



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**PROSTAT KANSERİNDE ROL OYNAYAN
POTANSİYEL mRNA:miRNA:lncRNA' LARIN
ETKİLEŞİM AĞININ BİYOBİYOİNFORMATİK
ANALİZLER İLE BELİRLENMESİ**

Doktora Tezi

Çağdaş AKTAN

Sağlık Biyoinformatiği Anabilim Dalı

İzmir
2023

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**PROSTAT KANSERİNDE ROL OYNAYAN
POTANSİYEL mRNA:miRNA:lncRNA' LARIN
ETKİLEŞİM AĞININ BİYOBİYOİNFORMATİK
ANALİZLER İLE BELİRLENMESİ**

Çağdaş AKTAN

Danışman(lar)
Doç. Dr. Buket KOSOVA

Sağlık Biyoinformatiği Anabilim Dalı

İzmir
2023

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Doç.Dr. Buket KOSOVA

(Danışman)

Üye : Doç. Dr. Vildan BOZOK ÇETİNTAŞ

Üye : Doç. Dr. Fuat KIZILAY

Üye : Prof. Dr. Burak ORDİN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Zekeriya DÜZGÜN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Metin ÇALIŞKAN

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 21/07/2023

Önsöz

Biyoloji lisans eğitimim sonrasında Tıbbi Biyoloji alanında yüksek lisans eğitimime devam ettim. Bu süreçte, danışmanım Sayın Doç. Dr. Buket KOSOVA' nın sürekli olarak önem verdiği Biyoinformatik konusu ilgimi çekmişti. Bununla birlikte bilgisayar bilimlerine olan ilgim ve biyolojiye olan sevgim o yıllarda Biyoinformatik alanında uzmanlaşmaya karar vermemde etkili oldu. Tıbbi Biyoloji doktora eğitimime başladığım süre boyunca temel biyoinformatik ve programlama konularında kendimi geliştirmeye odaklandım. Tıbbi Biyoloji doktora tezimde bazı biyoinformatik araçları kullansam da, o dönemde Türkiye' de biyoinformatik alanı çok gelişmiş bir alan değildi. Bu nedenle, kendimi biyoinformatik alanında daha da geliştirmek amacıyla Sağlık Biyoinformatik alanında doktora eğitime devam etme kararı aldım. Tez çalışmam tamamlandı, ancak hala çözülmesi gereken birçok biyolojik problem bulunmaktadır. Bu sorunları biyoinformatik bilimi yardımıyla çözmeye devam edeceğimize inanıyorum.

İzmir, 28.07.2023

Çağdaş AKTAN

Özet

Prostat Kanserinde Rol Oynayan Potansiyel mRNA:miRNA:lncRNA' ların

Etkileşim Ağının Biyoinformatik Analizler İle Belirlenmesi

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen kanser türü olup, kanserin yol açtığı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Etiyolojisi ve gelişimi açısından heterojen bir yapı sergilemesine rağmen, androjen hormonlarının ve androjen reseptörünün prostat kanseri gelişiminde önemli bir role sahip oldukları bilinmektedir. Günümüze kadar, androjen hormonu ve reseptörleri ile yapılan çalışmalar, hastalık progresyonunun durdurulması konusunda kalıcı çözümler sunamamıştır. Dolayısıyla, yeni hedef moleküllerin biyoinformatik yöntemlerle tanımlanması, bu moleküllerin birbirleriyle olan etkileşimleri ve etkiledikleri sinyal yollarının prostat kanserinin gelişimine nasıl katkıda bulundukları araştırılmalıdır. Yapılan çalışmalarda küçük sentetik moleküler inhibitörlere ek olarak mesajcı RNA, mikroRNA ve uzun kodlamayan RNA' ların fonksiyonları da araştırılmaktadır. Prostat kanseri patogeneğinde birçok gen ve sinyal yolağının etkileşim içinde olduğu karmaşık bir ağ yapısı etkili olmakta ve bu ağ yapısında mRNA, miRNA ve lncRNA' ların önemli düzenleyici rolleri bulunmaktadır. Bu tez çalışmasının amacı, prostat kanseri ile ilişkili olabilecek aday mRNA, miRNA ve lncRNA' ların biyoinformatik yöntemler ile tanımlanıp, bu moleküllerin birbirleriyle olan etkileşimlerinin incelenmesidir. Bu amaçla, GEO veri tabanından prostat kanseri ile ilişkili veri setleri belirli kriterlere göre seçilip, biyoinformatik araçlarla analiz edilip, TCGA veri tabanından da bu aday genlerin ifade değişimlerinin kontrolleri yapılmıştır. GEO veri setlerindeki RNA' ların ifade değişimleri GEO2R ile, TCGA veri setlerindeki RNA' ların ifade değişimleri ise UALCAN ve GEPIA biyoinformatik araçları ile analiz edilmiştir. Bununla birlikte aday miRNA' ların hedef mRNA' ları TargetScan, miRDB ve miTarBase, hedef lncRNA' ları ise RNAInter internet araçları kullanılarak analiz edilmiştir. Aday genlerin korelasyon ve sağkalım analizleri GEPIA, zenginleştirme analizleri ise EnrichR internet araçları kullanılarak yapılmıştır. Protein-protein etkileşim ağının analiz edilmesinde STRING veritabanı, oluşturulan ağ yapısının görselleştirilmesinde ise Cytoscape yazılımı kullanılmıştır.

Sonuç olarak, prostat kanseri gelişiminde saptanan aday miRNA' lar hsa-miR-133b, hsa-miR-222-3p ve hsa-miR-182-5p olarak saptanmıştır. Aday mRNA' lar *CDK5R1*,

YWHAG, RNF4, KPNA2, HIPK2, STHMN1, FOXO1, PPP1R12A, CCND2 ve MITF olarak saptanmıştır. *HPN-AS1, DGCR5, NFYC-AS1, ZNF674-AS1, TYMSOS, GAS5, ADAMTS9-AS2, PAXIP1-AS2, LINC01140 ve LINC01018* ise aday lncRNA' lar olarak saptanmıştır. Analizler sonrasında bu RNA' ların birbirleriyle etkileşim halinde oldukları; zenginleştirme ve yolak analizleri sonucunda nukleus ve diğer zarla çevrili hücre içi organellere lokalize oldukları; AR ile etkileştikleri, genel / hastalıksız sağkalımda rol oynadıkları ve kanserle ilişkili bir çok sinyal yolağında görev aldıkları saptanmıştır.

In silico yöntemlerle elde edilen bu verilerin, *in vitro* ve *in vivo* yöntemlerle de desteklenmesiyle ilgili RNA' ların etkileşimleri daha ayrıntılı olarak ortaya konulabilecektir.

Anahtar Kelimeler; Prostat Kanseri; mRNA; miRNA; lncRNA; Biyoinformatik

Abstract

Identification of Potential mRNAs:miRNAs:lncRNAs Network Involved in Prostate Cancer by Bioinformatics Analysis

Prostate cancer is the most common type of cancer in men and ranks second among the leading causes of cancer-related deaths. Despite its heterogeneous nature in terms of etiology and development, it is known that androgen hormones and the androgen receptor play a significant role in prostate cancer development. However, studies focusing on androgen hormones and receptors have not provided permanent solutions to halt disease progression. Therefore, it is important to identify new target molecules through bioinformatics methods and investigate how these molecules interact with each other and contribute to the development of prostate cancer. In addition to small synthetic molecular inhibitors, the functions of messenger RNA (mRNA), microRNA (miRNA), and long non-coding RNA (lncRNA) are also being explored in prostate cancer research. Prostate cancer pathogenesis involves the interaction of multiple genes and signaling pathways within a complex network structure, where mRNA, miRNA, and lncRNA play significant regulatory roles. The aim of this thesis is to identify candidate mRNA, miRNA, and lncRNA molecules that may be associated with prostate cancer and investigate their interactions using bioinformatics methods.

To achieve this, prostate cancer-related datasets were selected from the GEO database based on specific criteria and analyzed using bioinformatics tools. Expression changes of RNA in GEO datasets were analyzed using GEO2R, while expression changes of RNA in TCGA datasets were analyzed using UALCAN and GEPIA bioinformatics tools. Furthermore, target mRNAs of candidate miRNAs were analyzed using TargetScan, miRDB, and miTarBase, and target lncRNAs were analyzed using the RNAInter internet tools. Correlation and survival analyses of candidate genes were performed using GEPIA, and enrichment analyses were conducted using EnrichR internet tools. The protein-protein interaction network was analyzed using the STRING database, and the constructed network structure was visualized using the Cytoscape software.

As a result, candidate miRNAs identified in prostate cancer development were hsa-miR-133b, hsa-miR-222-3p, and hsa-miR-182-5p. Candidate mRNAs were identified as *CDK5R1*, *YWHAG*, *RNF4*, *KPNA2*, *HIPK2*, *STHMN1*, *FOXO1*, *PPP1R12A*,

CCND2, and *MITF*. *HPN-AS1*, *DGCR5*, *NFYC-AS1*, *ZNF674-AS1*, *TYMSOS*, *GAS5*, *ADAMTS9-AS2*, *PAXIP1-AS2*, *LINC01140*, and *LINC01018* were identified as candidate lncRNAs. The analyses revealed that these RNAs interact with each other, localize to the nucleus and other membrane-bound intracellular organelles, interact with the androgen receptor, play a role in overall / disease free survival, and participate in multiple cancer-related signaling pathways.

These findings obtained through *in silico* methods can be further elucidated by supporting them with *in vitro* and *in vivo* approaches, providing more detailed insights into the interactions of these RNAs.

Keywords; Prostate Cancer; mRNA; miRNA; lncRNA; Bioinformatics



İçindekiler

Önsöz	II
Özet.....	III
Abstract.....	V
İçindekiler	VII
Tablolar Dizini.....	IX
Şekiller Dizini	X
Grafikler Dizini	XI
Kısaltma Listesi	XII
Giriş	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	2
1.2. Araştırmanın Sorusu	2
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	3
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	3
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	3
1.6. Araştırmanın Amacı	3
Genel Bilgiler	4
2.1. Kodlamayan RNA' lar ve Prostat Kanseri	5
2.2. miRNA.....	6
2.3. lncRNA.....	7
2.4. ceRNA	9
Gereç ve Yöntem	11
3.1. Veri Toplama Araçları	11
3.2. Veri İşleme Araçları.....	13
3.3. Aday miRNA' ların Hedef mRNA ve lncRNA Moleküllerinin Saptanması	13
3.4. Merkezi Genlerin Korelasyon Analizleri	14
3.5. Merkezi Genlerin Sağkalım Analizleri	14
3.6. Protein-Protein Etkileşim Ağının Oluşturulması.....	14
3.7. Seçilen mRNA' ların Zenginleştirme Analizleri.....	15
3.8. İstatistik ve Biyoinformatik Analizler	15
Bulgular.....	17
4.1. Veri Setlerinin Seçilimi.....	17
4.2. Aday miRNA' ların mRNA Hedeflerinin Tanımlanması.....	20

4.3. Aday miRNA' ların lncRNA Hedeflerinin Tanımlanması	22
4.4. mRNA:miRNA:lncRNA Korelasyon Analizleri.....	25
4.5. mRNA:miRNA:lncRNA Etkileşim Ağının Oluşturulması.....	27
4.6. Aday mRNA:miRNA:lncRNA' ların AR ile Korelasyon Analizleri	29
4.7. Aday Genlerin Sağkalım Analiz Sonuçları.....	31
4.8. miRNA:lncRNA Hedef Genlerinin Zenginleştirme ve Yolak Analiz Sonuçları	36
Tartışma	44
Sonuç ve Öneriler.....	65
Kaynaklar	67
Ekler	78
Teşekkür	79
Özgeçmiş	80

Tablolar Dizini

Tablo 1: GEO veritabanından seçilen veri setleri	12
Tablo 2: GEO veri setlerindeki kontrol ve hasta sayıları	17
Tablo 3: miRNA veri setlerindeki ortak miRNA' lar	19
Tablo 4: Aday miRNA' ların GEO ve TCGA' daki ifade değişimleri	20
Tablo 5: hsa-miR-133b' nin lncRNA Hedeflerinin Tanımlanması.....	23
Tablo 6: hsa-miR-182-5p' nin lncRNA Hedeflerinin Tanımlanması	24
Tablo 7: hsa-miR-222-3p' nin lncRNA Hedeflerinin Tanımlanması	25
Tablo 8: miRNA-mRNA korelasyon analiz sonuçları	26
Tablo 9: miRNA-lncRNA korelasyon analiz sonuçları	27
Tablo 10: mRNA-lncRNA korelasyon analiz sonuçları ($R > 0.15$, $p < 0.05$ kriterlerini sağlayan en yüksek 10 RNA).....	27
Tablo 11: mRNA' ların etkileşimde bulundukları miRNA' lar ve lncRNA' lar	28
Tablo 12: Biyolojik süreç analizi	36
Tablo 13: Hücresel bileşen analizi	42
Tablo 14: Moleküler fonksiyon analizi	42
Tablo 15: Yolak analiz sonuçları	43

Şekiller Dizini

Şekil 1: ceRNA Mekanizması.....	10
Şekil 2: hsa-miR-133b, hsa-miR-222-3p ve hsa-miR-182-5p' nin öngörülen mRNA hedeflerini saptamak için TargetScan, miRDB ve miRTarbase veritabanlarındaki Venn Diyagram dağılımı.....	22
Şekil 3: Protein-protein etkileşim analiz sonuçları	29



Grafikler Dizini

Grafik 1: Veri setlerinde bulunan miRNA' ların prostat kanseri ve normal grup arasındaki ifade seviyelerinin dağılımının volkano grafiği ile gösterilmesi	18
Grafik 2: Aday miRNA' ların TCGA' daki ifade değişimlerini gösteren grafik.....	21
Grafik 3: Aday mRNA' ların AR ile korelasyon sonuçları.....	30
Grafik 4: Aday lncRNA' ların AR ile korelasyon sonuçları.....	31
Grafik 5: Aday mRNA' ların hastalıksız sağkalım analiz sonuçları.....	32
Grafik 6: Aday mRNA' ların genel sağkalım analiz sonuçları	33
Grafik 7: Aday lncRNA' ların hastalıksız sağkalım analiz sonuçları.....	34
Grafik 8: Aday lncRNA' ların genel sağkalım analiz sonuçları	35



Kısaltma Listesi

ADT	: Androjen Yoksunluğu Tedavisi (Androgen Deprivation Therapy)
AR	: Androjen Reseptörü
ARE	: Androjen Yanıt Elementleri (Androgen Response Element)
BP	: Biyolojik Süreç (Biological Process)
BPH	: Benign Prostat Hiperplazisi
CC	: Hücresel Bileşen (Cellular Component)
CDS	: Kodlayan Dizi (Coding Sequence)
ceRNA	: Rekabetçi Endojen RNA (Competing Endogenous RNA)
circRNA	: Halkasal RNA (Circular RNA)
DE	: Farklı Bir Şekilde İfade Edilen (Differentially Expressed)
DEG	: Farklı Bir Şekilde İfade Edilen Gen (Differentially Expressed Gene)
DFS	: Hastalıksız Sağkalım (Disease Free Survival)
EMT	: Epitelyal Mezenkimal Geçiş (Epithelial Mesenchymal Transition)
FC	: Kat Değişimi (Fold Change)
GEO	: Gene Expression Omnibus
GO	: Gen Ontoloji (Gene Ontology)
Hsa	: Homo Sapiens
KDPK	: Kastrasyona Dirençli Prostat Kanseri
KEGG	: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
lncRNA	: Uzun Kodlamayan RNA (Long Non-Coding RNA)
LogFC	: Logaritmik Kat Değişimi (Logarithmic Fold Change)
MF	: Moleküler Fonksiyon (Molecular Function)
miRNA	: mikroRNA (microRNA)
MRE	: miRNA Yanıt Elementleri (miRNA Response Elements)
mRNA	: Mesajcı RNA (Messenger RNA)
ncRNA	: Protein Kodlamayan RNA (Non-Coding RNA)
ORF	: Açık Okuma Çerçevesi (Open Reading Frame)
OS	: Genel Sağkalım (Overall Survival)
Piwi-RNA	: Piwi Etkileşimli RNA (Piwi-interacting RNA)
PK	: Prostat Kanseri
PPE	: Protein-Protein Etkileşimi (Protein-Protein Interaction)
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
rRNA	: Ribozomal RNA (Ribosomal RNA)
shRNA	: Kısa Saç Tokası RNA (Short Hairpin RNA)
siRNA	: Küçük Engelleyici RNA (Small Interfering RNA)
sncRNA	: Kısa Kodlamayan RNA (Small Non-Coding RNA)
snoRNA	: Küçük Nükleolar RNA (Small Nucleolar RNA)
snRNA	: Küçük Çekirdek RNA (Small Nuclear RNA)
TCGA	: Kanser Genom Atlası (The Cancer Genome Atlas)
tRF	: tRNA Türetilmiş Fragmanlar (tRNA-Derived Fragments)
tRNA	: Transfer RNA
UTR	: Translasyona Uğramayan Bölge (Untranslated Region)

Giriş

Prostat kanseri (PK) erkeklerde en sık görülen kanser türü olup, kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Etiyolojisi ve gelişimi heterojen olmakla birlikte, androjen hormonları ve androjen reseptörünün (AR) PK gelişimindeki önemleri iyi bilinmektedir (Hu et al., 2021). Bu nedenle, hastalığın başlangıcında androjen yoksunluk tedavisi uygulanmaktadır. Ancak, hastalık bir süre sonra kastrasyona dirençli hale gelerek, androjen yoksunluk tedavisi bu süreçten sonra etkili olmamaktadır. Androjen hormonuna duyarlı ya da kastrasyona dirençli olguların tedavilerinde kullanılabilecek ve kalıcı etki sağlayacak küçük sentetik moleküler inhibitörlerin bulunabilmesi için, öncelikle bu aşamalarda meydana gelen değişikliklerin tanımlanması gerekmektedir. Patolojik biyopsi, prostat spesifik antijen (PSA) seviyeleri, histopatolojik skor (Gleason skoru) ve görüntüleme teknikleri gibi çeşitli yöntemlerle elde edilen klinik parametreler ile tanı sağlanır; ancak, bu parametrelerin bazı durumlarda özgüllük ve duyarlılıkları çok yüksek olmamaktadır (Watson et al., 2015). Küçük sentetik moleküler inhibitörlere ek olarak, kısa saç tokası RNA (shRNA) ve küçük engelleyici RNA' lar (siRNA) da yeni terapötik stratejileri geliştirmek için kullanılabilmektedir. Bununla birlikte, mikroRNA (miRNA) ve uzun kodlamayan RNA' ların (lncRNA) kullanımı son zamanlarda daha fazla dikkati çekmektedir.

miRNA' ların anormal ifadesi, başta kanser olmak üzere, çeşitli hastalıkların gelişimine neden olmaktadır. Bugüne kadar birçok miRNA tanımlanmış olmasına rağmen, PK' nin patogenezinde önemli olabilecek birçok miRNA hala tanımlanmayı beklemektedir. PK' nin tanımlanmasında, sınıflandırılmasında ve gelecekteki tedavi protokollerinin seçiminde miRNA' ların önemi gelecekte daha da artacaktır. miRNA' ların hedef genlerinin ifadesini düzenleme yeteneği, hücrelerin onkojenik sürecini etkileyebilmektedir (He & Hannon, 2004).

Son yıllarda, adını daha sık duyduğumuz diğer RNA' lardan lncRNA' lar da bulunmaktadır. lncRNA' lar uzunlukları 200 baz ile 1.000 kilobaz (kb) arasında değişen RNA' lardır. Bu RNA' lar genellikle mesajcı RNA' lar (mRNA) gibi, RNA polimeraz 2 tarafından transkribe olmaktadır. lncRNA' lar farklı dokulara özgüdürler, hastalık varlığında farklı düzeylerde ifade edilirler ve vücut sıvılarında bulunurlar. Bu nedenle, kanser tanı ve tedavi takibinde aday biyobelirteçler olarak ilgi çekmektedirler (Pandya et al., 2020).

Özetle, PK patogeneğinde birçok gen ve sinyal yolağının etkileşim içinde olduğu karmaşık bir ağı yapısı etkilidir ve bu ağı yapısında mRNA, miRNA ve lncRNA' ların önemli düzenleyici rolleri bulunmaktadır. Tüm bu etkileşimler deneysel olarak araştırılabilir. Ancak, deneysel süreç öncesinde aday genlerin öngörülen işlevlerini belirleyen biyoinformatik analizler, daha doğru bir araştırma planının geliştirilmesine ve iş gücü ile zamandan tasarruf edilmesine olanak tanır. Bu düşünceler bizi PK ile ilişkili aday mRNA, miRNA ve lncRNA' ları biyoinformatik yöntemler ile araştırmamıza neden olmuştur.

1.1. Araştırmanın Problemi

Mikrodizin ve yeni nesil dizileme yöntemleri ile aynı zaman noktasında analiz edilen RNA' ların ifade seviyelerindeki değişimlerin hızlı bir şekilde belirlenmeleri, hastalıkların gelişim süreçleri, tanı ve tedavileriyle ilgili bilgilerin elde edilmesi için önemlidir. PK örneklerinde mRNA, miRNA ve lncRNA ifade değişimlerinin analiz edilerek, aralarındaki etkileşim ağlarının biyoinformatik yöntemlerle belirlenmesi ile ileride yapılacak çalışmalarda hangi etkileşimin öncelikle araştırılması gerektiği tanımlanabilir. Bu şekilde; zaman, iş gücü ve gereksiz analizlerin yapılmasının önüne geçilerek hem hastalığın progresyonu engellenebilir, hem de ülke ekonomisine uzun vadede fayda sağlanmış olunur. Elde edilen verilerin *in vitro*, *in vivo* ve klinik çalışmaları tamamlandıktan sonra da hedef RNA' lara özgü yeni ilaç geliştirme çalışmalarına geçilebilir.

Literatürde bulunan çalışmalar değerlendirildiğinde, tez çalışmasında yararlanılan mRNA, miRNA ve lncRNA veri setlerinin bir arada çalışıldığı ve protein etkileşim ağının oluşturulduğu başka bir araştırmaya rastlanılmamaktadır. PK' nin oluşumu, gelişimi ve tedavisinde önemli olabilecek yeni aday gen ve gen etkileşimlerinin tespit edilmesi yönleri ile çalışmamız literatüre katkı sağlayacaktır.

1.2. Araştırmanın Sorusu

PK erkeklerde en sık görülen kanser türü olup, kanserin yol açtığı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Etiyolojisi ve gelişimi açısından heterojen bir yapı sergilemesine rağmen, androjen hormonlarının ve AR' nin PK gelişiminde önemli bir role sahip oldukları bilinmektedir. Günümüze kadar, androjen hormonu ve reseptörleri ile yapılan çalışmalar, hastalık progresyonunun durdurulması konusunda

kalıcı çözümler sunmamıştır. Dolayısıyla da, yeni hedef moleküllerinin biyoinformatik yöntemlerle tanımlanması, bu moleküllerin birbirleriyle olan etkileşimleri ve etkiledikleri sinyal yollarının PK gelişimine nasıl katkıda bulundukları araştırma sorumuzu oluşturmuştur.

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

mRNA, miRNA ve lncRNA' ların PK gelişiminde önemli görevleri bulunmaktadır. Bu RNA' lar tek başlarına PK' de rol oynayabildikleri gibi herhangi bir rolleri de bulunmayabilir. Ancak, biyoinformatik yöntemlerle ortaya çıkarılan mRNA:miRNA:lncRNA etkileşimlerinin birlikte PK gelişiminde farklı yolları etkileyerek hastalık sürecinde önemli roller üstlenebildikleri de düşünülebilir. Bununla birlikte, hastalık sürecinde önemsiz görünen çeşitli RNA' lar da bu etkileşimleri oluşturduktan sonra farklı molekül ve sinyal yollarını etkileyerek hastalık gelişimini etkileyebilirler.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Birbirleriyle etkileşim halinde oldukları öngörülen aday RNA' lar biyoinformatik yöntemler kullanılarak birçok RNA arasından seçilecektir. Sonrasında, ilgili aday RNA' ların *in vitro* koşullarda fonksiyonel analizlerinin yapılması, doğrulanması ve valide edilmesi gerekmektedir.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Tez çalışmasında, araştırmacıların erişimine açık olan mikrodizin ve yeni nesil dizileme sonuçlarını içeren veri setleri kullanılmıştır. İlgili veri setlerindeki gen isimlerinin güncel olmaması nedeniyle, bunların yeniden düzenlenmesi gerekmiştir. Ayrıca, bazı veri setlerinde gen isimleri yerine gen erişim numaraları bulunduğundan, bunların çeşitli araçlarla yine gen isimlerine dönüştürülmesi gerekmiştir.

1.6. Araştırmanın Amacı

PK gelişiminde yeni hedef mRNA:miRNA:lncRNA moleküllerinin biyoinformatik yöntemlerle tanımlanması, bu RNA moleküllerinin birbirleriyle olan etkileşimleri ve etkiledikleri sinyal yollarının araştırılması amaçlanmıştır.

Genel Bilgiler

Prostat, pelvik kanal içinde idrar kesesinin arkasında bulunan ceviz büyüklüğünde bir organdır. Yaşlanma ile birlikte prostatın büyümesine benign prostat hiperplazisi (BPH) denir ve 60 yaş üzeri erkeklerde görülen poliüri gibi semptomlar ile ilişkilendirilmektedir (Langan, 2019). Histopatolojik ve moleküler olarak benzerliklerinden dolayı BPH, prostat tümörünün başlangıç aşaması olarak kabul edilir. Bununla birlikte, BPH' nin prostat tümörüne doğru progresyonundan sorumlu temel mekanizmalar halen tam olarak anlaşılmamıştır (Miah & Catto, 2014). PK dünya çapında erkeklerde ikinci sırada en sık tanı konulan kanserlerden biri olup, kansere bağlı ölümlerin % 6.8' ine yol açmaktadır. Prevalansı yaşla birlikte her on yılda 1.7 oranında artmakta ve 79 yaşın üstündeki erkeklerde % 59 (% 48-71) oranına kadar çıkabilmektedir (Hu et al., 2021). PK' nin büyümesi ve sağkalımı temel olarak, steroid hormonları olan androjenlere ve AR' ye bağlıdır. AR normal prostat gelişimi ve karsinogenez için hayati öneme sahip, ligand ile aktive olan bir transkripsiyon faktörüdür. Sitoplazmada androjene bağlandığında dimerleşir ve çekirdeğe girip, promotör ve enhansır dizilerinde bulunan androjen yanıt elementlerine (*androgen response element*; ARE) bağlanarak hedef genlerinin transkripsiyonunu başlatır. AR ve altında yatan sinyal kaskadları, lokalize ve ileri metastatik PK' nin başlaması ve progresyonu için önemlidir. PK' nin tanı ve değerlendirilmesinde PSA düzeyi, Gleason skoru ve klinik evresi temel alınarak belirli risk grupları belirlenir ve tedavileri için çeşitli yaklaşımlardan yararlanılır. Hastalığın başlangıç evresinde cerrahi yöntemler etkili olabilirken, ilerlemiş ve metastatik formlarında kemoterapi ve radyoterapi ile birlikte kombinasyonları da uygulanır. Ayrıca, PK hücrelerinin androjen-bağımlı olmaları nedeniyle, androjen yoksunluk tedavisi (*androgen deprivation therapy*; ADT) yaygın olarak uygulanır. Sistemik tedavi gerektiren ilerlemiş PK' nın tedavisi, lokalize PK ile karşılaştırıldığında, çok daha komplikedir ve ölümcül sonuçlar doğurabilir. Bununla birlikte, tedaviye rağmen PK hücrelerinin heterojenliği nedeniyle AR-ilişkili sinyal yolağı tekrardan aktive olabilir. Bu durumda, en düşük serum androjen seviyesinin altındaki bir değerde bile AR-ilişkili sinyal yolağı aktive olur ve kastrasyona dirençli prostat kanseri (KDPK) adı verilen daha kötü prognozlu formuna dönüşür (Watson et al., 2015). PK' yi yeniden tedaviye duyarlı hale getirmek için çeşitli stratejiler geliştirilmelidir ve buna genetik ile farmakolojik müdahaleler yapılarak ulaşılabilmektedir. Genetik ve biyoinformatik alanındaki gelişmeler

sayesinde, çeşitli moleküller ve sinyal yolları tanımlanabilmektedir. PK' de AR, Wnt, STAT3, Hedgehog, PTEN, TGF- β , fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/Akt, mTOR, NF- κ B ve SPOP anormal aktivasyon gösteren önemli sinyal yolları arasında yer almaktadır. Bununla birlikte, protein kodlamayan RNA' lar (ncRNA) tümörün progresyonunu uyaran ya da baskılayan ikili rolleri nedeniyle PK' de önemli bir yere sahiptirler (Hu et al., 2021).

2.1. Kodlamayan RNA' lar ve Prostat Kanseri

İnsan genomunun < % 2' si protein kodlayan genlerden; geriye kalan $\geq$ % 98' i ise RNA kodlayan genlerden, gen ifadesini düzenleyen ya da kontrol eden bölgelerden, herhangi bir fonksiyonları bulunmayan tekrar içeren ya da içermeyen bölgelerden oluşmaktadır. ncRNA' lar uzun açık okuma çerçevelerinden yoksun ve boyutlarına göre sınıflandırılan RNA' lardır. Ayrıca; yapı, işlev ve yerleşimlerine göre de çeşitli alt tiplerine ayrılırlar. Ribozomal RNA (rRNA) ve transfer RNA' lar (tRNA) en yaygın bulunan ncRNA türleridir ve hücredeki toplam RNA ağırlığının, sırasıyla, % 80 ve % 15' ini oluştururlar. Diğer ncRNA' lar boyutlarına göre sınıflandırılırlar; < 200 baz olanlara kısa ncRNA' lar (sncRNA) ve > 200 baz olanlara da uzun ncRNA' lar (lncRNA) denir. sncRNA' lar miRNA, küçük interferans RNA (siRNA), piwi etkileşimli RNA (piRNA), küçük nükleolar RNA (snoRNA), küçük çekirdek RNA (snRNA) ve tRNA-türetilmiş fragmanlarından (tRF) oluşur. Lineer lncRNA' lardan farklı olarak halkasal RNA' lar (circRNA), öncü mRNA'dan (pre-mRNA) geri dönüşlü bağlanma süreciyle yaygın olarak oluşan dairesel tek sarmallı ncRNA' lar olarak bilinir. Fonksiyonel olarak rRNA, tRNA, snoRNA ve snRNA evrensel ncRNA' lar olarak kabul edilirken; miRNA, siRNA, piRNA, tRF, lncRNA ve circRNA düzenleyici transkriptler olarak fonksiyon görürler (Santosh et al., 2015). Son yıllarda, ncRNA' ların kanser gelişimi, progresyonu ve metastazında önemli oldukları ortaya konmuştur. Özellikle, tanısal ve prognostik değerlendirmelerin duyarlılıklarını ve özgüllüklerini artırabilen ncRNA' ların saptanmasıyla, bu moleküllerin kanserin potansiyel tanısal ve prognostik biyobelirteçlerini oluşturabilecekleri düşünülmüştür (Lim et al., 2018).

2.2. miRNA

miRNA' lar gen ifadesini kontrol eden ~ 21-25 baz uzunluğundaki protein kodlamayan küçük RNA molekülleridir. Bu moleküller, hedef mRNA' larının ifadelerini ve protein sentezindeki süreçleri kontrol ederler. miRNA' lar genellikle hedef mRNA transkriptlerini, 3' translasyon edilmeyen bölgelerine (3' *untranslated region*; 3'UTR) bağlanarak düzenlerler. Bununla birlikte, bazı miRNA' lar transkriptlerin 5' translasyon edilmeyen bölgelerini (5' *untranslated region*; 5'UTR) ya da kodlayan bölgelerini (*coding sequence*; CDS) de hedef alarak aynı düzenlemeyi gerçekleştirebilirler (He & Hannon, 2004).

