



KÜÇÜK HÜCRELİ VE KÜÇÜK HÜCRELİ OLMAYAN AKCİĞER KANSERLERİNDE ROL OYNAYAN MİRNA'LARIN BİYOBİYOİNFORMATİK ANALİZLERLE KARŞILAŞTIRILMASI

THE COMPARISON OF MICRORNAS INVOLVED IN SMALL CELL LUNG CANCER AND NON-SMALL CELL LUNG CANCER THROUGH BIOINFORMATICS ANALYSES

Yalda HEKMATSHOAR¹ , Aynur KARADAĞ GÜREL^{2*} , Adem AYDOĞAN³

¹Altınbaş Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, 34147, İstanbul, Türkiye

²Uşak Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, 64200, Uşak, Türkiye

³Uşak Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 64200, Uşak, Türkiye

ÖZ

Amaç: Akciğer kanseri, dünya çapında karsinomla ilişkili ölümlerin önemli bir nedenidir. Küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan 2 ana akciğer kanseri türü bulunmaktadır. İyi prognoz elde edilmesi, hedefe yönelik tedavinin geliştirilmesi ve potansiyel biyobelirteçleri belirlenmesi amacıyla yeni yöntemler bulmak, akciğer kanserinin klinik etkinliğini geliştirilmesi için büyük önem taşımaktadır. Çalışmanın amacı 2 alt tipte farklı ifade olan miRNA'ları bularak patogenezi ve potansiyel moleküler belirteçlerini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: miRNA verisi içeren GSE19945 ve GSE135918 nolu veri seti GEO veri tabanından indirilmiştir. GEO2R çevrimiçi analiz aracı ile $P < 0.05$ ve log kat değişimi $|FC| \geq 1$ alınarak analiz edilmiştir. Farklı ifade edilen miRNA'ların hedef genleri tanımlanmıştır. Cytoscape PPI kullanılarak ağ görselleştirme ve modül tanımlaması yapılmıştır. miRNA hedef genlerinden 3 adet seçilerek genlerin validasyonu akciğer kanseri hücre hattı A549'da yapılmıştır.

Sonuç ve Tartışma: 17 ifadesi azalan ve 2 ifadesi artan ortak miRNA'lar arasında hsa-miR-1249, hsa-miR-326, hsa-let-7c, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-940, hsa-miR-139-3p, hsa-miR-142-3p, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-455-5p, hsa-miR-146b-5p, hsa-miR-152, hsa-miR-133b, hsa-miR-498, hsa-miR-199b-5p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-203 ve hsa-miR-139-5p yer almaktadır. miRNA'ların moleküler fonksiyonlarının ve sinyal yollarının tanımlanması, 2 kanser tipinin moleküler mekanizmalarının mevcut anlayışını derinleştirebilir ve, tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, biyoinformatik analiz, küçük hücreli akciğer kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, miRNA

ABSTRACT

Objective: Lung cancer is a major cause of cancer-related deaths worldwide. There are two main types of lung cancer, small cell and non-small cell. Finding new methods for achieving a good prognosis, developing targeted therapy and identifying potential biomarkers is crucial for improving the clinical efficacy of lung cancer. The aim of this study was to investigate the pathogenesis and potential molecular markers by finding differentially expressed miRNAs in 2 subtypes of lung cancer.

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Aynur Karadağ Gürel
e-posta / e-mail: aynur.karadag@usak.edu.tr, Tel. / Phone: +902762212121/6240

Gönderilme / Submitted : 06.08.2024

Kabul / Accepted : 10.12.2024

Yayınlanma / Published : 19.05.2025

Materials and Methods: The datasets GSE19945 and GSE135918 containing miRNA data were downloaded from the GEO database. Analyzed with GEO2R online analysis tool with $P < 0.05$ and log fold change $|FC| \geq 1$. Target genes of differentially expressed miRNAs have been identified. Network visualisation and module identification were performed using Cytoscape PPI. Three of the miRNA target genes were selected and validation of the genes was performed in the non-small cell lung cancer cell line A549.

Results and discussion: 17 common miRNAs with decreased expression and 2 with increased expression include hsa-miR-1249, hsa-miR-326, hsa-let-7c, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-940, hsa-miR-139-3p, hsa-miR-142-3p, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-455-5p, hsa-miR-146b-5p, hsa-miR-152, hsa-miR-133b, hsa-miR-498, hsa-miR-199b-5p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-203 and hsa-miR-139-5p. Defining the molecular functions and signaling pathways of miRNAs may deepen the current understanding of the molecular mechanisms of the 2 cancer types and contribute to the development of treatment options.

Keywords: Bioinformatics analysis, lung cancer, microRNA, non-small cell lung cancer, small cell lung cancer

GİRİŞ

Akciğer kanseri, dünya çapında karsinomla ilişkili ölümlerin önemli bir nedenidir ve akciğer kanserine ilişkin en son Dünya sağlık örgütü verilerine göre 2022'de bu hastalığın yaklaşık 3 milyon yeni vakası tahmin edilmektedir. Gen mutasyonları ve hücre ortamı değişiklikleri, tümörlerin oluşumunu, büyümesini ve metastazını etkileyebilir. Nasıl tedavi edildikleri, nerede büyümeye başladıkları ve ne kadar hızlı yayıldıkları gibi çeşitli şekillerde farklılık gösteren 2 ana akciğer kanseri türü vardır. Akciğer kanseri, küçük hücreli olmayan (KHDAK) (~%85) ve küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ~%15] dahil olmak üzere iki ana histolojik gruba ayrılır. Akciğer kanseri tipik olarak bronşları veya akciğerin bronşiyoller veya alveoller gibi kısımlarını kaplayan hücrelerde büyümeye başlar. KHDAK ve küçük hücreli akciğer kanseri KHAK akciğerlerin bu bölümlerinde gelişmeye başlar, ancak KHAK en sık olarak trakeadan akciğerlere giden hava yolları olan bronşlarda bulunur [1]. KHAK, pulmoner karsinomun ana histolojik formudur. Geleneksel tedavi yöntemleri kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi içerir. Kemoterapi, KHAK için en önemli tedavi yöntemidir ancak yüksek ilaç direnci ve nüks oranları gibi sorunlar etkinliğini sınırlamaktadır. Çoğu hasta, tanı anında genellikle hastalığın ileri evrelerinde olduğundan, KHAK genellikle düşük sağkalım oranları ve düşük yaşam kalitesi ile karakterizedir. Aslında, KHAK'ın 5 yıllık sağkalım oranı $< \%6$ ve yüksek mortaliteye sahiptir; dahası, oldukça invazivdir ve lenfatik metastaza eğilimlidir [2]. Bugüne kadar, moleküler hedefli hiçbir ilacın hasta sağkalımını önemli ölçüde uzattığı henüz gösterilmemiştir [3]. Daha da önemlisi, KHAK'ın oluşumu, gelişimi ve metastazının altında yatan moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Bu nedenle, bir KHAK prognozu ve hedefe yönelik tedavi için potansiyel biyobelirteçleri belirlemek için yöntemler bulmak, akciğer kanserinin klinik etkinliğini geliştirmek için büyük önem taşımaktadır. KHDAK, akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %85'ini oluşturan en yaygın akciğer kanseri tipidir. KHDAK'nin ana alt tipleri akciğer adenokarsinomu, akciğer skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinomdur [4]. KHDAK'nin patogenezi karmaşıktır ve genetik ve immünolojik değişiklikleri içerir. Bir yandan tümör hücrelerinin göç, invazyon ve çoğalma yetenekleri varken; diğer yandan tümör hücreleri, anti-tümör ilaçlara karşı direnç geliştirir [4]. Erken evre KHDAK'li hastalarda genellikle belirgin semptomlar yoktur; bu nedenle çoğu hasta, tanı anında yaşam kalitelerini ve sonraki tedaviyi ciddi şekilde etkileyen evre III veya IV KHDAK'ye sahiptir [5-6]. Sürekli tıbbi teknoloji gelişmeleri ile, tümör immünoterapisi ve hedefe yönelik tedavi gibi yeni tedavi yöntemleri klinik ortamlarda yaygın olarak geliştirilmiştir. Ayrıca, tümörler için kesin ve kişiselleştirilmiş tedavi planları yavaş yavaş gelişmektedir. Ancak, erken tanı belirteçlerinin olmaması nedeniyle, KHDAK hastaları sıklıkla erken tedavi için en iyi fırsatı kaçırmak ve 5 yıllık sağkalım oranları sadece %23'tür [7]. Bu nedenle, akciğer kanseri tanı ve tedavisi için belirteçlerin belirlenmesi, konu erken KHDAK tanı oranını artırmak ve uygun tıbbi tedavileri seçmek söz konusu olduğunda önemli klinik öneme sahiptir.

