



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**AKCİĞER KANSERİNDE OMİK VERİ TABANLI
ANALİZLER VE BİYOBELİRTEÇLERİN
ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Ayşe CANER

Sağlık Biyoinformatiği Anabilim Dalı

İzmir
2024

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**AKCİĞER KANSERİNDE OMİK VERİ TABANLI
ANALİZLER VE BİYOBELİRTEÇLERİN
ARAŞTIRILMASI**

Ayşe CANER

Danışman
Prof. Dr. Burak ORDİN

Sağlık Biyoinformatiği Anabilim Dalı
Sağlık Biyoinformatiği Yüksek Lisans Dereceli Doktora

İzmir
2024

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof. Dr. Burak Ordin

(Danışman)

Üye : Doç. Dr. Arif Gürsoy

Üye : Doç. Dr. Buket Kosova

Üye : Dr.Öğr.Üyesi Ufuk Mert

Üye : Dr.Öğr.Üyesi Besra Özmen Yelken

Üye : Dr.Öğr.Üyesi Aslı Güler Serinken

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 16.07.2024

Önsöz

Bilgi işleme tekniklerini ve informatik yöntemlerini kullanarak biyolojik verilerin çözümlemesine yönelik bir alan olan biyoinformatik doktorasına, kanser ve enfeksiyonlar konusunda moleküler araştırmalara ve sağlık sektörüne inovatif çözümler getirme potansiyeli amacıyla başladım.

Ege Üniversitesi Sağlık Biyoinformatiği programı kapsamında gerçekleştirdiğim doktora eğitimim ile planladığım hedeflerin önemli bir kısmına ulaşmış durumdayım.

Bu süreç boyunca bilimsel ve araştırma alanlarında önemli deneyimlere sahip olan, tez sürecim boyunca bana verdiği güven ve desteği için Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Matematik Bölümü, Bilgisayar Bilimleri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi olan danışmanım Prof. Dr. Burak ORDİN'e,

Tez çalışmam sırasında, bilimsel bir ortam sağlayan, EGESAM laboratuvar ortamında çalışmama olanak sağlayan Ege Üniversitesi Translasyonel Solunum Araştırma Merkezinin grup üyelerine,

Tez çalışmamdaki analizler konusunda destek sağlayan ve her konuda yardım eden Sercan Öztürk'e

Akademik hayatımın her döneminde desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve bana güven duyan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım,

İzmir, 16. 07. 2024

Ayşe CANER

Özet

Akciğer Kanserinde Omik Veri Tabanlı Analizler ve Biyobelirteçlerin Araştırılması

Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin tanısında biyobelirteç olabilecek gen adayların biyoinformatik analizler ile bulunması

Giriş: Akciğer kanseri, dünya çapında kanser ölümlerinin en önde gelen nedenlerinden biri olup tanı ve tedavisi hala çok zordur. Bu tez çalışmasında, diferansiyel olarak ifade edilen genlere (DEG) dayalı olarak küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) en anlamlı seviyede değişiklik gösteren genleri ve moleküler yolları taramak için bütünleştirici bir biyoinformatik analiz gerçekleştirerek, KHDAK tanısında biyobelirteç olabilecek adayların bulunması amaçlanmıştır.

Yöntemler: DEG'leri tanımlamak için Gene Expression Omnibus (GEO) veri bankası kaynağı kullanılarak KHDAK ile ilgili veri kümeleri seçilmiştir. Burada KHDAK hastalarının kanserli ve sağlam dokularını analiz eden RNA sekans sonuçlarını içeren üç veri kümesi çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm verilerin analizi ve DEG'leri tanımlamak için R yazılımı ve DESeq2 paketi kullanılmıştır. DEG'lerin potansiyel biyolojik süreçlerin ve moleküler işlevlerin analizi "Gene Ontology" (GO) analizi ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, en önemli DEG'lerin genel sağkalımla ilişkilerinin araştırılması Kaplan-Meier plotter kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Son olarak, biyobelirteç adayları olarak belirlenen en potansiyel genler Kanser Genom Atlası (TCGA) ile doğrulanmıştır.

Bulgular: KHDAK hastalarında tümör ve normal akciğer dokusu arasında yukarı ve aşağı regüle olan DEG'ler bulunmuştur. Bunlardan üç veri kümesinde de ortak olan 125 yukarı ve 124 aşağı regüle olan DEG'ler tespit edilmiştir. GO analizi, DEG'lerin hücre bölünmesi, hücre döngüsü ve hücre göçü alanlarında zenginleştiğini göstermiştir. DEG analizleri ve sağkalım analizleri sonucu ile sekiz biyobelirteç aday geni belirlenmiştir. Bu biyobelirteç aday paneli istatistiksel olarak en anlamlı TPX2, MYBL2, CDC20, UBE2T, UBE2C, NME1, HMGA1 ve DYNLT5 genlerden oluşmaktadır. Bunların içerisinde DYNLT5 geni ilk kez bu çalışmada akciğer kanserinde bir biyobelirteç adayı olarak rapor edilmiştir.

Sonuç: Çoklu RNA-seq analizine ve genel sağkalıma dayalı olarak KHDAK'deki en önemli DEG'ler ve moleküler mekanizmalar belirlenerek, potansiyel tanısal biyobelirteç adayı olarak hizmet edebilecek bir gen paneli tanımlanmıştır.

Anahtar Kelimeler; Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK), RNA sekans, diferansiyel genler (DEG'ler), biyobelirteç



Abstract

Omics Data-Based Analysis and Investigation of Biomarkers in Lung Cancer

Background: Lung cancer is one of the leading causes of cancer deaths worldwide and remains very challenging to diagnose and treat. In this thesis, we performed an integrative bioinformatics analysis to screen the top genes and molecular pathways in non-small cell lung cancer (NSCLC) based on differentially expressed genes (DEGs) in order to candidates that could be biomarkers in the diagnosis of NSCLC.

Methods: NSCLC-related datasets were selected using the Gene Expression Omnibus (GEO) database resource to identify DEGs. Three datasets containing RNA-seq results analyzing cancerous and intact tissues of NSCLC patients were included in the study. R software and the DESeq2 package were used to analyze all data and identify DEGs. Analysis of the potential biological processes and molecular functions of DEGs was carried out by “Gene Ontology” (GO) analysis. Next, the most significant DEGs were analyzed for their association with overall survival using the Kaplan-Meier plotter. Finally, the most potential genes identified as biomarker candidates were validated by The Cancer Genome Atlas (TCGA).

Results: Up- and down-regulated DEGs have been found between tumor and normal lung tissue in NSCLC patients. Of these, 125 up-regulated and 124 down-regulated DEGs were identified, which were common in all three datasets. GO analysis showed that DEGs were enriched in the areas of cell division, cell cycle, and cell migration. Together with DEG analyzes and survival analyses, eight biomarker candidate genes were identified. This panel of biomarker candidates consists of the most statistically significant genes TPX2, MYBL2, CDC20, UBE2T, UBE2C, NME1, HMGA1 and DYNLT5. Among these, DYNLT5 was reported for the first time as a biomarker in lung cancer.

Conclusions: Based on multiplex RNA-seq analysis and overall survival, the most important DEGs and their molecular mechanisms were identified in NSCLC. It is thought that these genes can serve as a panel of potential diagnostic biomarker candidates.

Keywords: Non-small cell lung cancer (NSCLC), RNA sequences, differentially expressed genes (DEGs), biomarker.

İçindekiler

Önsöz.....	I
Özet.....	III
Abstract.....	V
İçindekiler	I
Tablolar Dizini.....	VIII
Şekiller Dizini	IX
Grafikler Dizini	X
Giriş	
1.1. Araştırmanın Problemi.....	1
1.2. Araştırmanın Sorusu	2
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	2
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	3
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	3
1.6. Araştırmanın Amacı	3
Genel Bilgiler	4
2.1. Akciğer kanseri genel özellikleri.....	4
2.2. Kanserde biyobelirteçler.....	5
2.3. Kanser biyobelirteçlerini tespit etmek için kullanılan teknikler.....	6
2.4. Gen ekspresyon analizleri.....	7
2.5. Akciğer kanserinde biyobelirteçler.....	8
2.5.1. DNA bazlı biyobelirteçler.....	9
2.5.2. RNA bazlı biyobelirteçler.....	10
Gereç ve Yöntem	13
3.1. Veri toplama.....	13
3.2. Veri ön işleme ve DEG'lerin tanımlanması.....	13
3.3. DEG'lerin fonksiyon zenginleştirme analizi.....	15
3.4. Sağ kalım analizi.....	15
Bulgular.....	16
4.1. GSE171415 veri setinin normalizasyon ve varyans sonuçları.....	16
4.2. GSE171415 veri setindeki akciğer dokularında diferansiyel olarak ifade edilen genlerin tanımlanması	18
4.3. GSE120622 veri setinin normalizasyon ve varyans sonuçları.....	21

4.4. GSE120622 veri setindeki akciğer dokularında diferansiyel olarak ifade edilen genlerin tanımlanması.....	23
4.5. GSE127559 veri setinin normalizasyon ve varyans sonuçları.....	27
4.6. GSE127559 veri setindeki akciğer dokularında diferansiyel olarak ifade edilen genlerin tanımlanması.....	29
4.7. Üç veri setinde ortak diferansiyel olarak ifade edilen genleri	33
4.8. Üç veri setinde en anlamlı seviyede diferansiyel olarak ifade edilen genlerin ekspresyon seviyeleri.....	34
4.9. Fonksiyonel zenginleştirme analizi.....	38
4.10. Sag-kalim modeli oluşturma ve tahmin doğruluğu değerlendirmesi.....	40
4.11. Küçük hücre dışı akciğer kanserinde tanısal biyobelirteç adayları	45
Tartışma	46
Sonuç ve Öneriler.....	62
Kaynaklar	64
Özgeçmiş	86

Tablolar Dizini

Tablo 1. GSE171415 veri setinde en anlamlı seviyede düzenlenmiş olan otuz DEG'in özellikleri.....	20
Tablo 2. GSE120622 veri setinde en anlamlı seviyede düzenlenmiş olan otuz DEG'in özellikleri.....	26
Tablo 3. GSE127559 veri setinde en anlamlı seviyede düzenlenmiş olan otuz DEG'in özellikleri.....	32
Tablo 4. GO zenginleştirme analizi.....	38



Şekiller Dizini

Şekil 1. Üç bağımsız veri setinde yukarı (A) ve aşağı (B) regüle olan genlerin venn analizi.....34



Grafikler Dizini

Grafik 1. GSE171415 veri setinin normalizasyon grafiği.....	16
Grafik 2. GSE171415 veri setinin ortalama-varyans eğilimi	17
Grafik 3. GSE171415 veri setinin d¼zeltilmiř P-değeri histogramı	17
Grafik 4. GSE171415 veri setinin UMAP grafiği	17
Grafik 5. GSE171415 veri setinin heat map grafiği	18
Grafik 6. GSE171415 veri setinin volkan plot grafiği	19
Grafik 7. GSE120622 veri setinin normalizasyon grafiği.....	22
Grafik 8. GSE120622 veri setinin ortalama-varyans eğilimi	22
Grafik 9. GSE120622 veri setinin d¼zeltilmiř P-değeri histogramı	22
Grafik 10. GSE120622 veri setinin UMAP grafiği	23
Grafik 11. GSE120622 veri setinin heat map grafiği	24
Grafik 12. GSE120622 veri setinin volkan plot grafiği	25
Grafik 13. GSE127559 veri setinin normalizasyon grafiği.....	28
Grafik 14. GSE127559 veri setinin ortalama-varyans eğilimi	28
Grafik 15. GSE127559 veri setinin d¼zeltilmiř P-değeri histogramı	29
Grafik 16. GSE127559 veri setinin UMAP grafiği	29
Grafik 17. GSE127559 veri setinin heat map grafiği	30
Grafik 18. GSE127559 veri setinin volkan plot grafiği	31
Grafik 19. GSE171415 veri setinin en anlamlı seviyede DEG'lerin ekspresyon seviyesi.....	35
Grafik 20. GSE120622 veri setinin en anlamlı seviyede DEG'lerin ekspresyon seviyesi.....	36
Grafik 21. GSE127559 veri setinin en anlamlı seviyede DEG'lerin ekspresyon seviyesi.....	37
Grafik 22. GSE171415 veri setindeki önemli DEG'lerin sagkalım grafikleri.....	41
Grafik 23. GSE120622 veri setindeki önemli DEG'lerin sagkalım grafikleri.....	43
Grafik 24. GSE127559 veri setindeki önemli DEG'lerin sagkalım grafikleri.....	44
Grafik 25. TCGA veri bankasında DEG'lerin sonuçları.....	45

Giriş

1.1. Araştırmanın Problemi

En yaygın malign tümörlerden biri olan akciğer kanseri, dünyada kansere bağlı ölümlerin en önde gelen nedenidir. Hastalık erkeklerde en sık, kadınlarda ise dördüncü sırada en sık görülen tümör olarak belirlenmiştir. Akciğer kanseri genel olarak küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olarak iki farklı gruba ayrılmaktadır. En sık görülen tip KHDAK ve patolojik olarak adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olmak üzere 3 farklı tipe ayrılmaktadır.

Son yıllarda gelişen teknoloji ve çalışmalar ile birlikte akciğer kanserinin oluşumu, gelişimi ve metastazı altında yatan moleküler mekanizmalar daha iyi anlaşılma ve yeni tedavi molekülleri bulunmaya başlamıştır. Kanser moleküler mekanizmasının incelenmesi, akciğer kanserinin sınıflandırılmasına ve tedavisine rehberlik etmekte ve hedefe yönelik tedavi ve immünoterapinin hızlı ilerlemesini teşvik etmektedir. Bu yeni tedavilerin büyük ölçekli araştırmaları ve klinik denemeleri, akciğer kanserinin bireyselleştirilmiş tedavisi için umutlar sağlamaktadır. Yeni terapötik stratejilerin uygulanmasına rağmen, tanıdaki gecikmeler ve 5 yıllık sağkalım oranı hala düşük kalmaya devam etmektedir.

Biyobelirteçler akciğer kanserinin tanı, tedavi ve prognoz değerlendirmesinde oldukça önemlidir. Son on yılda akciğer kanseri tanısında biyobelirteçler ile çok fazla ilerleme kaydedilmiştir ve bunlar akciğer kanserinin değerlendirilmesinde yaygın olarak uygulanmaktadır. Örneğin, anaplastik lenfoma kinazın (ALK) 'nın anormal füzyon geni EML4-ALK ile sonuçlanan aktive edici translokasyonları, tüm KHDAK vakalarının yaklaşık %2-7'sinde görülmektedir. Bu gen RAS-MEK-ERK, janus kinaz 3 (JAK3)-STAT3 ve PI3K-AKT yollarının aktivasyonuna izin veren konstitüif kinaz aktivitesine sahip sitoplazmik bir kimerik protein kodlamaktadır. EGFR mutasyonlarına benzer şekilde, KHDAK'deki ALK yeniden düzenlemeleri, adenokarsinom histolojisi ve sigara içme öyküsü gibi klinik ve histopatolojik özelliklerle ilişkilendirilmiştir. ALK'ya rekabetçi bir şekilde bağlanan bir tirozin kinaz inhibitörü (TKI) olan crizotinib ile tedavi, faz I klinik çalışmasında tedavi edilen ALK-pozitif KHDAK hastalarında %60,8'lik bir başlangıç genel yanıt oranı göstermiş ve molekülü hızlandırılmış bir FDA onay sürecine ilerletmiştir. ALK-pozitif KHDAK'de

crizotinib ile docetaxel/pemetrexed'i karşılaştıran randomize faz III çalışmasının sonuçları, crizotinibin daha iyi ORR ve medyan progresyonsuz sağkalım (PFS) ile sonuçlandığını kesin olarak göstermiştir. Bir tirozin kinaz reseptörü olan epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), KHDAK'li hastaların %62'sinde aşırı eksprese edilmektedir. Tirozin kinaz inhibitörleri, yüksek yanıt oranları (%55-78) ve PFS oranları nedeniyle EGFR mutasyonları olan hastaların standart tedavisi olmuştur. Bu nedenle, yeni tanı ve tedavi hedeflerinin keşfi, akciğer kanserinin erken teşhisi, ilaç geliştirilmesi ve hedefe yönelik tedavisi için büyük önem taşımaktadır.

Biyoinformatik analiz, kanserle ilişkili genetik değişiklikleri tanımlamak için kanser araştırmalarında yaygın olarak uygulanmaktadır. Önceki çalışmalar, çeşitli kanser türlerinde diferansiyel olarak ifade edilen genleri (DEG'ler) tanımlamanın yanı sıra biyolojik süreçler, moleküler işlevler ve farklı yollardaki rollerini belirlemek için biyoinformatik analizler gerçekleştirmiştir. Bu doğrultuda, akciğer kanserinin potansiyel patogenezini araştırmak için RNA sekans teknolojisi ile üretilen veriler analiz edilmesi önemlidir. Özellikle, DEG'ler genel sağkalım oranına dayalı olarak küçük hücreli dışı akciğer kanserinde merkez genleri ve kritik yolları taramak için bütünleştirici bir biyoinformatik analizi gerçekleştirmek AK tanısında önemli bir soruna destek sağlayabilir ve bu DEG'ler akciğer kanserinde aday biyobelirteçler olarak hizmet edebilir.

Gelişen teknoloji ve yeni tanı stratejilerine rağmen, erken tanı ve hastalığın takibi için gerekli olan biyobelirteçler hala yetersiz kalmakta ve hastalığın tanısı ile sağkalım oranı hala düşük kalmaya devam etmektedir. Bu durumda biyoinformatik analizler ile var olan verilerin analizi bu konuda önemli ilerlemelere neden olabileceği kanaatindeyiz

1.2. Araştırmanın Sorusu

Akciğer kanseri ile ilişkili RNA sekans veri tabanları kullanılarak diferansiyel olarak ifade edilen genlerin bütünleştirici bir biyoinformatik analizi ile tanımlanması, akciğer kanserin tanısında ve kanser mekanizmasında rol oynayan merkez genleri ve kritik yolların belirlenmesinde aday biyobelirteçler olarak hizmet edebilir mi?

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

Konu ile ilgili hipotezlerimiz; i. Akciğer kanseri ile ilişkili RNA sekans veri tabanları kullanılarak diferansiyel olarak ifade edilen genlerin (DEG'ler) bütünleştirici bir

biyoinformatik analizi ile tanımlanabilir. ii. Bu DEG'ler akciğer kanserin tanısında biyobelirteçler olarak kullanılabilir. iii. Kanser mekanizmasında rol oynayan merkez genlerin ve kritik yolların belirlenmesine kanser mekanizmasının açıklanmasına hizmet edebilir.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Sağlıklı ve hasta gruplar arasında doku ve kan gibi vücut örneklerinde RNA sekans verileri ile çeşitli çalışmalar ile yapılmış ve ilgili genler gösterilmiştir. Akciğer kanseri ile ilişkili RNA sekans verileri ile diferansiyel olarak ifade edilen genler biyoinformatik analiz ile tanımlanabilir. Bu DEG'ler akciğer kanserin tanısında biyobelirteçler olarak kullanılabilir. Ayrıca kanser mekanizmasında rol oynayan moleküler yolların belirlenmesine destek sağlayabilecektir.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Çalışma ne kadar insan verileri kullanılarak elde edilmiş olsa da elde edilen verilerin çok daha fazla sayıda ve sağlıklı gruplarda valide edilmemesi bir kısıtlılıktır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı, akciğer kanserinin prognostik genlerini taramak için birleşik bir veri tabanı ile akciğer kanserinin gelişiminde genetik belirteçlerin olası mekanizmasını ve klinik değerini tahmin etmek ve araştırmaktır.

Genel Bilgiler

2.1. Akciğer kanseri genel özellikleri

Akciğer kanseri (AK), genellikle akciğer hücrelerinin anormal ve kontrolsüz bir şekilde büyümesi sonucu oluşan bir kanser türüdür. AK dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biri olup Avrupa'da kanserden kaynaklanan ölümlerin yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır ve yüksek nüks riski taşımaktadır (Lu, 2010; Boyle, 2005; Wood, 2000). Histopatolojik analize dayalı olarak, AK dört ana histolojik alt tipe ayrılmaktadır; küçük hücreli akciğer kanseri, skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve büyük hücreli karsinom. Bunlardan son üç alt tip küçük hücreli dışı AK(KHDAK) olarak adlandırılmakta ve akciğer kanserinin %80'ini oluşturmaktadır (Hou, 2010; Nugent 1997). KHDAK'li hastaların yaklaşık %25-30'u evre 1 olup yalnızca cerrahi müdahale görmektedir. Küratif cerrahi uygulanmasına rağmen, evre 1'deki KHDAK hastalarının %25'inden fazlası 5 yıl içinde tekrarlayan hastalık nedeniyle hayatını kaybetmektedir (Lu, 2012). AK için tanımlanan risk faktörleri arasında sigara, radyasyon, hava kirliliği, genetik faktörler, kimyasal ve bazı mesleki maruziyetler yer almaktadır (Wood, 2000). Kronik bronşit, amfizem, pnömoni ve tüberküloz gibi akciğer hastalıkları, ailesel tümör öyküsü ve diyet de akciğer kanserine neden olan risk faktörleri arasında sayılabilir (Zhang, 2021).

Erken teşhis ve standart tedavideki ilerlemelere rağmen, hastaların çoğu ileri evrede teşhis edilmekte ve kötü bir prognoza sahip olmaktadır; 5 yıllık genel sağkalım oranı %10 ila %15 arasında değişmektedir (Cagle, 2013). KHDAK'nin yüksek ölüm oranı kısmen erken teşhis, belirsiz moleküler mekanizma ve terapötik yöntemlerin eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, güvenilir klinik ve moleküler tanı ve prognostik faktörlerin yanı sıra tekrarlayan KHDAK evre1 tedavisi için kılavuzlar henüz tam olarak aydınlatılmamıştır (Lu, 2012).

ABD Ulusal Akciğer Tarama Çalışması (National Lung Screening Trial=NLST) ve diğer randomize olmayan çalışmalar düşük doz bilgisayarlı tomografi (LDCT) taramasının mortaliteyi azaltabileceğini (~%20) göstermiştir (Aberle, 2011). Yakın zamanda, Avrupa NELSON çalışması 10 yılda AK mortalitesinde ~%25 ve 10 yılda ~%30'a varan bir azalma gözlemlemiştir (De Konning, 2020). LDCT taramasının dezavantajı, yüksek maliyetler, radyasyona maruz kalma riski ve tarama popülasyonunda gözlenen yanlış pozitifliklerle ilgili belirsizliklerin varlığıdır, bu da

Avrupa'da AK için LDCT taramasının tamamen güvenli bir şekilde geniş ölçekte uygulanmasını engelleyebilir (Kinsinger, 2017; Puggina, 2016). Şüpheli nodüller invaziv incelemeler gerektirebileceğinden, gereksiz morbiditeye ve risk altındaki bireyler arasında taramanın kabulünün azalmasına neden olabileceğinden, yanlış pozitiflik oranı özellikle sorunludur. Bu nedenle, tarama doğruluğunu artırmayı amaçlayan minimal invazif yaklaşımlarla analiz edilebilen yenilikçi kanser biyobelirteçleri ile LDCT taramasının entegrasyonu oldukça talep görmektedir (Dama, 2021). Ayrıca metastaz gelişimi için kritik olan gen imzalarının ve moleküler yolların tanımlanması tedavinin iyileştirilmesini olanak sağlayabilir (Lu, 2012).

2.2. Kanserde biyobelirteçler

Biyobelirteçler tipik olarak bir hastayı, hastalığı olmayan bir kişiden ayırabilmeli ve klinik karar verme sürecini hasta iyileştirilmesine yol açacak şekilde etkilemelidir (Mazzone, 2017). ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri biyobelirteçi "normal biyolojik süreçlerin, patojenik süreçlerin veya terapötik bir müdahaleye verilen farmakolojik yanıtların bir göstergesi olarak objektif bir şekilde ölçülen ve değerlendirilen bir özellik" olarak tanımlamaktadır (Biomarkers Definitions Working Group, 2001; Seijo, 2019).

Kanser biyobelirteçlerinin ise kanser risk değerlendirmesi, tarama, ayırıcı tanı, prognozun belirlenmesi, tedaviye yanıtın öngörülmesi ve hastalığın ilerlemesinin izlenmesi dahil olmak üzere birçok alanda kullanılma potansiyeli bulunmaktadır (Henry, 2012; Sarhadi, 2022). Biyobelirteçler, moleküler, hücresel, fizyolojik veya görüntüleme tabanlı olabilir. Bu tez çalışması moleküler ve hücresel kanser biyobelirteçlerine odaklanmaktadır. Dokularda veya vücut sıvılarında bulunan bu biyomoleküller, kanser hücreleri veya kansere yanıt olarak normal hücrelerde bulunur veya üretilir (Sarhadi, 2022, Cancer gov., 2023). Kanser oluşumu, gelişimi ve tedavisi sırasında, mutasyonlar, transkripsiyonel değişiklikler, post-translasyonel modifikasyonlar, translasyonel ve metabolik değişiklikler dahil olmak üzere bir dizi olaylar gelişmektedir. Bu olaylar sırasında nitelik veya nicelik olarak farklı seviyede proteinler (enzimler, antikorlar, peptidler veya reseptörler), nükleik asitler (mikroRNA, mRNA, circRNA, ctDNA, DNA metilasyonları), eksozomlar, lipitler ve metabolitler kaynaklı birçok çeşitli biyobelirteçler vardır. Bir biyobelirteç aynı zamanda gen ifadesi, proteomik ve metabolomik imzalar gibi değişikliklerin bir kombinasyonunda olabilir (Mishra 2010; Henry, 2012; Herath, 2022; Seijo, 2019).

Kanser biyobelirteçleri için şimdiye kadar en yaygın şekilde tümör dokusu olmak üzere çeşitli örnek türlerinde çalışılmaktadır. Tümör doku biyopsilerine alternatif olarak biyobelirteçler dolaşımında (tam kan, serum veya plazma) veya atık/salgılarda (dışkı, idrar, balgam veya meme başı akıntısı) tespit edilebilir, böylece invazif teknikler olmadan kolayca değerlendirilebilir (Henry, 2012; Sarhadi, 2022).

Potansiyel bir biyobelirteçin klinikte uygulanabilmesi için aşması gereken bir dizi aşama bulunmaktadır. İlk olarak, belirli bir potansiyel yeni bir biyobelirteçi test etmek veya yeni bir biyobelirteçi keşfetmeye çalışmak için bir numune grubu analiz edilmelidir. Daha sonra yapılan testler, orijinal hipotezi oluşturan bulguları doğrulamak için bağımsız bir örnek kohortunun analiz edilmesini ve yeni biyobelirteçin klinik karar verme sürecinde faydalı olacak ek bilgiler sağlayacağını doğrulamak için ek değerlendirmeler içermektedir. Bu kavramlar analitik geçerlilik, klinik geçerlilik ve klinik fayda olarak adlandırılmıştır (Henry, 2012; Teutsch, 2009).

2.3. Kanser biyobelirteçlerini tespit etmek için kullanılan teknikler

Biyobelirteçlerin keşfinde öncelikle preklinik ve translasyonel çalışmalar yoluyla potansiyel tek veya bir grup biyobelirteçlerin tanımlanması ve seçilmesi ilk adımdır. İdeal olarak, başlamadan önce araştırmacılar biyobelirteçlerin amacını ve spesifik klinik bağlamı açıkça tanımlamalıdır (Goossens, 2015; Ou, 2021). Moleküler kanser biyobelirteçlerini tespit etmek için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bunlar; floresan in situ hibridizasyon (Fluorescence in situ hybridization=FISH), PCR, yeni nesil dizileme (NGS), flow sitometri, gen ekspresyon analizleri (RNA-sekans, mikroarray), immunohistokimyasal yöntemler, ELISA, kütle spektrometrisi (Mass spectrometry =MS), ters fazlı protein dizisi (Reverse-phase protein array=RPPA) , biyosensörler/nanoteknoloji yöntemleri, mikrofluidik sistemler, CRISPR bazlı DNA ve RNA analizleri, sentetik biyobelirteç teknolojileri (Sarhadi, 2022). Özellikle NGS, gen ekspresyon dizileri, protein MS ve diğer yüksek verimli teknolojiler gibi yeni tekniklerin ortaya çıkması, araştırmacılara kısa sürede ve düşük maliyetle muazzam miktarda veri sağlamış ve bu da bazen veri odaklı hipotezlerin oluşturulmasına yol açmıştır (Simon, 2010). Bununla birlikte, güvenilir aday biyobelirteçlerin tanımlanabileceği ilgili verileri seçebilmek için doğru bir çalışma tasarımı ve uygun veri analizi kullanılmalıdır (Sarhadi, 2022).

2.4. Gen ekspresyon analizleri

Genetik kodun transkripsiyon ve translasyon yoluyla fenotipik tezahürü gen ifadesi olarak bilinmektedir. Belirli bir koşul veya gelişim aşaması altında spesifik spatiotemporal ekspresyon modellerinin belirlenmesi gen ekspresyon analizi olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda, tek bir deneyde binlerce genin aynı anda ifade çalışmalarına izin veren çok sayıda yüksek verimli teknoloji geliştirilmiştir. Bu yöntemler büyük miktarda biyolojik veri üretme kapasitesine sahiptir. Çeşitli veri bankalarında büyük ilerlemeler kaydedilmiş ve gen verilerinin sürekli olarak veri tabanlarında depolanmasına olanak tanımaktadır. Buna paralel olarak, grafik kullanıcı arayüzü veya dil tabanlı biyoinformatik araçlar ve yazılımlardaki ilerlemeler de veri analizi için kullanım kolaylığı ve rahatlığını artırmaktadır (Magar, 2022). Dizilenmiş verilerin depoları olarak hizmet vermekte olan ve en yaygın olarak kullanılan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information=NCBI) dir (National Cancer Institute, 2023).

Transkriptomik çalışmalar için ifade edilen dizi etiketlenmesi (Expressed Sequenced Tags=EST'ler) yöntemi ve ardından Sanger dizileme teknolojisi gibi birinci nesil dizileme platformlarını kullanarak bu etiketlerin dizileme (Serial analysis of gene expression=SAGE/CAGE) ve mikrodizileme (Microarray) gibi metodolojiler kullanılmıştır (Schena, 1995; Velculescu, 1995). Daha sonra, dizileme teknolojisindeki ilerlemeyle birlikte, RNA transkriptlerinin dizisini ve ifade düzeyini elde etmeye yardımcı olan çok sayıda yeni nesil dizileme tekniğine sahip olan RNA dizileme (RNA-seq) tekniği ortaya çıkmıştır (Chu, 2012; Wilhelm, 2008).

RNA-seq teknolojisinin başlamasıyla birlikte, tüm transkriptom dizilemesi gerçekleştirilmiştir (Ozsolak, F; Marguerat, 2010). RNA-seq çalışmaları transkriptlerin genom çapında değerlendirilmesini kapsamakta ve bir transkriptin baz çifti başına 100-1000 okuma dizileme derinliğine içermektedir (Martin, 2011). RNA-seq teknolojisinde genellikle çıktı, cDNA parçalarının bir uçtan veya her iki uçtan dizilenmesiyle oluşturulan kısa okumalardan oluşur. Ayrıca, hata oranı en aza indirilir ve ardından bu kısa okumalar örnek RNA'lara karşılık gelen uzun dizilere birleştirilir.

Genel olarak, bu 35-500 bp'lik oldukça kısa dizileri okumak için yeni nesil dizileme platformları kullanılmaktadır (Metzker, 2010; Shendure, 2008). Bu platform, algoritmaların aynı anda çalıştırılmasını ve tam uzunluktaki transkriptlerin yeniden

oluşturulmasını sağlayacağından, birkaç çekirdekle birlikte büyük depolama ve belleğe sahip yüksek güçlü bilgi işlem sistemleri gerektirir. Ancak, bu tür platformların gösterişli bir kapsama alanına sahip olduğu ve oldukça yüksek hata oranlarına sahip olduğu ve sonuçta bilişim zorluklarını artırdığı gözlemlenmiştir (Wang, 2009; Bahassi, 2014; Guo, 2012). Yüksek kaliteli kapsama sağlamak ve verimi artırmak için ek okumalara ihtiyaç duyulmakta ve assembly algoritmaları her zaman gelişmeye ve veri kalitesini artırmaya devam etmektedir (Martin, 2011; Bahassi, 2014). Gelişmiş RNA sekans teknolojileri arasında tek molekül, gerçek zamanlı sekanslama teknolojisi (single-molecule, real-time sequencing technology=SMRT) veya nanopore sekanslayıcılar bulunmakta ve bunlar mevcut sınırlamalarla başa çıkabilen ve birkaç kilobaz daha uzun okumalar sağlayan ve tüm genom transkriptleri üretebilmektedir (Martin, 2011; Mikheyev, 2014; Maitra, 2012; Ayup, 2012). Floresan in-situ hibridizasyon ile birlikte RNA-seq teknolojisi, transkript hücrel lokalizasyonunda bile veri üretiminde ilerleme kaydetmiştir. Bir hücrenin RNA'sı, floresan yerinde dizileme (FISSEQ) adı verilen yeni nesil dizileme kullanılarak doku veya kültürde dizilenmektedir (Lee, 2014). Bu teknolojinin ortaya çıkışı, sekans ve konumsal bilginin eşzamanlı olarak üretilmesini mümkün kılmaktadır.

Mikrodizilerden yeni nesil dizilemeye kadar tüm bu yöntemlerle ilgili olarak dikkate alınması gereken en önemli nokta, eş zamanlı ölçümler yapıldığında, çok düşük hata oranına rağmen çok sayıda hatanın ortaya çıkmasıdır. Bu nedenle, kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) veya daha sonraki bölümde tartışıldığı gibi diğer gen ekspresyon yöntemleri gibi alternatif bir prosedür kullanarak yüksek verimli veri doğruluğunu artırmak için çapraz doğrulamaya ihtiyaç vardır (Piepenburg, 2006; Milward, 2012).

2.5. Akciğer kanserinde biyobelirteçler

Akciğer malignitelerinin hızlı ve erken tanısı, özellikle yüksek riskli bireylerde mortalite ve morbiditeyi azaltmak için antikanser tedavisinin uygulanması oldukça önemlidir. Bu nedenle minimal invazif yaklaşımlarla analiz edilebilen yeni tanısal ve takipsel biyobelirteçlerine hala çok fazla ihtiyaç bulunmaktadır.