Yapılan çalışmalar sonrası ve elde edilen bilgiler doğrultusunda miRNA ifade seviyelerinin PK' nın tanı, tedavi, evreleme ve prognozunda önemli oldukları görülmüştür (Cannistraci et al., 2014). PK dokusunda miR-96, -182, 182*, -183, -375, 32, -26a, -181a, -93, -196a, -25, -92 ve let-7i' nin yukarı düzenlendikleri; miR-16, -31, -125b, -145, -149, -181b, -184, -205, -221 ve -222' nin de aşağı düzenlendikleri bildirilmiştir. miRNA' lar onkogen ya da tümör baskılayıcı gen olarak işlev görebilirler. Buna göre, kanser hücrelerinde onkogen fonksiyonu gören miRNA' ların ifadeleri artarken, tümör baskılayıcı gen gibi fonksiyon gören miRNA' ların ifadeleri azalmaktadır. miRNA' ların PK ve diğer kanserlerdeki rolleri, hedef genleri ile etkileşimlerinin aydınlatılmasıyla daha anlaşılır hale gelmektedir (Cannistraci et al., 2014; Schaefer et al., 2010). Bununla birlikte, miRNA' ların PK hücrelerinin kastrasyona direnç geliştirmelerinde de fonksiyon gördükleri bilinmektedir. Gelişen bu direnç mekanizması farklı şekillerde tanımlanabilir: 1. AR amplifikasyonunun düzenlenmesi; 2. AR' nin transkripsiyonel aktivitesi; 3. AR bağımlı ve bağımsız sinyal kaskadları ya da AR koaktivatör / korepresörlerin düzenlenmesi; 4. AR' yi hedefleyen miRNA' lar (Aktan et al., 2022; Shih et al., 2015).

KDPK olgularının serum PSA değerleri düşük seviyede olabileceğinden, kötü diferansiye PK' nin prognozu ya da uygulanan tedavinin etkinliğini değerlendirmede, PSA' nın belirteç olarak kullanımı uygun değildir. Bunun yerine, biyolojik sıvılarda daha dayanıklı olmaları ve kolayca ölçülebilmeleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini miRNA' lar çekmektedir. miRNA' ların PK ya da KDPK' li olguların prostat doku, serum, plazma ve idrar örneklerinde sağlıklı olguların örneklerine oranla farklı düzeylerde (daha düşük – hiç – daha yüksek) ifade edilmeleri nedeniyle; PK tanısı,

prognozu ve uygulanan tedavinin etkinliğini belirlemede daha uygun biyobelirteç oluşturabilecekleri düşünülebilir (Cannistraci et al., 2014). Şimdiye kadar ≥ 20 tane miRNA' nın KDPK gelişimi ile ilişkileri saptanmış ve AR-ilişkili hücre proliferasyonu, kanser hücre sağkalımı, apoptoz ile epitelyal-mezenkimal geçiş (*epithelial mesenchymal transition*; EMT) gibi karsinogenezde önemli yollarda rol aldıkları belirlenmiştir (Kojima et al., 2017). Sonuç olarak, miRNA' ların bu rolleri ve hedef genleriyle etkileşimleri göz önünde bulundurulduğunda, PK' de belirteç olarak kullanımlarının karsinogenez ve kastrasyona direnç gelişimi ile ilişkili daha doğru bilgiler verebilecekleri söylenebilir. Ayrıca, daha çok aday miRNA' nın moleküler mekanizmaları aydınlatıldığında, belki de yeni PK tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ve olguların bireyselleştirilmiş tedavilerinde kullanımları mümkün olabilecektir.

2.3. lncRNA

Araştırmacılar, öncelikle protein kodlayan gen ve transkriptlerini incelerken; son yıllarda, tüm transkriptom analizlerinde, halen bazılarının fonksiyonlarını tanımlayamadıkları birçok başka transkriptle de karşılaşmışlardır. Bu grup içerisinde yer alan lncRNA' lar, genellikle 200 nükleotitten daha uzun protein kodlamayan transkriptler olup; protein kodlamama nedenleri de açık okuma çerçevelerinin (*open reading frame*; ORF) olmamasından kaynaklanmaktadır (Iyer et al., 2015). lncRNA' lar protein kodlayan genlere karşılık gelen konumlarına göre birkaç grupta sınıflandırılabilirler: 1. *Intronik lncRNA*' lar protein kodlayan genlerin intronlarından transkribe olurlar; 2. *İntergenik lncRNA*' lar iki protein kodlayan gen arasında transkribe olurlar; 3. *Antisense lncRNA*' lar protein kodlayan genlerin zıt yönünde transkribe olurlar; 4. *Overlapping lncRNA*' lar protein kodlayan genler üzerinden transkribe olurlar (Lin et al., 2020).

lncRNA' lar DNA, RNA veya proteinlere bağlanıp, bağlandıklarında farklı şekillerde katlanarak farklı etkiler sergileyebilirler; örneğin, kromatin aktivitesini, transkripsiyonu, protein kromatin düzeneğini, splayingsi ya da telomeri etkileyebilirler. Bu şekilde, kromatini yeniden düzenleme, histon metilasyonu, miRNA etkisini tersine çevirme, transkripsiyon faktörü gibi davranma ve kromatin kompleks oluşumuna aracılık ederek proteomu düzenleme yeteneğine kavuşurlar (Ramnarine et al., 2019). İşlevleri, sitoplazma ya da çekirdekte yerleşim göstermelerine bağlı olarak değişebilir. Çekirdekteki lncRNA' lar histon

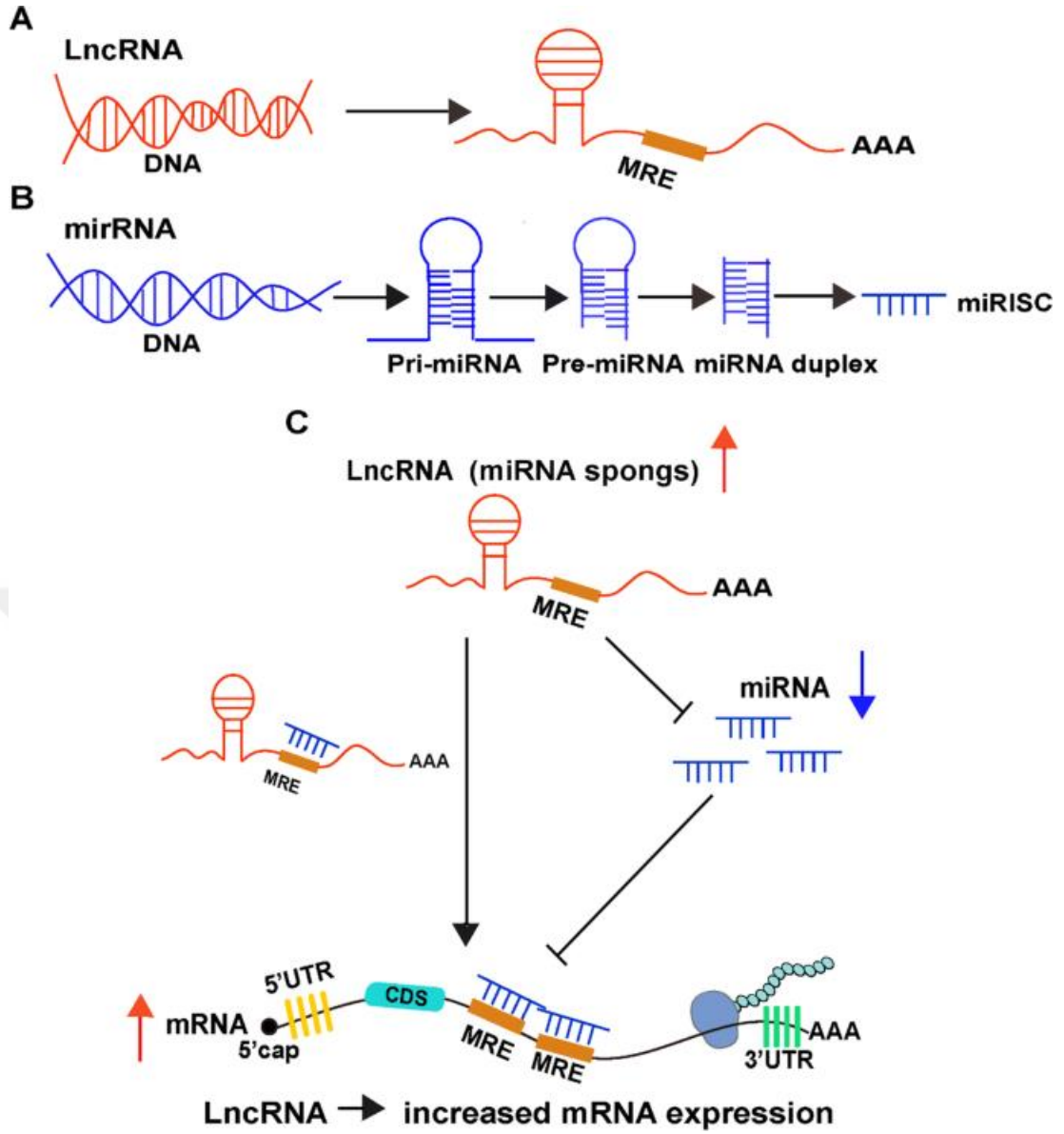
modifikasyonu, DNA metilasyonu ve kromatin yeniden düzenlenme fonksiyonlarını yerine getirirler ya da transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girerek, genleri transkripsiyonel seviyesinde modüle ederler. Öte yandan, sitoplazmada yerleşim gösteren lncRNA' lar gen ifadesini post-transkripsiyonel ve translasyonel düzeyde düzenlerler. Bunun için, sitozolik proteinleri ya da RNA metabolizmasını düzenleyen miRNA' lar ile etkileşime girip, rekabetçi endojen RNA (*competing endogenous RNA*; ceRNA) fonksiyonu gösterirler. lncRNA' ların hücrelerdeki bu önemli fonksiyonları nedeniyle tümörün büyümesini, invazyonunu, apoptozunu ve ilaç direncini düzenleyebildikleri düşünülmektedir (Geisler & Collier, 2013). Yapılan son çalışmalar, lncRNA' ların karsinogenez sürecinde sinyal ağlarının ana düzenleyicileri olduklarını ortaya koymuştur. Genellikle tümörlerdeki miRNA ifadesini etkileyerek, kanser hücrelerinin hayatta kalmalarını ve göçünü etkileyebilirler (Pandya et al., 2020).

Dizileme teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak, miRNA' lara göre daha büyük ve daha karmaşık yapıya sahip olan lncRNA' ların KDPK ile ilişkili olduklarına dair bazı bulgular da elde edilebilmiştir (Shih et al., 2015). lncRNA' ların farklı yollar üzerinden hedef molekülleriyle etkileşebilmelerinden dolayı, androjen bağımlı PK' nin androjen bağımsız KDPK' ya dönüşmesinde de kilit rol alabileceği düşünülmüştür (Ramnarine et al., 2019). Örneğin, AR tarafından düzenlenen uzun kodlamayan RNA 1 (*androgen receptor regulated long noncoding RNA 1*; ARLNC1), AR proteini tarafından yukarı düzenlenebilmekte ve AR transkriptini RNA-RNA etkileşimi ile stabilize edebilmektedir. ARLNC1' in yıkılması, AR ifadesinin baskılanmasına ve AR' ye bağlı PK ilerlemesinin *in vitro* ve *in vivo* inhibisyonuna neden olmaktadır (Y. Zhang et al., 2018). Ayrıca, PK ile ilişkili kodlamayan RNA1 (*prostate cancer-associated non-coding RNA1*; PRNCR1) ve PK gen ifadesi işaretçisi 1 (*prostate cancer gene expression marker 1*; PCGEM1) adlı lncRNA' lar, KDPK hücrelerinde yüksek oranda ifade edilmekte ve AR-ilişkili sinyal yolağında görev almaktadırlar. PRNCR1 ya da PCGEM1 ifadelerinin susturulmasıyla da KDPK' nin *in vivo* tümör büyümesi baskılanabilmiştir (Bardhan et al., 2022). lncRNA' ların, AR' yi etkileyen alternatif bir mekanizması da miRNA' larla etkileşimi ile gerçekleşmektedir. Literatürde çok sayıdaki miRNA ve lncRNA' nın KDPK gelişimine katkıları araştırılmıştır; ancak, bu çalışmalar miRNA ve lncRNA' ların birbirleriyle etkileşimleri de göz önünde bulundurularak yapılmamıştır (Yang et al., 2021). Bununla birlikte, kanser gelişiminin miRNA ve lncRNA' lar arasındaki etkileşim modelleriyle ilişkili olduğunu gösteren

birçok bulgu da bulunmaktadır (Sun et al., 2020). miRNA ve lncRNA' ların iyi bilinen etkileşim yollarından biri miRNA süngerleri (*miRNA sponge*) olmakla birlikte, birçok başka etkileşim yolları da bulunmaktadır. Son 5 yılda, bu alanda yapılan pek çok çalışmada, KDPK' nin gelişim sürecindeki önemli yolaklarda miRNA ve lncRNA' lar arasındaki etkileşim ve düzenlemenin etkili olduğu tartışılmıştır (Lopez-Urrutia et al., 2019).

2.4. ceRNA

ceRNA hipotezi, Salmena ve arkadaşları tarafından öne sürülmüştür. Bu hipoteze göre, miRNA yanıt elemanına (*miRNA response element*; MRE) sahip herhangi bir RNA transkripti, aynı MRE' ye sahip diğer RNA' ların ifadesini düzenlemek için bir miRNA ile etkileşime girebilir. lncRNA, mRNA ve diğer RNA' ların en az bir MRE' yi paylaşarak, miRNA süngerleri gibi hareket ederek miRNA' larla rekabet edebileceğine dair çok sayıda kanıt bulunmaktadır. Bu nedenle, miRNA' ların mRNA' lar üzerindeki baskılayıcı etkisi, aynı miRNA' ların lncRNA' lar üzerindeki MRE' lere bağlanmalarıyla etkisiz hale gelebilir (Şekil 1) (Salmena et al., 2011). Son yıllarda, ceRNA ağının kanser, Parkinson hastalığı, miyokardiyal iskemi / reperfüzyon hasarı ve serebral enfarktüs gibi çeşitli hastalıkların ortaya çıkışı ve progresyonunda önemli olduğu gösterilmiştir (Qi et al., 2020; Zhang et al., 2020). Buna göre, ilgili RNA' lar mRNA:miRNA:lncRNA ağını oluşturarak hastalık sürecinde etkilerini birlikte gösterebilirler. Kastrasyon direncine ilişkin mekanizmalarda lncRNA ve miRNA arasındaki etkileşimler sıklıkla AR-bağımlı ve -bağımsız sinyal kaskadları üzerinde etkili olup, temel olarak büyüme faktörlerini, sitokinleri, MAPK, PI3K/AKT ve MYC yollarını içermektedir (Makino et al., 2021).



Şekil 1: ceRNA Mekanizması.

A. ve B. Uzun kodlamayan RNA (lncRNA) ve mikroRNA (miRNA) biyogenezi. C. Rekabet eden RNA' lar aynı miRNA havuzunu paylaşır ve RNA ifade seviyelerini düzenlerler. <https://doi.org/10.1186/s41065-021-00208-7>

Gereç ve Yöntem

Tez çalışması kapsamında, tüm araştırmacıların erişimine açık olan veri setleri kullanıldığından, Etik Kurul Onayının alınması gerekmemiştir.

3.1. Veri Toplama Araçları

Çalışma süresince Gene Expression Omnibus (GEO; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) ve Kanser Genom Atlası (*The Cancer Genome Atlas*, TCGA; <https://cancergenome.nih.gov/>) veri tabanlarından elde edilen veriler kullanılmıştır. GEO, gen ifade profillerinin tek bir yerden derlenerek analiz edilmesine yardımcı olmak için araştırmacıların kullanımına açık, fonksiyonel genomik bir veri tabanıdır (Barrett et al., 2013; Tomczak et al., 2015). Çalışma kapsamında kullanılan aday miRNA' ları içeren veri setleri GEO veri tabanından aşağıdaki anahtar kelimeler ve filtrelemeler kullanılarak elde edilmiştir.

("prostatic neoplasms"[MeSH Terms] OR prostate cancer[All Fields]) AND "Homo sapiens"[porgn] AND (("Expression profiling by array"[Filter] OR "Non-coding RNA profiling by array"[Filter]) AND "attribute name tissue"[Filter])

Yukarıda belirtilen anahtar kelimelerle yapılan aramalar sonrasında ve çalışılacak olan örnek sayıları ile veri setlerindeki bilgi bütünlüğünü de dikkate alarak GSE60371, GSE64333, GSE21036, GSE36803, GSE45604 ve GSE76260 veri setlerinin kullanımı uygun bulunmuştur. Kullanılan veri setleri, platformları, elde edildikleri veri kaynakları ve erişim adresleri Tablo 1' de gösterilmektedir.

TCGA, araştırmacıların yeni nesil dizileme teknolojisi ile elde ettikleri büyük veri setlerini kaydedip, çeşitli biyoinformatik analizler gerçekleştirebilmeleri ve birbirleriyle entegre edebilmeleri için insan tümörleri ile ilişkili 30' dan fazla büyük kohortu içeren platformdur (Tomczak et al., 2015). TCGA verilerinin çeşitli biyoinformatik analizlerle işlenebilmesi için çeşitli internet araçları kullanılmaktadır. Tez çalışmasında, GEO' dan elde edilen verilerin ve aday genlerin transkripsiyonel ifadesini TCGA veritabanında bulunan verilerle doğrulamak için kullanıcı dostu, etkileşimli ve internet tabanlı bir araç olan UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/analysis.html>) (Chandrashekar et al., 2022) ve GEPIA' dan (<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>) (Tang et al., 2017) yararlanılmıştır. Kanser transkriptom verilerini analiz etmek için UALCAN ve GEPIA araçlarında TCGA' dan

elde edilen PK (Prostate Adenocarcinoma TCGA-PRAD) örnekleri ile kontrol grupları seçilerek aralarındaki gen ifade değişiklikleri analiz edilmiştir.

Tablo 1: GEO veritabanından seçilen veri setleri

Veri Kaynağı	GEO No.	Platform No.	Platform Adı	Erişim Adresi
miRNA	GSE60371	GPL13264	Agilent-021827 Human miRNA Microarray (V3) (Probe Name version)	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE60371
miRNA	GSE64333	GPL8227	Agilent-019118 Human miRNA Microarray 2.0 G4470B (miRNA ID version)	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE64333
miRNA	GSE21036	GPL8227	Agilent-019118 Human miRNA Microarray 2.0 G4470B (miRNA ID version)	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE21036
miRNA	GSE36803	GPL8786	[miRNA-1] Affymetrix Multispecies miRNA-1 Array	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE36803
miRNA	GSE45604	GPL14613	[miRNA-2] Affymetrix Multispecies miRNA-2 Array	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE45604
miRNA	GSE76260	GPL8179	Illumina Human v2 MicroRNA expression beadchip	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE76260

3.2. Veri İşleme Araçları

GEO2R (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>), GEO veri setindeki ham verileri işleyen ve kullanıcıların sahip oldukları örneklerde, veri dağılımını değerlendirmeye olanak veren etkileşimli bir internet aracıdır. Bu internet aracı R programı içerisindeki limma paketini kullanarak tanımlanan gruplar arasındaki gen ifade değişimlerini analiz edebilmektedir. Ayrıca, analiz sırasında ya da sonrasında elde edilen tüm R yazılımına ait kodların kaydedilip, üzerinde çeşitli değişiklikler yapılarak R yazılımı üzerinden yeni analizler de yapılabilmektedir. Analizler öncesinde verilerin ön işleme tabi tutulması, sonuçların güvenilirliği açısından oldukça önemlidir. Veri ön işleme basamakları arka plan düzeltme ve normalizasyon aşamalarından oluşmaktadır. Bu basamaklardan sonra elde edilen gen ifade değerleri, kullanılan veri seti ve platformda tanımlanan ek açıklama dosyaları kullanılarak problemlerin ilgili gen sembolleri ile belirtilmesiyle hesaplanmaktadır.

Çalışma kapsamındaki normal doku ve PK veri setlerindeki örnekler karşılaştırılarak farklı ifade edilen (*differentially expressed*; DE) lncRNA' ları, miRNA' ları ve mRNA' ları tanımlamak için normalizasyon sonrasında yapılan analiz işlemlerinde oluşturulan grafikler R yazılımı içerisindeki GEOquery kütüphanesi aracılığıyla oluşturulmuştur. Veri setlerinde farklı ifade edilen RNA' ların kesişim bölgeleri Venn diyagramı analizi ile elde edilmiştir. Bu analiz için Venny yazılımı kullanılmıştır (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>).

3.3. Aday miRNA' ların Hedef mRNA ve lncRNA Moleküllerinin Saptanması

Venn diyagram analizi sonrasında elde edilen aday miRNA' ların hedef genlerini tespit etmek için Targetscan (https://www.targetscan.org/vert_80/) (McGeary et al., 2019), miRDB (<https://mirdb.org/>) (Chen & Wang, 2020) ve miRTarBase (https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_2022/php/index.php) (Huang et al., 2022) internet araçları kullanılmıştır. TargetScan veritabanında Cumulative weighted context++ score ≤ 0.40 olan veriler, miRDB veritabanında hedef tahmin skoru ≥ 50 ve miRTarBase veritabanında ise çıkan tüm deneysel sonuçlar analize dahil edilmiştir.

Kesişim kümesinde elde edilen aday miRNA' ların lncRNA' lar ile arasındaki etkileşim ise RNAInter (<http://www.rnainter.org/>) (Kang et al., 2022) internet aracı kullanılarak analiz edilmiştir.

3.4. Merkezi Genlerin Korelasyon Analizleri

Genlerin ifade seviyelerinin analiz edilmesi, bir organizmadaki genlerin hangi durumlarda ifadelerinin nasıl değişebileceğini anlamak için kullanılan bir yöntemdir. Gen ifadesi analizleri ile oluşturulan etkileşim ağları, farklı genlerin birbirleriyle etkileşim içinde olduğu karmaşık bir ağ yapısı olarak düşünülebilir. Bu ağ yapısında, bazı genler diğer genlerle daha yoğun bir şekilde etkileşim içinde olabilir ve gen ifadesi ağının merkezi noktalarını oluşturabilirler. Bu genlere merkezi genler denir. Merkezi genlerin korelasyonlarını araştırmak için GEPIA ([//gepia.cancer-pku.cn/](http://gepia.cancer-pku.cn/)) tarafından TCGA-PRAD veri seti kullanılarak merkezi genlerin birbirleri ile olan korelasyon analizleri yapılmıştır.

3.5. Merkezi Genlerin Sağkalım Analizleri

Merkezi genlerin prognostik rolünü araştırmak için GEPIA ([//gepia.cancer-pku.cn/](http://gepia.cancer-pku.cn/)) tarafından TCGA-PRAD veri seti kullanılarak merkezi genlerin genel sağkalım (*overall survival*; OS) ve hastalıksız sağkalım (*disease free survival*; DFS) analizleri yapılmıştır.

3.6. Protein-Protein Etkileşim Ağının Oluşturulması

Hücrelerdeki birçok biyolojik süreç, proteinlerin birbirleriyle etkileşime girmesi yoluyla düzenlenmektedir. Bu etkileşimler, hücre içinde sinyal iletimi, enzim aktivasyonu, hücre döngüsü kontrolü, metabolik yolların düzenlenmesi gibi önemli işlevleri yerine getirmektedir. Hücre içindeki proteinler arasındaki fiziksel etkileşimleri tanımlayan bu ağ yapısına protein-protein etkileşim ağı (PPE) adı verilmektedir. PPE ağında her bir proteinin temsil ettiği noktalara düğüm (*node*) denir. Her bir düğüm, ağda bir proteinin varlığını temsil etmektedir. Bir düğümün derecesi (*node degree*) ise, o düğüme bağlı olan kenarların sayısını ifade etmektedir. PPE ağında, bir proteinin düğüm derecesi, o proteine bağlı diğer proteinlerin sayısını göstermektedir. Derecesi yüksek olan düğümler, ağ içinde daha fazla etkileşime sahip olan önemli proteinleri temsil etmektedirler. PPE ağında kullanılan aralık (*betweenness*) terimi ise ağdaki en kısa yolların ne kadarı bu düğümden geçtiğini ölçer. Aralık, bir düğümün ağdaki merkeziliğini belirlemek için de kullanılır. Yüksek aralığa sahip bir düğüm, ağdaki birçok protein arasında önemli bir geçiş noktasıdır ve bilgi veya sinyallerin ağ içinde yayılmasında kilit bir rol oynayabilir. Belirli bir analizin odaklandığı proteinler ise seed olarak adlandırılmaktadır. Bu proteinler, önceden

bilinen bir fonksiyon veya hastalıkla ilişkili olabilmektedirler. Ayrıca, çalışmanın amacına bağlı olarak, ağ analizinde diğer proteinlerle etkileşimlerini araştırmak için bir başlangıç noktası olarak da kullanılabilir. PPE ağında, kenarlar (edges), proteinler arasındaki fiziksel etkileşimleri temsil eden çizgilerdir. PPE' nin saptanmasında, etkileşimleri bilinen ya da tahmini olarak hesaplanabilen proteinler ile bir ağ oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan 'Etkileşen Genlerin/Proteinlerin Saptanması için Arama Aracı' (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins; STRING; <https://string-db.org/>) (Szklarczyk et al., 2019) veri tabanındaki veriler için networkanalyst.ca internet aracından yararlanılmıştır. Analiz sırasında elde edilen PPE ağını oluşturmak için birleşik skoru ≥ 0.4 olan PPE çiftleri tanımlanmıştır. Analiz sonrasında elde edilen verilerin görselleştirilebilmesi için Cytoscape v3.9.1 (Shannon et al., 2003) yazılımı kullanılmıştır. Ayrıca, düğüm derecesi ≥ 5 olarak seçilen anlamlı ($p < 0.05$) DEG' ler (*differentially expressed genes*) bu ağda merkezi genler olarak tanımlanmıştır.

3.7. Seçilen mRNA' ların Zenginleştirme Analizleri

DEG' lerin biyolojik fonksiyonlarını belirlemek için gen ontoloji (*Gene Ontology*; GO) ve Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) zenginleştirme analizleri yapılmıştır. GO, işlevsel açıklama ve zenginleştirme analizleri için yaygın olarak kullanılır; buradaki, biyolojik süreç (*biological process*; BP), moleküler fonksiyon (*molecular function*; MF) ve hücresel bileşen (*cellular component*; CC) yapılandırması gen fonksiyonunun üç ana bileşenini kapsamaktadır. KEGG, yüksek verimli deneysel teknolojiler tarafından üretilen moleküler düzeydeki bilgiyi, biyolojik yolak ve kimyasal maddeler hakkında büyük miktardaki veri toplamak için kullanılan biyolojik internet aracıdır. DEG' lerin GO ve KEGG analizlerini yapmak için EnrichR (<https://maayanlab.cloud/Enrichr/>) (Xie et al., 2021) internet aracı kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık, düzeltilmiş p değeri (*adjustment p value*) < 0.05 olarak ayarlanmıştır.

3.8. İstatistik ve Biyoinformatik Analizler

Değişen koşullarda ifadesi anlamlı olarak değişen DEG' lerin saptanması, genom çalışmalarında başlangıç noktası olarak kabul edilir. Çalışmamızda değişen koşullara uygun parametreler olarak normal kontrol ve PK hasta grupları seçilmiştir. Bu parametrelerin analizinde R yazılımı içerisinde çalışabilen LIMMA paketi

kullanılmıştır. Analiz sonrasında uygun verileri belirleyebilmek için çeşitli ölçütler kullanılabilir; bu çalışmada, p değeri, düzeltilmiş p değeri ($= q$ value), kat değişimi (*fold change*; FC) ve Benjamini Hochberg ölçütleri kullanılmıştır. Bağımsız gruplar arasında gen ifadesi anlamlı olarak değişen genleri saptamak için Benjamini Hochberg düzeltmesi ile elde edilen düzeltilmiş p değeri $= q$ değeri (*adjusted p value*) < 0.05 ve $|\log_2FC| \geq 1$ ölçütleri kullanılmıştır. FC, iki grup arasında incelenen parametreler arasındaki oran olup, elde edilen gen ifade verisini temsil etmektedir.

Elde edilen RNA' ların PK' deki biyolojik rollerini anlayabilmek için yolak ve zenginleştirme analiz yöntemleri uygulanmıştır. Böylece, elde edilen genlerin görev aldıkları moleküler fonksiyonlar, biyolojik işlevler ve bulundukları hücresel bileşenler incelenerek, birbirleri ile ilişkili diğer gen kümeleri ve sinyal yolları belirlenerek aday genler öngörülebilmektedir. Zenginleştirme ve yolak analizlerinde Bonferroni ve Benjamini-Hochberg gibi düzeltmeler ile düzeltilmiş p değerleri saptanabilmektedir.

Venny v2.1. web yazılımı ile kontrol ve PK grupları arasında, ifadesi anlamlı olarak değişen RNA' lar farklı veri setleri kullanılarak karşılaştırılmış ve bu veri setlerinin kesişim kümesinde elde edilen RNA' lar çalışmaya dahil edilmiştir.

Bulgular

4.1. Veri Setlerinin Seçilimi

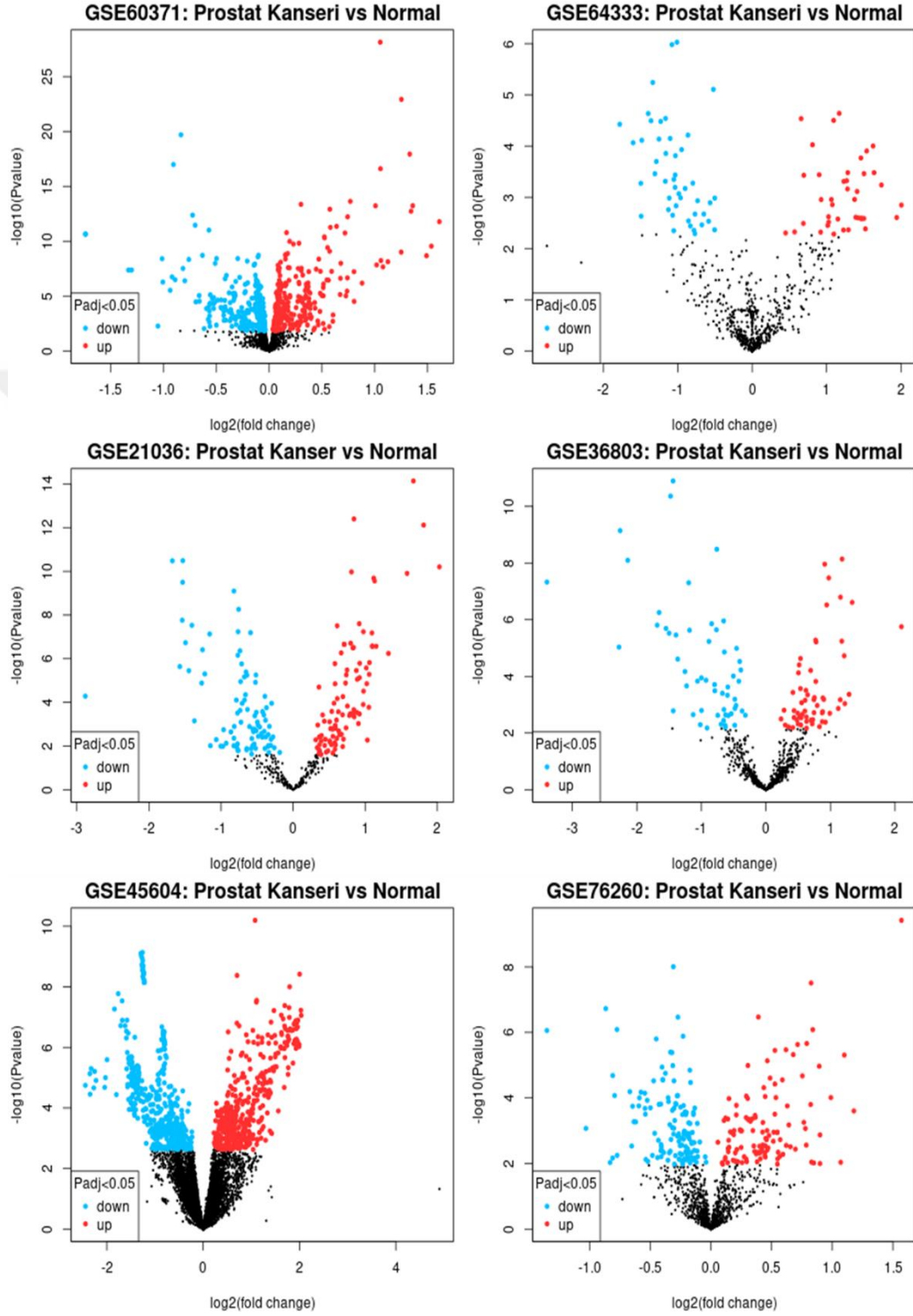
miRNA çalışması kapsamında GEO veri tabanından GSE60371 (56 PK, 21 kontrol), GSE64333 (27 PK, 27 kontrol), GSE21036 (113 PK, 28 kontrol), GSE36803 (21 PK, 21 kontrol), GSE45604 (50 PK, 10 kontrol) ve GSE76260 (32 PK, 32 kontrol) veri setlerindeki doku örneklerine ait veriler kullanılmıştır (Tablo 2).