Mikrodizin ve biyoinformatik teknolojiler, hastalık araştırmalarında, özellikle genom boyu mRNA'yı ve miRNA'yı tanımlamanın yanı sıra bunların moleküler mekanizmaların aydınlatılmasında geniş uygulamalar göstermektedir [8-10]. Birçok küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gen ekspresyon

profili çalışması, mikrodizin teknolojisi kullanılarak yürütülmüştür ve çok sayıda KHAK ve KHDAK ile ilişkili DEG tanımlanmıştır [11-12]. Mao et al. KHAK'ın patogenezi ve potansiyel moleküler belirteçlerini araştırmak için KHAK dokuları ve normal akciğer dokuları arasındaki mRNA ve mikroRNA'nın diferansiyel ekspresyonlarını karşılaştırmak için biyoinformatik yöntemler kullanmıştır [13]. Çalışmanın amacı 2 alt tipte farklı ifade olan miRNA'ları ve hedef genleri tanımlayarak hastalığın patogenezi altında yatan mekanizmaları ve potansiyel moleküler belirteçlerini incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mikrodizi Verilerinin Elde Edilmesi ve Analizi

Gene Expression Omnibus (GEO) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>) veri tabanı kullanılarak miRNA dataları taranarak KHAK ve KHDAK gen ekspresyon profili içeren veri kümeleri GSE19945 ve GSE135918 GEO'dan indirilmiştir. GSE19945 veri seti, 35 KHAK numunesi ve 8 normal akciğer dokusu numunesi dahil olmak üzere cerrahi rezeksiyon ile 43 numune içermektedir. miRNA'nın ifadesinde, Agilent Human 0.6K miRNA Microarray G4471A platformu kullanılmıştır. KHDAK'ın miRNA GSE135918 Exiqon miRCURY LNA microRNA array, 7th generation platformu kullanılarak analiz edilen veri seti, 5 KHDAK numunesi ve 5 normal akciğer dokusu numunesi dahil olmak üzere cerrahi rezeksiyon ile 10 numune içermektedir (Tablo 1). Örnekler arasındaki farklar, GEO'nun yerleşik çevrimiçi aracı olan GEO2R ile analiz edildi. Farklı ifade edilen genlerin (DEG'lerin) önemi, adjp değeri ve $|\log \text{ kat değişimi}| (|\log \text{ FC}|)$ ile değerlendirildi ve $\text{adjp} < 0.05$ ve $|\log \text{ FC}| > 1$ tarama kriteri olarak kullanıldı.

miRNA Hedef Genlerinin Tahmin Edilmesi

MIRDB ve TargetScan (<http://www.targetscan.org>), DEM hedef genlerini ve miRNA-gen çiftlerini tahmin etmek için bir biyoinformatik bir platformdur. Bu çalışmada bu veri tabanları kullanarak, ortaya çıkan miRNA'ların hedef genleri tahmin edilmiştir. Venny 2.1 çevrimiçi aracı (<http://bioinfo.cnb.csic.es>), DEG'ler ve DEM'lerin öngörücü genleri arasında örtüşen genleri bulmak için kullanılmıştır. Her veri setinden ifadesi en çok artan ve azalan 5 miRNA'nın hedef genleri çıkarılmış ve bu genler karşılaştırılmıştır.

miRNA Hedef Genlerinin Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi

Veri açıklama analizi için yaygın olarak kullanılan web tabanlı bir genomik işlevsel açıklama aracı olan DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) kullanılmıştır. Bu çalışmada miRNA'ların hedef genleri, Gene Ontology (GO) analizi ve Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) yol analizi ile moleküler fonksiyon ve yolak analizleri yapılmıştır.

Protein-Protein Etkileşimi (PPI) Ağlarının Oluşturulması ve Modül Araştırması

DEG'lerin PPI ağı, anahtar sinyal yollarının ve hücrel aktivite moleküler mekanizmalarını tanımlamak için Cytoscape yazılımı (sürüm 3.6.0; www.cytoscape.org) kullanılarak oluşturulmuş ve önemli ağları belirlemek için >0.9 'lük bir etkileşim puanı kabul edilmiştir. Cytoscape yazılımının Network Analyzer eklentisi kullanılarak genler arasındaki ilişki, ağın kümelenme katsayısı, düğüm derecesi dağılımı ve en kısa yol gibi ağ topolojisi özelliklerine göre analiz edilmiştir. Daha sonra, hub genlerini doğrulamak için moleküler kompleks tespiti (MCODE) kullanılmıştır. Tarama eşikleri 'derece kesme=2', 'düğüm puanı kesme=0.2', 'k-çekirdek=2' ve 'maks·derinlik=100' olarak alınmıştır.

A549 Akciğer Kanseri Hücre Kültürü ile miRNA Hedef Genlerinin *İn-Vitro* Validasyonu

Hücreler pasajlanarak her kuyuda 100.000 hücre olacak şekilde 6 kuyulu kültür kaplarına ekildi. Ertesi gün hücreler, %80 oranında kuyuları kaplayınca, büyüme medyumuna %1 FBS %1 penisilin/streptomisin içeren açlık medyumuna değiştirildi. Hücreler %80 yoğunluğa ulaştıklarında santrifüj yapılarak hücre pelletleri toplanıp trizol eklenerek -80°C 'de saklanmıştır. Daha sonra toplanan örneklerden RNA izolasyonu yapılmıştır.

RNA İzolasyonu ve RT-PCR ile Gen İfade Analizi

Mevcut analizimizi doğrulamak için miRNA hedef genlerinden 3 genin doğrulaması yapılmıştır. Invitrogen Purelink RNA Mini kit kullanılarak RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen RNA'ların miktarı spektrofotometre ile ölçüldü. Ardından RNA'nın kalitesine %1'lik agaroz jel elektroforezi yapılarak bakıldı. 3 tekrar için 3 ayrı kuyudan yaklaşık 500 ng RNA'lardan, Transcriptor High Fidelity cDNA sentez kiti kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi. Elde edilen cDNA'lar nanodrop cihazında ölçülerek 500 ng olarak hesaplandı. cDNA kalıplarının eldesi ve kalitesin %1'lik agaroz jel elektroforezi yapılarak kontrol edildi. cDNA kalıpları bir süre +4°C'de bırakıldıktan sonra qRT-PCR'da yapılmaya kadar -20°C'de saklandı. Kullanılan primer dizileri Tablo 1'de gösterilmiştir. qRT-PCR reaksiyonu, Syber Green Master mix karışımı ile yapıldı. PCR reaksiyonu, üretici firmanın Syber Green Master mix ile tamamlandı. Biorad CFX96 cihazına yerleştirilerek qRT-PCR reaksiyonu gerçekleştirildi. Bağlı kantifikasyon, $2^{-\Delta Ct}$ değerlerinden şu denklemle hesaplandı: $\Delta Ct = Ct_{Gen} - Ct_{GADPH}$.

Tablo 1. Primer listesi

Gen adı	Primer dizisi
GAPDH	Reverse: 5'-ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAGC-3'
	Forward: 5'-TGGTATCGTGGAAGGACTCATGAC-3'
MAPK1	Reverse: 5'-GCCTGGCCCCACCTGTG-3'
	Forward: 5'-CACGGAAGGTCCTGAGGGG-3'
KRAS	Reverse: 5'-TCCTGTAGGAATCCTCTATTG-3'
	Forward: 5'-GCCTGCTGAAAATGACTG-3'
NUP98	Forward: 5'-TTTATAGAGGGCCATACCGATTTC-3'
	Reverse: 5'-AAACCGGATTGTTCCATTCTTCT-

İstatistiksel Analiz

P değerleri ve FDR, GEO2R'nin yerleşik t- testi, Benjamini ve Hochberg (yanlış saptama oranı) ve hasta ve kontrollerin karşılaştırılmasıyla elde edilen DEM'ler ve DEG'leri belirlemek için diğer yöntemler kullanılarak hesaplanmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Mikrodizin Verilerinin Elde Edilmesi ve Analizi

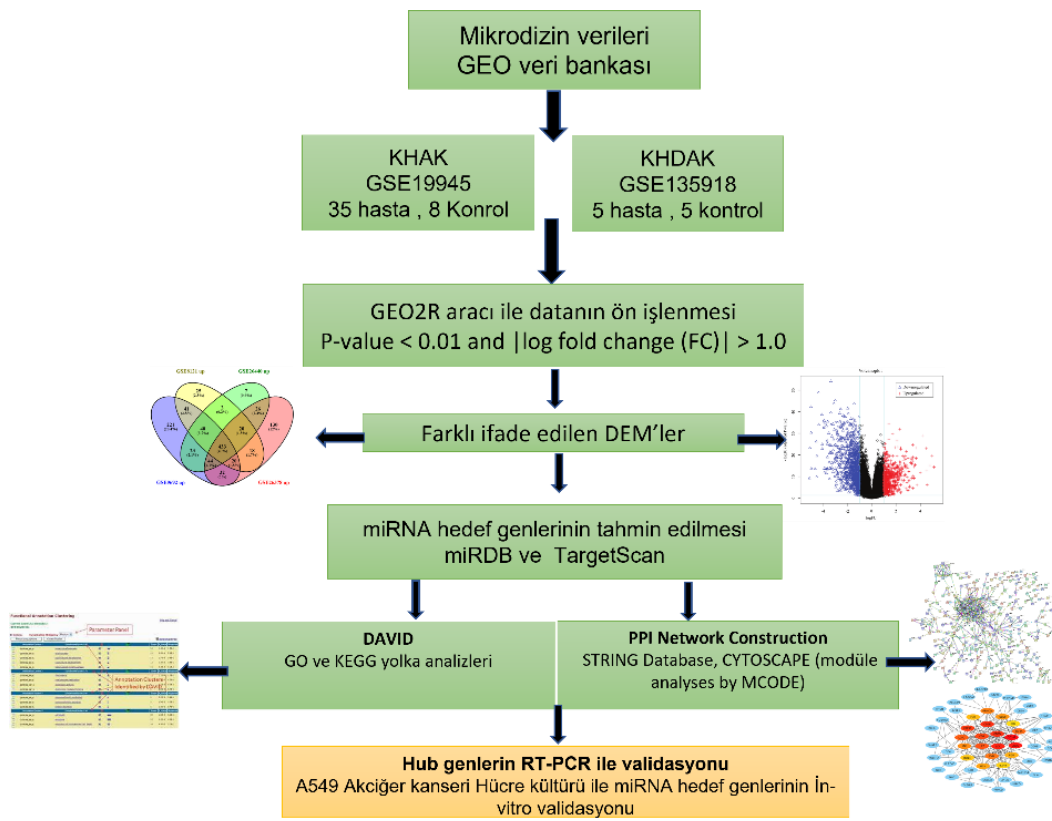
Erişime açık bir genomik veri tabanı olan Gene Expression Omnibus (GEO) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>) veri tabanı kullanılarak miRNA verileri tarandı. İnsan KHAK ve KHDAK numunesi gen ekspresyon profili genel veri kümeleri **GSE19945** ve **GSE135918** GEO veri tabanından indirildi. Küçük Hücreli Akciğer kanseri (KHAK) GSE19945 veri seti, 35 KHAK örneği ve 8 normal akciğer dokusundan oluşmaktadır. miRNA'nın ifadesinde, Agilent Human 0.6K miRNA Mikroarray G4471A platformu kullanılmıştır. Küçük Hücreli olmayan Akciğer kanseri (KHDAK) miRNA GSE135918 Exiqon miRCURY LNA mikroRNA array, 7th generation platformu kullanılarak analiz edilen veri seti, 5 KHDAK örneği ve 5 normal akciğer dokusu örneği içermektedir. Örnek sayıları ve çalışılan platformlar Tablo 2'de gösterilmiştir. Çalışmanın ilerleyişini gösteren iş akış şeması Şekil 1'de gösterilmiştir.