Son zamanlarda, AK tanı biyobelirteçleri üzerine yayınlanan çalışmalarda keskin bir artış olmuş ve sadece son 5 yılda 500'ten fazla makale yayınlanmıştır. Bununla birlikte, bu çalışmaların önemli bir kısmı, biyobelirteçlerin bağımsız kohortlarda, küçük

gruplarda ve daha da önemlisi AK tarama çalışmaları ile doğrulanmadan yapılan çalışmalara dayanmaktadır. Bu nedenle zıt bilgiler içermektedir. İdeal olarak, sağlam biyobelirteç (ler), yaş ve sigara içme alışkanlıkları gibi faktörlerinden bağımsız olarak risk altındaki bireylerin seçimini kolaylaştırmalı ve/veya klinik karar vermeye yardımcı olmak için belirsiz pulmoner nodüller hakkında patolojik bilgi sağlamalı ve/veya öngörücü/prognostik bilgi sağlamalıdır (Dama, 2021). Bununla birlikte, çoğu tek genin ifadesi oldukça kararsızdır ve bu nedenle biyobelirteç olarak kullanılan tek genler erken AK ve evrelerini güvenilir bir şekilde tahmin edememektedir (Tang, 2017).

2.5.1. DNA bazlı biyobelirteçler

Dolaşımdaki tümör DNA'sı (ctDNA), NGS alanındaki son teknolojik gelişmeler nedeniyle son yıllarda kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Gerçekten de NGS teknolojileri, özel gen panellerinin veya hedeflenen gen panellerinin (targeted gene panels=TGP) uygun bir maliyetle analiz edilmesine ve düşük frekansla (<%1) sunulan mutant alellerin tespit edilmesine olanak tanımaktadır (Newman, 2014; Stahlberg, 2016; Stahlberg, 2017). ctDNA'nın ileri evre AK'nin teşhisinde etkili olduğu gösterilmiş olsa da, erken evre akciğer tümörlerinin tespiti için ctDNA kullanımı suboptimaldir ve evre I KHDAK durumunda duyarlılık ~%50'den %15 arasında değişmektedir (Newman, 2014; Cohen, 2018). Bu durum evre I hastalık hastalarının kan örneklerinde bulunan nadir ctDNA miktarına bağlanabilir. Gerçekten de, düşük proliferasyon/metabolizma hızı ve/veya tümör anjiyogenezi ve/veya bu lokalize ve küçük tümör lezyonlarının nekrotik alanlarının olmaması, ctDNA dökülmesinin azalmasına katkıda bulunmaktadır (Chabon, 2020).

Ayrıca, ticari TGP'ler genellikle daha ileri evre kanserlerde ilaçla tedavi edilebilen kanser sürücü mutasyonlarını izlemek üzere tasarlanmıştır. Bu nedenle erken evre hastalıklarda, yani daha düşük tümör içi genetik heterojenite ile karakterize olan hastalıklarda yeterince temsil edilmeyebilir (Gerstung, 2020; Vitale, 2021). Sonuç olarak, evre I'in ctDNA'sında nükleotid varyantlarını yakalama şansı düşüktür. Alternatif olarak, bazı gruplar daha standart yaklaşımların sınırlı hassasiyetinin üstesinden gelmek için sıvı biyopsilerde derin sekanslama ile kanser kişiselleştirilmiş profillemeye (CAnCER Personalized Profiling by deep Sequencing=CAPP-Seq) yöntemini uygulamıştır (Newman, 2014). CAPP-seq, ilgilenilen kanserde tekrarlayan mutasyona uğramış bölgeleri içeren hedef genleri seçmek için bir ön biyoinformatik

yaklaşım getirmiştir (Newman, 2014). AK tedavisi sırasında moleküler rezidüel hastalığı izlemek için bu teknolojinin uygulanmasıyla elde edilen önemli sonuçlara rağmen, erken evre AK'nin teşhisi için CAPP-seq uygulaması hala suboptimal bir duyarlılıkla tasimaktadır (Chabon, 2020; Chaudhuri, 2017). TGP'nin sınırlamalarının üstesinden gelmek için bilinen tüm insan genlerini kapsayan ctDNA'nın tüm-ekzom veya tüm-genom sekanslamasında denenmiştir (Giroux Lepreur, 2020; Keller, 2021). Ancak, gen panelleri ne kadar büyük olursa, mutasyon arama için yüksek hassasiyet elde etmenin ve uygun maliyetleri korumanın o kadar zor olduğu unutulmamalıdır.

ctDNA mutasyonlarını tespit etmenin ötesinde, diğer gruplar cfDNA'nın metilasyon profilini yenilikçi minimal invazif kanser biyobelirteçlerinin bir kaynağı olarak tanımlamıştır. Kanser hücrelerinde genellikle DNA'nın global hipometilasyonu gözlenir, ancak tümör baskılayıcı genlerin CpG adaları promotörleriyle örtüşen hipermetillenmiş bölgeler de keşfedilmiş ve ctDNA'yı tespit etmek için kullanılmıştır (Ehrlich, 2009). ctDNA fraksiyonunu tahmin etmek için spesifik metilasyon imzaları kullanılarak yapılan cfDNA analizinin, akciğer kanserinde tanı ve prognostik amaçlar için değerli bir yaklaşım olduğu gösterilmiştir (Ooki, 2017; Hulbert, 2017).

2.5.2. RNA bazlı biyobelirteçler

İnsan örneklerinde farklı RNA türleri (mikroRNA, miRNA; piwi-interacting RNAs, piRNA; transfer RNAs, tRNA; small nucleolar RNAs, snoRNA; small nuclear RNAs, snRNA) tanımlanmıştır (Umu, 2018). Literatürde dolaşımdaki mikroRNA'lar (c-miRNA'lar) hakkında yoğun çalışmalar bulunmaktadır. Bu biyomoleküllerin dikkate değer stabiliteyi onları AK biyobelirteçleri geliştirmek için ideal adaylar haline getirmektedir (Chen, 2008). C-miRNA'lar neredeyse tüm insan hücreleri tarafından pasif (örneğin apoptotik cisimciklerde, AGO proteinleriyle kompleks halinde) ve aktif (eksozomlarda/mikroveziküllerde) mekanizmalarla salınmaktadır (Chevillet, 2014; Turchinovich, 2012). Doku homeostazını bir tür parakrin sinyalle veya neoplastik dönüşüm ve tümör ilerlemesi gibi patojenik mekanizmaları tetikleyerek etkileyebilir (Turchinovich, 2012; Le, 2014; Melo, 2014). Gerçekten de, tümör hücreleri, kanserle ilişkili fibroblastlar (CAFs) ve kan hücrelerinin mikroçevrede miRNA'lar salgıladığı ve bunların daha sonra kan dolaşımına girdiği bulunmuştur (Turchinovich, 2012; Pritchard, 2012).

KHDAK hastaları ve eşleştirilmiş kontroller (AK olmayan veya iyi huylu akciğer nodülü olan bireyler) üzerinde yapılan çok merkezli çalışmalarda, Wang ve arkadaşları (Wang, 2015) ve Ying ve arkadaşları (Ying, 2020) qRT-PCR kullanarak, her biri 5 miRNA'dan oluşan iki serum c-miRNA tanı komplekslerini tanımlamışlardır (miR-214 yaygın olarak bulunmuştur). AK'nin erken teşhisi için bu c-miRNA imzalarının çoğunun geçerliliği kanıtlanmış olmasına rağmen, tıbbi laboratuvarlarda uygulanmalarında hala sınırlamalar vardır. Örnek işleme ve miRNA profili oluşturma, ön analitik ve analitik standardizasyon ile sofistike teknolojilerin kayda değer maliyeti ile ilgili zorlu konular, bu tür biyobelirteçlerin laboratuvaradan kliniğe aktarılmasını çok karmaşık hale getirmektedir.

Bununla birlikte, çoğu tek genin ekspresyonu oldukça kararsızdır ve bu nedenle biyobelirteç olarak kullanılan tek genler, erken akciğer kanserlerini güvenilir bir mahaşekilde öngöremeyebilir (Tang, 2017). Son zamanlarda, birçok çalışma KHDAK'nin hayatta kalma sonucunu tahmin etmek için gen imzalarını ve yollarını taramayı denemiştir (Lacroix , 2008; Lu, 2012). Bununla birlikte, seçilen bir dizi tümör baskılayıcı (TS) gen, kanser hastalarının tahmin, tanı ve prognozunda biyobelirteçler olarak araştırılmıştır. Burada, diferansiyel ekspresyon analizi, gen ontolojisi ve biyoinformatik yaklaşımlar kullanılarak 26 TS genini tanımlanmış ve KHDAK teşhisi için biyobelirteçler adayları olarak gösterilmiştir (Zang, 2021).

Maharjan ve arkadaşları tarafından gen ekspresyon profilleri kullanılarak AK'ne yönelik biyobelirteç genleri tanımlamak için hesaplamalı bir çerçeve geliştirildi. Deney için tedavi almayan ve tedavi alanlar olmak üzere iki farklı çalışma grubu RNA gen verileri ele alınmıştır. Tedavi dışındaki gruptan elde edilen biyobelirteç genlerin çoğu mitozun bir parçası olup, DNA onarımı ve hücre döngüsü düzenlemesinde hayati bir rol oynamaktadır. Oysa tedavi çalışmalarından elde edilen biyobelirteç genlerin çoğu, strese karşı hücrel tepkiyle ilişkili olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma, AK gelişiminin ayrıntılı dinamiklerini daha fazla araştırmak için bazı biyobelirteç adaylarda belirlenmiştir (Maharjan,2020).

Botling ve arkadaşları, 196 KHDAK hastasını içeren, klinik bilgileri ve uzun süreli takibi olan bir kohort çalışması gerçekleştirilmiştir. Gen ekspresyon dizisi verileri, prognostik etkisi olan genleri taramak için bir eğitim seti olarak kullanılarak bir meta-analizde test edildi. Bağımsız prognostik etkiye sahip bir dizi gen belirlendi. Bu genlerden biri olan CADM1'in, klinik teşhiste potansiyel bir uygulamaya sahip bir

immünohistokimyasal belirteç olduğu da gösterildi (Botling, 2013). Yapılan çalışmalar, KHDAK tanısı ve tedavisi için yeni potansiyel biyobelirteçleri tanımlamakta ve KHDAK için terapötik potansiyele sahip olabilecek yeni yaklaşımları ortaya çıkarmaktadır.



Gereç ve Yöntem

Tez çalışması, in siliko koşullarda küçük hücreli dışı akciğer kanseri ile ilgili veriler kullanılarak Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda ve Ege Üniversitesi Solunum Araştırmaları Merkezi'nde (EGESAM) gerçekleştirildi.

3.1. Veri toplama

Çalışmada kullanılacak olan akciğer kanser hastalarına ait RNA veri setleri için National Center of Biotechnology Information (NCBI) Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanı (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) kullanılmıştır. Bu veri bankasında “lung cancer, RNA-seq, gene expression, patients, tissue” anahtar kelimeleri kullanılarak sistem üzerinde veriler araştırılmıştır. Bunlardan içinden küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastaları (KHDAK) olan ve bunlara ait tümörlü ve sağlıklı komşu dokulara ait RNA sekans dizileme ve Ilimuna cihazı ile gerçekleştirilen üç tane veri seçilmiştir.

Bu veri setleri olarak GSE171415, GSE120622 ve GSE127559 çalışmaya dahil edilmiş ve bunlar sırasıyla GPL20301 (Illumina HiSeq 4000 Homo sapiens), GPL20301 (Illumina HiSeq 4000 Homo sapiens) ve GPL16791 (Illumina HiSeq 2500 Homo sapiens) platformları ile incelenmiştir. Her veri kümesi tümör örnekleri ve eşleştirilmiş komşu sağlıklı doku örnekleri içermektedir. Veri setleri ve bunlara eşlik eden örnek sayıları aşağıdaki gibidir:

GSE171415 veri seti için 34 akciğer kanseri hastasından 35 akciğer tümörü örneği ve 32 eşleştirilmiş normal akciğer dokusu örneği, GSE120622 veri seti için 81 akciğer kanseri dokusu ve 19 komşu akciğer dokusu örneği, GSE127559 veri seti için 9 akciğer tümörü örneği ve 5 eşleştirilmiş normal akciğer dokusu örneği bulunmaktadır. Ayrıca 483 AK dokusu ve 347 komşu normal dokunun RNA dizileme veri kümeleri içeren TCGA (<https://tcga-data.nci.nih.gov/>) veri tabanındaki LUAD (Lung Adenocarcinoma) bilgileri kullanılmıştır.

3.2. Veri ön işleme ve DEG'lerin tanımlanması

Tüm veriler R yazılımı (<https://www.r-project.org/>) kullanılarak işlenmiştir. GEO verileri içindeki akciğer kanser örnekleri ile eşleşen kanserli olmayan örnekler arasındaki DEG'leri tanımlamak için NCBI-GEO veri bankasına ait GEO2R interaktif internet aracı kullanılmıştır. GEO2R, deneysel koşullar arasında farklı şekilde ifade

edilen genleri tanımlamak için kullanıcıların bir GEO serisindeki iki veya daha fazla örnek grubunu karşılaştırmasına olanak tanıyan etkileşimli bir web aracıdır. Sonuçlar, P değerine göre sıralanmış bir gen tablosu ve diferansiyel olarak ifade edilen genlerin görselleştirilmesine ve veri seti kalitesinin değerlendirilmesine yardımcı olacak bir grafik grafik koleksiyonu olarak sunulur. GEO2R, Bioconductor sistemindeki çeşitli R paketlerini kullanır.

GEO2R ile NCBI tarafından hesaplanan ham sayım matrislerini girdi olarak kullanarak diferansiyel ifade analizi gerçekleştirmek için DESeq2'yi kullanılmaktadır. DESeq2, RNA-seq verilerinde diferansiyel olarak eksprese edilen genleri tanımlamak için kullanılan bir R paketidir. Negatif binom genelleştirilmiş doğrusal modelleri kullanır ve çok çeşitli veri türleri üzerinde tutarlı performans sunan özelliklere sahiptir; bu da onu az sayıda tekrarlı küçük çalışmaların yanı sıra büyük gözlemsel çalışmalar için de uygulanabilir kılmaktadır. Burada $\text{adjust } P < 0.05$ ve mutlak \log_2 kat değişimi $\log_2\text{FC} > 1$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İki örnek grubunu karşılaştırmak için Wald testini ve 3 veya daha fazla örnek grubunu karşılaştırırken LRT'yi (Olasılık Oranı Testi) kullanılmıştır. P değerlerine ayarlamalarında çoklu test düzeltmeleri (multiple-testing corrections) hatalı pozitif sonuçların ortaya çıkmasını düzeltmek için kullanılmıştır. Benjamini & Hochberg yanlış keşif oranı (false discovery rate) yöntemi, istatistiksel olarak anlamlı genlerin keşfi ile yanlış pozitiflerin sınırlandırılması arasında iyi bir denge sağlaması için varsayılan olarak seçilmiştir.

Diferansiyel olarak ifade edilen genlerin tespit edilmesine ve veri kümesi kalitesini değerlendirmesine yardımcı olmak için çeşitli grafiksel grafikler oluşturulmuştur.

Volcano plot (yanardağ grafiği), değişimin büyüklüğüne (\log_2 kat değişim) karşı istatistiksel önemi ($-\log_{10} P$ değeri) göstererek diferansiyel olarak ifade edilen genlerin görselleştirilmesi sağlanmıştır. Vurgulanan genler, 0,05'lik varsayılan ayarlanmış p değeri noktasında önemli ölçüde diferansiyel olarak ifade edilmektedir (kırmızı = anlamlı seviyede yukarı/ aşağı regüle edilmiş genler, yeşil = sadece \log_2 kat değişiklikleri anlamlı olan genler, mavi=sadece p değeri anlamlı olan genler, gri= anlamsız seviyede regüle edilmiş genler). Ortalama fark (Mean Difference) grafiği ise ortalama \log_2 ekspresyon değerlerine karşı \log_2 kat değişimini görüntüleyerek diferansiyel olarak eksprese edilen genlerin görselleştirilmektedir.

Düzgün Manifold Yaklaşımı ve Projeksiyonu (Uniform Manifold Approximation and Projection: UMAP) ile örneklerin birbirleriyle nasıl ilişkili olduğunu göstermek için kullanılan bir boyut azaltma tekniğidir. Hesaplama da kullanılan en yakın komşuların sayısı çizimde belirtilmiştir. Üç veri seti arasındaki önemli genlerdeki örtüşmeyi göstermek için venn diyagramı kullanılmıştır. Analiz sonuçlarındaki P değerlerinin dağılımını görüntülemek için p histogram grafiği kullanılmıştır. Buradaki P değeri, üst diferansiyel olarak ifade edilen genler tablosundaki ile aynı olup analiz edilen tüm genler için P değeri dağılımını göstermektedir. TCGA verileri için, GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn>) online veri tabanı kullanılmış ve $P < 0.05$ ve mutlak $\log_2FC > 1$ eşik değerleri baz alınmıştır.

3.3. DEG'lerin fonksiyon zenginleştirme analizi

Örtüşen DEG'lerin potansiyel biyolojik süreçlerini, hücre sel bileşenlerini, moleküler işlevlerini ve yollarını daha fazla analiz etmek için, “Gene Ontology” (GO) analizi yol zenginleştirme analizi yapmak için çevrimiçi yazılım olan “Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery” (DAVID, <https://david.ncifcrf.gov/>) veritabanı (Huangda vd., 2009) kullanılmıştır. $P < 0.05$ ve $FC > 1$ eşik değerler olarak belirlenmiş, çoklu test için Benjamini & Hochberg düzeltmesi kullanılmıştır.

3.4. Sağ kalım analizi

En anlamlı seviyedeki genlerin prognostik performansını belirlemek için RNA verileri kullanılarak Kaplan-Meier Plotter testi ile hayatta kalma analizleri gerçekleştirilmiştir. Bunun için hayatta kalma eğrilerini çizmek ve karşılaştırmak için sırasıyla Kaplan-Meier plot (kmplot.com) ve log sıralama testi kullanıldı. Kaplan-Meier çizici, TCGA, GEO ve Avrupa Genom-Fenome Arşivi veri tabanlarından (www.ebi.ac.uk/ega/home) alınan gen ekspresyonu verilerini ve klinik verileri birleştiren çevrimiçi bir araçtır. Spesifik genlerin prognostik değerini analiz etmek biyobelirteç adayları olan genlerin ekspresyon seviyelerine göre hastalar iki gruba ayrıldı. Ayrıca denekler tehlike oranı indekslerine göre düşük ve yüksek riskli gruplara ayrıldı. Kaplan-Meier grafikleri aracılığıyla karakterize edildi ve log-rank P değeri < 0.05 , istatistiksel anlamlılığı tanımlamak için cut-off değeri olarak kabul edildi.

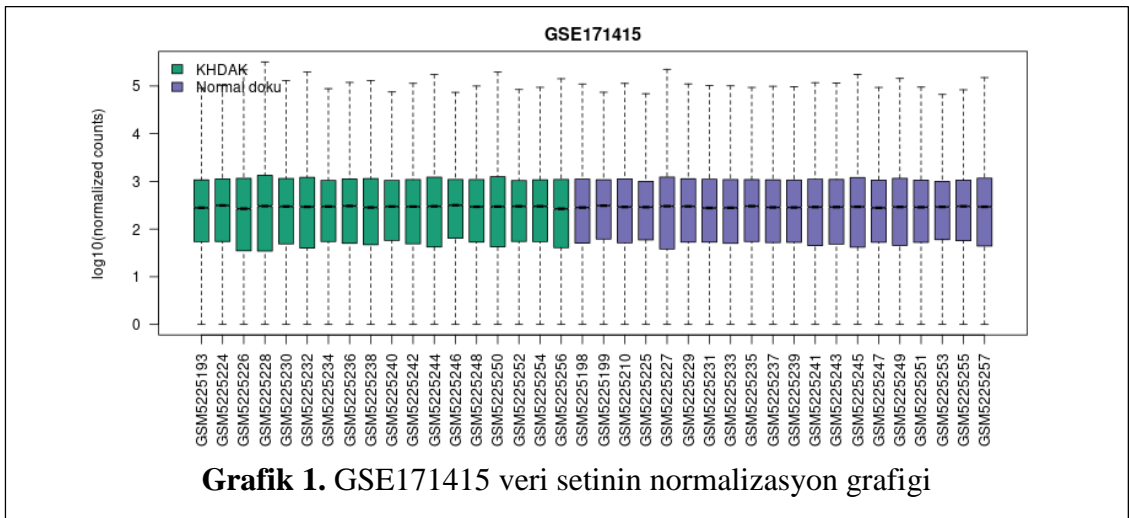
Bulgular

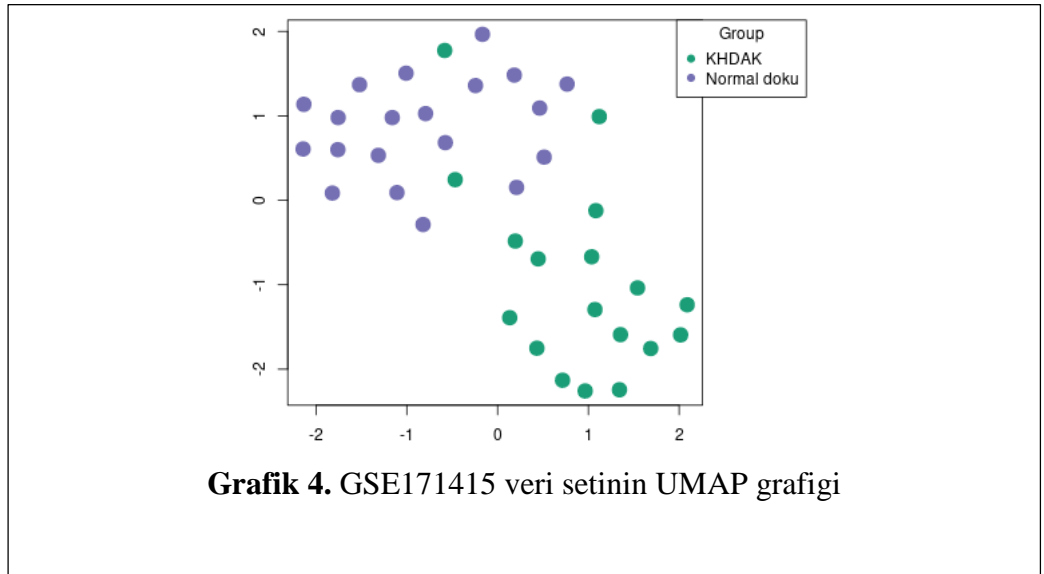
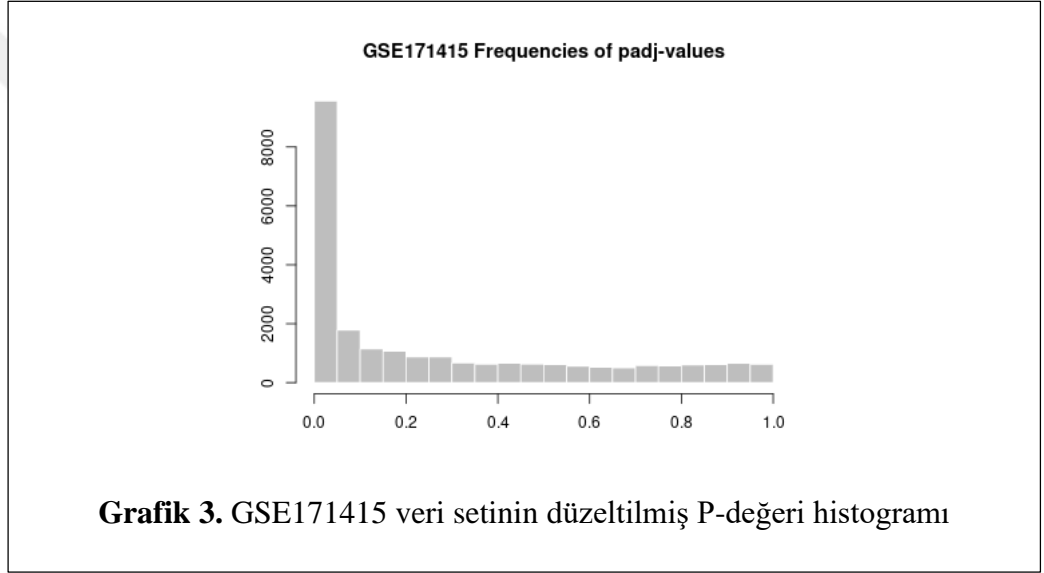
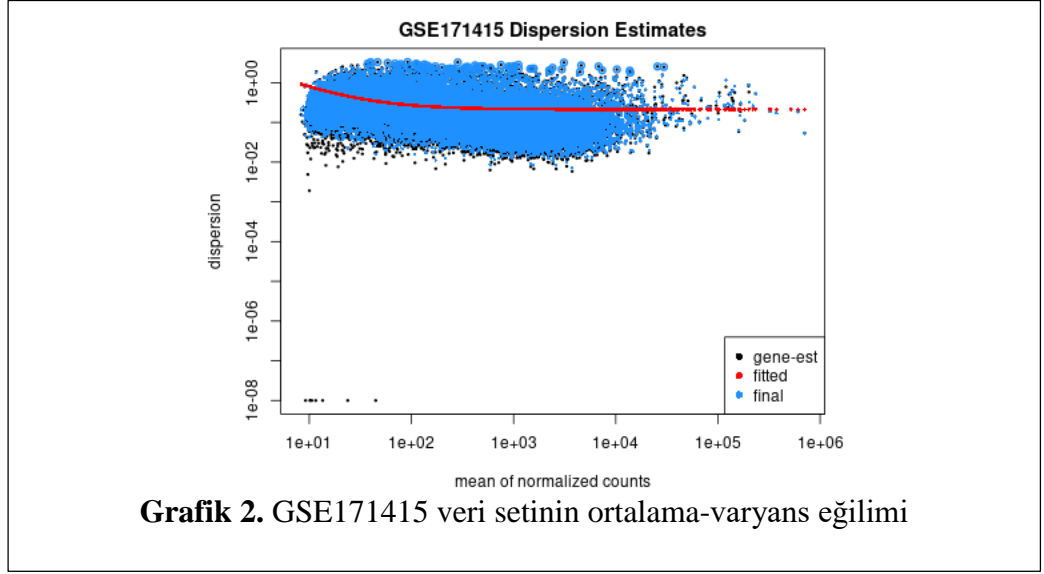
Çalışmada akciğer kanser hastalarına ait üç tane RNA veri seti çalışmaya dahil edilmiştir. Bu veri setleri olarak analizleri Illumina Homo sapiens platformları ile incelenmiştir. Gene Expression Omnibus veri tabanında GSE171415, GSE120622 ve GSE127559 olarak isimlendirilen bu verilerin hakem değerlendirmeleri sırasıyla PMID: 34493867, PMID: 33846331/32629386 ve PMID: 32224864 no'lu numaralı yayınlar ile yapılmıştır.

4.1. GSE171415 veri setinin normalizasyon ve varyans sonuçları

Seçilen örnek değerlerinin normalizasyonu gerçekleştirilmiştir. Örneklerin diferansiyel ifade analizi için uygun olup olmadığını belirlemek için yararlı örnek değerlerinin normalizasyondan sonra dağılımını görüntülenmiştir (Grafik 1). Tüm örneklerin aynı değer dağılımına sahip olması sağlanmıştır. Örnekler gruplara göre renklendirilmiştir. Medyan merkezli değerler verilerin normalleştirildiğini ve çapraz karşılaştırılabilir olduğunu göstermektedir.

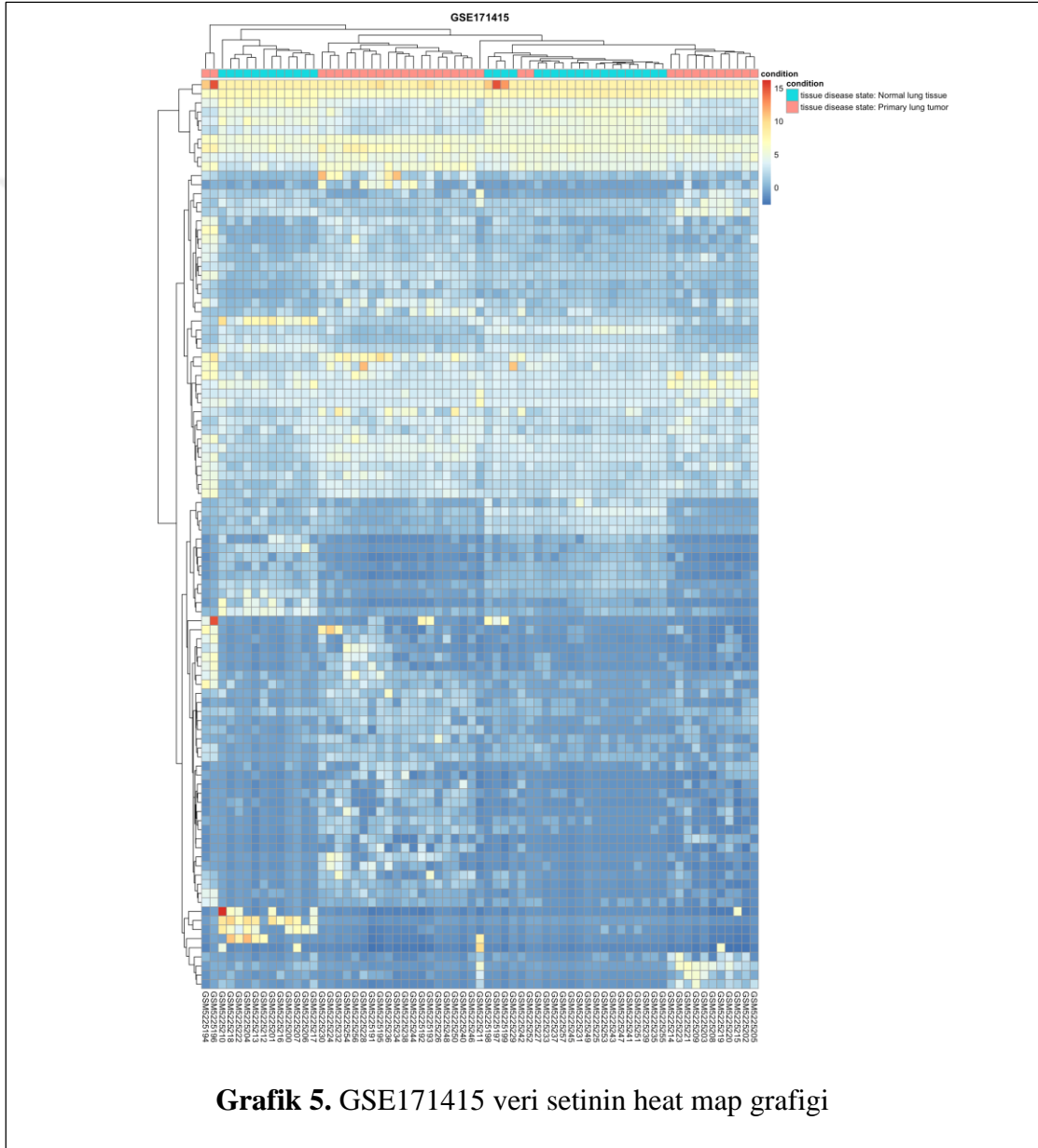
Ortalama-varyans eğilimi ile doğrusal bir model oluşturulduktan sonra ifade verilerinin ortalama seviyede varyans ilişkisini kontrol etmek için kullanılmıştır. Grafik 4.2'de verilerde varyasyon eğilimi gösterilmiştir. Hesaplama kullanılan en yakın komşuların sayısı grafikte gösterilmiştir. Analiz sonuçlarındaki P-değerlerinin dağılımını grafik 4.3 görüntülenmiştir. UMAP ile örneklerin birbirleriyle ilişkileri görselleştirilmiştir (Grafik 4).





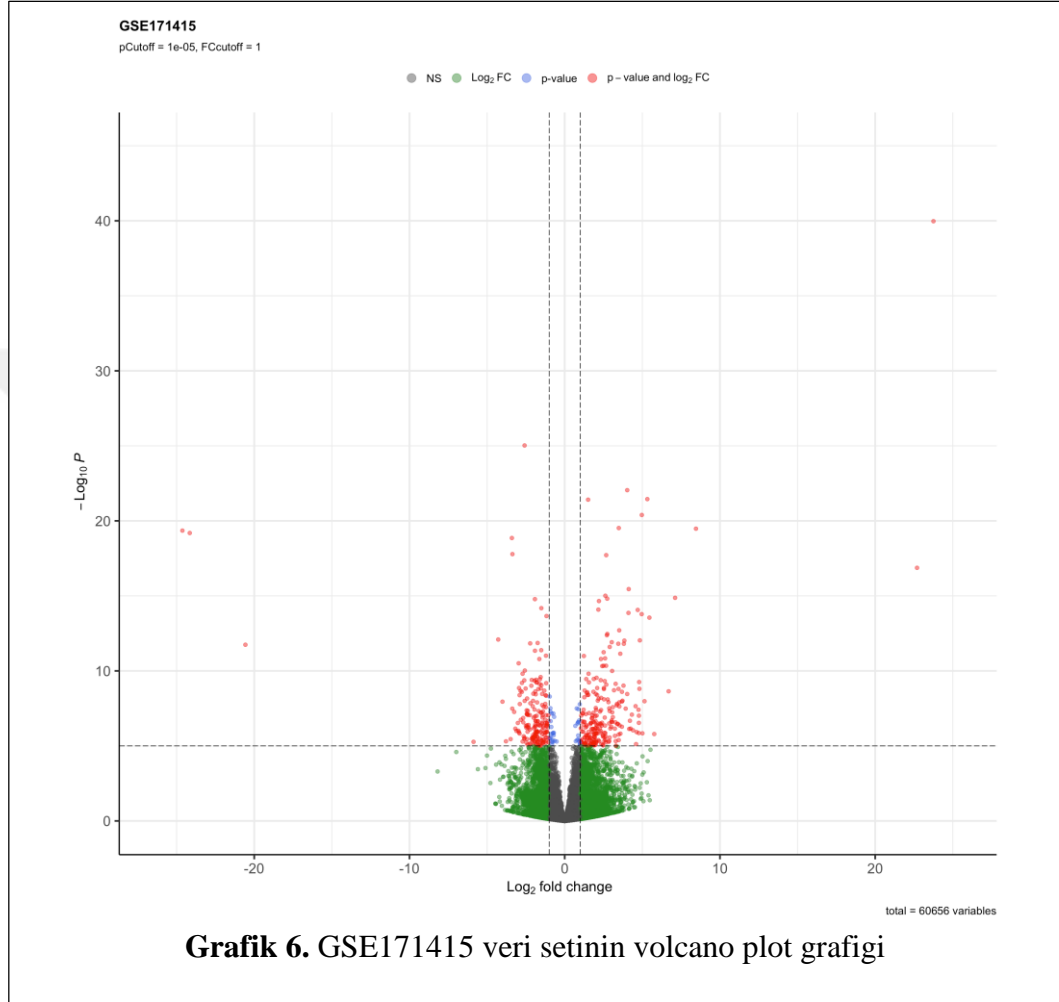
4.2. GSE171415 veri setindeki akciğer dokularında diferansiyel olarak ifade edilen genlerin tanımlanması

Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastaların akciğer dokularında genlerin ekspresyon değerleri ile heat map (ısı haritası) grafiği oluşturulmuştur. Gruplar arasında ekspresyon seviyelerindeki farklılıklar mavi (en düşük ekspresyon seviyesi) ve kırmızı (en yüksek ekspresyon seviyesi) renkler arasındaki belirtilmiştir (Grafik 5).