Tablo 2: GEO veri setlerindeki kontrol ve hasta sayıları

GEO No	Örnek Tipi	Örnek Sayısı (PK)	Örnek Sayısı (Kontrol)
GSE60371	Doku	56	21
GSE64333	Doku	27	27
GSE21036	Doku	113	28
GSE36803	Doku	21	21
GSE45604	Doku	50	10
GSE76260	Doku	32	32

Tüm veri setlerindeki PK doku örnekleri normal doku örnekleri ile karşılaştırılmış ve analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizlerin sonunda GSE60371, GSE64333, GSE21036, GSE36803, GSE45604 ve GSE76260 veri setlerinde sırasıyla 357, 38, 95, 60, 28 ve 115 miRNA' nın yukarı düzenlendiği; 383, 43, 89, 55, 39 ve 132 miRNA' nın da aşağı düzenlendiği saptanmıştır ($p < 0.05$, Grafik 1). GSE21036, GSE36803 ve GSE45604 veri setlerindeki PK örnekleri normal doku örnekleri ile karşılaştırıldıklarında ortak olarak hsa-miR-133b (aşağı düzenlenme), hsa-miR-222-3p (aşağı düzenlenme) ve hsa-miR-182-5p' nin (yukarı düzenlenme) ifade değişiklikleri saptanmıştır (Tablo 3, 4, Grafik 1). Grafik 1' deki volkano grafiğinde kırmızı nokta ile işaretlenen genler yukarı (*upregulated*) düzenlenirken, mavi nokta ile işaretlenenler aşağı (*downregulated*) düzenlenmekte, siyah nokta ile işaretlenenler ise anlamlı bir ifade değişimi göstermeyen genleri belirtmektedir. GEO veritabanından seçilen 3 veri setindeki ortak değişim gösteren hsa-miR-133b, hsa-miR-222-3p ve hsa-miR-182-5p' nin TCGA veri setindeki ifade değişimleri de UALCAN internet aracı ile analiz edildi. Buna göre PK olgularındaki hsa-miR-133b ve hsa-miR-222-3p' nin

ifade seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük iken ($p < 0.05$), hsa-miR-182-5p' nin ise yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$) (Grafik 2).



Grafik 1: Veri setlerinde bulunan miRNA' ların prostat kanseri ve normal grup arasındaki ifade seviyelerinin dağılımının volkano grafiği ile gösterilmesi

Tablo 3: miRNA veri setlerindeki ortak miRNA' lar

* Kırmızı ile işaretli olan miRNA' lar seçilen aday miRNA' larıdır.

GEO No	Ortak miRNA sayısı	miRNA
GSE21036, GSE45604, GSE64333	1	hsa-miR-183-5p
GSE21036, GSE36803, GSE45604	3	hsa-miR-133b hsa-miR-222-3p hsa-miR-182-5p
GSE45604, GSE64333	1	hsa-miR-1-3p
GSE21036, GSE45604	1	hsa-miR-133a-3p
GSE36803, GSE45604	4	hsa-miR-221-3p hsa-miR-375 hsa-miR-143-3p hsa-miR-187-3p
GSE21036, GSE60371	1	hsa-miR-146b-5p
GSE36803, GSE60371	1	hsa-miR-205-5p
GSE21036, GSE64333	3	hsa-miR-221-5p hsa-miR-7-5p hsa-miR-659-3p
GSE36803, GSE64333	3	hsa-miR-148a-3p hsa-miR-145-5p hsa-miR-18b-5p
GSE21036, GSE36803	1	hsa-miR-96-5p
GSE45604	4	hsa-miR-422a hsa-miR-1271-5p hsa-miR-200c-3p hsa-miR-3175
GSE60371	9	hsa-miR-638 hsa-miR-1260a hsa-miR-1207-5p hsa-miR-338-3p hsa-miR-30b-5p hsa-miR-1274b hsa-miR-21-3p hsa-miR-142-3p hsa-miR-1268a
GSE64333	46	hsa-miR-20b-5p hsa-miR-665 hsa-miR-933 hsa-miR-490-5p hsa-miR-483-5p hsa-let-7f-5p hsa-miR-371a-5p hsa-let-7d-5p hsa-miR-200a-3p hsa-miR-498 hsa-miR-31-3p hsa-miR-98-5p hsa-miR-550a-5p hsa-miR-29b-1-5p hsa-miR-92b-3p hsa-miR-374b-5p hsa-miR-129-1-3p hsa-miR-26b-5p hsa-miR-23b-5p hsa-miR-505-5p hsa-let-7a-5p hsa-miR-192-5p hsa-miR-765 hsa-miR-200b-5p hsa-miR-887-3p hsa-miR-671-3p hsa-miR-200b-3p hsa-miR-602 hsa-miR-20a-5p hsa-miR-95-3p hsa-miR-203a-3p hsa-miR-550a-3p hsa-let-7b-3p hsa-miR-10b-5p hsa-miR-454-3p hsa-let-7f-1-3p hsa-miR-483-3p hsa-miR-374a-5p hsa-miR-199b-5p hsa-miR-301a-3p hsa-miR-767-3p hsa-miR-563 hsa-miR-425-3p hsa-miR-671-5p hsa-miR-590-5p hsa-miR-150-3p
GSE76260	5	hsa-miR-876-3p hsa-miR-32 hsa-miR-187 hsa-miR-663b hsa-miR-449a
GSE21036	12	hsa-miR-135a-3p hsa-miR-148a-5p hsa-miR-424-3p hsa-miR-548c-3p hsa-miR-648 hsa-miR-663a hsa-miR-153-3p hsa-miR-143-5p hsa-miR-877-5p hsa-miR-518c-5p hsa-miR-32-5p hsa-miR-141-5p
GSE36803	11	hsa-miR-25-3p hsa-miR-1244 hsa-miR-224-5p hsa-miR-149-5p hsa-miR-455-5p hsa-miR-204-5p hsa-miR-376c-3p hsa-miR-505-3p hsa-miR-139-5p hsa-miR-130b-3p hsa-miR-31-5p

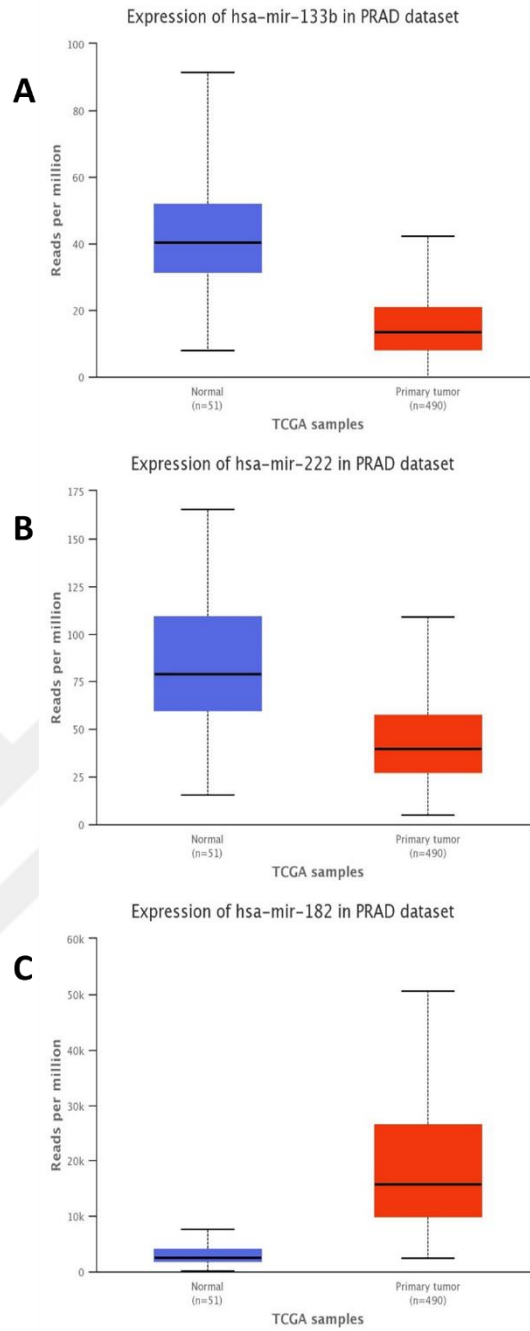
Tablo 4: Aday miRNA' ların GEO ve TCGA' daki ifade değişimleri

miRNA	GSE21036	GSE36803	GSE45604	UALCAN (PK/N)*
hsa-miR-133b	-1.571	-1.394	-1.079	↓
hsa-miR-222-3p	-1.675	-1.127	-1.335	↓
hsa-miR-182-5p	1.118	1.336	1.919	↑

* N = normal (51), PK= prostat kanseri (490), negatif değer: aşağı düzenlenen, pozitif değer: yukarı düzenlenen, ↓ = Aşağı düzenlenen, ↑ = Yukarı düzenlenen, $p < 0.05$

4.2. Aday miRNA' ların mRNA Hedeflerinin Tanımlanması

hsa-miR-133b, hsa-miR-222-3p ve hsa-miR-182-5p' nin öngörülen mRNA hedeflerini saptamak için TargetScan, miRDB ve miRTarbase veritabanları ile analizler gerçekleştirildi. Analizler sonrasında q değeri < 0.05 ve $\log FC \geq 1$ olan mRNA' lar seçilerek 3 veri setinde de ortak ifade değişimi gösteren mRNA' lar sonraki analizlere dahil edildi. hsa-miR-133b' nin 3 veritabanında ortak ifade değişimi gösteren 24 tane, hsa-miR-222-3p' nin 46 tane ve hsa-miR-182-5p' nin ise 50 tane mRNA' yı hedefledikleri saptandı (şekil 2). Elde edilen sonuçlar, TCGA veritabanındaki gen ifade verileriyle karşılaştırıldığında hsa-miR-133b' nin 24 hedef geninden 10 tanesinin mRNA düzeyinde aşağı düzenlendiği ($p < 0.05$), 3' ünün yukarı düzenlendiği ($p < 0.05$) ve 11' inin de anlamlı bir ifade değişimi göstermediği saptanmıştır ($p > 0.05$). Bununla birlikte, hsa-miR-182-5p' nin 50 hedef geninden 28 tanesinin mRNA düzeyinde aşağı düzenlendiği ($p < 0.05$), 9' unun yukarı düzenlendiği ($p < 0.05$) ve 13' ünün de anlamlı bir ifade değişimi göstermediği saptanmıştır ($p > 0.05$). Son olarak, hsa-miR-222-3p' nin 46 hedef geninden 14 tanesinin mRNA düzeyinde aşağı düzenlendiği ($p < 0.05$), 13' ünün yukarı düzenlendiği ($p < 0.05$) ve 19' unun anlamlı bir ifade değişimi göstermediği saptanmıştır ($p > 0.05$).



Grafik 2: Aday miRNA' ların TCGA' daki ifade değışimlerini gösteren grafik.

* A. Prostat kanseri ve normal olgulara ait örneklerdeki hsa miR-133b' nin ifade değeri. B. Prostat kanseri ve normal olgulara ait örneklerdeki hsa-miR-222-3p' nin ifade değeri. C. Prostat kanseri ve normal olgulara ait örneklerdeki hsa-miR-182-5p' nin ifade değeri. PRAD: Prostate Adenocarcinoma (Prostat kanseri). Kırmızı kutu prostat kanseri grubunun ifade değeri, mavi kutu ise kontrol grubunun ifade değeri temsil etmektedir ($p < 0.05$).



Şekil 2: hsa-miR-133b, hsa-miR-222-3p ve hsa-miR-182-5p' nin öngörülen mRNA hedeflerini saptamak için TargetScan, miRDB ve miRTarbase veritabanlarındaki Venn Diyagram dağılımı

4.3. Aday miRNA' ların lncRNA Hedeflerinin Tanımlanması

hsa-miR-133b, hsa-miR-222-3p ve hsa-miR-182-5p' nin öngörülen lncRNA hedeflerini saptamak için RNAInter veritabanı kullanılarak analizler gerçekleştirildi. Analizler sonrasında hsa-miR-133b için 66 tane, hsa-miR-222-3p için 73 tane ve hsa-miR-182-5p için de 126 tane etkileşimde oldukları lncRNA saptandı. Elde edilen sonuçlar, TCGA veritabanındaki gen ifade verileriyle karşılaştırıldığında hsa-miR-133b' nin 66 hedef geninden 9' unun aşağı düzenlendiği ($p < 0.05$). 24' ünün ise yukarı düzenlediği saptanmıştır ($p < 0.05$). Bununla birlikte, hsa-miR-182-5p' nin 126 hedef geninden 13' ünün aşağı düzenlendiği ($p < 0.05$), 36' sının ise yukarı düzenlendiği saptanmıştır ($p < 0.05$). Son olarak, hsa-miR-222-3p' nin 73 hedef geninden 8' inin

aşağı düzenlendiği ($p < 0.05$), 19' unun ise yukarı düzenlendiği saptanmıştır ($p < 0.05$)
Tablo 5, 6 ve 7' de ilgili miRNA' lara ait istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar yer almaktadır ($p < 0.05$).

Tablo 5: hsa-miR-133b' nin lncRNA Hedeflerinin Tanımlanması

* PK = Prostat kanseri, N = Normal prostat dokusu, ↓ = Aşağı düzenlenen, ↑ = Yukarı düzenlenen,
Skor = RNAInter skoru

miRNA	miRNA ifade değişimi (PK/N)	lncRNA	lncRNA ifade değişimi (PK/N)	Skor
hsa-miR-133b	↓	FAM66D	↓	0.2129
hsa-miR-133b	↓	MIR1-1HG-AS1	↓	0.2129
hsa-miR-133b	↓	SH3TC2-DT	↓	0.2129
hsa-miR-133b	↓	DLEU1	↓	0.2129
hsa-miR-133b	↓	FAM66E	↓	0.2129
hsa-miR-133b	↓	FILNC1	↓	0.2129
hsa-miR-133b	↓	FAM66A	↓	0.2129
hsa-miR-133b	↓	MIR22HG	↓	0.2129
hsa-miR-133b	↓	FAM66C	↓	0.2129
hsa-miR-133b	↓	TTN-AS1	↑	0.5377
hsa-miR-133b	↓	EGFR-AS1	↑	0.3367
hsa-miR-133b	↓	AQP4-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	HCG27	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC00467	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC01134	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC01566	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	PART1	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC02381	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	C2CD4D-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC01913	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	HPN-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC01060	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC01144	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	SLC25A21-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	MIR17HG	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC02120	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC01881	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	KU-MEL-3	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC00608	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	CTBP1-DT	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	DICER1-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	LINC01128	↑	0.2129
hsa-miR-133b	↓	FAM13A-AS1	↑	0.2129

Tablo 6: hsa-miR-182-5p' nin lncRNA Hedeflerinin Tanımlanması

* PK = Prostat kanseri, N = Normal prostat dokusu, ↓ = Aşağı düzenlenen, ↑ = Yukarı düzenlenen,
Skor = RNAInter skoru

miRNA	miRNA ifade değişimi (PK/N)	lncRNA	lncRNA ifade değişimi (PK/N)	Skor
hsa-miR-182-5p	↑	ADAMTS9-AS2	↓	0.5293
hsa-miR-182-5p	↑	DLEU1	↓	0.2131
hsa-miR-182-5p	↑	LINC01619	↓	0.2131
hsa-miR-182-5p	↑	LINC02453	↓	0.2131
hsa-miR-182-5p	↑	PURPL	↓	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	PAXIP1-AS2	↓	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC01140	↓	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	SH3TC2-DT	↓	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	C5orf56	↓	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	BCDIN3D-AS1	↓	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	APCDD1L-DT	↓	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00632	↓	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC01018	↓	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	SNHG3	↑	0.4506
hsa-miR-182-5p	↑	SNHG16	↑	0.3682
hsa-miR-182-5p	↑	EXOC3-AS1	↑	0.2986
hsa-miR-182-5p	↑	KIAA0087	↑	0.2131
hsa-miR-182-5p	↑	LINC02389	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	EWSAT1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00173	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	CTBP1-DT	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	UNQ6494	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	ZBTB11-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00894	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00964	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC02035	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	NFYC-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	ZNF436-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	GABPB1-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	ZFAS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00222	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00907	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LEF1-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	RAD21-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	HCG27	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	MCM3AP-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC01973	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	PCGEM1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	FAM201A	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC02381	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	OLMALINC	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	MIR4453HG	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	CEP83-DT	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00240	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00608	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00992	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	GPR158-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	DNMBP-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-182-5p	↑	ZNF252P-AS1	↑	1,00E-10

Tablo 7: hsa-miR-222-3p' nin lncRNA Hedeflerinin Tanımlanması

* PK = Prostat kanseri, N = Normal prostat dokusu, ↓ = Aşağı düzenlenen, ↑ = Yukarı düzenlenen,
Skor = RNAInter skoru

miRNA	miRNA ifade değişimi (PK/N)	lncRNA	lncRNA ifade değişimi (PK/N)	Skor
hsa-miR-222-3p	↓	MIR222HG	↓	0.4497
hsa-miR-222-3p	↓	FAM66E	↓	0.235
hsa-miR-222-3p	↓	RRN3P2	↓	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	EPHA1-AS1	↓	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	PURPL	↓	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	HOXA-AS2	↓	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	LINC01018	↓	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	LINC00484	↓	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	GAS5	↑	0.5968
hsa-miR-222-3p	↓	TYMSOS	↑	0.2986
hsa-miR-222-3p	↓	GLIDR	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	ZNF674-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	LINC00623	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	ST8SIA6-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	PCA3	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	NFYC-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	LINC00992	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	LINC00167	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	JPX	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	CEBPA-DT	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	LINC01126	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	LINC00244	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	LINC00685	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	GAS6-AS1	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	DGCR5	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	MIR2052HG	↑	0.2129
hsa-miR-222-3p	↓	SCARNA9	↑	0.1519

4.4. mRNA:miRNA:lncRNA Korelasyon Analizleri

lncRNA' lar, mRNA' ların hedefi olan miRNA' lara bağlanarak mRNA ifadesini düzenleyen ceRNA' lar olarak görev yaparlar ve bu etkiyi gösterebilmeleri için miRNA' lar ile negatif korelasyon gösterirler. Aday mRNA ve lncRNA' ların seçim işleminde yukarıdaki analiz sonuçlarından elde edilen miRNA' ların hedefledikleri RNA' lar kullanılmıştır. ceRNA hipotezi doğrultusunda seçilecek anlamlı ($p < 0.05$) mRNA ve lncRNA' ların miRNA' lar ile negatif korelasyon; mRNA ile lncRNA' nın ise pozitif korelasyon göstermesi gerekmektedir. Yapılan korelasyon analizleri Tablo 8, 9 ve 10' da verilmiştir. Buna göre hsa-miR-133b, *CDK5R1* ve *HPN-AS1* ile en yüksek negatif korelasyonu göstermektedir (sırasıyla, $R = -0.217$, $p < 0.01$, $R = -0.256$, $p < 0.01$). *CDK5R1* ile *HPN-AS1* arasındaki korelasyon incelendiğinde ise, en yüksek pozitif korelasyona sahip olduğu saptanmıştır ($R = 0.17$, $p < 0.01$). Bununla birlikte, hsa-miR-222-3p, *PDIK1L* ve *ZNF674-AS1* ile en yüksek negatif korelasyonu göstermektedir (sırasıyla, $R = -0.392$, $p < 0.01$, $R = -0.295$, $p < 0.01$). *PDIK1L* ile *ZNF674-AS1* arasındaki korelasyon incelendiğinde ise, bu korelasyonun anlamlı

olarak en yüksek pozitif korelasyona sahip olduğu saptanmıştır ($R = 0.43$, $p < 0.01$). Son olarak, hsa-miR-182-5p *MITF* ve *ADAMTS9-AS2* ile en yüksek negatif korelasyonu göstermektedir (sırasıyla, $R = -0.465$, $p < 0.01$, $R = -0.5$, $p < 0.01$). *MITF* ile *ADAMTS9-AS2* arasındaki korelasyon incelendiğinde ise, bu korelasyonun anlamlı olarak en yüksek pozitif korelasyona sahip olduğu saptanmıştır ($R = 0.799$, $p < 0.01$). Bununla birlikte *BCL2* geni de *ADAMTS9-AS2* ile aynı oranda korelasyona sahiptir ($R = 0.799$, $p < 0.01$). Ancak, *BCL2*'nin hsa-miR-182-5p ile olan korelasyonu *MITF*'ye oranla daha düşük saptanmıştır ($R = -0.307$, $p < 0.01$).

Tablo 8: miRNA-mRNA korelasyon analiz sonuçları

miRNA	miRNA ifade değişimi (PK/N)	mRNA	mRNA ifade değişimi (PK/N)	R değeri	p değeri
hsa-miR-133b	↓	FOXL2	↑	-0.098	2.99E-02
hsa-miR-133b	↓	COL1A1	↑	-0.039	3.92E-01
hsa-miR-133b	↓	CDK5R1	↑	-0.217	1.11E-06
hsa-miR-222-3p	↓	YWHAG	↑	-0.329	6.33E-14
hsa-miR-222-3p	↓	HIPK2	↑	-0.221	6.54E-07
hsa-miR-222-3p	↓	RNF4	↑	-0.205	4.05E-06
hsa-miR-222-3p	↓	STMN1	↑	-0.286	9.64E-11
hsa-miR-222-3p	↓	KPNA2	↑	-0.388	3.24E-19
hsa-miR-222-3p	↓	PDIK1L	↑	-0.392	1.16E-19
hsa-miR-222-3p	↓	ZFYVE16	↑	-0.197	1.03E-05
hsa-miR-182-5p	↑	FOXO1	↓	-0.457	7.48E-27
hsa-miR-182-5p	↑	CREB1	↓	-0.063	1.62E-01
hsa-miR-182-5p	↑	CCND2	↓	-0.405	5.57E-21
hsa-miR-182-5p	↑	BCL2	↓	-0.307	2.87E-12
hsa-miR-182-5p	↑	FBXW7	↓	-0.115	1.01E-02
hsa-miR-182-5p	↑	MITF	↓	-0.465	5.56E-28
hsa-miR-182-5p	↑	FGF9	↓	-0.164	2.38E-04
hsa-miR-182-5p	↑	SESN2	↓	-0.144	1.33E-03
hsa-miR-182-5p	↑	PFN1	↓	-0.031	4.90E-01
hsa-miR-182-5p	↑	CLOCK	↓	-0.199	8.08E-06
hsa-miR-182-5p	↑	KDM5A	↓	-0.22	7.55E-07
hsa-miR-182-5p	↑	CYLD	↓	-0.359	1.66E-16
hsa-miR-182-5p	↑	EIF4EBP2	↓	-0.222	6.25E-07
hsa-miR-182-5p	↑	ARRDC3	↓	-0.122	6.69E-03
hsa-miR-182-5p	↑	LRRC4	↓	-0.276	4.11E-10
hsa-miR-182-5p	↑	PPP1R12A	↓	-0.407	3.55E-21
hsa-miR-182-5p	↑	QSER1	↓	-0.245	3.44E-08
hsa-miR-182-5p	↑	FOXF2	↓	-0.229	2.72E-07
hsa-miR-182-5p	↑	USP5	↓	0.015	7.45E-01
hsa-miR-182-5p	↑	MTSS1	↓	-0.26	4.40E-09
hsa-miR-182-5p	↑	RARG	↓	-0.343	3.94E-15
hsa-miR-182-5p	↑	NPTX1	↓	-0.309	1.96E-12
hsa-miR-182-5p	↑	RASA2	↓	-0.062	1.67E-01
hsa-miR-182-5p	↑	RECK	↓	-0.213	1.80E-06
hsa-miR-182-5p	↑	PPM1L	↓	-0.339	8.90E-15
hsa-miR-182-5p	↑	EV15	↓	-0.203	5.14E-06
hsa-miR-182-5p	↑	GABRB1	↓	-0.138	2.11E-03
hsa-miR-182-5p	↑	PPP1R11	↓	-0.196	1.09E-05

Tablo 9: miRNA-lncRNA korelasyon analiz sonuçları

miRNA	miRNA ifade değişimi (PK/N)	lncRNA	lncRNA ifade değişimi (PK/N)	R değeri	p değeri
hsa-miR-133b	↓	HPN-AS1	↑	-0.256	7.46E-09
hsa-miR-133b	↓	FAM66A	↓	0.059	1.87E-01
hsa-miR-133b	↓	LINC01128	↓	0.073	1.04E-01
hsa-miR-222-3p	↓	GAS5	↑	-0.205	4.50E-06
hsa-miR-222-3p	↓	TYMSOS	↑	-0.199	7.99E-06
hsa-miR-222-3p	↓	ZNF674-AS1	↑	-0.295	2.00E-11
hsa-miR-222-3p	↓	NFYC-AS1	↑	-0.154	6.04E-04
hsa-miR-222-3p	↓	DGCR5	↑	-0.161	3.26E-04
hsa-miR-182-5p	↑	ADAMTS9-AS2	↓	-0.5	1.14E-32
hsa-miR-182-5p	↑	DLEU1	↓	-0.137	2.20E-03
hsa-miR-182-5p	↑	LINC01619	↑	0.019	6.73E-01
hsa-miR-182-5p	↑	LINC02453	↑	0.031	4.95E-01
hsa-miR-182-5p	↑	PURPL	↓	-0.074	1.01E-01
hsa-miR-182-5p	↑	PAXIP1-AS2	↓	-0.193	1.50E-05
hsa-miR-182-5p	↑	LINC01140	↓	-0.319	3.63E-13
hsa-miR-182-5p	↑	SH3TC2-DT	↓	-0.177	7.27E-05
hsa-miR-182-5p	↑	C5orf56	↓	-0.072	1.10E-01
hsa-miR-182-5p	↑	BCDIN3D-AS1	↓	-0.182	4.84E-05
hsa-miR-182-5p	↑	APCDD1L-AS1	↓	-0.203	5.59E-06
hsa-miR-182-5p	↑	LINC00632	↓	-0.084	6.31E-02
hsa-miR-182-5p	↑	LINC01018	↓	-0.372	1.15E-17

Tablo 10: mRNA-lncRNA korelasyon analiz sonuçları ($R > 0.15$, $p < 0.05$ kriterlerini sağlayan en yüksek 10 RNA)

mRNA	mRNA ifade değişimi (PK/N)	lncRNA	lncRNA ifade değişimi (PK/N)	R değeri	p değeri
BCL2	↓	ADAMTS9-AS2	↓	0.799	5.45E-112
MITF	↓	ADAMTS9-AS2	↓	0.799	5.45E-112
FOXO1	↓	ADAMTS9-AS2	↓	0.786	8.00E-106
CLOCK	↓	PAXIP1-AS2	↓	0.78	3.72E-103
KDM5A	↓	PAXIP1-AS2	↓	0.761	2.78E-95
PPP1R12A	↓	PAXIP1-AS2	↓	0.759	1.04E-94
CCND2	↓	ADAMTS9-AS2	↓	0.752	6.35E-92
EVI5	↓	PAXIP1-AS2	↓	0.736	2.35E-86
PPP1R12A	↓	ADAMTS9-AS2	↓	0.694	5.28E-73
CYLD	↓	PAXIP1-AS2	↓	0.675	1.08E-67
STMN1	↑	TYMSOS	↑	0.56	0.00E+00
RNF4	↑	ZNF674-AS1	↑	0.47	0.00E+00
KPNA2	↑	TYMSOS	↑	0.44	0.00E+00
ZFYVE16	↑	ZNF674-AS1	↑	0.44	0.00E+00
PDIK1L	↑	ZNF674-AS1	↑	0.43	0.00E+00
YWHAG	↑	ZNF674-AS1	↑	0.34	1.10E-14
HIPK2	↑	ZNF674-AS1	↑	0.34	1.50E-14
PDIK1L	↑	NFYC-AS1	↑	0.27	2.20E-09
ZFYVE16	↑	NFYC-AS1	↑	0.26	4.30E-09
KPNA2	↑	ZNF674-AS1	↑	0.25	1.80E-08
COL1A1	↓	FAM66A	↓	0.2	5.70E-06
CDK5R1	↑	LINC01128	↑	0.2	7.50E-06
CDK5R1	↑	HPN-AS1	↑	0.17	2.00E-04
COL1A1	↓	MIR1-1HG-AS1	↓	0.149	8.26E-04

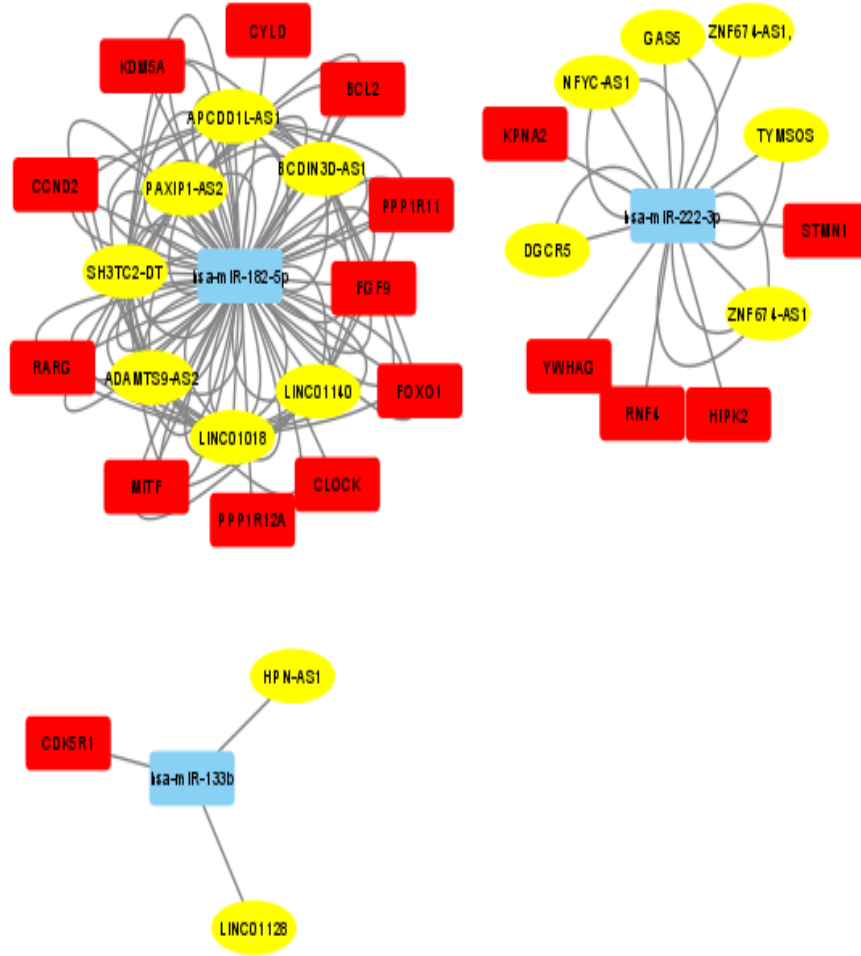
4.5. mRNA:miRNA:lncRNA Etkileşim Ağının Oluşturulması

miRNA-mRNA ve lncRNA-miRNA arasında belirlenen etkileşimler, Cytoscape yazılımıyla belirli bir ceRNA (mRNA:miRNA:lncRNA) ağının oluşturulması için

kullanılmıştır. Hedef mRNA' ların, Cytoscape içerisinde yer alan STRING uygulamasının veritabanındaki PPE ağı oluşturulmuş ve saptanan etkileşimlerdeki mRNA' lar kullanılmıştır. Buna göre, 77 mRNA ($p < 0.05$, yukarı ve aşağı düzenlenme) ile yapılan analizler sonrasında ağ içerisinde etkileşimi bulunan 51 protein (*seed*) saptanmış, bu proteinler de 967 protein (*node*) ile etkileşimde olup, toplamda 1468 kenar (*edges*) elde edilmiştir. PPE' deki düğüm derecesi incelendiğinde 70 proteinin ≥ 5 olduğu saptanmıştır. Bu proteinlerden de yukarıda yapılan korelasyon analizlerinden elde edilen mRNA' lar incelendiğinde ($R \geq 0.15$, $p < 0.05$) ilgili mRNA' lardan 17' sinin düğüm derecelerinin ≥ 5 olduğu saptanmıştır. Bu ağ, merkezi genlerin ifade sürecindeki düzenleyici ilişkileri ve ayrıca tümör oluşumunun karmaşık mekanizmalarını yansıtmaktadır. lncRNA' ların seçim işlemi de merkezi miRNA' larla etkileşimde olan lncRNA' lar kullanılmıştır (Tablo 8, 9, 10, 11, Şekil 3).

