new grading system. *American Journal of Surgical Pathology*, 40(2), 244–252. doi:10.1097/PAS.0000000000000530
- Esteller, M. (2002). CpG island hypermethylation and tumor suppressor genes: a booming present, a brighter future. *Oncogene* 2002 21:35, 21(35), 5427–5440. doi:10.1038/sj.onc.1205600
- Etzioni, R., Penson, D. F., Legler, J. M., Di Tommaso, D., Boer, R., Gann, P. H. ve Feuer, E. J. (2002). Overdiagnosis due to prostate-specific antigen screening: Lessons from U.S. prostate cancer incidence trends. *Journal of the National Cancer Institute*, 94(13), 981–990. doi:10.1093/jnci/94.13.981
- Foekens, J. A., Sieuwerts, A. M., Smid, M., Look, M. P., De Weerd, V., Boersma, A. W. M., ... Martens, J. W. M. (2008). Four miRNAs associated with aggressiveness of lymph node-negative, estrogen receptor-positive human breast cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(35), 13021–13026. doi:10.1073/PNAS.0803304105
- Frigo, D. E., Howe, M. K., Wittmann, B. M., Brunner, A. M., Cushman, I., Wang, Q., ... McDonnell, D. P. (2011). CaM kinase kinase beta-mediated activation of the growth regulatory kinase AMPK is required for androgen-dependent migration of prostate cancer cells. *Cancer research*, 71(2), 528–537. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-2581
- FU, H., He, H. chan, Han, Z. dong, Wan, Y. ping, Luo, H. wei, Huang, Y. qiang, ... Zhong, W. de. (2015). MicroRNA-224 and its target CAMKK2 synergistically influence tumor progression and patient prognosis in prostate cancer. *Tumor Biology*, 36(3), 1983–1991. doi:10.1007/s13277-014-2805-0
- Gershon, D. (2002). An array of opportunities. *Nature* 2002 416:6883, 416(6883), 887–889. doi:10.1038/416885a
- Glas, A. M., Floore, A., Delahaye, L. J. M. J., Witteveen, A. T., Pover, R. C. F., Bakx, N., ... Van't Veer, L. J. (2006). Converting a breast cancer microarray signature into a high-throughput diagnostic test. *BMC genomics*, 7. doi:10.1186/1471-

- GLEASON ve F., D. (1966). Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother. Rep.*, 50, 125–128.
- Grino, P. B., Griffin, J. E. ve Wilson, J. D. (1990). Testosterone at high concentrations interacts with the human androgen receptor similarly to dihydrotestosterone. *Endocrinology*, 126(2), 1165–1172. doi:10.1210/endo-126-2-1165
- Grützmann, R., Boriss, H., Ammerpohl, O., Lüttges, J., Kalthoff, H., Schackert, H. K., ... Pilarsky, C. (2005). Meta-analysis of microarray data on pancreatic cancer defines a set of commonly dysregulated genes. *Oncogene*, 24(32), 5079–5088. doi:10.1038/SJ.ONC.1208696
- Haas, G. P. ve Sakr, W. A. (1997). Epidemiology of prostate cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 47(5), 273–287. doi:10.3322/canjclin.47.5.273
- Hajarnis, S., Lakhia, R. ve Patel, V. (2015). MicroRNAs and Polycystic Kidney Disease. *Polycystic Kidney Disease*, 313–334. doi:10.15586/CODON.PKD.2015.CH13
- Harris, W. P., Mostaghel, E. A., Nelson, P. S. ve Montgomery, B. (2009). Androgen deprivation therapy: Progress in understanding mechanisms of resistance and optimizing androgen depletion. *Nature Clinical Practice Urology*. Nature Publishing Group. doi:10.1038/ncpuro1296
- He, L. ve Hannon, G. J. (2004, Temmuz). MicroRNAs: Small RNAs with a big role in gene regulation. *Nature Reviews Genetics*. Nature Publishing Group. doi:10.1038/nrg1379
- Heinlein, C. A. ve Chang, C. (2004, Nisan). Androgen receptor in prostate cancer. *Endocrine Reviews*. Endocr Rev. doi:10.1210/er.2002-0032
- Hirata, H., Ueno, K., Shahryari, V., Deng, G., Tanaka, Y., Tabatabai, Z. L., ... Dahiya, R. (2013). MicroRNA-182-5p promotes cell invasion and proliferation by down regulating FOXF2, RECK and MTSS1 genes in human prostate cancer. *PloS one*, 8(1). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0055502
- Hong, F. ve Breitling, R. (2008). A comparison of meta-analysis methods for detecting

- differentially expressed genes in microarray experiments. *Bioinformatics*, 24(3), 374–382. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTM620
- Huang, D. W., Sherman, B. T. ve Lempicki, R. A. (2009). Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic acids research*, 37(1), 1–13. doi:10.1093/NAR/GKN923
- Ince, I., Ozcimen, E. ve Turan, A. (2019). Meta-analysis: A review article. *Anestezi Dergisi*, 27(1), 1–8. doi:10.5222/JARSS.2019.76476
- Irekpita, E., Achor, G. O. ve Alili, U. (2020). Assessment of the value of the different variants of abnormal digital rectal examination finding in predicting carcinoma of the prostate: a preliminary report of a two-center study. *African Journal of Urology*, 26(1), 1–5. doi:10.1186/S12301-019-0013-2/TABLES/2
- Izumi, H., Matsumoto, S., Liu, J., Tanaka, K., Mori, S., Hayashi, K., ... Goto, K. (2021). The CLIP1–LTK fusion is an oncogenic driver in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2021 600:7888, 600(7888), 319–323. doi:10.1038/s41586-021-04135-5
- Jansson, M. D. ve Lund, A. H. (2012). MicroRNA and cancer. *Molecular Oncology*. John Wiley and Sons Ltd. doi:10.1016/j.molonc.2012.09.006
- Johansson, J. E., Andrén, O., Andersson, S. O., Dickman, P. W., Holmberg, L., Magnuson, A. ve Adami, H. O. (2004). Natural history of early, localized prostate cancer. *Journal of the American Medical Association*, 291(22), 2713–2719. doi:10.1001/jama.291.22.2713
- Jones, P. A. (2012). Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nature Reviews Genetics* 2012 13:7, 13(7), 484–492. doi:10.1038/nrg3230
- Kalinowski, F. C., Brown, R. A. M., Ganda, C., Giles, K. M., Epis, M. R., Horsham, J. ve Leedman, P. J. (2014). microRNA-7: A tumor suppressor miRNA with therapeutic potential. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 54, 312–317. doi:10.1016/J.BIOCEL.2014.05.040
- Kiciński, M., Vangronsveld, J. ve Nawrot, T. S. (2011). An Epidemiological Reappraisal of the Familial Aggregation of Prostate Cancer: A Meta-Analysis.

PLoS ONE, 6(10), e27130. doi:10.1371/journal.pone.0027130

- Kiener, M., Chen, L., Krebs, M., Grosjean, J., Klima, I., Kalogirou, C., ... Zoni, E. (2019). MiR-221-5p regulates proliferation and migration in human prostate cancer cells and reduces tumor growth in vivo. *BMC Cancer*, 19(1), 1–17. doi:10.1186/S12885-019-5819-6/FIGURES/5
- Kim, V. N. (2005). MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2005 6:5, 6(5), 376–385. doi:10.1038/nrm1644
- Kitano, M., Rahbari, R., Patterson, E. E., Xiong, Y., Prasad, N. B., Wang, Y., ... Kebebew, E. (2011). Expression profiling of difficult to diagnose thyroid histologic subtypes show distinct expression profiles and identify candidate diagnostic microRNAs. *Annals of surgical oncology*, 18(12), 3443. doi:10.1245/S10434-011-1766-4
- Klotz, L. (2005). Active surveillance for prostate cancer: For whom? *Journal of Clinical Oncology*, 23(32), 8165–8169. doi:10.1200/JCO.2005.03.3134
- Koch, A., Joosten, S. C., Feng, Z., De Ruijter, T. C., Draht, M. X., Melotte, V., ... Engeland, M. Van. (2018). Analysis of DNA methylation in cancer: location revisited. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2018 15:7, 15(7), 459–466. doi:10.1038/s41571-018-0004-4
- Kolesnikov, N., Hastings, E., Keays, M., Melnichuk, O., Tang, Y. A., Williams, E., ... Brazma, A. (2015). ArrayExpress update--simplifying data submissions. *Nucleic acids research*, 43(Database issue), D1113–D1116. doi:10.1093/NAR/GKU1057
- Kozomara, A., Birgaoanu, M. ve Griffiths-Jones, S. (2019). miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D155–D162. doi:10.1093/NAR/GKY1141
- Kumar, V. L. ve Majumder, P. K. (1995). Prostate gland: Structure, functions and regulation. *International Urology and Nephrology*, 27(3), 231–243. doi:10.1007/BF02564756
- Kuner, R., Fälth, M., Pressinotti, N. C., Brase, J. C., Puig, S. B., Metzger, J., ... Sülthmann, H. (2013). The maternal embryonic leucine zipper kinase (MELK) is upregulated in high-grade prostate cancer. *Journal of molecular medicine (Berlin,*

- Germany), 91(2), 237–248. doi:10.1007/S00109-012-0949-1
- Lagani, V., Karozou, A. D., Gomez-Cabrero, D., Silberberg, G. ve Tsamardinos, I. (2016). A comparative evaluation of data-merging and meta-analysis methods for reconstructing gene-gene interactions. *BMC Bioinformatics*, 17(5), 287–305. doi:10.1186/S12859-016-1038-1/FIGURES/7
- Lai, Y. (2017). A statistical method for the conservative adjustment of false discovery rate (q-value). *BMC Bioinformatics*, 18(3), 155–163. doi:10.1186/S12859-017-1474-6/FIGURES/4
- Lee, K. L. ve Peehl, D. M. (2004). Molecular and cellular pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Journal of Urology*. Lippincott Williams and Wilkins. doi:10.1097/01.ju.0000133655.71782.14
- Lee, R. C., Feinbaum, R. L. ve Ambrost, V. (1993). The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to &II-14. *Cell*, 75, 843–854.
- Lefort, K., Ostano, P., Mello-Grand, M., Calpini, V., Scatolini, M., Farsetti, A., ... Chiorino, G. (2016). Dual tumor suppressing and promoting function of Notch1 signaling in human prostate cancer. *Oncotarget*, 7(30), 48011–48026. doi:10.18632/ONCOTARGET.10333
- Lei, L., Chen, C., Zhao, J., Wang, H. R., Guo, M., Zhou, Y., ... Xu, L. (2017). Targeted Expression of miR-7 Operated by TTF-1 Promoter Inhibited the Growth of Human Lung Cancer through the NDUFA4 Pathway. *Molecular Therapy. Nucleic Acids*, 6, 183. doi:10.1016/J.OMTN.2016.12.005
- Leidinger, P., Hart, M., Backes, C., Rheinheimer, S., Keck, B., Wullich, B., ... Meese, E. (2016). Differential blood-based diagnosis between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: miRNA as source for biomarkers independent of PSA level, Gleason score, or TNM status. *Tumor Biology*, 37(8), 10177–10185. doi:10.1007/S13277-016-4883-7/FIGURES/1
- Lewis, B. P., Burge, C. B. ve Bartel, D. P. (2005). Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 120(1), 15–20. doi:10.1016/J.CELL.2004.12.035