Volcano plot grafiği, istatistiksel anlamlılığı ($-\log_{10} P$ değeri) değişimin büyüklüğüne (\log_2 kat değişimi) karşı gösterilmiş ve farklı şekilde ifade edilen genleri görselleştirmek için kullanılmıştır. Önemli ölçüde farklı şekilde ifade edilen genler,

0,05'lik varsayılan ayarlanmış p-değeri kesme değerinde renkler ile vurgulanmıştır. Kırmızı noktalar yukarı ve aşağı regüle edilen genleri temsil etmektedir. Bu veri setinin analizi ile 1458 tane DEG tanımlanmıştır. Bu belirlenen DEG'ler içinden 768 tane gen yukarı regüle edilmekte ve 690 gen aşağı düzenlenmektedir (Grafik 6)



DEG'lerin içinde en anlamlı seviyede olan otuz gen belirlenmiştir. Öncelikle bu genleri isimleri ve ekspresyon seviyelerini içeren bilgiler tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. GSE171415 veri setinde en anlamlı seviyede düzenlenmiş olan otuz DEG'in özellikleri

Gen Sembolu	FDR	P-degeri	Kat degisimi	Gen adı	Benzer sembol	Gen ID
GCNT3	2.30e-50	9.71e-55	6.7590	glucosaminyl (N-acetyl) transferase 3, mucin type	C2/4GnT C24GNT C2GNT2 C2GNTM GNTM	ENSG00000140297
HABP2	3.28e-35	2.77e-39	7.005	hyaluronan binding protein 2	FSAP HABP HGFA L NMTC5 PHBP	ENSG00000148702
TMEM63C	1.39e-30	1.75e-34	4.780	transmembrane protein 63C	C14orf171 CSC1 SPG87 hsCSC1	ENSG00000165548
SPINK1	4.04e-30	7.18e-34	8.5980	serine peptidase inhibitor Kazal type 1	PCTT PSTI Spink3 TATI TCP	ENSG00000164266
ABCC3	4.04e-30	8.52e-34	2.7749	ATP binding cassette subfamily C member 3	ABC31 EST90757 MLP2 MOAT-D MRP3 cMOAT2	ENSG00000108846
ABCA12	1.00e-28	2.54e-32	3.8316	ATP binding cassette subfamily A member 12	ARCI4A ARCI4B CR2B LI2	ENSG00000144452
ATP10B	1.69e-28	4.99e-32	6.7402	ATPase phospholipid transporting 10B (putative)	ATPVB	ENSG00000118322
SYT12	3.23e-27	1.09e-30	6.6035	synaptotagmin 12	SYT11 sytXII	ENSG00000173227
PROM2	5.48e-27	2.08e-30	3.9386	prominin 2	PROML2	ENSG00000155066
OCIAD2	1.06e-26	4.47e-30	2.4183	OCIA domain containing 2		ENSG00000145247
HS6ST2	1.70e-26	7.89e-30	5.0991	heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 2	MRXSPM	ENSG00000171004
XDH	9.23e-26	4.67e-29	4.2811	xanthine dehydrogenase	XAN1 XO XOR	ENSG00000158125
B3GNT6	6.21e-25	3.41e-28	5.8798	UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 6	B3Gn-T6 BGnT-6 beta-1,3-Gn-T6 beta3Gn-T6	ENSG00000198488
KIF26B	9.35e-25	5.52e-28	3.2139	kinesin family member 26B		ENSG00000162849
COMP	2.36e-24	1.49e-27	4.7884	cartilage oligomeric matrix protein	CTS2 EDM1 EPD1 MED PSACH THBS5 TSP5	ENSG00000105664
AFAP1-AS1	2.53e-24	1.71e-27	3.5126	AFAP1 antisense RNA 1	AFAP1-AS AFAP1AS	ENSG00000272620
SERINC2	6.40e-24	4.86e-27	2.3322	serine incorporator 2	FKSG84 PRO0899 TDE2 TDE2L	ENSG00000168528
SPDEF	6.40e-24	4.81e-27	3.8547	SAM pointed domain containing ETS transcription factor	PDEF bA375E1.3	ENSG00000124664

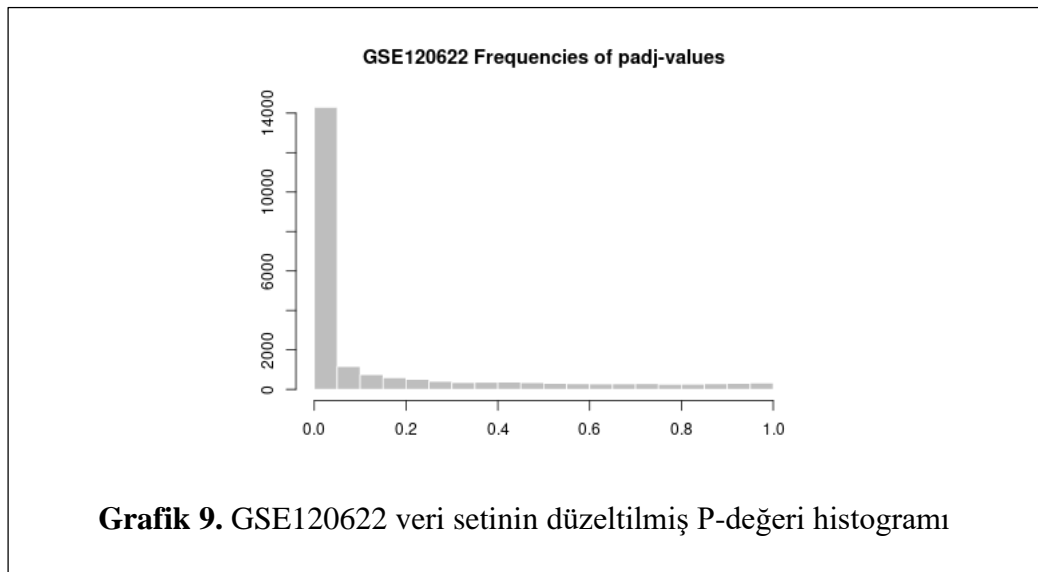
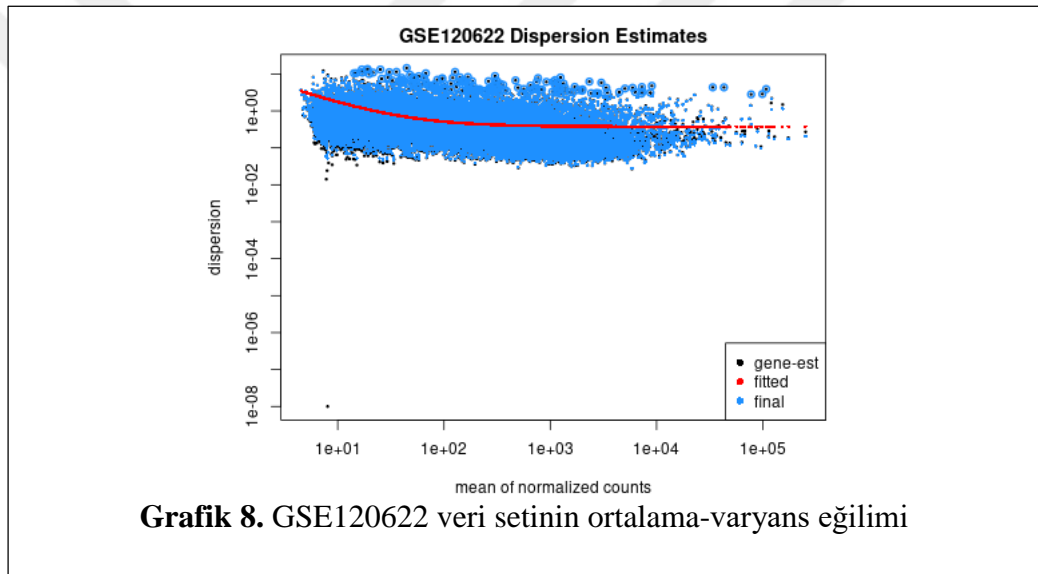
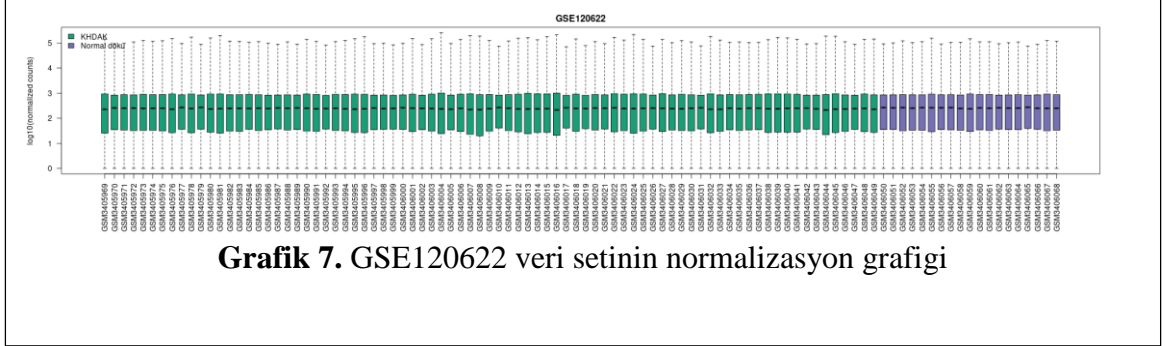
FAM83A	7.42e-23	5.95e-26	4.3493	family with sequence similarity 83 member A	BJ-TSA-9	ENSG00000147689
GLB1L3	8.95e-23	7.55e-26	6.1417	galactosidase beta 1 like 3		ENSG00000166105
ARHGAP40	2.17e-22	1.92e-25	5.2041	Rho GTPase activating protein 40	C20orf95 dJ1100H13.4	ENSG00000124143
FUT2	3.41e-22	3.16e-25	3.4129	fucosyltransferase 2	B12QTL1 SE SEC2 Se2 sej	ENSG00000176920
CBLC	1.00e-21	9.70e-25	2.3950	Cbl proto-oncogene C	CBL-3 CBL-SL RNFS7	ENSG00000142273
CRABP2	4.15e-21	4.20e-24	4.8274	cellular retinoic acid binding protein 2	CRABP-II RBP6	ENSG00000143320
EPHA10	6.75e-21	7.12e-24	3.9936	EPH receptor A10		ENSG00000183317
ETV4	9.59e-21	1.05e-23	3.3945	ETS variant transcription factor 4	E1A-F E1AF PEA3 PEAS3	ENSG00000175832
STK39	1.20e-20	1.37e-23	1.6837	serine/threonine kinase 39	DCHT PASK SPAK	ENSG00000198648
TOX3	1.41e-20	1.66e-23	4.0213	TOX high mobility group box family member 3	CAGF9 TNRC9	ENSG00000103460
PODXL2	4.74e-20	5.80e-23	3.1380	podocalyxin like 2	EG PODLX2	ENSG00000114631
RS1	5.07e-20	6.41e-23	-28.168	retinoschisin 1	RS XLR1	ENSG00000102104

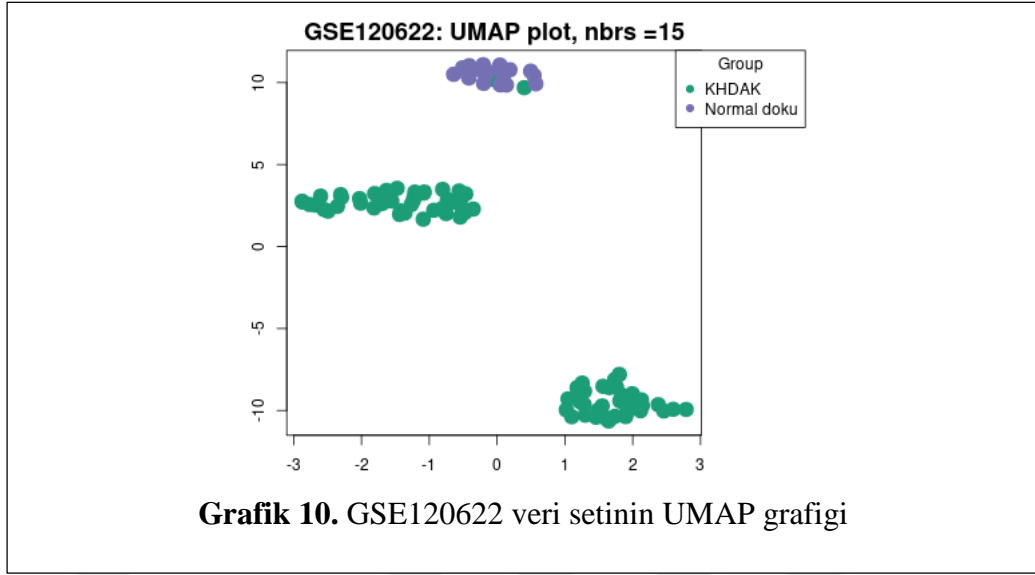
4.3. GSE120622 veri setinin normalizasyon ve varyans sonuçları

Bu veri setinde örnek değerlerinin normalizasyonu gerçekleştirilmiştir. Örneklerin diferansiyel ifade analizi için uygun olup olmadığını belirlemek için yararlı örnek değerlerinin normalizasyondan sonra dağılımını görüntülenmiştir (Grafik 7). Tüm örneklerin aynı değer dağılımına sahip olması sağlanmıştır. Örnekler gruplara göre renklendirilmiştir. Medyan merkezli değerler verilerin normalleştirildiğini ve çapraz karşılaştırılabilir olduğunu göstermektedir.

Ortalama-varyans eğilimi ile doğrusal bir model uydurulduktan sonra ifade verilerinin ortalama seviyede varyans ilişkisini kontrol etmek için kullanılmıştır. Grafik 8'de verilerde varyasyon eğilimi gösterilmiştir. Hesaplama kullanılan en yakın komşuların sayısı grafikte gösterilir. Analiz sonuçlarındaki P-değerlerinin dağılımı

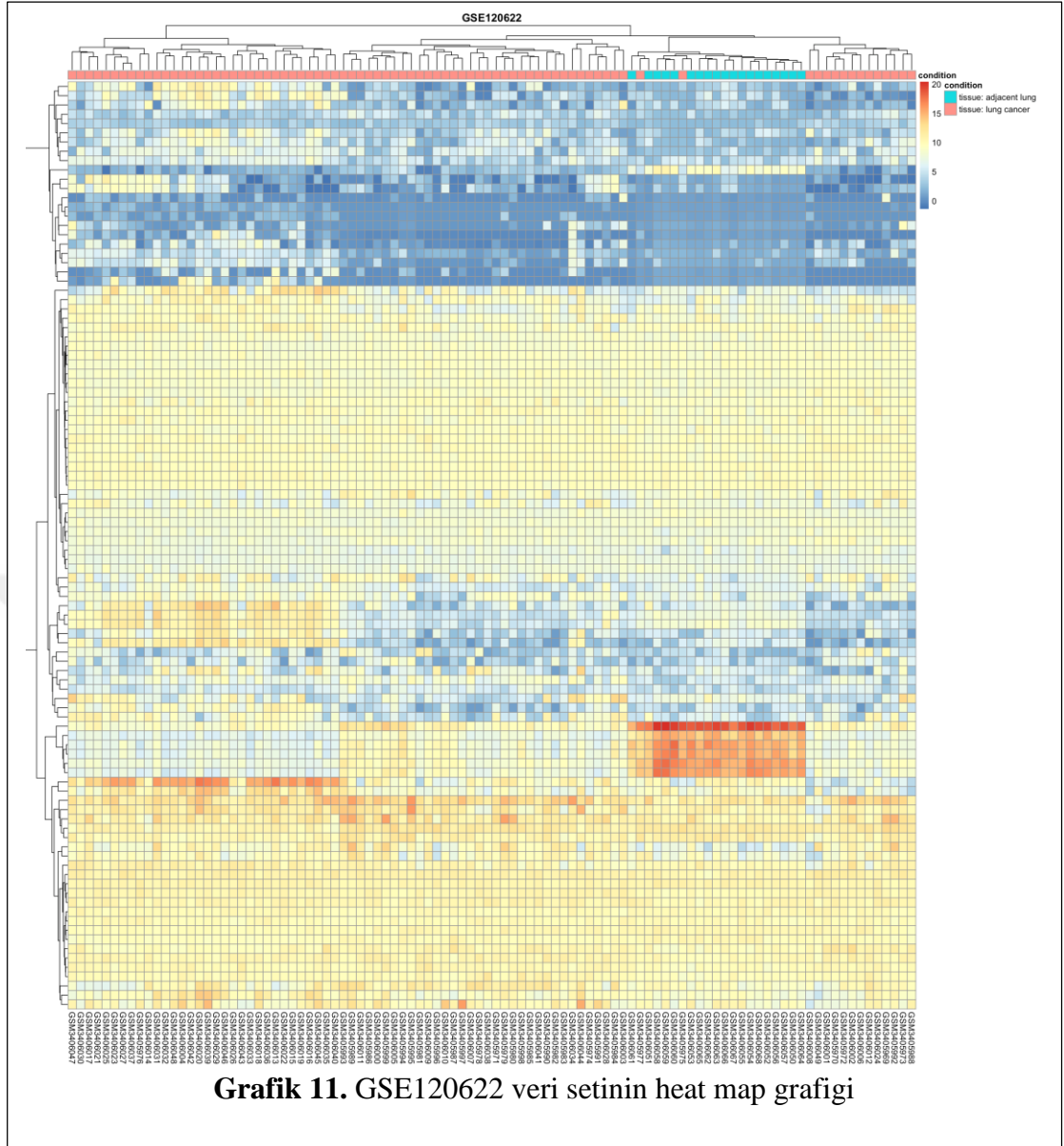
grafik 9 görüntülenmiştir. UMAP ile örneklerin birbirleriyle ilişkileri görselleştirilmiştir (Grafik 10).



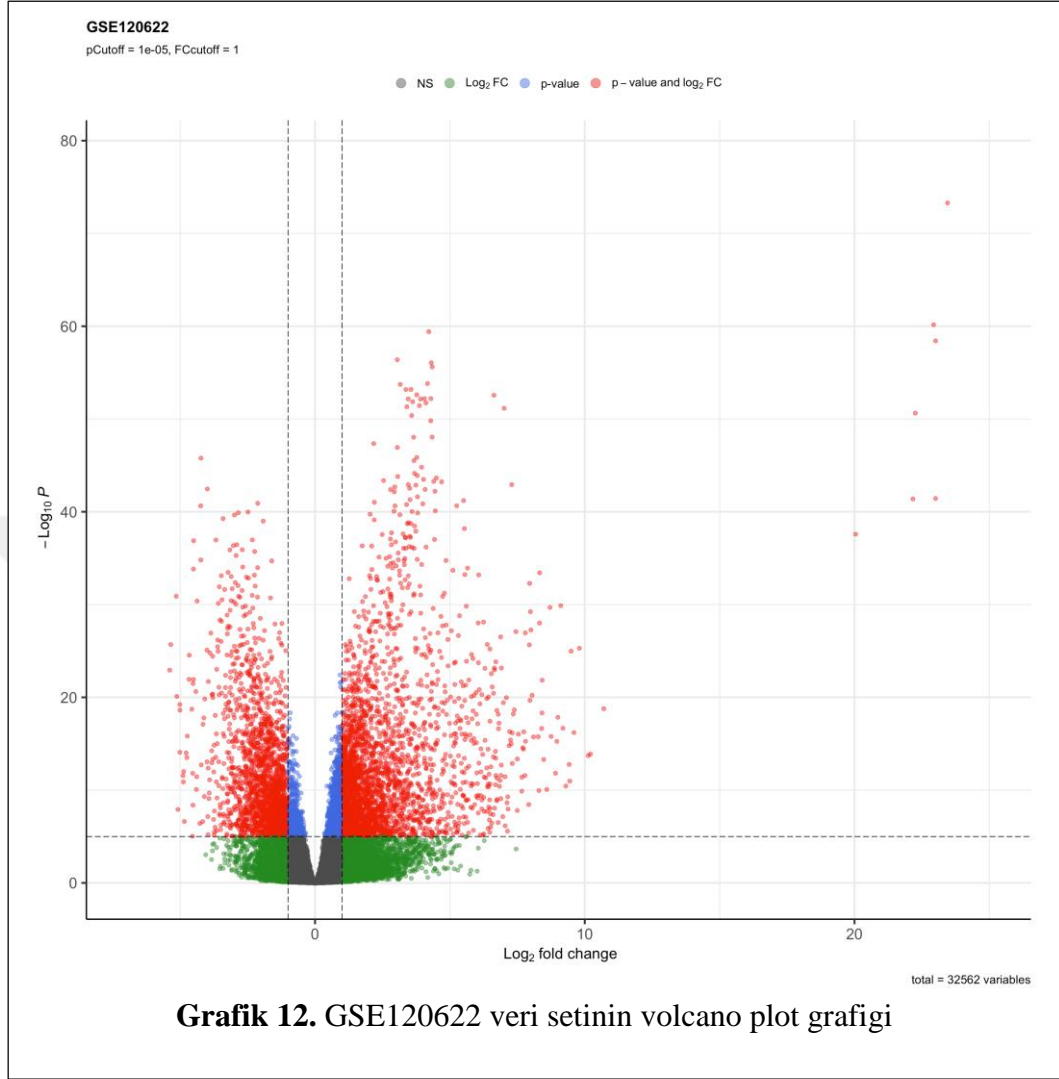


4.4. GSE120622 veri setindeki akciğer dokularında diferansiyel olarak ifade edilen genlerin tanımlanması

Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastaların akciğer dokularında genlerin ekspresyon değerleri ile heat map grafiği oluşturulmuştur. Gruplar arasında ekspresyon seviyelerindeki farklılıklar mavi (en düşük ekspresyon seviyesi) ve kırmızı (en yüksek ekspresyon seviyesi) renkler arasındaki belirtilmiştir (Grafik 11).



Volcano plot grafiği, istatistiksel anlamlılığı ($-\log_{10} P$ değeri) değişimin büyüklüğüne (\log_2 kat değişimi) karşı gösterilmiş ve farklı şekilde ifade edilen genleri görselleştirmek için kullanılmıştır. Önemli ölçüde farklı şekilde ifade edilen genler, 0,05'lik varsayılan ayarlanmış p-değeri kesme değerinde renkler ile vurgulanmıştır. Kırmızı noktalar yukarı ve aşağı regüle edilen genleri temsil etmektedir. Bu veri setinin analizi ile 6918 tane DEG tanımlanmıştır. Bu belirlenen DEG'ler içinden 4067 tane gen yukarı regüle edilmekte ve 2851 gen aşağı düzenlenmektedir (Grafik 12)



DEG'lerin içinde en anlamlı seviyede olan otuz gen belirlenmiştir. Öncelikle bu genleri isimleri ve ekspresyon seviyelerini içeren bilgiler tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. GSE120622 veri setinde en anlamlı seviyede düzenlenmiş olan otuz DEG'in özellikleri

Gen Sembolu	FDR	P-degeri	Kat degisimi	Gen adı	Benzer sembol	Gen ID
TEDC2	1.72e-58	7.81e-63	3.762.749	tubulin epsilon and delta complex 2	C16orf59	ENSG00000162062
CA4	1.91e-58	1.73e-62	4.044.799	carbonic anhydrase 4	CAIV Car4 RP17	ENSG00000167434
TPX2	1.12e-53	1.52e-57	4.450.157	TPX2 microtubule nucleation factor	C20orf1 C20orf2 DIL-2 DIL2 FLS353 GD:C20orf1 HCA519 HCTP4 REPP86 p100	ENSG00000088325
MYBL2	4.59e-53	8.32e-57	4.465.483	MYB proto-oncogene like 2	B-MYB BMYB	ENSG00000101057
SPTBN2	5.91e-53	1.34e-56	3.077.519	spectrin beta, non-erythrocytic 2	GTRAP41 SCA5 SCAR14	ENSG00000173898
UHRF1	1.18e-52	3.22e-56	3.853.182	ubiquitin like with PHD and ring finger domains 1	ICBP90 Np95 RN F106 TDRD22 hN P95 hUHRF1 huN p95	ENSG00000276043
CDC20	2.97e-52	9.43e-56	4.372.429	cell division cycle 20	CDC20A bA276H19.3 p55CDC	ENSG00000117399
PYCR1	1.44e-51	5.21e-55	3.528.109	pyrroline-5-carboxylate reductase 1	ARCL2B ARCL3B P5C P5CR PIG45 PP222 PRO3 PYCR	ENSG00000183010
UBE2T	4.40e-51	2.00e-54	3.456.439	ubiquitin conjugating enzyme E2 T	FANCT HSPC150 PIG50	ENSG00000077152
KIF18B	4.40e-51	1.86e-54	4.436.804	kinesin family member 18B		ENSG00000186185
PLK1	8.43e-51	4.20e-54	3.327.469	polo like kinase 1	PLK STPK13	ENSG00000166851
CDCA8	1.07e-50	5.84e-54	3.891.631	cell division cycle associated 8	BOR BOREALIN DasraB MESRGP	ENSG00000134690
COL11A1	1.27e-49	7.49e-53	6.964.646	collagen type XI alpha 1 chain	CO11A1 COLL6 DFNA37 STL2	ENSG00000060718
RECQL4	1.78e-49	1.13e-52	3.107.833	RecQ like helicase 4		RECQ4
KIF2C	2.01e-49	1.37e-52	4.038.571	kinesin family member 2C	CT139 KNSL6 MCAK	ENSG00000142945
ABCA12	2.17e-49	1.58e-52	6.886.137	ATP binding cassette subfamily A member 12	ARCI4A ARCI4B ICR2B LI2	ENSG00000144452

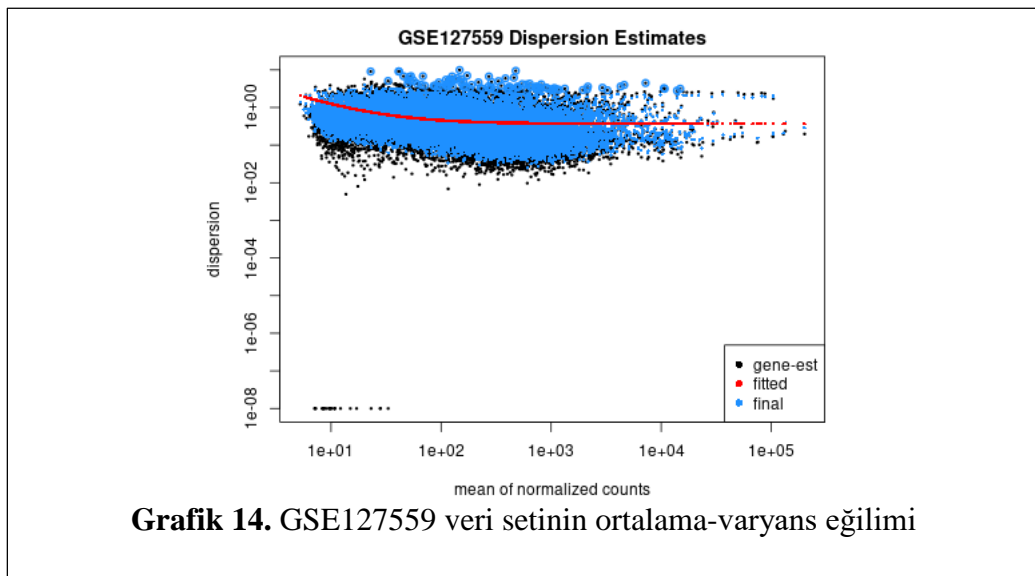
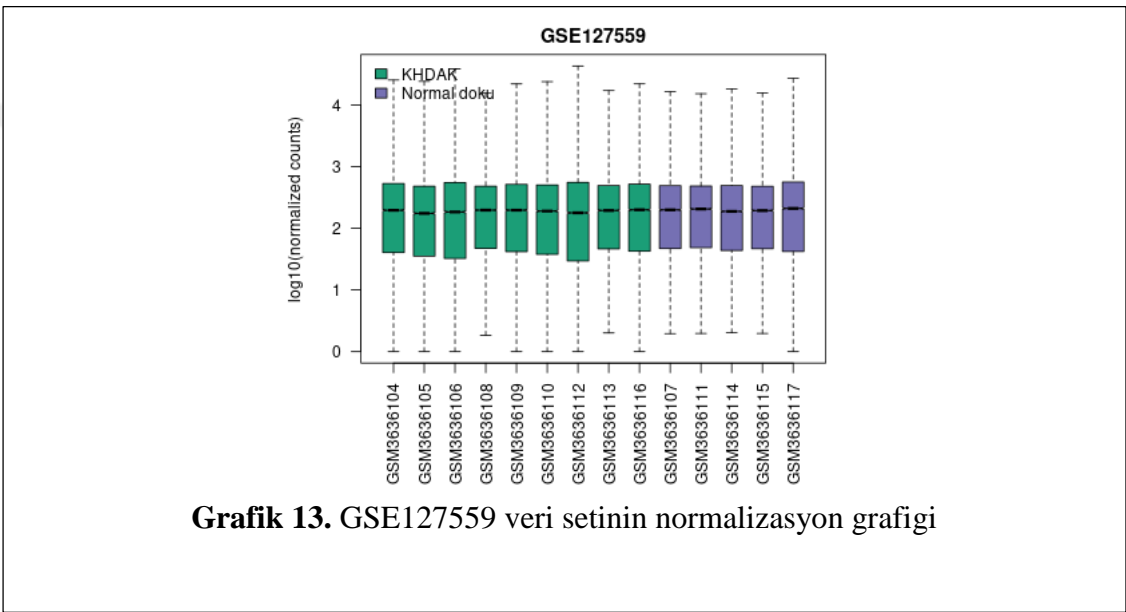
KIF4A	3.27e-48	2.52e-51	4.186.328	kinesin family member 4A	KIF4 KIF4G1 MRX100 XLID100	ENSG00000090889
TROAP	3.44e-48	2.81e-51	403.243	trophinin associated protein	TASTIN	ENSG00000135451
TOP2A	8.67e-48	7.47e-51	4.293.524	DNA topoisomerase II alpha	TOP2 TOP2alpha TOPIIA TP2A	ENSG00000131747
UBE2C	1.71e-47	1.55e-50	4.496.837	ubiquitin conjugating enzyme E2 C		UBCH10 dJ447F3.2
RAD54L	2.65e-47	2.52e-50	3.502.066	RAD54 like	HR54 RAD54A hHR54 hRAD54	ENSG00000085999
EXO1	3.27e-47	3.36e-50	4.339.654	exonuclease 1	HEX1 hExoI	ENSG00000174371
CDT1	3.27e-47	3.41e-50	3.394.119	chromatin licensing and DNA replication factor 1	DUP RIS2	ENSG00000167513
ORC6	4.73e-47	5.15e-50	3.467.559	origin recognition complex subunit 6	ORC6L	ENSG00000091651
CDC6	5.16e-47	5.85e-50	4.096.568	cell division cycle 6		CDC18L HsCDC18 HsCDC6 MGORS5
CCNB1	2.23e-46	2.63e-49	3.409.924	cyclin B1	CCNB	ENSG00000134057
SPC24	3.12e-46	3.81e-49	3.290.467	SPC24 component of NDC80 kinetochore complex	SPBC24	ENSG00000161888
CDCA5	1.24e-45	1.57e-48	3.713.714	cell division cycle associated 5	SORORIN	ENSG00000146670
BIRC5	1.46e-45	1.92e-48	4.070.259	baculoviral IAP repeat containing 5	API4 EPR-1	ENSG00000089685
NME1	1.70e-45	2.31e-48	2.255.389	NME/NM23 nucleoside diphosphate kinase 1	AWD GAAD NB NBS NDKA NDPK-A NDPKA NM23 NM23-H1	ENSG00000239672

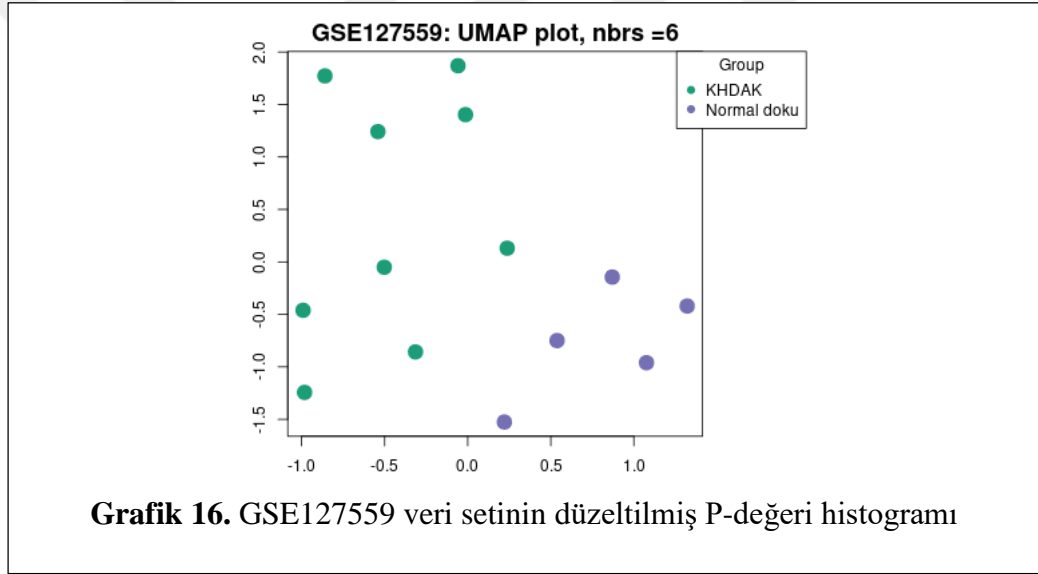
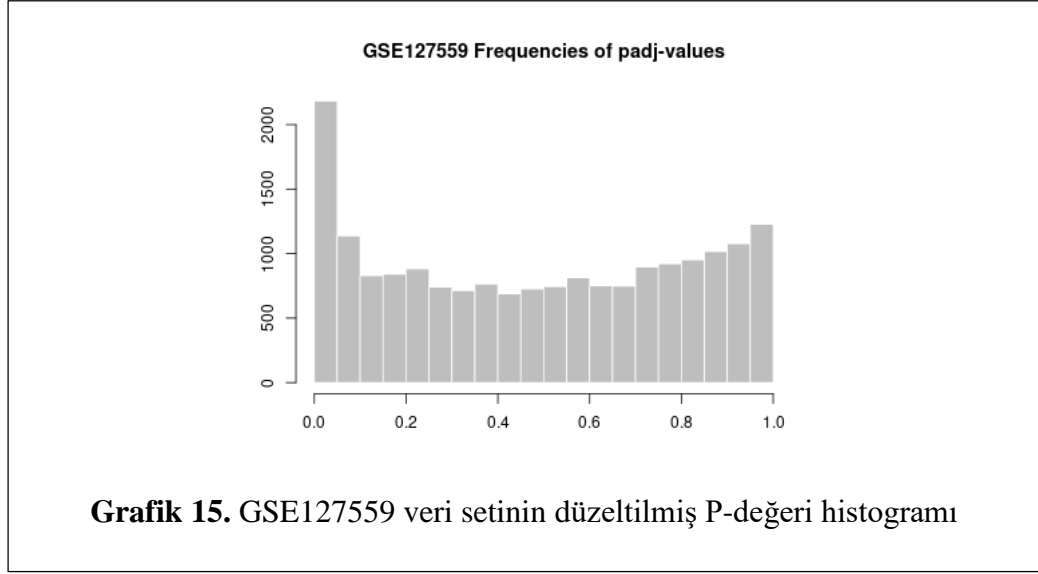
4.5. GSE127559 veri setinin normalizasyon ve varyans sonuçları

Seçilen örnek değerlerinin normalizasyonu gerçekleştirilmiştir. Örneklerin diferansiyel ifade analizi için uygun olup olmadığını belirlemek için yararlı örnek değerlerinin normalizasyondan sonra dağılımını görüntülenmiştir (Grafik 13). Tüm örneklerin aynı değer dağılımına sahip olması sağlanmıştır. Örnekler gruplara göre

renklendirilmiştir. Medyan merkezli değerler verilerin normalleştirildiğini ve çapraz karşılaştırılabilir olduğunu göstermektedir.

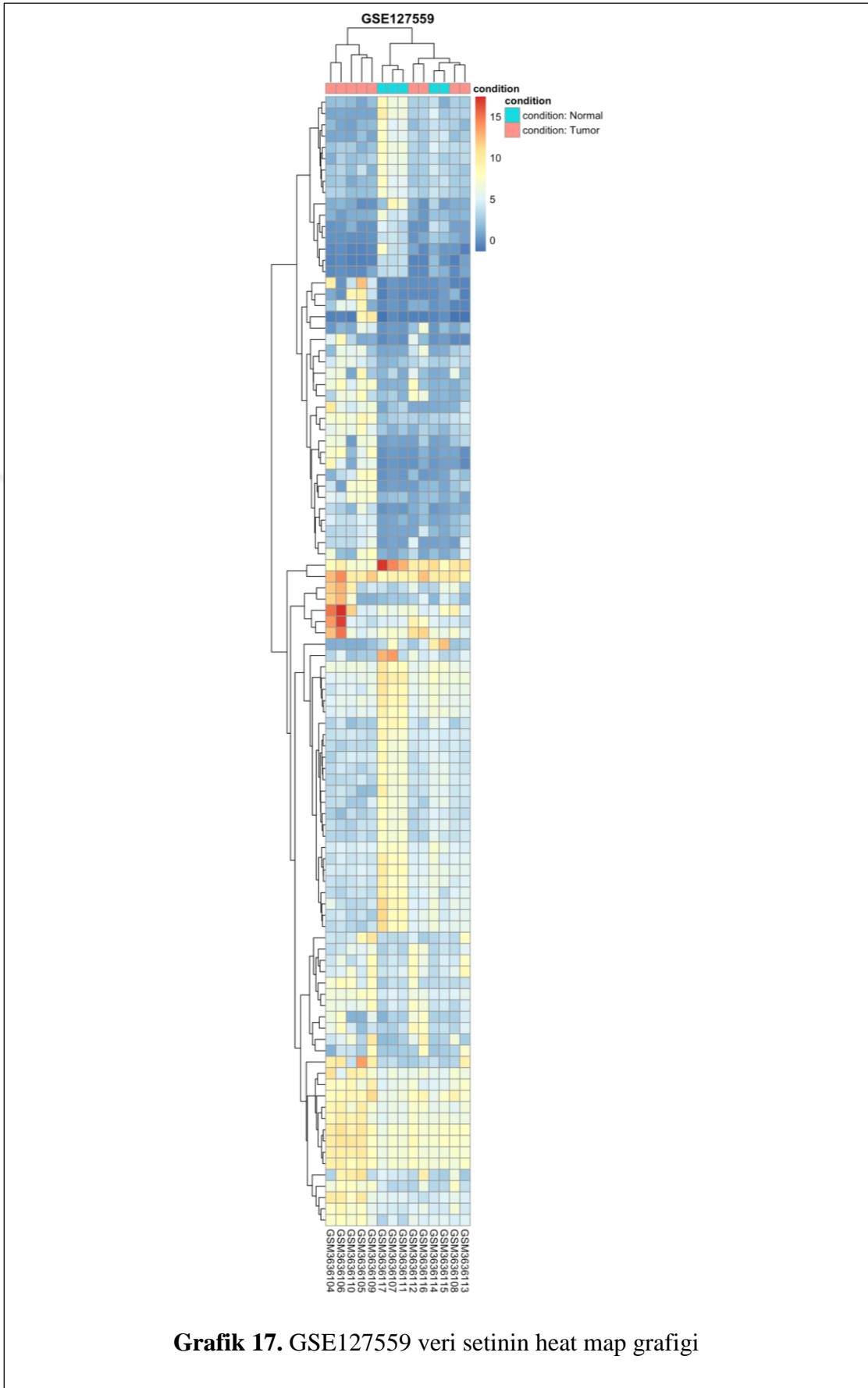
Ortalama-varyans eğilimi ile doğrusal bir model uydurulduktan sonra ifade verilerinin ortalama seviyede varyans ilişkisini kontrol etmek için kullanılmıştır. Grafik 14’de verilerde varyasyon eğilimi gösterilmiştir. Hesaplama kullanılan en yakın komşuların sayısı grafikte gösterilir. Analiz sonuçlarındaki P-değerlerinin dağılımı grafik 15 görüntülenmiştir. UMAP ile örneklerin birbirleriyle ilişkileri görselleştirilmiştir (Grafik 16).





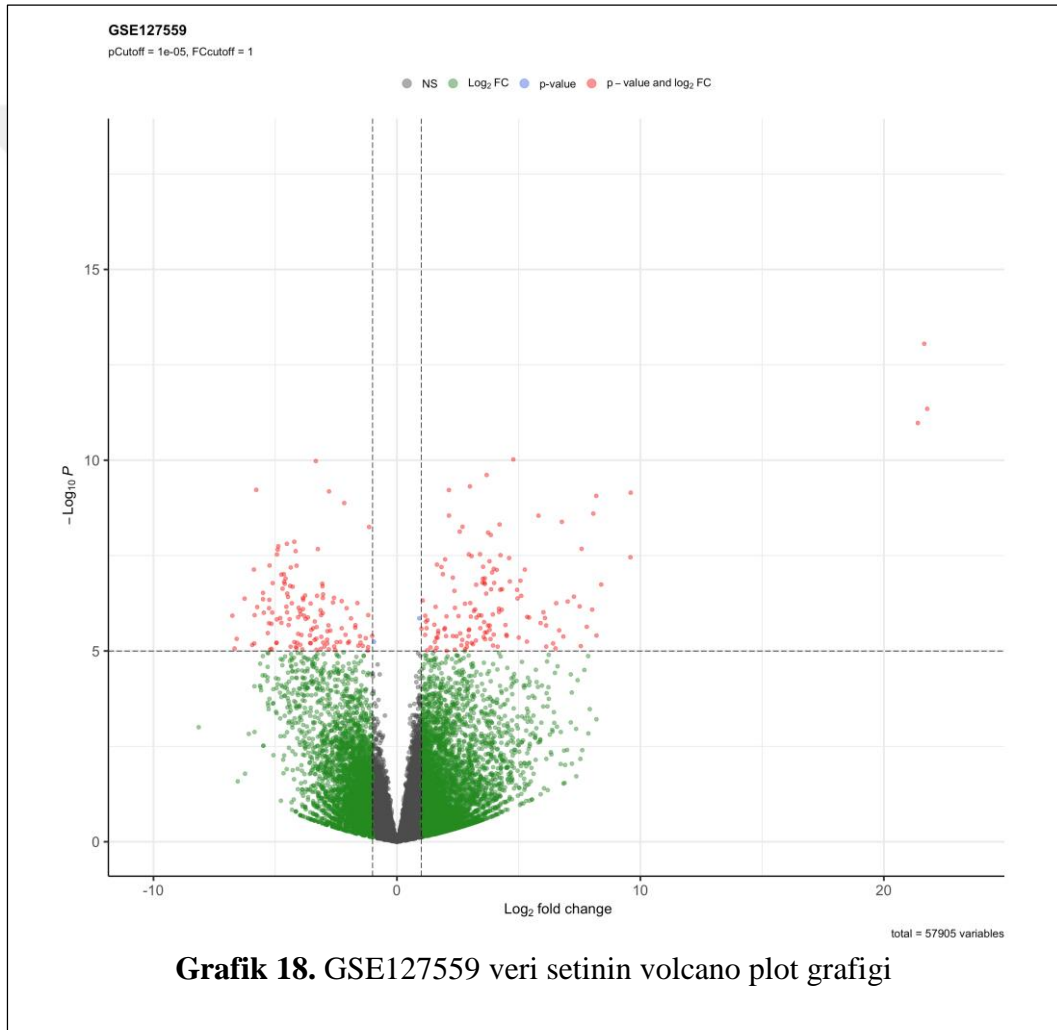
4.6. GSE127559 veri setindeki akciğer dokularında diferansiyel olarak ifade edilen genlerin tanımlanması

Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastaların akciğer dokularında genlerin ekspresyon değerleri ile heat map grafiği oluşturulmuştur. Gruplar arasında ekspresyon seviyelerindeki farklılıklar mavi (en düşük ekspresyon seviyesi) ve kırmızı (en yüksek ekspresyon seviyesi) renkler arasındaki belirtilmiştir (Grafik 17).



Grafik 17. GSE127559 veri setinin heat map grafiği

Volkan grafiği, istatistiksel anlamlılığı ($-\log_{10} P$ değeri) değişimin büyüklüğüne (\log_2 kat değişimi) karşı gösterilmiş ve farklı şekilde ifade edilen genleri görselleştirmek için kullanılmıştır. nemli ölçüde farklı şekilde ifade edilen genler, 0,05'lik varsayılan ayarlanmış p-değeri kesme değerinde renkler ile vurgulanmıştır. Kırmızı noktalar yukarı ve aşağı regüle edilen genleri temsil etmektedir. Bu veri setinin analizi ile 1930 tane DEG tanımlanmıştır. Bu belirlenen DEG'ler içinden 1050 tane gen yukarı regüle edilmekte ve 880 gen aşağı düzenlenmektedir (Grafik 18)



DEG'lerin içinde en anlamlı seviyede olan otuz gen belirlenmiştir. Öncelikle bu genleri isimleri ve ekspresyon seviyelerini içeren bilgiler tablo 3'de verilmiştir.

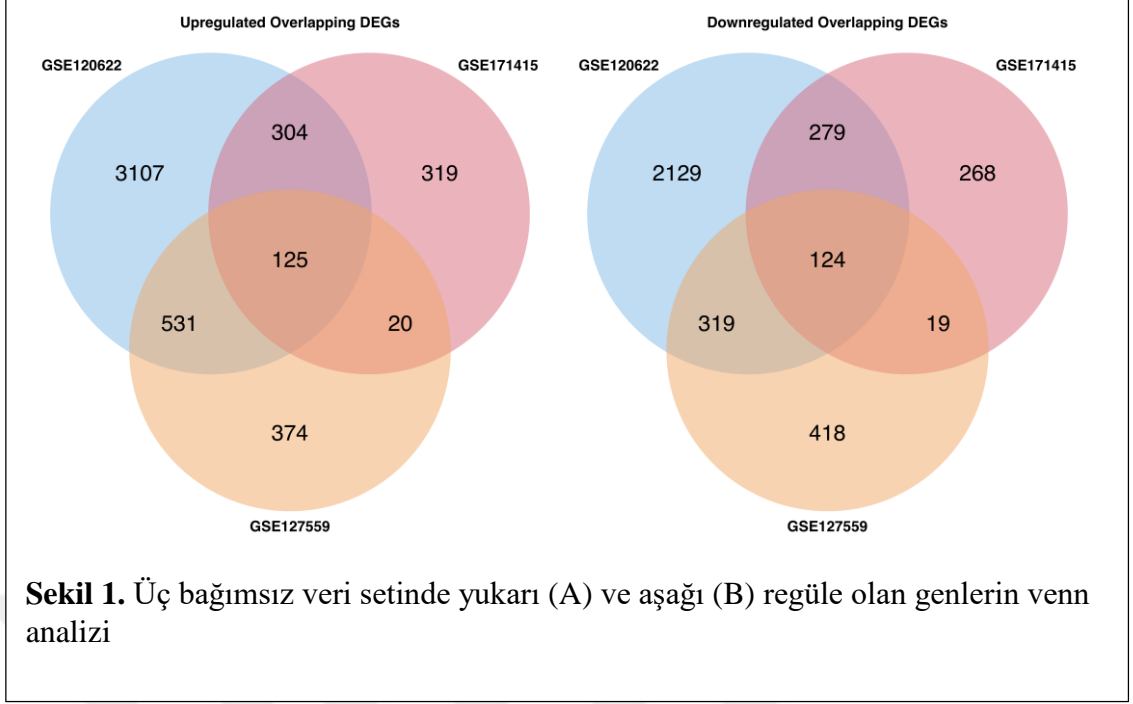
Tablo 3. GSE127559 veri setinde en anlamlı seviyede düzenlenmiş olan otuz DEG'in özellikleri

Gen Sembolu	FDR	P-degeri	Kat degisimi	Gen adı	Benzer sembol	Gen ID
ST8SIA6	8.15e-10	4.37e-14	-3.4279	ST8 alpha-N-acetylneuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 6	SIA8F SIAT8-F SIAT8F ST8SIA-VI ST8SiaVI	ENSG00000148488
DYNLT5	3.54e-07	4.10e-11	-3.355	dynein light chain Tctex-type family member 5	TCTEX1D1	ENSG00000152760
MMP11	3.54e-07	5.70e-11	4.7584	matrix metallopeptidase 11	SL-3 ST3 STMY3	ENSG00000099953
BARX1	6.59e-07	1.41e-10	9.8081	BARX homeobox 1		ENSG00000131668
PYCR1	9.60e-07	2.57e-10	2.668	pyrroline-5-carboxylate reductase 1	ARCL2B ARCL3B P5C P5CR PIG45 PP222 PRO3 PYCR	ENSG00000183010
UBE2T	1.07e-06	3.45e-10	2.962	ubiquitin conjugating enzyme E2 T	FANCT HSPC150 PIG50	ENSG00000077152
CST1	1.65e-06	6.19e-10	7.8915	cystatin SN		ENSG00000170373
DDO	1.92e-06	8.24e-10	-2.8164	D-aspartate oxidase	DASOX DASPO DDO-1 DDO-2	ENSG00000203797
PPP2R2C	1.93e-06	9.46e-10	5.8386	protein phosphatase 2 regulatory subunit Bgamma	B55-GAMMA B55gamma I MYMNO IMYPNO1 PR52 PR55G	ENSG00000074211
HOXA10	1.93e-06	1.24e-09	6.844	homeobox A10	HOX1 HOX1.8 HOX1H PL	ENSG00000253293
NME1	1.93e-06	1.19e-09	2.0972	NME/NM23 nucleoside diphosphate kinase 1	AWD GAAD NB NBS NDKA NDPK-A NDPKA NM23 NM23-H1	ENSG00000239672
PRAME	1.93e-06	1.17e-09	9.235	PRAME nuclear receptor transcriptional regulator	CT130 MAPE OIP-4 OIP4	ENSG00000185686
AXIN2	2.33e-06	1.63e-09	-2.1332	axin 2	AXIL ODCRCS	ENSG00000168646
GPRIN1	2.39e-06	1.79e-09	3.4551	G protein regulated inducer of neurite outgrowth 1	GRIN1	ENSG00000169258
LOC105378519	3.01e-06	2.42e-09	-2.3879	uncharacterized LOC105378519		
SAPCD2	3.07e-06	2.80e-09	4.1582	suppressor APC domain containing 2	C9orf140 p42.3	ENSG00000186193
UBE2C	3.07e-06	2.65e-09	3.7.528	ubiquitin conjugating enzyme E2 C	UBCH10 dJ447F3.2	ENSG00000175063
HMGA1	3.27e-06	3.52e-09	2.1481	high mobility group AT-hook 1	HMG-R HMGA1A HMGIY	ENSG00000137309
LCAL1	3.27e-06	3.69e-09	6.087	lung cancer associated lncRNA 1	onco-lncRNA-27	ENSG00000286042

SAXO2	3.27e-06	3.57e-09	-4.3108	stabilizer of axonemal microtubules 2	FAM154B	ENSG00000188659
HYDIN	3.27e-06	3.58e-09	-4.4405	HYDIN axonemal central pair apparatus protein	CILD5 HYDIN1 HYDIN2 PPP1R31	ENSG00000157423
PAFAH1B3	3.49e-06	4.12e-09	2.0126	platelet activating factor acetylhydrolase 1b catalytic subunit 3	PAFAHG	ENSG00000079462
ZFPM2-AS1	4.49e-06	5.54e-09	6.8744	ZFPM2 antisense RNA 1	SCAT3	
CDC20	4.49e-06	6.27e-09	3.8251	cell division cycle 20	CDC20A bA276H19.3 p55CDC	ENSG00000117399
SLC7A5	4.49e-06	6.21e-09	2.6674	solute carrier family 7 member 5	4F2LC CD98 D16S469E E16 LAT1 MPE16	ENSG00000103257
DGCR5	4.49e-06	6.10e-09	4.8300	DiGeorge syndrome critical region gene 5	DGCR10 DGCR9 DGS-A DGS-B LINC00037 NCRNA00037 POM121L5P	ENSG00000273032
ANLN	6.52e-06	9.45e-09	3.4614	anillin, actin binding protein	FSGS8 Scraps scra	ENSG00000011426
RSPH4A	8.12e-06	1.26e-08	-4.512	radial spoke head component 4A	CILD11 RSHL3 RSPH6B dJ412I7.1	ENSG00000111834
TPX2	8.12e-06	1.25e-08	3.8861	TPX2 microtubule nucleation factor	C20orf1 C20orf2 DIL-2 DIL2 FLS353 GD:C20orf1 HCA519 HCTP4 REPP86 p100	ENSG00000088325
TMEM47	8.68e-06	1.40e-08	-1.1227	transmembrane protein 47	BCMP1 TM4SF10 VAB-9	ENSG00000147027

4.7. Üç veri setinde ortak diferansiyel olarak ifade edilen genleri

Üç bağımsız veri setinin tamamında tutarlı bir şekilde yukarı ve aşağı regüle olan genler venn analizi kullanılarak tanımlanmış ve FunRich tarafından bir Venn diyagramı oluşturulmuştur. Sonuç olarak, üç veri setinde ortak 125 yukarı regüle olan DEG (Şekil 1A) ve 124 aşağı regüle olan DEG (Şekil 1B) elde ettik.

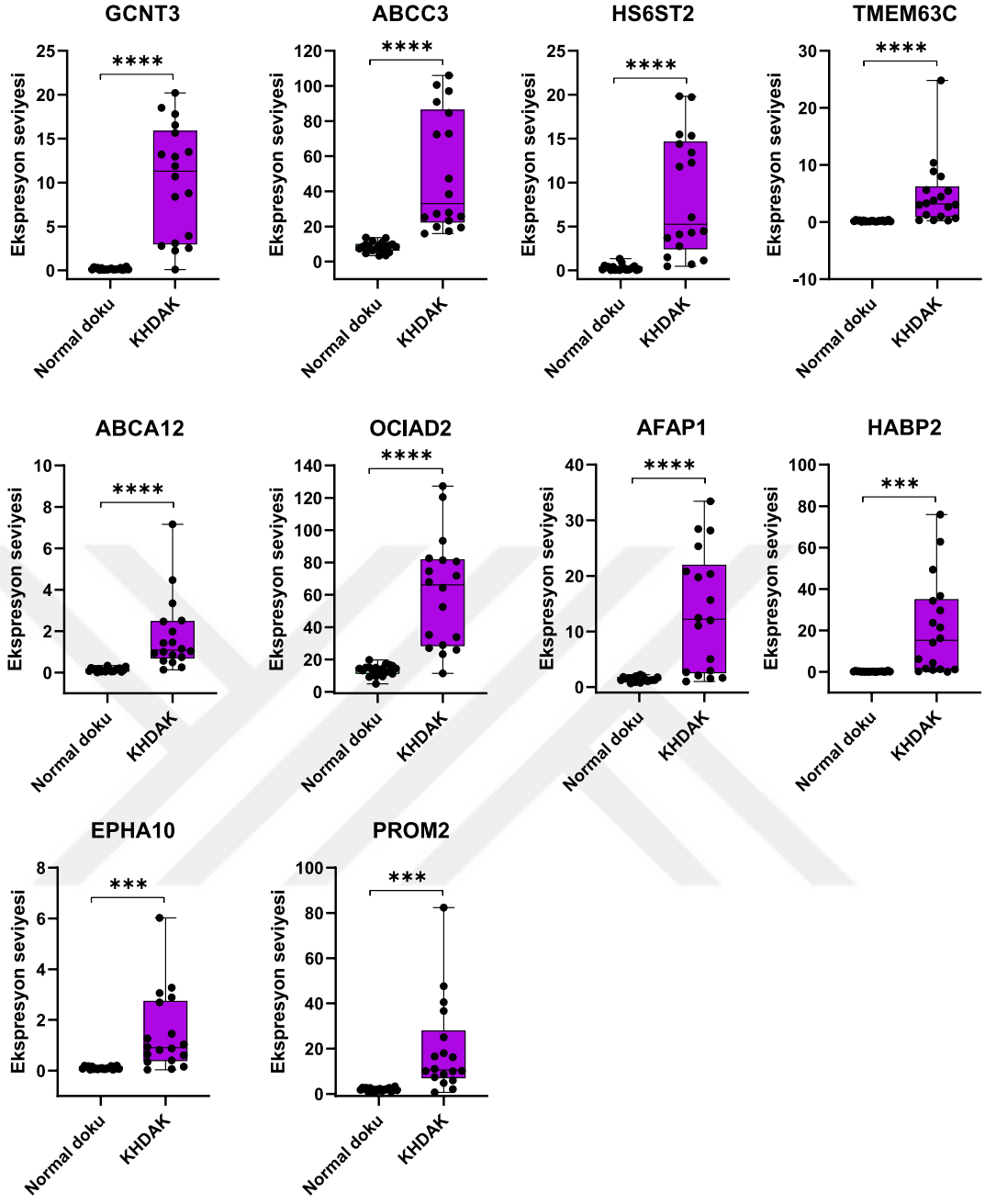


4.8. Üç veri setinde en anlamlı seviyede diferansiyel olarak ifade edilen genlerin ekspresyon seviyeleri

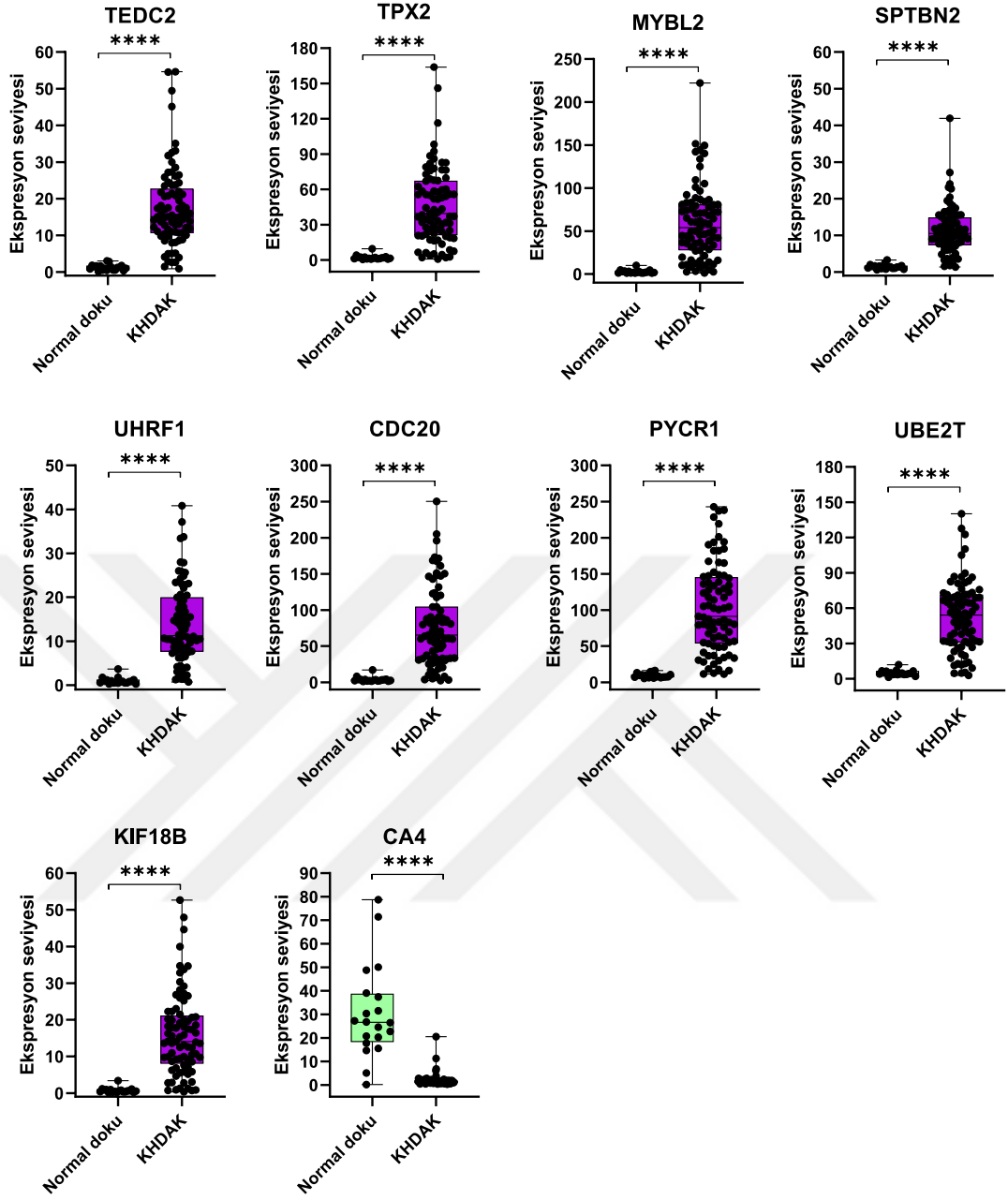
Veri setlerinde en anlamlı seviyede on diferansiyel olarak ifade edilen genlerin ekspresyon seviyeleri her örnek üzerinde değerlendirilmiştir. GSE171415 veri setinde diferansiyel olanlar içinden GCNT3, ABCC3, TMEM63C, AFAB1-AS1, HS6ST2, HABP2, PROM2, OCIAD2, ABCA12 ve EPHA10 en anlamlı seviyede yukarı yönde regüle olan diferansiyel genlerdir (Grafik 19)

GSE120622 veri setindeki en anlamlı seviyede diferansiyel olanlar içinden TEDC2, TPX2, MYBL2, SPTBN2, UHRF1, CDC20, PYCR1, UBE2T ve KIF18B en anlamlı seviyede yukarı yönde regüle olan diferansiyel genlerdir. CA4 ise aşağı yönde regüle olan gendir (Grafik 20).

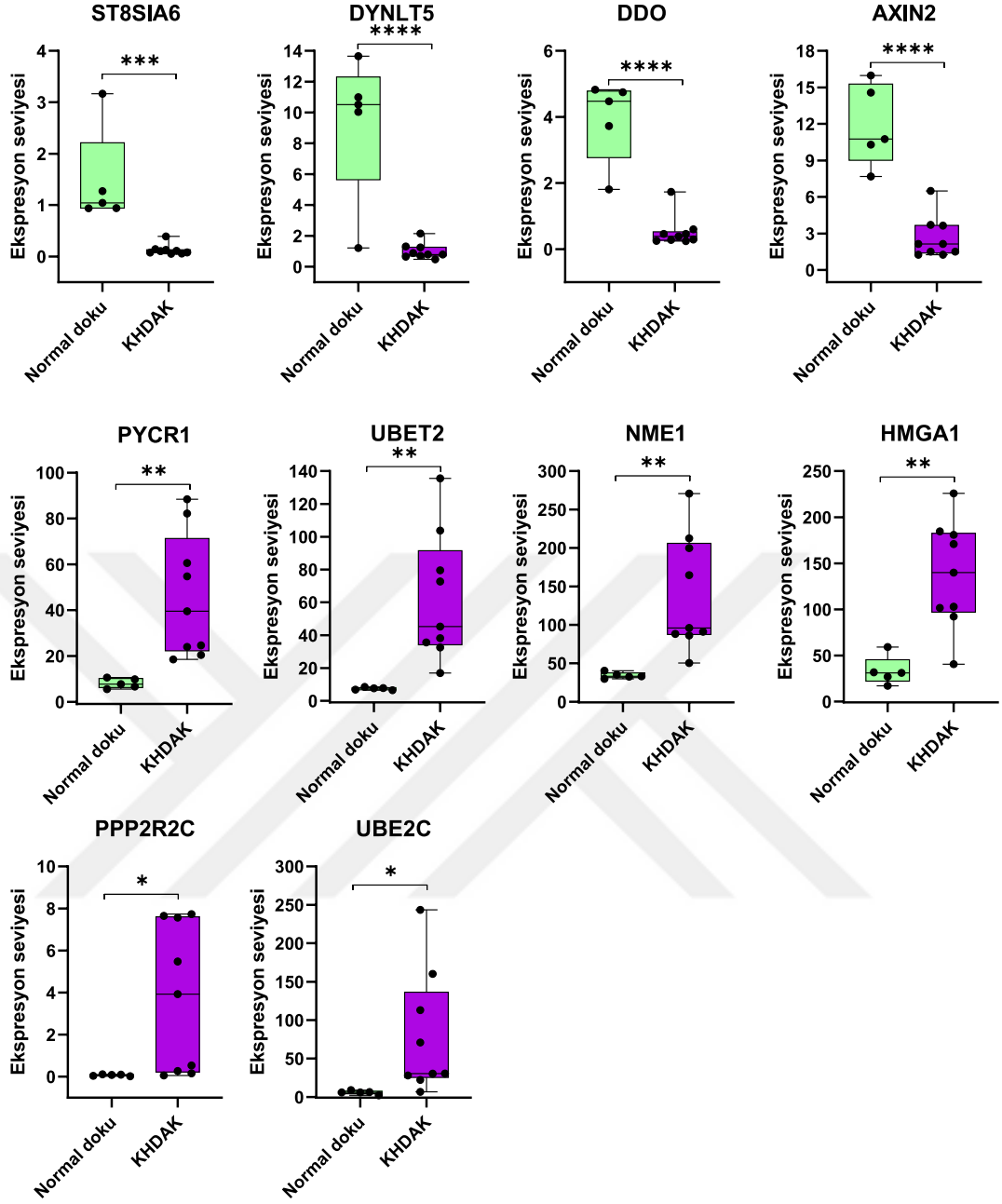
GSE127559 veri setindeki en anlamlı seviyede diferansiyel olanlar içinden ST8SIA6, DYNLT5, DDO ve AXIN2 aşağı yönde regüle olan genlerdir. PYCR1, UBE2T, DDO, PPP2R2C, NME1, UBE2C ve HMGA1 genler ise en anlamlı seviyede yukarı yönde regüle olan diferansiyel genlerdir (Grafik 21)



Grafik 19. GSE171415 veri setinin en anlamlı seviyede DEG'ler



Grafik 20. GSE120622 veri setinin en anlamlı seviyede DEG'ler



Grafik 21. GSE127559 veri setinin en anlamlı seviyede DEG'ler

4.9. DEG'lerin fonksiyon zenginleştirme analizi

DEG'lerin işlevi hakkında fikir edinmek için GO/KEGG zenginleştirme analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analizler sonucunda istatistiksel olarak yüksek anlamlılığa sahip ilk 10 biyolojik fonksiyon değerlendirilmiştir (Tablo 4). Bu fonksiyon analizlerinde her bir yolağa katılan DEG'lerin listesi de tabloda listelenmiştir. Yukarı regüle edilen genler hücre bölünmesi, Mitotik nükleer bölünmesi, Hücre siklusu ve Epitel hücre migrasyonu, Nükleer kromozom ayrımı, Hücre hareketliliğinin negatif düzenlenmesi, Anjiogenezis, Vaskülatür gelişiminin negatif düzenlenmesi, Hücre bağlantı düzeneğinin düzenlenmesi, cGMP sinyal yolu ile ilişkili biyolojik süreçlerde zenginleşmiştir.