Tablo 11: mRNA' ların etkileşimde bulundukları miRNA' lar ve lncRNA' lar

mRNA	Düğüm derecesi	Aralık	Etkileşimdeki miRNA	Etkileşimdeki lncRNA (mRNA ile pozitif korelasyon (≥ 0.15))
FOXO1	81	48939.93	hsa-miR-182-5p	ADAMTS9-AS2, PAXIP1-AS2, LINC01018, LINC01140, APCDD1L-AS1, BCDIN3D-AS1, SH3TC2-DT
YWHAG	59	36455.73	hsa-miR-222-3p	ZNF674-AS1, DGCR5, NFYC-AS1
PPP1R12A	37	30015.2	hsa-miR-182-5p	PAXIP1-AS2, ADAMTS9-AS2, LINC01140, BCDIN3D-AS1, LINC01018, APCDD1L-AS1, SH3TC2-DT
CCND2	34	12973.07	hsa-miR-182-5p	ADAMTS9-AS2, LINC01140, LINC01018, APCDD1L-AS1, BCDIN3D-AS1, PAXIP1-AS2, SH3TC2-DT
RNF4	29	24089.12	hsa-miR-222-3p	ZNF674-AS1, NFYC-AS1
CYLD	28	19797.86	hsa-miR-182-5p	PAXIP1-AS2, ADAMTS9-AS2, LINC01140, LINC01018, BCDIN3D-AS1, SH3TC2-DT, APCDD1L-AS1
BCL2	28	19429.65	hsa-miR-182-5p	ADAMTS9-AS2, LINC01140, LINC01018, PAXIP1-AS2, APCDD1L-AS1, BCDIN3D-AS1, SH3TC2-DT
KPNA2	25	19166.74	hsa-miR-222-3p	TYMSOS, ZNF674-AS1,
CLOCK	23	14514.31	hsa-miR-182-5p	PAXIP1-AS2, ADAMTS9-AS2, BCDIN3D-AS1, LINC01018, LINC01140, SH3TC2-DT
RARG	23	7275.32	hsa-miR-182-5p	ADAMTS9-AS2, APCDD1L-AS1, LINC01140, LINC01018, BCDIN3D-AS1, PAXIP1-AS2, SH3TC2-DT
HIPK2	16	7471.77	hsa-miR-222-3p	GAS5, ZNF674-AS1
MITF	14	4704.58	hsa-miR-182-5p	ADAMTS9-AS2, LINC01140, LINC01018, PAXIP1-AS2, APCDD1L-AS1, BCDIN3D-AS1, SH3TC2-DT
STMN1	12	4920.13	hsa-miR-222-3p	TYMSOS, DGCR5, NFYC-AS1, ZNF674-AS1, GAS5
KDM5A	8	4840.78	hsa-miR-182-5p	PAXIP1-AS2, ADAMTS9-AS2, SH3TC2-DT, BCDIN3D-AS1, LINC01140, LINC01018, APCDD1L-AS1
FGF9	7	2893.41	hsa-miR-182-5p	ADAMTS9-AS2, LINC01140, APCDD1L-AS1, SH3TC2-DT, PAXIP1-AS2
CDK5R1	5	2105.93	hsa-miR-133b	LINC01128, HPN-AS1
PPP1R11	5	1931.5	hsa-miR-182-5p	PAXIP1-AS2, BCDIN3D-AS1, LINC01018

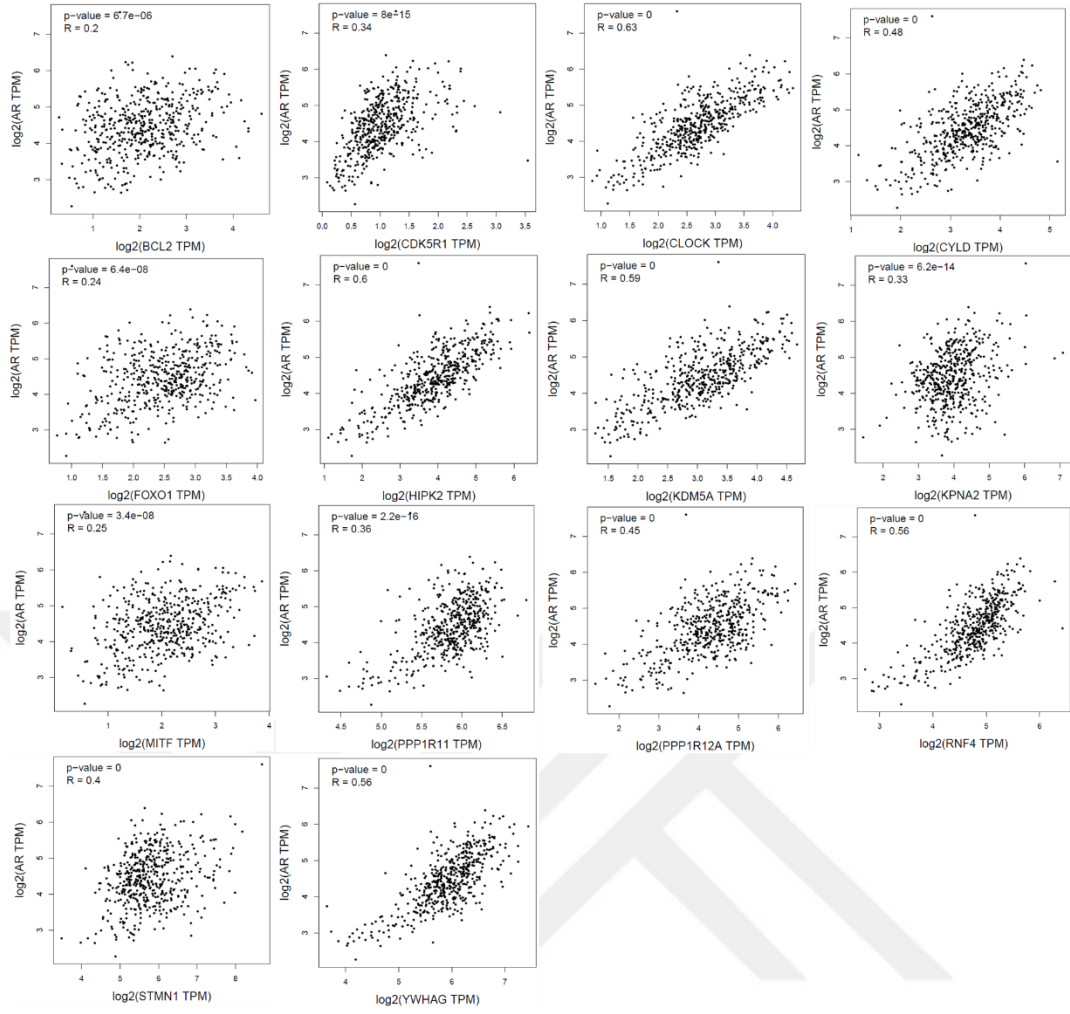


Şekil 3: Protein-protein etkileşim analiz sonuçları

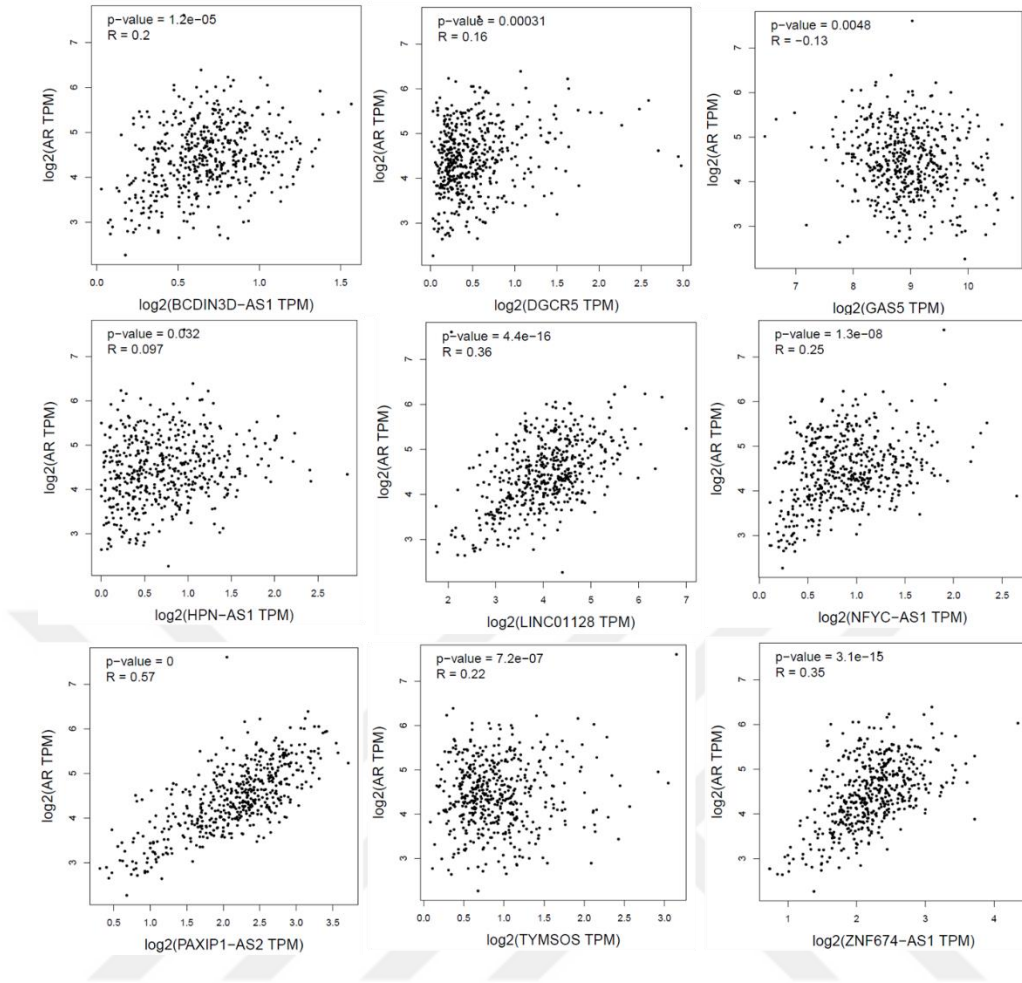
* Mavi kutu: Aday miRNA' lar, Sarı kutu: Aday lncRNA' lar, Kırmızı kutu: Aday mRNA' lar

4.6. Aday mRNA:miRNA:lncRNA' ların AR ile Korelasyon Analizleri

Aday mRNA' ların AR ile yapılan korelasyon analizleri sonrasında *BCL2* ($R = 0.2$), *CDK5R1* ($R = 0.34$), *CLOCK* ($R = 0.63$), *CYLD* ($R = 0.48$), *FOXO1* ($R = 0.24$), *HIPK2* ($R = 0.6$), *KDM5A* ($R = 0.59$), *KPNA2* ($R = 0.33$), *MITF* ($R = 0.25$), *PPP1R11* ($R = 0.36$), *PPP1R12A* ($R = 0.45$), *RNF4* ($R = 0.56$), *STMN1* ($R = 0.4$) ve *YWHAG* ($R = 0.56$)' ın pozitif korelasyon gösterdikleri saptanmıştır ($p < 0.05$). Aday lncRNA' lardan ise *BCDIN3D-AS1*, *DGCR5*, *HPN-AS1*, *LINC01128*, *NFYC-AS1*, *PAXIP1-AS2*, *TYMSOS* ve *ZNF674-AS1* pozitif korelasyon gösterirken, *GAS5* ise negatif bir korelasyon göstermektedir (Grafik 3, 4).



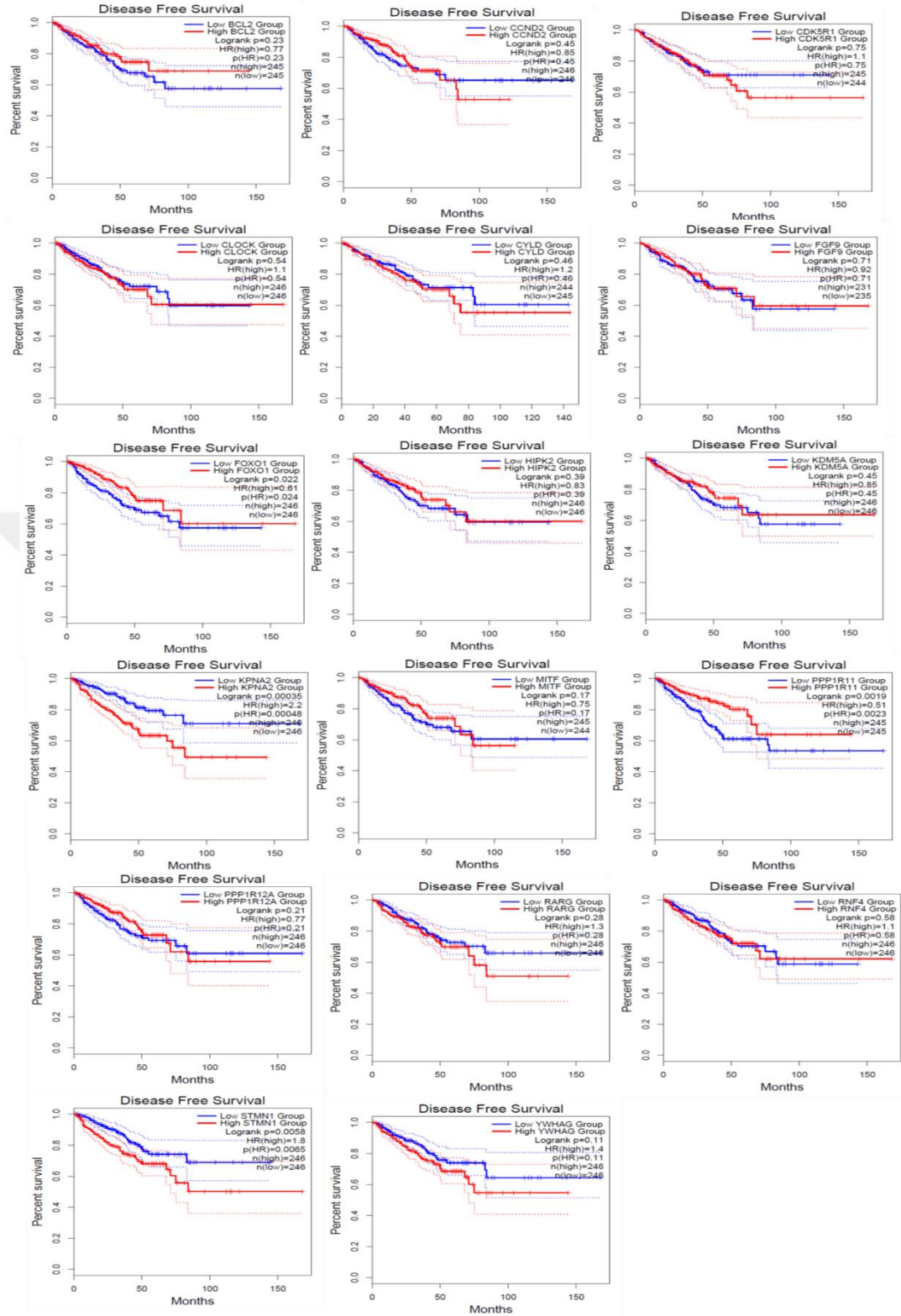
Grafik 3: Aday mRNA'ların AR ile korelasyon sonuçları



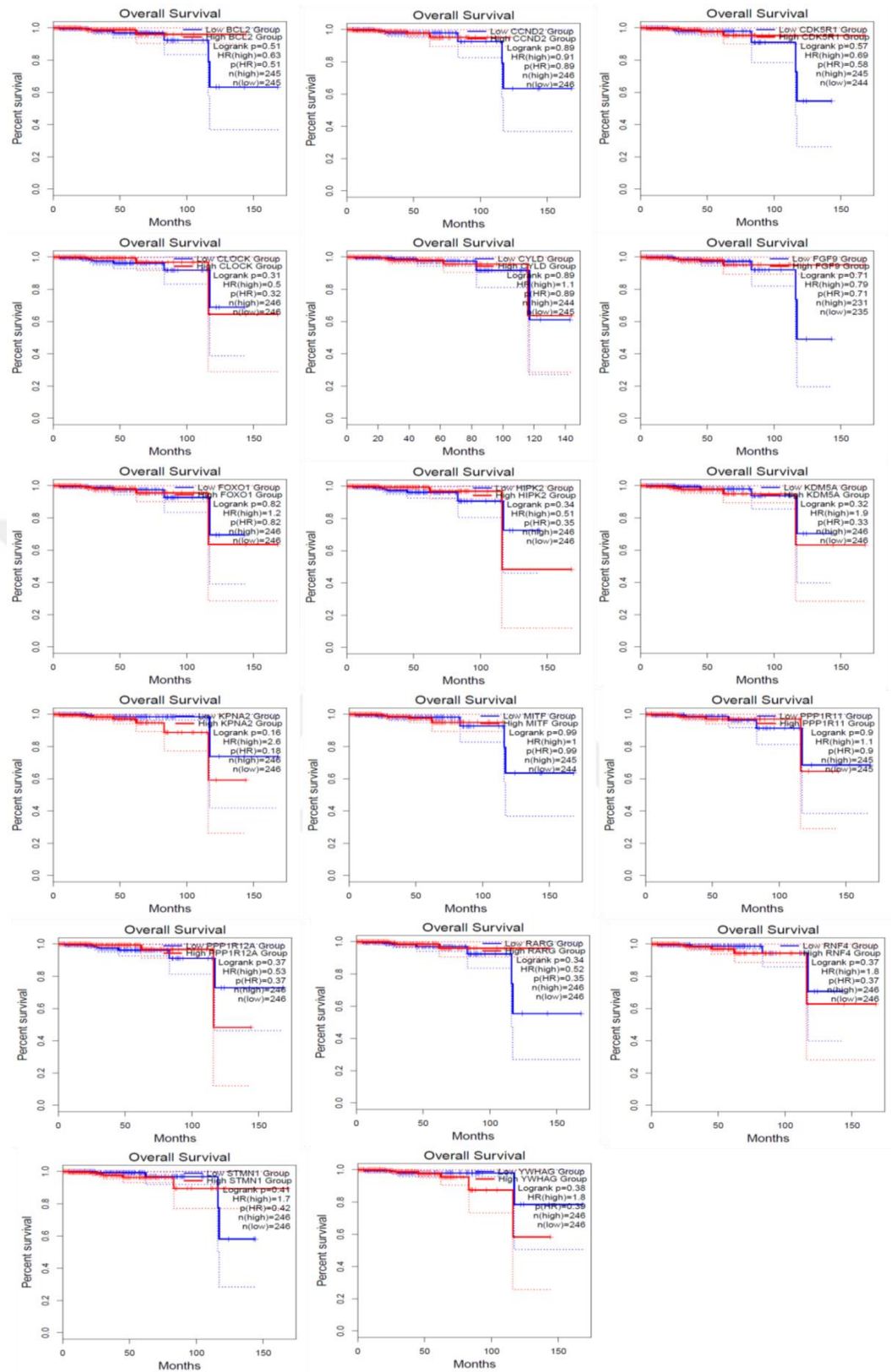
Grafik 4: Aday lncRNA'ların AR ile korelasyon sonuçları

4.7. Aday Genlerin Sağkalım Analiz Sonuçları

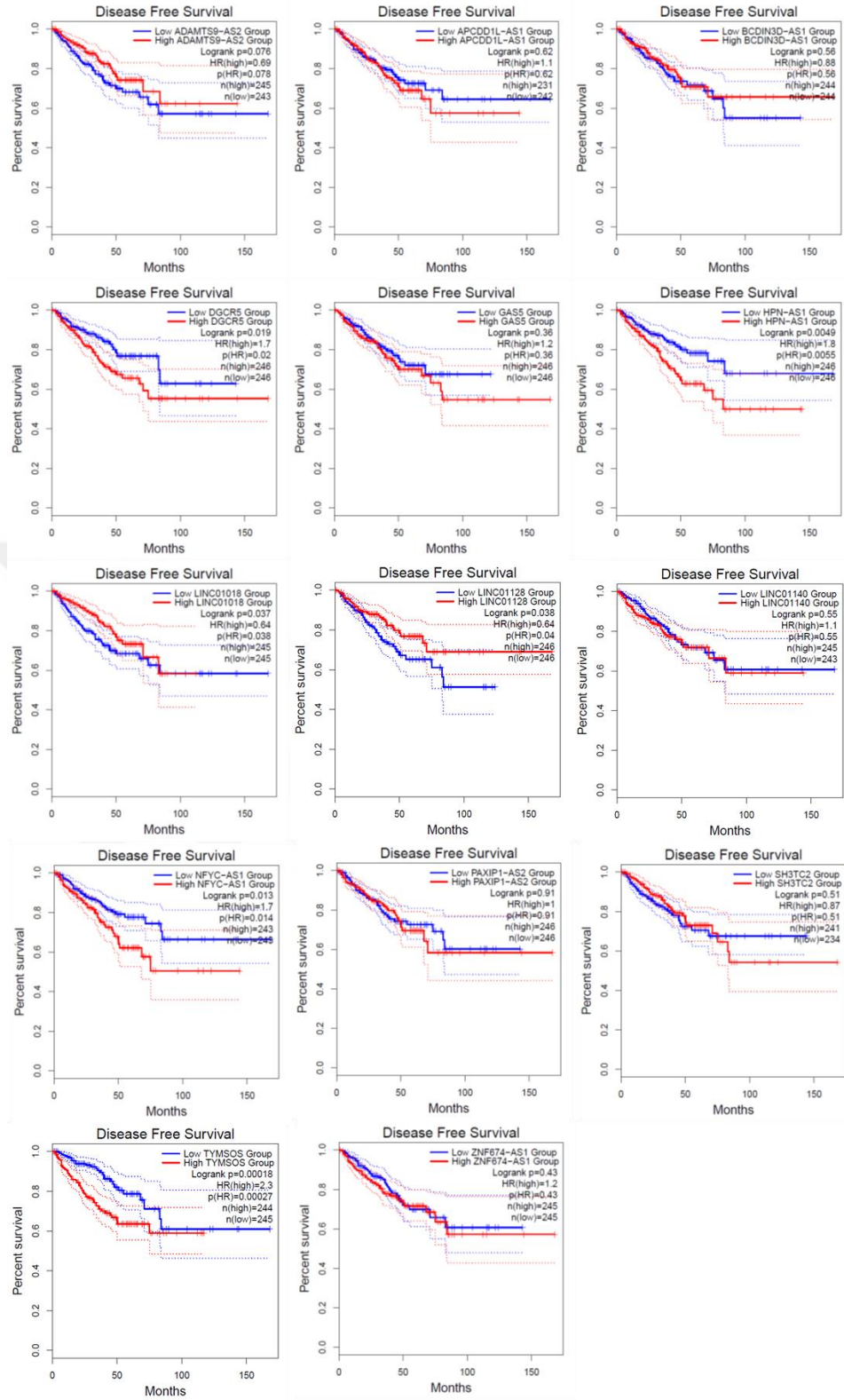
TCGA veri setindeki prostat kanseri olguları medyanlarına göre aday genleri düşük ya da yüksek ifade edilenler olarak iki gruba ayrıldı. Gruplar arasında *FOXO1* ($p = 0.022$), *KPNA2* ($p = 0.00035$), *PPP1R11* ($p = 0.0019$) ve *STMN1* ($p = 0.0065$)'in hastalıksız sağkalım analizleri incelendiğinde anlamlı bir fark saptanmıştır (Grafik 5). Genel sağkalım sonuçları analiz edildiğinde ise gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Grafik 6). lncRNA'ların iki grup arasındaki hastalıksız sağkalım analizleri incelendiğinde *DGCR5* ($p = 0.019$), *HPN-AS1* ($p = 0.0049$), *LINC01018* ($p = 0.037$), *LINC01128* ($p = 0.038$), *NFYC-AS1* ($p = 0.013$) ve *TYMSOS* ($p = 0.00018$)'un anlamlı bir değişim gösterdiği saptanmıştır (Grafik 7). Genel sağkalım sonuçları analiz edildiğinde ise gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Grafik 8).



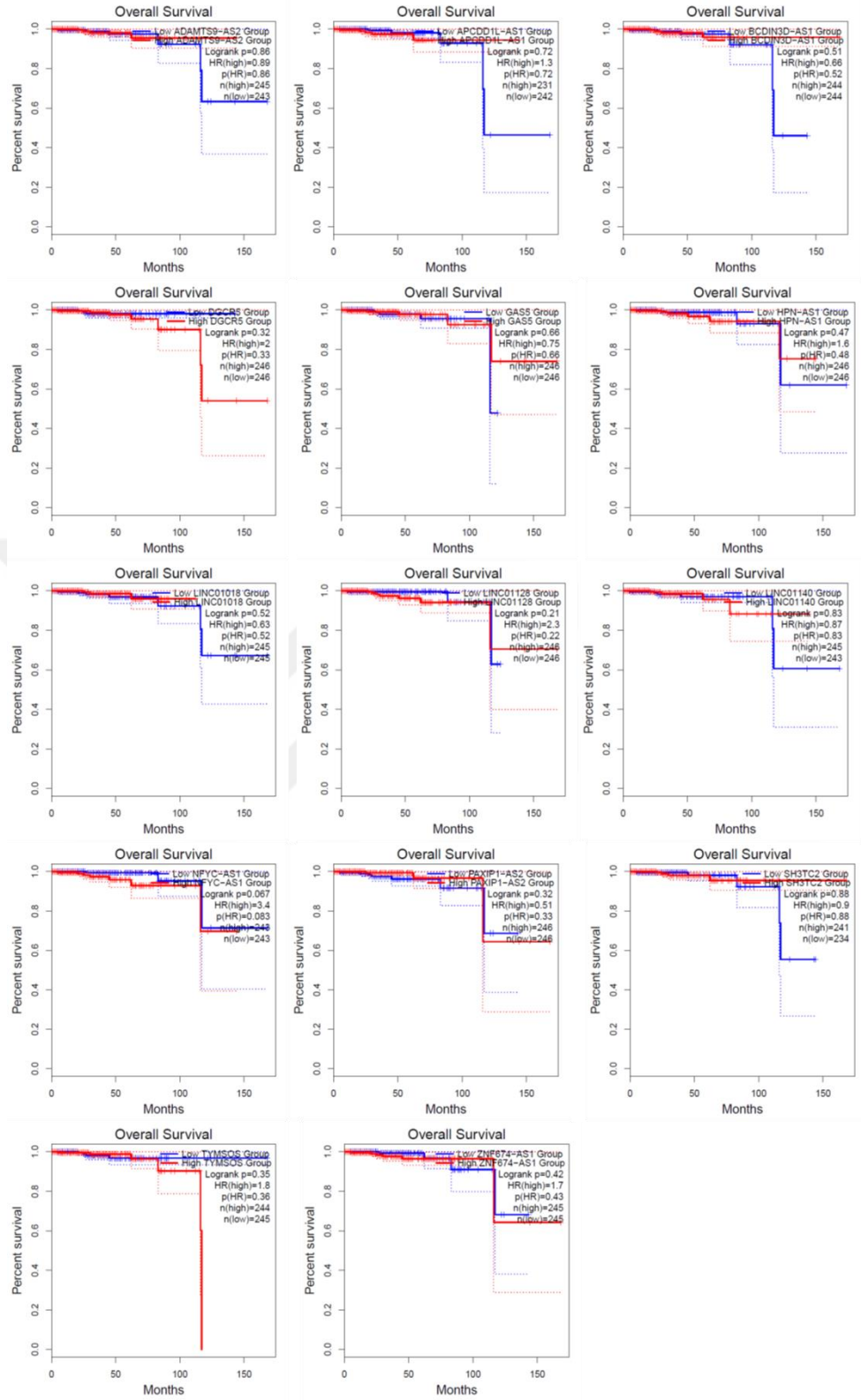
Grafik 5: Aday mRNA' ların hastalıksız sağkalım analiz sonuçları



sGrafik 6: Aday mRNA' ların genel sağkalım analiz sonuçları



Grafik 7: Aday lncRNA'ların hastalıksız sağkalım analiz sonuçları



Grafik 8: Aday lncRNA' ların genel sağkalım analiz sonuçları

4.8. miRNA:lncRNA Hedef Genlerinin Zenginleştirme ve Yolak Analiz Sonuçları

Belirlenen genlerin, hücre içerisinde hangi biyolojik süreç ve sinyal yollarında görev aldıklarını belirlemek için gen ontolojisi ve yolak analizleri gerçekleştirildi. Analizlerde miRNA ve lncRNA' larla etkileşimde oldukları öngörülen mRNA' lar tanımlandı ve ilgili mRNA' ların biyolojik fonksiyonları ve yolak analizleri EnrichR internet yazılımı ile gerçekleştirildi. GO analiz sonuçları biyolojik süreç, hücresel bileşen ve moleküler fonksiyon olmak üzere 3 alt grup altında tanımlandı. Benjamini-Hochberg değeri < 0.05 olacak şekilde tüm alt gruplarda filtreleme yapıldığında biyolojik süreç alt grubunda 104, hücresel bileşen alt grubunda 5 ve moleküler fonksiyon alt grubunda 25 adet terim elde edildi (Tablo 12, 13, 14). Yolak analizinde KEGG veritabanı kullanılarak 24 adet yolak tespit edilmiştir (Tablo 15).