Diferansiyel olarak eksprese edilen miRNA'ların taranması 2 profilin verileri, R dili kullanarak analiz yapan GEO2R'yi temel alan bir çevrimiçi analiz programı kullanılarak analiz edildi. Profillerdeki diferansiyel miRNA'ları karşılaştırmak ve farklı olanları analiz etmek için Venn yazılımı kullanıldı ve genellikle up ve down regüle edilen diferansiyel miRNA'lar elde edildi (Şekil 2). GSE19945 ve GSE 135918 nolu verilere ait Volcano plots ve hasta ve kontrol örneklerinin gruplandığı UMAP grafikleri oluşturulmuştur. Volcano plot grafiklerinde her grafik, yatay eksenle log2 (kat değişimi) ve dikey

eksende log10 (q değeri) ile çizilen genin ifadesini temsil eder. Kırmızı, up regülasyonu, mavi down regülasyonu anlamlı bir fark olduğunu gösterirken siyah noktalar ise anlamsız olanları temsil eder. Örnek dağılımı açısından bakıldığında ise kanserli örneklerin birbirine benzer yapıda olup gruplandığı yine aynı şekilde kontrol gruplarında birbiriyle ortak gruplandığı gösterilmiştir. Yeşil noktalar kanser örneklerini mor olanlar kontrol gruplarını temsil eder (Şekil 2).

Tablo 2. Analizi yapılacak GEO veri setleri

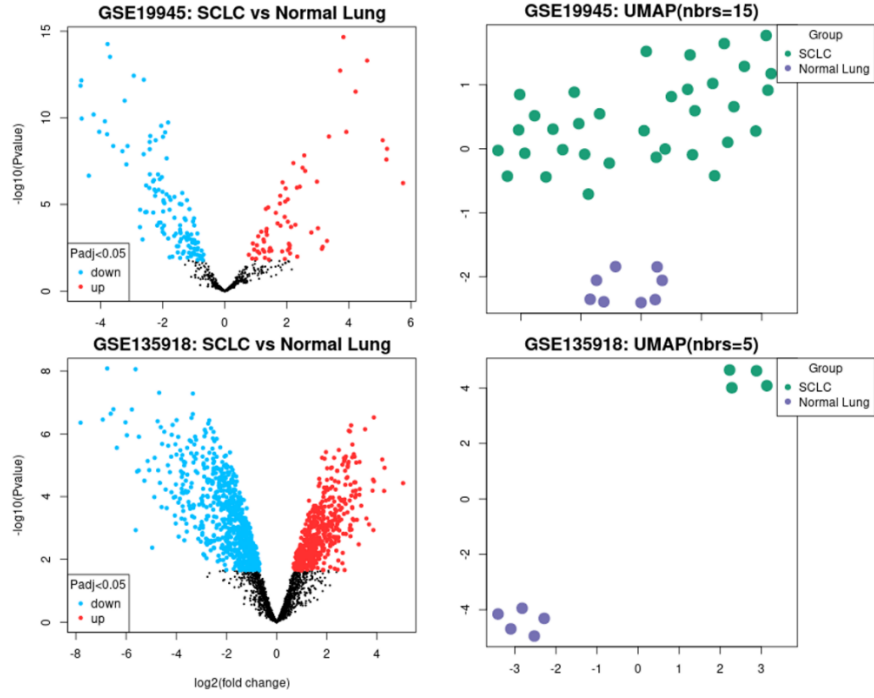
Veri seti	Hasta sayısı	Kontrol sayısı	Platform	Tipi
GSE19945	35	8	Agilent Human 0.6K miRNA Microarray G4471A platformu kullanılmıştır	KHAK
GSE135918	5	5	Exiqon miRCURY LNA microRNA array, 7th generation	KHDAK



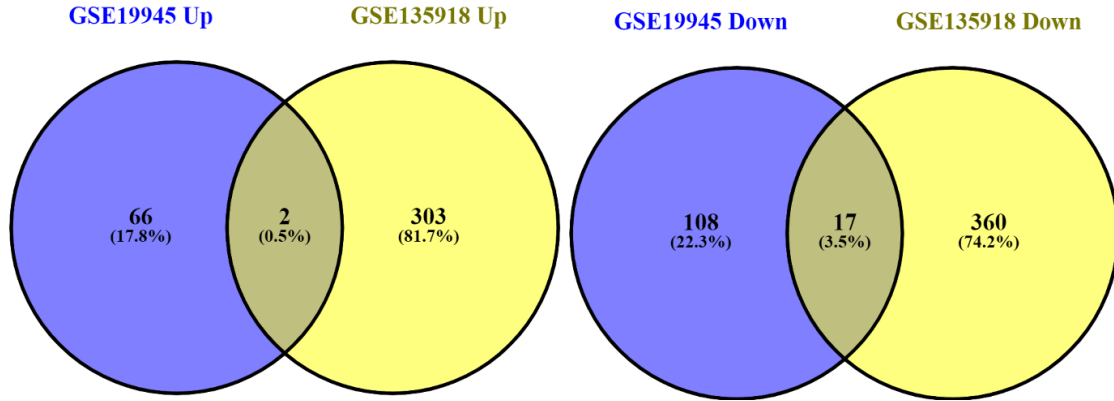
Şekil 1. İş akış planı

Küçük Hücreli ve Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanserlerinde Rol Oynayan miRNA'ların DEM'lerin Tanımlanması

İki veri seti GEO2R analizi ile analiz edildi ve 1 numaralı veri seti, GSE19945'te 68 up regüle edilmiş gen ve 125 down regüle edilmiş gen, GSE135918'de ise 305 yukarı regüle edilmiş gen ve 377 aşağı regüle edilmiş miRNA bulunmuştur. 2 veri setinin farklı gen ekspresyon modellerine göre bir Venn diyagramı oluşturuldu ve 17 azalan ve 2 artan ortak diferansiyel olarak eksprese edilmiş miRNA tesbit edildi (Şekil 1). 17 azalan ortak miRNA'lar hsa-miR-1249, hsa-miR-326, hsa-let-7c, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-940, hsa-miR-139-3p, hsa-miR-142-3p, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-455-5p, hsa-miR-146b-5p, hsa-miR-152, hsa-miR-133b, hsa-miR-498, hsa-miR-199b-5p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-203 ve hsa-miR-139-5p'dir. Artan ortak 2 miRNA ise hsa-miR-758 ve hsa-miR-210'dur. Her iki grupta da ifadesi en çok artan ve azalan miRNA'lar ise Şekil 3 ve Tablo 3-4'de verilmiştir.



Şekil 2. GSE19945 ve GSE135918 nolu verilere ait Volcano plots ve hasta ve kontrol örneklerinin gruplandırıldığı UMAP grafikleri. Her grafik, yatay ekseninde $\log_2$ (kat değişimi) ve dikey ekseninde $\log_{10}(q$ değeri) ile çizilen genin ifadesini temsil eder. Kırmızı, up regülasyonu, mavi down regülasyonu, anlamlı bir fark olmadığını temsil eder



Şekil 3. Venn yazılımı tarafından tanımlanan artan azalan ve ortak değişen miRNA sayıları ($\log_{2}FC > 1$ ve $\log_{2}FC < -1$, $p < 0.05$)

Tablo 3. GSE19945 nolu küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) veri setinde ifadesi en çok artan ve azalan 20 miRNA (adjpval<0.05, pvalue<0.05)