- Li, D., Hao, X. ve Song, Y. (2018). Identification of the Key MicroRNAs and the miRNA-mRNA Regulatory Pathways in Prostate Cancer by Bioinformatics Methods. *BioMed Research International*, 2018. doi:10.1155/2018/6204128
- Li, Q., Wu, X., Guo, L., Shi, J. ve Li, J. (2019). MicroRNA-7-5p induces cell growth inhibition, cell cycle arrest and apoptosis by targeting PAK2 in non-small cell lung cancer. *FEBS open bio*, 9(11), 1983–1993. doi:10.1002/2211-5463.12738
- Li, T., Li, R. S., Li, Y. H., Zhong, S., Chen, Y. Y., Zhang, C. M., ... Shen, Z. J. (2012). miR-21 as an independent biochemical recurrence predictor and potential therapeutic target for prostate cancer. *The Journal of urology*, 187(4), 1466–1472. doi:10.1016/J.JURO.2011.11.082
- Li, W., Zhai, L., Zhao, C. ve Lv, S. (2015). miR-153 inhibits epithelial–mesenchymal transition by targeting metadherin in human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 150(3), 501–509. doi:10.1007/S10549-015-3346-Y/FIGURES/6
- Lichtensztajn, D. Y., Gomez, S. L., Sieh, W., Chung, B. I., Cheng, I. ve Brooks, J. D. (2014). Prostate Cancer Risk Profiles of Asian-American Men: Disentangling the Effects of Immigration Status and Race/Ethnicity. *Journal of Urology*, 191(4), 952–956. doi:10.1016/j.juro.2013.10.075
- Lilja, H., Ulmert, D. ve Vickers, A. J. (2008, Nisan). Prostate-specific antigen and prostate cancer: Prediction, detection and monitoring. *Nature Reviews Cancer*. doi:10.1038/nrc2351
- Lima, A. R., Pinto, J., Amaro, F., Bastos, M. de L., Carvalho, M. ve Guedes De Pinho, P. (2021). Advances and Perspectives in Prostate Cancer Biomarker Discovery in the Last 5 Years through Tissue and Urine Metabolomics. *Metabolites*, 11(3). doi:10.3390/METABO11030181
- Lin, P. C., Chiu, Y. L., Banerjee, S., Park, K., Mosquera, J. M., Giannopoulou, E., ... Rubin, M. A. (2013). Epigenetic repression of miR-31 disrupts androgen receptor homeostasis and contributes to prostate cancer progression. *Cancer Research*, 73(3), 1–13. doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-2968
- Liu, D. M., Wang, H. J., Han, B., Meng, X. Q., Chen, M. H., Yang, D. B., ... Jiang,

- C. L. (2016). CAMKK2, Regulated by Promoter Methylation, is a Prognostic Marker in Diffuse Gliomas. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 22(6), 518–524. doi:10.1111/CNS.12531
- Mallik, S., Qin, G., Jia, P. ve Zhao, Z. (2021). Molecular signatures identified by integrating gene expression and methylation in non-seminoma and seminoma of testicular germ cell tumours. *Epigenetics*, 16(2), 162. doi:10.1080/15592294.2020.1790108
- McClure, T., Basourakos, S. P., Sandhu, J. S., Schlegel, P. N. ve Colt, J. J. (2018). Prostate cancer. *Encyclopedia of Endocrine Diseases* içinde (ss. 784–792). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.95929-4
- McGeary, S. E., Lin, K. S., Shi, C. Y., Pham, T. M., Bisaria, N., Kelley, G. M. ve Bartel, D. P. (2019). The biochemical basis of microRNA targeting efficacy. *Science (New York, N.Y.)*, 366(6472). doi:10.1126/SCIENCE.AAV1741
- McMullin, R. P., Mutton, L. N. ve Bieberich, C. J. (2009). Hoxb13 regulatory elements mediate transgene expression during prostate organogenesis and carcinogenesis. *Developmental Dynamics*, 238(3), 664–672. doi:10.1002/DVDY.21870
- McNeal, J. E. (1981). The zonal anatomy of the prostate. *The Prostate*, 2(1), 35–49. doi:10.1002/pros.2990020105
- Meller, S., Meyer, H. A., Bethan, B., Dietrich, D., Maldonado, S. G., Lein, M., ... Kristiansen, G. (2016). Integration of tissue metabolomics, transcriptomics and immunohistochemistry reveals ERG- and gleason score-specific metabolomic alterations in prostate cancer. *Oncotarget*, 7(2), 1421–1438. doi:10.18632/ONCOTARGET.6370
- Mistry, K. ve Cable, G. (2003). Meta-analysis of prostate-specific antigen and digital rectal examination as screening tests for prostate carcinoma. *The Journal of the American Board of Family Practice*, 16(2), 95–101. doi:10.3122/JABFM.16.2.95
- Moch, H., Cubilla, A. L., Humphrey, P. A., Reuter, V. E. ve Ulbright, T. M. (2016). The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *European Urology*, 70(1), 93–105. doi:10.1016/j.eururo.2016.02.029

- Nadler, R. B., Humphrey, P. A., Smith, D. S., Catalona, W. J. ve Ratliff, T. L. (1995). Effect of inflammation and benign prostatic hyperplasia on elevated serum prostate specific antigen levels. *The Journal of urology*, 154(2 Pt 1), 407–413. doi:10.1097/00005392-199508000-00023
- Nakayama, M., Gonzalgo, M. L., Yegnasubramanian, S., Lin, X., De Marzo, A. M. ve Nelson, W. G. (2004). GSTP1 CpG island hypermethylation as a molecular biomarker for prostate cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 91(3), 540–552. doi:10.1002/JCB.10740
- Naughton, C. K., Smith, D. S., Humphrey, P. A., Catalona, W. J. ve Keetch, D. W. (1998). Clinical and pathologic tumor characteristics of prostate cancer as a function of the number of biopsy cores: a retrospective study. *Urology*, 52(5), 808–813. doi:10.1016/S0090-4295(98)00344-6
- None, W. C. ve JR, M. (2001). Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence. *Science (New York, N.Y.)*, 293(5532), 1103–1105. doi:10.1126/SCIENCE.293.5532.1103
- Oberthuer, A., Juraeva, D., Li, L., Kahlert, Y., Westermann, F., Eils, R., ... Brors, B. (2010). Comparison of performance of one-color and two-color gene-expression analyses in predicting clinical endpoints of neuroblastoma patients. *The Pharmacogenomics Journal*, 10(4), 258–266. doi:10.1038/TPJ.2010.53
- Odame, E., Chen, Y., Zheng, S., Dai, D., Kyei, B., Zhan, S., ... Zhang, H. (2021). Enhancer RNAs: transcriptional regulators and workmates of NamiRNAs in myogenesis. *Cellular & Molecular Biology Letters* 2021 26:1, 26(1), 1–20. doi:10.1186/S11658-021-00248-X
- Ogata, H., Goto, S., Sato, K., Fujibuchi, W., Bono, H. ve Kanehisa, M. (1999). KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Research*, 27(1), 29–34. doi:10.1093/nar/27.1.29
- OLIVEROS ve C., J. (2007). VENNY. An interactive tool for comparing lists with Venn diagrams. <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>.
- Packer, J. R. ve Maitland, N. J. (2016). The molecular and cellular origin of human prostate cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*,

1863(6), 1238–1260. doi:10.1016/J.BBAMCR.2016.02.016

- Panigrahi, G. K., Praharaj, P. P., Kittaka, H., Mridha, A. R., Black, O. M., Singh, R., ... Deep, G. (2019). Exosome proteomic analyses identify inflammatory phenotype and novel biomarkers in African American prostate cancer patients. *Cancer Medicine*, 8(3), 1110–1123. doi:10.1002/cam4.1885
- Penfold, L., Woods, A., Muckett, P., Nikitin, A. Y., Kent, T. R., Zhang, S., ... Carling, D. (2018). CaMKK2 promotes prostate cancer independently of AMPK via increased lipogenesis. *Cancer Research*, 78(24), 6747–6761. doi:10.1158/0008-5472.CAN-18-0585
- Pereira, D. M., Fernandes, J. C., Valentão, P. ve Andrade, P. B. (2015). “Omics” Technologies: Promises and Benefits for Molecular Medicine. *Principles of Translational Science in Medicine: From Bench to Bedside: Second Edition*, 25–39. doi:10.1016/B978-0-12-800687-0.00003-7
- Peter, M. E. (2010). Targeting of mRNAs by multiple miRNAs: the next step. *Oncogene* 2010 29:15, 29(15), 2161–2164. doi:10.1038/onc.2010.59
- Pienta, K. J. ve Esper, P. S. (1993, 15 Mayıs). Risk factors for prostate cancer. *Annals of Internal Medicine*. doi:10.7326/0003-4819-118-10-199305150-00007
- Practice, A. U. A. ve Committee, G. (2003). AUA guideline on management of benign prostatic hyperplasia (2003). Chapter 1: Diagnosis and treatment recommendations. *The Journal of urology*, 170(2 Pt 1), 530–547. doi:10.1097/01.ju.0000078083.38675.79
- Price, H., McNeal, J. E. ve Stamey, T. A. (1990). Evolving patterns of tissue composition in benign prostatic hyperplasia as a function of specimen size. *Human Pathology*, 21(6), 578–585. doi:10.1016/S0046-8177(96)90002-7
- Pudova, E. A., Krasnov, G. S., Nyushko, K. M., Kobelyatskaya, A. A., Savvateeva, M. V., Poloznikov, A. A., ... Kudryavtseva, A. V. (2020). MiRNAs expression signature potentially associated with lymphatic dissemination in locally advanced prostate cancer. *BMC Medical Genomics*, 13(8), 1–13. doi:10.1186/S12920-020-00788-9/FIGURES/4
- Qiu, G., Sun, W., Zou, Y., Cai, Z., Wang, P., Lin, X., ... Hu, G. (2015). RNA

interference against TMEM97 inhibits cell proliferation, migration, and invasion in glioma cells. *Tumour biology: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 36(10), 8231–8238. doi:10.1007/S13277-015-3552-6

Ramalho-Carvalho, J., Gonçalves, C. S., Graça, I., Bidarra, D., Pereira-Silva, E., Salta, S., ... Jerónimo, C. (2018). A multiplatform approach identifies miR-152-3p as a common epigenetically regulated onco-suppressor in prostate cancer targeting TMEM97. *Clinical Epigenetics*, 10(1), 1–15. doi:10.1186/S13148-018-0475-2/TABLES/2

Ramasamy, A., Mondry, A., Holmes, C. C. ve Altman, D. G. (2008). Key Issues in Conducting a Meta-Analysis of Gene Expression Microarray Datasets. *PLOS Medicine*, 5(9), e184. doi:10.1371/JOURNAL.PMED.0050184

Rao, S. R., Howarth, A., Kratschmer, P., Snaith, A. E., Yapp, C., Ebner, D., ... Edwards, C. M. (2020). Transcriptomic and Functional Screens Reveal MicroRNAs That Modulate Prostate Cancer Metastasis. *Frontiers in Oncology*, 10, 292. doi:10.3389/FONC.2020.00292/BIBTEX

Rauluseviciute, I., Drabløs, F. ve Rye, M. B. (2020). DNA hypermethylation associated with upregulated gene expression in prostate cancer demonstrates the diversity of epigenetic regulation. *BMC Medical Genomics*, 13(1), 1–15. doi:10.1186/S12920-020-0657-6/FIGURES/6

Rawla, P. (2019). Epidemiology of Prostate Cancer. *World Journal of Oncology*, 10(2), 63. doi:10.14740/WJON1191

Richter, A., Schwager, C., Hentze, S., Ansorge, W., Hentze, M. W. ve Muckenthaler, M. (2002). Comparison of Fluorescent Tag DNA Labeling Methods Used for Expression Analysis by DNA Microarrays. *BioTechniques*, 33(3), 620–630. doi:10.2144/02333RR05

Saranyutanon, S., Deshmukh, S. K., Dasgupta, S., Pai, S., Singh, S. ve Singh, A. P. (2020). Cellular and Molecular Progression of Prostate Cancer: Models for Basic and Preclinical Research. *Cancers*, 12(9), 1–26. doi:10.3390/CANCERS12092651

- Schroder, F. H., Kruger, A. B., Rietbergen, J., Kranse, R., Maas, P. v. d., Beemsterboer, P. ve Hoedemaeker, R. (1998). Evaluation of the Digital Rectal Examination as a Screening Test for Prostate Cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 90(23), 1817–1823. doi:10.1093/jnci/90.23.1817
- Schröder, F. H., Van Der Crujisen-Koeter, I., De Koning, H. J., Vis, A. N., Hoedemaeker, R. F. ve Kranse, R. (2000). Prostate cancer detection at low prostate specific antigen. *Journal of Urology*, 163(3), 806–812. doi:10.1016/S0022-5347(05)67809-3
- Shan, N., Shen, L., Wang, J., He, D. ve Duan, C. (2015). MiR-153 inhibits migration and invasion of human non-small-cell lung cancer by targeting ADAM19. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 456(1), 385–391. doi:10.1016/J.BBRC.2014.11.093
- Shao, N., Ma, G., Zhang, J. ve Zhu, W. (2018). miR-221-5p enhances cell proliferation and metastasis through post-transcriptional regulation of SOCS1 in human prostate cancer. *BMC urology*, 18(1). doi:10.1186/S12894-018-0325-8
- Shappell, S. B., Thomas, G. V., Roberts, R. L., Herbert, R., Ittmann, M. M., Rubin, M. A., ... Cardiff, R. D. (2004). Prostate pathology of genetically engineered mice: definitions and classification. The consensus report from the Bar Harbor meeting of the Mouse Models of Human Cancer Consortium Prostate Pathology Committee. *Cancer research*, 64(6), 2270–2305. doi:10.1158/0008-5472.CAN-03-0946
- Shea, J. L., Wong, P. Y. ve Chen, Y. (2014). Free testosterone. Clinical utility and important analytical aspects of measurement. *Advances in Clinical Chemistry* içinde (C. 63, ss. 59–84). Academic Press Inc. doi:10.1016/B978-0-12-800094-6.00002-9
- Shen, J., Hruby, G. W., McKiernan, J. M., Gurvich, I., Lipsky, M. J., Benson, M. C. ve Santella, R. M. (2012). Dysregulation of circulating microRNAs and prediction of aggressive prostate cancer. *The Prostate*, 72(13), 1469–1477. doi:10.1002/PROS.22499
- Shen, M. M. ve Abate-Shen, C. (2010). Molecular genetics of prostate cancer: New

- prospects for old challenges. *Genes and Development*, 24(18), 1967–2000. doi:10.1101/gad.1965810
- Shima, T., Mizokami, A., Miyagi, T., Kawai, K., Izumi, K., Kumaki, M., ... Namiki, M. (2012). Down-regulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2 by androgen deprivation induces castration-resistant prostate cancer. *The Prostate*, 72(16), 1789–1801. doi:10.1002/PROS.22533
- Smith, R. A., Mettlin, C. J., Davis, K. J. ve Eyre, H. (2000). American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 50(1), 34–49. doi:10.3322/canjclin.50.1.34
- Song, X. C., Fu, G., Yang, X., Jiang, Z., Wang, Y. ve Zhou, G. W. (2008). Protein Expression Profiling of Breast Cancer Cells by Dissociable Antibody Microarray (DAMA) Staining. *Molecular & Cellular Proteomics*, 7(1), 163–169. doi:10.1074/MCP.M700115-MCP200
- Steers, W. D. (2001). 5 α -reductase activity in the prostate. *Urology içinde* (C. 58, ss. 17–24). Urology. doi:10.1016/S0090-4295(01)01299-7
- Sticht, C., De La Torre, C., Parveen, A. ve Gretz, N. (2018). miRWalk: An online resource for prediction of microRNA binding sites. *PLOS ONE*, 13(10), e0206239. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0206239
- Subramanian, A., Tamayo, P., Mootha, V. K., Mukherjee, S., Ebert, B. L., Gillette, M. A., ... Mesirov, J. P. (2005). Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(43), 15545–15550. doi:10.1073/PNAS.0506580102
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. ve Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. doi:10.3322/CAAC.21660
- Tang, F., Zhang, Y., Huang, Q. Q., Qian, M. M., Li, Z. X., Li, Y. J., ... Guo, Z. Y. (2020). Genome-Wide Identification and Analysis of Enhancer-Regulated microRNAs Across 31 Human Cancers. *Frontiers in Genetics*, 11, 644.

doi:10.3389/FGENE.2020.00644/BIBTEX

- Taylor, B. S., Schultz, N., Hieronymus, H., Gopalan, A., Xiao, Y., Carver, B. S., ... Gerald, W. L. (2010). Integrative Genomic Profiling of Human Prostate Cancer. *Cancer Cell*, 18(1), 11–22. doi:10.1016/j.ccr.2010.05.026
- Tolkach, Y. ve Kristiansen, G. (2018). The Heterogeneity of Prostate Cancer: A Practical Approach. *Pathobiology*, 85(1–2), 108–116. doi:10.1159/000477852
- Tong, A. W., Fulgham, P., Jay, C., Chen, P., Khalil, I., Liu, S., ... Nemunaitis, J. (2009). MicroRNA profile analysis of human prostate cancers. *Cancer gene therapy*, 16(3), 206–216. doi:10.1038/CGT.2008.77
- Tseng, G. C., Ghosh, D. ve Feingold, E. (2012). Comprehensive literature review and statistical considerations for microarray meta-analysis. *Nucleic Acids Research*, 40(9), 3785–3799. doi:10.1093/NAR/GKR1265
- Van Hoesel, A. Q., Sato, Y., Elashoff, D. A., Turner, R. R., Giuliano, A. E., Shamonki, J. M., ... Hoon, D. S. B. (2013). Assessment of DNA methylation status in early stages of breast cancer development. *British Journal of Cancer* 2013 108:10, 108(10), 2033–2038. doi:10.1038/bjc.2013.136
- Vennou, K. E., Piovani, D., Kontou, P. I., Bonovas, S. ve Bagos, P. G. (2020). Methods for multiple outcome meta-analysis of gene-expression data. *MethodsX*, 7, 100834. doi:10.1016/J.MEX.2020.100834
- Verze, P., Cai, T. ve Lorenzetti, S. (2016, 1 Temmuz). The role of the prostate in male fertility, health and disease. *Nature Reviews Urology*. Nature Publishing Group. doi:10.1038/nrurol.2016.89
- Vietri, M. T., D’elia, G., Caliendo, G., Resse, M., Casamassimi, A., Passariello, L., ... Molinari, A. M. (2021). Hereditary Prostate Cancer: Genes Related, Target Therapy and Prevention. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 3753, 22(7), 3753. doi:10.3390/IJMS22073753
- WA, S. ve J, H. (2006). Epigenetics of prostate cancer: beyond DNA methylation. *Journal of cellular and molecular medicine*, 10(1), 100–125. doi:10.1111/J.1582-4934.2006.TB00293.X

- Wadhwa, R. R. ve Marappa-Ganeshan, R. (2021). T Test. *Experimental Design and Analysis*, 10–12. doi:10.4135/9781412984218.n3
- Wallace, T. A., Prueitt, R. L., Yi, M., Howe, T. M., Gillespie, J. W., Yfantis, H. G., ... Ambros, S. (2008). Tumor immunobiological differences in prostate cancer between African-American and European-American men. *Cancer research*, 68(3), 927–936. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-2608
- Wang, B. D., Ceniccola, K., Yang, Q., Andrawis, R., Patel, V., Ji, Y., ... Lee, N. H. (2015). Identification and Functional Validation of Reciprocal microRNA-mRNA Pairings in African American Prostate Cancer Disparities. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 21(21), 4970–4984. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-1566
- Webster, R. J., Giles, K. M., Price, K. J., Zhang, P. M., Mattick, J. S. ve Leedman, P. J. (2009). Regulation of epidermal growth factor receptor signaling in human cancer cells by microRNA-7. *The Journal of biological chemistry*, 284(9), 5731–5741. doi:10.1074/JBC.M804280200
- Wei, L.-Z., Wang, Y.-Q., Chang, Y.-L., An, N., Wang, X., Zhou, P.-J., ... Gao, W.-Q. (2018). Imbalance of a KLF4-miR-7 auto-regulatory feedback loop promotes prostate cancer cell growth by impairing microRNA processing. *American journal of cancer research*, 8(2), 226–244.
- Wilson, K. M. ve Mucci, L. A. (2019). Diet and Lifestyle in Prostate Cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1210, 1–27. doi:10.1007/978-3-030-32656-2_1
- Wu, Z., He, B., He, J. ve Mao, X. (2013). Upregulation of miR-153 promotes cell proliferation via downregulation of the PTEN tumor suppressor gene in human prostate cancer. *Prostate*, 73(6), 596–604. doi:10.1002/pros.22600
- Xiao, M., Li, J., Li, W., Wang, Y., Wu, F., Xi, Y., ... Yu, W. (2017). MicroRNAs activate gene transcription epigenetically as an enhancer trigger. *RNA Biology*, 14(10), 1326. doi:10.1080/15476286.2015.1112487
- Xiaoli, Z., Yawei, W., Lianna, L., Haifeng, L. ve Hui, Z. (2015). Screening of target genes and regulatory function of miRNAs as prognostic indicators for prostate

- cancer. *Medical Science Monitor*, 21, 3748–3759. doi:10.12659/MSM.894670
- Xu, K., Chen, Z., Qin, C. ve Song, X. (2014). miR-7 inhibits colorectal cancer cell proliferation and induces apoptosis by targeting XRCC2. *OncoTargets and therapy*, 7, 325. doi:10.2147/OTT.S59364
- Yang, S., Phillips, M. D., Betel, D., Mu, P., Ventura, A., Siepel, A. C., ... Lai, E. C. (2011). Widespread regulatory activity of vertebrate microRNA* species. *RNA (New York, N.Y.)*, 17(2), 312–326. doi:10.1261/RNA.2537911
- Younger, S. T., Pertsemlidis, A. ve Corey, D. R. (2009). Predicting potential miRNA target sites within gene promoters. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(14), 3791–3794. doi:10.1016/J.BMCL.2009.04.032
- Yu, Y. P., Landsittel, D., Jing, L., Nelson, J., Ren, B., Liu, L., ... Luo, J. H. (2004). Gene expression alterations in prostate cancer predicting tumor aggression and preceding development of malignancy. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 22(14), 2790–2799. doi:10.1200/JCO.2004.05.158
- Yu, Z., Ni, L., Chen, D., Zhang, Q., Su, Z., Wang, Y., ... Li, X. (2013). Identification of miR-7 as an oncogene in renal cell carcinoma. *Journal of molecular histology*, 44(6), 669–677. doi:10.1007/S10735-013-9516-5
- Zeng, Y., Yi, R. ve Cullen, B. R. (2005). Recognition and cleavage of primary microRNA precursors by the nuclear processing enzyme Drosha. *EMBO Journal*, 24(1), 138–148. doi:10.1038/sj.emboj.7600491
- Zhang, H., Cai, K., Wang, J., Wang, X., Cheng, K., Shi, F., ... Dou, J. (2014). MiR-7, inhibited indirectly by LincRNA HOTAIR, directly inhibits SETDB1 and reverses the EMT of breast cancer stem cells by downregulating the STAT3 pathway. *Stem Cells*, 32(11), 2858–2868. doi:10.1002/stem.1795
- Zhang, N., Li, X., Wu, C. W., Dong, Y., Cai, M., Mok, M. T. S., ... Yu, J. (2013). microRNA-7 is a novel inhibitor of YY1 contributing to colorectal tumorigenesis. *Oncogene*, 32(42), 5078–5088. doi:10.1038/ONC.2012.526
- Zhang, X., Sun, Y., Wang, P., Yang, C. ve Li, S. (2017). Exploration of the molecular mechanism of prostate cancer based on mRNA and miRNA expression profiles.