Tablo 12: Biyolojik süreç analizi

* Düzeltilmiş p değeri < 0.05 olan veriler verilmiştir.

Terim	p değeri	Düzeltilmiş p değeri	Gen
positive regulation of transcription DNA-templated (GO:0045893)	2.20E-06	5.58E-04	KDM5A;RARG;PPP1R12A;MITF;RNF4;CLOCK;FOXO1;HIPK2
positive regulation of nucleic acid-templated transcription (GO:1903508)	2.63E-06	5.58E-04	KDM5A;MITF;RNF4;CLOCK;FOXO1;HIPK2
positive regulation of transcription by RNA polymerase II (GO:0045944)	5.06E-06	7.16E-04	RARG;PPP1R12A;MITF;RNF4;CLOCK;FOXO1;HIPK2
regulation of type B pancreatic cell development (GO:2000074)	3.05E-05	0.003230643	CLOCK;FOXO1
positive regulation of protein insertion into mitochondrial membrane involved in apoptotic signaling pathway (GO:1900740)	2.18E-04	0.014491415	BCL2;YWHAG
regulation of protein insertion into mitochondrial membrane involved in apoptotic signaling pathway (GO:1900739)	2.18E-04	0.014491415	BCL2;YWHAG
protein acetylation (GO:0006473)	3.12E-04	0.014491415	CLOCK;FOXO1
transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway (GO:0007169)	3.17E-04	0.014491415	FGF9;STMN1;FOXO1;CDK5R1
positive regulation of mitochondrial outer membrane permeabilization involved in apoptotic signaling pathway (GO:1901030)	3.75E-04	0.014491415	BCL2;YWHAG
negative regulation of stress-activated MAPK cascade (GO:0032873)	4.45E-04	0.014491415	CYLD;FOXO1

Tablo 12 (devamı): Biyolojik süreç analizi

* Düzeltilmiş p değeri < 0.05 olan veriler verilmiştir.

regulation of microtubule cytoskeleton organization (GO:0070507)	4.45E-04	0.014491415	CYLD;STMN1
regulation of apoptotic signaling pathway (GO:2001233)	4.70E-04	0.014491415	CYLD;BCL2
regulation of phosphoprotein phosphatase activity (GO:0043666)	4.70E-04	0.014491415	PPP1R12A;PPP1R11
protein acylation (GO:0043543)	4.95E-04	0.014491415	CLOCK;FOXO1
regulation of microtubule polymerization (GO:0031113)	5.20E-04	0.014491415	STMN1;CDK5R1
regulation of cell development (GO:0060284)	5.47E-04	0.014491415	CLOCK;FOXO1
mitotic cell cycle phase transition (GO:0044772)	6.87E-04	0.017122205	PPP1R12A;CCND2;YWHAG
intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage (GO:0008630)	8.46E-04	0.018273209	BCL2;HIPK2
regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway (GO:2001242)	8.79E-04	0.018273209	CYLD;BCL2
negative regulation of transcription DNA-templated (GO:0045892)	9.09E-04	0.018273209	RARG;MITF;CLOCK;FOXO1;CDK5R1
regulation of autophagy (GO:0010506)	9.18E-04	0.018273209	BCL2;FOXO1;CDK5R1
regulation of cyclin-dependent protein kinase activity (GO:1904029)	9.48E-04	0.018273209	CCND2;CDK5R1
positive regulation of establishment of protein localization to mitochondrion (GO:1903749)	0.00101934	0.018791311	BCL2;YWHAG
positive regulation of apoptotic signaling pathway (GO:2001235)	0.001130831	0.019830341	CYLD;BCL2
peptidyl-threonine phosphorylation (GO:0018107)	0.001169242	0.019830341	HIPK2;CDK5R1
regulation of transcription by RNA polymerase II (GO:0006357)	0.00140392	0.022856213	RARG;PPP1R12A;MITF;RNF4;CLOCK;FOXO1;HIPK2
peptidyl-threonine modification (GO:0018210)	0.001455466	0.022856213	HIPK2;CDK5R1
regulation of transcription DNA-templated (GO:0006355)	0.001554102	0.02353355	KDM5A;MITF;RNF4;CLOCK;FOXO1;HIPK2;CDK5R1
regulation of organelle assembly (GO:1902115)	0.00191655	0.028021279	CYLD;RNF4
regulation of neuron differentiation (GO:0045664)	0.002016063	0.028493684	YWHAG;CDK5R1

Tablo 12 (devamı): Biyolojik süreç analizi

* Düzeltilmiş p değeri < 0.05 olan veriler verilmiştir.

Terim	p değeri	Düzeltilmiş p değeri	Gen
positive regulation of apoptotic process (GO:0043065)	0.002134398	0.028750597	RARG;FOXO1;CDK5R1
regulation of cyclin-dependent protein serine/threonine kinase activity (GO:0000079)	0.002169856	0.028750597	CCND2;CDK5R1
positive regulation of binding (GO:0051099)	0.00260634	0.033487515	STMN1;HIPK2
regulation of apoptotic process (GO:0042981)	0.003039238	0.036621915	RARG;CCND2;BCL2;FOXO1
regulation of neuron apoptotic process (GO:0043523)	0.003080796	0.036621915	BCL2;CDK5R1
ubiquitin-dependent protein catabolic process (GO:0006511)	0.003109408	0.036621915	PPP1R11;RNF4;CLOCK
positive regulation of protein localization to membrane (GO:1905477)	0.003268411	0.036718587	BCL2;YWHAG
intrinsic apoptotic signaling pathway (GO:0097193)	0.003332117	0.036718587	BCL2;HIPK2
regulation of cell population proliferation (GO:0042127)	0.003377417	0.036718587	RARG;CCND2;FGF9;BCL2
regulation of JNK cascade (GO:0046328)	0.003526724	0.037383272	CYLD;HIPK2
negative regulation of programmed cell death (GO:0043069)	0.003824184	0.039110719	CCND2;BCL2;FOXO1
regulation of protein serine/threonine kinase activity (GO:0071900)	0.00393156	0.039110719	CCND2;CDK5R1
response to lipid (GO:0033993)	0.00414174	0.039110719	RARG;FOXO1
negative regulation of histone deacetylation (GO:0031064)	0.004243144	0.039110719	KDM5A
regulation of guanyl-nucleotide exchange factor activity (GO:1905097)	0.004243144	0.039110719	STMN1
PML body organization (GO:0030578)	0.004243144	0.039110719	HIPK2
negative regulation of glucocorticoid receptor signaling pathway (GO:2000323)	0.005089741	0.040592269	CLOCK
regulation of cardiac muscle hypertrophy in response to stress (GO:1903242)	0.005089741	0.040592269	FOXO1
cellular response to cold (GO:0070417)	0.005089741	0.040592269	FOXO1
intracellular pH elevation (GO:0051454)	0.005089741	0.040592269	BCL2
regulation of macromolecule biosynthetic process (GO:0010556)	0.005089741	0.040592269	MITF

Tablo 12 (devamı): Biyolojik süreç analizi

* Düzeltilmiş p değeri < 0.05 olan veriler verilmiştir.

Terim	p değeri	Düzeltilmiş p değeri	Gen
embryonic hindlimb morphogenesis (GO:0035116)	0.005089741	0.040592269	RARG
plasma membrane bounded cell projection organization (GO:0120036)	0.005190174	0.040592269	STMN1;CDK5R1
G2/M transition of mitotic cell cycle (GO:0000086)	0.005348948	0.040592269	PPP1R12A;YWHAG
cell cycle G2/M phase transition (GO:0044839)	0.00542917	0.040592269	PPP1R12A;YWHAG
regulation of intracellular signal transduction (GO:1902531)	0.005608648	0.040592269	CYLD;HIPK2;CDK5R1
hindlimb morphogenesis (GO:0035137)	0.005935662	0.040592269	RARG
negative regulation of p38MAPK cascade (GO:1903753)	0.005935662	0.040592269	CYLD
regulation of glucocorticoid receptor signaling pathway (GO:2000322)	0.005935662	0.040592269	CLOCK
negative regulation of stress-activated protein kinase signaling cascade (GO:0070303)	0.005935662	0.040592269	FOXO1
regulation of histone deacetylase activity (GO:1901725)	0.005935662	0.040592269	KDM5A
regulation of myosin-light-chain-phosphatase activity (GO:0035507)	0.005935662	0.040592269	PPP1R12A
neuron development (GO:0048666)	0.006434962	0.040926594	STMN1;CDK5R1
negative regulation of nucleic acid-templated transcription (GO:1903507)	0.006621782	0.040926594	CLOCK;FOXO1;CDK5R1
regulation of RNA biosynthetic process (GO:2001141)	0.006780906	0.040926594	MITF
histone H3-K4 demethylation (GO:0034720)	0.006780906	0.040926594	KDM5A
negative regulation of vascular associated smooth muscle cell differentiation (GO:1905064)	0.006780906	0.040926594	FGF9
positive regulation of vascular associated smooth muscle cell migration (GO:1904754)	0.006780906	0.040926594	FGF9
positive regulation of intracellular protein transport (GO:0090316)	0.006877312	0.040926594	BCL2;YWHAG
positive regulation of cell population proliferation (GO:0008284)	0.007023139	0.040926594	CCND2;FGF9;BCL2

Tablo 12 (devamı): Biyolojik süreç analizi

* Düzeltilmiş p değeri < 0.05 olan veriler verilmiştir.

Terim	p değeri	Düzeltilmiş p değeri	Gen
negative regulation of apoptotic process (GO:0043066)	0.007481203	0.040926594	CCND2;BCL2;FOXO1
regulation of signal transduction by p53 class mediator (GO:1901796)	0.007613164	0.040926594	HIPK2;CDK5R1
regulation of cell differentiation (GO:0045595)	0.007613164	0.040926594	YWHAG;CDK5R1
peptidyl-serine phosphorylation (GO:0018105)	0.007613164	0.040926594	HIPK2;CDK5R1
regulation of transmembrane transporter activity (GO:0022898)	0.007625474	0.040926594	BCL2
regulation of endothelial cell development (GO:1901550)	0.007625474	0.040926594	PPP1R12A
cellular response to nitric oxide (GO:0071732)	0.007625474	0.040926594	FOXO1
cellular response to reactive nitrogen species (GO:1902170)	0.007625474	0.040926594	FOXO1
protein K6-linked ubiquitination (GO:0085020)	0.007625474	0.040926594	RNF4
retinoic acid receptor signaling pathway (GO:0048384)	0.008469366	0.042750135	RARG
ionotropic glutamate receptor signaling pathway (GO:0035235)	0.008469366	0.042750135	CDK5R1
regulation of hair cycle (GO:0042634)	0.008469366	0.042750135	CLOCK
neuron projection fasciculation (GO:0106030)	0.008469366	0.042750135	CDK5R1
DNA damage response signal transduction by p53 class mediator resulting in transcription of p21 class mediator (GO:0006978)	0.008469366	0.042750135	HIPK2
peptidyl-serine modification (GO:0018209)	0.008881639	0.043390499	HIPK2;CDK5R1
neuron projection development (GO:0031175)	0.00908468	0.043390499	STMN1;CDK5R1
hepatocyte growth factor receptor signaling pathway (GO:0048012)	0.009312583	0.043390499	STMN1
cellular response to increased oxygen levels (GO:0036295)	0.009312583	0.043390499	FOXO1
regulation of mitochondrial depolarization (GO:0051900)	0.009312583	0.043390499	BCL2

Tablo 12 (devamı): Biyolojik süreç analizi

* Düzeltilmiş p değeri < 0.05 olan veriler verilmiştir.

Terim	p değeri	Düzeltilmiş p değeri	Gen
DNA damage response signal transduction resulting in transcription (GO:0042772)	0.009312583	0.043390499	HIPK2
embryonic eye morphogenesis (GO:0048048)	0.009312583	0.043390499	RARG
negative regulation of cardiac muscle hypertrophy (GO:0010614)	0.010155126	0.044297178	FOXO1
regulation of vascular associated smooth muscle cell migration (GO:1904752)	0.010155126	0.044297178	FGF9
axonal fasciculation (GO:0007413)	0.010155126	0.044297178	CDK5R1
negative regulation of microtubule polymerization (GO:0031115)	0.010155126	0.044297178	STMN1
melanocyte differentiation (GO:0030318)	0.010155126	0.044297178	MITF
nuclear body organization (GO:0030575)	0.010155126	0.044297178	HIPK2
negative regulation of cytokine production (GO:0001818)	0.010238499	0.044297178	CYLD;PPP1R11
negative regulation of cellular macromolecule biosynthetic process (GO:2000113)	0.01039564	0.044522743	CLOCK;FOXO1;CDK5R1
negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator (GO:1902166)	0.010996994	0.045712995	BCL2
response to iron ion (GO:0010039)	0.010996994	0.045712995	BCL2
response to nitric oxide (GO:0071731)	0.010996994	0.045712995	FOXO1
regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator (GO:1902165)	0.011838189	0.048731961	BCL2
negative regulation of intracellular signal transduction (GO:1902532)	0.012027065	0.049033419	CYLD;BCL2

Tablo 13: Hücresel bileşen analizi

* Düzeltilmiş p değeri < 0.05 olan veriler verilmiştir.

Terim	p değeri	Düzeltilmiş p değeri	Gen
nucleus (GO:0005634)	3.12E-05	9.04E-04	KDM5A;RARG;CCND2;PPP1R11;BCL2;MITF;RNF4;KPNA2;CLOCK;FOXO1;HIPK2;CDK5R1
intracellular membrane-bounded organelle (GO:0043231)	1.47E-04	0.0021347	KDM5A;RARG;CCND2;PPP1R11;BCL2;MITF;RNF4;KPNA2;CLOCK;FOXO1;HIPK2;CDK5R1
PTW/PP1 phosphatase complex (GO:0072357)	0.0059356	0.0393292	PPP1R12A
chromatoid body (GO:0033391)	0.0067809	0.0393292	CLOCK
protein serine/threonine phosphatase complex (GO:0008287)	0.0067809	0.0393292	PPP1R12A

Tablo 14: Moleküler fonksiyon analizi

* Düzeltilmiş p değeri < 0.05 olan veriler verilmiştir.

Terim	p değeri	Düzeltilmiş p değeri	Gen
DNA binding (GO:0003677)	3.68E-05	0.001857401	KDM5A;RARG;BCL2;RNF4;CLOCK;FOXO1
protein kinase binding (GO:0019901)	4.89E-05	0.001857401	CYLD;PPP1R12A;CCND2;YWHAG;CDK5R1
kinase binding (GO:0019900)	5.22E-04	0.009574921	CYLD;PPP1R12A;CCND2;CDK5R1
E-box binding (GO:0070888)	5.47E-04	0.009574921	MITF;CLOCK
cyclin-dependent protein serine/threonine kinase regulator activity (GO:0016538)	6.30E-04	0.009574921	CCND2;CDK5R1
sequence-specific DNA binding (GO:0043565)	0.002550737	0.028397394	RARG;BCL2;CLOCK;FOXO1
DNA-binding transcription activator activity RNA polymerase II-specific (GO:0001228)	0.002615549	0.028397394	MITF;CLOCK;FOXO1
protein kinase regulator activity (GO:0019887)	0.003080796	0.029267566	CCND2;CDK5R1
protein phosphatase binding (GO:0019903)	0.004803034	0.032235029	PPP1R11;FOXO1
cyclin-dependent protein serine/threonine kinase activator activity (GO:0061575)	0.006780906	0.039319797	CDK5R1
insulin-like growth factor receptor binding (GO:0005159)	0.011838189	0.04474685	YWHAG
DNA-binding transcription factor binding (GO:0140297)	0.013209957	0.04474685	BCL2;HIPK2
nuclear import signal receptor activity (GO:0061608)	0.013518558	0.04474685	KPNA2
RNA polymerase II cis-regulatory region sequence-specific DNA binding (GO:0000978)	0.014130584	0.04474685	RARG;MITF;CLOCK;FOXO1
cis-regulatory region sequence-specific DNA binding (GO:0000987)	0.014130584	0.04474685	RARG;MITF;CLOCK;FOXO1

Tablo 15: Yolak analiz sonuçları

* Düzeltilmiş p değeri < 0.05 olan veriler verilmiştir.

İlgili yolak	p değeri	Düzeltilmiş p değeri	Gen
Pathways in cancer	6.15E-05	0.00491846	CCND2;FGF9;BCL2;MITF;FOXO1
PI3K-Akt signaling pathway	1.91E-04	0.007654397	CCND2;FGF9;BCL2;YWHAG
Cellular senescence	2.92E-04	0.007789406	CCND2;FOXO1;HIPK2
Transcriptional misregulation in cancer	5.36E-04	0.00980591	CCND2;MITF;FOXO1
Focal adhesion	6.13E-04	0.00980591	PPP1R12A;CCND2;BCL2
Chemical carcinogenesis	0.00101236	0.0116496	FGF9;BCL2;KPNA2
Hedgehog signaling pathway	0.00101934	0.0116496	CCND2;BCL2
Melanoma	0.00167838	0.015331535	FGF9;MITF
p53 signaling pathway	0.00172479	0.015331535	CCND2;BCL2
MicroRNAs in cancer	0.00213439	0.017075187	CCND2;STMN1;BCL2
Prostate cancer	0.00301942	0.021300148	BCL2;FOXO1
AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	0.00320528	0.021300148	BCL2;FOXO1
NF-kappa B signaling pathway	0.00346127	0.021300148	CYLD;BCL2
Cell cycle	0.00487933	0.027145852	CCND2;YWHAG
Osteoclast differentiation	0.00511162	0.027145852	CYLD;MITF
FoxO signaling pathway	0.00542917	0.027145852	CCND2;FOXO1
Measles	0.00609089	0.028663037	CCND2;BCL2
Gastric cancer	0.00696740	0.030966261	FGF9;BCL2
Necroptosis	0.00789794	0.031562256	CYLD;BCL2
JAK-STAT signaling pathway	0.00818751	0.031562256	CCND2;BCL2
Hippo signaling pathway	0.00828509	0.031562256	CCND2;YWHAG
Epstein-Barr virus infection	0.01249428	0.043868973	CCND2;BCL2
Viral carcinogenesis	0.01261233	0.043868973	CCND2;YWHAG
Regulation of actin cytoskeleton	0.01444189	0.048139632	PPP1R12A;FGF9

Tartışma

Bilim ve teknolojinin ilerlemesine paralel olarak geliştirilen tanı ve tedavi stratejilerine rağmen PK, dünya çapında erkekler arasında kansere bağlı ölüm nedenlerinin başında gelmeye devam etmektedir. PK' nin çoklu gen hastalığı olduğu ve genetik bileşenleri arasındaki etkileşimin, oluşacak kanser fenotiplerinin çeşitliliğine ve karmaşıklığına katkıda bulunduğu birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir. Bu nedenle, çok değişkenli düzenleyici kalıpların bir ağ biçiminde deşifre edilmesi, kanserin oluşum ve progresyonunun sistematik olarak anlaşılmasına destek sağlayacaktır. Bu yaklaşımla geliştirilen mikrodizin ve yeni nesil dizileme teknolojileri sayesinde, PK' nin gelişimi ve progresyonunun altında yatan genetik değişiklikleri analiz etmek daha kolay olmaktadır. Yüksek verimli dizileme ve transkripsiyonel teknolojinin bu gelişimi, bilgisayar destekli biyobelirteç keşfi için çoklu 'omik' verilerini entegre etmede araştırmacılara büyük kolaylık sunmaktadır. Teknolojik gelişmelere ek olarak, geliştirilen biyoinformatik araçlar aracılığıyla yeni biyobelirteçler saptanabilmekte ve PK' li olguların hastalık süreçlerinin takibi için değerli olabilecek çeşitli genetik ağları oluşturmak mümkün olmaktadır. Bu ağların genomda rol oynadıkları biyolojik fonksiyonlara göre tedavi süreçleri geliştirilebilmektedir. Ancak, analiz için çok sayıda biyoinformatik veri tabanı mevcut olsa da, içerdikleri veriler henüz hastalığın biyolojik mekanizmalarına, tanısına ve tedavisine etkili bir şekilde uygulanamamaktadır. Yüksek verimli teknolojilerin sürekli gelişimi ile çok sayıdaki hastalık için veri tabanı oluşturulmuştur. Miecznikowski, GEO aracılığıyla meme kanseri örneklerinin gen ifade profillerini analiz etmiştir. Cox risk oranı modelinin karşılaştırmalı analizi sayesinde birçok genetik moleküler belirteç bulunmuş ve olguların tedavi sonrası hayatta kalma oranları çeşitli algoritmalar sayesinde tahmini olarak belirlenmiştir (Barrett et al., 2013; Miecznikowski et al., 2010). Goh, insan genleri ve hastalıklarının etkileşim ağını analiz etmek için yüksek çıktılı verileri kullanmış ve hastalık ile ilişkili olabilecek genlerin protein ürünlerinin etkileşim ağında korelasyon eğilimi gösterdiğini saptamıştır (Goh et al., 2004). Bu yeni araştırma yöntemi, araştırmayı artık belirli bir deney ya da deneylerle sınırlamamakla birlikte, heterojenliği azaltmakta, bilimsel araştırma verimliliğini artırmakta, verilerin potansiyel biyolojik önemini ve takip araştırmasının değerini ortaya çıkarmaktadır. En önemlisi olarak da klinik tedavi süreci, uygun tanı ve terapötik hedefler sağlamaktadır.

Etkileşim ağında bulunan mRNA' lar birbirleriyle etkileşim halinde olabildikleri gibi protein kodlamayan RNA' lar ile de etkileşimlerde bulunup, birbirlerinin ifade seviyelerini etkileyebilmektedirler. PK' nin gelişiminde rol oynayan protein kodlamayan RNA' ların önemi her geçen gün daha da artmaktadır. Birçok biyolojik ve patolojik sürecin ana düzenleyicisi olarak bilinen bu RNA grubundaki miRNA' lar, uzun yıllardır tümör oluşumu ve gelişimi üzerine araştırmacıların odak noktasını oluşturmuştur. Yapılan çalışmaların sonuçları doğrultusunda miRNA' ların, PK gibi farklı kanser türlerinde karmaşık bir gen anlatımı ve yolak düzenlenmeye sahip oldukları ve bu yönleriyle prognostik faktör ile terapötik hedefler oluşturdukları ileri sürülmektedir. Hastalıkla ilişkili oldukları öngörülen miRNA' ların PK' nin erken tanısı, moleküler sınıflandırılması, prognostik tahmini ve terapötik etkinliği için kullanılabilmesi mümkündür (Lee & Dutta, 2009). miRNA' lar dışında PK' nin gelişiminde rol oynayan lncRNA' lar da son yıllarda araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir. Özellikle mRNA:miRNA:lncRNA etkileşimleri ile hastalığın gelişiminde rol oynayabilecek çeşitli yolaklar saptanabilmektedir. Birbirleriyle etkileşimde olan RNA molekülleri, ceRNA' lar olarak hareket eden dinamik bir düzenleyici ağ oluşturmak için işbirliği yapmaktadırlar (Salmena et al., 2011). Geçtiğimiz son on yıl içerisinde mRNA' lar, miRNA' lar ve birçok başka protein kodlamayan RNA molekül sınıfı arasında kurulan yeni *cis* ve *trans* düzenleyici etkileşim şekillerinin tanımlanması yoluyla, transkripsiyon sonrası düzenleme düzeyinde daha önce hayal edilmemiş bir karmaşıklık katmanı ortaya çıkarılmıştır. Bu mekanizmaların, işlevsel sonuçları derinden etkileyebilecek yaygın düzenleyici ağları tanımlayıp tanımlamadığı ya da yalnızca çok özel bağlantılarla ilgili olup olmadığı tartışma konusu olmaya devam etmektedir (Salmena et al., 2011).

Tez çalışmasında, biyoinformatik analiz yöntemleri kullanılarak aday gen keşfi için GEO ve TCGA veritabanlarında bulunan miRNA, mRNA ve lncRNA veri setleri analiz edilip aralarındaki etkileşimler saptanmaya çalışılmıştır. Sonuç olarak, hsa-miR-133b, hsa-miR-222-3p ve hsa-miR-182-5p aday miRNA' lar olarak belirlenmiş; bu miRNA' ların hedef mRNA ve lncRNA' ları saptanarak aralarındaki etkileşimler analiz edilmiş ve PK' nin progresyonundaki rolleri araştırılmıştır. ceRNA ağına göre farklı mRNA:miRNA:lncRNA ağları elde edilmiştir. Bu düzenleyici eksenler daha

önceki literatür bilgilerinde yer almamakta; ancak, farklı makalelerde bağımsız olarak karsinogenez sürecinde etkili olabileceklerinden bahsedilmektedir (Tang et al., 2022). hsa-miR-133b' nin insandaki birçok kanser türünde önemli rolleri bulunmaktadır (Li et al., 2017). Mide, mesane, renal hücreli karsinom, özofagus ve dilin skuamöz hücreli karsinomlarında hsa-miR-133b ifadesinin düşük olduğu ve farklı mekanizmalar üzerinden karsinogenez sürecini ilerlettiği bildirilmiştir (Liu et al., 2015; Wong et al., 2008). Bunun aksine, servikal karsinom ve gliomada aynı miRNA' nın yüksek düzeyde ifade edildiği gösterilmiştir (Qin et al., 2012; Xu & Li, 2016). Yapılan bu çalışmalar, hsa-miR-133b ifade seviyesinin pro- ve anti-tümör rollerinin tümör çevre ve tipine bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, Li ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada hsa-miR-133b' nin LNCaP PK hücrelerindeki ifade seviyesinin yüksek olması sonucunda hücre proliferasyonunu, hücre döngüsü ilerlemesini artırdığını ve apoptozu inhibe ettiği gösterilmiştir. PC-3 PK hücre serilerinde ise LNCaP hücrelerinde görülen etkiye zıt bir etki saptanmıştır. Bu durum, miR-133b' nin PK' nin agresif bir modeli olarak bilinen PC-3 hücrelerinde tümör baskılayıcı görev görebileceğini gösterirken, daha az agresif bir modeli olan LNCaP hücrelerinde tümör oluşumunu destekleyici özellikler geliştirebileceğini düşündürmektedir (Li et al., 2014). Ayrıca, yapılan diğer çalışmalarda, hsa-miR-133b' nin PK dokularında aşağı düzenlendiği ve PK gelişiminde tümör baskılayıcı bir miRNA olarak da hareket ettiği gösterilmiştir (Pashaei et al., 2017). Bu çalışmalar, PK' nin metastatik fenotipinde yer alan dokularında hsa-miR-133b' nin aşağı düzenlendiği bulgularını desteklemektedir. Tez çalışması kapsamında kullanılan GEO ve TCGA veri setlerindeki PK hücrelerindeki hsa-miR-133b' nin normal prostat doku hücrelerine göre aşağı düzenlendiği saptanmış olup, literatür ile uyum göstermektedir. Benzer şekilde, tez çalışması kapsamında *CDK5R1* geni, hsa-miR-133b' nin hedefi olarak belirlenmiştir. Sikline bağımlı kinaz 5 (*CDK5*), serin/treonin kinazların sikline bağımlı kinazlar (Cdk5) ailesinin benzersiz bir üyesidir. Bu genin aktif olabilmesi için aktivatörüne bağlanması gerekmektedir. *P35*, sikline bağımlı kinaz 5 düzenleyici alt birim 1 (*CDK5R1*) tarafından kodlanan *CDK5*' in iki aktivatöründen biridir ve bu nedenle *CDK5R1*, *CDK5*' in uygun şekilde aktive edilmesinde önemli bir role sahiptir (Moncini et al., 2011). *CDK5* sadece sinir sisteminin fizyolojik ve patolojik süreçlerinde önemli bir düzenleyici rol oynamakla kalmaz, aynı zamanda hücre apoptozu ve yaşlanmasını da düzenler ve çeşitli tümörlerin gelişiminde görev alır

(Contreras-Vallejos et al., 2012). Daha önce yapılan çalışmalarda, aşırı ifade edilen *CDK5* ve *CDK5R1*' in (*P35*) akciğer ve pankreas kanseri progresyonunu ve metastazını artırabileceği bildirilmiştir (Demelash et al., 2012; Feldmann et al., 2010). Bununla birlikte, *CDK5*' in silinmesi (*knockout*) hepatoselüler karsinoma (HCC) hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ve apoptozunu teşvik etmiştir (R. Zhang et al., 2017). Medüller tiroid karsinomunda, *CDK5*, *p35* ve *p25* yüksek oranda ifade edilmekte ve *CDK5* aşağı akış hedefi olan Retinoblastoma (*Rb*) genini aşağı doğru düzenleyerek tümör oluşumunu ve tümör progresyonunu desteklemektedir (Pozo et al., 2013). Yapılan araştırmalara göre PK' de *CDK5R1* düzeyi metastatik dokularda oldukça yüksek saptanmıştır. PK hücrelerinde *Cdk5*, *AR*' den bağımsız bir şekilde hücre büyümesini artırmakta, PK progresyonu ile ilişkili olduğu bilinen ve PK hücrelerinde büyümeyi teşvik eden kritik bir yol olarak kabul edilen yüksek AKT kinaz aktivitesini korumaktadır (Pozo et al., 2013). *Cdk5*' in *STAT3* ve *AR* sinyal yolağı ile PK progresyonuna aracılık ettiğine dair çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır (Hsu et al., 2013). Bu bulgular, kanser hücrelerinde yaygın bir şekilde artan *CDK5R1* ifadesinin ortak bir özellik olduğunu ve kanser olgularının prognozu için uygun bir biyobelirteç oluşturabileceğini düşündürmektedir. *CDK5R1*' in ilaç direnci ve duyarlılığı ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir. *CDK5*' in inhibisyonu, HCC hücrelerinin DNA' ya zarar veren ajanlara duyarlılığını artırabilmekte ve ilerlemiş HCC' li olguların Sorafenib' e yanıt vermesini geliştirebilmektedir (Ardelt et al., 2019). *CDK5R1* ifadesinin, Alisertib, AMG-319, Siklofosamid, Luminespib ve Oxaliplatin' e karşı gelişen ilaç direnciyle güçlü bir şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, yapılan araştırmalara göre *CDK5R1* aktivitesi ve ifadesi, yumurtalık kanserindeki Paklitaksel duyarlılığı ile bağlantılı olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, Gemcitabine' e aşırı derecede duyarlı olan akciğer kanseri hücrelerinin *CDK5R1*' i yüksek seviyelerde ifade ettikleri gösterilmiştir. Bu bulgular, *CDK5R1* ifade seviyesinin, uygun kemoterapötik ilaç seçimi için aday bir biyobelirteç oluşturabileceğini göstermektedir. *Cdk5*' in inhibisyonu, kanser hücrelerinde kanser proliferasyonunu ve metastazını etkili bir şekilde baskılayabilmektedir. Bu şekilde kemoterapötiklerin hücre öldürme etkisini sinerji haline getirip, yan etkilerini azaltarak kemoterapötiklerin klinik uygulamalarda kullanımı için daha iyi bir strateji sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular, hsa-miR-133b ve *CDK5R1* arasındaki ceRNA etkileşiminin PK' de önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

CDK5R1, miR-133b tarafından hedef alınarak negatif olarak düzenlenebilir ve ceRNA rekabeti yoluyla diğer hedeflere bağlanan miR-133b' nin aktivitesini etkileyebilir.