Tablo 4. GO zenginleştirme analizi

Fonksiyon	Durumu	P değeri	DEG
Hücre bölünmesi	Yukarı regülasyon	2.92E-33	MAD2L1, MIS18A, HELLS, KIF11, AURKA, ZWINT, BRCA2, BLM, NDC80, MDK, RCC1, CCNB1, NDE1, CKS2, CCNF, ASPM, NEK2, NUSAP1, BUB1B, CENPE, SPAG5, KIF20A, CCNE1, PTTG1, KIF18B, TOP2A, BIRC5, NCAPG2, BRIP1, KIF14, NCAPG, CCNA2, RACGAP1, CENPF, ESPL1, CDCA3, CDT1, NCAPH, CDC6, SPC25, OIP5, NCAPD3, KNTC1, E2F8, KIF23, PIMREG, ECT2, CKAP2, TIMELESS, CCNE2, CDCA8, CDC20, TPX2, KIF2C, BUB1, CEP55, KIF4A, UBE2C, CCNB2, PRC1, AURKB,
Mitotik nükleer bölünme	Yukarı regülasyon	5.03E-28	UBE2C, TTK, CCNB2, CHEK1, CENPE, SPAG5, PRC1, AURKB, MYBL2, TRIP13, CDT1, NCAPH, CDC6, NEK2, NUSAP1, BUB1B, CCNE1, PTTG1, KIF18B, MKI67, KIF14, NCAPG, KIF18A, CCNA2, RACGAP1, CENPF, ESPL1, MAD2L1, KIF11, AURKA, ZWINT, NDC80, RCC1, CCNB1, NDE1, CCNF, TUBG1, NCAPD3, KNTC1, KIF23, CCNE2, CDCA8, CDC20, TPX2, KIF2C, DLGAP5, BUB1, KIF4A
Hücre siklusu	Yukarı regülasyon	7.08E-24	AURKA, FGFR1OP, BLM, RPA3, NDC80, RCC1, RECQL4, CCNB1, RRM2, DONSON, NDE1, HMMR, CKS2, TUBG1, KNTC1, E2F8, PLK4, BRCA1, EZH2, CDKN2A, NEK2, BUB1B, CENPE, GTSE1,

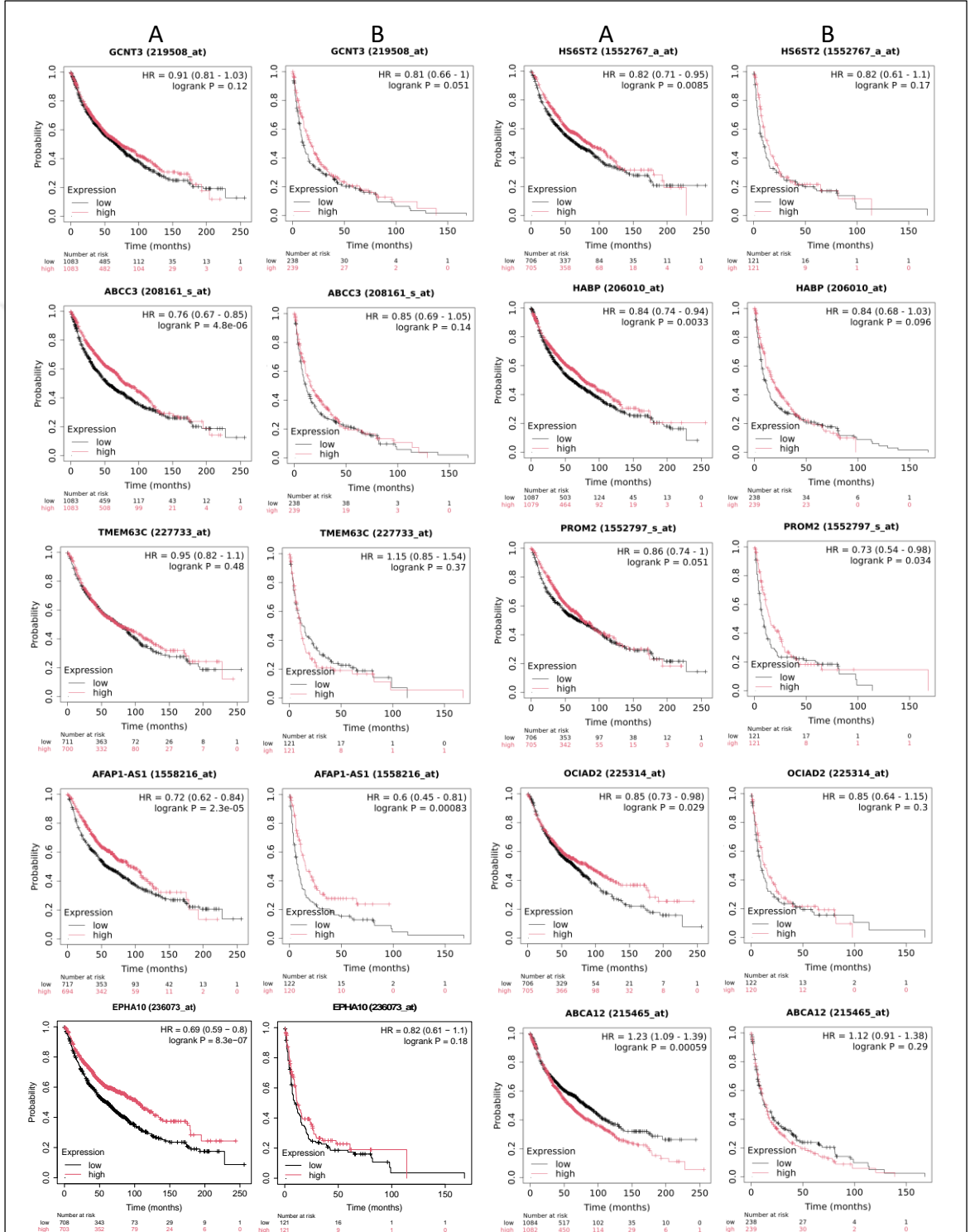
			CCNE1, TYMS, POLE2, MELK, KIF14, CCNA2, CENPF, MCM2, ESPL1, MAD2L1, FOXM1, CDKN3, MCM4, TRIP13, CDT1, CDC6, TIMELESS, CCNE2, CDC20, TPX2, DLGAP5, BUB1, UBE2C, TTK, CCNB2, CHEK1, AURKB,
Hücre hareketliliğinin negatif düzenlenmesi	Aşağı regülasyon	3.02E-19	RGN, DLC1, MMRN2, PTPRM, ADARB1, LIMCH1, TBX5, SMAD7, RECK, DCN, CX3CR1, LRCH1, PRKG1, SLIT2, MEOX2, CXCL12, STARD13, SCAI, IL33, FGF2, PTGER4, CLASP2, PTPRG, MMP28, FBLN1, DUSP1, ACVRL1, ENG, PPARGC1A, NAV3, CX3CL1
Epitel hücre migrasyonu	Yukarı regülasyon	4.06E-17	GATA2, MEOX2, EMP2, RAB11A, ANGPT1, STARD13, KDR, FGF2, PECAM1, ZEB2, FGF18, CLASP2, TEK, EPB41L5, KANK2, MAP3K3, MMRN2, ETS1, PTPRM, DCN, PRKCE, SASH1, MACF1, TGFBR2, SLIT2, PPM1F, BMPR2, HYAL1, EDN1, PTPRG, ACVRL1, ANXA3, NR4A1, SEMA5A, TEK, EPB41L5, KANK2, MAP3K3, MMRN2, ETS1, PTPRM, DCN, PRKCE, SASH1, MACF1, TGFBR2, SLIT2, GATA2, MEOX2, EMP2, RAB11A, ANGPT1, STARD13, KDR, FGF2, PECAM1, ZEB2, FGF18, CLASP2, PPM1F, BMPR2, PTPRG, ACVRL1, ANXA3, NR4A1, SEMA5A, HYAL1, EDN1
Angiogenesis	Aşağı regülasyon	6.01E-14	NPR1, TGFBR2, AGTR1, SLIT2, GATA2, GATA6, MEOX2, PDE3B, TCF21, JAM3, TEK, MAP3K3, MMRN2, TMEM100, ETS1, PTPRM, SOX17, RECK, PPP1R16B, DCN, CX3CR1, SASH1, GJA5, EDNRA, CAV1, ARHGAP24, CYR61, TAL1, CALCRL, ACVRL1, ENG, ANXA3, NR4A1, SEMA5A, HYAL1, EDN1, CX3CL, EMP2, KLF2, ANGPT1, STARD13, KDR, CDH5, FGF2, PTPRB, PECAM1, HGF, S1PR1, FGF18, ROBO4, PRKCB,
Nükleer kromozom ayrımı	Yukarı regülasyon	4.05E-11	ASPM, NEK2, NUSAP1, BUB1B, CENPE, SPAG5, CCNE1, PTTG1, NEK2, NUSAP1, BUB1B, CENPE, SPAG5, CCNE1, PTTG1, KIF18B, TOP2A, BRIP1, KIF14, NCAPG, KIF18A, RACGAP1, CENPF, ESPL1, MAD2L1, ZWINT, BLM, NDC80, CCNB1, TUBG1, NCAPD3, KIF23, ECT2, NCAPH, CDC6, FEN1, CCNE2, CDCA8, CDC20,

			KIF2C, DLGAP5, BUB1, KIF4A, TTK, PRC1, AURKB, TRIP13, CDT1,
Vaskülatür gelişiminin negatif düzenlenmesi	Aşağı regülasyon	3.01E-8	TEK, MAP3K3, TMEM100, ETS1, RAP1A, CFLAR, PPP1R16B, CX3CR1, SASH1, TGFBR2, AGTR1, GATA2, GATA6, KDR, CDH5, FGF2, HGF, FGF18, PRKCB, ACVRL1, ENG, ANXA3, SEMA5A, HYAL1, CX3CL1, TEK, MAP3K3, MMRN2, TMEM100, ETS1, PTPRM, RAP1A, CFLAR, PPP1R16B, DCN, CX3CR1, SASH1, NPR1, TGFBR2, AGTR1, GATA2, GATA6, MEOX2, PDE3B, EMP2, KLF2, STARD13, KDR, CDH5, FGF2, HGF, FGF18, PRKCB, ACVRL1, ENG, ANXA3, SEMA5A, HYAL1, CX3CL1
Hücre bağlantı düzeneğinin düzenlenmesi	Aşağı regülasyon	8.03E-6	MAD2L1, AURKA, FGFR1OP, BLM, RPA3, NDC80, RCC1, RECQL4, ARHGAP6, TEK, EPB41L5, DLC1, LIMCH1, RAP1A, PEAK1, MACF1, KDR, GPM6B, CLASP2, PPM1F, CAV1, ACVRL1, PRKCH, ACE, CLDN5
cGMP sinyali yolu	Aşağı regülasyon	5.23E-05	STARD13, KDR, FGF2, FGF18, CLASP2, PPM1F, BMPR2, PTPRG, ACVRL1, ANXA3, SEMA5A, HYAL1, EDN1, EK, EPB41L5, MAP3K3, MMRN2, ETS1, PTPRM, DCN, PRKCE, SASH1, MACF1, TGFBR2, SLIT2, GATA2, MEOX2, EMP2, RAB11A, ANGPT1,

4.10. Sağ-kalım analizi ile progresyon değerlendirmesi

Genel sağ kalım analizini gerçekleştirmek için Kaplan-Meier sağkalım eğrileri kullanılmıştır. GSE171415 veri bankasında en anlamlı seviyedeki on genin genel sağkalım (Overall survival: OS) ve progresyonsuz veya hastalısız sağkalım (Progression-free survival: PFS) eğrileri gerçekleştirilmiştir. Belirlenen bu GCNT3, ABCC3, TMEM63C, AFAP1-AS1, HS6ST2, HABP2, PROM2, OCIAD2, ABCA12 ve EPHA10 genler KHDAK hastalarda yukarı regüle olmaktadır. Bu genlerin ekspresyon düzeyi yüksek olan akciğer kanserli hastalar ile düşük ekspresyonlu hastalara kıyaslanmıştır. Bunlardan 9 gende ekspresyon seviyesi yüksek olan hastalarda daha iyi bir 5 yıllık genel sağkalım süresi sergilediği belirlenmiştir.

Bunlardan ABCC3, AFAP1-AS1, HS6ST2, HABP2, OCIAD2 ve EPHA10 genlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Aksine ABCA12 ekspresyon düzeyi düşük olan akciğer kanserli hastalar ise yüksek ekspresyonlu hastalara kıyasla daha istatistiksel olarak anlamlı iyi bir 5 yıllık genel sağkalım süresi sergilemiştir (Grafik 22).

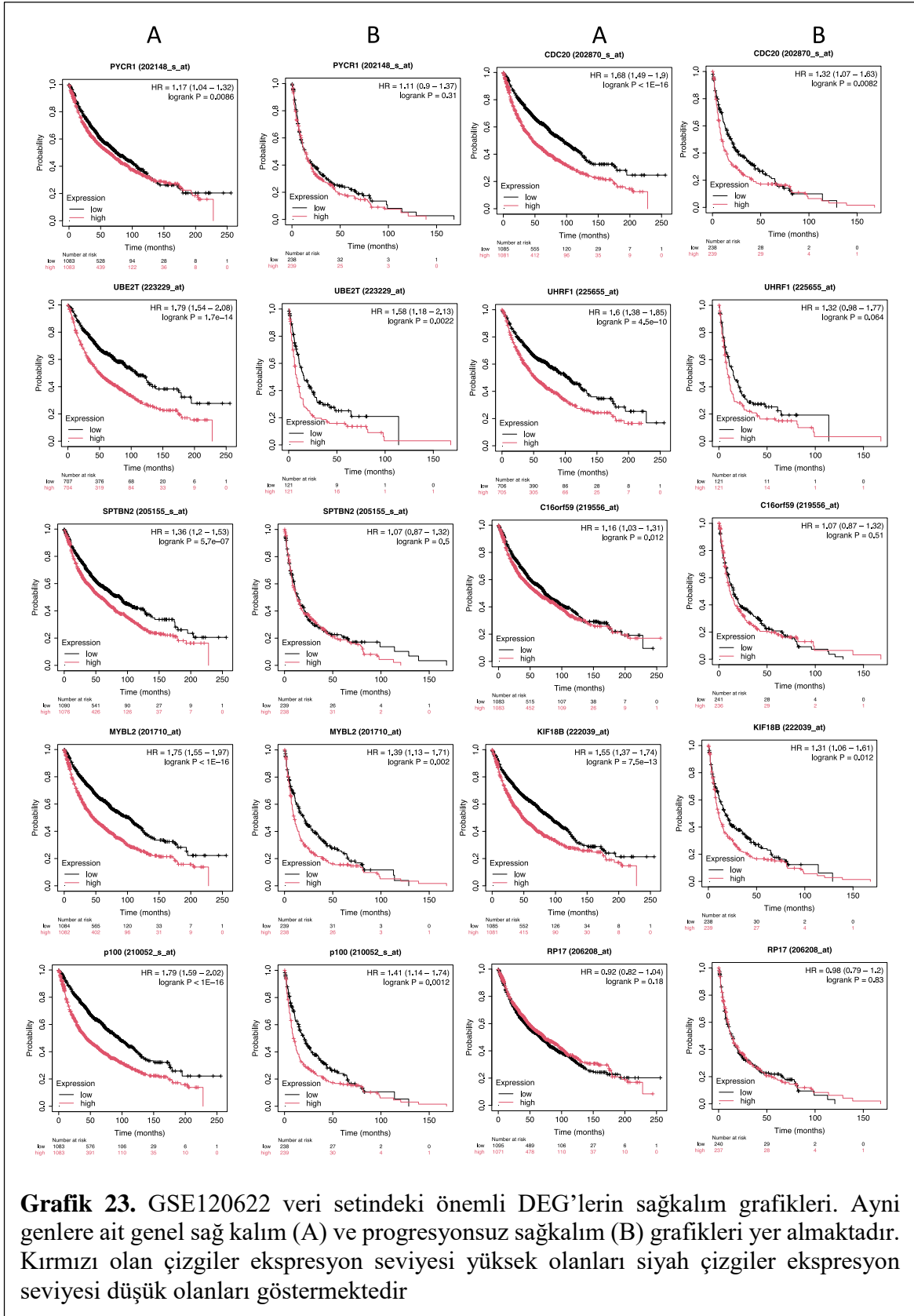


Grafik 22. GSE171415 veri setindeki önemli DEG'lerin sağkalım grafikleri. Aynı genlere ait genel sağ kalım (A) ve progresyonsuz sağkalım (B) grafikleri yer almaktadır. Kırmızı olan çizgiler ekspresyon seviyesi yüksek olanları siyah çizgiler ekspresyon seviyesi düşük olanları göstermektedir

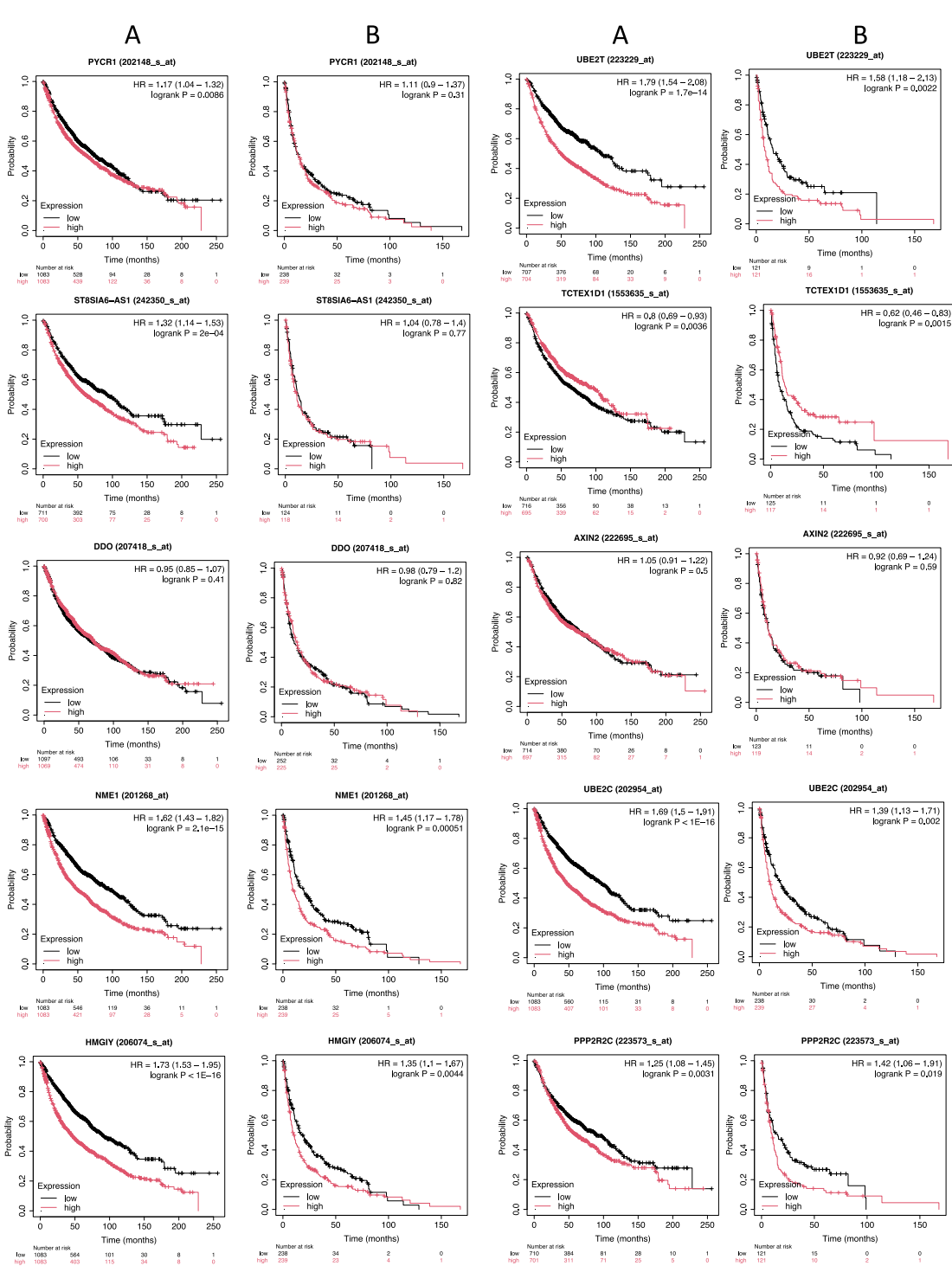
GSE120622 veri bankasında en anlamlı seviyedeki on genin genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım eğrileri gerçekleştirilmiştir. Bu veri setindeki en anlamlı seviyede diferansiyel olanlar içinden TEDC2 (C16orf59), TPX2 (p100), MYBL2, SPTBN2, UHRF1, CDC20, PYCR1, UBE2T ve KIF18B en anlamlı seviyede yukarı yönde regüle olan diferansiyel genlerdir. CA4 (RP17) ise aşağı yönde regüle olan genidir. Bu genlerin ekspresyon düzeyi yüksek olan akciğer kanserli hastalar ile düşük ekspresyonlu hastalar kıyaslanmıştır. CA4 ise geninde ise anlamlı bir değişiklik tespit edilmez iken diğer genlerin ekspresyon seviyesi düşük olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha iyi bir 5 yıllık genel sağkalım süresi sergilediği belirlenmiştir (Grafik 23).

GSE127559 veri setindeki diferansiyel olan genler içinden aşağı yönde regüle olan ST8SIA6, DYNLT5 (TCTEX1D1), DDO ve AXIN2 ile yukarı yönde regüle olan PYCR1, UBE2T, PPP2R2C, NME1, UBE2C ve HMGA1 (HIMGİY) genler belirlenmiştir. Bu genlerin genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım eğrileri gerçekleştirilmiştir. Bu genlerin ekspresyon düzeyi yüksek olan akciğer kanserli hastalar ile düşük ekspresyonlu hastalar kıyaslanmıştır. Aşağı yönde regüle olan ST8SIA6, DYNLT5 (TCTEX1D1), DDO ve AXIN2 ile

Genel olarak genlerin ekspresyon seviyesi düşük olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha iyi bir 5 yıllık genel sağkalım süresi sergilediği belirlenmiştir. Aşağı yönde regüle olan DYNLT5 genin de ise tam tersine ekspresyon seviyesi yüksek olan hastalar istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha iyi bir 5 yıllık genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım süresi göstermiştir. AXIN2 geninde ise anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir (Grafik 24).



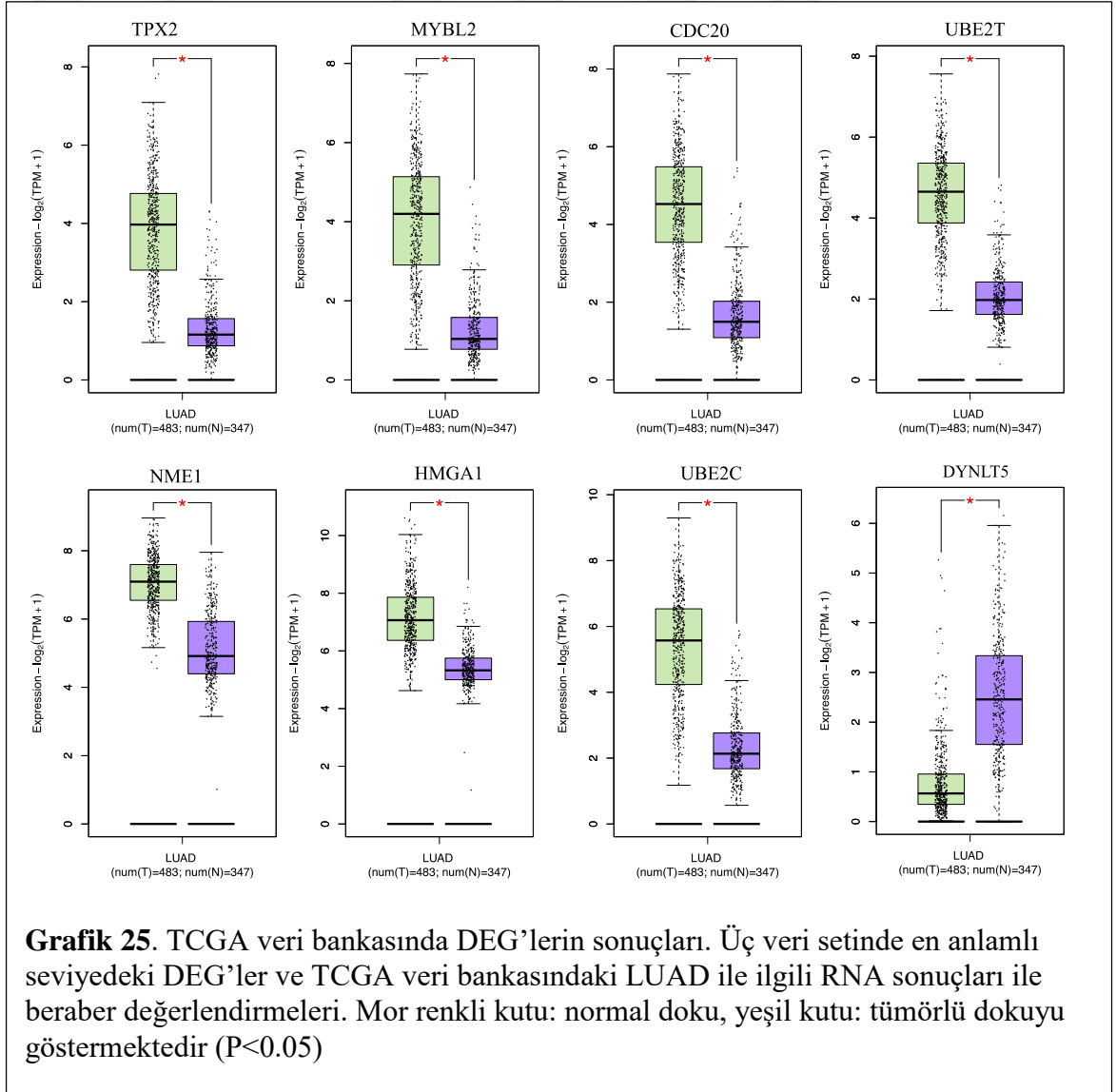
Grafik 23. GSE120622 veri setindeki önemli DEG'lerin sağkalım grafikleri. Aynı genlere ait genel sağ kalım (A) ve progresyonsuz sağkalım (B) grafikleri yer almaktadır. Kırmızı olan çizgiler ekspresyon seviyesi yüksek olanları siyah çizgiler ekspresyon seviyesi düşük olanları göstermektedir



Grafik 24. GSE127559 veri setindeki önemli DEG'lerin sağkalım grafikleri. Aynı genlere ait genel sağ kalım (A) ve progresyonsuz sağkalım (B) grafikleri yer almaktadır. Kırmızı olan çizgiler ekspresyon seviyesi yüksek olanları siyah çizgiler ekspresyon seviyesi düşük olanları göstermektedir.

4.11. Küçük hücre dışı akciğer kanserinde tanısal biyobelirteç adayları

Analizler sonucunda üç veri grubunda istatistiksel olarak yüksek seviyede anlamlı ekspresyon seviyesine sahip 10 gen biyobelirteç adayları olarak belirlenmiştir. Bu belirleme parametreleri içinde uc veride DEG'ler içinde yüksek seviyede anlamlı p değeri ve mutlak katlanma değişimi içermeleri yanında, sağ kalım eğrileri de değerlendirmeye alınmıştır. Bu genler; TPX2, MYBL2, CDC20, UBE2T, UBE2C, NME1, HMGA1 ve DYNLT5. KHDAK hastaların akciğerdeki tumor dokularındaki bu genlerden DYNLT5 aşağı yönde regüle olurken diğerleri yukarı doğru regüle olmaktadır. Bu genler TCGA verileri kullanılarak ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. TCGA veri bankasındaki LUAD verileri ile de bu genlerin iki grup arasında anlamlı seviyede farklı olduğu tespit edilmiştir.



Tartışma

Akciğer kanseri hem insidans hem de mortalite açısından dünya çapında en yaygın malignitelerden biridir (Bunn, 2017; Hirsch 2017). Teşhis ve tedavi stratejilerindeki önemli ilerlemelere rağmen, akciğer kanserli hastaların prognozu tatmin edici değildir. Bu nedenle, yeni tanı ve tedavi hedefleri olarak hizmet edecek akciğer kanseri biyobelirteçlerinin tanımlanmasına ihtiyaç vardır. Biyoinformatik analiz, hastalıkların ilerlemesindeki genetik değişiklikleri araştırmak için yaygın olarak uygulanmaktadır ve yeni terapötik hedeflerin belirlenmesini sağlayabilir. Bu tez çalışması, RNA sekanslama ve biyoinformatik analizler yoluyla KHDAK'de diferansiyel olarak ifade edilen genlerin belirlenmesi ve potansiyel biyobelirteçlerin tanımlanmasını amaçlamaktadır.

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK), tüm akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %85'ini oluşturarak önemli bir klinik sorun teşkil eder. Bu nedenle, KHDAK'in tanı ve tedavi süreçlerinde etkili biyobelirteçlerin belirlenmesi kritik bir önem taşır (Lai, 2023; Toth 2024; Roy-Chowdhuri, 2024). Akciğer kanseri biyobelirteçleri, hastalık tanısı, prognozu ve tedavi stratejilerinin belirlenmesinde kritik rol oynamaktadır. Literatürde EGFR ve ALK mutasyonları gibi biyobelirteçlerin klinik kullanımı yaygın olarak tartışılmaktadır (Tóth, 2024; Saw, 2024; Shojaee, 2017; Parikh, 2019). Bunun yanında gen ekspresyon profillemesi, biyobelirteçlerin belirlenmesinde kritik bir araçtır. Bu teknoloji, kanser hücrelerindeki spesifik genlerin ifade düzeylerini inceleyerek hastalığın moleküler temelini anlamamıza yardımcı olmaktadır. Bu tez çalışmasında, kanserde gen ekspresyonlarının biyobelirteç olarak rolü ve bu bilgilerin klinik uygulamalardaki önemi ele alınmıştır (Sun, 2024; Kamel, 2017) .

Gen ekspresyon profillemesi, genellikle mikroarray teknolojisi veya RNA sekanslama (RNA-Seq) kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Mikroarray teknolojisi belirli bir gen setinin ekspresyon seviyelerini aynı anda ölçmek için kullanılmaktadır. Mikroarrayler, genlerin ne kadar aktif olduğunu ve hangi genlerin kanser hücrelerinde farklı şekilde ifade edildiğini belirlememizi sağlamaktadır. Bunun yanında RNA-Seq, hücrelerdeki tüm RNA moleküllerinin yüksek doğrulukla dizilenmesini sağlamaktadır. Bu yöntem, gen ekspresyon seviyelerini daha kapsamlı ve hassas bir şekilde ölçebilir (Ergin, 2022).

RNA-Seq, gen ekspresyon profillemesi ve biyoinformatik analizler, kanser biyolojisinde önemli yer tutmaktadır. Kanserde gen ekspresyon biyobelirteçlerin rolü, tani, prognoz, tedaviye yaniti takip etmek için kullanabilmekte ve hedeflenmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olabilmektedir. Örneğin, meme kanseri tanısında kullanılan Oncotype DX testi, belirli genlerin ekspresyon seviyelerine dayanarak hastalığın seyrini tahmin etmekte ve tedavi kararlarına yardımcı olmaktadır (Venetis, 2024). Belirli genlerin ekspresyon düzeyleri, hastalığın prognozunu tahmin etmek için kullanılabilir. Örneğin, yüksek MYC ekspresyonu, bazı kanser türlerinde kötü prognoz ile ilişkilidir (Qu, 2017). Gen ekspresyon biyobelirteçleri, hastaların belirli tedavilere yanıt verip vermeyeceğini öngörebilir. Örneğin, ERBB2 (HER2) geninin aşırı ekspresyonu, HER2 hedefli tedavilerden yarar görecektir meme kanseri hastalarını belirlemek için kullanılır (Ferrando-Díez, 2022). Hedeflenmiş tedavi stratejileri olarak da belirli genlerin baskılanması veya aşırı ekspresyonu, kanser hücrelerini spesifik hedeflere karşı daha hassas hale getirebilir (Sen, 2024).

Literatürde RNA-Seq verilerinin diferansiyel gen ekspresyonu analizi ile akciğer kanserinin genetik değişikliklerin belirlenmesi üzerine birçok çalışma bulunmaktadır (Yang, 2020; Li, 2019; Cai, 2014). Önceki çalışmalarda akciğer kanserinin farklı patolojik alt tipleri ile ilişkili biyobelirteçler taranmıştır (Mendell, 2005; Xiao, 2018; Wen, 2018; Tang, 2018). Benzer şekilde, bu çalışmada da akciğer kanserinin potansiyel biyobelirteçleri taranmıştır. Tezde kullanılan metodolojiler ve elde edilen bulgular, bu literatürde belirtilen yaklaşımlar ve sonuçlarla uyumludur (Yu, 2020; Zhou, 2022; Erkin, 2022). Bununla birlikte, mevcut çalışma önceki literatürden birkaç yönden farklılık göstermektedir. Mevcut çalışmada araştırma verileri, veri sonuçlarının çeşitlendirilmesine olanak tanıyan farklı veri kümelerinden elde edilmiştir. Sonuçların güvenilirliğini artırmak amacıyla tek bir veri setiyle ilişkili hataları ve dizileme platformlarındaki farklılıkları azaltmak için üç veri seti seçilmiştir. Bu çalışmanın amacı, biyoinformatik analiz kullanarak çeşitli patolojik akciğer kanseri türlerinde ortak biyobelirteçleri taramaktır. Sonuç olarak, farklı veri kaynakları ve kullanılan istatistiksel yöntemler nedeniyle farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte, mevcut çalışmada tanımlanan bazı biyobelirteçler daha önce yayınlanan çalışmalarla tutarlıdır (Kato, 2012; Ma, 2014; Kim, 2011; Li, 2018; Ma, 2018).

Bu çalışmada, üç veri setinde ortak 125 genin ekspresyon seviyesinin arttığı ve 124 genin ekspresyon seviyesinin ise düştüğü tespit edilmiştir. Sonuçta 249 ortak DEG

tanımlanmıştır. GO zenginleştirme analizi, en önemli modüldeki değişikliklerin esas olarak hücre bölünmesi, mitotik nükleer bölünme, hücre siklusu ve epitel hücre migrasyonu alanında zenginleştiğini ortaya koymuştur. Önceki çalışmalar hücre döngüsünün düzensizliğinin karsinogenez ve tümörlerin ilerlemesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Chiang, 2015; Wan, 2014).

Bu çalışmada, her bir veri seti içinde istatistiksel olarak en anlamlı seviyedeki on gen belirlenmiştir. GSE171415 veri setinde diferansiyel olanlar içinden GCNT3, ABCC3, TMEM63C, AFAB1-AS1, HS6ST2, HABP2, PROM2, OCIAD2, ABCA12 ve EPHA10 en anlamlı seviyede yukarı yönde regüle olan diferansiyel genler olarak belirlenmiştir. GSE120622 veri setinde TEDC2, TPX2, MYBL2, SPTBN2, UHRF1, CDC20, PYCR1, UBE2T, KIF18B ve CA4 en anlamlı seviyede diferansiyel olan genlerdir. GSE127559 veri setinde ise en anlamlı seviyede diferansiyel olan genler ST8SIA6, DYNLT5, DDO, AXIN2, PYCR1, UBE2T, DDO, PPP2R2C, NME1, UBE2C ve HMGA1 olarak belirlenmiştir. Bu genler üç veri seti içinde DEG'ler içinde yer almaktadır. Bunun yanında ilk on seviyede de ortak olan genler bulunmaktadır. Daha sonra, bu genlerin sağkalım analizi, akciğer kanserli hastaların 5 yıllık genel sağkalım süresinin daha kötü olmasıyla önemli ölçüde ilişkili olduklarını ortaya koymuştur. Literatürde, KHDAK'de belirlenen biyobelirteçlerin prognostik değerini inceleyen çalışmalar, bu genlerin hasta sağkalımını öngörmeye önemli rol oynadığını göstermektedir (Chen, 2019; Ye, 2020).

Bu tezde en anlamlı seviyede diferansiyel olan genler ve genel sağkalım analizlerinde ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak yüksek seviyede anlamlı genler biyobelirteç adayları olarak seçilmiştir. Bunlar TPX2, MYBL2, CDC20, UBE2T, UBE2C, NME1, HMGA1 ve DYNLT5 genler olarak tespit edilmiştir. Bu genlerin mevcut KHDAK biyobelirteçlere ek olarak kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu literatürdeki çalışmalarla desteklenmektedir (Zhu, 2024; Xian, 2023; Wang, 2022; Jalali, 2024; Dastsooz, 2019; Prunier, 2023; Khan, 2019; Kang, 2013; Idoudi, 2023).

Akciğer kanseri mekanizması, spesifik genetik ve epigenetik değişiklikler tarafından yönlendirilmektedir (Wenn, 2014). TPX2'nin biyobelirteç olarak kullanımı, kanserin tanı, prognoz ve tedavisinde önemli bir potansiyele sahiptir. TPX2 (Targeting Protein for Xenopus kinesin-like protein 2), hücre bölünmesi ve mikrotübül dinamiklerinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynayan bir proteindir. Bu genin aşırı ekspresyonu, çeşitli kanser türlerinde biyobelirteç olarak önem taşımaktadır. Kanser hücrelerinde

TPX2'nin aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu artırarak tümör gelişimine katkıda bulunmaktadır (Koike, 2022; Shao, 2022). TPX2'nin yüksek seviyelerde ifadesi, özellikle hücre siklusunun S ve G2/M fazlarında gözlemlenir ve bu durum, kanser hücrelerinin hızla bölünmesine ve çoğalmasına yol açar (Wang, 2020; Hu, 2023).

Akciğer kanserinde TPX2, tanı ve prognostik bir biyobelirteç olarak büyük önem taşır. Çalışmalar, TPX2'nin KHDAK hastalarında yüksek seviyelerde ifade edildiğini ve bu durumun kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Wang, 2022). Çalışmalar, TPX2 ekspresyonunun yüksek olduğu akciğer kanseri hastalarında sağkalım oranlarının belirgin şekilde düşük olduğu bulunmuştur (Koike, 2022; Yang, 2024). Bu nedenle, TPX2'nin ekspresyon düzeyleri, akciğer kanseri hastalarının prognozunu tahmin etmek için kullanılabilir.

TPX2'nin aşırı ekspresyonu, belirli kemoterapötik ajanlara karşı direnç gelişimine de katkıda bulunabilmektedir. TPX2'nin baskılanması veya inhibitörlerinin kullanımı, kanser hücrelerinin bu tedavilere karşı duyarlılığını artırabilir ve bu da tedavi sonuçlarını iyileştirebilmektedir (Hu, 2020). TPX2, tümör metastazı ve büyümesi ve KHDAK'nin klinik evresi ile anlamlı derecede pozitif korelasyon göstermektedir. Ek olarak, yüksek TPX2 seviyeleri önemli ölçüde kötü bir hayatta kalma oranına işaret etmektedir. İn vitro deneysel sonuçlar ayrıca TPX2'nin yukarı regülasyonunun KHDAK hücre göçünü ve istilasını önemli ölçüde desteklediğini ve hücre plastisitesini etkileyebileceğini ortaya çıkarmıştır. TPX2'nin epitelial-mezenkimal geçiş sürecini önemli ölçüde aktive ettiğini ve matris metaloproteinaz (MMP)2 ve MMP9'un ekspresyonunu ve aktivitelerini artırdığını göstermektedir. Çalışmalar, TPX2'nin KHDAK'nin metastazı ve malign ilerlemesini desteklediğini ve dolayısıyla KHDAK'de kötü prognozun bir belirteci olarak hizmet edebileceğini göstermektedir (Zhou, 2020).

Yang ve arkadaşları, TPX2'nin akciğer skuamöz karsinom hücre radyorezistansı ile ilişkili olduğunu ve akciğer skuamöz karsinomunda hücre radyosensitivitesini artırmak için terapötik bir hedef olarak hizmet edebileceğini ortaya koymuştur (Yang, 2017). Ayrıca, Schneider ve arkadaşları, mitozla ilişkili gen olan TPX2'nin ekspresyonunun KHDAK'li hastaların prognozuyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Schneider, 2017).

TPX2'nin biyobelirteç olarak kullanımı, sadece akciğer kanseri değil, aynı zamanda meme, prostat, kolon, mide ve diğer kanser türlerinin tanı, prognoz ve tedavisinde de önemli bir potansiyele sahiptir (Zhu, 2024). TPX2, meme kanseri hücrelerinde aşırı ekspresyon göstermekte ve bu durum tümör agresifliği ile ilişkilendirilmektedir. Bu hastalarda yüksek TPX2 ekspresyonu, hastalığın ilerlemesi ve kötü prognoz ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. TPX2, meme kanserinde hücre proliferasyonu ve metastaz potansiyelini artırabilir (Chen, 2018). Ayrıca, TPX2'nin ekspresyon seviyeleri, hastaların tedaviye yanıtını öngörmede de kullanılabileceği belirtilmiştir (Liu, 2019).

Prostat kanserinde de TPX2'nin aşırı ekspresyonu gözlemlenmiştir. Yüksek TPX2 seviyeleri, prostat kanseri hücrelerinde hızlı hücre bölünmesi ve tümör büyümesi ile ilişkilidir. TPX2, prostat kanseri hastalarında kötü prognoz göstergesi olarak kullanılabilir (Zhou, 2018). Ayrıca, TPX2'nin inhibisyonu, prostat kanseri hücrelerinde büyümeyi durdurabilir ve apoptozu tetikleyebilir (Pan 2017).

Kolon kanserinde TPX2 ekspresyonunun artması, hastalığın ilerlemesi ve metastaz yapma potansiyeli ile ilişkilidir. TPX2, kolon kanseri tanısında biyobelirteç olarak kullanılabilir ve hastalığın seyri hakkında önemli bilgiler sağlayabilir. Yüksek TPX2 ekspresyonu, kemoterapi direncine de katkıda bulunabilir ve bu nedenle TPX2 hedefli tedaviler geliştirilmesi üzerinde çalışılmaktadır (Wei, 2013).

TPX2, mide kanseri hücrelerinde de yüksek seviyelerde ifade edilmektedir. TPX2'nin aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu artırarak tümör büyümesine ve metastaza katkıda bulunur. Mide kanserinde TPX2'nin biyobelirteç olarak kullanımı, hastalığın erken tanısında ve tedavi sürecinde önemli olabilir. Ayrıca, TPX2'nin inhibisyonu, mide kanseri hücrelerinin büyümesini engelleyebilir ve tedavi etkinliğini artırabilir (Tomii, 2017).

TPX2'nin yüksek ekspresyonu, karaciğer, pankreas ve over kanserlerinde de gözlemlenmiştir ve bu durum hastalığın agresifliği ile ilişkilidir (Shaath, 2023). TPX2'nin bu kanser türlerinde de tanı, prognoz ve tedavi yanıtının öngörülmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir (Wang, 2023).

Sonuç olarak TPX2, çeşitli kanser türlerinde, özellikle de akciğer kanserinde önemli bir biyobelirteç adayı olarak düşünülmektedir. TPX2'nin aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu artırarak tümör gelişimine katkıda bulunmakta ve yüksek TPX2

seviyeleri, kötü prognoz ile ilişkili olduğu bilinmektedir. TPX2'nin biyobelirteç olarak kullanımı, akciğer kanseri tanı ve tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olabilir. Bu nedenle, TPX2 ve onun düzenleyici yolları üzerinde yapılan araştırmalar, kanser tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

MYBL2 (Myb-related protein B), hücre döngüsünün düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. MYBL2'nin aşırı ekspresyonu, çeşitli kanser türlerinde gözlemlenmiş ve bu durum tümör gelişimi, progresyonu ve metastazı ile ilişkilendirilmiştir. MYBL2, kanser biyobelirteçi olarak tanı ve tedavi süreçlerinde önemli bir potansiyele sahip olabileceği düşünülmektedir (Yang, 2024)

MYBL2'nin aşırı ekspresyonu, meme kanserinde yaygın olarak gözlemlenmekte ve bu durumun hastalığın agresifliği ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Yüksek MYBL2 seviyeleri, hastaların kötü prognoz göstermesine neden olabilir. MYBL2, özellikle üçlü negatif meme kanseri (TNBC) gibi agresif alt tiplerde daha yüksek ekspresyon göstermekte ve bu durum tedavi direncine katkıda bulunabilmektedir (García-Torralba, 2023).

Prostat kanserinde de MYBL2'nin aşırı ekspresyonu gözlemlenmiştir. MYBL2, hücre proliferasyonunu artırarak prostat kanseri gelişimine katkıda bulunmaktadır. MYBL2 gen ekspresyon seviyelerinin ölçülmesi, prostat kanseri tanısı ve hastalığın seyri hakkında bilgi sağlamak için kullanılabilirliği belirtilmektedir (Jiao, 2022).

Kolon kanserinde MYBL2, hücre döngüsünün G2/M kontrol noktasını düzenleyerek tümör gelişimini desteklemektedir. MYBL2'nin aşırı ekspresyonu, hastalığın ilerlemesi ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, MYBL2'nin inhibisyonu, kolon kanseri hücrelerinde büyümeyi durdurabilmekte ve apoptozu tetikleyebilmektedir (Ren, 2015; Chen, 2021).

Mide kanserinde MYBL2'nin yüksek ekspresyonu, hücre proliferasyonunu artırarak tümör büyümesine ve metastaza katkıda bulunmaktadır. MYBL2, mide kanserinde biyobelirteç olarak kullanılabilir, hastalığın erken tanısında ve tedavi sürecinde önemli olabilmektedir. MYBL2 seviyelerinin yüksek olması, kötü prognoz ve tedavi direnci ile ilişkili olabilmektedir (Jia, 2019).

MYBL2, yukarıda bahsedilen kanser türlerine ek olarak, karaciğer, pankreas, over ve beyin kanserlerinde de biyobelirteç olarak önem taşımaktadır. MYBL2'nin aşırı ekspresyonu, bu kanser türlerinde de hastalığın agresifliği ile ilişkili olduğu, tanı,

prognoz ve tedavi süreçlerinde bir biyobelirteç olarak kullanılabilme potansiyeli taşıdığı belirtilmektedir (Li, 2024).

Akciğer kanserinde de MYBL2'nin aşırı ekspresyonu gözlemlenmiştir. Akciğer kanserlerinde MYBL2'nin aşırı ekspresyonu, tümör progresyonu ve metastaz ile ilişkilidir. MYBL2, akciğer kanserinde biyobelirteç olarak tanı, prognoz ve tedavi süreçlerinde kullanılabilir. MYBL2'nin KHDAK'ta aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunun artmasına ve tümör büyümesine neden olmaktadır. Yüksek MYBL2 seviyeleri, hastaların kötü prognoz göstermesi ile ilişkilidir (Xiong, 2020). Ayrıca, MYBL2'nin ekspresyon seviyeleri, KHDAK hastalarında kemoterapi ve hedefli tedavi yanıtlarını öngörmede de kullanılabilir (Wei, 2022; Wei, 2023; Ahmed, 2019). Bu nedenle MYBL2, akciğer kanserlerinde biyobelirteç olarak tanı ve prognozda önemli bir role sahip olabilir. MYBL2 ekspresyon seviyeleri, akciğer kanseri tanısında yardımcı olabilir ve hastalığın seyri hakkında bilgi sağlayabilir.

MYBL2, akciğer kanseri hücrelerinde kemoterapi ve radyoterapi direncine de katkıda bulunabilir. MYBL2'nin aşırı ekspresyonu, tedavi direnci geliştiren hücrelerde daha yaygın olarak gözlemlenmiştir (Wang, 2022). MYBL2'nin inhibisyonu, tedaviye dirençli akciğer kanseri hücrelerinde proliferasyonun azalmasına ve apoptozun artmasına neden olabilir (Maharjan, 2020).

Sonuç olarak MYBL2, akciğer kanserlerinde önemli bir biyobelirteç olarak karşımıza çıkmaktadır. MYBL2'nin aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu artırarak tümör gelişimine ve metastaza katkıda bulunmaktadır. Yüksek MYBL2 seviyeleri, kötü prognoz, tedavi direnci ve düşük sağkalım oranları ile ilişkilidir. MYBL2'nin biyobelirteç olarak kullanımı, akciğer kanseri tanı ve tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olabilir.

CDC20 (Cell Division Cycle 20), hücre döngüsünün anafaz-metakinezi geçişini düzenleyen ve mitozun doğru şekilde ilerlemesi için kritik olan bir protein kodlayan gendir (Bruno, 2022). CDC20'nin aşırı ekspresyonu, çeşitli kanser türlerinde gözlemlenmiş ve tümör progresyonu, metastaz ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. CDC20, kanser biyobelirteçi olarak tanı ve tedavi süreçlerinde kullanılabilir (He, 2023; Xian, 2023).

CDC20'nin aşırı ekspresyonu, meme kanserinde yaygın olarak gözlemlenmektedir. CDC20'nin yüksek seviyeleri, kötü prognoz ve düşük sağkalım oranları ile

ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, CDC20'nin inhibisyonu, meme kanseri hücrelerinde büyümei durdurabilmekte ve apoptozu tetikleyebilmektedir (Xian, 2023).

Prostat ve kolon kanserinde de CDC20'nin aşırı ekspresyonu gözlemlenmiştir. CDC20, hücre proliferasyonunu artırarak prostat kanseri gelişimine katkıda bulunmakta ve hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. CDC20'nin seviyelerinin ölçülmesi, prostat ve kolon kanseri tanısı ve hastalığın seyri hakkında bilgi sağlamak için kullanılabilir (Xian, 2023).

Mide kanserinde CDC20'nin yüksek ekspresyonu, hücre proliferasyonunu artırarak tümör büyümesine ve metastaza katkıda bulunmaktadır. CDC20, mide kanserinde biyobelirteç olarak kullanılabilme potansiyeli taşımaktadır. CDC20 seviyelerinin yüksek olması, kötü prognoz ve tedavi direnci ile ilişkili olduğu da belirtilmiştir (He, 2023).

CDC20, yukarıda bahsedilen kanser türlerine ek olarak, karaciğer, pankreas, over ve beyin kanserlerinde de biyobelirteç olarak önem taşımaktadır. CDC20'nin aşırı ekspresyonu, bu kanser türlerinde de hastalığın agresifliği ile ilişkili ve tanı, prognoz ve tedavi süreçlerinde kullanılabilme potansiyeli taşımaktadır. CDC20'nin inhibisyonu, bu kanser türlerinde de tümör büyümesini durdurabilmekte ve apoptozu tetikleyebilmektedir (Xian, 2023; Dong, 2019)

Akciğer kanserinde de CDC20'nin aşırı ekspresyonu gözlemlenmiştir. CDC20, KHDAK ve KHAK gibi alt tiplerde hücre proliferasyonunu artırarak tümör gelişimine katkıda bulunmaktadır (Deng, 2021; (Kato, 2012). Yüksek CDC20 seviyeleri, kötü prognoz ve düşük sağkalım oranları ile ilişkilidir (Xian, 2023; Wang, 2018; Kato, 2012).

CDC20'nin KHDAK'ta aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunun artmasına ve tümör büyümesine neden olmaktadır. Yüksek CDC20 seviyeleri, hastaların kötü prognoz göstermesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Deng, 2021; Xian, 2023; Wang, 2022; (Kato, 2012)). Ayrıca, CDC20'nin ekspresyon seviyeleri, KHDAK hastalarında kemoterapi ve hedefli tedavi yanıtlarını öngörmeye kullanılabilir. KHAK'da CDC20'nin aşırı ekspresyonu bu kanser türünde de yaygın olarak gözlemlenmektedir. CDC20, KHAK hücrelerinde hızlı hücre döngüsü ve proliferasyonunu desteklemektedir (Kato, 2012).

Sonuçta yüksek CDC20 ekspresyon seviyeleri, akciğer kanserinde kötü prognoz ve düşük sağkalım oranları ile ilişkili olması nedeniyle bu genin kanser tanısında ve hastalığın seyri hakkında bilgi sağlayabilecek potansiyel taşıdığı düşünülmektedir (Kato, 2012). CDC20, akciğer kanseri hücrelerinde kemoterapi ve radyoterapi direncine katkıda bulunabilmektedir. CDC20'nin aşırı ekspresyonu, tedavi direnci geliştiren hücrelerde daha yaygın olarak gözlemlenmektedir. CDC20'nin inhibisyonu, tedaviye dirençli akciğer kanseri hücrelerinde proliferasyonun azalmasına ve apoptozun artmasına neden olabilmektedir (He, 2023). Bu nedenle CDC20'nin inhibitörleri, akciğer kanseri tedavisinde potansiyel terapötik ajanlar olarak araştırılmaktadır (Xian, 2023; Wang, 2018; Kato, 2012).

UBE2C (Ubiquitin-Conjugating Enzyme E2C), hücre döngüsünün düzenlenmesi ve proteazom aracılı yıkım yolunda önemli rol oynayan bir enzimdir. Bu genin aşırı ekspresyonu, çeşitli kanser türlerinde tümör progresyonu, metastaz ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle UBE2C, kanser biyobelirteçi olarak tanı ve tedavi süreçlerinde önemli bir potansiyele sahip olabileceği belirtilmiştir (Xie, 2014; Jalali, 2024; Dastsooz, 2019).

Meme kanserinde UBE2C'nin aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu ve tümör büyümesini teşvik etmektedir. Yüksek UBE2C seviyeleri, hastaların kötü prognoz göstermesi ve düşük sağkalım oranları ile ilişkili olarak saptanmıştır. Ayrıca, UBE2C'nin inhibisyonu, meme kanseri hücrelerinde büyümeyi durdurabildiği gösterilmiştir (Karriri, 2022).

Prostat kanserinde de UBE2C'nin aşırı ekspresyonu gözlemlenmiştir. UBE2C, hücre proliferasyonunu artırarak prostat kanseri gelişimine katkıda bulunmakta ve hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olmaktadır. UBE2C seviyelerinin ölçülmesi, prostat kanseri tanısı ve hastalığın seyri hakkında bilgi sağlamak için kullanılabilir (Wang, 2021). Kolon kanserinde UBE2C'nin aşırı ekspresyonu, hastalığın ilerlemesi ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Bavi, 2011). Mide kanserinde UBE2C'nin yüksek ekspresyonu, hücre proliferasyonunu artırarak tümör büyümesine ve metastaza katkıda bulunmakta, ayrıca kötü prognoz ve tedavi direnci ile ilişkilidir (Zhang, 2018).

UBE2C'nin akciğer adenokarsinomunda etki mekanizması ve teşhisinde, hedefe yönelik tedavide ve immünoterapide önemi hala belirsizdir. Buna rağmen çalışmalar UBE2C'nin, akciğer kanseri dahil olmak üzere çeşitli tümörlerde aşırı eksprese edildiği

ve ekspresyon seviyesinin, akciğer kanserinde cinsiyet, ağırlık, tümör evresi, derece ve prognoz ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunmuştur. UBE2C ekspresyonunun aşağı regülasyonu, akciğer kanser hücrelerinde proliferasyonun baskılanmasını, G2/M fazının durdurulmasını ve hücre apoptozunu indüklemektedir. Ayrıca Akt-mTOR sinyal yolunu inhibe ederek akciğer kanseri hücre büyümesini baskılamıştır. UBE2C'nin ekspresyon seviyesi, B hücreleri ve CD4+ T hücresi ile ve ayrıca akciğer kanserindeki immün kontrol noktası genleriyle negatif korelasyon göstermektedir (Cai, 2024). UBE2C, KHDAK ve KHAK gibi alt tiplerde hücre proliferasyonunu artırarak tümör gelişimine katkıda bulunmaktadır. Yüksek UBE2C seviyeleri, kötü prognoz ve düşük sağkalım oranları ile ilişkilendirilmiştir (Dastsooz, 2019; Zhan, 2023; Cai, 2024).

UBE2C, çeşitli kanser türlerinde önemli bir biyobelirteç olarak karşımıza çıkmaktadır. UBE2C'nin aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu artırarak tümör gelişimine ve metastaza katkıda bulunmaktadır. UBE2C, karaciğer, pankreas, over ve beyin kanserlerinde de biyobelirteç olarak önem taşımaktadır. UBE2C'nin aşırı ekspresyonu, bu kanser türlerinde de hastalığın agresifliği ile ilişkili bulunmuş, tanı, prognoz ve tedavi süreçlerinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Domentean, 2023; Ma, 2023).

Yüksek UBE2C seviyeleri, kötü prognoz, tedavi direnci ve düşük sağkalım oranları ile ilişkilidir. UBE2C'nin biyobelirteç olarak kullanımı, kanser tanı ve tedavisinde önemli bir potansiyele sahiptir (Jalali, 2024; Dastsooz, 2019). Pan-kanser analizi, UBE2C'nin 28 kanserde önemli ölçüde aşırı eksprese edildiğini ve birçok kanserde Ki-67 indeksi ile korele olduğunu göstermiştir. Bu analizler sonucunda meme, akciğer ve mesotelyoma kanserlerinde UBE2C'nin aşırı ekspresyonu, daha kötü hayatta kalmayı göstermiştir. Bazı kanserlerde UBE2C ekspresyon seviyeleri immün infiltrasyon, immün düzenleyici genler, immün kontrol noktaları, TMB, MSI ve MMR'ler ile pozitif olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, tek hücreli fonksiyonel analizler ile UBE2C'nin bazı kanserlerde hücre döngüsü, çoğalma, DNA hasarı, EMT, DNA onarımı, istila ve farklılaşma ile pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir. Bu bulgular, UBE2C'nin gizli bir tanı ve prognostik biyobelirteç olarak kabul edilebileceğini ve akciğer kanseri dahil pek çok kanserlerin immünojenik tedavisi için yeni bir hedef olarak kabul edilebileceğini göstermiştir (Cai, 2024).

NME1 (Nucleoside Diphosphate Kinase 1), hücrelerin proliferasyon, diferansiyasyon ve hareket kabiliyetlerini etkileyen bir enzimdir. Bu genin ifadesi, çeşitli kanser

türlerinde tümör progresyonu ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir. NME1'in biyobelirteç olarak kanser tanı ve tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olabileceği belirtilmektedir (Radic, 2020).

Meme kanserinde NME1'in düşük ekspresyonu, daha agresif tümör fenotipi ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu saptanmıştır. NME1'in yüksek seviyelerde ekspresyonu, metastatik potansiyeli azaltabildiği ve hasta sağkalım oranlarını artırabildiği gösterilmiştir. Ayrıca, NME1'in metastaz baskılayıcı etkisi, meme kanseri tedavisinde önemli bir hedef olmasını sağlamaktadır (Huna, 2021; Lodillinsky, 2021).

Benzer olarak prostat kanserinde NME1 ekspresyonunun düşmesi, hastalığın ilerlemesi ve metastaz riski ile ilişkili olarak bulunmuştur. NME1'in düşük seviyeleri, kötü prognoz ve tedavi direnci ile ilişkilendirilmiştir. Prostat kanseri hücrelerinde NME1'in artırılması, metastatik yayılımın kontrol altına alınmasına yardımcı olabileceği belirtilmiştir (Huna, 202; Mátyási, 2020).

Kolon kanserinde NME1'in düşük ekspresyonu, tümör agresifliği ve metastaz ile ilişkilidir. NME1, kolon kanseri hücrelerinin hareket kabiliyetini ve metastatik potansiyelini azaltarak tümör progresyonunu baskılamaktadır. Yüksek NME1 seviyeleri, hastaların daha iyi prognoz göstermesi ile ilişkili olarak bulunmuştur (Márquez-González, 2024; Han, 2016).

Akciğer kanserinde de NME1'in düşük ekspresyonu, tümör gelişimi ve metastaz ile ilişkili olarak saptanmıştır. NME1, hücre hareketliliğini ve invazyon potansiyelini azaltarak akciğer kanseri progresyonunu baskılamaktadır. Yüksek NME1 seviyeleri, akciğer kanseri hastalarında daha iyi prognoz ve sağkalım oranları ile ilişkilidir (Kim, 2020; Prunier, 2023; Mátyási, 2020; Khan, 2019; Wu, 2021).

NME1, yukarıda bahsedilen kanser türlerine ek olarak, karaciğer, pankreas, over ve beyin kanserlerinde de biyobelirteç olarak önem taşır. NME1'in düşük ekspresyonu, bu kanser türlerinde de hastalığın agresifliği ve metastaz potansiyeli ile ilişkilidir. NME1'in artırılması, bu kanser türlerinde de tümör progresyonunu baskılayabilir ve metastatik yayılımı kontrol altına alabilir (Prunier, 2023; Khan, 2019).

Sonuçta NME1, çeşitli kanser türlerinde önemli bir biyobelirteç olarak karşımıza çıkmaktadır. NME1'in düşük ekspresyonu, hücre proliferasyonunu artırarak tümör gelişimine ve metastaza katkıda bulunmaktadır. Yüksek NME1 seviyeleri, kötü

prognoz, tedavi direnci ve düşük sağkalım oranları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Prunier, 2023; Wu, 2021).

HMGA1 (High Mobility Group AT-Hook 1), DNA'nın yapısını değiştirebilen ve gen ekspresyonunu düzenleyebilen bir transkripsiyon faktörüdür (Wang, 2022). HMGB1, hem hücre ölümünü hem de hayatta kalmayı teşvik etmede önemli bir rolü sürdürdüğü için kanser büyümesinde ve tedaviye yanıtta önemli bir rol oynamaktadır. HMGB1'in iltihaplanma, genom stabilitesi, bağışıklık fonksiyonu, hücre proliferasyonu, hücre otofajisi, metabolizma ve apoptoz ile ilgili çeşitli sinyal yollarını düzenlediği rapor edilmiştir. Ancak HMGB1 ile kanser arasındaki ilişki karmaşıktır ve bunun tümör oluşumundaki mekanizmasının daha fazla açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Ayrıca, HMGB1'in kanser tedavisinde bir hedef/biyobelirteç olarak rolü yanında, bu proteini hedeflemek için kullanılan terapötik stratejileri ve bunun kanserleri önleme veya tedavi etmedeki potansiyel rolünün de oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. HMGB1'i kanser ilerlemesine bağlayan son zamanlarda artan kanıtların ışığında, bunun kanser tedavisi için yeni ve acil bir terapötik hedef olarak önerilebileceğini düşünülmektedir. Bu nedenle HMGB1, tümör oluşumundaki rolünü kapsamlı bir şekilde haritalandırmak için ileri araştırmaların gerçekleşmesi önemlidir (Idoudi, 2023).

Meme kanserinde HMGB1'in tümör indükleyici ve anti-tümör aktivitesi, meme kanserinde kanserogenez etkileri rapor edilmiştir. HMGB1 indüksiyonunun farklı modelleri hücre içi dağılımını belirlemekte, otofaji, immünojenik hücre ölümü gibi HMGB1 ile ilişkili biyolojik süreçleri ve sonuçta meme kanseri için kemoterapi ve radyoterapinin etkinliğini etkilemektedir. Ayrıca, HMGB1 aracılı bağışıklık aktivitesi, meme kanseri için immünoterapiyle ilgili yeni bir potansiyeli işaret ederek, kombine terapötik stratejilere destek verebilmektedir. HMGB1, kanserlerin erken teşhisi veya tedavisi için yüksek potansiyele sahip bir hedef olmasına rağmen, meme kanserindeki ikili fonksiyonunun daha ayrıntılı olarak açıklanması gerekmektedir (Dong, 2022).

Prostat ve kolon kanserinde HMGA1'in ekspresyonu, tümör progresyonu ve metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yüksek HMGA1 seviyeleri, hücre proliferasyonu, invazyon ve metastaz potansiyelini artırmaktadır. HMGA1'in inhibisyonu, prostat kanseri hücrelerinin büyümesini ve metastatik yeteneklerini azaltabilmektedir (Salamini-Montemurri, 2024; Portal, 2023).

Kolon kanserinde, HMGA1, hücre proliferasyonunu ve invazyonunu artırarak tümör progresyonunu desteklemektedir. Yüksek HMGA1 seviyeleri, kolon kanseri hastalarında kötü prognoz ile ilişkilidir. Kolorektal kanser gelişiminin farklı aşamalarında görülen lezyonlarda hem nükleer hem de sitoplazmik HMGB1 ekspresyonunda artışlar gösterilmiştir. Kanserde HMGB1, tümörün ilerlemesi, lenf nodu metastazları, erkek cinsiyeti, onarım protein ekspresyonu ve stromal immün hücre fenotipinin temel biyolojik parametreleriyle bağlantılı olduğu rapor edilmiştir. Güçlü sitoplazmik HMGB1 ekspresyonunun aynı zamanda zayıf sağkalımla ilişkili olan 'bağışıklık soğukluğu' tümör mikro ortamıyla da ilişkili olarak gösterilmiştir. Bu nedenle HMGB1 kolorektal kanser için yeni bir tedavi hedefini temsil edebilir (Portal, 2023)

Akciğer kanserinde de HMGA1'in yüksek ekspresyonu, tümör gelişimi ve metastaz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. HMGA1, hücre proliferasyonunu ve metastatik potansiyeli artırarak akciğer kanseri progresyonunu desteklemektedir. Yüksek HMGA1 seviyeleri, akciğer kanseri hastalarında kötü prognoz ve düşük sağkalım oranları ile ilişkilendirilmiştir. Akciğer kanserli hastaların doku ve serumunda HMGB1 ekspresyon düzeyleri normal akciğer doku örneklerine göre anlamlı derecede yüksek olarak tespit edilmiştir (Wei, 2016). HMGB1 düzeyleri tümör boyutu, tümör düğümü metastaz evresi ve uzak metastaz ile pozitif ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Venereau, 2016). Ayrıca KHDAK'li hastalarda ameliyattan bir ay sonra tespit edilen serum HMGB1 düzeyinin ameliyat öncesine göre anlamlı düzeyde arttığı gösterilmiştir (Yanai, 2009). Progresif KHDAK hastalarının serumunda artan HMGB1 seviyesi, daha kısa genel sağkalım ve hastaliksız sağkalım süreleri ile ilişkilendirilmiştir (Jakubowska, 2015). Bu nedenle HMGB1, KHDAK hastalarının tanı ve prognozu açısından potansiyel bir biyobelirteç olarak düşünülebilir (Shen, 2019). Genel olarak akciğer kanseri dokusunda, serumda ve hücre hatlarında HMGB1 ekspresyonunun arttığı gösterildiğinden, araştırmacılar HMGB1'in aşırı ekspresyonunun akciğer kanserinin gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunduğunu ileri sürmüşlerdir (Sun, 2013). HMGB1'in akciğer kanserinin ilerlemesine katkısına ilişkin altta yatan moleküler mekanizmalar araştırılmıştır. HMGB1'in CpG-ODN ile sinerjistik etki göstererek 95D hücrelerinin büyümesini arttırdığı gösterilmiştir (Wang, 2012). Başka bir çalışmada HMGB1'in, hücre çoğalması ve akciğer kanseri

gelişiminde rol oynayan ERK1/2 ve p38 MAPK sinyal yollarını düzenleyerek etkilerini gösterdiği rapor edilmiştir (Sun, 2013, Wu, 2018).

Bunun yanında çeşitli çalışmalarda örnek tespit yöntemlerinin heterojenliği, örnek boyutlarının küçük olması ve istatistiksel gücün düşük olması nedeniyle HMGB1'in ortalama ekspresyon düzeyine ilişkin kanıtlarda farklılıklar bulunmaktadır (Venereau, 2016). Bu nedenle, akciğer kanserli hastalarda HMGB1'in aşırı mı yoksa az mı eksprese edildiği belirsizliğini korumakta, bunun için daha fazla çalışmaya ve özellikle de klinik doğrulama ihtiyaçlarına bulunmaktadır (Shen, 2019).

HMGA1, yukarıda bahsedilen kanser türlerine ek olarak, pankreas, tiroid ve lösemi gibi kanserlerde de biyobelirteç olarak önem taşımaktadır (Wu, 2018). HMGA1'in yüksek ekspresyonu, hücre proliferasyonunu ve invazyonunu artırarak tümör gelişimine ve metastaza katkıda bulunmaktadır. Yüksek HMGA1 seviyeleri, kötü prognoz, tedavi direnci ve düşük sağkalım oranları ile ilişkilidir. HMGA1'in biyobelirteç olarak kullanımı, kanser tanı ve tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olabilir (Kang, 2013).

DYNLT5 (Dynein Light Chain Tctex-Type 5) geni, hücre içinde çeşitli işlevleri olan bir mikrotübül motor proteini olan dinein'in hafif zincirlerinden birini kodlamaktadır. Dinein, hücre içi taşımacılık, mitoz ve organel yerleşimi gibi birçok hücresel süreçte yer alır (Lo, 2007; Huang, 2011). DYNLT5'in çeşitli kanser türlerinde anormal ekspresyonu, tümör gelişimi, progresyonu ve metastazı ile ilişkilendirilmiştir. Fakat, DYNLT3'ün malign tümörlerdeki biyofonksiyonlarına ilişkin raporlar tutarsızlık içermektedir.

Özofagus skuamöz hücreli karsinomda DYNLT3 ekspresyonu önemli ölçüde azalmıştır ve tümör baskılayıcı bir faktör olarak görev yapabilmektedir (Karagoz, 2016). Ancak tükürük bezi adenoid kistik karsinomunda DYNLT3'ün aday bir onkogen olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca over kanseri hücre çoğalmasını ve istilasını kolaylaştırarak tümörü teşvik eden etkiler göstermektedir (Shao, 2011; Zhou, 2019). Servikal kanserler ile yapılan bir çalışmada, DYNLT3'ün aşırı ekspresyonu, CaSki ve SiHa hücrelerinin çoğalmasını, göçünü ve invazyonu azalmış ve hücre apoptozunu teşvik etmektedir. DYNLT3 ekspresyonunun yukarı regülasyonu, Wnt sinyal yolu ile ilişkili proteinlerin (Dvl2, Dvl3, p-LRP6, Wnt3a, Wnt5a/b, Naked1, Naked2, β -katenin ve C-Myc) ve EMT ile ilişkili proteinlerin (N-) ekspresyonunu

belirgin şekilde azaltmaktadır. cadherin, SOX2, OCT4, vimentin ve Salyangoz) ve E-cadherin ve Axin1 ifadesini arttırmaktadır. Ancak DYNLT3 ekspresyonunun yukarı regülasyonu, fare modelinde tümör büyümesini önemli ölçüde inhibe ederken, DYNLT3'ün aşağı regülasyonu zıt sonuçları göstermektedir. Ek olarak, farelerde rahim ağzı kanseri hücrelerinin ana metastatik bölgesi akciğer olup DYNLT3 ekspresyonunun aşağı regülasyonu, in vivo kanser metastazını arttırmaktadır. DYNLT3, muhtemelen Wnt sinyal yolunu ve EMT'yi baskılayarak, hücre çoğalmasını, göçünü ve istilasını inhibe ederek, in vitro hücre apoptozunu teşvik ederek ve in vivo tümör büyümesini ve metastazı inhibe ederek rahim ağzı kanseri üzerinde önleyici etkiler göstermektedir (Zhang, 2022).

