

miRNA Biyogenezi ve Kanser Patogenezindeki Fonksiyonu

miRNA Biogenesis and Functions on Cancer Pathogenesis

İlknur Çınar, Hatice Gül Dursun

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Konya

Öz

Amaç: Küçük kodlamayan RNA molekülleri olan miRNA'lar, yaklaşık 22 nükleotit uzunluğundadırlar. Gen ifadesinin transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzenlenmesinde fonksiyon gösteren bu moleküller gelişimsel zamanlama, embriyogenez, hücre farklılaşması, organogenez, metabolizma, apoptozis gibi biyolojik süreçlerde ve kanserin de yer aldığı birçok hastalıkta önemli rol oynamaktadır. Kanser gibi proliferatif hastalıkların oluşumunda miRNA disregülasyonunun katkısı olabileceği düşünülmektedir. miRNA'lar hedef genlerinin tümör oluşumundaki rollerine dayanılarak onkogenik ya da tümör baskılayıcı miRNA'lar olarak isimlendirilebilir. Kanser teşhisine yardımcı olan kan temelli tümör marker'larının özellikle tümör evrelerinin belirlenmesinde düşük duyarlılık gösterdiği bilinmektedir. Düzenleyici mRNA ekspresyon profillerinin aksine, doku miRNA marker'ları kanserin belirlenmesi ve evrelendirilmesinde daha güvenilir olduğu görülmektedir. Bu nedenle dolaşımdaki miRNA'lar kanserin tanı ve prognozu için ideal bir biomarker sınıfı olarak öne çıkmaktadır. (**Sakarya Tıp Dergisi 2016, 6(2):86-93**)

Anahtar Kelimeler: Kanser biyobelirteçleri; miRNA; onkogen; tümör baskılayıcı gen.

Abstract

Purpose: miRNAs are small non-coding RNA molecules that is approximately 22 nucleotides in length. These molecules which function in transcriptional and post-transcriptional regulation of gene expression play an important role in multiple biological processes, including developmental timings, embryogenesis, cell differentiation, organogenesis, metabolism, apoptosis, and various diseases, including cancers. It is thought that miRNA disregulation leads to development of proliferative disease such as cancer. miRNAs can be termed as oncogenic or tumor suppressor miRNAs based on the role of their target genes on the formation of tumors. Its known that blood-based tumor markers for cancer diagnosis have low sensitivity for identifying tumor stage. Unlike the regulatory mRNA expression profiles, tissue miRNA markers seem to be more reliable in the detection and staging of cancer. Therefore circulating miRNAs represent a class of ideal biomarkers for cancer diagnosis and prognosis. (**Sakarya Med J 2016, 6(2):86-93**)

Keywords: Cancer biomarkers; miRNA; oncogene; tumor suppressor gene.

miRNA NEDİR?

miRNA'lar yaklaşık 22 nükleotit uzunluğunda, küçük kodlamayan RNA molekülleri olup; gen ifadesinin transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzenlenmesinde fonksiyon gösterirler¹. İlk miRNA olan lin-4, toprak solucanı *Caenorhabditis elegans* (*C. Elegans*) ile yapılan çalışmalarla keşfedilmiştir². Daha sonra yapılan çalışmalarla miRNA'ların virüslerden³ memelilere⁴ kadar birçok organizmada bulunduğu gösterilmiştir. Belirlenen miRNA'ların listelendiği ortak bir veri tabanı kullanılmaktadır (<http://www.mirbase.org/>). En son miRBase versiyonu (v20, haziran 2013), 206 türden elde edilen 24521 mikro RNA'dan oluşmaktadır⁵. İnsan genomunda ise yaklaşık 2000 miRNA geni yer almaktadır¹. miRNA'lar gelişimsel zamanlama, embriyogenez, hücre farklılaşması, organogenez, metabolizma, apoptozis gibi biyolojik süreçlerde ve kanserin de yer aldığı birçok hastalıkta önemli rol oynamaktadır⁶.

mikroRNA'nın genomik organizasyonu

miRNA'ların kromozomal yerleşimleri, kendi gen ifadelerini ve fonksiyonlarını etkilemektedir. miRNA'lar insan genomundaki kromozomlar üzerinde tek veya kümelenmiş olarak lokalize olmuştur. Yalnızca Y kromozomu üzerinde miRNA belirlenmemiştir. miRNA'ların yaklaşık yarısı küme yerleşimi gösterir. Küme şeklindeki miRNA'lar operon benzeri bir yapıda olup, polisistronik olarak transkripsiyona uğradıkları belirlenmiştir⁷. miRNA'lar genler arası (intergenik) / gen içi (intragenik) ve intronik / ekzonik yerleşimlerine göre sınıflandırılmaktadır⁸.

miRNA biyogenez

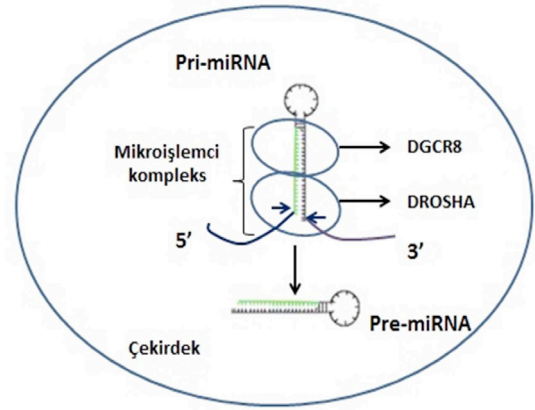
Pri-miRNA transkriptinin oluşumu ve pri-miRNA'ların Dicer'a bağımlı pre-miRNA'lara dönüşümü nükleusta gerçekleşirken, pre-miRNA'ların Dicer'a bağımlı olgun miRNA'lara dönüşümü ve miRNA'nın RNA ile indüklenen susturucu kompleksle (RISC) birleşimi sitoplazmada gerçekleşir⁹.