Çalışmamız kapsamında yapılan analizler sonrasında hsa-miR-133b' nin hedef aldığı düşünülen lncRNA ise *HPN-AS1*' dir. PK' de *HPN-AS1*' in hastalıksız sağkalım zamanı ile anlamlı korelasyon gösterdiğinden iyi bir biyobelirteç olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca, ilgili lncRNA' nın androjene duyarlı bir RNA olduğu da bildirilmiştir (Wang et al., 2020). Dolayısıyla, bu RNA' nın ileride PK tanısında kullanılabilecek aday bir lncRNA olabileceği düşünülmektedir. Yapılan transkriptomik analiz çalışmaları sonrasında bu genin tümör hücrelerinde sağlıklı hücrelere göre yukarı düzenlendiği saptanmıştır (Nikas et al., 2020). hsa-miR-133b' nin literatür ile uyumlu şekilde aşağı düzenlendiği, *CDK5R1* ve *HPN-AS1*' in ise birbirleriyle korele bir şekilde yukarı düzenlendiği saptanmıştır. Bununla birlikte, her iki RNA' nın da AR ile anlamlı bir şekilde pozitif korelasyon gösterdiği, *HPN-AS1*' in hastalıksız sağkalım analizinin anlamlı olduğu saptanmıştır. Daha önceki çalışmalar da gözönüne alındığında belirtilen miRNA, mRNA ve lncRNA' nın karsinogenez sürecinde her birinin bağımsız olarak etkili olduğu saptanmıştır. *CDK5R1* ve *HPN-AS1*' in PK' de yüksek ifade edilmesi ve hsa-miR-133b' nin düşük ifade seviyelerine sahip olması PK tanı, tedavi ve prognozunu etkileyebilecek önemli bir bağlantıya işaret etmektedir. *CDK5R1*' in artmış ifadesi, PK hücrelerinde hücre döngüsünün ilerlemesi ve tümör büyümesi gibi önemli süreçlerde rol oynayan bir genin aktifliğini gösterebilir. Bu durumda, hsa-miR-133b' nin düşük ifade seviyeleri, *CDK5R1* geninin düzenlenmesindeki inhibisyonunu azaltabilir ve PK' de hücre proliferasyonunu ve tümör büyümesini destekleyebilir. *HPN-AS1*' in yüksek ifade seviyeleriyle birlikte miR-133b' nin düşük ifade seviyeleri, PK' nin agresif bir fenotipi ve kötü prognozu ile ilişkili olabilir. Bu bulgular, hsa-miR-133b' nin potansiyel bir tümör baskılayıcı gen görevi aldığını, *CDK5R1* ve *HPN-AS1* ile etkileşerek PK' nin biyolojik davranışını etkileyebileceğini düşündürmektedir. *CDK5R1* ve *HPN-AS1*, miR-133b' nin hedeflerinden biri olabilir ve miR-133b' nin aktivitesini inhibe ederek PK' nin progresyonunu teşvik edebilir. PK' nin progresyonunda *CDK5R1*:hsa-miR-133b:*HPN-AS1* ekseninin etkili olabileceğiyle ilgili literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu etkileşim yolağının birlikte çalışılması ve fonksiyonel

analizlerinin yapılması ile karsinogenez süreci ve kemoterapötik ajanların direnç ve duyarlı olma durumları hakkında daha fazla bilgi edinilebilecektir.

Çalışma kapsamında biyoinformatik analizler sonrasında elde edilen aday miRNA' lardan diğeri ise hsa-miR-222-3p' dir. miR-221/222 ailesinin bir üyesi olan miR-222, insan genomunda X kromozomunun p11.3 bölgesine lokalize olmaktadır. Olgun miR-222 dizileri, sırasıyla -5p ve -3p olarak da bilinen, 5' ve 3' kolu olarak adlandırılan farklı kollara sahiptir (Zhao et al., 2015). miR-222-3p ifadesinin değişimleri PK, melanom, papiller tiroid karsinomu ve mide kanseri gibi birçok insan tümör çeşidinde tümör tipi, tümör derecesi ve lenf nodu metastazının potansiyel bir belirleyicisi olabileceğini düşündürmektedir. Tek olarak veya diğeri miRNA' larla birlikte etkileşim göstererek kanserin erken tanısı için aday bir biyobelirteç olduğu düşünülmektedir (D. Wang et al., 2021). Tez çalışması kapsamında hsa-miR-222-3p' nin hedefi olabilecek mRNA' lar *YWHAG*, *RNF4*, *KPNA2*, *HIPK2* ve *STMN1* olarak saptanmıştır. *YWHAG*, memelilerde yedi 14-3-3 ailesi izoformundan biri olan 14-3-3γ' dir. 14-3-3 proteinleri hücre döngüsü düzenlemesi, protein trafiği, hücre sağkalımı ve apoptoz dahil olmak üzere bir dizi hücresel süreçte yer alan düzenleyici moleküllerdir. 14-3-3 proteinleri, transkripsiyon faktörleri ve sinyal molekülleri dahil olmak üzere geniş bir protein yelpazesi ile etkileşime girerek etkiledikleri proteinin stabilitesini, aktivitesini ve hücre içi lokalizasyonunu etkilemektedir (Freeman & Morrison, 2011). *YWHAG* ın özellikle kanser gibi çeşitli biyolojik süreçlerde görev aldığı rapor edilmiştir. *YWHAG* da dahil olmak üzere 14-3-3 izoformlarının her biri Snail' e bağlanabilmekte ve bu etkileşim Snail aktivitesini düzenleyerek sonuç olarak EMT' yi etkileyebilmektedir. miR-181b-3p/*YWHAG* ekseninin Snail aracılı EMT' nin artışı için yeni bir yolak olduğunu ve EMT' yi artıran miRNA' nın miR-181b-3p' nin metastatik kanserlerde potansiyel bir terapötik hedef olabileceği gösterilmiştir (Yoo et al., 2016). Cilt kanseri örnekleri ile yapılan başka bir çalışmada, *YWHAG* geninin *CDC25A* ile etkileşimi bildirilmiştir (Holmes et al., 2020). *YWHAG* geninin meme kanserinde hücre motilitesi üzerine etkilerinin olduğu, bu genin inhibisyonu ile de meme kanserinin tedavisi için yeni bir terapötik hedef olarak rol alabileceği rapor edilmiştir (Hiraoka et al., 2019). Qi ve ark, *YWHAG* geninin hücre döngüsü ilerlemesinin düzenlenmesinde önemli bir göreve sahip olduğunu, bu genin aşırı ifade edilmesi ile H322 akciğer kanseri hücrelerinde poliploidilere neden olduğunu göstermişlerdir. *YWHAG* geninin akciğer

kanseri hücrelerinde yukarı düzenlendiği, dolayısıyla bir onkogen olarak işlev görebildiği saptanmıştır (Qi et al., 2007). Biyoinformatik analiz sonuçlarımız doğrultusunda, bu genin AR ile yüksek seviyede pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu yüzden YWHAG geninin ileride *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarının yapılması hedeflerimiz arasında yer almaktadır. Ayrıca, analizlerimiz sonrasında bu gen ile etkileşim halinde olduğu saptanan hsa-miR-222-3p, ZNF674-AS1, DGCR5 ve NFYC-AS1 RNA' larının da birlikte araştırılması ile PK' nin gelişim basamakları ile yeni bulguların elde edileceğine inanmaktayız.

Ring finger protein 4 (RNF4) Sumo-hedefli E3 ligaz olarak bilinmektedir. RNF4' ün, transkripsiyonel aktivitesi için nükleozomlarla etkileşime girdiği bilinmektedir. Çoğu durumda RNF4 ile Sumo bağımlı poliubikitinasyon proteozom aracılı protein degradasyonu ile sonuçlanmaktadır. RNF4 ve ortologları, embriyonik gelişim ve farklılaşma için gerekli olup, gen ifadesi ve epigenetik mekanizmalarda da görev almaktadırlar (Thomas et al., 2016). RNF4, AR' nin bir ko-aktivatörü olarak da görev yapmaktadır. Notch, Wnt ve NF-κB sinyal yollarının transkripsiyonel aktivasyonunu arttırmaktadır (Abu Ahmad et al., 2021). RNF4' ün ifadesi, kanser hücrelerinin çevresindeki ortamı değiştirerek tümör hücresi sağkalımına yardımcı olmaktadır. Bu genin susturulması, HCC' de p62' nin nükleer hedeflemesini indüklemektedir. Bununla birlikte, hücre büyümesinin durmasına, DNA hasarına ve DNA hasarı oluşturan reaktiflere karşı duyarlılığı arttırmada etkili olduğu bildirilmiştir (Yang et al., 2012). Yapılan başka bir çalışmada ise, HCC' li olguların dokularında yüksek RNF4 ifade seviyesinin daha düşük bir genel sağkalım oranı ile korele olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, HCC' de RNF4' ün önemli onkogenik rolünü kuvvetle desteklemektedir (Lv et al., 2022). Yapılan literatür taraması sonrasında, ilgili RNA' nın PK örneklerinde yapılan bir çalışmasına rastlanmamıştır. Biyoinformatik analiz sonuçlarımız doğrultusunda, bu genin AR ile yüksek seviyede pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu yüzden RNF4' ün ileride *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarının yapılması hedeflerimiz arasında yer almaktadır. Ayrıca, analizlerimiz sonrasında bu gen ile etkileşim halinde olduğu saptanan hsa-miR-222-3p, ZNF674-AS1 ve NFYC-AS1 RNA' larının da birlikte araştırılması ile PK' nin gelişim basamakları ile yeni bulguların elde edileceğine inanmaktayız.

Nükleer bir protein olan *KPNA2*'nin yukarı düzenlenmesi, prostat kanserli olgularda radikal prostatektomi sonrası gözlenen moleküler değişikliklerden biridir. *KPNA2*, çözünür nükleer transport proteinlerinin karyoferin ailesine üyedir. Kargo proteinlerinin ve belirli RNA'ların hücre çekirdeğinin içine ve dışına taşınmasında rol oynar. *KPNA2* geninin meme kanserinde sağkalımla ilişkili olduğu saptanmıştır (Wang et al., 2019). Biyoinformatik analiz sonuçlarımız doğrultusunda *KPNA2*'nin AR ile yüksek seviyede pozitif korelasyon gösterdiği, gen ifadesi yüksek ve düşük hastalık gruplarında hastalıklı sağkalım ile anlamlı bir değişim gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte hsa-miR-222-3p, *TYMSOS* ve *ZNF674-AS1* ile etkileşim halinde olduğu da saptanmıştır. Literatür taraması sonrasında PK' de bu RNA'lar ile birlikte araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

HIPK2, homeodomain içeren transkripsiyon faktörlerinin transkripsiyonunu baskılayan bir nükleer serin/treonin kinazdır. Bu genin çeşitli tümörlerde farklı ifade seviyelerine sahip olduğu rapor edilmiştir. Genin ifade seviyesi, tümör bölgesine ve histolojik tipe bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. HCC (Chen et al., 2020), özofagus skuamöz hücreli karsinom (Z. Zhang et al., 2018) ve pankreas kanserinde (Qin et al., 2019) normal dokularla karşılaştırıldığında tümör hücrelerinde aşağı düzenlendiği saptanmıştır. Bu tümörlerde, *HIPK2*'nin aşağı düzenlenmesi, kötü prognoz, artan migrasyon, tümör büyümesi ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir (Chen et al., 2020). Buna karşılık, bademcik skuamöz hücreli karsinom (Kwon et al., 2017) ve rahim ağzı kanserinde (Cheng et al., 2012) *HIPK2* ifadesinin yukarı düzenlendiği saptanmış olup, bu durum daha kısa genel sağkalım ve hastalıklı sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, pankreas kanserinde *HIPK2*'nin aşağı düzenlenmesi, p53 ile ilişkili tümör baskılayıcıların aşağı düzenlenmesine yol açarak tümör oluşumuna ve kötü prognoza neden olmaktadır. miR-4653-3p' nin, *HIPK2* ifadesini kısmen inhibe ederek, pankreas kanserinin agresifliğini ve invazivliğini artırabileceği de rapor edilmiştir. Prostat hücreleriyle yapılan çalışmalarda *HIPK2*'nin DNA onarım sinyal yollarının aktivasyonunu düzenlediği bildirilmiştir (Akaike et al., 2015). Daha önce yapılan çalışmalar, *HIPK2* ubiquitinasyonunun inhibe edilmesi sonrasında dayanıklı hale geldiğini ve letal DNA hasarı üzerine p53'e bağlı apoptozu tetiklediğini göstermiştir (Winter et al., 2008). AR fonksiyonunun *HIPK2* modülasyonunun mekanizması hala anlaşılamamıştır. *HIPK2*, AR üzerinde dokuz

potansiyel *HIPK2* fosforilasyon bölgesi bulunduğundan, işlevini düzenlemek için *AR*'yi fosforile edebilmektedir. *HIPK2*, Ep300 ile birleşerek *AR* hedef genlerinin transkripsiyonunu düzenleyebilen HAT'ı aktive etmektedir (Aikawa et al., 2006). *HIPK2*'nin, PK gelişimi ile ilişkili olduğu bilinen *AR* ile etkileşim halinde olması PK'deki önemini vurgulamaktadır. Bulgularımızda da belirttiğimiz gibi bu gen *AR* ile yüksek bir korelasyon oranına sahip olup, aday genlerden biri olarak saptanmıştır. Bu gen ile etkileşimde olduğunu düşündüğümüz hsa-miR-222-3p, *GAS5* ve *ZNF674-AS1*'in *in vitro* koşullarda fonksiyonel analizlerinin yapılması gerekmektedir.

STHMN1, çeşitli kanser türlerinin metastatik evrelerinde yer alan önemli bir sitozolik fosfoprotein ve mikrotübül depolimerize edici moleküldür; ancak, düzenleme mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. *STHMN1*'in aktivitesi, bir mikrotübül ağının korunmasını gerektiren PI3K tarafından kontrol edilmektedir. *STHMN1*'in fosforilasyonuna, sikline bağımlı kinaz komplekslerinin bir inhibitörü olan p27 de dahil olmak üzere, bir dizi protein kinaz aracılık etmektedir. PI3K/Akt aktivitesinin yokluğunda, ortamdaki mikrotübüller aşamalı olarak parçalanır ve hücreler kemotaktik gradyanı takip etme yeteneklerini kaybederler. *STHMN1* ve p27 arasındaki ilişki önceki çalışmalarda tanımlanmıştır (Watanabe et al., 2014). Araştırmacılar, *STHMN1*'in p27 ye bağlandığını ve güçlü *STHMN1* ifadesi ve zayıf p27 ifadesi olan hücrelerin, tümör dokusunda artan proliferasyon ve invazyon kapasitesi gösterdiğini bildirmişlerdir. Bazı çalışmalarda *STHMN1*'in Ras-mitojenle aktive olan protein kinaz ve Hedgehog sinyal yolağı tarafından aktive edildiği de gösterilmiştir (Baldassarre et al., 2005). Düşük doz anti-Sthmn1 tedavisi ve Taksan ile yapılan tedavinin, bir meme kanseri ksenograftında tümör invazyonunu durdurduğu gösterilmiştir (Miceli et al., 2013). Hücre proliferasyonu, farklılaşması, hareketliliği, klonojenitesi ve sağkalımı dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçlerde görevleri bulunan Sthmn1 proteini PK ile de bağlantılıdır. PK ile yapılan bir çalışmaya göre PK dokularının kanserli olmayan prostat dokularına göre sıklıkla *STHMN1* mRNA ve proteini yüksek seviyelerde ifade ettiği doğrulanmıştır. Bir tümör baskılayıcı miRNA olan miR-34a, doğrudan *STHMN1*'i hedefleyerek PK hücrelerini inhibe etmiştir (Chakravarthi et al., 2018). Biyoinformatik analiz sonuçlarımız doğrultusunda bu genin *AR* ile yüksek seviyede pozitif korelasyon gösterdiği; hsa-miR-222-3p, *TYMSOS*, *DGCR5*, *NFYC-AS1*, *ZNF674-AS1* ve *GAS5* lncRNA'ları ile etkileşim halinde oldukları saptanmıştır. İlgili

RNA' ların birbirleri ve AR ile olan etkileşimlerinin *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarının yapılması ile PK' nin gelişiminde yeni bulgular elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

Tez çalışma kapsamında hsa-miR-222-3p' nin hedefi olabilecek lncRNA' lar ise *ZNF674-AS1*, *DGCR5*, *NFYC-AS1*, *TYMSOS* ve *GAS5* olarak saptanmıştır. Xp11.23' te lokalize olan *ZNF674* antisense RNA 1 (*ZNF674-AS1*) mikrodizin analizleri sonrasında tanımlanan yeni bir lncRNA' dır. Zhu ve ark. *ZNF674-AS1*' in 19 çift HCC dokusunda normal dokulara göre yukarı düzenlendiğini saptamışlardır (J. Zhu et al., 2014). Bununla birlikte, HCC' li olgulardan alınan 137 kanser dokusunda *ZNF674-AS1* ifade seviyelerinin normal dokulara göre önemli ölçüde düşük olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda HCCLM3, SK-Hep1, HuH7, Hep3B, ve MHCC97H hepatoselüler kanser hücrelerinde *ZNF674-AS1* ifadesinin QSG-7701 normal karaciğer hücre serisine göre anlamlı bir şekilde düşük seviyede olduğu saptanmıştır. Çalışmalar arasındaki tutarsız sonuçlar, analizleri yapılan örnek sayıları ile ilişkili olabilmektedir. Aynı araştırmacılar, HCC' nin tanı ve prognozunda *ZNF674-AS1*' in klinik açıdan önemlerini incelediklerinde anlamlı sonuçlar elde etmişlerdir. *ZNF674-AS1*' in düşük seviyedeki ifade değişiminin klinik evre, histopatolojik derecelendirme ve kanserin distal metastazı ile önemli ölçüde ilişkili olduğu gösterilmiştir. Kaplan-Meier analizi ile düşük *ZNF674-AS1* ifade seviyelerine sahip olguların, yüksek seviyelere sahip olanlardan daha kısa sağkalım sürelerine sahip oldukları gösterilmiştir (Zhang et al., 2016). Oxaliplatine dirençli gastrik kanser örneklerinde, duyarlı olanlara göre, önemli ölçüde daha düşük *ZNF674-AS1* ifade seviyesi saptanmıştır. 70 gastrik kanser olgusunun sağkalım oranları analiz edildiğinde, daha düşük bir *ZNF674-AS1* ifadesi olan olguların daha kötü bir sonuç sergiledikleri görülmüştür. Bu veriler, *ZNF674-AS1*' in gastrik kanserde ifade inhibisyonunun, mekanik olarak Oxaliplatin direnci ve daha kötü klinik sonuçlarla ilişkili olabileceğini öne sürmektedir (Ye & Wang, 2022). Wang ve ark *ZNF674-AS1* ifadesinin NSCLC dokularında ve hücre hatlarında önemli ölçüde azaldığını saptamışlar ve yapmış oldukları *in vitro* deneyler sonrasında *ZNF674-AS1*' in NSCLC hücrelerinin göçünü ve invazyonunu engelleyebileceğini göstermişlerdir. Çalışmada *ZNF674-AS1*' in hedefi olarak tanımlanan miR-23a ile etkileşim halinde olduğu ve ilgili miRNA' nın yukarı düzenlendiği gösterilmiştir. Sonuç olarak, miR-23a *ZNF674-AS1*' in etkilerini inhibe etmekte, hücre göçünü ve invazyonunu artırmaktadır (J. Wang et al., 2021). Önceki

çalışmalar, *ZNF674-AS1*' in miR-423-3p' yi antagonize ederek p21 ifadesini indükleyebileceğini de göstermiştir. Önemli bir hücre döngüsü düzenleyicisi olarak p21, tümör büyümesini engellemek için G0/G1 NSCLC hücrelerinin hücre döngüsü durmasını indüklemektedir (Liu et al., 2021). Le ve ark. nın yapmış oldukları çalışmada lncRNA *ZNF674-AS1*' in yüksek ifade seviyesi tiroid kanseri hücrelerinde metastaz ve EMT' yi baskıladığı saptanmıştır. Bu baskılama *ZNF674-AS1*' in miR-181a' yı bağlayarak *SOCS4* gen ifadesinin artırması ile gerçekleştiğinden, ilgili lncRNA' nın ceRNA ve tümör baskılayıcı olarak fonksiyon gördüğü de düşünülmektedir (Le et al., 2022). Yapılan literatür araştırmasında, PK örneklerinde *RNF4* ve *ZNF674-AS1* ile ilişkili olarak yapılmış herhangi bir fonksiyonel çalışmanın bulunmadığı görülmüştür. Biyoinformatik analizler sonrasında bu mRNA ve lncRNA' nın hsa-miR-222-5p ile negatif korelasyonu ve hedefi olabileceği gösterilmiştir. Aynı zamanda, mRNA ve lncRNA pozitif korelasyon göstermektedir. Dolayısıyla, *RNF4*:hsa-miR-222-5p:*ZNF674-AS1* PK' nin gelişiminde ve ilaç direncinin belirlenmesinde önemli belirteçleri olabilir. Bununla birlikte, bu lncRNA' nın AR ile pozitif korelasyon gösterdiği yapmış olduğumuz biyoinformatik analizlerle desteklenmiştir. İleride yapılması planlanan fonksiyonel analizlerle ilgili etkileşimin önemi ve PK tanı, tedavi ile prognozunda kullanılabilirliğinin ortaya çıkarılması hedeflenmektedir.

DGCR5, farklı kanser türlerinde tanımlanmış yeni bir lncRNA' dır. *DGCR5*' in akciğer kanserinde onkogen, karaciğer kanserinde tümör baskılayıcı bir gen olduğu saptanmıştır. Mevcut verilerin çoğunluğu, *DGCR5*' in akciğer kanseri, hepatoselüler karsinom, rahim ağzı kanseri, laringeal kanser, yumurtalık kanseri, mesane kanseri, kolorektal kanser, glioma, pankreas kanseri, tiroid karsinomu ve PK dahil olmak üzere birçok malignitede aşağı düzenlendiğini göstermektedir (Dong et al., 2018; Huang et al., 2016). Bu kanser türlerinde, aşağı düzenlenmiş *DGCR5*, büyük tümör boyutu, ileri klinik evre, daha fazla metastaz ve kısa genel sağkalım süresi ile ilişkilidir. Bu nedenle, *DGCR5* güçlü bir prognostik biyobelirteç olarak görev yapmaktadır. Bunun aksine, *DGCR5* üçlü negatif meme kanseri, safra kesesi kanseri ve akciğer kanserinde yüksek oranda ifade edilmektedir. Bu üç kanser türünde, *DGCR5* ifade seviyesinin azaltılması, tümör hücresi çoğalmasını, invazyonunu ve göçünü önleyebilir, apoptozu kolaylaştırabilir ve olumlu prognoza katkıda bulunabilir. PK dokularında, kanser

olmayan dokulara göre, *DGCR5*' in önemli ölçüde aşağı düzenlendiği gösterilmiştir. Farklı klinik evrelere sahip olgular arasında PK dokularındaki *DGCR5* karşılaştırma analizleri yapıldıktan sonra, klinik evreler arasında ifadesinde anlamlı bir fark saptanmamıştır. Takibi tamamlanan 57 olgunun, Youden indeksine göre PK dokularındaki *DGCR5* ifadesinin verileri kullanılarak yüksek ve düşük *DGCR5* ifadesine sahip gruplar oluşturulmuştur. Sağkalım eğrilerini çizmek ve karşılaştırmak için sırasıyla K-M yöntemi ve log-rank t-testi kullanılmıştır. Düşük *DGCR5* gruplarındaki olguların 5 yıllık genel sağkalım oranının önemli ölçüde daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, *DGCR5* farklı kanser türlerinde farklı roller oynayabilmektedir. Bu farklılıklar, esas olarak genetik mutasyonun neden olduğu kanserin önemli bir özelliği olan tümör dokusu heterojenliğinden kaynaklanıyor olabilir. Artan genetik mutasyonlar, tümör hücresi içindeki genotip ve fenotipi değiştirebilir; böylece, kanser hücrelerindeki genomik kararsızlığa katkıda bulunabilir. *DGCR5*, bir ceRNA olarak da görev alabilmektedir. Örneğin, akciğer kanserinde, *DGCR5*' in gen ifadesini doğrudan düzenlemek için hedef mRNA' dan bazı miRNA' ları süngerleyebileceği bildirilmektedir (Dong et al., 2018; Kang et al., 2019; R. Wang et al., 2018). Pankreas kanserinde *DGCR5*, miR-27a-3p' yi geride bırakarak p38 MAPK sinyal yolağını aktive eden Bcl-2/adenovirüs E1B-19kDa-etkileşimli protein 3' ün ifadesini artırarak bir tümör baskılayıcısı gen olarak işlev görmektedir (Li et al., 2020). Tang ve ark. *DGCR5*' in, laringeal karsinom hücrelerinde Wnt sinyal yolağının aktivasyonu ile miR-506' yı süngerleyerek CSC benzeri özellikleri indüklediğini bildirmişlerdir (Tang & Shan, 2019). Wang ve ark. *DGCR5*' in miR-346' yı süngerleyerek HCC' nin progresyonunu engelleyebildiğini saptamışlardır (Y. G. Wang et al., 2018). Mide kanserinde *DGCR5*, miR-23b' ye bağlanarak *PTEN* ve *BTG1* ifadesini düzenleyerek tümör baskılayıcı bir lncRNA görevi görmektedir (Xu et al., 2019). *DGCR5*, sitoplazmada protein seviyesini düzenlemek için sadece ceRNA olarak işlev görmez, aynı zamanda kromatin yeniden düzenleme proteinini de etkileyebilmektedir. Mesane kanserinde *DGCR5*, p21 promotörü üzerinde zenginleştirilmiş bir kromatin yeniden düzenleme proteini olan AT açısından zengin etkileşim alanı 1A (*ARID1A*) ile etkileşime girmektedir. Bu etkileşim, p21 ifadesinin artmasına ve Siklin D1 ifadesinin azalmasına yol açmaktadır. p21 ve *ARID1A*' nın anormal ifadesi, hücre döngüsü ilerlemesini inhibe ederek, anormal hücre çoğalmasına ve indüklenmiş apoptoza yol açmaktadır (Fang et al., 2019). Bununla birlikte, *DGCR5*'

in yüksek seviyelerdeki ifade değişimi, N-kaderinin aşağı düzenlenmesi ve E-kaderinin yukarı düzenlenmesi ile EMT' yi inhibe ederek hücre invazyonunu ve göçünü kısıtlamaktadır. Böylece, *DGCR5* tümörün progresyonunu engellemek için *p21* ifadesini transkripsiyonel olarak indüklemektedir (Fang et al., 2019). Yaptığımız analizler sonrasında *DGCR5*' in *AR* ile pozitif korelasyon gösterdiği, yüksek ve düşük ifade seviyelerine sahip olgular arasındaki hastalıksız sağkalımda da anlamlı olduğu saptanmıştır. İleride yapılacak fonksiyonel analizler sonrasında bu lncRNA' nın etkileşimde olduğu ve çalışmamızda tanımladığımız diğer RNA' lar ve *AR* ile olan ilişkisi araştırılarak, ilgili sinyal yolağının önemi daha da anlaşılıp karsinogenez sürecinin tanı, tedavi ve prognozunda kullanılabilecektir.

CMP bağlama faktörü (*CBF*) veya sistein proteinaz-1 (*CP1*) olarak da adlandırılan nükleer faktör-Y (*NF-Y*), CCAAT kutusuna bağlanması ile birçok genin ifadesinin düzenlenmesinde kritik olan bir memeli transkripsiyon faktörüdür. *NF-Y* ailesinin yeleri, her biri *NF-YA*, *NF-YB* ve *NF-YC* olmak üzere üç alt birim oluşturan trimerlerdir (Tong et al., 2015). Nükleer transkripsiyon faktörü Y alt birimi C antisense RNA 1 (*NFYC-AS1*), *NF-YC* alt biriminin antisense transkripti olan bir lncRNA' dır. Antisense lncRNA' ların post-transkripsiyonel aşamada protein kodlayan genlerin ifadelerini düzenledikleri ve hem onkogenleri hem de proto-onkogenleri düzenleyerek karsinogeneze aktif olarak katıldıkları kabul edilmiştir (Katayama et al., 2005). *NFYC-AS1*, akciğer kanseri hücrelerinin çoğalmasını, gn ve invazyonunu artırarak apoptozu baskılamaktadır. Muhtemel mekanizmalar otofajinin indüklenmesini, MET ve c-Myc gibi onkoproteinlerin aşağı düzenlenmesini içerebilmektedir. Bu bulgular, *NFYC-AS1*' in insan akciğer kanseri hücrelerinde fonksiyonel bir lncRNA olduğunu göstermektedir (Song et al., 2021). *NFYC-AS1*, akciğer kanseri olgularında mRNA:miRNA:lncRNA düzenleyici ağında prognostik bir biyobelirteç olarak gösterilmesi dışında nispeten az ilgi görmüştür ve fonksiyonu ile ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır (Li et al., 2016). Van der Plaat ve ark. GWAS verilerini analiz ederek *NFYC-AS1*' in hiç sigara içmeyenlerde hava akımı obstrüksiyonunda rol oynayabileceğini saptamışlardır (van der Plaat et al., 2019). *NFYC-AS1*, akciğer kanseri hücrelerinin çoğalmasını ve koloni oluşumunu desteklemekte, apoptozu inhibe etmektedir (Song et al., 2021). Yapılan başka bir çalışmada, *NFYC-AS1* gen ifadesi, otofaji genleri ile, özellikle *BIRC6* ile anlamlı pozitif korelasyon göstermektedir.

NFYC-AS1' in yıkılması, *BIRC6* ifadesini azaltmakta ve A549 hücrelerinde hem otofajiyi hem de apoptozu indüklemektedir. *BIRC6*' nın varlığı ise inhibe edici etkiyi tersine çevirmektedir (Tong et al., 2022). Literatür taraması sonrasında *NFYC-AS1*' in PK gelişimi ile ilgili herhangi bir çalışmasına rastlanılmamıştır. Analizlerimiz sonrasında hem *AR* ile pozitif korelasyon göstermesi hem de ifade seviyesi yüksek ve düşük olan olgular arasında anlamlı bir hastalıksız sağkalım göstermesi bu lncRNA' nın PK gelişimindeki önemini göstermektedir. Bu lncRNA ile etkileşimde olan miRNA ve mRNA' lar analizlerimiz sonrasında belirlenmiş olduğundan, ileride akciğer kanseri hücrelerinde gösterilmiş olan mRNA:miRNA:lncRNA eksenine benzer bir ağ yapısı tanımlanabilecektir.

lncRNA *TYMS* zıt sarmallı RNA' nın (*TYMSOS*), miR-4739' un bir ceRNA' sı olarak mide kanseri progresyonunu indüklediği rapor edilmiştir (Gu et al., 2021). Yuan ve ark. *TYMSOS*' un küçük hücreli dışı akciğer kanseri hücrelerinde miR-214-3p için bir sünger işlevi gördüğünü öne sürmüşlerdir (Yuan et al., 2021). Zhang ve ark. *TYMSOS*' un osteosarkoma hücrelerinin malignitesini miR-101-3p-NETO2 eksenine yolağı ile yönlendirebileceğini doğrulamışlardır (Zhang et al., 2023). *TYMSOS*, miR-130a-5p' yi süngerleyerek *MARCKSL1*' i yukarı düzenlemektedir (Jia et al., 2022). Gu ve ark. timidilat sentaz zıt zincir RNA' nın (*thymidylate synthetase opposite strand RNA*; *TYMSOS*) miR-4739 ile etkileşime girerek *ZNF703* ifadesini artırdığını ve böylece mide kanseri hücrelerinin çoğalmasını, göçünü ve invazyonunu ilerlettiğini saptamışlardır (Gu et al., 2021). Başka bir çalışmada, kontrol grubu ile karşılaştırılan akciğer kanseri örneklerinde *TYMSOS* ve *NCAPG* ifadesinin belirgin şekilde yükseldiğini ve bu RNA' ların yüksek ifadesinin sağkalım analizi ile kötü sonuçla ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca, *FOXM1* *TYMSOS*' un potansiyel bir transkripsiyonel aktivatörü olarak tanımlanmıştır (Yuan et al., 2021). Literatür taraması sonrasında *TYMSOS*' un PK gelişimi ile ilgili herhangi bir çalışmasına rastlanılmamıştır. Analizlerimiz sonrasında hem *AR* ile pozitif korelasyon göstermesi hem de ifade seviyesi yüksek ve düşük olan olgular arasında anlamlı bir hastalıksız sağkalım göstermesi, bu lncRNA' nın PK gelişimindeki önemini göstermektedir. Bu lncRNA ile etkileşimde olan hsa-miR-222-3p, *STMN1* ve *KPNA2* RNA' ları analizlerimiz sonrasında saptanmış olduğundan, ileride bu RNA' lar arasındaki

etkileşim ağını içeren *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar yapılarak PK' deki önemleri gösterilebilecektir.