Bu genin biyobelirteç olarak kullanımı, meme kanser tanı ve tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olabilir (Zhou, 2019). Meme kanserinde DYNLT5'in yüksek ekspresyonu, tümör agresifliği ve kötü prognoz ile ilişkilidir. DYNLT5, hücre proliferasyonu ve invazyonunu artırarak tümör büyümesini destekler. Yüksek DYNLT5 seviyeleri, metastatik potansiyeli de artırmaktadır (Miao, 2023).

Prostat kanserinde DYNLT5'in ekspresyonu, tümör progresyonu ve metastaz ile ilişkilidir. DYNLT5'in yüksek seviyeleri, hücre proliferasyonu, invazyon ve metastaz potansiyelini artırır. DYNLT5'in inhibisyonu, prostat kanseri hücrelerinin büyümesini ve metastatik yeteneklerini azaltabilir (Desai, 2023).

Akciğer kanserinde DYNLT5 genin ekspresyonu ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında ilk kez KHADK hastalarında DYNLT5 genin ekspresyonu anlamlı seviyede düşük bulunmuştur. Bu sonuç TGCA datasında da benzer şekilde elde edilmiştir. Ayrıca sağkalım analizi ile de desteklenmiştir. Düşük DYNLT5 seviyeleri, akciğer kanseri hastalarında kötü prognoz ve düşük sağkalım oranları ile ilişkili olarak saptanmıştır.

DYNLT5, çeşitli kanser türlerinde önemli bir biyobelirteç olarak karşımıza çıkmaktadır. DYNLT5'in yüksek ekspresyonu, hücre proliferasyonunu ve invazyonunu artırarak tümör gelişimine ve metastaza katkıda bulunmaktadır. Yüksek DYNLT5 seviyeleri, kötü prognoz, tedavi direnci ve düşük sağkalım oranları ile ilişkilidir. DYNLT5'in biyobelirteç olarak kullanımı, kanser tanı ve tedavisinde önemli bir potansiyele sahiptir.

Bu tez çalışması ile TPX2, MYBL2, CDC20, UBE2T, HMGA, UBE2C ve NME1, genlerin prognostik biyobelirteçler olarak tanımlanması ve Kaplan-Meier sağkalım analizleri ile desteklenmesi, literatürdeki bulgularla paralellik göstermektedir. Bunun yanında bu tez çalışması ile ilk kez akciğer kanserinde DYNLT5 genin ekspresyonun prognostik ve tanısal biyobelirteç adayı olarak tanımlanmıştır.

Mevcut çalışma ile tanımlanan genler, sağkalım analizinin doğrulanmasında klinik önemi ortaya koymuştur. Bununla birlikte, sonraki temel ve klinik araştırma çalışmalarında daha fazla doğrulama yapılması gerekmektedir. DEG'lere ek olarak, farklı şekilde ifade edilen mikroRNA'ları ve bunların genlerle, özellikle DEG'lerle ilişkisini araştıran daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Akciğer kanserinde biyobelirteçlerin belirlenmesi, tanı, prognoz ve tedavi süreçlerinde büyük önem taşımaktadır. Bu tez çalışması, RNA sekanslama ve biyoinformatik analizler yoluyla KHDAK'de diferansiyel olarak ifade edilen genleri belirleyerek, potansiyel biyobelirteçleri tanımlamıştır. Ayrıca bu çalışma akciğer kanserinin karsinogenezinde veya ilerlemesinde rol oynayabilecek DEG'leri de tanımlamıştır. Bu DEG'ler içinden istatistiksel olarak en anlamlı seviyede sekiz önemli gen tanımlanmıştır ve bunlar akciğer kanseri için potansiyel tanısal biyobelirteçler veya terapötik hedefler olarak hizmet edebilir. Sonuçlar, veri madenciliği ve entegrasyonunun malign tümörlerde biyobelirteçlerin tanımlanması için umut verici bir araç olabileceğini göstermiştir. Tümör biyobelirteçleri ancak klinik verilerle entegre edildiklerinde bir anlam ifade ettiğinden, mevcut çalışmada elde edilen sonuçları doğrulamak için daha fazla çalışmalar yapılmalıdır.

Sonuç ve Öneriler

AK dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biri olup Avrupa'da kanserden kaynaklanan ölümlerin yaklaşık %20'sini oluşturmakta ve yüksek nüks riski taşımaktadır. Erken teşhis ve standart tedavideki ilerlemelere rağmen, hastaların çoğu ileri evrede teşhis edilmekte ve kötü bir prognoza sahip olmaktadır; 5 yıllık genel sağkalım oranı %10 ila %15 arasında değişmektedir. Akciğer kanser tarama çalışması düşük doz bilgisayarlı tomografi (BT) taramasının mortaliteyi azaltabileceğini (~%20) göstermiş olsada BT ile, yüksek maliyetler, radyasyona maruz kalma riski ve tarama popülasyonunda gözlenen yanlış pozitifliklerle nedeniyle BT'nin güvenli bir şekilde geniş ölçekte uygulanmasını engellemektedir. Şüpheli nodüller invazif incelemeler gerektirebileceğinden, gereksiz morbiditeye ve risk altındaki bireyler arasında taramanın kabulünün azalmasına neden olabileceğinden, yanlış pozitiflik oranı özellikle sorunludur. Bu nedenle, tarama doğruluğunu artırmayı amaçlayan minimal invazif yaklaşımlarla analiz edilebilen yenilikçi kanser biyobelirteçleri ile taramanın yapılması önemlidir. Ayrıca Akciğer malignitelerinin derhal tespit edilmesi, özellikle yüksek riskli bireylerde mortalite ve morbiditeyi azaltmak için herhangi bir antikanser tedavisine en kısa zamanda başlanması için esastır.

Bu biyobelirteçlerin ise kanser risk değerlendirmesi, tarama, ayırıcı tanı, prognozun belirlenmesi, tedaviye yanıtın öngörülmesi ve hastalığın ilerlemesinin izlenmesi dahil olmak üzere birçok alanda kullanılma potansiyeli bulunduğu için bu alanda çalışmak oldukça önemli bir ihtiyaçtır. Son yıllarda, çok sayıda yüksek verimli teknolojilerin geliştirilmesi ile büyük miktarda RNA verileri elde edilmiştir. Bu veriler çeşitli veri bankalarında kaydedilerek biyoinformatik araçlar ve yazılımlardaki ilerlemeler ile veri analizi için kullanım kolaylığı ve rahatlığını artırmaktadır.

AK biyobelirteçleri için tümör dokusu başta olmak üzere çeşitli örnek türlerinde çalışılmaktadır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde çok farklı genomik biyobelirteç adayları tespit edilmiştir. Potansiyel bir biyobelirteçin klinikte uygulanabilmesi için gerçekleşmesi gereken bir dizi aşama bulunmaktadır. İlk olarak, belirli bir potansiyel yeni bir biyobelirteçi test etmek veya yeni bir biyobelirteçi keşfetmeye çalışmak için bir numune grubu analiz edilmelidir. Daha sonra yapılan testler, orijinal hipotezi oluşturan bulguları doğrulamak için bağımsız bir örnek kohortunun analiz edilmesini ve yeni biyobelirteçin klinik karar verme sürecinde

faydalı olacak ek bilgiler sağlayacağını doğrulamak için ek değerlendirmeler içermelidir. Bu kavramlar analitik geçerlilik, klinik geçerlilik ve klinik fayda olarak adlandırılmıştır.

Bu tez çalışmasında, diferansiyel olarak ifade edilen genlere (DEG) dayalı olarak küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) en iyi genleri ve moleküler yolları taramak için bütünleştirici bir biyoinformatik analizi gerçekleştirerek, KHDAK tanısında biyobelirteç olabilecek adayları bulunması amaçlanmıştır

KHDAK hastalarında tümör ve normal akciğer dokusu arasında yukarı regüle DEG ve aşağı regüle olan DEG'leri bulduk. Bu DEG'lerin hücre bölünmesi, hücre döngüsü, anjiyogenez ve hücre göçü alanlarında zenginleştiği tespit edilmiştir. DEG analizleri ve sağkalım analizleri ile birlikte, sekiz biyobelirteç aday geni belirlenmiştir. Bu TPX2, MYBL2, CDC20, UBE2T, UBE2C, NME1, HMGA1 ve DYNLT5 genler istatistiksel olarak en anlamlı seviyede olup şimdiye kadar rapor edilmemiştir. Son olarak, bu genlerin düzensiz ifadesi TCGA'dan alınan verilerle doğrulanmıştır. Sonuçta çoklu RNA-seq analizi, genel sağkalım ve TCGA verilerine dayalı olarak KHDAK'deki en önemli DEG'leri ve potansiyel mekanizmalarını belirlenmiştir. Analizler sonucunda bazı genlerin potansiyel tanısal biyobelirteç adayları veya terapötik hedefler olarak hizmet edebileceği düşünülmektedir. Ayrıca bunların bir panel şeklinde kullanılması tanısal değeri daha da artırması açısından daha da önemli olabilir. Bu tümör biyobelirteçleri ancak klinik verilerle entegre edildiklerinde bir anlam ifade ettiğinden, mevcut çalışmada elde edilen sonuçları doğrulamak için daha fazla deney ve transkripsiyonel çalışmalar yapılmalıdır.

Kaynaklar

- Ahmed F. Integrated Network Analysis Reveals FOXM1 and MYBL2 as Key Regulators of Cell Proliferation in Non-small Cell Lung Cancer. *Front Oncol.* 2019;9:1011. Published 2019 Oct 15. doi:10.3389/fonc.2019.01011
- Ayub M, Bayley H. Individual RNA base recognition in immobilized oligonucleotides using a protein nanopore. *Nano Lett.* 2012;12(11):5637-5643. doi:10.1021/nl3027873
- Bahassi EM, Stambrook PJ. Next-generation sequencing technologies: Breaking the sound barrier of human genetics. *Mutagenesis.* 2014;29:303-310
- Bavi P, Uddin S, Ahmed M, et al. Bortezomib stabilizes mitotic cyclins and prevents cell cycle progression via inhibition of UBE2C in colorectal carcinoma. *Am J Pathol.* 2011;178(5):2109-2120. doi:10.1016/j.ajpath.2011.01.034
- Biomarkers Definitions Working Group.. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69(3):89-95. doi:10.1067/mcp.2001.113989
- Botling J, Edlund K, Lohr M, et al. Biomarker discovery in non-small cell lung cancer: integrating gene expression profiling, meta-analysis, and tissue microarray validation. *Clin Cancer Res.* 2013;19(1):194-204. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-1139
- Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol.* 2005;16(3):481-488. doi:10.1093/annonc/mdi098
- Bruno S, Ghelli Luserna di Rorà A, Napolitano R, Soverini S, Martinelli G, Simonetti G. CDC20 in and out of mitosis: a prognostic factor and therapeutic target in hematological malignancies. *J Exp Clin Cancer Res.* 2022;41(1):159. Published 2022 Apr 30. doi:10.1186/s13046-022-02363-9
- Bunn PA Jr. Karnofsky Award 2016: A Lung Cancer Journey, 1973 to 2016. *J Clin Oncol.* 2017;35(2):243-252. doi:10.1200/JCO.2016.70.4064

- Cagle PT, Allen TC, Olsen RJ. Lung cancer biomarkers: present status and future developments. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(9):1191-1198. doi:10.5858/arpa.2013-0319-CR
- Cai B, Jiang X. Revealing Biological Pathways Implicated in Lung Cancer from TCGA Gene Expression Data Using Gene Set Enrichment Analysis. *Cancer Inform.* 2014;13(Suppl 1):113-121. Published 2014 Dec 1. doi:10.4137/CIN.S13882
- Cai D, Tian F, Wu M, Tu J, Wang Y. UBE2C is a diagnosis and therapeutic biomarker involved in immune infiltration of cancers including lung adenocarcinoma. *J Cancer.* 2024;15(6):1701-1717. Published 2024 Jan 27. doi:10.7150/jca.92473
- Chabon JJ, Hamilton EG, Kurtz DM, et al. Integrating genomic features for non-invasive early lung cancer detection. *Nature.* 2020;580(7802):245-251. doi:10.1038/s41586-020-2140-0
- Chaudhuri AA, Chabon JJ, Lovejoy AF, et al. Early Detection of Molecular Residual Disease in Localized Lung Cancer by Circulating Tumor DNA Profiling. *Cancer Discov.* 2017;7(12):1394-1403. doi:10.1158/2159-8290.CD-17-0716
- Chen L, Lu D, Sun K, et al. Identification of biomarkers associated with diagnosis and prognosis of colorectal cancer patients based on integrated bioinformatics analysis. *Gene.* 2019;692:119-125. doi:10.1016/j.gene.2019.01.001
- Chen M, Zhang H, Zhang G, et al. Targeting TPX2 suppresses proliferation and promotes apoptosis via repression of the PI3k/AKT/P21 signaling pathway and activation of p53 pathway in breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;507(1-4):74-82. doi:10.1016/j.bbrc.2018.10.164
- Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.* 2008;18(10):997-1006. doi:10.1038/cr.2008.282
- Chen X, Lu Y, Yu H, et al. Pan-cancer analysis indicates that MYBL2 is associated with the prognosis and immunotherapy of multiple cancers as an

oncogene. *Cell Cycle*. 2021;20(21):2291-2308.
doi:10.1080/15384101.2021.1982494

- Chevillet JR, Kang Q, Ruf IK, et al. Quantitative and stoichiometric analysis of the microRNA content of exosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(41):14888-14893. doi:10.1073/pnas.1408301111
- Chiang IT, Wang WS, Liu HC, Yang ST, Tang NY, Chung JG. Curcumin alters gene expression-associated DNA damage, cell cycle, cell survival and cell migration and invasion in NCI-H460 human lung cancer cells in vitro. *Oncol Rep*. 2015;34(4):1853-1874. doi:10.3892/or.2015.4159
- Chu Y, Corey DR. RNA sequencing: platform selection, experimental design, and data interpretation. *Nucleic Acid Ther*. 2012;22(4):271-274. doi:10.1089/nat.2012.0367
- Cohen JD, Li L, Wang Y, et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science*. 2018;359(6378):926-930. doi:10.1126/science.aar3247
- Dama E, Colangelo T, Fina E, et al. Biomarkers and Lung Cancer Early Detection: State of the Art. *Cancers (Basel)*. 2021;13(15):3919. Published 2021 Aug 3. doi:10.3390/cancers13153919
- Dastsooz H, Cereda M, Donna D, Oliviero S. A Comprehensive Bioinformatics Analysis of *UBE2C* in Cancers. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9):2228. Published 2019 May 7. doi:10.3390/ijms20092228
- de Koning HJ, van der Aalst CM, de Jong PA, et al. Reduced Lung-Cancer Mortality with Volume CT Screening in a Randomized Trial. *N Engl J Med*. 2020;382(6):503-513. doi:10.1056/NEJMoa1911793
- Deng H, Hang Q, Shen D, et al. High Expression Levels of CDK1 and CDC20 in Patients With Lung Squamous Cell Carcinoma are Associated With Worse Prognosis. *Front Mol Biosci*. 2021;8:653805. Published 2021 Jul 7. doi:10.3389/fmolb.2021.653805
- Desai TA, Hedman ÅK, Dimitriou M, et al. Identifying proteomic risk factors for overall, aggressive and early onset prostate cancer using Mendelian

randomization and tumor spatial transcriptomics. Preprint. *medRxiv*. 2023;2023.09.21.23295864. Published 2023 Sep 22. doi:10.1101/2023.09.21.23295864

- Domentean S, Paisana E, Cascão R, Faria CC. Role of UBE2C in Brain Cancer Invasion and Dissemination. *Int J Mol Sci*. 2023;24(21):15792. Published 2023 Oct 31. doi:10.3390/ijms242115792
- Dong H, Zhang L, Liu S. Targeting HMGB1: An available Therapeutic Strategy for Breast Cancer Therapy. *Int J Biol Sci*. 2022;18(8):3421-3434. Published 2022 May 9. doi:10.7150/ijbs.73504
- Dong S, Huang F, Zhang H, Chen Q. Overexpression of BUB1B, CCNA2, CDC20, and CDK1 in tumor tissues predicts poor survival in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Biosci Rep*. 2019;39(2):BSR20182306. Published 2019 Feb 26. doi:10.1042/BSR20182306
- Ehrlich M. DNA hypomethylation in cancer cells. *Epigenomics*. 2009;1(2):239-259. doi:10.2217/epi.09.33
- Ergin S, Kherad N, Alagoz M. RNA sequencing and its applications in cancer and rare diseases. *Mol Biol Rep*. 2022;49(3):2325-2333. doi:10.1007/s11033-021-06963-0
- Erkin ÖC, Cömertpay B, Göv E. Integrative Analysis for Identification of Therapeutic Targets and Prognostic Signatures in Non-Small Cell Lung Cancer. *Bioinform Biol Insights*. 2022;16:11779322221088796. Published 2022 Apr 6. doi:10.1177/11779322221088796
- Ferrando-Díez A, Felip E, Pous A, Bergamino Sirven M, Margelí M. Targeted Therapeutic Options and Future Perspectives for HER2-Positive Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 2022;14(14):3305. Published 2022 Jul 6. doi:10.3390/cancers14143305
- García-Torralba E, Navarro Manzano E, Luengo-Gil G, et al. A new prognostic model including immune biomarkers, genomic proliferation tumor markers (*AURKA* and *MYBL2*) and clinical-pathological features optimizes prognosis in neoadjuvant breast cancer patients. *Front Oncol*. 2023;13:1182725. Published 2023 May 29. doi:10.3389/fonc.2023.1182725

- Gerstung M, Jolly C, Leshchiner I, et al. The evolutionary history of 2,658 cancers [published correction appears in *Nature*. 2023 Feb;614(7948):E42. doi: 10.1038/s41586-022-05601-4]. *Nature*. 2020;578(7793):122-128. doi:10.1038/s41586-019-1907-7
- Giroux Leprieur E, Hélias-Rodzewicz Z, Takam Kanga P, et al. Sequential ctDNA whole-exome sequencing in advanced lung adenocarcinoma with initial durable tumor response on immune checkpoint inhibitor and late progression. *J Immunother Cancer*. 2020;8(1):e000527. doi:10.1136/jitc-2020-000527
- Goossens N, Nakagawa S, Sun X, Hoshida Y. Cancer biomarker discovery and validation. *Transl Cancer Res*. 2015;4(3):256-269. doi:10.3978/j.issn.2218-676X.2015.06.04
- Guo Y, Li J, Li CI, Long J, Samuels DC, Shyr Y. The effect of strand bias in Illumina short-read sequencing data. *BMC Genomics*. 2012;13:666. Published 2012 Nov 24. doi:10.1186/1471-2164-13-666
- Han W, Shi CT, Cao FY, et al. Prognostic Value of NME1 (NM23-H1) in Patients with Digestive System Neoplasms: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016;11(8):e0160547. Published 2016 Aug 12. doi:10.1371/journal.pone.0160547
- He W, Meng J. CDC20: a novel therapeutic target in cancer. *Am J Transl Res*. 2023;15(2):678-693. Published 2023 Feb 15.
- Henry NL, Hayes DF. Cancer biomarkers. *Mol Oncol*. 2012;6(2):140-146. doi:10.1016/j.molonc.2012.01.010
- Herath S, Sadeghi Rad H, Radfar P, et al. The Role of Circulating Biomarkers in Lung Cancer. *Front Oncol*. 2022;11:801269. Published 2022 Jan 21. doi:10.3389/fonc.2021.801269
- Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments. *Lancet*. 2017;389(10066):299-311. doi:10.1016/S0140-6736(16)30958-8

- Hou J, Aerts J, den Hamer B, et al. Gene expression-based classification of non-small cell lung carcinomas and survival prediction. *PLoS One*. 2010;5(4):e10312. Published 2010 Apr 22. doi:10.1371/journal.pone.0010312
- Hu J, He Q, Tian T, Chang N, Qian L. Transmission of Exosomal TPX2 Promotes Metastasis and Resistance of NSCLC Cells to Docetaxel. *Onco Targets Ther*. 2023;16:197-210. Published 2023 Mar 27. doi:10.2147/OTT.S401454
- Huang X, Wang HL, Qi ST, et al. DYNLT3 is required for chromosome alignment during mouse oocyte meiotic maturation. *Reprod Sci*. 2011;18(10):983-989. doi:10.1177/1933719111401664
- Hulbert A, Jusue-Torres I, Stark A, et al. Early Detection of Lung Cancer Using DNA Promoter Hypermethylation in Plasma and Sputum. *Clin Cancer Res*. 2017;23(8):1998-2005. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-1371
- Huna A, Nawrocki-Raby B, Padilla-Benavides T, et al. Loss of the Metastasis Suppressor NME1, But Not of Its Highly Related Isoform NME2, Induces a Hybrid Epithelial-Mesenchymal State in Cancer Cells. *Int J Mol Sci*. 2021;22(7):3718. Published 2021 Apr 2. doi:10.3390/ijms22073718
- Idoudi S, Bedhiafi T, Pedersen S, et al. Role of HMGB1 and its associated signaling pathways in human malignancies. *Cell Signal*. 2023;112:110904. doi:10.1016/j.cellsig.2023.110904
- Jakubowska K, Naumnik W, Niklińska W, Chyczewska E. Clinical Significance of HMGB-1 and TGF- β Level in Serum and BALF of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2015;852:49-58. doi:10.1007/5584_2015_115
- Jalali P, Samii A, Rezaee M, Shahmoradi A, Pashizeh F, Salehi Z. UBE2C: A pan-cancer diagnostic and prognostic biomarker revealed through bioinformatics analysis. *Cancer Rep (Hoboken)*. 2024;7(4):e2032. doi:10.1002/cnr2.2032
- Jia Y, Gao Y, Li J, Chang Z, Yan J, Qin Y. Prognostic implications of MYBL2 in resected Chinese gastric adenocarcinoma patients. *Onco Targets Ther*. 2019;12:1129-1135. Published 2019 Feb 11. doi:10.2147/OTT.S188820

- Jiao M, Zhang F, Teng W, Zhou C. MYBL2 is a Novel Independent Prognostic Biomarker and Correlated with Immune Infiltrates in Prostate Cancer. *Int J Gen Med.* 2022;15:3003-3030. Published 2022 Mar 15. doi:10.2147/IJGM.S351638
- Kamel HFM, Al-Amodi HSAB. Exploitation of Gene Expression and Cancer Biomarkers in Paving the Path to Era of Personalized Medicine. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2017;15(4):220-235. doi:10.1016/j.gpb.2016.11.005
- Kang R, Zhang Q, Zeh HJ 3rd, Lotze MT, Tang D. HMGB1 in cancer: good, bad, or both?. *Clin Cancer Res.* 2013;19(15):4046-4057. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-0495
- Karagoz K, Lehman HL, Stairs DB, Sinha R, Arga KY. Proteomic and Metabolic Signatures of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Curr Cancer Drug Targets.* Published online February 2, 2016.
- Kariri Y, Toss MS, Alsaleem M, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme 2C (UBE2C) is a poor prognostic biomarker in invasive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2022;192(3):529-539. doi:10.1007/s10549-022-06531-5
- Kato T, Daigo Y, Aragaki M, Ishikawa K, Sato M, Kaji M. Overexpression of KIAA0101 predicts poor prognosis in primary lung cancer patients. *Lung Cancer.* 2012;75(1):110-118. doi:10.1016/j.lungcan.2011.05.024
- Kato T, Daigo Y, Aragaki M, Ishikawa K, Sato M, Kaji M. Overexpression of CDC20 predicts poor prognosis in primary non-small cell lung cancer patients. *J Surg Oncol.* 2012;106(4):423-430. doi:10.1002/jso.23109
- Keller L, Belloum Y, Wikman H, Pantel K. Clinical relevance of blood-based ctDNA analysis: mutation detection and beyond. *Br J Cancer.* 2021;124(2):345-358. doi:10.1038/s41416-020-01047-5
- Khan I, Gril B, Steeg PS. Metastasis Suppressors NME1 and NME2 Promote Dynamin 2 Oligomerization and Regulate Tumor Cell Endocytosis, Motility, and Metastasis. *Cancer Res.* 2019;79(18):4689-4702. doi:10.1158/0008-5472.CAN-19-0492

- Kim D, Kim Y, Lee BB, et al. Negative Effect of Reduced NME1 Expression on Recurrence-Free Survival in Early Stage Non-Small Cell Lung Cancer. *J Clin Med*. 2020;9(10):3067. Published 2020 Sep 23. doi:10.3390/jcm9103067
- Kim DH, Park SE, Kim M, et al. A functional single nucleotide polymorphism at the promoter region of cyclin A2 is associated with increased risk of colon, liver, and lung cancers. *Cancer*. 2011;117(17):4080-4091. doi:10.1002/cncr.25930
- Kinsinger LS, Anderson C, Kim J, et al. Implementation of Lung Cancer Screening in the Veterans Health Administration. *JAMA Intern Med*. 2017;177(3):399-406. doi:10.1001/jamainternmed.2016.9022
- Koike Y, Yin C, Sato Y, et al. TPX2 is a prognostic marker and promotes cell proliferation in neuroblastoma. *Oncol Lett*. 2022;23(4):136. doi:10.3892/ol.2022.13256
- Lacroix L, Commo F, Soria JC. Gene expression profiling of non-small-cell lung cancer. *Expert Rev Mol Diagn*. 2008;8(2):167-178. doi:10.1586/14737159.8.2.167
- Lai GGY, Cheng XM, Ang YL, et al. Molecular testing in non-small cell lung cancer: A consensus recommendation. *Ann Acad Med Singap*. 2023;52(7):364-373. Published 2023 Jul 28. doi:10.47102/annals-acadmedsg.2022473
- Le MT, Hamar P, Guo C, et al. miR-200-containing extracellular vesicles promote breast cancer cell metastasis. *J Clin Invest*. 2014;124(12):5109-5128. doi:10.1172/JCI75695
- Lee JH, Daugharthy ER, Scheiman J, et al. Highly multiplexed subcellular RNA sequencing in situ. *Science*. 2014;343(6177):1360-1363. doi:10.1126/science.1250212
- Li W, Zhang G, Li X, et al. Thyroid hormone receptor interactor 13 (TRIP13) overexpression associated with tumor progression and poor prognosis in lung adenocarcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;499(3):416-424. doi:10.1016/j.bbrc.2018.03.129

- Li Y, Wang S, Guo M, et al. MYBL2 is a Novel Independent Prognostic Biomarker and Correlated with TMB in pancreatic cancer. *J Cancer*. 2024;15(13):4360-4373. Published 2024 Jun 11. doi:10.7150/jca.96320
- Li Z, Sang M, Tian Z, et al. Identification of key biomarkers and potential molecular mechanisms in lung cancer by bioinformatics analysis. *Oncol Lett*. 2019;18(5):4429-4440. doi:10.3892/ol.2019.10796
- Liu C, Chen Y, Deng Y, et al. Survival-based bioinformatics analysis to identify hub genes and key pathways in non-small cell lung cancer. *Transl Cancer Res*. 2019;8(4):1188-1198. doi:10.21037/tcr.2019.06.35
- Lo KW, Kogoy JM, Pfister KK. The DYNLT3 light chain directly links cytoplasmic dynein to a spindle checkpoint protein, Bub3. *J Biol Chem*. 2007;282(15):11205-11212. doi:10.1074/jbc.M611279200
- Lodillinsky C, Fuhrmann L, Irondele M, et al. Metastasis-suppressor NME1 controls the invasive switch of breast cancer by regulating MT1-MMP surface clearance. *Oncogene*. 2021;40(23):4019-4032. doi:10.1038/s41388-021-01826-1
- Lu TP, Tsai MH, Lee JM, et al. Identification of a novel biomarker, SEMA5A, for non-small cell lung carcinoma in nonsmoking women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010;19(10):2590-2597. doi:10.1158/1055-9965.EPI-10-0332
- Lu Y, Wang L, Liu P, Yang P, You M. Gene-expression signature predicts postoperative recurrence in stage I non-small cell lung cancer patients. *PLoS One*. 2012;7(1):e30880. doi:10.1371/journal.pone.0030880
- Lu Y, Wang L, Liu P, Yang P, You M. Gene-expression signature predicts postoperative recurrence in stage I non-small cell lung cancer patients. *PLoS One*. 2012;7(1):e30880. doi:10.1371/journal.pone.0030880
- Ma S, Chen Q, Li X, Fu J, Zhao L. UBE2C serves as a prognosis biomarker of uterine corpus endometrial carcinoma via promoting tumor migration and invasion. *Sci Rep*. 2023;13(1):16899. Published 2023 Oct 6. doi:10.1038/s41598-023-44189-1

- Ma XP, Zhang W, Wu BQ, Qin J. Correlations Between mRNA Levels of Centrosomal Protein 55 (CEP55) and Clinical Features of Patients with Lung Cancer. *Med Sci Monit.* 2018;24:3093-3097. Published 2018 May 11. doi:10.12659/MSM.907266
- Magar ND, Shah P, Harish K, et al. Gene Expression and Transcriptome Sequencing: Basics, Analysis, Advances. Edited by Fumiaki Uchiumi, Gene Expression Book, doi: 10.5772/intechopen.105929
- Maharjan M, Tanvir RB, Chowdhury K, Duan W, Mondal AM. Computational identification of biomarker genes for lung cancer considering treatment and non-treatment studies. *BMC Bioinformatics.* 2020;21(Suppl 9):218. Published 2020 Dec 3. doi:10.1186/s12859-020-3524-8
- Maharjan M, Tanvir RB, Chowdhury K, Duan W, Mondal AM. Computational identification of biomarker genes for lung cancer considering treatment and non-treatment studies. *BMC Bioinformatics.* 2020;21(Suppl 9):218. Published 2020 Dec 3. doi:10.1186/s12859-020-3524-8
- Maitra RD, Kim J, Dunbar WB. Recent advances in nanopore sequencing. *Electrophoresis.* 2012;33(23):3418-3428. doi:10.1002/elps.201200272
- Man Y, Cao J, Jin S, et al. Newly identified biomarkers for detecting circulating tumor cells in lung adenocarcinoma. *Tohoku J Exp Med.* 2014;234(1):29-40. doi:10.1620/tjem.234.29
- Marguerat S, Bähler J. RNA-seq: from technology to biology. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67(4):569-579. doi:10.1007/s00018-009-0180-6
- Márquez-González RM, Saucedo-Sariñana AM, de Jesús Tovar-Jacome C, et al. NME1 and DCC variants are associated with susceptibility and tumor characteristics in Mexican patients with colorectal cancer. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2024;36(1):10. Published 2024 Apr 1. doi:10.1186/s43046-024-00213-7
- Martin JA, Wang Z. Next-generation transcriptome assembly. *Nat Rev Genet.* 2011;12(10):671-682. Published 2011 Sep 7. doi:10.1038/nrg3068

- Mátyási B, Farkas Z, Kopper L, et al. The Function of NM23-H1/NME1 and Its Homologs in Major Processes Linked to Metastasis. *Pathol Oncol Res.* 2020;26(1):49-61. doi:10.1007/s12253-020-00797-0
- Mazzone PJ, Sears CR, Arenberg DA, et al. Evaluating Molecular Biomarkers for the Early Detection of Lung Cancer: When Is a Biomarker Ready for Clinical Use? An Official American Thoracic Society Policy Statement. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017;196(7):e15-e29. doi:10.1164/rccm.201708-1678ST
- Melo SA, Sugimoto H, O'Connell JT, et al. Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis. *Cancer Cell.* 2014;26(5):707-721. doi:10.1016/j.ccell.2014.09.005
- Mendell JT. MicroRNAs: critical regulators of development, cellular physiology and malignancy. *Cell Cycle.* 2005;4(9):1179-1184. doi:10.4161/cc.4.9.2032
- Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet.* 2010;11(1):31-46. doi:10.1038/nrg2626
- Miao S, Ju G, Jiang C, et al. Identification of DYNLT1 associated with proliferation, relapse, and metastasis in breast cancer [published correction appears in *Front Med (Lausanne)*. 2024 Feb 05;11:1375203. doi:10.3389/fmed.2024.1375203]. *Front Med (Lausanne)*. 2023;10:1167676. Published 2023 Apr 4. doi:10.3389/fmed.2023.1167676
- Mikheyev AS, Tin MM. A first look at the Oxford Nanopore MinION sequencer. *Mol Ecol Resour.* 2014;14(6):1097-1102. doi:10.1111/1755-0998.12324
- Milward EA, Daneshi N, Johnstone DM. Emerging real-time technologies in molecular medicine and the evolution of integrated 'pharmacomics' approaches to personalized medicine and drug discovery. *Pharmacol Ther.* 2012;136(3):295-304. doi:10.1016/j.pharmthera.2012.08.008
- Mishra A, Verma M. Cancer biomarkers: are we ready for the prime time?. *Cancers (Basel)*. 2010;2(1):190-208. Published 2010 Mar 22. doi:10.3390/cancers2010190

- National Lung Screening Trial Research Team, Aberle DR, Adams AM, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med.* 2011;365(5):395-409. doi:10.1056/NEJMoa1102873
- Newman AM, Bratman SV, To J, et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. *Nat Med.* 2014;20(5):548-554. doi:10.1038/nm.3519
- Nugent WC, Edney MT, Hammerness PG, Dain BJ, Maurer LH, Rigas JR. Non-small cell lung cancer at the extremes of age: impact on diagnosis and treatment. *Ann Thorac Surg.* 1997;63(1):193-197. doi:10.1016/s0003-4975(96)00745-x
- Ooki A, Maleki Z, Tsay JJ, et al. A Panel of Novel Detection and Prognostic Methylated DNA Markers in Primary Non-Small Cell Lung Cancer and Serum DNA. *Clin Cancer Res.* 2017;23(22):7141-7152. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-1222
- Ou FS, Michiels S, Shyr Y, Adjei AA, Oberg AL. Biomarker Discovery and Validation: Statistical Considerations. *J Thorac Oncol.* 2021;16(4):537-545. doi:10.1016/j.jtho.2021.01.1616
- Oszolak F, Milos PM. RNA sequencing: advances, challenges and opportunities. *Nat Rev Genet.* 2011;12(2):87-98. doi:10.1038/nrg2934
- Pan HW, Su HH, Hsu CW, Huang GJ, Wu TT. Targeted TPX2 increases chromosome missegregation and suppresses tumor cell growth in human prostate cancer. *Onco Targets Ther.* 2017;10:3531-3543. Published 2017 Jul 17. doi:10.2147/OTT.S136491
- Parikh AB, Hammons L, Gomez JE. Neoadjuvant Tyrosine Kinase Inhibition in Locally-advanced Non-small Cell Lung Cancer: Two Cases and a Brief Literature Review. *Anticancer Res.* 2019;39(2):897-902. doi:10.21873/anticancer.13191
- Piepenburg O, Williams CH, Stemple DL, Armes NA. DNA detection using recombination proteins. *PLoS Biol.* 2006;4(7):e204. doi:10.1371/journal.pbio.0040204