İfadesi artan miRNA'lar			İfadesi azalan miRNA'lar		
miRNA_ID	P.Value	logFC	miRNA_ID	P.Value	logFC
hsa-miR-9*	5.86E-07	5.7	hsa-miR-1	1.4E-12	-4.6
hsa-miR-1290	6.17E-09	5.2	hsa-miR-144*	6.94E-13	-4.6
hsa-miR-9	2.57E-08	5.2	hsa-miR-144	1.11E-10	-4.6
hsa-miR-7	1.98E-09	5	hsa-miR-30a*	2.19E-07	-4.3
hsa-miR-130b	3.09E-12	4.2	hsa-miR-486-5p	6.45E-10	-4
hsa-miR-301b	6.48E-10	3.9	hsa-miR-145	1.6E-10	-3.8
hsa-miR-182	1.89E-13	3.7	hsa-miR-338-3p	8.86E-10	-3.7
hsa-miR-18a	1.2E-09	3.3	hsa-miR-126	5.57E-15	-3.7
hsa-miR-410	0.00363	3.1	hsa-miR-126*	3.02E-14	-3.6
hsa-miR-592	0.000237	3	hsa-miR-30a	4.24E-09	-3.5
hsa-miR-200a*	4.83E-07	2.9	hsa-miR-143	8.45E-09	-3.2
hsa-miR-196b	0.000413	2.7	hsa-miR-145*	1.03E-11	-3.2
hsa-miR-18b	1.17E-07	2.5	hsa-miR-223	4.86E-08	-3.1
hsa-miR-200b	1.48E-08	2.5	hsa-miR-572	4.24E-09	-3.1
hsa-miR-429	7.63E-08	2.5	hsa-miR-638	3.72E-13	-2.9
hsa-miR-181c*	9.47E-07	2.4	hsa-miR-551b	0.000203	-2.7
hsa-miR-216a	0.0103	2.3	hsa-miR-139-5p	2.03E-05	-2.7
hsa-miR-1287	0.00015	2.2	hsa-miR-203	0.00105	-2.6
hsa-miR-301a	4.1E-08	2.2	hsa-miR-29a	1.25E-08	-2.6
hsa-miR-30c-2*	6.37E-13	2.6	hsa-miR-200b*	0.000197	-2.1

Tablo 4. GSE135918 nolu küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) veri setinde ifadesi en çok artan ve azalan 20 miRNA (adjPval<0.05 Pvalue<0.05)

İfadesi artan miRNA'lar			İfadesi azalan miRNA'lar		
miRNA_ID	P.Value	logFC	miRNA_ID	P.Value	logFC
hsa-miR-665	0.000037	5.0	hsa-miR-20a-5p	4.37E-07	-7.8
hsa-miR-548l	0.0000655	4.2	hsa-miR-126-5p	8.15E-09	-6.7
hsa-miR-4470	0.0000065	4.2	hsa-miR-126-3p	2.26E-07	-6.6
hsa-miR-3925-5p	0.000761	3.6	hsa-miR-199b-5p	2.77E-06	-6.3
hsa-miR-369-3p	0.000000708	3.5	hsa-miR-20b-5p	4.26E-07	-6.0
hsa-miR-558	0.000194	3.3	hsa-miR-101-3p	1.1E-06	-5.9
hsa-miR-4485	0.00331	3.2	hsa-miR-195-5p	1.66E-07	-5.7
hsa-miR-1247-3p	0.000545	3.1	hsa-miR-142-3p	0.00117	-5.6
hsa-miR-4636	0.0000349	3.1	hsa-miR-30a-3p	1.59E-05	-5.5
hsa-miR-4524b-5p	0.000104	3.1	hsa-miR-451a	1.46E-05	-5.5
hsa-miR-224-3p	0.00000534	3.1	hsa-miR-660-5p	1.23E-06	-5.4
hsa-miR-4488	0.000035	3.0	hsa-miR-15a-5p	0.000031	-5.2
hsa-miR-4516	0.00000443	3.0	hsa-miR-16-5p	7.3E-06	-5.1
hsa-miR-1228-5p	0.00056	3.0	hsa-miR-30b-5p	1.43E-05	-5.0
hsa-miR-5011-5p	0.000067	3.0	hsa-miR-26b-5p	0.000103	-4.8
hsa-miR-4732-5p	0.00000217	3.0	hsa-miR-335-5p	1.45E-05	-4.7
hsv2-miR-H10	0.000216	3.0	hsa-miR-26a-5p	3.64E-05	-4.6
hsa-miR-3175	0.0000922	2.9	hsa-miR-4536-3p	8.53E-07	-4.4
hsa-miR-125b-1-3p	0.000000532	2.9	hsa-miR-181c-5p	5.3E-06	-4.2
hsa-miR-381	0.00183	2.9	hsa-miR-144-3p	7.21E-05	-4.1

MiRNA Hedef Genlerinin Tahmin Edilmesi

Her veri setinden ifadesi en çok artan ve azalan 5 miRNA'nın hedef genleri çıkarılmış ve bu genler karşılaştırılmıştır. GSE19945 nolu KHAK veri setinde ifadesi en çok azalan 5 miRNA'nın toplam

hedef gen sayısı 2719, ifadesi en çok artan 5miRNA'nın toplam hedef gen sayısı ise 3181'dir. GSE135918 nolu küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) veri setinde ifadesi en çok azalan 5 miRNA'nın toplam hedef gen sayısı 2948, ifadesi en çok artan 5miRNA'nın toplam hedef gen sayısı ise 3894' dür. Daha sonra yapılan analizlerde bu hedef genler üzerinden yolak ve PPI analizleri yapılmıştır ($p<0.05$) (Şekil 4-5).

	hsa-miR-1290 Up (945)	hsa-miR-9 Up (1236)	hsa-miR-7 Up (875)	hsa-miR-130b Up (917)
hsa-miR-9* Up (991)	110	164	94	129
hsa-miR-1290 Up (945)		142	90	92
hsa-miR-9 Up (1236)			122	142
hsa-miR-7 Up (875)				95

	hsa-miR-144* Down (240)	hsa-miR-144 Down (1254)	hsa-miR-30a* Down (1390)	hsa-miR-486-5p Do wn (331)
hsa-miR-1-3p Down (945)	28	148	150	30
hsa-miR-144* Down (240)		30	39	9
hsa-miR-144 Down (1254)			230	62
hsa-miR-30a* Down (1390)				62

Şekil 4. GSE19945 nolu KHAK veri setinde ifadesi en çok azalan 5 miRNA'nın ortak hedef gen sayıları

	hsa-miR-548l Up (1201)	hsa-miR-4470 Up (861)	hsa-miR-3925-5p Up (1066)	hsa-miR-369-3p Up (712)
hsa-miR-665 Up (911)	69	64	55	47
hsa-miR-548l Up (1201)		150	202	125
hsa-miR-4470 Up (861)			120	73
hsa-miR-3925-5p Up (1066)				86

	hsa-miR-126-5p Do wn (1362)	hsa-miR-126-3p Do wn (19)	hsa-miR-199b-5p Do wn (556)	hsa-miR-20b-5p Do wn (1325)
hsa-miR-20a-5p Down (1381)	222	3	86	1321
hsa-miR-126-5p Down (1362)		2	78	212
hsa-miR-126-3p Down (19)			1	3
hsa-miR-199b-5p Down (556)				84

Şekil 5. GSE135918 nolu KHAK veri setinde ifadesi en çok artan 5 miRNA'nın ortak hedef gen sayıları

Hem KHAK ile KHDAK arasında farklı ifade edilen miRNA'lara hem de ortak miRNA'lara bakmak önemlidir, çünkü her iki yaklaşım da kanserin biyolojik yapısını anlamak ve uygun tedavi stratejileri geliştirmek açısından farklı avantajlar sağlar. Farklı ifade edilen miRNA'lara bakmak tanı ve

ayırıcı teşhis için önemlidir. KHAK ve KHDAK, klinik seyirleri ve tedavi yaklaşımları bakımından oldukça farklıdır. Bu iki kanser tipi arasında farklı şekilde ifade edilen miRNA'ları incelemek, her iki kanser tipini daha iyi ayırt etmeye ve erken teşhis için biyomarker geliştirmeye yardımcı olabilir. Örneğin, bazı miRNA'lar KHAK'de yüksek seviyelerdeyken, KHDAK'de düşük seviyelerde olabilir, bu da doğru tanıyı koymada kritik olabilir. Hedefe Yönelik Tedavi için farklı şekilde ifade edilen miRNA'lar, her kanser türünde farklı biyolojik süreçleri yönlendirebilir. Bu, spesifik tedavi hedeflerinin belirlenmesinde önemli olabilir. Örneğin, KHAK'de tümör büyümesini artıran bir miRNA, KHDAK'de baskılanıyor olabilir, bu da tedavi yaklaşımlarında önemli farklılıklar yaratır. Prognostik Biyomarkerlar açısından bakıldığında ise farklı şekilde ifade edilen miRNA'lar, her iki kanser tipinde hastalığın seyrini ve prognozunu anlamada kritik olabilir. Örneğin, KHAK'de belirli bir miRNA'nın yüksek ekspresyonu daha kötü prognozla ilişkili olabilirken, KHDAK'de bu durum farklı olabilir.