Growth arrest-specific-5 geni (*GAS5*) kromozom 1'in q25 bölgesine lokalize olan bir lncRNA' dır. Yapılan son araştırmalar, anormal *GAS5* ifade seviyelerinin meme kanseri, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom, glioma ve PK dahil olmak üzere tümör hücreleri üzerindeki potansiyel etkisini göstermiştir. PK' de *GAS5* tümör baskılayıcı gen olarak görev görür (Lv et al., 2021; Pickard et al., 2013). *GAS5*' in PK' de *AR* ile doğrudan etkileşim halinde olduğu ve *AR* transkripsiyon aktivitesinin düzenlenmesine katıldığı rapor edilmiştir. *GAS5* ve *AR* arasındaki bu etkileşim PK' nin kastrasyona dirençli evresinde hücre proliferasyonunu düzenleyebilmektedir. Bununla birlikte, *AR* ve *GAS5* arasında bir geri besleme döngüsü de saptanmıştır. KDPK' de *GAS5*' in aşağı düzenlenmesi, *AR* eksenini yukarı doğru düzenlerken *AR*' nin yüksek aktivasyonu, *GAS5*' in transkripsiyonunu daha fazla engelleyebilmektedir. Bu bulgular, *GAS5*' in PK' de potansiyel olarak yeni bir biyobelirteç olarak hizmet edebileceğini ve PK' de umut verici bir terapötik hedef olarak potansiyel rolünü belirlemek için daha fazla araştırma yapılmasını gerektirebileceğini düşündürmektedir (Lv et al., 2021). Bununla birlikte, *GAS5*' in miR-104' ü AKT/mTOR sinyal yolağı aracılığıyla hedeflediği gösterilmiştir (Lv et al., 2021). Ayrıca, prostat epitel hücreleri ile karşılaştırıldığında, PK hücrelerinde azalmış *GAS5* ifadesi bulunmaktadır. Burada *GAS5*, *E2F1* ile etkileşime girerek G0/G1 fazında hücre döngüsünün durmasını indükleyen p27Kip1' e bağlanmasını indüklemektedir (Luo et al., 2017). Yapılan başka bir çalışmada, *GAS5*' i kodlayan plazmidin transfeksiyonu sonrası bazal hücre apoptozunun arttığı ve *GAS5* ifadesinin aşağı düzenlenmesinin ardından apoptozu zayıflatığı gösterilmiştir (Pickard et al., 2013). Xue ve ark. *GAS5*' in miR-103' ü AKT/mTOR sinyal yolağı üzerinden hedefleyerek PK gelişimini yavaşlatmışlardır (Xue et al., 2016). Yapılan son çalışmada, *GAS5*' in PK hücre hatlarında apoptozu indüklediği ve hücre çoğalmasını engellediği kanıtlanmıştır (Xie et al., 2019). Yapılan başka bir çalışmada ise *AR* (–) PC3 hücrelerinde deksametazon tedavisinin *GAS5* ifadesinin yukarı düzenlenmesini indüklediği saptanmıştır. Bununla birlikte, G0/G1 fazında deksametazon aracılı indüklenen hücre döngüsü arresti ve hücre proliferasyonu inhibisyonu, *GAS5*' in susturulması ile zayıflatılabilir ve *GAS5* aşırı ifadesi ile arttırılabilir. Bu nedenle, deksametazonun *AR* (–) PK hücrelerinde *GAS5*

ifadesini yukarı doğru düzenleyerek hücre proliferasyonunu inhibe ettiği sonucuna varabiliriz. *GAS5*' in aşırı ifadesi ve susturulmasının, deksametazon tedavisi sonrasında belirli hücre döngüsü aşamaları ve hücre proliferasyonu üzerine etkileri görülmemiştir. Elde edilen bulgular, *AR*' nin doğrudan *GAS5*' e bağlanarak *GAS5*' in proliferasyonu inhibe edici etkisine karşı koyduğu gösterilmiştir (Hu et al., 2020). Başka bir çalışmaya göre, *GAS5* tümör baskılayıcı gen olarak fonksiyon görmektedir ve EMT ile CSC özelliklerini inhibe ederek, PK progresyonu ve paklitaksel direncini önemli ölçüde baskılamaktadır (Lu et al., 2022). Bunun aksine, Zhang ve ark. *GAS5*' in azalmış ifadesinin PK' nın proliferasyonunu ve hücre döngüsü ilerlemesini inhibe ettiğini ve hücre apoptozunu desteklediğini göstermişlerdir. *GAS5*' in ceRNA rolünü araştırmak için miRNA etkileşimleri analiz edilmiş ve miR-18a-5p' nin *GAS5* ile etkileşimde olduğu saptanmıştır. miR-18a-5p ise birçok kanser türünde tümör baskılayıcı rol oynayan *STK4*' ü hedeflemektedir. Sonuç olarak, elde edilen veriler *STK4*:miR-18a-5p:*GAS5* ekseninin EMT' yi ve paklitakselin PK' de tümör kök hücre benzeri aracılı duyarlılığını düzenlemede hayati bir rol oynayabileceğini göstermiştir (Y. Zhang et al., 2017). Farklı araştırmacıların elde etmiş oldukları *GAS5* ifadesi ile çelişkili sonuçlar ise araştırılan *GAS5* transkriptlerinin farklılıklarından dolayı olabilmektedir. Tüm bu bulgular, KDPK' de *AR*' yi düzenleme kapasitesine sahip çeşitli lncRNA' ların bulunduğu, KDPK' li olgularda *AR* sinyal yolağını daha fazla baskılamak için de bu lncRNA' ların hedeflenerek yeni terapötik bir yaklaşımın geliştirilebileceğini düşündürmektedir. Tez çalışmasında *GAS5*' in *AR* ile anlamlı negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte, yüksek ve düşük *GAS5* ifadelerinin olgulardaki hastalıksız sağkalım sürelerini belirlemede anlamlı bir parametreyi oluşturabileceği de bulunmuştur. Sonuç olarak, *GAS5*' in öngörülen hedef miRNA ve mRNA ile olan etkileşimlerinin *in vitro* ve *in vivo* deneylerle desteklenmesiyle, PK' nin gelişiminde önemli biyobelirteçler ve sinyal yolları da saptanabilecektir.

hsa-miR-182-5p, PK hücrelerinin prognozu ve progresyonu için belirleyici olup, *in vitro* ve *in vivo* modellerde PK agresifliğini etkilemektedir. Souza ve ark. nın yaptıkları çalışmada PC-3 PK hücrelerinde miR-182-5p' nin ektopik ifadesi, çoğalma hızını önemli ölçüde artırmıştır. Benzer bir şekilde, yine miR-182-5p ile transfekte edilen hücrelerde akış sitometri analizi ile G1 evresindeki hücrelerin sayısında önemli bir

azalma, S ve G2 evrelerindeki hücre sayısında ise bir artış saptanmıştır. Bunun aksine, DU-145 PK hücrelerinde miR-182-5p' nin ektopik ifade değişimi ile herhangi bir etki gözlenmezken, miR-182-5p ifadesinin inhibisyonu ile hücre proliferasyonunda önemli bir azalma saptanmıştır. Bu hücrelerde, anlamlı olmamakla birlikte, G1 fazındaki hücre sayısında artış, S ve G2 fazındaki hücre sayısında da azalma gözlenmiştir. Hücre proliferasyonundaki bu onko-miR etki, diğer PK çalışmalarında da saptanmıştır. Hirata ve ark. (Hirata et al., 2013) ve Bai ve ark. (Bai et al., 2021), bu çalışma ile aynı PK hücrelerinin analizinde, miR-182-5p ifadesinin inhibisyonu ile hücre proliferasyonunun azaldığını bildirmişlerdir. Bunun aksine, Yao ve ark. (Yao et al., 2016), miR-182-5p yüksek ifadesinin *in vitro* ve *in vivo* modellerde PK' nin büyümesini ve progresyonunu desteklediğini göstermişlerdir. Abramovic ve ark.' nın kan plazmasındaki verilerine göre, PK' lı erkekler BPH' li erkeklerle karşılaştırıldıklarında kan plazmalarında miR-375-3p ve miR-182-5p' nin anlamlı olarak daha yüksek düzeyde ifade edildikleri görülmüştür. Buna göre, PK ve BPH ayrımında potansiyel klinik değeri olan PSA' dan daha üstün biyobelirteç özelliğine sahiptir. Son zamanlarda, Pastor-Navarro ve García-Flores ve ark. miR-375-3p, miR-182-5p ve miR-21-5p de dahil olmak üzere serum PK tanısı için dört miRNA' dan oluşan bir panel kullanılmasını önermiş ve bu miRNA' ların PK tanısı için büyük bir potansiyele sahip olduklarını göstermişlerdir (Pastor-Navarro et al., 2020). miR-182-5p ile transfekte edilen hücrelerin hücre çoğalmasındaki benzer etkiler melanomlar, gliomalar, hepatoselüler, meme ve kolorektal kanser hücreleri gibi diğer tümör hücre modellerinde gözlenmiştir (Pastor-Navarro et al., 2020). Tez çalışması kapsamında hsa-miR-182-5p' nin öngörülen hedefi olabilecek korelasyon değeri -0.40 olan mRNA' lar *FOXO1*, *PPP1R12A*, *CCND2* ve *MITF* olarak saptanmıştır. Forkhead Box O (*FOXO*) transkripsiyon faktörleri ailesi, hücre döngüsünün düzenlenmesi, hücre farklılaşması, glikoz metabolizması ve diğer hücresel fonksiyonlar gibi birçok önemli hücresel süreçte yer alan üç temel transkripsiyon faktöründen (*FOXO1*, *FOXO3* ve *FOXO4*) oluşmaktadır. Foxo proteinleri esas olarak nukleusa lokalize olurlar ve çoğunlukla tümör baskılayıcı genlerin ifadelerini düzenlerler. *FOXO1*, yüksek derecede onkojenik PI3K/Akt sinyal yolağını negatif olarak düzenleyen bir tümör baskılayıcı gendir (Huang & Tindall, 2007). PK' li primer örneklerde *FOXO1* ve miR-182 ifade seviyelerinin araştırıldığı bir çalışmada, miR-182' nin aşırı ifadesi ile *FOXO1* mRNA' sının azalması arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır. Bu negatif

korelasyon, *FOXO1*' in PK' de tümör baskılayıcı gen rolü göz önüne alındığında özellikle ilgi çekici olmaktadır. Yapılan başka bir çalışmada, *FOXO1*' in osteoblast olgunlaşması, kemik oluşumu ve PK hücresi metastazında kritik rol oynayan başka bir transkripsiyon faktörü olan *RUNX2*' ye bağlandığı ve baskıladığı gösterilmiştir (Wallis et al., 2015). Bu çalışmalar, *FOXO1*' in miR-182' nin bir hedefini oluşturduğunu doğrulamaktadır. Ancak, PK progresyonu ve metastazıyla ilişkili olan ve miR-182 ifade seviyelerinden etkilenen *FOXO1*' in aşağı akış hedeflerinin tanımlanması ve işlevsel olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Tez çalışması kapsamında, *FOXO1*' in elde edilen mRNA' lar arasında en yüksek düğüm derecesine sahip olduğu ve miR-182-5p ile aralarında negatif bir korelasyonun bulunduğu saptanmıştır. Bu bulgular, *FOXO1* ve miR-182-5p' nin birlikte çalışarak, PK gelişiminde önemli bir rol oynadıklarını düşündürmektedir. İki RNA arasında saptanan negatif korelasyon, miR-182-5p' nin *FOXO1*' in düzenleyici aktivitesini inhibe edebileceğini ve böylece PK gelişimine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. *FOXO1* düğüm derecesinin yüksek olması, diğer RNA' larla etkileşime girdiğini ve önemli bir düzenleyici olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, bu gen, yüksek ve düşük ifade seviyeleri gösteren olgular arasında anlamlı bir fark göstermektedir. Bu durum, hastalığın progresyonunda ve hastaların prognozunda önemli bir rol oynayabileceğini düşündürebilmektedir. Elde edilen bu sonuçlar literatür ile uyumludur. *FOXO1* ile etkileşim içerisinde olduğunu düşündüğümüz *ADAMTS9-AS2* ve *PAXIP1-AS2* lncRNA' larının korelasyon katsayıları > 0.5 olarak saptanmıştır. *ADAMTS9-AS2* birçok kanser türünün çeşitli gelişim basamaklarında görev alır. Küçük hücreli olmayan akciğer kanser dokularında aşağı düzenlenmektedir. Akciğer kanserinde N evresi, cinsiyet ve sigara içimi ile anlamlı bir ilişkisi saptanmıştır (Lin et al., 2021). Yumurtalık kanserinde miR-182-5p:*FOXF2* eksenini düzenleyerek kanserin progresyonunu azaltmaktadır (A. Wang et al., 2018). Dilin skuamoz hücre karsinomunda miR-600:*EZH2* eksenini düzenleyerek onkojenik bir rol aldığı düşünülmektedir (Li et al., 2019). Meme kanserinde miR-182' yi hedefleyerek hücre proliferasyonunu azaltmakta ve apoptozu indüklemektedir (Guo et al., 2021). Hepatoselüler karsinoma hücrelerinde PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağını inhibe ederek proliferasyon, migrasyon ve invazyonu baskılamaktadır (Li et al., 2021). PK doku örneklerinde yapılan çalışmada ise *ADAMTS9-AS2*' nin aşağı düzenlendiği saptanmıştır (He et al., 2021). Literatür özetlerinden de görüldüğü gibi miR-

182/*FOXO* hücre içerisinde farklı yerlerde lokalize olabilen lncRNA' lar ile de etkileşim halinde olup birbirlerinin ifade seviyelerini etkileyebilmektedir. Yaptığımız analizler sonrasında, *FOXO1:miR-182-5p:ADAMTS9-AS2* ekseninin PK gelişiminde de önemli bir sinyal yolağı olabileceği saptandı. Bu bulgular, bize *FOXO1:miR-182-5p:ADAMTS9-AS2* ekseninin PK tanı ve prognozunda önemli olduğunu ve geliştirilecek olan yeni tedavisi stratejileri için önemli moleküler hedefleri sunacağını göstermektedir. Bunun için, daha fazla deneysel çalışma ile *FOXO1:miR-182-5p:ADAMTS9-AS2* eksenin işlevsel mekanizmaları ortaya çıkarılmalıdır.

PAXIP1-AS2 lncRNA ifadesini araştıran çok sayıda çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmaya göre TCGA' dan elde edilen glioma örneklerinde bu lncRNA' nın ferroptosis ile ilişkisi olabileceği öne sürülmektedir. *FOXO1* ve *miR-182-5p* ile olan etkileşimini araştıran çalışmalar bulunmamaktadır. *ADAMTS9-AS2* ile benzer korelasyon katsayısına sahip olduğundan, bu lncRNA' nın da PK progresyonuyla ilişkili önemli bir rolü bulunduğunu düşünmekteyiz. Bununla birlikte, biyoinformatik analizlerle elde ettiğimiz *FOXO1:miR-182-5p:PAXIP1-AS2* ekseninin, yapılacak olan fonksiyonel analizler ile de PK' deki rolü daha iyi aydınlatılacaktır.

Protein fosfataz 1 düzenleyici alt ünite 12a' nın (*PPP1R12A*) düz kas kasılmasında, hücre döngüsünde, hücre adezyon ve migrasyonunda önemli görevleri bulunmaktadır. Bu gen PK' de aşağı düzenlenmekte, anjiogenez ve tümör büyümesini inhibe etmektedir. *CD31* ile birlikte anlamlı prognostik bir faktör oluşturabileceklerinden, kanser tedavisinde diğer moleküllerle etkileşiminin araştırılması PK tedavisinde de etkili olabilecektir (Zou et al., 2021). Tez çalışması kapsamında *PPP1R12A*' nın *miR-182* ile negatif korelasyon; *AR*, *PAXIP1-AS2* ve *ADAMTS9-AS2* ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Ancak, literatürde bu RNA' larla ilişkili yapılan çalışmalara rastlanılmamıştır. *miR-182-5p*' nin *PPP1R12A* genine bağlanması, *PPP1R12A*' nın mRNA ifadesinin azalmasına neden olabilir. Bu rekabet, *miR-182-5p* ve *PPP1R12A* arasındaki negatif korelasyonu açıklayabilir. *PPP1R12A*' nın ceRNA etkileşimi, PK' deki tümör baskılayıcı potansiyelini etkileyebilir. *miR-182-5p*' nin aşırı ifadesi, *PPP1R12A*' nın baskılanmasına ve kanser hücre proliferasyonu, invazyonu ve metastaz yeteneklerinin artmasına yol açabilir. Biyoinformatik analizler sonrasında elde edilen anlamlı sonuçlardan dolayı *PPP1R12A:miR-182-5p:PAXIP1-AS2* ve

PPP1R12A:miR-182-5p:*ADAMTS9-AS2* eksenlerinin araştırılması, PK' nin gelişimi ve tedavisi hakkında önemli veriler sağlayacağını düşünmekteyiz.

PK ile ilişkili çok önemli bir hücre döngüsü düzenleyicisi gen olan *CCND2*' nin kanser hücresi büyümesini düzenlemek için PK' de ve diğer birçok kanserde anormal şekilde ifade edildiği tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada bu genin miR-21 ve miR-182 tarafından hedeflendiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, *CCND2*' nin aşırı ifadesinin PK hücre proliferasyonunu inhibe ettiği, azaltılmış ifadesinin ise hücre proliferasyonunu artırdığı ve tümörün yüksek Gleason skoruna ve yüksek PSA seviyelerine ilerlemesi ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Zhu ve ark. miR-154' ün *CCND2*' yi hedefleyerek PK hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir (C. Zhu et al., 2014). Bunun yanında, Dong ve ark. miRNA-let-7a' nın *E2F2* ve *CCND2*' yi hedefleyerek PK hücre proliferasyonunu inhibe ettiklerini göstermişlerdir (Dong et al., 2010). Tez çalışması kapsamında, hsa-miR-182-5p ile *CCND2* arasında negatif korelasyon ve *ADAMTS9-AS2* ile de pozitif korelasyon saptanmıştır. Elde edilen bu bulgular yine yenidir ve literatürde bulunmamaktadır. Özetle, *CCND2*:miR-182-5p:*ADAMTS9-AS2* ekseninin fonksiyonel olarak araştırılması PK gelişimi ve tedavisi açısından önemli veriler sağlayacaktır.

Yapılan bir çalışma ile miR-182' nin melanosit indükleyici transkripsiyon faktörünü (*MITF*) hedeflediği gösterilmiştir. İlginç bir şekilde, yapılan başka bir çalışmada, miR-182' nin Afrika-Amerikalılarda biyokimyasal rekürens için önemli bir belirteç oluşturduğu; ancak, Avrupa-Amerikalılarda bu etkinin görülmediği ve bu nedenle ırka dayalı bir faktörü oluşturabileceği düşünülmüştür (Stafford & McKenna, 2023). Çalışmamızda da miR-182-5p' nin *MITF*' yi hedeflediği gösterilmiş olup; ayrıca, *AR*, *ADAMTS9-AS2*, *LINC01140* ve *LINC01018* ile de pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Çalışma verilerimiz 2023 yılında yayımlanan yukarıda belirtilen makale ile tutarlı sonuçlar verse de, lncRNA ile ilişkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla, literatürle de desteklenen miR-182-5p:*MITF* etkileşimi, belirtilen lncRNA' lar ile de araştırıldığında PK gelişimi, tanı ve tedavisinde önemli veriler sağlayacaktır.

Sonuç olarak, PK gelişiminde saptanan aday miRNA, mRNA ve lncRNA' ların etkileşim halinde oldukları; zenginleştirme ve yolak analizleri sonucunda nukleus ve diğerk zarla çevrili hücre içi organellere lokalize oldukları; AR ile etkileştikleri, genel / hastalıksız sağkalımda rol oynadıkları ve kanserle ilişkili bir çok sinyal yolağında görev aldıkları bulunmuştur. *In silico* yöntemle elde edilen bu bilgilerin, *in vitro* ve *in vivo* yöntemlerle de desteklenmesiyle ilgili RNA' ların etkileşimleri daha ayrıntılı olarak ortaya konulabilecektir.



Sonuç ve Öneriler

Tez çalışmasında PK gelişiminde yeni hedef mRNA:miRNA:lncRNA molekülleri biyoinformatik yöntemlerle tanımlanıp, birbirleriyle olan etkileşimleri ve etkiledikleri sinyal yolları araştırılmıştır. Tez kapsamında saptanan sinyal yolları aşağıdaki gibidir.

CDK5R1:hsa-miR-133b:*HPN-AS1*

YWHAG:hsa-miR-222-3p: *DGCR5*

YWHAG:hsa-miR-222-3p: *NFYC-AS1*

RNF4:hsa-miR-222-3p: *ZNF674-AS1*

RNF4:hsa-miR-222-3p:*NFYC-AS1*

KPNA2:hsa-miR-222-3p: *TYMSOS*

KPNA2:hsa-miR-222-3p: *ZNF674-AS1*

HIPK2:hsa-miR-222-3p: *GAS5*

HIPK2:hsa-miR-222-3p: *ZNF674-AS1*

STHMN1:hsa-miR-222-3p: *TYMSOS*

STHMN1:hsa-miR-222-3p: *DGCR5*

STHMN1:hsa-miR-222-3p: *NFYC-AS1*

STHMN1:hsa-miR-222-3p: *ZNF674-AS1*

STHMN1:hsa-miR-222-3p: *GAS5*

FOXO1: hsa-miR-182-5p: *ADAMTS9-AS2*

FOXO1: hsa-miR-182-5p: *PAXIP1-AS2*

PPP1R12A: hsa-miR-182-5p: *PAXIP1-AS2*

PPP1R12A: hsa-miR-182-5p:*ADAMTS9-AS2*

CCND2: hsa-miR-182-5p: *ADAMTS9-AS2*

MITF: hsa-miR-182-5p: *ADAMTS9-AS2*

MITF: hsa-miR-182-5p: *LINC01140*

MITF: hsa-miR-182-5p: *LINC01018*

Ancak, çalışma ile ilgili bazı sınırlılıklar için aşağıdaki önerileri sunabiliriz:

1- TCGA veritabanındaki kanser olgularının örneklem büyüklüğü, kontrol olgularinkinden önemli ölçüde daha yüksekti. Dolayısıyla, örneklem sayısının fazla olduğu başka deney gruplarında aday genler yeniden çalışılabilir ya da analizleri yapılabilir.

- 2- GEO ve TCGA' dan alınan veriler ayrı platformlardan elde edilen benzersiz verilerdir. Bir molekülün her iki platformda da aynı sonucu vermesi beklenilmemektedir. Çalışmamızda bu veri setlerinin kesişim kümesinin alınması aday moleküllerin doğrulanmasına yardımcı olmaktadır. Ancak, bazı moleküllerin de çalışma kapsamı dışında kalmasına neden olabilmektedir.
- 3- Çalışma kapsamında elde edilen veriler biyoinformatik yöntemlerle saptanmış olup, doğrulama ve validasyon çalışmalarının *in vitro* ve *in vivo* yöntemler ile desteklenmesi gerekmektedir.
- 4- Araştırmacılara açık veri tabanında, olguların ilaç ve/veya cerrahi tedavilerine ilişkin bazı spesifik bilgilerin ve klinik verilerin bulunmaması, genin prognostik önemini anlamamızı var olan bilgilerle sınırlamaktadır. Tasarlanacak yeni deneyler ile bu aday genlerin ifade seviyelerinin olguların demografik ve klinik parametreleri ile istatistiksel çalışmaları yapılabilecektir.
- 5- Biyoinformatik yöntemlerle çeşitli moleküller elde edilerek diğer araştırmacıların, tanımlanmış olan bu aday moleküllere ve sinyal yollarına yönelmesi ile araştırmalarına katkı sunacağımızı düşünmekteyiz.

Kaynaklar

- Abu Ahmad, Y., Oknin-Vaisman, A., Bitman-Lotan, E., & Orian, A. (2021). From the Evasion of Degradation to Ubiquitin-Dependent Protein Stabilization. *Cells*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/cells10092374>
- Aikawa, Y., Nguyen, L. A., Isono, K., Takakura, N., Tagata, Y., Schmitz, M. L., . . . Kitabayashi, I. (2006). Roles of HIPK1 and HIPK2 in AML1- and p300-dependent transcription, hematopoiesis and blood vessel formation. *EMBO J*, 25(17), 3955-3965. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601273>
- Akaike, Y., Kuwano, Y., Nishida, K., Kurokawa, K., Kajita, K., Kano, S., . . . Rokutan, K. (2015). Homeodomain-interacting protein kinase 2 regulates DNA damage response through interacting with heterochromatin protein 1gamma. *Oncogene*, 34(26), 3463-3473. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.278>
- Aktan, C., Cal, C., Kaymaz, B., Selvi Gunel, N., Kipcak, S., Ozel, B., . . . Kosova, B. (2022). Functional roles of miR-625-5p and miR-874-3p in the progression of castration resistant prostate cancer. *Life Sci*, 301, 120603. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120603>
- Ardelt, M. A., Frohlich, T., Martini, E., Muller, M., Kanitz, V., Atzberger, C., . . . Pachmayr, J. (2019). Inhibition of Cyclin-Dependent Kinase 5: A Strategy to Improve Sorafenib Response in Hepatocellular Carcinoma Therapy. *Hepatology*, 69(1), 376-393. <https://doi.org/10.1002/hep.30190>
- Bai, L., Luo, L., Gao, W., Bu, C., & Huang, J. (2021). miR-182 modulates cell proliferation and invasion in prostate cancer via targeting ST6GALNAC5. *Braz J Med Biol Res*, 54(8), e9695. <https://doi.org/10.1590/1414-431X2020e9695>
- Baldassarre, G., Belletti, B., Nicoloso, M. S., Schiappacassi, M., Vecchione, A., Spessotto, P., . . . Colombatti, A. (2005). p27(Kip1)-stathmin interaction influences sarcoma cell migration and invasion. *Cancer Cell*, 7(1), 51-63. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2004.11.025>
- Bardhan, A., Banerjee, A., Basu, K., Pal, D. K., & Ghosh, A. (2022). PRNCR1: a long non-coding RNA with a pivotal oncogenic role in cancer. *Hum Genet*, 141(1), 15-29. <https://doi.org/10.1007/s00439-021-02396-8>
- 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 Res*, 41(Database issue), D991-995. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1193>
- Cannistraci, A., Di Pace, A. L., De Maria, R., & Bonci, D. (2014). MicroRNA as new tools for prostate cancer risk assessment and therapeutic intervention: results from clinical data set and patients' samples. *Biomed Res Int*, 2014, 146170. <https://doi.org/10.1155/2014/146170>
- Chakravarthi, B., Chandrashekar, D. S., Agarwal, S., Balasubramanya, S. A. H., Pathi, S. S., Goswami, M. T., . . . Varambally, S. (2018). miR-34a Regulates Expression of the Stathmin-1 Oncoprotein and Prostate Cancer Progression. *Mol Cancer Res*, 16(7), 1125-1137. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-17-0230>
- Chandrashekar, D. S., Karthikeyan, S. K., Korla, P. K., Patel, H., Shovon, A. R., Athar, M., . . . Varambally, S. (2022). UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform. *Neoplasia*, 25, 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2022.01.001>

- Chen, P., Duan, X., Li, X., Li, J., Ba, Q., & Wang, H. (2020). HIPK2 suppresses tumor growth and progression of hepatocellular carcinoma through promoting the degradation of HIF-1 α . *Oncogene*, 39(14), 2863-2876. <https://doi.org/10.1038/s41388-020-1190-y>
- Chen, Y., & Wang, X. (2020). miRDB: an online database for prediction of functional microRNA targets. *Nucleic Acids Res*, 48(D1), D127-D131. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz757>
- Cheng, Y., Al-Beiti, M. A., Wang, J., Wei, G., Li, J., Liang, S., & Lu, X. (2012). Correlation between homeodomain-interacting protein kinase 2 and apoptosis in cervical cancer. *Mol Med Rep*, 5(5), 1251-1255. <https://doi.org/10.3892/mmr.2012.810>
- Contreras-Vallejos, E., Utreras, E., & Gonzalez-Billault, C. (2012). Going out of the brain: non-nervous system physiological and pathological functions of Cdk5. *Cell Signal*, 24(1), 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.08.022>
- Demelash, A., Rudrabhatla, P., Pant, H. C., Wang, X., Amin, N. D., McWhite, C. D., . . . Linnoila, R. I. (2012). Achaete-scute homologue-1 (ASH1) stimulates migration of lung cancer cells through Cdk5/p35 pathway. *Mol Biol Cell*, 23(15), 2856-2866. <https://doi.org/10.1091/mbc.E10-12-1010>
- Dong, H. X., Wang, R., Jin, X. Y., Zeng, J., & Pan, J. (2018). LncRNA DGCR5 promotes lung adenocarcinoma (LUAD) progression via inhibiting hsa-mir-22-3p. *J Cell Physiol*, 233(5), 4126-4136. <https://doi.org/10.1002/jcp.26215>
- Dong, Q., Meng, P., Wang, T., Qin, W., Qin, W., Wang, F., . . . Wang, H. (2010). MicroRNA let-7a inhibits proliferation of human prostate cancer cells in vitro and in vivo by targeting E2F2 and CCND2. *PLoS One*, 5(4), e10147. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010147>
- Fang, C., He, W., Xu, T., Dai, J., Xu, L., & Sun, F. (2019). Upregulation of lncRNA DGCR5 correlates with better prognosis and inhibits bladder cancer progression via transcriptionally facilitating P21 expression. *J Cell Physiol*, 234(5), 6254-6262. <https://doi.org/10.1002/jcp.27356>
- Feldmann, G., Mishra, A., Hong, S. M., Bisht, S., Strock, C. J., Ball, D. W., . . . Nelkin, B. D. (2010). Inhibiting the cyclin-dependent kinase CDK5 blocks pancreatic cancer formation and progression through the suppression of Ras-Ral signaling. *Cancer Res*, 70(11), 4460-4469. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1107>
- Freeman, A. K., & Morrison, D. K. (2011). 14-3-3 Proteins: diverse functions in cell proliferation and cancer progression. *Semin Cell Dev Biol*, 22(7), 681-687. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2011.08.009>
- Geisler, S., & Collier, J. (2013). RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 14(11), 699-712. <https://doi.org/10.1038/nrm3679>
- Goh, C. S., Lan, N., Douglas, S. M., Wu, B., Echols, N., Smith, A., . . . Gerstein, M. (2004). Mining the structural genomics pipeline: identification of protein properties that affect high-throughput experimental analysis. *J Mol Biol*, 336(1), 115-130. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2003.11.053>
- Gu, Y., Wan, C., Zhou, G., Zhu, J., Shi, Z., & Zhuang, Z. (2021). TYMSOS drives the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by regulating ZNF703 via sponging miR-4739. *Cell Biol Int*, 45(8), 1710-1719. <https://doi.org/10.1002/cbin.11610>
- Guo, Q., Ni, P., Dai, Y., Hu, J., & Yao, Y. (2021). Long-Chain Noncoding RNA ADAMTS9-AS2 Regulates Proliferation, Migration, and Apoptosis in Bladder