Çekirdekte miRNA genlerinden RNA polimeraz II-III enzimleri tarafından transkribe edilen transkriptlere birincil mikroRNA (pri-miRNA) denir. Pri-miRNA'lar 5'cap ve 3'poli A kuyruğunun yer aldığı, 3-4 kb uzunluğunda tek iplikli ikincil yapıya sahiptir¹⁰.

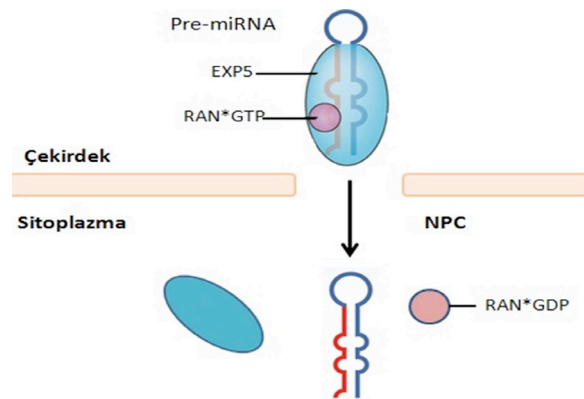
Pri-miRNA molekülleri mikroşlemci kompleks aracılığıyla ilmek yapısına sahip yaklaşık 70 nt uzunluğundaki bir ya da

birden fazla pre-miRNA'ya dönüştürülür. Mikroşlemci protein kompleksi insanda Drosha ve DiGeorge sendromu kritik bölge 8 (DGCR8), sineklerde ise Pasha adı verilen protein alt birimlerinden oluşur¹¹.

Mikroşlemci komplekste DGCR8 RNA yapısını tanıırken, Drosha katalitik bir alt birim gibi fonksiyon göstermektedir. Drosha çift iplikli ilmek yapısını pri-miRNA'dan ayırarak 5' ucunda monofosfat ve 3' ucunda 2-nt hidroksil bulunan pre-miRNA'ya dönüştürür (Şekil 1)¹².



Drosha işlenmesinin ardından pre-miRNA çekirdekten sitoplazmaya olgun miRNA'nın oluşum sürecinin tamamlanması için taşınır. Pre-miRNA'lar kendilerine özgü uç yapılarından tanınarak özel taşıyıcı proteinler (RAN-GTPaz ile ilişkili exportin-5) aracılığı ile taşınırlar. EXP5 aracılı miRNA'nın taşınması sırasında; EXP5, GTP-bağlayıcı çekirdek proteini RAN*GTP ve bir pre-miRNA ile taşıma kompleksi şekillenir. Çekirdek por kompleksi aracılığıyla taşınmanın ardından GTP'nin hidrolize olmasıyla kompleks dağılır ve pre-miRNA sitoplazmaya serbest bir şekilde salınır (Şekil 2)¹³.



Sitoplazmada bulunan bir diğer RNaz III enzimi olan Dicer, pre-miRNA'yı çift iplikli miRNA dubleksisi yapısında olan olgun miRNA'ya dönüştürür⁶. Dicer'a olgun miRNA oluşumu esnasında TRBP (transactivation-responsive RNA-binding protein) ve PACT (PKR activating protein) eşlik eder. Pre-miRNA, sapimik yapısının birleştiği bölgelerden Dicer ve TRBP tarafından kesime uğrar^{14,15}. Dicer enziminin birkaç fonksiyonel domain'i vardır; bunlar pre-miRNA yapısındaki 3'çıkıntıya bağlanan PAZ domain, helikaz domain, çift zincir RNA bağlayan RNA domain ve pre-miRNA bölünmesi sırasında intramoleküler dimer olarak şekillenen iki ribonükleaz III katalitik domainidir. Dicer pre-miRNA'yı tanır. Pre-miRNA'nın ucu Dicer'ın PAZ domaini tarafından tanınır. Pre-miRNA'nın gövdesi Dicer proteininin iki katalitik domaini (RIIIda, RIIIdb) ile etkileşir miRNA dubleksisi Dicer'in helikaz domaini ile açılır^{13,16}.