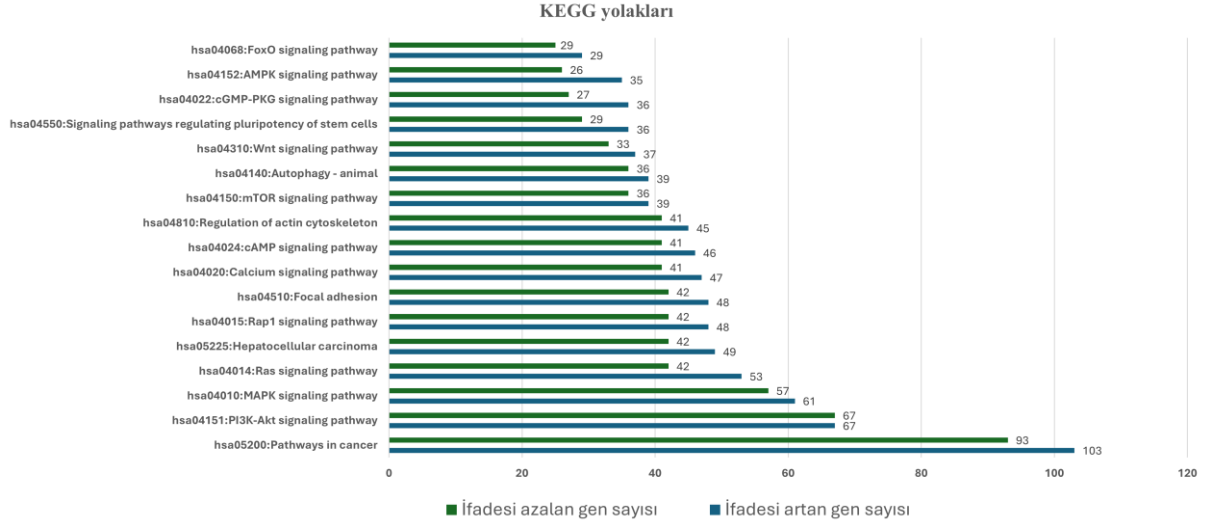
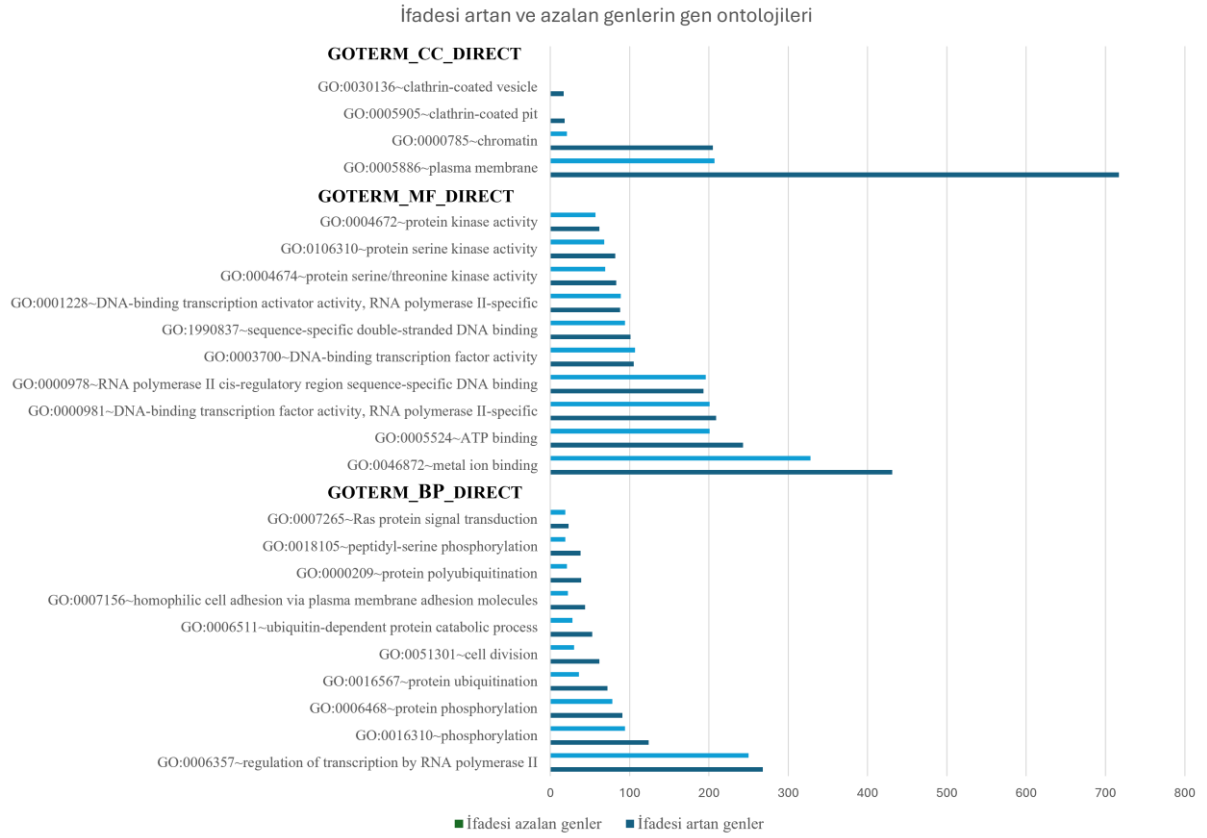
Ortak miRNA'lara bakmanın önemi ise ortak patolojik mekanizmalar için önemlidir. KHAK ve KHDAK arasında ortak şekilde ifade edilen miRNA'lar, her iki kanser türünde de benzer biyolojik süreçleri ve tümör gelişimini düzenleyen temel mekanizmaları işaret edebilir. Bu ortak miRNA'lar, tümör progresyonu, metastaz veya ilaç direnci gibi kritik süreçleri anlamada yol gösterici olabilir. Geniş spektrumlu tedavi stratejileri için ortak miRNA'lar, her iki kanser türüne de etki edebilecek geniş spektrumlu tedavi yaklaşımlarını hedeflemek için önemlidir. Eğer bir miRNA her iki kanser türünde de ortak olarak düzenlenmişse, bu miRNA'yı hedefleyen tedaviler hem KHAK hem de KHDAK için etkili olabilir. Direnç Mekanizmalarında ise ortak miRNA'lar, özellikle kemoterapi veya radyoterapiye direnç mekanizmalarını anlamada önemli olabilir. Eğer bir miRNA her iki kanser türünde de terapötik yanıtta rol oynuyorsa, bu miRNA'yı hedeflemek direnç gelişimini önlemede faydalı olabilir. Farklı miRNA'lar, tanı, tedavi ve prognozun kişiselleştirilmesi için kritik olabilir. KHAK ve KHDAK'yi birbirinden ayırmaya ve spesifik tedavi hedefleri bulmaya yardımcı olur. Ortak miRNA'lar ise ortak biyolojik süreçleri ve tedavi direncini anlamak için önemli olup, geniş spektrumlu tedavi stratejileri geliştirmede yol gösterici olabilir. Her iki grubu incelemek, hem kanser biyolojisinin derinlemesine anlaşılmasını sağlar hem de daha etkili ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

miRNA Hedef Genlerinin Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi

Veri açıklama analizi için yaygın olarak kullanılan web tabanlı bir genomik işlevsel açıklama aracı olan DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) kullanılacaktır. Bu çalışmada miRNA'ların hedef genleri, Gene Ontology (GO) analizi ve Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) yol analizi ile moleküler fonksiyon ve yolak analizleri yapılmıştır (Şekil 6).

Protein-Protein Etkileşimi (PPI) Ağlarının Oluşturulması ve Modül Araştırması

DEG'lerin PPI ağı, anahtar sinyal yollarının ve hücrel aktivitelere moleküler mekanizmalarını tanımlamak için Cytoscape kullanılarak oluşturulmuştur. Cytoscape, biyoinformatik analizde ağ verilerini görselleştirmek ve analiz etmek için kullanılan güçlü bir araçtır. MCODE ve CytoHubba gibi eklentiler (plug-in'ler) özellikle biyolojik ağlarda anahtar genleri ve proteinleri belirlemek için kullanılır. MCODE, ağlarda modüller ya da yoğun alt ağları (cluster) tespit etmek için kullanılan bir algoritmadır. Bu modüller genellikle fonksiyonel olarak ilişkili gen ya da protein kümeleri içerir. [14]. Çalışmamızda MCODE ve cytohubba analizleri sonucu önemli olan aday genleri gösterdik her iki veri seti için ayrı ayrı sonuçlar çıkarılmış ve Tablo 5-6'da ve Şekil 7-8'de belirtilmiştir.



Şekil 6. miRNA'ların hedef genleri, Gene Ontology (GO) analizi ve Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) yolları

Tablo 5. GSE19945 nolu veri setinde ifadesi en çok azalan ve artan 5 miRNA'nın ortak hedef genlerin MCODE analiz sonucu öne çıkan önemli genler ($p<0.05$)

İfadesi azalan hedef genler				
Küme	Skor	Düğüm	Köşe	Genler
1	10	10	46	BCL11A, BCL7A, ARID1A, SMARCB1, SMARCA2, SMARCC1, SS18, ARID2, BICRA, SMARCA4
2	7	7	22	YWHAZ, YWHAE, YWHAQ, WWTR1, YWHAB, CSNK1E, YWHAG
3	6.3	7	19	CTTNBP2, MOB4, SLMAP, PDCD10, STRN3, CTTNBP2NL, STRN
4	6.3	7	19	MED4, CDK8, CDK19, MED6, MED13, MED14, MED12L
5	5	5	13	BRD8, MRGBP, MEAF6, YEATS4, MBTD1
6	5	5	10	SMAD1, BMPR1B, SMAD2, BMPR1A, SMAD9
7	5	5	11	WDR61, CCNT2, AFF4, ELOC, CDC73
İfadesi artan hedef genler				
Küme	Skor	Düğüm	Köşe	Genler
1	12.5	13	75	ARID1B, SMARCC1, SMARCA2, ACTL6A, BCL7A, ARID2, DPF3, SMARCE1, MARCD2, ARID1A, PBRM1, BICRAL, SMARCD1
2	9.4	11	47	PLCG1, PTK2, PTEN, PIK3R1, PIK3R3, PIK3CD, PIK3CA, EGFR, ERBB4, ITGB1, PDGFRB
3	5.6	6	14	PPP2R1B, PPP2CA, STK24, STRN3, STRN, STRIP2
4	5	5	11	PCGF6, CBX7, ASXL1, PCGF5, PHC1
5	5	5	10	VAMP3, STX1A, SNAP23, STX6, VAMP7
6	5	5	10	CDK6, E2F1, RB1, CCNA2, CCNE1

Tablo 6. GSE135918 nolu veri setinde ifadesi en çok azalan ve artan 5 miRNA'nın ortak hedef genlerin MCODE analiz sonucu öne çıkan önemli genler ($p<0.05$)

İfadesi artan hedef genler				
Küme	Skor	Düğüm	Köşe	Genler
1	5.6	6	14	CPEB3, CNOT4, TNKS1BP1, CNOT6, CNOT7, CNOT6L
2	4.8	6	12	BHLHE41, NPAS2, CRY2, RORA, NFIL3, CLOCK
İfadesi azalan hedef genler				
Küme	Skor	Düğüm	Köşe	Genler
1	8	8	28	NUP205, NUP58, NUP133, NDC1, NUP160, AHCTF1, NUP98, NUP37
2	7	7	21	AFF1, AFF4, MLLT3, SUPT4H1, ELL, MLLT1, ELL2
3	5	5	10	SMAD7, SMAD6, SMAD1, SMAD4, SMAD5
4	4.5	5	9	LSM5, WBP4, SF3B3, LSM8, SNRPC

CytoHubba, ağlardaki en önemli düğümleri (hub) ya da genleri/proteinleri tanımlamaya yardımcı olan bir eklentidir. Farklı algoritmalar kullanarak ağdaki hub genlerini ya da proteinlerini puanlar ve sıralar. Bu analiz ile anahtar Genler/Proteinler bulunur. CytoHubba, bir biyolojik ağda kritik rol oynayan hub genleri ya da proteinleri tespit eder. Bu hub'lar genellikle ağın merkezi unsurlarıdır ve hastalık süreçlerinde veya biyolojik işlevlerde önemli rol oynayabilir. Hedef Gen Adaylarını bulmamızda yol gösterir. Bu analiz, yeni biyolojik araştırmalar veya ilaç hedeflemeleri için aday genleri belirlemek için kullanılabilir. MCODE ile fonksiyonel modüller belirlenirken, CytoHubba ile bu modüllerdeki veya ağın genelindeki en önemli genler keşfedilir. Hastalık Mekanizmalarının Aydınlatılmasında özellikle hastalıklarla ilişkili ağlarda, kritik düğümler (hub'lar) veya modüller belirlenerek hastalık süreçlerinin mekanizmaları anlaşılabilir. Biyolojik ağlardaki önemli genler ve proteinler, potansiyel tedavi hedefleri olabilir. CytoHubba, bu tür hub genlerin keşfi için kullanılır. Bu analizler, biyolojik ağların daha derinlemesine anlaşılmasını sağlar ve hücre içi etkileşimlerde kritik olan gen/protein gruplarını tespit etmeye yardımcı olur [14-20].

GSE19945 nolu küçük hücreli akciğer kanseri veri setinde ifadesi en çok artan ARID1A, SAMARCA2, SMARCD2, SMARCC1, SMARCE1, ACTL6A, ARD1B, DPF3, BICRAL, BCL7A, PIK3CA, PIK3R1, PDCFRB, EGFR ve PTEN genleri hub genler olarak tanımlanmıştır (Şekil 7A).

ARID1A, SMARCA2, SMARCD2, SMARCC1, SMARCE1, ACTL6A, ARID1B, DPF3, BICRAL, BCL7A hem ifadesi artan hemde azalan miRNA'ların hedef genleri arasında çıkmıştır. PIK3CA, PIK3R1, PDGFRB, EGFR ve PTEN genleri, potansiyel miRNA hedefleri olarak dikkat çekmektedir. Literatürde ARID1A ve SMARCA2 gibi kromatin düzenleme ile ilgili genlerin, KHAK'ın epigenetik düzenlenmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir. Bu genlerin fonksiyon kaybı mutasyonları, hücre proliferasyonu ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir [21]. Bununla birlikte, miRNA aracılı mekanizmalar yoluyla bu genlerin düzenlenmesine dair özellikle KHAK'daki rolü hakkında literatürde sınırlı bilgi bulunmaktadır. Ancak bu genlerin miRNA aracılı hub hedefler olarak özellikle KHAK'da fonksiyonlarının daha iyi anlaşılması için ileri düzey deneysel çalışmalar gereklidir. Literatürde bazı genler üzerine elde edilen veriler umut verici olmakla birlikte, bu genlerin tamamının miRNA aracılı düzenlenmesi hakkında kapsamlı ve sistematik veriler hala sınırlıdır. Bu durum, gelecekteki çalışmalara yön verebilecek önemli bir bilgi eksikliğine işaret etmektedir.

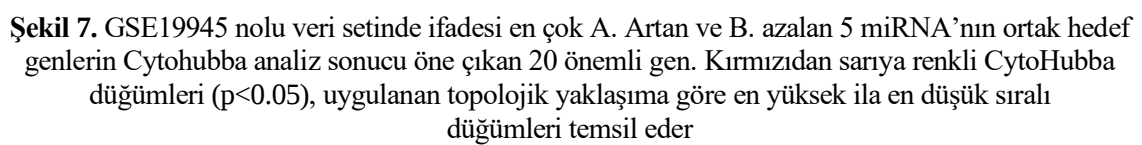
Ifadesi azalan genler arasında ise CSNK1E, YWHAZ, YWHAG, YWHAB, CSNK1E, CREBBP, EP300, STRN (Şekil 7A) genleri bulunmaktadır (Şekil 8A-B). Protein Kinaz ve Adaptor Protein Genleri (CSNK1E, YWHAZ, YWHAG, YWHAB, CREBBP, EP300, STRN) CSNK1E (Casein Kinase 1 Epsilon), YWHA ailesi (YWHAZ, YWHAG, YWHAB), CREBBP, EP300 ve STRN genleri, hücre sinyal iletimi, apoptoz, epigenetik düzenleme ve sirkadiyen ritim gibi çeşitli biyolojik süreçlerde kritik rol oynamaktadır [22-24].

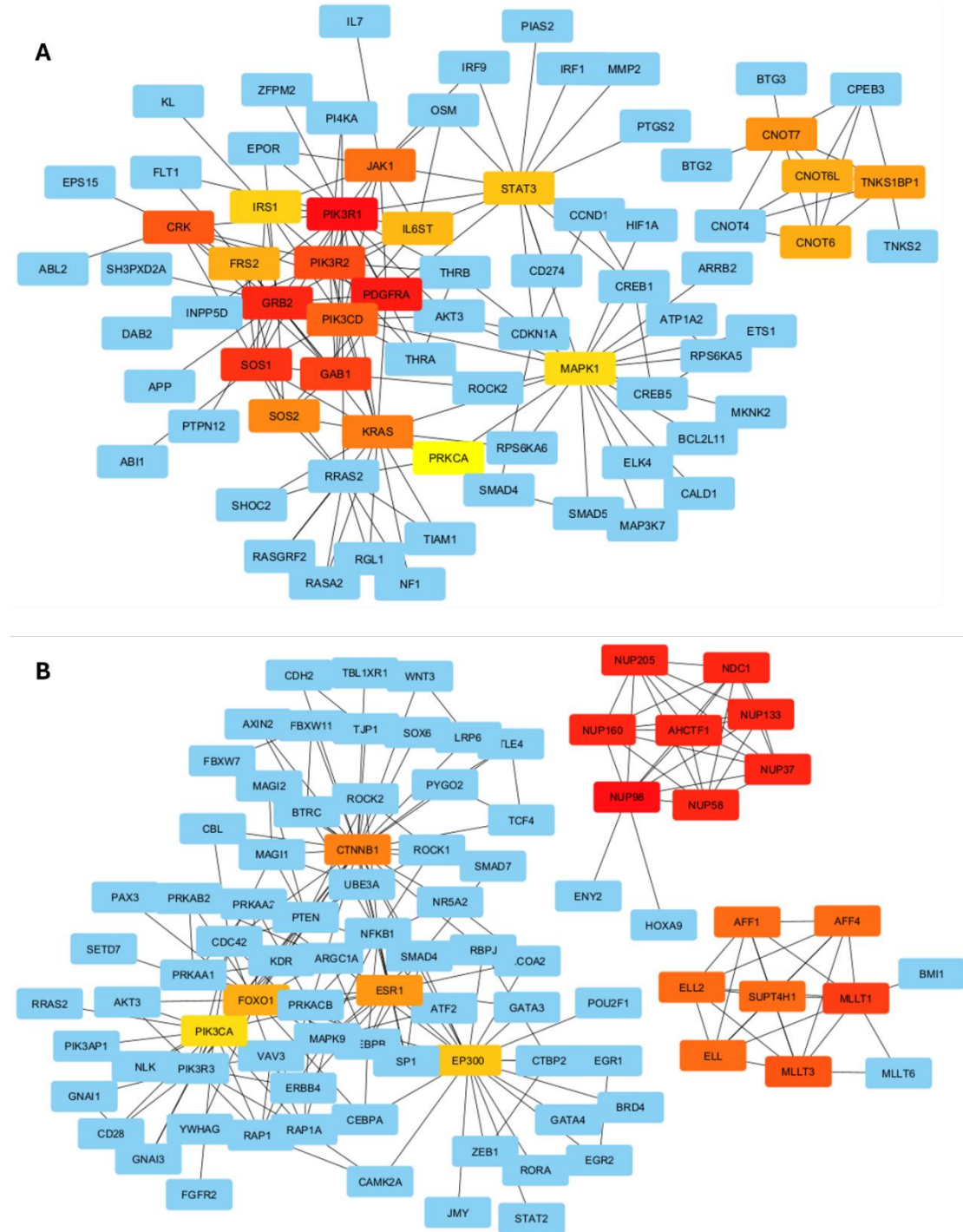
GSE135918 nolu veri setinde ifadesi en çok artan PDGFRA, PIK3R1, GRB2, SOS1 GAB1, KRAS PIK3R2, PIK3CD, CRK, JAK1, STAT3, MAPK1 genleri hub genler olarak tanımlanmıştır. Bu genler, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gibi kanser türlerinde hücre sinyalleme, büyüme faktörü yanıtları ve tümör gelişiminde kritik roller oynar. PDGFRA (Platelet-Derived Growth Factor Receptor Alpha) Hücre büyümesi, farklılaşma ve migrasyon süreçlerinde rol oynar. KHDAK'da aşırı ekspresyonu veya aktivasyonu, tümör büyümesini destekleyebilir [25]. PIK3R1, PIK3R2, PIK3CD (Phosphoinositide 3-Kinase Regulatory/ Catalytic Subunits) PI3K/AKT/mTOR yolaklarının düzenlenmesinde görev alır. Bu yolak, kanser hücrelerinde proliferasyonun artışı ve apoptozun baskılanmasıyla ilişkilidir. GRB2 (Growth Factor Receptor-Bound Protein 2) hücre sinyalleme başlatan adaptor proteinlerden biridir. EGFR mutasyonları ile ilişkili olarak KHDAK'da hücre büyümesi ve metastazı teşvik edebilir [26].