OncoTargets and Therapy, 10, 3225–3232. doi:10.2147/OTT.S135764

Zhu, Y., Qiu, P. ve Ji, Y. (2014). TCGA-Assembler: open-source software for retrieving and processing TCGA data. *Nature Methods* 2014 11:6, 11(6), 599–600. doi:10.1038/nmeth.2956

EKLER

Ek-1. İFADESİ DEĞİŞEN miRNA’LARIN HEDEF GENLERİNİN DAVID SONUÇLARI

Ek-1A. hsa-miR-25-3p hedef gen listesinin GO analizi sonuç tablosu

BİYOLOJİK SÜREÇ	GEN SAYISI	P-DEĞERİ
Negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	7	1,20E-02
Palate development	3	1,80E-02
Commitment of neuronal cell to specific neuron type in forebrain	2	1,90E-02
Negative regulation of neural precursor cell proliferation	2	2,90E-02
Transcription, DNA-templated	11	3,10E-02
Central nervous system neuron development	2	3,20E-02
Positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	7	4,60E-02
Cell fate determination	2	4,70E-02

Ek-1B. hsa-miR-25-3p hedef genlerinin yolak analizi sonuç tablosu

YOLAK ADI	GEN SAYISI	P-DEĞERİ
Hippo signaling pathway	3	3,20E-02

Ek-1C. hsa-miR-153-3p hedef genlerinin GO analizi sonuç tablosu

BİYOLOJİK SÜREÇ	GEN SAYISI	P-DEĞERİ
Positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	15	3,00E-04
Wnt signaling pathway, calcium modulating pathway	4	9,40E-04
Positive regulation of transcription, DNA-templated	10	9,80E-04
Neuron migration	5	1,80E-03
Axon guidance	5	8,00E-03
Mitotic cytokinesis	3	9,00E-03
Negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	10	9,00E-03
Semaphorin-plexin signaling pathway	3	1,20E-02
Neuron differentiation	4	1,20E-02
Negative chemotaxis	3	1,20E-02
Positive regulation of cell migration	5	1,30E-02
Nervous system development	6	1,40E-02
Dendrite morphogenesis	3	1,40E-02
Regulation of transcription, DNA-templated	15	1,50E-02
Phosphatidylinositol-mediated signaling	4	1,60E-02

Notch signaling pathway	4	1,90E-02
Protein complex assembly	4	2,00E-02
Calcium ion transmembrane transport	4	2,10E-02
Anterior commissure morphogenesis	2	2,40E-02
Myotube cell development	2	2,40E-02
Positive regulation of alkaline phosphatase activity	2	2,90E-02
Regulation of voltage-gated calcium channel activity	2	3,40E-02
Posttranscriptional gene silencing by RNA	2	3,40E-02
Commissural neuron axon guidance	2	3,40E-02
Transcription from RNA polymerase II promoter	7	4,10E-02
Negative regulation of pri-miRNA transcription from RNA polymerase II promoter	2	4,40E-02

Ek-1D. hsa-miR-153-3p hedef genlerinin yolak analizi sonuç tablosu

YOLAK ADI	GEN SAYISI	P-DEĞERİ
Axon guidance	7	4,40E-05
Wnt signaling pathway	6	6,90E-04
Oxytocin signaling pathway	6	1,00E-03
Cgmp-PKG signaling pathway	6	1,30E-03
HTLV-I infection	6	9,70E-03
Cholinergic synapse	4	2,00E-02
Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	4	3,60E-02
Mtor signaling pathway	3	3,70E-02
Hepatitis B	4	3,90E-02
MAPK signaling pathway	5	4,20E-02

Ek-1E. hsa-miR-183-5p hedef genlerinin GO analizi sonuç tablosu

BİYOLOJİK SÜREÇ	GEN SAYISI	P-DEĞERİ
Hematopoietic progenitor cell differentiation	4	1,80E-03
Intracellular signal transduction	7	3,40E-03
Response to peptide hormone	3	1,10E-02
Aging	4	2,20E-02
RNA splicing	4	2,20E-02
Positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	9	2,50E-02
mRNA processing	4	2,70E-02
In utero embryonic development	4	3,10E-02
Negative regulation of transcription, DNA-templated	6	3,50E-02
Positive regulation of cardiac muscle cell differentiation	2	3,60E-02
Positive regulation of cell growth	3	3,70E-02
Positive regulation of protein kinase B signaling	3	3,70E-02
Smooth muscle tissue development	2	3,90E-02
Embryonic camera-type eye morphogenesis	2	4,30E-02
Negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	7	4,60E-02
Positive regulation of insulin receptor signaling pathway	2	4,60E-02
Positive regulation of glucose import in response to insulin stimulus	2	4,60E-02

Ek-2. İFADESİ DEĞİŞEN GENLERİN LİSTESİ

Ek-2A. İfadesi yukarı düzenlenmiş genlerin tablosu

YUKARI DÜZENLENMİŞ GENLER					
BICD1	CANT1	BRD3	ULK3	EIF4E2	KPNA1
SCARB1	NOA1	SGSM3	KRT8	C1orf56	JUP
AK2	OR51E2	SLC35E1	LAGE3	CANX	LDLRAP1
ALG3	PAFAH1B3	SLC37A1	LLGL2	CDK16	MCTP2
DHPS	PKIB	SLC43A1	OVOL2	CPD	MTMR3
ATP8A1	PRR15L	SMARCA4	PGM3	CYB561	P2RX4
IVD	PYCR1	SPTBN2	PTRHD1	DDX39A	PAK4
MAP7	RAB17	TRIM27	RAB3IP	DESI1	PHKA2
PEX10	RALGAPA2	TSPAN1	RAC3	DHCR7	PLPP2
RAB3B	REPS2	ZDHHC18	RHPN2	DXO	PTPN18
SSR2	RGS10	ZNF692	SYNE4	EIF2AK1	PTPRF
TRAF4	RORC	PLA1A	TC2N	PRDM11	SEC16A
TTLL12	RPL36	ALDH18A1	TMED9	RAB11FIP2	SLC25A37
MRPS12	RPS24	ATG4B	TMEM125	RAB23	TFAP2C
SLC25A22	SH3RF1	BCKDHA	TSTA3	RAI2	TKFC
BCAM	SLC25A39	CAPRIN1	DOLPP1	RNF175	TMEM8A
CLN3	MS4A8	SEL1L	CYB561A3	ADIPOR1	CSK
CD24	SND1	CDR2L	FGFR1OP	SLC4A3	TMEM97
ACY1	STK36	CLCN7	PSAT1	SRF	TRRAP
ABHD2	TBL2	CNOT3	RER1	TCEAL1	TXLNGY
ACACA	TLCD1	DDOST	SLC39A9	TCEAL4	ZNF587
ACLY	TMC5	EDEM3	YWHAE	TCF21	DEAF1
ADRB1	TMEM45B	FLAD1	ZNF74	TIMP2	FAM174B
DOPEY2	MYO6	SEL1L3	DTYMK	APEH	GFPT1
AGFG2	TMTC4	GART	EPT1	TMEM158	KIAA0319L
ARHGEF26	TPD52	GORASP2	GAL	TMEM51	MLPH
B4GALT3	TRIM36	GRSF1	LAD1	TRIM22	NEDD4L
BDH1	TSPAN13	HSPD1	MBP	UST	PIEZO1
BPHL	UAP1	IFRD2	POLR2H	ZMAT3	RAB25
ANAPC5	CHMP4C	CORO2A	ABCG1	EXOSC5	MLST8
ATP6V0E2	CLDN7	ENTPD5	AP1S1	GIGYF2	PDIA6
CAMKK2	CMTM4	ERBB3	ARMC6	HSP90AB1	PHKA1
COBLL1	CYB5A	FAM198B	FOXD1	IDUA	PREP
CSNK2A1	DNPH1	GAA	HSPE1	INPP5K	RANGAP1
ESRP1	EPB41L4B	GOLGA2	IMPDH2	LIMK2	RREB1
GANAB	NDUFA7	SEZ6L2	FNBP1L	APH1A	GSPT1
FASN	EPCAM	GTF3C1	MIF	NELFCD	SDF4
FKBP4	ERGIC1	HN1L	MLX	PGD	SGPL1
GNB2	FAM117B	HOXB13	MYDGF	PIGO	SLC35C2

LIG3	FAM83H	PCSK6	NME1	PRRC2A	SLC52A2
MARCKSL1	FEV	LPCAT3	PPP1R9A	RNF126	SPDEF
MAZ	GABRB3	LSR	RMI1	SCAMP3	SREBF1
MGAT4B	GCNT1	LYPLA2	TBX1	SEC61A1	SRRT
MOGS	GGCT	MCCC2	TCEB3	SLC35A2	TBC1D9B
NUP210	GJB1	MEN1	TMEM178A	SLC44A4	TCF3
P4HB	GOLM1	MPST	TRIB3	TFDP1	TIMELESS
AMACR	CDK19	C1orf116	ZNF350	EIF4G1	LARS
PATZ1	GPR160	MYO1D	UNC5A	TRPC4AP	TMEM161A
PDLIM5	GUCY1A3	MZF1	YBEY	UTRN	TNK2
PRSS8	NME3	SGSH	ICAM3	ARF4	ITPR3
PKP3	HID1	NADK	ZNF614	ZNF282	WDR77
SIM2	CGREF1	CLDN3	DLX1	ENSA	MCAT
PTPRN2	HIST3H2A	NCSTN	ACSM3	TMEM147	WWP2
RAP1GAP	HOXC4	NECAB3	ALG6	ACSM1	XPOT
RUSC1	HOXC6	NR2F6	DSC2	ALCAM	ALDH6A1
SLC19A1	HPN	NUMA1	F2RL1	ALDH3B2	ARSD
SLC25A10	ICA1	PGLS	KDEL2	APRT	ATP7B
TRPM4	KRT18	PSD4	OPLAH	ARFGEF3	BCAT2
GMD5	LRBA	RAB3D	SLC35A3	ATP11B	BCL2L1
PAICS	LRRC8E	RAP1GAP2	STX3	ATP6V1G1	C11orf80
SLC7A1	LYPLA1	RCC1	ANK3	SMPDL3B	CBFA2T2
SNRPB	MAL2	RERE	BMPRI1B	THEM6	CBX4
SRD5A1	MARC1	RGL2	CENPM	ACAD8	CDH1
BRD2	MPC2	RNF44	CLDN8	ACSL1	CHKA
ZNF34	ZNF516	SYDE1	SLC20A2	RASL12	VCL
MRC2	SERPING1	TAGLN	SLC35F6	RBBP7	WFDC1
MX1	SH3BGRL	TFPI	SORBS1	RBPMS2	ZBTB47
NBEA	SH3PXD2A	TGFB1I1	SPARCL1	RPRM	ZCCHC24
NOTCH1	RAB9B	TPM2	SPOP	RRAS	ZYX
PDE5A	RARRES2	TUBB6	STK26	RSU1	PTGIS
PODN	RAB31	TWIST2	SURF4	SBSPON	SELM
PRRX1	CD248	GATA5	DCHS1	KCNH2	FBXO31
RPS6KB2	COL16A1	GFRA1	ECHDC1	LIMCH1	FYCO1
ARHGAP1	COL8A2	HCFC1R1	EPHA3	LMO3	ITPR1
CCND1	CPED1	IL15	FAM229B	LTBP4	CRYZ

Ek-2B. İfadesi yukarı yönde değişen genlerin listesi

AŞAĞI DÜZENLENMİŞ GENLER					
PRRX1	GJA1	RBMS2	BTG3	SVIL	MYOCD
RNF175	FNBP1	BLVRA	RBPMS	GLI3	CHRD2
SLC4A3	GBP2	PAGE4	RNF38	GSTM5	CLIP3
SRF	GNL1	RECK	S100A16	HIF1AN	CLTB
TCEAL1	ITGB1	RGS2	S1PR3	ISYNA1	COL14A1
TCEAL4	KPNA3	RIN3	SCARA3	ITGA9	COL4A1
KRT14	LGR6	DPYSL2	CSPG4	STAC	MDC1
PTGIS	PARM1	RBP1	C10orf54	TBC1D1	NAB1
RAB31	ADH5	SPG20	C9orf3	TCF7L1	NFIA
RAB9B	CALD1	TACC1	CACHD1	TGFB3	NPTN
RARRES2	CD59	TNS1	CALM1	TGFBR2	NUDT10
RASL12	CDC42BPA	ZAK	CAND2	TGFBR3	OGN
RBPMS2	DMD	CCK	CAP2	TIMP3	OPA1
RPRM	DSTN	GBP1	CAV1	TLN1	PBX1
RRAS	FERMT2	METTL7A	CAV2	TMEM43	PEX14
RSU1	HMG4	SLC18A2	CFL2	TNC	PGM5
SBSPON	IL6ST	CDC14B	CHST3	TOR1AIP1	PJA1
SELM	MSRB2	DDX24	CLIC4	TRIP10	PLCL1
SERPING1	MYLK	GPRC5B	CLIP4	TSHZ3	PLEKHA2
SH3BGR1	PRNP	IGF1	COPZ2	TSPAN18	PNMAL1
SH3PXD2A	VAMP5	LMO4	CRISPLD2	VEZF1	PRKCA
SLC20A2	WWTR1	MORF4L1	CYB5R2	VIM	PTGER2
SORBS1	YPEL5	NUCKS1	DDR2	YAP1	RGN
SPARCL1	ANGPT1	PLD1	DNAJB5	ZNF655	SCRN1
STK26	FGFR2	PLEKHA1	DYNC1L1	CYP3A5	SDPR
SYDE1	FEZ2	PTN	EHD2	EFEMP1	SGCB
TAGLN	LMNA	RND2	ENAH	EFS	SLC24A3
TFPI	VAMP3	RORA	EPB41L3	HOXD10	SLIT2
TGFB11	COX7A1	S100A6	FAM107A	ID4	SPRED1
TPM2	HIGD1A	SCD5	FBXO32	KRT15	SSPN
TUBB6	PDLIM7	SEC62	FCHSD2	LSAMP	TCEAL3
TWIST2	TPM1	SNX1	FOXF1	MAML2	TGFB2
VCL	TUBA1A	SPTAN1	FXYD6	NIPAL3	TLE4
WFDC1	LRRC49	STX12	FZD7	NTN4	TMEM35A
ZBTB47	AOX1	TCF4	GPM6B	PIK3R1	TMEM47
ZCCHC24	COL4A6	WHSC1L1	GSN	PTGS2	TP53INP2
ZYX	CRYAB	ZFAND5	HACD1	ROBO1	TRIB2
HCFC1R1	FHL2	ACTB	HTRA1	SLC14A1	TRO
MRC2	MEIS2	EIF1	ILK	SLC16A5	WBP4
RBBP7	MYOF	GNG11	INMT	SLCO3A1	WWC3
SPOP	NAV2	GYG1	IQGAP1	SPON1	ZBTB4
ARHGAP1	PTRF	NMI	ITGA1	ST6GALNAC2	CAP1
CCND1	SERPINF1	PSMC1	KCNJ8	TCEAL2	CLIP1

CD248	ACAA2	RAP1B	KITLG	TP63	HSPB2
COL16A1	ACACB	S100A13	LDB3	WIF1	KPNA4
COL8A2	LPP	SGCE	LHFPL2	ZBTB20	PCP4
CPED1	PALLD	SNCG	LMOD1	ANGPTL2	PLN
CRYZ	STOM	TMX4	LPIN1	ARRB1	SLK
DCHS1	AJUBA	ARL4A	MAMLD1	ASAP1	SYNM
ECHDC1	CX3CL1	COL6A1	MAPRE1	BEND5	SYS1
EPHA3	EFEMP2	DES	MBNL1	C20orf194	ACO1
FAM229B	KRT23	DMPK	MBNL2	C2orf40	ACTA2
FBXO31	RND3	KCNMA1	MEG3	CAMK2G	ACTN1
PODN	DENND5A	DNAJC15	PRICKLE2	EYA4	CCDC3
FYCO1	SPOCK3	KLHL5	MEIS3P1	CCDC50	ADCY5
PRDM11	CSRP2	FBXL5	PTPN14	FAXDC2	CCDC80
GATA5	THSD4	NRP2	MSRB3	CCDC8	ADGRL2
GFRA1	BMPRI1A	PEA15	MTCH1	CCND2	AHNAK2
IL15	NDN	RHOQ	MXRA7	CDIP1	ANO6
ITPR1	FHL1	SLC12A4	MYH11	CDS2	AOC3
KCNH2	ISCU	TMEM100	NES	CELF2	ASB2
LIMCH1	MEF2C	APOBEC3F	OAT	CEMIP	ATP2B4
LMO3	MITF	ARL3	PARVA	CNRIP1	BOC
RAB11FIP2	DPT	SF3A3	RBFOX2	FZD1	CD99L2
RAB23	DST	VAPA	RBMS1	GAPVD1	CERK
RAI2	FBLN1	ADCY9	RBMS3	GLG1	CHRD1
TCF21	LAPTM4A	AKAP12	SH3PXD2B	ITIH5	COL4A2
TIMP2	LDHB	AKR1B1	SLC25A4	JAZF1	COL6A2
TMEM158	LGALS3	ANTXR1	SLC47A1	KANK1	COL6A3
TMEM51	LPAR1	ANXA6	SLMAP	KCNAB1	CORO1C
LTBP4	ARHGAP10	ARPC2	PDE4D	COL27A1	C16orf45
MX1	FAM172A	ATG12	PDGFC	CRTAP	C1S
NBEA	PDZRN4	C1orf54	PPP1R14A	CXCL12	C7
NOTCH1	TMEM127	COX11	PPP1R3C	DSE	CBX7
PDE5A	SLC22A17	DDX50	PPP3CB	EIF4EBP2	CCDC136
LARGE1	LZTFL1	DPYSL3	PLS3	MSN	LAMA4
DYNC1H1	FLNA	IGFBP4	PMP22	MTMR9	LAPTM4B
ATP1A2	FLNC	IGFBP6	PPP1R18	MYADM	LCAT
ATP1B1	FOXN3	INPP1	PSIP1	MYL9	LGALS1
ATP2A2	FXYD1	ITGA5	PTEN	NACC2	LIMS2
AXL	GAS6	ITGA7	RAP1A	NEXN	LRCH2
BNC2	GNG2	JAM3	SMAD3	NLGN2	LRFN5
DUSP3	GYPC	KANK2	SMARCD3	NR3C1	MACF1
EDNRA	HABP4	KCNMB1	SPATA6	PDLIM3	MAOB
EMP3	HPD	KLC1	ST5	PDLIM4	MEIS1
FAM13B	HSPB8	KLHL42	TRIM22	PGM1	MOB3C
FBXO30	IFFO1	ZNF516	UST	PHLDA3	MPRIP
FHOD3	ZNF34	PLEKHO1	ZMAT3	PLAC9	MRV11
CALM3///CALM2///CALM1					

Ek-3. VERİ SETLERİNDE İFADESİ ANLAMLI DEĞİŞEN miRNA'LAR

Ek-3A. GSE21036 ve GSE76260 veri setlerinde ifadesi anlamlı değişen miRNA'lar

GSE21036	Q-DEĞERİ	logFC	GSE76260	Q-DEĞERİ	logFC
hsa-miR-153	2,56E-07	2,46	hsa-miR-653	0,003289	-0,23
hsa-miR-99a*	2,56E-07	-0,84	hsa-miR-1272	0,003289	-0,42
hsa-miR-93	2,56E-07	0,78	hsa-miR-130b	0,003289	0,53
hsa-miR-145	2,82E-07	-1,18	hsa-miR-483-5p	0,003289	-0,24
hsa-miR-548c-3p	2,82E-07	1,87	hsa-miR-1303	0,003289	0,78
hsa-miR-145*	2,82E-07	-0,89	hsa-miR-1271	0,003289	-0,42
hsa-miR-106b	5,16E-07	0,73	hsa-miR-921	0,003289	-0,16
hsa-miR-378	6,17E-07	-0,94	hsa-miR-139-3p	0,003289	-0,59
hsa-miR-378*	6,17E-07	-0,79	hsa-let-7e*	0,003289	-0,50
hsa-miR-221	1,05E-06	-1,30	hsa-miR-30e*	0,003686	-0,25
hsa-miR-22*	1,05E-06	-0,72	hsa-miR-1825	0,003686	-0,24
hsa-miR-221*	1,05E-06	-0,83	hsa-miR-659	0,003848	-0,33
hsa-miR-425	1,4E-06	0,66	hsa-miR-455-3p	0,003848	-0,32
hsa-miR-183	1,4E-06	1,78	hsa-miR-507	0,004669	-0,22
hsa-miR-425*	1,4E-06	-0,31	hsa-miR-516a-3p, hsa-miR-516b*	0,005577	-0,30
hsa-miR-29a*	1,49E-06	-0,71	hsa-miR-221*	0,005577	-0,82
hsa-miR-663	1,59E-06	1,19	hsa-miR-887	0,005577	-0,37
hsa-miR-222	1,85E-06	-1,48	hsa-miR-517a	0,005577	-0,24
hsa-miR-214*	2,21E-06	-0,69	hsa-miR-483-3p	0,005577	-0,71
hsa-miR-143*	2,21E-06	-1,27	hsa-miR-222	0,005577	-0,34
hsa-miR-25	2,21E-06	0,83	hsa-miR-189:9.1	0,00604	-0,32
hsa-miR-133a	2,21E-06	-1,24	hsa-miR-7	0,00604	0,59
hsa-miR-21*	2,21E-06	0,09	hsa-miR-183	0,006291	0,70
hsa-let-7e*	2,27E-06	-1,07	hsa-miR-505	0,006431	-0,38
hsa-miR-19a	2,39E-06	0,82	hsa-miR-519b-3p	0,006431	-0,20
hsa-miR-19b	4,35E-06	0,79	hsa-miR-193b*	0,007009	-0,54
hsa-miR-148a*	4,93E-06	1,20	hsa-miR-105*	0,007009	-0,25
hsa-miR-200c	5,22E-06	0,95	hsa-miR-324-3p	0,007359	-0,17
hsa-miR-200c*	5,22E-06	-0,16	hsa-miR-1244	0,007594	0,57
hsa-miR-18a	5,28E-06	0,76	hsa-miR-612	0,008302	0,73
hsa-miR-96	6,88E-06	1,73	hsa-miR-32	0,008302	1,39
hsa-miR-141	8,38E-06	0,98	hsa-miR-99b*	0,008302	-0,42
hsa-miR-141*	8,38E-06	1,14	hsa-miR-182	0,009159	0,54
hsa-miR-375	8,52E-06	1,45	hsa-miR-32*	0,010023	0,47
hsa-miR-152	1,34E-05	-0,74	hsa-miR-663b	0,010023	0,96
hsa-miR-181c	2,14E-05	-0,73	hsa-miR-1308	0,010059	0,48
hsa-miR-181c*	2,14E-05	-0,42	hsa-miR-187	0,010184	-1,36
hsa-miR-204	2,22E-05	-1,16	hsa-miR-92a-1*	0,010184	0,62
hsa-miR-133b	2,27E-05	-1,08	hsa-miR-1270	0,010377	-0,31

hsa-miR-99b	2,42E-05	-0,79	hsa-miR-99b	0,010377	-0,22
hsa-miR-99b*	2,42E-05	-0,19	hsa-miR-1208	0,010564	-0,13
hsa-miR-505	2,43E-05	-0,41	hsa-miR-1267	0,010872	-0,28
hsa-miR-505*	2,43E-05	0,17	hsa-miR-328	0,011522	-0,55
hsa-miR-575	2,52E-05	0,71	hsa-miR-323-3p	0,011608	-0,54
hsa-miR-143	3,04E-05	-1,10	hsa-miR-431	0,011608	0,41
hsa-miR-146b-5p	5,02E-05	1,23	hsa-miR-622	0,011608	0,77
hsa-miR-182	5,23E-05	1,10	hsa-miR-23b*	0,011608	-0,44
hsa-miR-27b	5,4E-05	-0,81	hsa-miR-183*	0,01231	0,59
hsa-miR-27b*	5,4E-05	-0,88	hsa-miR-30c-2*	0,012326	-0,50
hsa-miR-452	6,7E-05	-0,90	hsa-miR-1300	0,012547	0,80
hsa-miR-18b	7,62E-05	0,69	hsa-miR-548c-3p	0,013308	-0,16
hsa-miR-154	8,46E-05	-0,45	hsa-miR-190b	0,013427	0,78
hsa-miR-31	8,65E-05	-1,68	hsa-miR-221	0,013504	-0,24
hsa-miR-629	0,000107	0,77	hsa-miR-1227	0,013713	-0,30
hsa-miR-629*	0,000107	0,28	hsa-miR-1268	0,013747	0,66
hsa-miR-886-3p	0,000122	-0,86	hsa-miR-1305	0,013747	-0,22
hsa-miR-130b	0,000122	0,70	hsa-miR-769-5p	0,01375	0,24
hsa-miR-499-5p	0,000122	-0,67	hsa-miR-340*	0,01375	-0,33
hsa-miR-224	0,000122	-1,40	hsa-miR-554	0,014162	-0,12
hsa-miR-148a	0,000132	1,18	hsa-miR-425	0,014693	0,22
hsa-miR-139-5p	0,000132	-0,80	hsa-miR-548h	0,015421	-0,18
hsa-miR-34a*	0,000132	-0,67	hsa-miR-708	0,016633	0,46
hsa-miR-17	0,000153	0,77	hsa-miR-1252	0,018241	-0,07
hsa-miR-17*	0,000153	0,52	hsa-miR-566	0,018241	0,68
hsa-miR-455-5p	0,000158	-0,88	hsa-let-7c*	0,018241	-0,50
hsa-miR-205	0,000184	-2,14	hsa-miR-760	0,018241	-0,34
hsa-miR-32	0,000299	1,10	hsa-miR-1282	0,018241	-0,16
hsa-miR-32*	0,000299	-0,05	hsa-miR-193a-5p	0,019215	-0,26
hsa-miR-23b	0,000309	-0,71	hsa-miR-875-5p	0,019215	-0,66
hsa-miR-23b*	0,000309	-0,58	hsa-miR-567	0,019276	-0,24
hsa-miR-338-3p	0,000376	-0,99	hsa-miR-571	0,019921	-0,22
hsa-miR-24	0,000439	-0,51	hsa-miR-216a	0,019921	0,49
hsa-miR-652	0,000658	-0,45	hsa-miR-1246	0,020165	0,64
hsa-miR-24-1*	0,00086	-0,73	hsa-miR-1179	0,020165	-0,53
hsa-miR-199a-5p	0,001065	-0,43	hsa-miR-378*	0,02095	-0,55
hsa-miR-125b	0,001113	-0,47	hsa-miR-1284	0,02095	-0,14
hsa-miR-7	0,001194	0,94	hsa-miR-604	0,02095	0,44
hsa-miR-135a*	0,001339	1,09	hsa-miR-1206	0,021038	-0,14
hsa-miR-7-1*	0,001339	0,75	hsa-miR-19a*	0,021646	0,39
hsa-miR-20a	0,001339	0,76	hsa-miR-296-5p	0,022337	-0,63
hsa-miR-100	0,001339	-0,55	hsa-miR-142-5p	0,022951	0,81
hsa-miR-627	0,001339	0,78	hsa-miR-671:9.1	0,022951	0,29
hsa-miR-20a*	0,001339	0,64	hsa-miR-184	0,026083	-0,83
hsa-miR-125b-2*	0,0021	-0,42	hsa-miR-1183	0,026381	0,56
hsa-miR-484	0,002146	-0,32	hsa-miR-1255b	0,026381	0,13

hsa-miR-20b	0,002676	0,74	hsa-miR-520d:9.1	0,027387	-0,13
hsa-miR-487b	0,002768	-0,65	hsa-miR-24-1*	0,028252	-0,54
hsa-miR-101*	0,003032	-0,51	hsa-miR-518d-3p	0,028967	-0,18
hsa-miR-92a	0,003615	0,48	hsa-miR-7-2*	0,029138	-0,31
hsa-miR-130a	0,004732	-0,52	hsa-miR-802	0,030266	-0,11
hsa-miR-381	0,004903	-0,47	hsa-miR-661	0,030266	0,29
hsa-miR-27a	0,005293	-0,49	hsa-miR-544	0,030337	0,46
hsa-miR-659	0,005783	0,70	hsa-miR-220a	0,031432	-0,14
hsa-miR-376c	0,006159	-0,42	hsa-miR-193b	0,031432	-0,17
hsa-miR-326	0,006505	-0,47	hsa-miR-610	0,031989	0,19
hsa-miR-518c*	0,00665	0,56	hsa-miR-1468	0,031989	-0,50
hsa-miR-801	0,006739	0,57	hsa-miR-378	0,032898	-0,21
hsa-miR-936	0,006908	0,60	hsa-miR-518c*	0,033001	-0,13
hsa-miR-877*	0,007444	-0,89	hsa-miR-631	0,033001	0,24
hsa-miR-1225-5p	0,007444	0,67	hsa-miR-552	0,033001	-0,12
hsa-miR-1227	0,007444	-1,04	hsa-miR-1180	0,033001	-0,33
hsa-miR-125a-5p	0,007444	-0,62	hsa-miR-224	0,033001	-0,47
hsa-miR-106a	0,007444	0,41	hsa-miR-25	0,033001	0,14
hsa-miR-602	0,007444	0,68	hsa-miR-22*	0,033001	-0,17
hsa-miR-106a*	0,007444	0,67	hsa-miR-502-5p	0,035062	-0,32
hsa-miR-877	0,007875	0,83	hsa-miR-367*	0,035126	-0,17
hsa-miR-150*	0,008063	0,61	hsa-miR-452	0,03521	-0,53
hsa-miR-28-3p	0,008263	-0,78	hsa-miR-25*	0,035392	0,23
hsa-miR-149	0,008717	-0,63	hsa-miR-801:9.1	0,037593	0,87
hsa-miR-149*	0,008717	0,11	hsa-miR-1245	0,037758	0,34
hsa-miR-30c	0,008895	-0,45	hsa-miR-641	0,037894	-0,16
hsa-miR-23a	0,010373	-0,50	hsa-miR-548b-5p	0,038038	-0,11
hsa-miR-630	0,010373	0,71	hsa-miR-597	0,039362	-0,22
hsa-miR-23a*	0,010373	-0,02	hsa-miR-299-5p	0,039375	-0,45
hsa-miR-155	0,010378	0,53	hsa-miR-324-5p	0,039483	-0,11
hsa-miR-648	0,011363	0,55	hsa-miR-1228	0,04036	0,12
hsa-miR-486-5p	0,011363	0,50	hsa-miR-1283	0,04182	-0,14
hsa-miR-365	0,012328	-0,33	hsa-miR-93	0,042564	0,08
hsa-miR-768-3p	0,012763	0,50	hsa-miR-198	0,042564	0,67
hsa-miR-181b	0,012966	-0,29	hsa-miR-505*	0,042762	-0,43
hsa-miR-616	0,013681	-0,78	hsa-miR-375	0,043675	0,31
hsa-miR-142-5p	0,014658	0,59	hsa-miR-181b	0,043824	-0,24
hsa-miR-324-5p	0,015032	-0,29	hsa-miR-154	0,044488	-0,27
hsa-miR-127-3p	0,015166	-0,41	hsa-miR-485-5p	0,044488	-0,30
hsa-miR-501-5p	0,015427	0,46	hsa-miR-152	0,044876	-0,22
hsa-miR-550	0,015427	0,50	hsa-miR-326	0,045591	-0,20
hsa-miR-181d	0,016477	-0,39	hsa-miR-609	0,045591	-0,15
hsa-miR-363	0,016477	0,66	hsa-miR-509-5p	0,048517	0,46
hsa-miR-483-5p	0,016477	0,49	hsa-miR-550	0,048517	-0,27
hsa-miR-99a	0,016477	-0,40	hsa-miR-608	0,048695	0,08
hsa-miR-892b	0,01651	0,37	hsa-miR-125b-2*	0,048847	-0,24

hsa-miR-33b	0,016928	0,70	hsa-miR-519c-3p	0,049431	-0,29
hsa-miR-33b*	0,016928	0,03	hsa-miR-15a*	0,049431	0,56
hsa-miR-1234	0,017385	-0,49	hsa-miR-642	0,049431	-0,41
hsa-miR-337-3p	0,017385	-0,69	hsa-miR-543	0,049431	-0,24
hsa-miR-455-3p	0,018487	-0,59	hsa-miR-520a-3p	0,049431	-0,21
hsa-miR-501-3p	0,018749	0,44	hsa-miR-1207-3p	0,049431	0,15
hsa-let-7b	0,018795	0,34	hsa-miR-26b*	0,049651	-0,15
hsa-let-7b*	0,018795	-0,75	hsa-miR-133a	0,049971	-0,31
hsa-miR-1	0,019187	-0,78	hsa-miR-1234	0,049998	0,36
hsa-miR-29c*	0,019408	-0,25	hsa-miR-153	0,049998	1,02
hsa-miR-214	0,019647	-0,36			
hsa-miR-545	0,020644	-0,48			
hsa-miR-142-3p	0,021039	0,64			
hsa-miR-320	0,024625	-0,34			
hsa-miR-376a	0,027978	-0,33			
hsa-miR-26a	0,028056	-0,33			
hsa-miR-1224-5p	0,02816	0,39			
hsa-miR-532-3p	0,033426	0,39			
hsa-miR-15b	0,037224	0,39			
hsa-miR-10b*	0,044768	0,58			

Ek-3B. GSE36803 ve GSE64318 veri setlerinde ifadesi anlamlı değişen miRNA'lar

GSE36803	Q-DEğERİ	logFC	GSE64318	Q-DEğERİ	logFC
hsa-miR-221	3,34E-05	-1,64	hsa-miR-145	0,000149	-1,01
hsa-miR-455-3p	3,34E-05	-1,37	hsa-miR-145*	0,000149	-0,05
hsa-miR-222	3,34E-05	-1,70	hsa-miR-671-3p	0,000313	-1,18
hsa-miR-145	3,34E-05	-0,94	hsa-miR-659	0,001939	-1,13
hsa-miR-125a-5p	3,34E-05	-0,99	hsa-miR-490-5p	0,009605	-1,13
hsa-miR-145-star	4,13E-05	-2,31	hsa-miR-765	0,012051	-1,30
hsa-miR-770-5p	4,13E-05	0,82	hsa-miR-29b-1*	0,012674	1,13
hsa-miR-27b	0,000131	-0,88	hsa-miR-933	0,012674	-1,30
hsa-miR-181a	0,00021	-0,82	hcmv-miR-US4	0,012674	-1,45
hsa-miR-152	0,000233	-1,04	hsa-miR-602	0,012674	-1,08
hsa-miR-139-5p	0,000285	-1,43	hsa-miR-148a	0,012674	1,62
hsa-miR-23b	0,000299	-0,70	hsa-miR-148a*	0,012674	0,23
hsa-miR-23a	0,000299	-0,66	hsa-miR-9*	0,012674	0,27
hsa-miR-143-star	0,000313	-1,68	hsa-miR-93*	0,012674	-0,01
hsa-miR-25	0,000313	1,01	hsa-miR-22	0,012954	-0,86
hsa-miR-133a	0,000313	-1,86	hsa-miR-26a	0,012954	-0,52
hsa-miR-221-star	0,000313	-1,78	hsa-miR-22*	0,012954	0,22
hsa-miR-143	0,000366	-0,82	hsa-miR-23b*	0,013011	1,04
hsa-miR-936	0,000366	0,63	hsa-miR-150*	0,014136	-1,35

hsa-miR-320a	0,000486	-0,47	hsa-miR-584	0,014136	-1,01
hsa-miR-886-5p	0,000538	-0,87	hsa-miR-887	0,014136	-1,04
hsa-miR-133b	0,000538	-1,56	hsa-miR-7	0,017049	1,40
hsa-miR-455-5p	0,000543	-2,13	hsa-miR-550	0,017286	-1,13
hsa-miR-505	0,000656	-1,21	hsa-miR-550*	0,017286	0,43
hsa-miR-886-3p	0,000736	-0,85	hsa-miR-671-5p	0,02066	-1,58
hsa-miR-181c	0,000774	-1,00	hsa-miR-16	0,021317	0,81
hsa-miR-205	0,000865	-3,59	hsa-miR-665	0,021772	-1,21
hsa-miR-99b	0,001344	-0,77	hsa-miR-92b	0,022419	-1,42
hsa-miR-24	0,001504	-0,59	hsa-miR-767-3p	0,022419	-1,00
hsa-miR-153	0,001504	2,17	hsa-miR-92b*	0,022419	-0,02
hsa-miR-224	0,001872	-1,29	hsa-miR-483-3p	0,028536	-1,13
hsa-miR-30c	0,001872	-0,65	hsa-miR-203	0,029577	1,51
hsa-miR-1291	0,001877	0,60	hsa-miR-519d	0,029577	-0,83
hsa-miR-31	0,001877	-2,45	hsa-miR-18b	0,030996	1,19
hsa-miR-376c	0,002162	-1,54	hsa-miR-18b*	0,030996	-0,51
hsa-miR-34a-star	0,002329	-1,08	hsa-miR-923	0,031718	-1,50
hsa-miR-93	0,002329	0,79	hsa-miR-20a	0,033376	1,28
hsa-miR-593	0,002329	-0,78	hsa-miR-563	0,033376	-1,24
hsa-miR-130a	0,002666	-0,71	hsa-miR-20a*	0,033376	0,24
hsa-miR-148a-star	0,003061	1,21	hsa-miR-183	0,034744	1,63
hsa-miR-422a	0,003199	-0,77	hsa-miR-183*	0,034744	0,04
hsa-miR-378	0,003199	-0,90	hsa-miR-320	0,035598	-0,90
hsa-miR-182	0,003566	1,17	hsa-miR-221*	0,035598	1,46
hsa-miR-320c	0,003935	-0,66	hsa-miR-139-3p	0,035598	-0,76
hsa-miR-130b	0,003982	1,07	hsa-miR-32*	0,035598	-0,15
hsa-miR-27a	0,004131	-0,61	hsa-miR-498	0,037546	-1,31
hsa-miR-100	0,004435	-0,70	hsa-miR-200a	0,038861	1,72
hsa-miR-508-3p	0,004993	-0,52	hsa-miR-200a*	0,038861	0,83
hsa-miR-320b	0,00705	-0,46	hsa-let-7f-1*	0,039069	-1,14
hsa-miR-204	0,008821	-1,22	hsa-miR-92a	0,039069	-0,50
hsa-miR-320d	0,010007	-0,52	hsa-miR-129*	0,039069	-0,98
hsa-miR-30e-star	0,010492	-1,02	hsa-miR-30d*	0,039069	0,48
hsa-miR-1179	0,010492	0,65	hsa-miR-143	0,039069	-0,59
hsa-miR-542-3p	0,010886	0,60	hsa-miR-425*	0,039069	-1,03
hsa-miR-375	0,011326	0,97	hsa-miR-17	0,039069	0,92
hsa-miR-342-3p	0,012675	-0,46	hsa-miR-31*	0,039069	1,25
hsa-miR-621	0,012675	-0,51	hsa-miR-17*	0,039069	0,28
hsa-miR-512-3p	0,01271	0,78	hsa-miR-143*	0,039069	0,07
hsa-miR-625-star	0,01271	0,57	hsa-let-7b*	0,039298	-1,02
hsa-miR-28-3p	0,01271	-0,56	hsa-miR-331-5p	0,039298	0,67
hsa-miR-643	0,01271	0,64	hsa-miR-505*	0,039298	1,23
hsa-miR-1246	0,01445	-0,76	hsa-miR-33b*	0,039353	-0,94
hsa-miR-31-star	0,01445	-0,99	hsa-miR-10a	0,039353	0,90
hsa-miR-7-2-star	0,016675	0,61	hsa-miR-10a*	0,039353	-0,08
hsa-miR-574-3p	0,016859	-0,45	hsa-miR-153	0,047012	0,90

hsa-miR-96	0,017371	1,31	hsa-miR-766	0,047012	-0,73
hsa-miR-665	0,017521	0,61	hsa-miR-374a	0,047166	1,38
hsa-miR-132	0,017581	-0,64	hsa-miR-374a*	0,047166	-0,02
hsa-miR-181d	0,017581	-0,95			
hsa-miR-7-1-star	0,017607	0,89			
hsa-miR-141	0,022226	0,71			
hsa-miR-29a	0,023329	-0,47			
hsa-miR-619	0,023579	0,75			
hsa-miR-149	0,024113	-1,20			
hsa-miR-558	0,027365	0,70			
hsa-miR-93-star	0,027365	0,88			
hsa-miR-1273	0,027365	0,40			
hsa-miR-1224-5p	0,028143	0,40			
hsa-miR-342-5p	0,032086	-0,54			
hsa-miR-517-star	0,037629	-0,70			
hsa-miR-1287	0,037629	-0,50			
hsa-miR-223	0,037629	-0,90			
hsa-miR-1	0,037701	-1,58			
hsa-miR-32	0,037701	0,80			
hsa-miR-195	0,038146	-0,51			
hsa-miR-7	0,03981	0,64			
hsa-miR-200c-star	0,040472	0,82			
hsa-miR-452	0,041672	-0,68			
hsa-miR-139-3p	0,044007	-0,48			
hsa-miR-17-star	0,046805	0,80			
hsa-miR-324-3p	0,046981	-0,43			
hsa-miR-125b	0,047778	-0,53			
hsa-miR-24-1-star	0,047778	-1,00			
hsa-miR-769-5p	0,049794	1,11			

Ek-4. ADAY miRNA’LARIN İKİ PLATFORMDA ORTAK HEDEF GENLERİ

Ek-4A. mir-221-3p hedef genleri

MİR-221-5P HEDEF GENLER					
AICF	CSTF2	MAVS	PLEKHG4B	SPOUT1	ZFR2
ABCG1	CYTL1	MED22	PLEKHO2	SPTBN2	ZNF423
ACVR1B	DENND1B	MGAT3	PPP1R1B	SRRM1	ZSCAN30
ADAMTS17	DIS3	MGAT4A	PRAME	SUOX	ZSCAN5A
ADORA2B	DISC1	MRPL20	PRNP	SUSD5	
AFF4	DPY19L3	NBPF14	PRRT2	SUV39H1	
ALDH1A2	EDN2	NFATC1	PSAP	TAB3	
ANAPC15	ELK4	NPDC1	PTGER3	TANC2	
ANKH	ELL2	NPNT	PTP4A2	TAPT1	
ANXA11	EPHB2	NR2C2	PTPRJ	TEX261	
ARHGEF4	ESS2	NRIP3	RAB3B	THAP6	
ARL17A	FAM118B	NUFIP2	RALBP1	TMEM183A	
ARMCX3	FAM168A	PABPC1	RALGPS2	TMEM201	
ASPH	FZD5	PAPOLA	RARG	TMEM263	
B4GALNT1	GALNT16	PAX5	RASSF7	TMEM72	
BAG3	GGCX	PAXIP1	RASSF8	TMEM86A	
BBS9	GPD2	PCDH17	RBM14	TNRC6B	
BRCA1	GPR137	PCDHGA10	RFWD3	TOGARAM1	
BRPF1	GRIK2	PCDHGA12	RIC3	TP63	
BSN	GRIK4	PCDHGA3	RIMS4	TRAPPC3	
C1QTNF2	GZF1	PCDHGA4	RPP14	TRERF1	
C1RL	HARS2	PCDHGA5	RRP15	TRIM14	
C5orf49	HPCAL4	PCDHGA7	RWDD3	TSN	
CALN1	INO80D	PCDHGA9	SCN2B	TTC28	
CAMTA1	IPO9	PCDHGB2	SEMA3A	TTC39C	
CBL	IRAK4	PCDHGB3	SEPSECS	TTC9	
CBX6	IRF2BP2	PCDHGB4	SGTB	TTYH2	
CCDC152	ITGB1	PCDHGB5	SH3PXD2A	UBIAD1	
CCND1	KCNJ10	PCDHGB6	SHANK2	USP38	
CDADC1	KIF1C	PCDHGB7	SHISAL1	VPS53	
CDC42BPA	KRT80	PCDHGC3	SLC16A2	WAC	
CEP85L	LIG3	PDPK1	SLC45A4	WDR31	
CIC	LPAR1	PEAR1	SLC6A15	WDR90	
CNOT7	LPCAT3	PHTF2	SLC6A17	WNT16	
COMMD10	LSM5	PIGQ	SLC7A1	WSCD1	
CRKL	MARCH10	PLCH1	SMUG1	ZCCHC3	

Ek-4B. mir-153-5p hedef genleri

MİR-153-3P HEDEF GENLER				
AASDH	CREBBP	GNPDA2	NCAM2	RTN4
ABHD13	CREBRF	GOLGA8N	NEBL	SATB1
ADAM10	CREM	HLCS	NEUROD4	SCML2
ADAM19	DACH1	IFFO2	NFAT5	SEMA4F
ADO	DCLK1	IFNAR1	NFATC2	SEMA4G
AGO1	DCLRE1B	IKZF2	NFATC3	SESN3
AKAP6	DDIT4	IMPAD1	NFIB	SGCZ
AMER2	DENND1B	ING2	NTRK2	SGIP1
AMPH	DGKH	INO80D	NUDT4	SKI
ANK1	DLG2	ITGBL1	OPRM1	SLC1A6
ANKRD40	DMD	ITSN2	OSBPL6	SLC2A9
ANKRD42	DMXL2	JAG1	PBXIP1	SNX25
ANKRD50	DNM3	KCNA1	PCDH7	SP4
ANO3	DPYSL5	KCNH7	PDP2	SRGAP2C
APC	DSE	KCNQ3	PDS5A	SYT4
ARHGAP24	DYNLT3	KCTD9	PELI1	TET3
ATG5	DYRK1A	KDM7A	PGM3	TMEM38B
ATP2B2	EBF2	KIAA0556	PIK3R1	TNRC6B
ATP2C1	EGFLAM	KIF20A	PKHD1	TP53INP2
ATP8A1	ELAVL2	KLF13	PLCB1	TRIM36
BAG4	EMB	KLF7	PLEKHA3	UBA6
BEND4	EPHA4	KMT2B	PLXNA4	UBN2
BTBD7	ERO1B	LATS1	POU2F1	USP31
BTG1	EXPH5	LIMS1	PPA2	USP44
C21orf91	FAM160A1	MAGI1	PPARGC1B	USP49
C5orf24	FAM168B	MAP3K1	PPP1R12A	WDR26
C6orf120	FAT3	MAPK1IP1L	PXDN	WWP1
CACNA1B	FLRT2	MARK1	QKI	YIPF2
CACNB4	FUT9	MAST4	RALGPS2	ZBTB43
CAMK2G	FZD3	MDGA2	RASA1	ZDHHC6
CAMKK2	GALNT3	MDM4	RCHY1	ZEB2
CCSER2	GAREM1	MDN1	REST	ZNF316
CDH4	GATM	MEF2A	RNF169	ZNF518A
CEP350	GDF10	MEF2C	RNF26	ZNF521
CIC	GGCX	MFHAS1	ROR1	ZNF609
CNTNAP1	GLRA3	MTF2	RPL22L1	ZNF644
COL4A1	GMCL1	MTMR12	RPS6KB1	ZNF827

Ek-4C. Mir-7-5p hedef genleri

MİR-7-5P HEDEF GENLER					
ACBD3	DOCK5	KIF16B	PIK3R3	SORT1	ZNF805
ACER3	DPP10	KIF1B	PIM1	SP1	ZSCAN29
ADAM11	DPP8	KIF5B	PIWIL3	SPATA2	
ADCY9	DPYSL2	KLF12	PKP2	SPTY2D1	
AGO1	DPYSL3	KLF4	PLXNA1	SRRM3	
AGPS	DSEL	KLHL14	PNISR	STAU2	
AK3	DSG1	KMT5A	POGK	STRN	
ALG9	EDAR	KRTAP7-1	POLI	STRN3	
AMOT	EED	LEMD3	POLR2M	STX17	
ANKRD12	EGFR	PIK3R3	PRIMA1	TAPT1	
ANO3	EGLN3	LPP	PRKCB	TBC1D12	
ARF4	EIF4EBP2	LRIT2	PRKD3	TBC1D2B	
ARHGEF33	ENTPD4	LRRC1	PRR27	TCAF2	
ARID2	ENTPD7	LRRC59	PRSS16	TCF12	
ARID4A	ERBB4	LRRC8E	PSEN1	TEX51	
ARMC10	FAM168A	LTN1	PSMA4	TFF3	
ASXL1	FAM168B	LUZP1	PSME3	TFPI	
ATF7	FAM222B	LVRN	PTGFRN	TFRC	
ATG4C	FAM53C	MAP3K9	RAB11FIP5	TGFA	
ATP2B2	FBXO28	MAPKAP1	RAD51B	TGFB2	
ATRX	FCAR	MARF1	RAF1	TMEM120B	
B3GLCT	FCHO2	MECP2	RANBP2	TMEM178B	
BICRA	FGD6	MEGF9	RBFOX1	TMEM237	
BMPR2	FPGT	MESD	RBMS1	TMEM254	
BMS1	FSD2	MFSD14B	RBSN	TMEM97	
BNC2	FZD5	MIS12	RELA	TNRC6B	
BNIP2	G3BP2	MKNK1	RELN	TPGS2	
C1orf21	GABRA1	MMP19	RFX2	TRAF5	
C2orf66	GABRB2	MOB1B	RGS7BP	TRAM2	
C5orf22	GALNT3	MOSPD1	RGS8	TRDN	
CA10	GATA5	MSH3	RNF111	TREM1	
CACNB4	GATA6	MTMR1	RNF141	TRIM33	
CADM3	GATAD2B	MYLK	RNF20	TRIM58	
CALHM4	GCNT2	NDC1	ROCK2	TRIM67	
CALU	GJC1	NDST3	RPS6KB1	TRMT13	
CAMK2D	GLG1	NDUFA4	RSBN1	TRPC5	
CAMKK2	GNAQ	NFATC2	RSPRY1	TTC26	
CBL	GRM5	NFIC	RUBCN	TTC6	
CCDC120	GRP	NIN	RUSC1	TTLL6	
CCDC186	GSPT1	NOVA2	RYK	U2SURP	
CCDC198	GTF2A1	NQO1	SATB1	UBLCP1	

CCNT1	GUCY1A1	NR1H2	SC5D	UBQLN4
CCT4	HDLBP	NR2C1	SCARB2	UBR5
CDC14B	HELLS	NR4A3	SDHC	UGGT1
CDK1	HERPUD2	NREP	SECISBP2L	UHMK1
CDKN2AIP	HNRNPUL2	NSL1	SEPT10	USF3
CHD3	HOXB3	NXT2	SEPT8	VDAC1
CISD2	HPCAL4	ONECUT2	SERP1	VEGFD
CKAP4	HS3ST5	OSBPL11	SETBP1	VMA21
CLCN2	ICA1L	OSBPL3	SGIP1	VPS26A
CLIP1	IDE	OSBPL5	SH3GLB1	WDR47
CNMD	IL17RB	OXR1	SHANK2	WDTC1
CNNM4	IMPG1	PAK2	SIN3A	XPO7
CNOT8	IPO11	PAN2	SLC16A12	ZBTB22
CNPPD1	IRS1	PARVA	SLC17A1	ZBTB44
COL4A3BP	ISY1	PAX6	SLC17A6	ZC3H4
COMMD7	ITPKC	PDE1C	SLC24A3	ZFAND4
COX11	JADE1	PDE4B	SLC25A15	ZFX
CRLS1	KBTBD2	PDE4D	SLC38A2	ZMAT3
CUL5	KCNB1	PDK3	SLC38A4	ZMYND12
CXorf40A	KCNJ13	PFN2	SLC5A3	ZNF106
CYLC1	KDM7A	PGM3	SLIT1	ZNF275
CYTH3	KIAA1143	PICALM	SMYD5	ZNF426
DAZAP2	KIAA1211	PIGH	SNAP29	ZNF549
DLEU7	KIF13A	PIK3CD	SNCA	ZNF652

**Ek-5. miRNA’LARIN HEDEF GENLERİ VE DEĞİŞEN GENLER
KARŞILAŞTIRILDIĞINDA ELDE EDİLEN ORTAK GENLERİN
DAVID ANALİZ SONUÇLARI**

Ek-5A. Ortak genlerin GO analizi sonuç tablosu

BİYOLOJİK SÜREÇ	GEN SAYISI	P-DEĞERİ
G1/S transition of mitotic cell cycle	4	0,0029
Camp-mediated signaling	3	0,0051
Neuron development	3	0,0073
Protein phosphorylation	6	0,0087
Renal tubule morphogenesis	2	0,011
Cell migration	4	0,012
Palate development	3	0,019
Bleb assembly	2	0,028
Response to vitamin E	2	0,03
Mitotic G1 DNA damage checkpoint	2	0,03
MAPK cascade	4	0,037
Cellular response to lipopolysaccharide	3	0,04
Leukocyte migration	3	0,046
Smooth muscle contraction	2	0,049
Regulation of release of sequestered calcium ion into cytosol by sarcoplasmic reticulum	2	0,049

Ek-5A. ortak genlerin KEGG analizi sonuç tablosu

YOLAK ADI	GEN SAYISI	P-DEĞERİ
Oxytocin signaling pathway	6	3,60E-04
Focal adhesion	6	1,50E-03
Dilated cardiomyopathy	4	5,10E-03
Pathways in cancer	7	5,20E-03
Small cell lung cancer	4	5,30E-03
Proteoglycans in cancer	5	9,30E-03
Platelet activation	4	1,70E-02
Colorectal cancer	3	2,80E-02
Pancreatic cancer	3	3,00E-02
Glioma	3	3,00E-02
Chronic myeloid leukemia	3	3,70E-02
Gastric acid secretion	3	3,70E-02
Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	3	4,20E-02

Ek-6. METİLASYON DURUMU DEĞİŞEN GENLER

Ek-6A. metilasyon durumu hipermetile olan genler

HİPERMETİLE OLAN GENLER					
ABHD3	CHD7	HIST1H4F	NDUFS2	SKI	ZSCAN12
ACCS	CHST11	HLA-F	NENF	SLC17A9	
ACER3	CLIP1	HLA-L	NEU1	SLC25A39	
ACOT7	CLIP4	HSPA4L	NFAT5	SLC27A3	
ADC	CNNM4	HVCN1	NFATC3	SLC2A3	
ADCY4	COL9A2	IER3	NHEDC2	SLC43A3	
ADHFE1	CORIN	IFFO2	NMI	SLC44A4	
ADORA3	CTF1	IFITM1	OSBPL5	SLCO4C1	
AGAP11	CUGBP2	IGF2BP1	P2RX6	SLFN11	
AGPAT3	CUL1	IL17C	PALM2-AKAP2	SNED1	
AKR1B1	CXorf65	IL2RB	PAQR8	SNX21	
ALOX5	CYBA	INA	PARP10	SP1	
ALS2CR4	CYTH2	INCA1	PDXK	SPATA6	
ANKMY1	DCHS1	ITGA4	PEX14	SPG20	
ANKRD23	DCPS	ITPKB	PGRMC1	SPRED3	
ANKRD35	DEAF1	ITPRIP	PHF11	SRCIN1	
ANXA6	DENND5A	JDP2	PHLDA1	SRGAP3	
APC	DEPDC7	JSRP1	PKM2	SRPK2	
ARHGEF2	DGKZ	KCNIP2	PLAU	STK10	
ARL4C	DHRS4L2	KCTD17	PLCL2	STK24	
ASXL2	DIXDC1	KDM2B	PPP1R16B	SVIL	
ATP1A3	DMC1	KIAA0226	PPT2	SYNGAP1	
ATP2B4	DNAJB12	KLF12	PRKCB	TBC1D1	
B3GNT7	DOCK11	KLF16	PRKCH	TCTEX1D4	
B3GNT8	DSE	KLHL21	PRNP	TJP2	
B3GNTL1	DUSP6	LEPRE1	PRRT1	TMEM106A	
BATF	EGLN2	LGALS1	PTCH2	TMEM173	
BCAP31	EIF1B	LIMA1	PTGER4	TMEM97	
BOLA3	ELF4	LIPE	PYCARD	TMLHE	
BTBD19	ENPP2	LMNA	RABGAP1L	TNRC6B	
BTG3	EPSTI1	LMO4	RAPGEF1	TPM4	
BZRAP1	EXT1	LOC100286844	RARA	TRAPPC3	
C10orf18	FADS2	LOC285780	RARG	TSPAN5	
C10orf55	FAM100B	LPGAT1	RASSF1	TXLNB	
C11orf75	FHL3	LRRC34	RASSF2	TXNRD1	
C16orf5	FILIP1L	LRRC8C	REC8	UBA7	
C16orf70	FLJ10357	LTC4S	RHOQ	ULBP2	
C18orf1	FLNA	LY75	RINL	USP14	
C2orf43	FLOT1	LY86	ROD1	USP44	

C3orf26	GATA3	LYSMD4	RPL22	VAMP2
C3orf62	GPRASP1	MAGIX	RPTOR	VAV1
C4orf49	GPSM3	MAML2	S100A6	VSIG10L
C7orf41	GSTP1	MFGE8	SEMA6C	WDR1
CAMKK2	HAPLN3	MGC16703	SEPT9	WIPF1
CAMTA2	HCG4	MIR320C1	SERPINB1	XYLT2
CAPZB	HCG4P6	MIR548G	SERPINB9	YTHDF2
CCM2	HERC5	MMGT1	SERPINH1	ZC3HAV1
CCND2	HIST1H1A	MSN	SERTAD2	ZHX1
CCNI2	HIST1H2BI	MX1	SGK1	ZMYND10
CD44	HIST1H2BK	MYO15B	SGMS1	ZNF48
CDKN1B	HIST1H3G	NBR1	SH3BP2	ZNF673
CHCHD6	HIST1H3J	NCKAP5L	SH3PXD2A	ZNF808

Ek-6B. metilasyon durumu hipometile olan genler

HİPOMETİLE OLAN GENLER					
AFMID	CNP	HIPK2	PHAX	SYNGR2	YIPF4
AGFG1	COX6C	HMGCL	PHF14	SYNJ2	ZNF511
APBB1IP	CTBP1	IFT140	PHOSPHO2	TK1	
ATG16L1	CTSC	IMMP2L	POLR2D	TMBIM4	
ATMIN	DPM1	KLHL23	POLR3H	TMEM5	
ATP2B4	DUS1L	LITAF	PPP2CB	TMEM8A	
ATP6V0A2	DUSP1	LOC401431	PYROXD1	TNRC6B	
ATP6V0E2	E2F6	LRRC45	RAC3	TRIM68	
BOD1	EEF2	LUC7L3	RNU86	TTC38	
C19orf39	ELL3	MAP4K4	RPL3	TUBGCP2	
C2orf77	EXOC6	MELK	RPS10	UBA1	
C3orf67	FAM173B	MMADHC	RPS15	UNKL	
C6orf170	FAM193B	MOCS3	SAP18	UTP23	
CALM2	FKBP5	NHLRC1	SEPHS2	WARS2	
CC2D1B	FYN	NINJ2	SLMO2	WBP2NL	
CCT5	GPR160	NUP43	SNORD37	WDR37	

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

İsim: Melis TUNCER

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Ehliyet: B

İŞ TECRÜBELERİ

İstanbul Medeniyet Üniversitesi (2021) - yüksek lisans

Meta analiz yaklaşımlarla prostat kanserinde ileride tanı ve teşhisine yardımcı olacak biyobelirteçleri belirlenmesi ve bulunan hedeflerin validasyonunu gerçekleştirilmesi. Eğitimim boyunca hücre kültürü, cDNA oluşumu, eş zamanlı PZR ve RNA izolasyonu tecrübeleri edindim. NCBI (GEO dataset, pubmed), DAVID, cytoscape, Galaxy kullanımına hakimim. İstatistiksel analizler için excel ve SPSS programlarını kullanıyorum.

Gebze Teknik Üniversitesi (2017) - stajyer

Moleküler genetik laboratuvarında ileride meme kanserinde tedavi oluşturabilecek proteinin saflaştırılmasında ve testlerinde katkıda bulundum. Bu süreç boyunca bacteria expression, SDS-page, PCR tecrübelerini edindim. Affinity tagli proteinin saflaştırılmasını ve affinity chromatography cihazını deneyimledim.

Çanakkale 18 Mart Üniversitesi (2017)

Affinity tag'li protein saflaştırılması ile ilgili review yayınına katkıda bulundum.

ÖĞRENİM DURUMU

İstanbul Medeniyet Üniversitesi (2019-2021) - Biyoloji Veri Bilimi Tezli Yüksek lisans

Çanakkale 18 Mart Üniversitesi (2013-2018) - Moleküler Biyoloji ve Genetik %100 İngilizce - Lisans

Semiha Şakir Anadolu Lisesi (2009-2013)

YABANCI DİL VE DÜZEYİ

İngilizce iyi düzeyde

BİLGİSAYAR BECERİLERİ

NCBI (GEO veri tabanı, pubmed), DAVID, cytoscape, Galaxy kullanımına hakimim. İstatistiksel analizler için excel ve SPSS programlarını kullanıyorum. R programlama-başlangıç, Python-başlangıç

KURS VE SERTİFİKALAR

Genetics and Next Generation Sequencing for Bioinformatics (Udemy course) -2021

R eğitimi (Bioinfoconference çalıştay) -2021

Biyoinformatiğe Giriş, Genom Dizileme ve Yeni Nesil Dizileme Eğitimi (Uygulamalı)

Çevrimiçi eğitim (Eres Biyoteknoloji) -2021