İpliklerden biri kılavuz (guide) iplik olarak adlandırılır. Bu iplik miRNA aracılı RNA baskılanmasında işlev görür. Diğer iplik ise tamamlayıcı iplik, yolcu (passenger) iplik adını alır ve yolcu iplik yıkıma uğrar¹³. mRNA kesimini organize/öncülük eden yapı bir ribonükleoprotein kompleksi olan RNA-indüklenmiş susturucu kompleks (RISC) olarak bilinmektedir. RISC kompleksinin şekillenebilmesi için TRBP, PACT ve Argonaute (Ago) proteinlerinin bir araya gelmesi gerekmektedir. Bu kompleksin bir araya gelmesi Dicer enzimi tarafından başlatılmaktadır¹⁷. Memelilerde dört Ago proteini (Ago 1-4) yer alırken, insanlarda özellikle Ago 2 RISC kesim aktivitesinden sorumludur¹⁸.

RISC kompleksi olgun miRNA ve hedef mRNA'yı bir araya getirmek için gereklidir. Ayrılmış miRNA dubleksinin sadece kılavuz zinciri RISC kompleksine girebilir. Yolcu miRNA zinciri ve prekürsör yapının geri kalanı degrade olur¹⁹. miRNA'nın dahil olduğu RISC kompleksi, hedefi olan mRNA'ya yönelir. Hedef mRNA'nın translasyona uğramayan 3'-UTR bölgesi ile olgun miRNA'nın 5'ucundaki²⁻⁸ nükleotitlerinin yer aldığı seed-çekirdek dizisi aracılığıyla etkileşir. miRNA'lar hedef mRNA'ya kısmi ya da tam eşleniklik göstererek bağlanabilirler^{20,21}. Eğer tam bir eşleşme gerçekleşirse RISC hedef mRNA'ları degrade eder, şayet kısmi eşleşme gerçekleşecek olursa hedef mRNA translasyonel olarak baskılanmış olur²².

miRNA VE KANSER

miRNA'ların hücre büyümesi, sağ kalım ve apoptozun kont-

rolünü sağladığı belirlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak kanser gibi proliferatif hastalıkların oluşumunda miRNA regülasyonu bozukluğunun katkısı olabileceği düşünülmektedir²³. miRNA'lar ve kanser arasındaki ilk bağlantı Calin ve ark (2002)²⁴ tarafından ileri sürülmüştür.

miRNA'lar hedef genlerinin tümör oluşumundaki rollerine dayanılarak onkogenik ya da tümör baskılayıcı miRNA'lar olarak isimlendirilebilir. Onkogenleri hedef alan miRNA'lar, tümör oluşumunu onkogenleri baskılayarak engeller ve bu nedenle tümör baskılayıcı olarak adlandırılırken; onkogenik miRNA'lar da tümör baskılayıcı genlerin inhibitörleri olarak tanımlanır. Çeşitli kanser türlerinde ekspresyonları artan onkogenik miRNA'lar onkomiR olarak isimlendirilirler ve tümör baskılayıcı ya da hücre farklılaşmasını kontrol eden genleri etkileyerek tümör gelişimine neden olurlar²⁵. miRNA ekspresyonundaki değişiklikler birçok nedenden kaynaklanabilir. Bunlardan en önemlisi amplifikasyon, delesyon, translokasyon gibi genomik anomalilerdir. Zhang ve ark'ları (2007)²⁶ yaptıkları bir çalışmada 186 insan miRNA genini incelemiş olup, bu genlerin genomik yerleşimleri ile kanserle ilişkili genomik bölgeler arasında bağlantı olduğunu saptamışlardır. İnsan miRNA genlerinin %52.5'dan fazlası frajil alanlarda ya da kanserle ilişkili bölgelerde yer aldığı belirlenmiştir.

Tümör baskılayıcı fonksiyon gösteren bir miRNA'nın azalması ya da delesyonu tümör oluşumuna yol açar. Olgun miRNA seviyesindeki azalma ya da tamamen yokluğu durumunda miRNA biyogenez basamaklarında defektler oluşabilir, bu da onkogen ürünü olan mRNA'ların translasyonu ile sonuçlanır. Tüm bunlar çoğalma, invazyon ve anjiyogenezin artışı, apoptozun azalması ve doku farklılaşmasının da yer aldığı tümör oluşumuna yol açar. Onkogen olarak fonksiyon gösteren bir miRNA seviyesindeki artış da tümör oluşumuyla sonuçlanabilir. Bu durumda uygunsuz doku ve zamanda miRNA ekspresyonundaki artış, miRNA ve hedef tümör baskılayıcı gen ekspresyonunu baskılar. Tüm bu koşullar kanser gelişimine yol açar²⁷.

Tümör Baskılayıcı miRNA'lar

Let-7 geni

Caenorhabditis elegans'tan memelilere kadar türler boyunca yüksek korunmuşluk gösteren en eski ve ilk keşfedilen miRNA ailesi'dir. Bu aile insanlarda farklı nükleotid dizisine sahip on

üyeden (let-7a, let-7b, let-7c, let-7d, let-7e, let-7f, let-7g, let-7i, miR-98 ve miR-202) oluşur. Çoğu let-7 ailesinin özellikle akciğer²⁸, over²⁹, meme³⁰ ve karaciğer kanseri³¹ ile ilişkili delesyona uğrayan frajil bölgelerde bulunması, gen ifadesindeki azalmanın onkogenik farklılaşmaya neden olduğunun belirlenmesi ve hedeflerinin arasında Ras, Myc gibi major onkogenlerin bulunması nedeniyle tümör baskılayıcı miRNA olarak kabul edilmiştir³². Let-7 ayrıca cdk-25A, siklin D2 ve cdk 6 gibi birçok hücre döngüsünü düzenleyen genleri hedef alır. Bu yüzden G1/S'e geçişi ve hücre çoğalmasını inhibe eder. Let-7, insan kanserlerinde kötü prognozla ilişkisi en fazla olan miRNA'lardandır³³.

miR-15a ve miR-16-1 genleri

13q14 kromozom bölgesinde yer alan miR-15a ve miR-16-1 genleri birçok kanser türünde kilit rol oynayan Bcl-2 (B hücreli lenfoma 2) genini hedefleyerek apoptotik bir yanıt oluşturmaktadır. Bu yüzden tümör baskılayıcı gen olarak da fonksiyon görürler²⁶. Farelerde miR-15a-16-1 delesyonlarının yığılımı B hücreli lenf proliferatif hastalıklarının gelişimine ve insanlarda gözlenen KLL (Kronik lenfositik lösemi) ilişkili fenotiplerin takrarlayan spektrumuna neden olur. miR-15 ailesinin hedefleri siklin D1, D2, E1 gibi interfaz siklinleridir. miR-15a ailesi üyeleri hücre metabolizma, stres ve anjiyogenez düzenler³³.

miR-143 ve miR-145 genleri

miR-143 ve miR-145 genleri sırasıyla 5q-32 ve 5q33 kromozom bölgesinde yerleşim gösterirler²⁷. Liposarkoma ile kolon kanseri HCT116 hücreleriyle yapılan çalışmalarla miR-143 geninin aşırı ekspresyonunun apoptozu uyardığı ve Bcl-2, PRC1 (protein regulator of cytokinesis 1), PLK1 (polo-like kinase 1)'in azalan ekspresyonları aracılığıyla anormal hücre büyümesini baskıladığı belirlenmiştir¹. miR-143 epitelyal kökenli kolorektal kanser hücrelerinde KRAS yolağını engellerken³⁴, hem miR-143 hem de miR-145'in ise servikal kanserde hücre proliferasyonunu doğrudan baskıladığı bildirilmiştir³⁵. miR-145 over kanser hücrelerindeki büyümeyi ve anjiyogenez HIF-1 ve VEGF'nin azalan regülasyonu aracılığıyla baskılamaktadır, ayrıca meme kanserindeki azalmış seviyesinden dolayı tümör baskılayıcı fonksiyon göstermektedir²⁵.

Onkogenik miRNA'lar

miR-155 geni

21q21 kromozom bölgesinde yer alan onkogen olarak ilk önerilen miRNA miR-155'tir. miR-155 meme, akciğer kanseri, pankreatik tümörler, AML, KLL ve Hodgkin hastalığı ve pediatik Burkitt lenfomada regülasyonu artar³⁶. miR-155 sitokin üretimini düzenleyerek T-hücrelerine bağlı optimum antikor yanıtı üretmede rol oynar ve yardımcı T hücrelerinin farklılaşmasının düzenlenmesinde temel bir fonksiyona sahiptir³⁷. Bu miRNA, iskelet kası farklılaşması ve fonksiyonu, lenfoma hücre hareketi doğal katil hücrelerde ya da meme kanseri hücrelerinde invazyon ve göçü düzenleyebilmek için TGF-alfa, JAK-STAT ve FOXO3 sinyal yollarının kontrollerinde, interferon üretimi gibi hücrel diğer proseslerde yer alır³³.

miR17-92 gen kümesi

13q31 kromozom bölgesinde yer alan polisistronik bir miRNA kümesidir. Bu gen kümesi, miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1'in dahil olduğu altı miRNA kodlar^{26,27}. Bu gen ailesi apoptozu engelleyerek, myc ile birlikte güçlü bir onkogen olarak fonksiyon gösterir. Eksprese edilen olgun miRNA'lar E2F transkripsiyon faktörlerini; PTEN (fosfat ve tensin homoloğu) ve RB2 (retinoblastom ilişkili protein 2) gibi tümör baskılayıcı genleri hedefleyerek inaktif olmalarını sağlar. miR17-92 kümesindeki miRNA'lar apoptozda, tümör baskılanmasında ve sitokin sinyalizasyonunun yer aldığı farklı hücrel proseslerde yer alan moleküllerin ekspresyonunu düzenleyebilir³³. Normal dokularla karşılaştırıldığında miR17-92 ekspresyonu küçük hücreli akciğer kanseri²⁶, lenfoma¹⁵, meme³⁸, kolorektal³⁹ gibi kanser türlerinde önemli düzeyde artış göstermektedir.

miR-21 geni

17q23.2 kromozom bölgesinde yer alan miR-21 geni onkogen olarak fonksiyon gösterir. İnsan kanser türlerinin neredeyse tümünde aşırı eksprese olan miR-21'in PTEN1 ve PDCD4 (programmed cell death-programlanmış hücre ölümü 4) gibi önemli tümör baskılayıcı genleri hedef aldığı belirlenmiştir. Bu yol aracılığıyla invazyon ve metastazda etkili olduğu bildirilmiştir⁶. miR-21'in baskılanması hücre döngüsü inhibitörü p21cip1'in artışı ve büyümenin engellenmesiyle sonuçlanır⁴⁰. miR-21; hematolojik malignitelerde, pankreas, akciğer, meme, kolon, prostat, mide tümör tiplerinde aşırı eksprese edilen özgün bir

moleküldür^{41,42}.

miR-372 ve miR-373 genleri

19q13.42 kromozom bölgesinde yer alırlar. Primer insan fibroblastlarında eksprese edilen bu onkogenik miRNA'lar LATS2 (large tumor suppressor kinase 2) tümör baskılayıcı genin ekspresyonunu ve p53 aracılı CDK'ı inhibe ederek tümör gelişimine yol açar. miR372-373 spesifik olarak testis germ hücreli tümörlerde eksprese edilir^{15,43}.

miRNA ekspresyon profiliyle yapılan çalışmalarla miRNA'ların insan kanserlerini ayırt etmede mRNA'lara göre daha etkili oldukları belirlenmiştir. Bu nedenle miRNA'lar kanser için tanısal ve gelişimsel markerlar olarak kullanılabilir⁴⁴.

KANSERİN TANISI VE PROGNOZUNDA miRNA'LARIN ROLÜ

Günümüzde kanserin teşhisine yardımcı olan kan temelli tümör marker'ları özellikle tümör evrelerinin belirlenmesinde düşük duyarlılık göstermektedir. Düzenleyici mRNA ekspresyon profillerinin aksine, doku miRNA marker'ları kanserin belirlenmesi ve evrelendirilmesinde daha güvenilirdir⁴⁵. Bu nedenle dolaşımdaki miRNA'lar kanserin tanı ve prognozu için ideal bir biomarker sınıfı olarak öne çıkmaktadır⁴¹. İlk kez Volinia ve ark (2006)⁴² insana ait 6 solid tümörde (meme, kolon, akciğer, pankreas, prostat, mide) mikroRNA markerlarını belirlemek için mikroarray panellerini kullanmışlardır. Tümör tiplerinin embriyonik ve gelişimsel orjinlerinin belirlenmesinde miRNA ekspresyon profillemenin daha kesin ve duyarlı sonuç verdiği ve bu nedenle tümör sınıflandırmasında bir biomarker olarak kullanılabilceği ortaya konmuştur⁴⁶. Png ve ark (2012)⁴⁷'nin yaptıkları diğer bir çalışmada da meme kanserinde miRNA ekspresyon profili değişikliğinin metastatik süreçle de ilişkili olduğu ve kanser prognozunun belirlenmesinde etkili bir biomarker olarak kullanılabilceği gösterilmiştir.

Çeşitli kanser tipleri için tanısal ve prognostik biomarker olarak kullanılan dolaşımdaki miRNA'lar tablo 1'de belirtildiği gibidir.

Tablo 1: Kanserleri tanı ve prognozunda kullanılan bazı miRNA marker'ları.

Akciğer kanseri tanı ve prognoz marker'ları	Örnek	Artış/ Azalma	Önemi	Kaynak
miR-21, miR-205, miR-30d, miR-24	Serum	↑	Ayrıca cerrahi sonrası nüksün belirteci	Le ve ark 2012 ⁴⁸
miR-155, miR-197, miR-182	Plazma	↑		Zheng ve ark 2011 ⁴⁹
Let-7f, miR-30e-3p	Plazma	↓		Silva ve ark 2011 ²⁸
miR-361-3p, miR-625	Serum	↓		Cheng 2015 ⁴¹
miR-1254, miR-574-5p	Serum	↑	Erken evre için biomarker	Foss ve ark 2011 ⁵⁰
miR-21, miR-126, miR-210, miR-486-5p	Plazma	↑	1. Evre için %73.3 duyarlılık ve %96.55 özgüllük	Shen ve ark 2011 ⁵¹
miR142-3p, miR-29b	Serum	↑	Takip eden 24 ay içinde hastalığın nüksüyle ilişkili	Kaduthanam ve ark 2013 ⁵²
Meme kanseri tanı ve prognoz marker'ları				
Let-7b, Let-7g, miR-18b	Plazma	↑		Cookson ve ark 2012 ³⁰
miR-122	Kan	↑	2. ve 3. evre metastatik nüks belirteci	Wu ve ark 2012 ⁵³
miR-155	Serum	↑	Cerrahi ve kemoterapi sonrası	Sun ve ark 2012 ⁵⁴
miR-21	Serum	↑	Metastaz	Asaga ve ark 2011 ⁵⁵
miR-125b	Serum	↑	5-FU, FEC'e karşı düşük terapötik yanıt	Wang ve ark 2012 ⁵⁶
miR-10b, miR-17, miR-34a, miR-93, miR-155 ve miR-373	Serum	↑	Ca'daki ilerleme ve metastatik hızla ilişkili	Chen ve ark 2013 ⁵⁷
miR-10b, miR-373, miR-214	Plazma	↑	Lenf nodu metastazı	Eicheler ve ark 2013 ⁵⁸
miR-210	Plazma	↑	Trastuzumab direnci ve tümör gelişimi belirteci	Jung ve ark 2012 ⁵⁹
Prostat kanseri tanı ve prognoz marker'ları				
miR-141	Serum	↑	PSA ile ilişkili ve ileri evre PCs'de %60 duyarlı, %100 özgül	Mitchell ve ark 2008 ⁶⁰
miR-1290	Serum	↑	Taniya yönelik en etkin miRNA	Cheng 2015 ⁴¹
miR-375, miR-141	Serum	↑	PCs tanısında	Brase ve ark 2011 ⁶¹
miR-221	Serum	↑	Uzak metastaz	Kawaguchi ve ark 2013 ⁶²
miR-375, miR-378, miR-141 miR-409-3p	Serum	↑ ↓	Tanı ve prognozda en etkili dört marker	Nguyen ve ark 2013 ⁶³
Kolorektal kanseri tanı ve prognoz marker'ları				
miR-29a, miR-92	Plazma	↑	II. ve III. evre noninvaziv moleküler marker	Huang ve ark 2010 ⁶⁴
miR-601, miR-760	Plazma	↓	II. ve III. evre noninvaziv moleküler marker	Cheng 2015 ⁴¹
miR-200c	Serum	↑	Lenf nodu ve uzak metastazla ilişkili	Toiyoma ve ark 2014 ⁶⁵
miR-18a, miR-29a	Serum	↑	III. evre CRC	Wang ve Gu 2012 ⁶⁶
miR-141	Plazma	↑	IV. evre ve uzak metastaz CRC	Cheng ve ark 2011 ⁶⁷
miR-20a, miR-130, miR-145, miR-216 ve miR-372	Serum	↑	Kemodirençle ilişkili	Zhang ve ark 2014 ⁶⁸

1. Chen Y, Fu LL, Wen X, Liu B, Huang J, Wang JH, Wei YQ. Oncogenic and tumor suppressive roles of microRNAs in apoptosis and autophagy. *Apoptosis* 2014;19(8):1177-89.
2. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993;75:843-854.
3. Pfeffer S et al. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science* 2004;304(5671):734-6.
4. Lagos-Quintana M, et al, Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001;294(5543):853-8.
5. Kozomara A and Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Research* 2014;42:68-73.
6. Shah MY, Calin GA. MicroRNAs as therapeutic targets in human cancers. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2014;Jul-Aug;5(4):537-48.
7. Kim VN, Nam JW. Genomics of microRNA. *TRENDS in Genetics*. 2006;22(3):165-173.
8. Olena AF, Patton JG. Genetic Organization of microRNAs. *J. Cell. Physiol* 2010;222: 540-545.
9. Guz M, Müller AR, Okon E, Bembenek AS, Polberg K, Slomka M, Stepulak A. MicroRNAs-Role in Lung Cancer. *Disease Markers* 2014;218169.
10. Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA* 2004;10:1957-1966.
11. Lee Y, Ahn C, Han Y, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Radmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003;425:415-419.
12. Han J, Lee Y, Yeom KH, Nam JW, Heo I, Rhee JK, Sohn SY, Cho Y, Zhang BT, Kim VN. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell*. 2006 Jun 2;125(5):887-901.
13. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nature* 2014;15:509-524.
14. Gupta V, Huang X, Patel RC. The carboxy-terminal, M3 motifs of PACT and TRBP have opposite effects on PKR activity. *Virology* 2003;315:283-291.
15. Bushati N, Cohen SM. MicroRNA Functions. *Cell Dev. Biol* 2007;23:175-205.
16. Zhang H, Kolb FA, Jaskiewicz L, Westhof E, Filipowicz W. Single Processing Center Models for Human Dicer and Bacterial RNase III. *Cell* 2004;118: 57-68.
17. Koscianska E, Roslan JS, Krzyzosiak WJ. The Role of Dicer Protein Partners in the Processing of MicroRNA Precursors. *PLoS ONE* 2011;6(12):e28548.
18. Wiemer EA. The role of microRNAs in cancer: No small matter. *Eur J Cancer*. 2007 Jul;43(10):1529-44.
19. Schwarz DS, Hutvagner G, Du T, Xu Z, Aronin N, Zamore PD. Asymmetry in the Assembly of the RNAi Enzyme Complex. *Cell* 2003;115:199-208.
20. Avraham R, Yarden Y. Regulation of signalling by microRNAs. *Biochemical Society Transactions* 2012;40(1):26-30.
21. Mendell JT, Olson EN. MicroRNAs in Stress Signaling and Human Disease. *Cell* 2012;148:1172-1187.
22. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: Small Rnas With A Big Role In Gene Regulation. *Nature* 2004;5:522-532.
23. Wahid F, Khan T, Kim YY. MicroRNA and diseases: Therapeutic potential as new generation of Drugs. *Biochimie* 2014;104:12-26.
24. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noche, Aldler H, Rattan S, Keating M, Kanti Rai, Rassenti L, Kipps T, Negrini M, Bullrich F, Croce CM. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *PNAS* 2002;99(24):15524-15529.
25. Xing Z, Li D, Yang L, Xi Y, Su X. MicroRNAs and anticancer drugs. *Acta Biochim Biophys Sin* 2014;46(3):233-239.
26. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Developmental Biology* 2007;302:1-12.
27. Kerscher AE ve Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer 2006 April;6:259-269.
28. Silva J, Garcia V, Zaballos A, Provencio M, Lombardia L, Almonacid L, Garcia JM, Dominguez G, Pena C, Diaz R, Herrera M, Varela A, Bonilla F. Vesicle-related microRNAs in plasma of non-small cell lung cancer patients and correlation with survival. *Eur. Respir. J* 2011;37:617-623.
29. Roush S, Slack FJ. The let-7 family of microRNAs. *Trends Cell Biol*. 2008 Oct;18(10):505-16.
30. Cookson VJ, Bentley MA, Hogan BV, Horgan K, Hayward BE, Hazelwood LD, Hughes TA. Circulating microRNA profiles reflect the presence of breast tumours but not the profiles of microRNAs within the tumours. *Cell Oncol (Dordr.)* 2012;35:301-308.
31. Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, Chen X, Liu FY, Zhang JF, Shen HB, Zhang CY, Zen K. Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma. *Cancer Res* 2010;70:9798-9807.
32. Blandino G, Fazi F, Donzelli S, Kedmi M, Chen AS, Muti P, Strano S, Yarden Y. Tumor suppressor microRNAs: A novel non-coding alliance against cancer. *FEBS Letters* 2014;19:588(16):2639-52.
33. Malumbres M. miRNAs and cancer: An epigenetics view. *Molecular Aspects of Medicine* 2013; 34:863-874.
34. Kent OA, Matthew N. McCall, Cornish TC and Marc K. Halushka. Lessons from miR-143/145: the importance of cell-type localization of miRNAs. *Nucleic Acids Research* 2014; 42(12):7528-7538.
35. Wang X, Tang S, Le SY, Lu R, Rader JS, Meyers C, Zheng ZM. Aberrant Expression of Oncogenic and Tumor-Suppressive MicroRNAs in Cervical Cancer Is Required for Cancer Cell Growth. *PLoS One*. 2008;3(7):2557.
36. Costinean S, Zanani N, Pekarsky Y, Tili E, Volinia S, Heerema N, Croce CM. Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in E(mu)-miR155 transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006;103(18):7024-7029.
37. Thai TH, Calado DP, Casola S, Ansel KM, Xiao C, Xue Y., Murphy, A., Frendewey, D., Valenzuela, D., Kutok, J.L., Schmidt-Suppran, M., Rajewsky, N., Yancopoulos, G., Rao, A., Rajewsky, K. Regulation of the germinal center response by microRNA-155. *Science* 2007.316 (5824), 604-608.
38. Olive V, Jiang I, He L. miR-17-92, a cluster of miRNAs in the midst of the cancer network. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010;42(8):1348-54.
39. Tsuchida A, Ohno S, Wu W, Borjigin N, Fujita K, Aoki T, Ueda S, Takanashi M, Kuroda M. miR-92 is a key oncogenic component of the miR-17-92 cluster in colon cancer. *Cancer Sci* 2011;102(12):2264-71.
40. Asangani IA, Rasheed SAK, DA Nikolova, JH Leupold, NH