- Porter RJ, Murray GI, Hapca S, et al. Subcellular Epithelial HMGB1 Expression Is Associated with Colorectal Neoplastic Progression, Male Sex, Mismatch Repair Protein Expression, Lymph Node Positivity, and an 'Immune Cold' Phenotype Associated with Poor Survival. *Cancers (Basel)*. 2023;15(6):1865. Published 2023 Mar 20. doi:10.3390/cancers15061865
- Pritchard CC, Kroh E, Wood B, et al. Blood cell origin of circulating microRNAs: a cautionary note for cancer biomarker studies. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2012;5(3):492-497. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-11-0370
- Prunier C, Chavrier P, Boissan M. Mechanisms of action of NME metastasis suppressors - a family affair. *Cancer Metastasis Rev*. 2023;42(4):1155-1167. doi:10.1007/s10555-023-10118-x
- Puggina A, Broumas A, Ricciardi W, Boccia S. Cost-effectiveness of screening for lung cancer with low-dose computed tomography: a systematic literature review. *Eur J Public Health*. 2016;26(1):168-175. doi:10.1093/eurpub/ckv158
- Qu J, Zhao X, Wang J, Liu X, Yan Y, Liu L, Cai H, Qu H, Lu N, Sun Y, Wang F, Wang J, Zhang J. MYC overexpression with its prognostic and clinicopathological significance in breast cancer. *Oncotarget*. 2017 Oct 5;8(55):93998-94008. doi: 10.18632/oncotarget.21501. PMID: 29212204; PMCID: PMC5706850.
- Radić M, Šoštar M, Weber I, Četković H, Slade N, Herak Bosnar M. The Subcellular Localization and Oligomerization Preferences of NME1/NME2 upon Radiation-Induced DNA Damage. *Int J Mol Sci*. 2020;21(7):2363. Published 2020 Mar 29. doi:10.3390/ijms21072363
- Ren F, Wang L, Shen X, et al. MYBL2 is an independent prognostic marker that has tumor-promoting functions in colorectal cancer. *Am J Cancer Res*. 2015;5(4):1542-1552. Published 2015 Mar 15
- Roy-Chowdhuri S. Molecular Pathology of Lung Cancer. *Clin Lab Med*. 2024;44(2):137-147. doi:10.1016/j.cll.2023.08.002
- Salamini-Montemurri M, Vizoso-Vázquez Á, Barreiro-Alonso A, et al. The Effect of HMGB1 and HMGB2 on Transcriptional Regulation Differs in

Neuroendocrine and Adenocarcinoma Models of Prostate Cancer. *Int J Mol Sci.* 2024;25(6):3106. Published 2024 Mar 7. doi:10.3390/ijms25063106

- Sarhadi VK, Armengol G. Molecular Biomarkers in Cancer. *Biomolecules.* 2022;12(8):1021. Published 2022 Jul 23. doi:10.3390/biom12081021
- Saw SPL, Le X, Hendriks LEL, Remon J. New Treatment Options for Patients With Oncogene-Addicted Non-Small Cell Lung Cancer Focusing on *EGFR*-Mutant Tumors. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2024;44(3):e432516. doi:10.1200/EDBK_432516
- Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science.* 1995;270(5235):467-470. doi:10.1126/science.270.5235.467
- Schneider MA, Christopoulos P, Muley T, et al. AURKA, DLGAP5, TPX2, KIF11 and CKAP5: Five specific mitosis-associated genes correlate with poor prognosis for non-small cell lung cancer patients. *Int J Oncol.* 2017;50(2):365-372. doi:10.3892/ijo.2017.3834
- Seijo LM, Peled N, Ajona D, et al. Biomarkers in Lung Cancer Screening: Achievements, Promises, and Challenges. *J Thorac Oncol.* 2019;14(3):343-357. doi:10.1016/j.jtho.2018.11.023
- Sen T, Takahashi N, Chakraborty S, et al. Emerging advances in defining the molecular and therapeutic landscape of small-cell lung cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* Published online July 4, 2024. doi:10.1038/s41571-024-00914-x
- Shaath H, Vishnubalaji R, Elango R, Velayutham D, Jithesh PV, Alajez NM. Therapeutic targeting of the TPX2/TTK network in colorectal cancer. *Cell Commun Signal.* 2023;21(1):265. Published 2023 Sep 28. doi:10.1186/s12964-023-01290-2
- Shao C, Sun W, Tan M, et al. Integrated, genome-wide screening for hypomethylated oncogenes in salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2011;17(13):4320-4330. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2992
- Shao T, Jiang X, Bao G, Li C, Guo C. Comprehensive Analysis of the Oncogenic Role of Targeting Protein for Xklp2 (TPX2) in Human

Malignancies. *Dis Markers*. 2022;2022:7571066. Published 2022 Oct 18. doi:10.1155/2022/7571066

- Shen X, Hong L, Sun H, Shi M, Song Y. The expression of high-mobility group protein box 1 correlates with the progression of non-small cell lung cancer. *Oncol Rep*. 2009;22(3):535-539. doi:10.3892/or_00000468
- Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing. *Nat Biotechnol*. 2008;26(10):1135-1145. doi:10.1038/nbt1486
- Shojaee S, Nana-Sinkam P. Recent advances in the management of non-small cell lung cancer. *F1000Res*. 2017;6:2110. Published 2017 Dec 7. doi:10.12688/f1000research.11471.1
- Simon R. Clinical trials for predictive medicine: new challenges and paradigms. *Clin Trials*. 2010;7(5):516-524. doi:10.1177/1740774510366454
- Ståhlberg A, Krzyzanowski PM, Egyud M, Filges S, Stein L, Godfrey TE. Simple multiplexed PCR-based barcoding of DNA for ultrasensitive mutation detection by next-generation sequencing. *Nat Protoc*. 2017;12(4):664-682. doi:10.1038/nprot.2017.006
- Ståhlberg A, Krzyzanowski PM, Jackson JB, Egyud M, Stein L, Godfrey TE. Simple, multiplexed, PCR-based barcoding of DNA enables sensitive mutation detection in liquid biopsies using sequencing. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(11):e105. doi:10.1093/nar/gkw224
- Sun J, Karasaki KM, Farma JM. The Use of Gene Expression Profiling and Biomarkers in Melanoma Diagnosis and Predicting Recurrence: Implications for Surveillance and Treatment. *Cancers (Basel)*. 2024;16(3):583. Published 2024 Jan 30. doi:10.3390/cancers16030583
- Sun KK, Ji C, Li X, et al. Overexpression of high mobility group protein B1 correlates with the proliferation and metastasis of lung adenocarcinoma cells. *Mol Med Rep*. 2013;7(5):1678-1682. doi:10.3892/mmr.2013.1362
- Tang Q, Zhang H, Kong M, Mao X, Cao X. Hub genes and key pathways of non-small lung cancer identified using bioinformatics. *Oncol Lett*. 2018;16(2):2344-2354. doi:10.3892/ol.2018.8882

- Tang Y, Qiao G, Xu E, Xuan Y, Liao M, Yin G. Biomarkers for early diagnosis, prognosis, prediction, and recurrence monitoring of non-small cell lung cancer. *Onco Targets Ther.* 2017;10:4527-4534. Published 2017 Sep 12. doi:10.2147/OTT.S142149
- Tang Y, Qiao G, Xu E, Xuan Y, Liao M, Yin G. Biomarkers for early diagnosis, prognosis, prediction, and recurrence monitoring of non-small cell lung cancer. *Onco Targets Ther.* 2017;10:4527-4534. Published 2017 Sep 12. doi:10.2147/OTT.S142149
- Teutsch SM, Bradley LA, Palomaki GE, et al. The Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Initiative: methods of the EGAPP Working Group. *Genet Med.* 2009;11(1):3-14. doi:10.1097/GIM.0b013e318184137c
- Tomii C, Inokuchi M, Takagi Y, et al. TPX2 expression is associated with poor survival in gastric cancer. *World J Surg Oncol.* 2017;15(1):14. Published 2017 Jan 9. doi:10.1186/s12957-016-1095-y
- Tóth LJ, Mokánszki A, Méhes G. The rapidly changing field of predictive biomarkers of non-small cell lung cancer. *Pathol Oncol Res.* 2024;30:1611733. Published 2024 Jun 17. doi:10.3389/pore.2024.1611733
- Turchinovich A, Weiz L, Burwinkel B. Extracellular miRNAs: the mystery of their origin and function. *Trends Biochem Sci.* 2012;37(11):460-465. doi:10.1016/j.tibs.2012.08.003
- Umu SU, Langseth H, Bucher-Johannessen C, et al. A comprehensive profile of circulating RNAs in human serum. *RNA Biol.* 2018;15(2):242-250. doi:10.1080/15476286.2017.1403003
- Velculescu VE, Zhang L, Vogelstein B, Kinzler KW. Serial analysis of gene expression. *Science.* 1995;270(5235):484-487. doi:10.1126/science.270.5235.484
- Venereau E, De Leo F, Mezzapelle R, Careccia G, Musco G, Bianchi ME. HMGB1 as biomarker and drug target. *Pharmacol Res.* 2016;111:534-544. doi:10.1016/j.phrs.2016.06.031

- Venetis K, Pescia C, Cursano G, et al. The Evolving Role of Genomic Testing in Early Breast Cancer: Implications for Diagnosis, Prognosis, and Therapy. *Int J Mol Sci.* 2024;25(11):5717. Published 2024 May 24. doi:10.3390/ijms25115717
- Vitale I, Shema E, Loi S, Galluzzi L. Intratumoral heterogeneity in cancer progression and response to immunotherapy. *Nat Med.* 2021;27(2):212-224. doi:10.1038/s41591-021-01233-9
- Wan J, Zou S, Hu M, et al. Thoc1 inhibits cell growth via induction of cell cycle arrest and apoptosis in lung cancer cells. *Mol Med Rep.* 2014;9(6):2321-2327. doi:10.3892/mmr.2014.2088
- Wang C, Ding M, Xia M, et al. A Five-miRNA Panel Identified From a Multicentric Case-control Study Serves as a Novel Diagnostic Tool for Ethnically Diverse Non-small-cell Lung Cancer Patients. *EBioMedicine.* 2015;2(10):1377-1385. Published 2015 Aug 4. doi:10.1016/j.ebiom.2015.07.034
- Wang C, Fei G, Liu Z, Li Q, Xu Z, Ren T. HMGB1 was a pivotal synergistic effector for CpG oligonucleotide to enhance the progression of human lung cancer cells. *Cancer Biol Ther.* 2012;13(9):727-736. doi:10.4161/cbt.20555
- Wang F, Su Q, Li C. Identification of novel biomarkers in non-small cell lung cancer using machine learning. *Sci Rep.* 2022;12(1):16693. Published 2022 Oct 6. doi:10.1038/s41598-022-21050-5
- Wang F, Su Q, Li C. Identification of novel biomarkers in non-small cell lung cancer using machine learning. *Sci Rep.* 2022;12(1):16693. Published 2022 Oct 6. doi:10.1038/s41598-022-21050-5
- Wang H, Chu F, Zhang XF, et al. TPX2 enhances the transcription factor activation of PXR and enhances the resistance of hepatocellular carcinoma cells to antitumor drugs. *Cell Death Dis.* 2023;14(1):64. Published 2023 Jan 27. doi:10.1038/s41419-022-05537-7
- Wang L, Zhang J, Xia M, Liu C, Zu X, Zhong J. High Mobility Group A1 (HMGA1): Structure, Biological Function, and Therapeutic Potential. *Int J*

Biol Sci. 2022 Jul 4;18(11):4414-4431. doi: 10.7150/ijbs.72952. PMID: 35864955; PMCID: PMC9295051.

- Wang S, Chen B, Zhu Z, et al. CDC20 overexpression leads to poor prognosis in solid tumors: A system review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(52):e13832. doi:10.1097/MD.00000000000013832
- Wang Y, Wang H, Yan Z, et al. The critical role of dysregulated Hh-FOXM1-TPX2 signaling in human hepatocellular carcinoma cell proliferation. *Cell Commun Signal*. 2020;18(1):116. Published 2020 Jul 28. doi:10.1186/s12964-020-00628-4
- Wang Y, Wang J, Tang Q, Ren G. Identification of UBE2C as hub gene in driving prostate cancer by integrated bioinformatics analysis. *PLoS One*. 2021;16(2):e0247827. Published 2021 Feb 25. doi:10.1371/journal.pone.0247827
- Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet*. 2009;10(1):57-63. doi:10.1038/nrg2484
- Wei F, Yang F, Li J, et al. Soluble Toll-like receptor 4 is a potential serum biomarker in non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2016;7(26):40106-40114. doi:10.18632/oncotarget.9496
- Wei M, Yang R, Ye M, et al. MYBL2 accelerates epithelial-mesenchymal transition and hepatoblastoma metastasis via the Smad/SNAI1 pathway. *Am J Cancer Res*. 2022;12(5):1960-1981. Published 2022 May 15.
- Wei P, Zhang N, Xu Y, et al. TPX2 is a novel prognostic marker for the growth and metastasis of colon cancer. *J Transl Med*. 2013;11:313. Published 2013 Dec 17. doi:10.1186/1479-5876-11-313
- Wei Y, Yang C, Wei J, Li W, Qin Y, Liu G. Identification and verification of microtubule associated genes in lung adenocarcinoma. *Sci Rep*. 2023;13(1):16134. Published 2023 Sep 26. doi:10.1038/s41598-023-42985-3
- Wen J, Fu J, Zhang W, Guo M. Genetic and epigenetic changes in lung carcinoma and their clinical implications. *Mod Pathol*. 2011;24(7):932-943. doi:10.1038/modpathol.2011.46

- Wen P, Chidanguro T, Shi Z, et al. Identification of candidate biomarkers and pathways associated with SCLC by bioinformatics analysis. *Mol Med Rep.* 2018;18(2):1538-1550. doi:10.3892/mmr.2018.9095
- Wilhelm BT, Marguerat S, Watt S, et al. Dynamic repertoire of a eukaryotic transcriptome surveyed at single-nucleotide resolution. *Nature.* 2008;453(7199):1239-1243. doi:10.1038/nature07002
- Wood ME, Kelly K, Mullineaux LG, Bunn PA Jr. The inherited nature of lung cancer: a pilot study. *Lung Cancer.* 2000;30(2):135-144. doi:10.1016/s0169-5002(00)00142-2
- Wu L, Yang L. The function and mechanism of HMGB1 in lung cancer and its potential therapeutic implications. *Oncol Lett.* 2018;15(5):6799-6805. doi:10.3892/ol.2018.8215
- Wu S, Pan Y, Mao Y, Chen Y, He Y. Current progress and mechanisms of bone metastasis in lung cancer: a narrative review. *Transl Lung Cancer Res.* 2021;10(1):439-451. doi:10.21037/tlcr-20-835
- Xian F, Yang X, Xu G. Prognostic significance of CDC20 expression in malignancy patients: A meta-analysis. *Front Oncol.* 2022;12:1017864. Published 2022 Nov 21. doi:10.3389/fonc.2022.1017864
- Xian F, Zhao C, Huang C, Bie J, Xu G. The potential role of CDC20 in tumorigenesis, cancer progression and therapy: A narrative review. *Medicine (Baltimore).* 2023;102(36):e35038. doi:10.1097/MD.00000000000035038
- Xian F, Zhao C, Huang C, Bie J, Xu G. The potential role of CDC20 in tumorigenesis, cancer progression and therapy: A narrative review. *Medicine (Baltimore).* 2023;102(36):e35038. doi:10.1097/MD.00000000000035038
- Xiao Y, Feng M, Ran H, Han X, Li X. Identification of key differentially expressed genes associated with non-small cell lung cancer by bioinformatics analyses. *Mol Med Rep.* 2018;17(5):6379-6386. doi:10.3892/mmr.2018.8726
- Xie C, Powell C, Yao M, Wu J, Dong Q. Ubiquitin-conjugating enzyme E2C: a potential cancer biomarker. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;47:113-117. doi:10.1016/j.biocel.2013.11.023

- Xiong YC, Wang J, Cheng Y, Zhang XY, Ye XQ. Overexpression of MYBL2 promotes proliferation and migration of non-small-cell lung cancer via upregulating NCAPH. *Mol Cell Biochem.* 2020;468(1-2):185-193. doi:10.1007/s11010-020-03721-x
- Yanai H, Ban T, Wang Z, et al. HMGB proteins function as universal sentinels for nucleic-acid-mediated innate immune responses. *Nature.* 2009;462(7269):99-103. doi:10.1038/nature08512
- Yang J, Gao F, Xu X, Wang Y, Zhu S. Targeting protein for Xenopus kinesin-like protein 2 knockdown enhances radiation sensitivity of human lung squamous carcinoma cell. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017;44(10):1060-1068. doi:10.1111/1440-1681.12800
- Yang M, Mao X, Li L, Yang J, Xing H, Jiang C. High TPX2 expression results in poor prognosis, and Sp1 mediates the coupling of the CX3CR1/CXCL10 chemokine pathway to the PI3K/Akt pathway through targeted inhibition of TPX2 in endometrial cancer. *Cancer Med.* 2024;13(5):e6958. doi:10.1002/cam4.6958
- Yang R, Zhou Y, Du C, Wu Y. Bioinformatics analysis of differentially expressed genes in tumor and paracancerous tissues of patients with lung adenocarcinoma. *J Thorac Dis.* 2020;12(12):7355-7364. doi:10.21037/jtd-20-3453
- Yang W, Chen H, Ma L, et al. The oncogene MYBL2 promotes the malignant phenotype and suppresses apoptosis through hedgehog signaling pathway in clear cell renal cell carcinoma. *Heliyon.* 2024;10(6):e27772. Published 2024 Mar 11. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e27772
- Ye X, Gao Q, Wu J, Zhou L, Tao M. Identification of significant genes in non-small cell lung cancer by bioinformatics analyses. *Transl Cancer Res.* 2020;9(7):4330-4340. doi:10.21037/tcr-19-2596
- Ying L, Du L, Zou R, et al. Development of a serum miRNA panel for detection of early stage non-small cell lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(40):25036-25042. doi:10.1073/pnas.2006212117

- Yu Y, Tian X. Analysis of genes associated with prognosis of lung adenocarcinoma based on GEO and TCGA databases. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(19):e20183. doi:10.1097/MD.00000000000020183
- Zhang C, Jiang M, Zhou N, et al. Use tumor suppressor genes as biomarkers for diagnosis of non-small cell lung cancer. *Sci Rep*. 2021;11(1):3596. Published 2021 Feb 12. doi:10.1038/s41598-020-80735-x
- Zhang J, Liu X, Yu G, et al. UBE2C Is a Potential Biomarker of Intestinal-Type Gastric Cancer With Chromosomal Instability. *Front Pharmacol*. 2018;9:847. Published 2018 Aug 2. doi:10.3389/fphar.2018.00847
- Zhang J, Shen Q, Xia L, Zhu X, Zhu X. DYNLT3 overexpression induces apoptosis and inhibits cell growth and migration *via* inhibition of the Wnt pathway and EMT in cervical cancer. *Front Oncol*. 2022;12:889238. Published 2022 Jul 29. doi:10.3389/fonc.2022.889238
- Zhang J, Shen Q, Xia L, Zhu X, Zhu X. DYNLT3 overexpression induces apoptosis and inhibits cell growth and migration *via* inhibition of the Wnt pathway and EMT in cervical cancer. *Front Oncol*. 2022;12:889238. Published 2022 Jul 29. doi:10.3389/fonc.2022.889238
- Zhang S, You X, Zheng Y, Shen Y, Xiong X, Sun Y. The UBE2C/CDH1/DEPTOR axis is an oncogene and tumor suppressor cascade in lung cancer cells. *J Clin Invest*. 2023;133(4):e162434. Published 2023 Feb 15. doi:10.1172/JCI162434
- Zhou F, Wang M, Aibaidula M, et al. TPX2 Promotes Metastasis and Serves as a Marker of Poor Prognosis in Non-Small Cell Lung Cancer. *Med Sci Monit*. 2020;26:e925147. Published 2020 Aug 4. doi:10.12659/MSM.925147
- Zhou L, Ye M, Xue F, Lu E, Sun LZ, Zhu X. Effects of dynein light chain Tctex-type 3 on the biological behavior of ovarian cancer. *Cancer Manag Res*. 2019;11:5925-5938. Published 2019 Jul 1. doi:10.2147/CMAR.S205158
- Zhou M, Chen Y, Gu X, Wang C. A Comprehensive Bioinformatic Analysis for Identification of Myeloid-Associated Differentiation Marker as a Potential Negative Prognostic Biomarker in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Pathol Oncol*

Res. 2022;28:1610504. Published 2022 Aug 19.
doi:10.3389/pore.2022.1610504

- Zhu M, Wang X, Zhang Q, et al. Integrative analysis confirms TPX2 as a novel biomarker for clinical implication, tumor microenvironment, and immunotherapy response across human solid tumors. *Aging (Albany NY)*. 2024;16(3):2563-2590. doi:10.18632/aging.205498
- Zou J, Huang RY, Jiang FN, et al. Overexpression of TPX2 is associated with progression and prognosis of prostate cancer. *Oncol Lett*. 2018;16(3):2823-2832. doi:10.3892/ol.2018.9016



Özgeçmiş

ÖZGEÇMİŞ FORMU

Adı-Soyadı	Ayşe CANER	
T.C. Kimlik No		
Doğum	Yeri: _____	Tarihi: _____
Akademik Unvanı	Doçent Dr.	
Telefon	İş: 390 4732	Cep: 0 _____
İş Adresi	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Bornova, İzmir	
E-posta Adresi		
Bildiği Yabancı Diller (Puan ve Yılı)	İngilizce (75-2022)	
Uzmanlık Alanı	Parazitoloji/Tıp	

EĞİTİM DURUMU

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Tip Fakültesi	İstanbul Üniversitesi	1986-1992
Y. Lisans	Tip Fakültesi	İstanbul Üniversitesi	1986-1992
Doktora / Uzmanlık / Sanatta Yeterlilik	Parazitoloji	Ege Üniversitesi	2001-2007
Doktora / Uzmanlık / Sanatta Yeterlilik	Parazitoloji	Singleton Hospital, U.K, Department Of Microbiology, Swansea, Toxoplasma Reference Unit, UK	2006
Doktora / Uzmanlık / Sanatta Yeterlilik	Parazitoloji	The Czech Academy Of Sciences, Tata Biocenter Institue Of Biotechnology, Çek Cumhuriyeti	2011
Doçentlik	Parazitoloji	Ege Üniversitesi	2012

Doktora / Uzmanlık / Sanatta Yeterlilik	Temel Onkoloji	Ege Üniversitesi	2016- 2019
Doktora sonrası	Experimental Therapeutics	MD Anderson Cancer Center, Houston, ABD	2016- 2018
Doktora / Uzmanlık / Sanatta Yeterlilik	Biyoinformatik	Ege Üniversitesi	2016- Devam ediyor

Yüksek Lisans Tezi Başlığı (özeti ekte)	
Tez Danışman(lar)ı:	

Doktora / Uzmanlık / Sanatta Yeterlilik Tezi Başlığı (özeti ekte)	Kök hücre ve karaciğer transplantasyon hastalarında toxoplasmosisin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ve nested polimeraz zincir reaksiyonu yöntemleri ile takibi
Tez Danışman(lar)ı:	Prof. Dr. A. Yüksel Gürüz

Doktora / Uzmanlık / Sanatta Yeterlilik Tezi Başlığı (özeti ekte)	Kronik Lenfositik Lösemi B hücreleri ve Normal B hücrelerinin karşılaştırmalı proteomik analizi ile yeni biyobelirteçlerin belirlenmesi
Tez Danışman(lar)ı:	Prof. Dr. Ayfer Haydaroğlu

AKADEMİK GÖREVLER

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Arş.Gör.Dr.	Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji	2001- 2007
Doktor	Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji	2007- 2009
Uzman	Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji	2009- 2011
Doç. Dr.	Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji	2012- Devam Ediyor

Doktora	Ege Üniversitesi, SBE Biyoinformatik	2016-devam ediyor
Doç. Dr.	Ege Üniversitesi, SBE Temel Onkoloji AD Başkanlığı	2019- 2022

PROJELERDE YAPTIĞI GÖREVLER

1. TÜBİTAK-1001 Projesi: Toxoplasmosise Karşı İmmunojenik Anti Sporozoit Aşı Adayı Proje No: 107S359 (2008-2010), Araştırmacı
2. TÜBİTAK-1001: Toxoplasmosise karşı adjuvante multivalan rekombinant protein aşısının oluşturulması, Proje No: 110S200 (2010 – 2013). Araştırmacı
3. TUBİTAK-BİDEB-2219; Immunotherapy for cancer using attenuated CPS strain of Toxoplasma gondii. Proje No: 1059B191500141 (2016 – 2017). Bursiyer
4. USA-Flagship project: Development of Ibrutinib for CLL: Proteomics Profiling in Blood CLL Cells after Ibrutinib Therapy 2017 – 2018, Araştırmacı
5. Kalkınma Bakanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı: Solunum Hastalıkları Alanında Translasyonel Tıp Yaklaşımı ile Yenilikçi Biyomedikal Cihazların Geliştirilmesi Proje No: 21531 (2019-2022). Araştırmacı
6. UIDB-TUBİTAK Güney Kore İkili İşbirliği: Akciğer Kanseri Tanısı Almış ve Şüpheli Hasta Gruplarının Ardışık Tükrük ve Gaita Örneklerinde Karşılaştırılmalı Mikrobiyota ve Lipidomik Analizler. Proje No: 120N924 (2021-2023), Yürütücü
7. TUBİTAK-3501: Küçük hücreli dışı akciğer kanserine karşı CAR T hücre tedavisi için alternatif hedef antijen havuzunun tek hücre genomik verileri ile zenginleştirilmesi. Proje No: 321S233 (2022-2025). Araştırmacı
8. TUSEB: Tümörle ilişkili makrofajların plastisitelerinde alternatif transkript izoformlarının biyobelirteç özelliklerinin tek hücre RNA sekanslama yaklaşımı ile araştırılması. Proje No: 16428 (2022-2024). Araştırmacı
9. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Transplantasyon Hastalarında Toxoplasmosis Takıbbı (Proje No: 05-TIP-032, (2005-2007). Araştırmacı
10. Ege Üniversitesi Sıtma Benzeri Ateş veya Endemik Bölgelere Seyahat Sebebiyle Gereksiz Elenen Donörlerin Kazanımı. Proje No: 08-TIP-024, (2008-2011). Araştırmacı
11. Ege Üniversitesi BAP Projesi: İmmun Sistemi Baskılanmış Ratlarda Pneumocystis Pnömosinin Etkeni Pneumocystis Cariniinin Mikroskopik Ve Moleküler Tekniklerle Gösterilmesi. Proje No: 09-TIP-048, (2009-2010). Araştırmacı
12. Ege Üniversitesi EBİLTEM Projesi: Toxoplasmosise Karşı İmmunojenik Anti-Sporozoit Aşı Adayı. Proje No: 08-BIL-008 (2008-2011) Araştırmacı
13. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Türkiyede Saptanan Toxoplasma Gondii Suslarının Tanı Amaçlı İzolasyonu ve Mikrosatellit Genotiplendirilmesi. Proje No: 10-TIP-091 (2010-2013). Araştırmacı

14. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Türkiyede Saptanan Toxoplasma Gondii Suslarının Tanı Amaçlı İzolasyonu ve Mikrosatellit Genotiplendirilmesi Proje No: 11-TIP-034 (2011-2014). Araştırmacı
15. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Organ Nakli Polikliniği ne Başvuran Böbrek Nakli Yapılmış Hastalar ile Diyaliz Merkezinde Hemodiyaliz Uygulanan Kronik Böbrek Yetmezlikli Hastalarda Strongyloidosis Sıklığının Araştırılması. Proje No: 13-TIP-022, (2013-2014). Araştırmacı
16. Ege Üniversitesi BAP Projesi: İmmun Sistemi Baskılanmış Hastalarda Fırsatçı Parazitlerin Múltipleks Realtime Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Eş Zamanlı Tanısı (Proje No: 13-TIP-050, (2013-2015). Araştırmacı
17. Ege Üniversitesi BAP Projesi: İzmir İli Sokak Kedilerinde Leishmania Spp. Varlığının Moleküler ve Serolojik Yöntemlerle Araştırılması. Proje No: 13-TIP-099, (2013-2015). Araştırmacı
18. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Toxoplasma Gondii'nin Hela Hücrelerinde Antijen Amaçlı Üretim Parametrelerinin Belirlenmesi: Mikrotaşıyıcı Uygulanması. Proje No: 14-TIP-042. (2014-2015). Araştırmacı
19. Ege Üniversitesi EBİLTEM Projesi: Meme Kanseri Tedavisinde Leishmania spp. nin Immunoterapötik Etkisinin Araştırılması. Proje No: 15-KSUAM-003 (2015-2017) Araştırmacı
20. Ege Üniversitesi BAP Projesi: İnvivo Kanser Modelinde Hücre İçi Parazitlerinin İmmünostimülan Etkisinin Araştırılması. Proje No: 16-TIP-008, (2016-2019). Araştırmacı
21. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Visseral leishmaniasis tedavisinde Bruton's Tirozin Kinaz inhibitörü olarak Ibrutinib'in etkisi. Proje No: TGA-2019-20180 (2018-2021). Yürütücü
22. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Astımlı Hastalarda Parazitik ve Fungal Floranın Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi. Proje No: TGA-2019-21022 (2019-2021). Yürütücü
23. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Kolorektal Kanserli Hastaların Çeşitli Klinik Örneklerinde İhmal Edilmiş Fırsatçı Etkenlerin Araştırılması Proje No: TGA-2020-22373 (2020-2022). Araştırmacı
24. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Baş Boyun Kanser Hücrelerinde Biyobelirteçler Olarak Circular RNAların Tanımlanması ve Radyoterapinin bu Biyobelirteçler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması. Proje No: TGA-2020-22939. (2021-2022). Yürütücü
25. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Akciğer Kanserinde Biyobelirteç Adayları Olarak Circular RNAların Tanımlanması.. Proje No: TYL-2021-22814 (2021-2022). Yürütücü
26. Ege Üniversitesi Uluslarası BAP Projesi: Baş ve Boyun Skuamöz Hücreli Karsinomu Hücre Kültüründe Biyobelirteç Olabilecek circularRNA Moleküllerinin Araştırılması (Proje No: TUA-2021-22423 (2021-). Araştırmacı
27. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Kolorektal Kanserli Hastaların Dışkı ve Tükrük Örneklerinde Mikrobiyota Analizi (Yürütücü: Osman Bozbıyık, Araştırmacılar:

Ayse Caner, Tayfun Yoldas, Ufuk Mert, Ozlem Ulusan Bagci). Proje No: TGA-2021-22754 (2021-). Araştırmacı

28. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Pankreas Kanserli Hastaların Klinik Örneklerinde Mikrobiyota. Proje No: TGA-2021-22790 (2021-). Araştırmacı

29. Ege Üniversitesi BAP Projesi: Vinorelbinin tümörle ilişkili makrofajları modüle etme ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde proliferasyon ve migrasyona etkisi. Proje No: TGA-2021-23266 (2021-). Araştırmacı

İDARİ GÖREVLER

Görev Yeri	Yıl
Ege Üniversitesi, SBE Temel Onkoloji AD Başkanlığı	2019-
Ege Üniversitesi, Kansere Savaş Uygulama ve Araştırma Merkezi, Müdürlüğü	2019-2022
Ege Üniversitesi, Kansere Savaş Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdür Yardımcılığı	2018-2019
Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Evre 3 Blok 1 Komisyon Üyeliği	2014-

BİLİMSEL KURULUŐLARA ÜYELİKLER

- European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ECCMID)
- American Association for Cancer Research (AACR)
- European Association for Cancer Research (EACR)
- Türkiye Parazitoloji Derneği Üyesi
- Türk Toraks Derneği Üyesi
- Temel Onkoloji Derneği (TEOD)
- Türkiye İmmünoloji Derneği
- Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği
- Moleküler Kansere Araştırma Derneği (MOKAD)
- Hücre Ölümü Araştırma Derneği

ÖDÜLLER

- Türkiye Cumhuriyeti İçişleri Bakanlığı tarafından verilen takdirname belgesi (2001)

- 5. Ulusal Kemik İliği Nakli ve Kök Hücre Tedavisi Kongresinde Hemapoetik kok hücre nakil uygulanan hastalarda toxoplasma enfeksiyonu ve klinik onemi' adli bildiriye verilen poster ödülü (2008).
- 16. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde Rekombinat Protein aşılarında Endotoksin eksiltmesine yönelik yaklaşımlar' adli bildiriye verilen poster ödülü (2009).
- Ege Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Merkezi (EBİLTEM) tarafından toksoplazmoza karşı DNA aşısı stratejisi geliştirme araştırmalarına verilen Araştırma Ödülü (2009)
- ECCMID yüksek kaliteli bir özetin kabulü şartına bağlı olarak desteklenen burs ödülü (2010).
- TÜBİTAK tarafından verilen Proje Teşekkür Belgesi; Toksoplazmoza Karşı İmmünojenik Anti-sporozoit Aşısı Adayı (2011)
- ERASMUS bursu (2011)
- 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Poster Ödülü (2013)
- 54th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), Washington, A.B.D., ICAAC Program komite ödülü (2014).
- II. Biyomühendislik Öğrenci Kongresi, Poster ikincilik Ödülü (2014).
- The Xxvith World Congress On Echinococcosisin Conjunction With and National Conference On Echinococcosis with International Participation. Poster Odulu (2015)
- 26th ECCMID congress, P0888. ESCMID/GSK Vaccines Travel Grant (2016).
- International symposium on Parasitic Zoonoses, Poster first award (2016).
- 7. Multidisciplinary Cancer Research ve 1. Basic Oncology Congress, Poster Ödülü (2018)
- International Symposium on Migration and Travel Infections Oral presentation award, (2018)
- 3. Kök Hücre ve Hücresel Tedaviler Kongresi, Özel Bildiri Ödülü (2019).
- 23. Ulusal Kanser Kongresi, En iyi Onkoloji Araştırma Ödülü (2019)
- 11. Ege Pediatri ve 7.Ege Pediatri Hemşireliği Kongresi, Sözlü Bildiri Ödülü (2019)
- E.Ü. Kanserle Savaş Uygulama ve Araştırma Merkezi, T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından 2018 yılında kanser veri tabanında en büyük katkı ödülü (2019)
- The 1st International Basic Oncology Congress. Poster Award (2022)
- The 1st International Basic Oncology Congress. Oral presentation award (2022)
- The 1st International Basic Oncology Congress, Oral presentation third award, (2022)
- 10th National and 3th International Congress of Hydatidology. Oral Presentation First Prize (2022)