SOS1 (Son of Sevenless Homolog 1), Ras-MAPK yolaklarının aktivasyonunda görev alır ve tümör hücrelerinin büyüme sinyallerine duyarlılığını artırır. GAB1 (Grb2-Associated Binder 1) Hücre içi sinyal iletiminde önemli bir adaptor proteindir ve özellikle EGFR mutasyonlarının aktive ettiği yolaklarda rol oynar. KRAS, KHDAK'da sıkça mutasyona uğrar ve bu mutasyonlar, hücre büyüme ve hayatta kalma mekanizmalarını aktive eder. CRK (v-Crk Avian Sarcoma Virus CT10 Oncogene Homolog) hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi ve migrasyon süreçlerinde görev alır. CRK'nin KHDAK'daki aşırı ekspresyonu metastaz ile ilişkilendirilmiştir. JAK1 ve STAT3 büyüme faktörleri ve sitokin sinyalleme yoluyla hücre proliferasyonu ve apoptozun baskılanmasını kontrol eder. Bu yolakların aşırı aktivasyonu KHDAK'ın ilerlemesine katkıda bulunur. MAPK1 (Mitogen-Activated Protein Kinase 1) Hücre büyümesi ve farklılaşmasında rol oynar. MAPK yolaklarının aktivasyonu, KHDAK'ın tümör progresyonu ile bağlantılıdır [27].

Ifadesi azalan hub genler ise NUP205, NUP58, NUP37, NUP133, NUP160, NUP58, AHCTF1, MLLT1, MLLT3, AFF1, AFF4, SUPT4H1, ELL, ELL2, CTNNB1, ESR1, FOXO1, PIK3CA genleridir. Nükleoporin Genleri (NUP205, NUP58, NUP37, NUP133, NUP160, AHCTF1), hücre çekirdeği ile sitoplazma arasındaki madde alışverişini düzenleyen nükleer por kompleksinin bileşenleridir. KHDAK'da, bu genlerin disfonksiyonu hücre sinyal yollarının bozulmasına, hücre bölünmesinin düzensizleşmesine ve tümör progresyonuna yol açabilir [28].

Translokasyon ile ilişkili Genler (MLLT1, MLLT3, AFF1, AFF4), genellikle hematolojik kanserlerle ilişkilendirilen füzyon proteinleri ile bilinse de, NSCLC'de kromatin düzenlenmesi ve transkripsiyonel kontrol süreçlerinde görev alabilir. Bu genlerdeki anormallikler, hücre büyümesini ve tümör agresifliğini artırabilir [29]. Bu genlerin ifade düzeylerindeki azalmalar, genellikle hücre içi sinyal yollarının bozulmasına, tümör baskılayıcı mekanizmaların etkisizleşmesine ve tümör progresyonuna katkıda bulunur. Bu genler, KHDAK tedavisinde potansiyel hedefler olarak değerlendirilebilir.



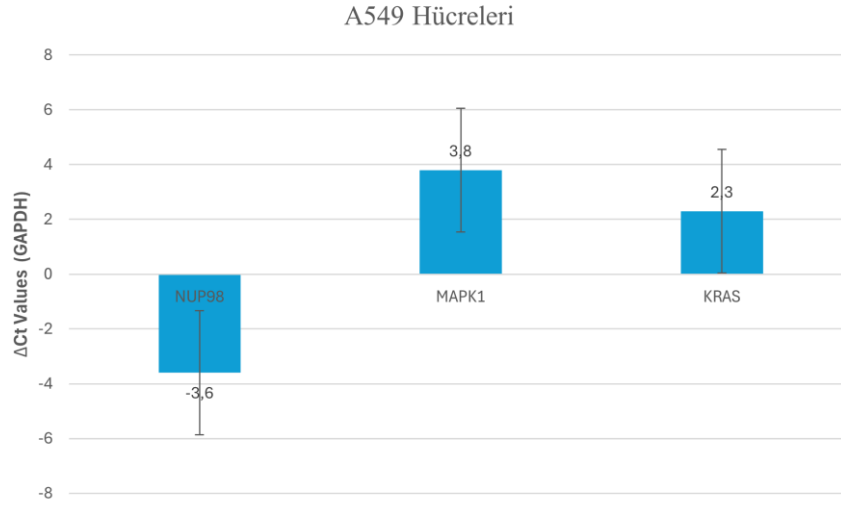


Şekil 8. GSE135918 nolu veri setinde ifadesi en çok A. artan ve B. azalan 5 miRNA'nın ortak hedef genlerin Cytohubba analiz sonucu öne çıkan 20 önemli gen. Kırmızıdan sarıya renkli CytoHubba düğümleri ($p < 0.05$), uygulanan topolojik yaklaşıma göre en yüksek ile en düşük sıralı düğümleri temsil eder

A549 Akciğer Kanseri Hücre Kültürü ile miRNA Hedef Genlerinin *İn-Vitro* Validasyonu

Çalışmamız veri analizine dayandığından, sonuçlarımızı doğrulamak için biyolojik deneylere ihtiyaç vardır. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hattı A549'da etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Mevcut analizimizi doğrulamak için miRNA hedef genlerinden 3 genin doğrulanması

yapılmıştır. MAPK1 ve KRAS ifadesi artan NUP98 geni ise ifadesi azalan gen olarak seçilmiştir. Sonuçlar yapılan analizlerle uyumlu çıkmıştır (Şekil 9).



Şekil 9. Farklı şekilde ifade edilen 3 genin ifade seviyeleri (p<0.05)

Kanser biyolojisindeki önemli ilerlemeler, özellikle kanser ilerlemesi ve gelişimi ile bağlantılı olan ve bu nedenle “biyobelirteçler” olarak adlandırılan çeşitli biyomoleküllerin keşfiyle sonuçlanmıştır. Biyobelirteçler temel olarak normal, anormal veya sadece biyolojik bir süreci tanımlamak veya izlemek için kullanılabilen hücresel, biyokimyasal ve moleküler değişiklikler olan değişikliklerdir. Patojenik süreçleri, normal biyolojik süreçleri ve bir tedavi müdahalesine verilen farmakolojik yanıtı objektif olarak test etmek ve değerlendirmek için kullanılırlar. Biyobelirteçler, kimyasal yapıları ve transkriptomik, metabolomik, genomik ve proteomik kullanılarak tanımlanabilen işlevselliklerine göre sınıflandırılabilir [15,17-20].

miRNA düzenliliği KHDAK'ta sıklıkla bulunur ve miRNA'ların anormal ifadeleri, hedef genlerini düzenleyerek KHDAK'ın proliferasyonu, istilası ve metastazında önemli bir rol oynar [16]. Bu çalışmada, KHAK ve KHDAK'taki anormal miRNA imzalarının biyoinformatik analizi yapılarak ve miRNA'ların hedef genlerini çıkararak her iki kanser tipindeki farklılıkları ve benzerlikleri ortaya koymayı planlamaktayız. Ayrıca ortaya çıkacak miRNA'ların terapötik hedefler veya biyobelirteçler olma olasılığı araştırılacaktır. miRNA'lar tarafından düzenlenen anahtar genler, akciğer kanserinin artan prognozu ve teşhisi için potansiyel biyobelirteçler hakkında bazı ipuçları sağlayabilir.

TEŞEKKÜR

Bu makale TÜBİTAK 2209A 1919B012218259 nolu proje ve Uşak Üniversitesi 2024/LP001 nolu BAP öğrenci projeleri kapsamında desteklenmiştir.

YAZAR KATKILARI

Kavram: Y.H., A.K.G., A.A.; Tasarım: Y.H., A.K.G., A.A.; Denetim: Y.H., A.K.G., A.A. Kaynaklar: Y.H., A.K.G., A.A.; Malzemeler: Y.H., A.K.G., A.A.; Veri Toplama ve/veya İşleme: Y.H., A.K.G.; Analiz ve/veya Yorumlama: Y.H., A.K.G.; Literatür Taraması: Y.H., A.K.G., A.A.; Makalenin Yazılması: Y.H., A.K.G.; Kritik İnceleme: Y.H., A.K.G.; Diğer: -

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

ETİK KURUL ONAYI

Yazarlar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Zappa, C., Mousa, S.A. (2016). Non-small cell lung cancer: Current treatment and future advances. *Translational Lung Cancer Research*, 5(3), 288-300. [\[CrossRef\]](#)
2. Xie, D., Marks, R., Zhang, M., Jiang, G., Jatoi, A., Garces, Y.I., Mansfield, A., Molina, J., Yang, P. (2015). Nomograms predict overall survival for patients with small-cell lung cancer incorporating pretreatment peripheral blood markers. *Journal of Thoracic Oncology*, 10(8), 1213-1220. [\[CrossRef\]](#)
3. Waqar, S.N., Morgensztern, D. (2017). Treatment advances in small cell lung cancer (SCLC). *Pharmacology & Therapeutics*, 180, 16-23. [\[CrossRef\]](#)
4. Woodman, C., Vundu, G., George, A., Wilson, C.M. (2021). Applications and strategies in nanodiagnosis and nanotherapy in lung cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 69, 349-364. [\[CrossRef\]](#)
5. Misra, P., Singh, S. (2019). Role of cytokines in combinatorial immunotherapeutics of non-small cell lung cancer through systems perspective. *Cancer Medicine*, 8(5), 1976-1995. [\[CrossRef\]](#)
6. Miller, K.D., Nogueira, L., Mariotto, A.B., Rowland, J.H., Yabroff, K.R., Alfano, C.M., Jemal, A., Kramer, J.L., Siegel, R.L. (2019). Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal For Clinicians*, 69(5), 363-385. [\[CrossRef\]](#)
7. Ettinger, D.S., Wood, D.E., Aggarwal, C., Aisner, D.L., Akerley, W., Bauman, J.R., Bharat, A., Bruno, D. S., Chang, J.Y., Chirieac, L.R., D'Amico, T.A., Dilling, T.J., Dobelbower, M., Gettinger, S., Govindan, R., Gubens, M.A., Hennon, M., Horn, L., Lackner, R.P., Lanuti, M., Leal, T.A., Lin, J., Loo, B.W., Martins, R.G., Otterson, G.A., Patel, S.P., Reckamp, K.L., Riely, G.J., Schild, S.E., Shapiro, T.A., Stevenson, J., Swanson, S.J., Tauer, K.W., Yang, S.C., Gregory, K., Hughes, M. (2019). NCCN guidelines insights: Non-small cell lung cancer, version 1.2020. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN*, 17(12), 1464-1472. [\[CrossRef\]](#)
8. Udhaya Kumar, S., Thirumal Kumar, D., Bithia, R., Sankar, S., Magesh, R., Sidenna, M., George Priya Doss, C., Zayed, H. (2020). Analysis of differentially expressed genes and molecular pathways in familial hypercholesterolemia involved in atherosclerosis: A systematic and bioinformatics approach. *Frontiers in Genetics*, 11, 734. [\[CrossRef\]](#)
9. Wan, J., Jiang, S., Jiang, Y., Ma, W., Wang, X., He, Z., Wang, X., Cui, R. (2020). Data mining and expression analysis of differential lncRNA ADAMTS9-AS1 in prostate cancer. *Frontiers in Genetics*, 10, 1377. [\[CrossRef\]](#)
10. Fu, D., Zhang, B., Yang, L., Huang, S., Xin, W. (2020). Development of an immune-related risk signature for predicting prognosis in lung squamous cell carcinoma. *Frontiers in Genetics*, 11, 978. [\[CrossRef\]](#)
11. Udhaya Kumar, S., Thirumal Kumar, D., Siva, R., George Priya Doss, C., Younes, S., Younes, N., Sidenna, M., Zayed, H. (2020). Dysregulation of signaling pathways due to differentially expressed genes from the B-Cell transcriptomes of systemic lupus erythematosus patients-A bioinformatics approach. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 276. [\[CrossRef\]](#)
12. Mitchell, K.A., Zingone, A., Toulabi, L., Boeckelman, J., Ryan, B.M. (2017). Comparative transcriptome profiling reveals coding and noncoding RNA differences in NSCLC from African Americans and European Americans. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 23(23), 7412-7425. [\[CrossRef\]](#)
13. Mao, Y., Xue, P., Li, L., Xu, P., Cai, Y., Chu, X., Jiang, P., Zhu, S. (2019). Bioinformatics analysis of mRNA and miRNA microarray to identify the key miRNA-gene pairs in small-cell lung cancer. *Molecular Medicine Reports*, 20(3), 2199-2208. [\[CrossRef\]](#)
14. Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N.S., Wang, J.T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., Ideker, T. (2003). Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13(11), 2498-2504. [\[CrossRef\]](#)
15. Wagner, P.D., Verma, M., Srivastava, S. (2004). Challenges for biomarkers in cancer detection. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1022, 9-16. [\[CrossRef\]](#)
16. Liang, G., Meng, W., Huang, X., Zhu, W., Yin, C., Wang, C., Fassan, M., Yu, Y., Kudo, M., Xiao, S., Zhao, C., Zou, P., Wang, Y., Li, X., Croce, C.M., Cui, R. (2020). miR-196b-5p-mediated downregulation of TSPAN12 and GATA6 promotes tumor progression in non-small cell lung cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(8), 4347-4357. [\[CrossRef\]](#)

17. Hekmatshoar, Y., Rahbar Saadat, Y., Ozkan, T., Bozkurt, S., Karadag Gurel, A. (2024). Identification of common genes and pathways underlying imatinib and nilotinib treatment in CML: A Bioinformatics Study. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 43(7), 664-684. [\[CrossRef\]](#)
18. Karadağ Gürel, A., Gürel, S. (2022). To detect potential pathways and target genes in infantile Pompe patients using computational analysis. *BioImpacts : BI*, 12(2), 89-105. [\[CrossRef\]](#)
19. Karadağ Gürel, A., Gürel, S. (2022). Identification of novel potential molecular targets associated with pediatric septic shock by integrated bioinformatics analysis and validation of in vitro septic shock model: Identifies hub genes associated with pediatric septic shock. *Journal of Surgery and Medicine*, 6(12), 932-938. [\[CrossRef\]](#)
20. Karadağ, A, Gürel S (2022). Pediatrik obezite ile ilişkili anahtar genlerin ve yolların tanımlanması. *Ege Tıp Bilimleri Dergisi*, 5(2), 51-57. [\[CrossRef\]](#)
21. Redin, E., Sridhar, H., Zhan, Y.A., Pereira Mello, B., Zhong, H., Durani, V., Sabet, A., Manoj, P., Linkov, I., Qiu, J., Koche, R.,P., de Stanchina, E., Astorkia, M., Betel, D., Quintanal-Villalonga, A., Rudin, C.M. (2024). SMARCA4 controls state plasticity in small cell lung cancer through regulation of neuroendocrine transcription factors and REST splicing. *Journal of Hematology and Oncology*, 17, 58. [\[CrossRef\]](#)
22. Zhu, Y., Wang, Z., Li, Y., Peng, H., Liu, J., Zhang, J., Xiao, X. (2023). The role of CREBBP/EP300 and its therapeutic implications in hematological malignancies. *Cancers*, 15(4), 1219. [\[CrossRef\]](#)
23. Aseervatham, J. (2022). Interactions between 14-3-3 proteins and actin cytoskeleton and its regulation by micrornas and long non-coding rnas in cancer. *Endocrines*, 3(4), 665-702. [\[CrossRef\]](#)
24. Gürel, S. (2019). Respiratory distress in newborn. *Ege Tıp Bilimleri Dergisi*, 2(1), 38-41. [\[CrossRef\]](#)
25. Wang, P., Song, L., Ge, H., Jin, P., Jiang, Y., Hu, W., Geng, N. (2014). Crenolanib, a PDGFR inhibitor, suppresses lung cancer cell proliferation and inhibits tumor growth *in vivo*. *OncoTargets and Therapy*, 7, 1761-17688. [\[CrossRef\]](#)
26. Tan, A.C. (2020). Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Thoracic Cancer*, 11(3), 511-518. [\[CrossRef\]](#)
27. Alsharoh, H., Chiroi, P., Isachescu, E., Tanasa, R.A., Pop, O.L., Pirlog, R., Berindan-Neagoe, I. (2024). Personalizing therapy outcomes through mitogen-activated protein kinase pathway inhibition in non-small cell lung cancer. *Biomedicines*, 12(7), 1489. [\[CrossRef\]](#)
28. Li, Z.H., Li, J.Y., Zhu, Y.J., Dai, L., Wu, Z.T., Nong, J.S., Zhuo, T., Li, F.L., He, L.Y., Liang, H.H., Zang, F.L., Wang, Y.Y., Chen, M.W., Huang, W.J., Cao, J.B. (2023). Analysis of nucleoporin 107 overexpression and its association with prognosis and immune infiltration in lung adenocarcinoma by bioinformatics methods. *International Journal of General Medicine*, 2023:16, 5449-5465. [\[CrossRef\]](#)
29. Abel, H.J., Al-Kateb, H., Cottrell, C.E., Bredemeyer, A.J., Colin, C.P., Grossmann, A.H., Wallander, M.L., Pfeifer, J.D., Lockwood, C.M., Duncavage, E.J. (2014). Detection of gene rearrangements in targeted clinical next-generation sequencing. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 16(4), 405-417. [\[CrossRef\]](#)