Kaynaklar



Kaynaklar

- Colburn, S Post and H Allgayer. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. *Oncogene* 2008 Apr 3; 27(15):2128-36.
41. Cheng G. Circulating miRNAs: Roles in cancer diagnosis, prognosis and therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2015; 81:75-93.
 42. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:2257-61.
 43. Zhang L, Huang J, Yang N, Greshock J, Megraw MS, Giannakakis A, Liang S, Naylor TL, Barchetti A, Ward MR, Yao G, Medina A, Jenkins AO, Katsaros D, Hatzigeorgiou A, Gimotty PA, Weber BL, Coukos G. microRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer. *Pnas* 2006;103(24):9136-9141.
 44. Jay C, Nemanitis J, Chen P, Fulgham P, Tong AW. MiRNA Profiling for Diagnosis and Prognosis of Human Cancer. *DNA Cell Biol.* 2007;26(5):293-300.
 45. Lee YS, Dutta A. MicroRNAs in cancer. *Annu. Rev. Pathol* 2009;4:199-227.
 46. Lu J, Deutsch C. Folding zones inside the ribosomal exit tunnel. *Nat Struct Mol Biol* 2005;12:1123-9.
 47. Png KJ, Halberg N, Yoshida M, Tavazoie SF. A microRNA regulon that mediates endothelial recruitment and metastasis by cancer cells. *Nature* 2012;481:190-4.
 48. Le HB, Zhu WY, Chen DD, He JY, Huang YY, Liu XG, Zhang YK. Evaluation of dynamic change of serum miR-21 and miR-24 in pre- and post-operative lung carcinoma patients. *Med. Oncol* 2012;29:3190-3197.
 49. Zheng D, Haddadin S, Wang Y, L.Q. Gu, M.C. Perry, C.E. Freter, M.X. Wang, Plasma microRNAs as novel biomarkers for early detection of lung cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol* 2011;4:575-586.
 50. Foss KM, Sima C, Ugolini D, Neri M, Allen KE, Weiss GJ. miR-1254 and miR-574-5p: serum-based microRNA biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer. *J. Thorac. Oncol* 2011;6:482-488.
 51. Shen J, Todd NW, Zhang H, Yu L, Lingxiao X, Mei Y, Guarnera M, Liao J, Chou A, Lu CL, Jiang Z, Fang H, Katz RL, Jiang F, Plasma microRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Lab. Invest* 2011;91:579-587.
 52. Kaduthanam S, S. Gade, M. Meister, J.C. Brase, M. Johannes, H. Dienemann, A. Warth, P.A. Schnabel, F.J. Herth, H. Sultmann, T. Muley, R. Kuner, Serum miR-142-3p is associated with early relapse in operable lung adenocarcinoma patients. *Lung Cancer* 2013;80:223-227.
 53. Wu X, Somlo G, Yu Y, Palomares MR, Li AX, Zhou W, A. Chow, Y. Yen, J.J. Rossi, H. Gao, J. Wang, Y.C. Yuan, P. Frankel, S. Li, K.T. Ashing-Giwa, G. Sun, Y. Wang, R. Smith, K. Robinson, X. Ren, S.E. Wang, De novo sequencing of circulating miRNAs identifies novel markers predicting clinical outcome of locally advanced breast cancer, *J. Transl. Med* 2012;10:42-52.
 54. Sun Y, Wang M, Lin G, Sun S, Li X, Qi J, Li J. Serum microRNA-155 as a potential biomarker to track disease in breast cancer. *PLoS One* 2012;7:e47003.
 55. Asaga S, Kuo C, Nguyen T, Terpenning M, Giuliano AE, Hoon DS, Direct serum assay for microRNA-21 concentrations in early and advanced breast cancer, *Clin. Chem* 2011;57:84-91.
 56. Wang H, Tan G, Dong L, Cheng L, K. Li, Z. Wang, H. Luo, Circulating MiR-125b as a marker predicting chemoresistance in breast cancer, *PLoS One* 2012;7:e34210.
 57. Chen W, Cai F, Zhang B, Z. Berekati, X.Y. Zhong, The level of circulating miRNA-10b and miRNA-373 in detecting lymph node metastasis of breast cancer: potential biomarkers, *Tumour Biol* 2013;34:455-462.
 58. Eichler C, Janys DF, -Claude J, Pantel K, Schwarzenbach H. Deregulated serum concentrations of circulating cell-free microRNAs miR-17, miR-34a, miR-155, and miR-373 in human breast cancer development and progression. *Clin. Chem* 2013;59:1489-1496.
 59. Jung EJ, Santarpia L, Kim J, Esteva FJ, Moretti E, Buzdar AU, Di Leo A, Le XF, Bast Jr RC, Park ST, Pusztai L, Calin GA, Plasma microRNA 210 levels correlate with sensitivity to trastuzumab and tumor presence in breast cancer patients. *Cancer* 2012;118:2603-2614.
 60. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, A. Peterson, J. Noteboom, K.C. O'Brian, A. Allen, D.W. Lin, N. Urban, C.W. Drescher, B.S. Knudsen, D.L. Stirewalt, R. Gentleman, R.L. Vessella, P.S. Nelson, D.B. Martin, M. Tewari, Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008;105:10513-10518.
 61. Brase JC, Johannes M, Schlomm T, Falth M, Haese A, Steuber T, Beissbarth T, Kuner R, Sultmann H, Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer, *Int. J. Cancer* 2011;128:608-616.
 62. Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, Morimura R, Tsujijura M, Konishi H, Takeshita H, Nagata H, Arita T, Hirajima S, Shiozaki A, Ikoma H, Okamoto K, Ochiai T, Taniguchi H, Otsuji E, Clinical impact of circulating miR-221 in plasma of patients with pancreatic cancer. *Br. J. Cancer* 2013;108:361-369.
 63. Nguyen HC, Xie W, Yang M, Hsieh CL, Drouin S, Lee GS, Kantoff PW, Expression differences of circulating microRNAs in metastatic castration resistant prostate cancer and low-risk, localized prostate cancer. *Prostate* 2013;73:346-354.
 64. Huang Z, Huang D, Ni S, Peng Z, Sheng W, Du X. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int. J. Cancer* 2010;127:118-126.
 65. Toiyama Y, Hur K, Tanaka K, Inoue Y, Kusunoki M, Boland CR, Goel A, Serum miR-200c is a novel prognostic and metastasis-predictive biomarker in patients with colorectal cancer. *Ann. Surg* 2014;259:735-743.
 66. Wang LG, Gu J. Serum microRNA-29a is a promising novel marker for early detection of colorectal liver metastasis, *Cancer Epidemiol* 2012;36:e61-e67.
 67. Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, Zheng H, Schetter AJ, Nykter M, Harris CC, Chen K, Hamilton SR, Zhang W. Circulating plasma miR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis, *PLoS One* 2011;6:e17745.
 68. Zhang J, Zhang K, Bi M, Jiao X, Zhang D, Dong Q, Circulating microRNA expressions in colorectal cancer as predictors of response to chemotherapy. *Anticancer Drugs* 2014;25:346-352.