- Cancer Cells Through Regulating miR-182-5p. *J Interferon Cytokine Res*, 41(2), 60-71. <https://doi.org/10.1089/jir.2020.0137>
- He, L., & Hannon, G. J. (2004). MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet*, 5(7), 522-531. <https://doi.org/10.1038/nrg1379>
- He, L., Xiao, Y., Ma, L., Zhao, F., Yu, T., & Huang, Y. (2021). ADAMTS9-AS2: a potential diagnostic and prognostic hallmark in prostate cancer. *J BUON*, 26(4), 1623-1627. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34565027>
- Hiraoka, E., Mima, T., Ito, M., Kadoya, T., Miyata, Y., Ito, A., & Okada, M. (2019). Correction to: Breast cancer cell motility is promoted by 14-3-3gamma. *Breast Cancer*, 26(5), 594. <https://doi.org/10.1007/s12282-019-00964-5>
- 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), e55502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055502>
- Holmes, T. R., Al-Matouq, J., Holmes, M., Nicola, L., Rudd, J. C., Lovas, S., & Hansen, L. A. (2020). Targeting 14-3-3epsilon-CDC25A interactions to trigger apoptotic cell death in skin cancer. *Oncotarget*, 11(35), 3267-3278. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27700>
- Hsu, F. N., Chen, M. C., Lin, K. C., Peng, Y. T., Li, P. C., Lin, E., . . . Lin, H. (2013). Cyclin-dependent kinase 5 modulates STAT3 and androgen receptor activation through phosphorylation of Ser(7)(2)(7) on STAT3 in prostate cancer cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 305(8), E975-986. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00615.2012>
- Hu, C. Y., Wu, K. Y., Lin, T. Y., & Chen, C. C. (2021). The Crosstalk of Long Non-Coding RNA and MicroRNA in Castration-Resistant and Neuroendocrine Prostate Cancer: Their Interaction and Clinical Importance. *Int J Mol Sci*, 23(1). <https://doi.org/10.3390/ijms23010392>
- Hu, J., Deng, J., Cao, R., Xiong, S., & Guo, J. (2020). LncRNA GAS5 participates in the regulation of dexamethasone on androgen receptor -negative and -positive prostate cancer cell proliferation. *Mol Cell Probes*, 53, 101607. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101607>
- Huang, H., & Tindall, D. J. (2007). Dynamic FoxO transcription factors. *J Cell Sci*, 120(Pt 15), 2479-2487. <https://doi.org/10.1242/jcs.001222>
- Huang, H. Y., Lin, Y. C., Cui, S., Huang, Y., Tang, Y., Xu, J., . . . Huang, H. D. (2022). miRTarBase update 2022: an informative resource for experimentally validated miRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res*, 50(D1), D222-D230. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1079>
- Huang, R., Wang, X., Zhang, W., Zhangyuan, G., Jin, K., Yu, W., . . . Sun, B. (2016). Down-Regulation of LncRNA DGCR5 Correlates with Poor Prognosis in Hepatocellular Carcinoma. *Cell Physiol Biochem*, 40(3-4), 707-715. <https://doi.org/10.1159/000452582>
- Iyer, M. K., Niknafs, Y. S., Malik, R., Singhal, U., Sahu, A., Hosono, Y., . . . Chinnaiyan, A. M. (2015). The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome. *Nat Genet*, 47(3), 199-208. <https://doi.org/10.1038/ng.3192>
- Jia, J., Liu, Y., Yang, X., Wu, Z., Xu, X., Kang, F., & Liu, Y. (2022). lncRNA TYMSOS Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition and Metastasis in Thyroid Carcinoma through Regulating MARCKSL1 and Activating the PI3K/Akt Signaling Pathway. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 33(1), 1-14. <https://doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2022043838>

- Kang, J., Tang, Q., He, J., Li, L., Yang, N., Yu, S., . . . Huang, Y. (2022). RNAInter v4.0: RNA interactome repository with redefined confidence scoring system and improved accessibility. *Nucleic Acids Res*, 50(D1), D326-D332. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab997>
- Kang, M., Shi, J., Li, B., Luo, M., Xu, S., & Liu, X. (2019). LncRNA DGCR5 regulates the non-small cell lung cancer cell growth, migration, and invasion through regulating miR-211-5p/EPHB6 axis. *Biofactors*, 45(5), 788-794. <https://doi.org/10.1002/biof.1539>
- Katayama, S., Tomaru, Y., Kasukawa, T., Waki, K., Nakanishi, M., Nakamura, M., . . . Consortium, F. (2005). Antisense transcription in the mammalian transcriptome. *Science*, 309(5740), 1564-1566. <https://doi.org/10.1126/science.1112009>
- Kojima, S., Goto, Y., & Naya, Y. (2017). The roles of microRNAs in the progression of castration-resistant prostate cancer. *J Hum Genet*, 62(1), 25-31. <https://doi.org/10.1038/jhg.2016.69>
- Kwon, M. J., Kang, S. Y., Nam, E. S., Cho, S. J., & Rho, Y. S. (2017). HIPK2 Overexpression and Its Prognostic Role in Human Papillomavirus-Positive Tonsillar Squamous Cell Carcinoma. *Biomed Res Int*, 2017, 1056427. <https://doi.org/10.1155/2017/1056427>
- Langan, R. C. (2019). Benign Prostatic Hyperplasia. *Prim Care*, 46(2), 223-232. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2019.02.003>
- Le, F., Li, H. M., Lv, Q. L., Chen, J. J., Lin, Q. X., Ji, Y. L., & Yi, B. (2022). lncRNA ZNF674-AS1 inhibits the migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of thyroid cancer cells by modulating the miR-181a/SOCS4 axis. *Mol Cell Endocrinol*, 544, 111551. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111551>
- Lee, Y. S., & Dutta, A. (2009). MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol*, 4, 199-227. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092222>
- Li, D., Xia, L., Chen, M., Lin, C., Wu, H., Zhang, Y., . . . Li, X. (2017). miR-133b, a particular member of myomiRs, coming into playing its unique pathological role in human cancer. *Oncotarget*, 8(30), 50193-50208. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16745>
- Li, D. S., Ainiwaer, J. L., Sheyhiding, I., Zhang, Z., & Zhang, L. W. (2016). Identification of key long non-coding RNAs as competing endogenous RNAs for miRNA-mRNA in lung adenocarcinoma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 20(11), 2285-2295. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27338053>
- Li, H., Huang, H., Li, S., Mei, H., Cao, T., & Lu, Q. (2021). Long non-coding RNA ADAMTS9-AS2 inhibits liver cancer cell proliferation, migration and invasion. *Exp Ther Med*, 21(6), 559. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.9991>
- Li, X., Wan, X., Chen, H., Yang, S., Liu, Y., Mo, W., . . . Li, Y. (2014). Identification of miR-133b and RB1CC1 as independent predictors for biochemical recurrence and potential therapeutic targets for prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 20(9), 2312-2325. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-1588>
- Li, X., Zhou, S., Fan, T., & Feng, X. (2020). lncRNA DGCR 5/miR-27a-3p/BNIP3 promotes cell apoptosis in pancreatic cancer by regulating the p38 MAPK pathway. *Int J Mol Med*, 46(2), 729-739. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4632>
- Li, Y., Wan, Q., Wang, W., Mai, L., Sha, L., Mashrah, M., . . . Pan, C. (2019). LncRNA ADAMTS9-AS2 promotes tongue squamous cell carcinoma proliferation, migration and EMT via the miR-600/EZH2 axis. *Biomed Pharmacother*, 112, 108719. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108719>

- Lim, M. C. J., Baird, A. M., Aird, J., Greene, J., Kapoor, D., Gray, S. G., . . . Finn, S. P. (2018). RNAs as Candidate Diagnostic and Prognostic Markers of Prostate Cancer-From Cell Line Models to Liquid Biopsies. *Diagnostics (Basel)*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/diagnostics8030060>
- Lin, W., Zhou, Q., Wang, C. Q., Zhu, L., Bi, C., Zhang, S., . . . Jin, H. (2020). LncRNAs regulate metabolism in cancer. *Int J Biol Sci*, 16(7), 1194-1206. <https://doi.org/10.7150/ijbs.40769>
- Lin, Z., Huang, W., Yi, Y., Li, D., Xie, Z., Li, Z., & Ye, M. (2021). LncRNA ADAMTS9-AS2 is a Prognostic Biomarker and Correlated with Immune Infiltrates in Lung Adenocarcinoma. *Int J Gen Med*, 14, 8541-8555. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S340683>
- Liu, Y., Huang, R., Xie, D., Lin, X., & Zheng, L. (2021). ZNF674-AS1 antagonizes miR-423-3p to induce G0/G1 cell cycle arrest in non-small cell lung cancer cells. *Cell Mol Biol Lett*, 26(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s11658-021-00247-y>
- Liu, Y., Zhang, X., Zhang, Y., Hu, Z., Yang, D., Wang, C., . . . Cai, Q. (2015). Identification of miRNomes in human stomach and gastric carcinoma reveals miR-133b/a-3p as therapeutic target for gastric cancer. *Cancer Lett*, 369(1), 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.06.028>
- Lopez-Urrutia, E., Bustamante Montes, L. P., Ladron de Guevara Cervantes, D., Perez-Plasencia, C., & Campos-Parra, A. D. (2019). Crosstalk Between Long Non-coding RNAs, Micro-RNAs and mRNAs: Deciphering Molecular Mechanisms of Master Regulators in Cancer. *Front Oncol*, 9, 669. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00669>
- Lu, T. T., Tao, X., Li, H. L., Gai, L., Huang, H., & Li, F. (2022). LncRNA GAS5 enhances tumor stem cell-like mediated sensitivity of paclitaxel and inhibits epithelial-to-mesenchymal transition by targeting the miR-18a-5p/STK4 pathway in prostate cancer. *Asian J Androl*, 24(6), 643-652. <https://doi.org/10.4103/aja2021117>
- Luo, G., Liu, D., Huang, C., Wang, M., Xiao, X., Zeng, F., . . . Jiang, G. (2017). LncRNA GAS5 Inhibits Cellular Proliferation by Targeting P27(Kip1). *Mol Cancer Res*, 15(7), 789-799. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-16-0331>
- Lv, B., Pan, Y., Hou, D., Chen, P., Zhang, J., Chu, Y., . . . Liu, J. (2022). RNF4 silencing induces cell growth arrest and DNA damage by promoting nuclear targeting of p62 in hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 41(16), 2275-2286. <https://doi.org/10.1038/s41388-022-02247-4>
- Lv, S., Pu, X., Luo, M., Wen, H., Xu, Z., Wei, Q., & Dang, Q. (2021). Long noncoding RNA GAS5 interacts and suppresses androgen receptor activity in prostate cancer cells. *Prostate*, 81(12), 893-901. <https://doi.org/10.1002/pros.24186>
- Makino, T., Izumi, K., & Mizokami, A. (2021). Undesirable Status of Prostate Cancer Cells after Intensive Inhibition of AR Signaling: Post-AR Era of CRPC Treatment. *Biomedicines*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/biomedicines9040414>
- McGeary, S. E., Lin, K. S., Shi, C. Y., Pham, T. M., Bisaria, N., Kelley, G. M., & Bartel, D. P. (2019). The biochemical basis of microRNA targeting efficacy. *Science*, 366(6472). <https://doi.org/10.1126/science.aav1741>
- Miah, S., & Catto, J. (2014). BPH and prostate cancer risk. *Indian J Urol*, 30(2), 214-218. <https://doi.org/10.4103/0970-1591.126909>

- Miceli, C., Tejada, A., Castaneda, A., & Mistry, S. J. (2013). Cell cycle inhibition therapy that targets stathmin in in vitro and in vivo models of breast cancer. *Cancer Gene Ther*, 20(5), 298-307. <https://doi.org/10.1038/cgt.2013.21>
- Miecznikowski, J. C., Wang, D., Liu, S., Sucheston, L., & Gold, D. (2010). Comparative survival analysis of breast cancer microarray studies identifies important prognostic genetic pathways. *BMC Cancer*, 10, 573. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-573>
- Moncini, S., Salvi, A., Zuccotti, P., Viero, G., Quattrone, A., Barlati, S., . . . Riva, P. (2011). The role of miR-103 and miR-107 in regulation of CDK5R1 expression and in cellular migration. *PLoS One*, 6(5), e20038. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020038>
- Nikas, J. B., Mitanis, N. T., & Nikas, E. G. (2020). Whole Exome and Transcriptome RNA-Sequencing Model for the Diagnosis of Prostate Cancer. *ACS Omega*, 5(1), 481-486. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02995>
- Pandya, G., Kirtonia, A., Sethi, G., Pandey, A. K., & Garg, M. (2020). The implication of long non-coding RNAs in the diagnosis, pathogenesis and drug resistance of pancreatic ductal adenocarcinoma and their possible therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 1874(2), 188423. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188423>
- Pashaei, E., Pashaei, E., Ahmady, M., Ozen, M., & Aydin, N. (2017). Meta-analysis of miRNA expression profiles for prostate cancer recurrence following radical prostatectomy. *PLoS One*, 12(6), e0179543. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179543>
- Pastor-Navarro, B., Garcia-Flores, M., Fernandez-Serra, A., Blanch-Tormo, S., Martinez de Juan, F., Martinez-Lapiedra, C., . . . Lopez-Guerrero, J. A. (2020). A Tetra-Panel of Serum Circulating miRNAs for the Diagnosis of the Four Most Prevalent Tumor Types. *Int J Mol Sci*, 21(8). <https://doi.org/10.3390/ijms21082783>
- Pickard, M. R., Mourtada-Maarabouni, M., & Williams, G. T. (2013). Long non-coding RNA GAS5 regulates apoptosis in prostate cancer cell lines. *Biochim Biophys Acta*, 1832(10), 1613-1623. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.05.005>
- Pozo, K., Castro-Rivera, E., Tan, C., Plattner, F., Schwach, G., Siegl, V., . . . Bibb, J. A. (2013). The role of Cdk5 in neuroendocrine thyroid cancer. *Cancer Cell*, 24(4), 499-511. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.08.027>
- Qi, M., Yu, B., Yu, H., & Li, F. (2020). Integrated analysis of a ceRNA network reveals potential prognostic lncRNAs in gastric cancer. *Cancer Med*, 9(5), 1798-1817. <https://doi.org/10.1002/cam4.2760>
- Qi, W., Liu, X., Chen, W., Li, Q., & Martinez, J. D. (2007). Overexpression of 14-3-3gamma causes polyploidization in H322 lung cancer cells. *Mol Carcinog*, 46(10), 847-856. <https://doi.org/10.1002/mc.20314>
- Qin, W., Dong, P., Ma, C., Mitchelson, K., Deng, T., Zhang, L., . . . Cheng, J. (2012). MicroRNA-133b is a key promoter of cervical carcinoma development through the activation of the ERK and AKT1 pathways. *Oncogene*, 31(36), 4067-4075. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.561>
- Qin, Y., Hu, Q., Ji, S., Xu, J., Dai, W., Liu, W., . . . Xu, X. (2019). Homeodomain-interacting protein kinase 2 suppresses proliferation and aerobic glycolysis via ERK/cMyc axis in pancreatic cancer. *Cell Prolif*, 52(3), e12603. <https://doi.org/10.1111/cpr.12603>

- Ramnarine, V. R., Kobelev, M., Gibb, E. A., Nouri, M., Lin, D., Wang, Y., . . . Collins, C. C. (2019). The evolution of long noncoding RNA acceptance in prostate cancer initiation, progression, and its clinical utility in disease management. *Eur Urol*, 76(5), 546-559. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.07.040>
- Salmena, L., Poliseno, L., Tay, Y., Kats, L., & Pandolfi, P. P. (2011). A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? *Cell*, 146(3), 353-358. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.07.014>
- Santosh, B., Varshney, A., & Yadava, P. K. (2015). Non-coding RNAs: biological functions and applications. *Cell Biochem Funct*, 33(1), 14-22. <https://doi.org/10.1002/cbf.3079>
- Schaefer, A., Jung, M., Mollenkopf, H. J., Wagner, I., Stephan, C., Jentzmik, F., . . . Jung, K. (2010). Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma. *Int J Cancer*, 126(5), 1166-1176. <https://doi.org/10.1002/ijc.24827>
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., . . . Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res*, 13(11), 2498-2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- Shih, J. W., Wang, L. Y., Hung, C. L., Kung, H. J., & Hsieh, C. L. (2015). Non-Coding RNAs in Castration-Resistant Prostate Cancer: Regulation of Androgen Receptor Signaling and Cancer Metabolism. *Int J Mol Sci*, 16(12), 28943-28978. <https://doi.org/10.3390/ijms161226138>
- Song, Y., Du, J., Lu, P., Zou, Q., Zeng, S., Liu, M., . . . Niu, F. (2021). LncRNA NFYC-AS1 promotes the development of lung adenocarcinomas through autophagy, apoptosis, and MET/c-Myc oncogenic proteins. *Ann Transl Med*, 9(21), 1621. <https://doi.org/10.21037/atm-21-4995>
- Stafford, M. Y. C., & McKenna, D. J. (2023). MiR-182 Is Upregulated in Prostate Cancer and Contributes to Tumor Progression by Targeting MITF. *Int J Mol Sci*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/ijms24031824>
- Sun, B., Liu, C., Li, H., Zhang, L., Luo, G., Liang, S., & Lu, M. (2020). Research progress on the interactions between long non-coding RNAs and microRNAs in human cancer. *Oncol Lett*, 19(1), 595-605. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.11182>
- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., . . . Mering, C. V. (2019). STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res*, 47(D1), D607-D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
- Tang, S., Liao, K., Shi, Y., Tang, T., Cui, B., & Huang, Z. (2022). Bioinformatics analysis of potential Key lncRNA-miRNA-mRNA molecules as prognostic markers and important ceRNA axes in gastric cancer. *Am J Cancer Res*, 12(5), 2397-2418. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35693096>
- Tang, T., & Shan, G. (2019). DGCR5 promotes cancer stem cell-like properties of radioresistant laryngeal carcinoma cells by sponging miR-506 via Wnt pathway. *J Cell Physiol*, 234(10), 18423-18431. <https://doi.org/10.1002/jcp.28478>
- Tang, Z., Li, C., Kang, B., Gao, G., Li, C., & Zhang, Z. (2017). GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Res*, 45(W1), W98-W102. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx247>

- Thomas, J. J., Abed, M., Heuberger, J., Novak, R., Zohar, Y., Beltran Lopez, A. P., . . . Orian, A. (2016). RNF4-Dependent Oncogene Activation by Protein Stabilization. *Cell Rep*, 16(12), 3388-3400. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.08.024>
- Tomczak, K., Czerwinska, P., & Wiznerowicz, M. (2015). The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. *Contemp Oncol (Pozn)*, 19(1A), A68-77. <https://doi.org/10.5114/wo.2014.47136>
- Tong, F., Xu, L., Xu, S., & Zhang, M. (2022). Identification of an autophagy-related 12-lncRNA signature and evaluation of NFYC-AS1 as a pro-cancer factor in lung adenocarcinoma. *Front Genet*, 13, 834935. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.834935>
- Tong, Y., Merino, D., Nimmervoll, B., Gupta, K., Wang, Y. D., Finkelstein, D., . . . Gilbertson, R. J. (2015). Cross-Species Genomics Identifies TAF12, NFYC, and RAD54L as Choroid Plexus Carcinoma Oncogenes. *Cancer Cell*, 27(5), 712-727. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.04.005>
- van der Plaats, D. A., Vonk, J. M., Lahousse, L., de Jong, K., Faiz, A., Nedeljkovic, I., . . . Boezen, H. M. (2019). Limited overlap in significant hits between genome-wide association studies on two airflow obstruction definitions in the same population. *BMC Pulm Med*, 19(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s12890-019-0811-0>
- Wallis, C. J., Gordanpour, A., Bendavid, J. S., Sugar, L., Nam, R. K., & Seth, A. (2015). MiR-182 Is Associated with Growth, Migration and Invasion in Prostate Cancer via Suppression of FOXO1. *J Cancer*, 6(12), 1295-1305. <https://doi.org/10.7150/jca.13176>
- Wang, A., Jin, C., Li, H., Qin, Q., & Li, L. (2018). LncRNA ADAMTS9-AS2 regulates ovarian cancer progression by targeting miR-182-5p/FOXF2 signaling pathway. *Int J Biol Macromol*, 120(Pt B), 1705-1713. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.179>
- Wang, D., Li, M., Li, J., Wan, X., Huang, Y., Wang, C., . . . Li, L. (2020). Comprehensive Characterization of Androgen-Responsive lncRNAs Mediated Regulatory Network in Hormone-Related Cancers. *Dis Markers*, 2020, 8884450. <https://doi.org/10.1155/2020/8884450>
- Wang, D., Sang, Y., Sun, T., Kong, P., Zhang, L., Dai, Y., . . . Liu, W. (2021). Emerging roles and mechanisms of microRNA-222-3p in human cancer (Review). *Int J Oncol*, 58(5). <https://doi.org/10.3892/ijo.2021.5200>
- Wang, J., Liu, S., Pan, T., Wang, M., Li, L., Weng, X., . . . Zhou, X. (2021). Long non-coding RNA ZNF674-AS1 regulates miR-23a/E-cadherin axis to suppress the migration and invasion of non-small cell lung cancer cells. *Transl Cancer Res*, 10(9), 4116-4124. <https://doi.org/10.21037/tcr-21-1499>
- Wang, J. J., Huang, Y. Q., Song, W., Li, Y. F., Wang, H., Wang, W. J., & Huang, M. (2019). Comprehensive analysis of the lncRNA-associated competing endogenous RNA network in breast cancer. *Oncol Rep*, 42(6), 2572-2582. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7374>
- Wang, R., Dong, H. X., Zeng, J., Pan, J., & Jin, X. Y. (2018). LncRNA DGCR5 contributes to CSC-like properties via modulating miR-330-5p/CD44 in NSCLC. *J Cell Physiol*, 233(9), 7447-7456. <https://doi.org/10.1002/jcp.26590>
- Wang, Y. G., Liu, J., Shi, M., & Chen, F. X. (2018). LncRNA DGCR5 represses the development of hepatocellular carcinoma by targeting the miR-346/KLF14 axis. *J Cell Physiol*, 234(1), 572-580. <https://doi.org/10.1002/jcp.26779>

- Watanabe, A., Suzuki, H., Yokobori, T., Tsukagoshi, M., Altan, B., Kubo, N., . . . Kuwano, H. (2014). Stathmin1 regulates p27 expression, proliferation and drug resistance, resulting in poor clinical prognosis in cholangiocarcinoma. *Cancer Sci*, 105(6), 690-696. <https://doi.org/10.1111/cas.12417>
- Watson, P. A., Arora, V. K., & Sawyers, C. L. (2015). Emerging mechanisms of resistance to androgen receptor inhibitors in prostate cancer. *Nat Rev Cancer*, 15(12), 701-711. <https://doi.org/10.1038/nrc4016>
- Winter, M., Sombroek, D., Dauth, I., Moehlenbrink, J., Scheuermann, K., Crone, J., & Hofmann, T. G. (2008). Control of HIPK2 stability by ubiquitin ligase Siah-1 and checkpoint kinases ATM and ATR. *Nat Cell Biol*, 10(7), 812-824. <https://doi.org/10.1038/ncb1743>
- Wong, T. S., Liu, X. B., Wong, B. Y., Ng, R. W., Yuen, A. P., & Wei, W. I. (2008). Mature miR-184 as Potential Oncogenic microRNA of Squamous Cell Carcinoma of Tongue. *Clin Cancer Res*, 14(9), 2588-2592. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-0666>
- Xie, X., Dai, J., Huang, X., Fang, C., & He, W. (2019). MicroRNA-145 inhibits proliferation and induces apoptosis in human prostate carcinoma by upregulating long non-coding RNA GAS5. *Oncol Lett*, 18(2), 1043-1048. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10419>
- Xie, Z., Bailey, A., Kuleshov, M. V., Clarke, D. J. B., Evangelista, J. E., Jenkins, S. L., . . . Ma'ayan, A. (2021). Gene Set Knowledge Discovery with Enrichr. *Curr Protoc*, 1(3), e90. <https://doi.org/10.1002/cpz1.90>
- Xu, G., & Li, J. Y. (2016). Differential expression of PDGFRB and EGFR in microvascular proliferation in glioblastoma. *Tumour Biol*, 37(8), 10577-10586. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-4968-3>
- Xu, Y., Zhang, G., Zou, C., Gong, Z., Wang, S., Liu, J., . . . Jiang, P. (2019). Long noncoding RNA DGCR5 suppresses gastric cancer progression by acting as a competing endogenous RNA of PTEN and BTG1. *J Cell Physiol*, 234(7), 11999-12010. <https://doi.org/10.1002/jcp.27861>
- Xue, D., Zhou, C., Lu, H., Xu, R., Xu, X., & He, X. (2016). LncRNA GAS5 inhibits proliferation and progression of prostate cancer by targeting miR-103 through AKT/mTOR signaling pathway. *Tumour Biol*. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5429-8>
- Yang, D., Zhao, Y., Liu, J., Sun, Y., & Jia, L. (2012). Protective autophagy induced by RBX1/ROC1 knockdown or CRL inactivation via modulating the DEPTOR-MTOR axis. *Autophagy*, 8(12), 1856-1858. <https://doi.org/10.4161/auto.22024>
- Yang, Y., Liu, K. Y., Liu, Q., & Cao, Q. (2021). Androgen Receptor-Related Non-coding RNAs in Prostate Cancer. *Front Cell Dev Biol*, 9, 660853. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.660853>
- Yao, J., Xu, C., Fang, Z., Li, Y., Liu, H., Wang, Y., . . . Sun, Y. (2016). Androgen receptor regulated microRNA miR-182-5p promotes prostate cancer progression by targeting the ARDC3/ITGB4 pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 474(1), 213-219. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.04.107>
- Ye, K., & Wang, Y. (2022). Long non-coding RNA ZNF674-AS1 antagonizes oxaliplatin resistance of gastric cancer via regulating EZH2-mediated methylation of CHST7. *Aging (Albany NY)*, 14(13), 5523-5536. <https://doi.org/10.18632/aging.204165>
- Yoo, J. O., Kwak, S. Y., An, H. J., Bae, I. H., Park, M. J., & Han, Y. H. (2016). miR-181b-3p promotes epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells

- through Snail stabilization by directly targeting YWHAG. *Biochim Biophys Acta*, 1863(7 Pt A), 1601-1611. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.04.016>
- Yuan, Y., Jiang, X., Tang, L., Wang, J., Zhang, D., Cho, W. C., & Duan, L. (2021). FOXM1/lncRNA TYMSOS/miR-214-3p-Mediated High Expression of NCAPG Correlates With Poor Prognosis and Cell Proliferation in Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Front Mol Biosci*, 8, 785767. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.785767>
- Zhang, L., He, T., Yan, Y., Zhang, Y., Zhou, X., Huang, P., . . . Wang, W. (2016). Expression and Clinical Significance of the Novel Long Noncoding RNA ZNF674-AS1 in Human Hepatocellular Carcinoma. *Biomed Res Int*, 2016, 3608914. <https://doi.org/10.1155/2016/3608914>
- Zhang, R., Lin, P., Yang, H., He, Y., Dang, Y. W., Feng, Z. B., & Chen, G. (2017). Clinical role and biological function of CDK5 in hepatocellular carcinoma: A study based on immunohistochemistry, RNA-seq and in vitro investigation. *Oncotarget*, 8(65), 108333-108354. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22659>
- Zhang, X., Feng, S., Fan, Y., Luo, Y., Jin, L., & Li, S. (2020). Identifying a Comprehensive ceRNA Network to Reveal Novel Targets for the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Front Neurol*, 11, 810. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00810>
- Zhang, Y., Pitchiaya, S., Cieslik, M., Niknafs, Y. S., Tien, J. C., Hosono, Y., . . . Chinnaiyan, A. M. (2018). Analysis of the androgen receptor-regulated lncRNA landscape identifies a role for ARLNC1 in prostate cancer progression. *Nat Genet*, 50(6), 814-824. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0120-1>
- Zhang, Y., Su, X., Kong, Z., Fu, F., Zhang, P., Wang, D., . . . Li, Y. (2017). An androgen reduced transcript of LncRNA GAS5 promoted prostate cancer proliferation. *PLoS One*, 12(8), e0182305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182305>
- Zhang, Z., Wang, J., Zhang, X., Ran, B., Wen, J., & Zhang, H. (2023). TYMSOS-miR-101-3p-NETO2 axis promotes osteosarcoma progression. *Mol Cell Probes*, 67, 101887. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2022.101887>
- Zhang, Z., Wen, P., Li, F., Yao, C., Wang, T., Liang, B., . . . He, L. (2018). HIPK2 inhibits cell metastasis and improves chemosensitivity in esophageal squamous cell carcinoma. *Exp Ther Med*, 15(1), 1113-1118. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.5468>
- Zhao, J. J., Chu, Z. B., Hu, Y., Lin, J., Wang, Z., Jiang, M., . . . Carrasco, R. D. (2015). Targeting the miR-221-222/PUMA/BAK/BAX Pathway Abrogates Dexamethasone Resistance in Multiple Myeloma. *Cancer Res*, 75(20), 4384-4397. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-0457>
- Zhu, C., Shao, P., Bao, M., Li, P., Zhou, H., Cai, H., . . . Yin, C. (2014). miR-154 inhibits prostate cancer cell proliferation by targeting CCND2. *Urol Oncol*, 32(1), 31 e39-16. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2012.11.013>
- Zhu, J., Liu, S., Ye, F., Shen, Y., Tie, Y., Zhu, J., . . . Fu, H. (2014). The long noncoding RNA expression profile of hepatocellular carcinoma identified by microarray analysis. *PLoS One*, 9(7), e101707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101707>
- Zou, Z., Liu, R., Liang, Y., Zhou, R., Dai, Q., Han, Z., . . . Liang, Y. (2021). Identification and Validation of a PPP1R12A-Related Five-Gene Signature

Associated With Metabolism to Predict the Prognosis of Patients With Prostate Cancer. *Front Genet*, 12, 703210. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.703210>



Ekler

Tez çalışması kapsamında araştırmacıların erişimine açık veri setleri kullanıldığından, Etik Kurul Onayının alınması gerekmemiştir.



Teşekkür

Çalışmalarına başladığım andan itibaren bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen değerli tez danışmanım Doç. Dr. Buket KOSOVA' ya teşekkür ederim.

Çalışma sürecinde hep yanımda olan ve desteğini yakından hissettiğim yol arkadaşım sevgili eşim Işıl SEYRANİ AKTAN' a sonsuz teşekkür eder, varlığı ile beni heyecanlandıran ve çalışma şevkimi artıran kıymetli kızım İlgi AKTAN' a bu tez çalışmasını armağan ederim.

İzmir, 28.07.2023

Çağdaş AKTAN



Özgeçmiş

2005 yılında Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. Yüksek Lisans eğitimini 2008, doktora eğitimini ise 2013 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda tamamladı. 2014 yılında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sağlık Biyoinformatiği Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. 2017 yılından beri Beykent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Öğretim Üyesi olarak çalışmaktadır. 8 ulusal, 28 uluslararası makalesi; 22 ulusal, 21 uluslararası bildirisi bulunmaktadır. Bununla birlikte, ulusal / uluslararası kitap bölümleri ve tamamlanmış / devam eden araştırma projeleri bulunmaktadır.

e-posta: